

Analisis Kadar Antosianin pada Daun Miana (*Lamiaceae*)

Analysis of Anthocianin Content in Miana Leaf (*Lamiaceae*)

¹⁾**Jeanette Eveline Richart, ²⁾Pince Salempa, ³⁾Sitti Faika**

^{1,2,3)}*Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Negeri Makassar, Indonesia*

Email: pince_salempa@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang bertujuan untuk mengetahui kadar antosianin pada daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth). Sampel daun miana diambil di Kabupaten Toraja Utara, Provinsi Sulawesi Selatan. Tahapan penelitian meliputi, determinasi tanaman, preparasi sampel, ekstraksi, identifikasi senyawa menggunakan uji fitokimia, kromatografi lapis tipis dan kromatografi gas-spektrometri massa dan analisis kadar antosianin menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Adapun kadar antosianin ekstrak aquadest dan etanol daun miana berwarna variasi merah dan hijau jenis *Coleus scutellarioides* (L.) Benth yaitu 220,43 mg/L dan 218,76 mg/L sedangkan kadar antosianin ekstrak aquadest dan etanol daun miana berwarna ungu jenis *Coleus scutellarioides* (L.) Benth yaitu 146,95 mg/L dan 151,63 mg/L.

Kata kunci: *Daun Miana, Antosianin*

ABSTRACT

This research is an experimental study that aims to determine anthocyanin levels in the leaves of Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth). Miana leaf samples were taken in North Toraja Regency, South Sulawesi Province. The stages of the research included plant determination, sample preparation, extraction, identification of compounds using phytochemical tests, thin layer chromatography and gas chromatography-mass spectrometry and analysis of anthocyanin levels using a UV-Vis spectrophotometer. The anthocyanin levels of the aquadest and ethanol extracts of miana leaves were colored in variations of red and green for the species *Coleus scutellarioides* (L.) Benth, namely 220.43 mg/L and 218.76 mg/L while the anthocyanin levels for the aquadest and ethanol extracts of miana leaves were purple for the *Coleus scutellarioides* (L) Benth, namely 146.95 mg/L and 151.63 mg/L.

Keywords: *Miana leaves, Anthocyanin*

PENDAHULUAN

Tumbuhan miana (*Atropurpurei folium* atau jelasnya *Coleus Atropurpureus* Bentham/*Coleus Scutellarioides* Bentham) adalah termasuk familia Labiate, banyak tumbuh di Tanah Air kita (Kartasapoetra, 1988). Miana

merupakan jenis tumbuhan apotik hidup yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dalam pengobatan (Podungge, dkk, 2017). Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan dipengaruhi oleh faktor eksternal dan internal. Faktor-faktor eksternalnya yaitu tanah, kelembaban,

cahaya dan air sedangkan faktor-faktor internal seperti gen, hormon, struktur anatomi, dan morfologi tumbuhan beserta kandungan klorofil dengan pigmen lainnya (Maulid & Ainun, 2015).



Gambar 1. Tumbuhan miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth)

Menurut Ridwan (2005), kandungan kimia daun miana berupa saponin, tanin, minyak atsiri, eugenol, senyawa polifenol, alkaloid, etil salisilat, kalsium okslat, senyawa rosmarinic acid (RA) dan flavonoid seperti antosianin. Daun miana memiliki warna ungu pada permukaan daunnya, warna tersebut disebabkan oleh tingginya kandungan antosianin (Nguyen & Cin, 2009).

Antosianin merupakan golongan senyawa kimia organik yang dapat larut dalam pelarut polar, serta bertanggung jawab dalam memberikan warna oranye, merah, ungu, biru, hingga hitam pada tumbuhan tingkat tinggi seperti: bunga, buah-buahan, biji-bijian, sayuran, dan umbi-umbian (Du H, dkk, 2015). Di dalam daun miana, antosianin merupakan warna ungu. Antosianin termasuk golongan senyawa flavonoid, yang merupakan kelompok besar pigmen alami pada tumbuhan yang dapat larut dalam air yang bertanggung jawab untuk memberikan warna bunga, buah dan sayuran (Maulid & Ainun, 2015).

Pigmen warna alami dalam daun miana dapat mengantikan

penggunaan pigmen warna sintetik yang memiliki dampak negatif bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Antosianin telah memenuhi persyaratan sebagai pewarna makanan alami karena tidak menimbulkan kerusakan pada bahan makanan maupun kemasannya serta bukan merupakan zat yang beracun bagi tubuh. Antosianin memiliki banyak manfaat untuk kesehatan yaitu termasuk peningkatan ketajaman penglihatan, aktifitas anti kanker, antioksidan dan pemeliharaan permeabilitas normal vuscular (Arixs, 2006).

Antosianin sangat perlu diketahui karena memiliki manfaat untuk kesehatan serta sebagai sumber pigmen warna alami. Daun miana memiliki berbagai macam jenis dengan daun yang bervariasi warna. Penelitian ini dilakukan untuk memberikan informasi mengenai kadar antosianin pada daun miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.). Adapun spesies miana yang digunakan yaitu *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian, yaitu blender, pinset, baskom, neraca, corong buchner, bejana maserasi, wadah tertutup, pompa vakum, botol semprot, seperangkat alat-alat gelas (Pyrex), rotary evaporator, rak tabung, hot plate, Chamber, pipa kapiler sebagai penotol, plat KLT, cuvet dan Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 20 Thermo Scientific), dan Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) (Thermo Scientific). Bahan sampel yang digunakan adalah daun

miana. Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, etanol 96%, asam sitrat 0,5%, n-butanol p.a, asam asetat glasial, asam klorida 2M, natrium hidroksida 2M, serum sulfat (CeSO₄ 10%) untuk penampakkan noda, aluminium foil, kertas saring Whatman nomor 41, plat kromatografi lapis tipis aluminium berlapis silika gel 60 GF254, larutan buffer 1,0 dan 4,5.

B. Prosedur Kerja

1. Determinasi tanaman

Daun miana diherbarium terlebih dahulu kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Botani Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

2. Preparasi sampel

Sampel daun miana dikumpulkan dan diambil bagian daunya. Sebanyak 1,5 kg, kemudian dibersihkan terlebih dahulu, lalu dipotong-potong kecil dan selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan anginkan selama 24 jam. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan alat penggilingan.

3. Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan variasi pelarut aquades dan etanol 96% yang telah ditambahkan asam sitrat 0,5%. Sampel yang sudah halus ditimbang masing-masing sebanyak 500 gram, kemudian diekstraksi menggunakan 1000 mL pelarut campuran aquadest : asam sitrat 0,5% (7:1) dan pelarut campuran etanol 96% : asam sitrat 0,5% (7:1) selama 3 x 24 jam. Setiap 1 x 24 jam dilakukan pengadukan dan mengganti dengan pelarut campuran yang baru. Setelah 3 hari sampel disaring dengan corong Buchner

menggunakan kertas saring whatman nomor 41. Ekstrak yang diperoleh berupa filtrat bebas ampas kemudian dipekatan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan pemutaran 80 rpm hingga diperoleh konsentrasi pekat. Selanjutnya ekstrak disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk pengujian.

4. Identifikasi senyawa

a. Uji fitokimia

Uji fitokimia antosianin dari ekstrak daun miana dilakukan dengan menggunakan pelarut HCl dan NaOH. Ekstrak antosianin ditambahkan HCl 2 M kemudian dipanaskan selama 5 menit. Hasil menunjukkan adanya antosianin apabila terjadi perubahan warna menjadi merah. Kemudian ditambahkan NaOH 2 M tetes demi tetes sambil diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil menunjukkan adanya antosianin apabila timbul warna menjadi hijau biru yang memudar perlahan-lahan.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak Miana pekat dilarutkan dalam ±1 mL etanol 96%. Kemudian ditotolkan pada plat KLT berlapis silika gel 60 GF254 dengan menggunakan fase gerak (eluen) BAA (n-butanol : asam asetat : aquadest = 4:5:1, v/v/v) yang kemudian didetaksi dibawah lampu UV 254 dan 365 nm. Apabila tidak ada noda yang tampak, maka dilanjutkan dengan menyemprotkan larutan serum sulfat (CeSO₄ 10%). Didiamkan selama 15 menit. Hasil dari KLT dihitung Rf berdasarkan fraksi warna yang terbentuk.

c. Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS)

Ekstrak yang didapatkan di uji lebih lanjut dengan menggunakan Gas

Chromatography - Mass Spectrometry untuk mengidentifikasi jenis dan kandungan senyawa dalam sampel berdasarkan fragmentasi. Sampel sebanyak 2 μL diinjeksikan dalam GC-MS yang dioperasikan menggunakan kolom kaca berukuran 0,25 mm x 30 m x 0,25 μm dengan gas pembawa, yaitu Helium. Lubang masuk suhu dipertahankan 250 $^{\circ}\text{C}$. suhu oven deprogram pada awalnya 50 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit, dengan peningkatan 10 $^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ kemudian meningkat menjadi 280 $^{\circ}\text{C}$. Suhu MS Quad adalah 150 $^{\circ}\text{C}$ dan suhu sumbernya adalah 230 $^{\circ}\text{C}$.

5. Analisis Kadar Total Antosianin

Masing-masing Ekstrak kental miana dari pelarut aquadest dan etanol 96% Selanjutnya masing-masing larutan disiapkan sebanyak 2 mL filtrat, kemudian pada ekstrak pelarut aquadest diencerkan dengan menggunakan buffer KCl dengan pH 1,0 sebanyak 20 mL dan untuk pada ekstrak pelarut etanol 96% diencerkan menggunakan buffer Na-asetat dengan pH 4,5 sebanyak 20 mL. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum dan 700 nm. Absorbansi akhir dihitung dengan rumus :

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

$A_{(\lambda_{\text{vis-max}})}$ adalah absorbansi dipanjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum diperoleh dengan pengujian sampel dari panjang gelombang 400-700 nm.

Kadar total antosianin dalam sampel dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Total Antosianin} = \frac{A \times BM \times Fp \times 1000}{\varepsilon \times L}$$

Keterangan : A = Nilai absorbansi
 ε = Koefisien ekstraksi (26900
 L/mol.cm)

L = Lebar kuvet (1cm)

BM = Berat molekul sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)

Fp = Faktor pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Tanaman miana yang daun berwarna variasi merah dan hijau dan daun berwarna ungu yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi dilaboratorium Botani Badan Riset dan Inovasi Nasional. Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel yang digunakan spesies *Coleus scutellarioides* (L) Benth dan famili Lamiaceae.

2. Preparasi Sampel

Daun miana yang digunakan yaitu daun yang berwarna variasi merah dan hijau sebagai sampel I dan daun yang berwarna ungu sebagai sampel II. Sampel daun Miana terlebih dahulu dibersihkan kemudian dikering anginkan selama 24 jam karena jika menggunakan matahari langsung akan mempengaruhi senyawa-senyawa volatil yang terkandung dalam daun tersebut. Selanjutnya sampel dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

3. Ekstraksi Sampel

Maserasi dilakukan selama 3x24 dengan melakukan variasi pelarut. Proses maserasi menggunakan pelarut yang bersifat polar. Hasil preparasi daun miana diekstrak menggunakan pelarut aquades dan etanol yang diasamkan dengan asam sitrat 0,5%, pemilihan pelarut berdasarkan pertimbangan nilai ekonomis dan toksisitas.

Selanjutnya filtrat yang didapatkan di saring menggunakan corong buchner. Kemudian ekstrak yang diperoleh dipekatkan

menggunakan alat evaporator dengan suhu 50°C, untuk memperoleh ekstrak yang murni. Suhu 50°C yang digunakan juga menyesuaikan dengan titik didih pelarutnya yaitu etanol memiliki titik didih 70°C dan aquadest 100°C. Ekstrak tersebut dievaporator hingga kering sehingga diperoleh konsentrasi pekat.

4. Identifikasi Senyawa

a. Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji pendahuluan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tumbuhan (Julianto, 2019). Setelah ekstrak diperoleh, maka dilakukan uji pendahuluan dengan tujuan untuk mengetahui adanya pigmen antosianin yang terkandung dalam ekstrak. Hasil uji fitokimia antosianin dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Data Uji Fitokimia Antosianin

Jenis Sampel	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Sampel I A	HCl 2 M, pemanasan 5 menit	Merah	+
	NaOH 2 M	Hijau biru yang memudar	+
Sampel I E	HCl 2 M, pemanasan 5 menit	Merah	+
	NaOH 2 M	Hijau biru yang memudar	+
Sampel II A	HCl 2 M, pemanasan 5 menit	Merah	+
	NaOH 2 M	Hijau biru yang memudar	+
Sampel II E	HCl 2 M, pemanasan 5 menit	Merah	+
	NaOH 2 M	Hijau biru yang memudar	+

Berdasarkan Tabel 1 Salah satu faktor yang mempengaruhi warna dari antosianin adalah perubahan pH. Ekstrak pelarut aquadest dan etanol dengan menggunakan HCl warna tetap

merah hal ini menunjukkan hasil positif bahwa antosianin pada kondisi asam memiliki gugus metoksi yang dominan menyebabkan warna merah dan relatif lebih stabil. Pada

penambahan NaOH terjadi perubahan warna dari merah terang menjadi hijau biru yang memudar yang menunjukkan hasil positif bahwa antosianin pada kondisi basa menjadi berwarna gelap karena adanya gugus hidroksi yang dominan menyebabkan warna cenderung relatif tidak stabil. Hasil penelitian analisa kualitatif yang diperoleh sesuai dengan Harborne (1996) melalui uji fitokimia yang menyatakan bahwa pada penambahan HCl hasil positif bila timbul warna merah, dan penambahan NaOH hasil positif bila timbul warna hijau biru yang memudar.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian ini bertujuan untuk memastikan bahwa dalam daun miana mengandung antosianin dengan melalui sinar UV. Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan senyawa kimia berdasarkan perbedaan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan pada uji klt ini adalah plat silika gel 60 GF₂₅₄. Kemudian plat diberi batas atas dan batas bawah (Sundari, 2019).

Fase gerak yang digunakan pada uji klt ini adalah N-butanol, asam asetat dan aquadest atau disingkat BAA dengan perbandingan (4:5:1). BAA digunakan karena campuran fase gerak ini bersifat polar yang sama dengan sifat antosianin (Chrisitinawati, 2007). Kemudian dibuat fase gerak terlebih dahulu setelah itu fase gerak dilakukan penjenuhan dalam chamber agar seluruh permukaan didalam chamber terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan oleh silica gel beraturan. Selanjutnya setelah fase gerak jenuh dilakukan penotolan sampel pada plat KLT berlapis silika gel 60 GF₂₅₄ lalu dimasukkan dalam

chamber hingga eluen mencapai batas atas kemudian diangkat dan dikering anginkan. Lalu diamati dibawah sinar lampu UV 366 nm. Bercak yang terlihat ditandai dengan pensil dapat dilihat pada gambar 4.3 dan dihitung nilai Rfnya kemudian bandingkan dengan standar. Menurut (Hayati, dkk, 2015) nilai Rf yang diduga antosianin sebesar 0,06-0,96.

Hasil identifikasi dengan KLT pada daun miana dapat dilihat pada tabel 2 menghasilkan 1 bercak noda yang berwarna merah kecoklatan dan nilai Rf. Jika dibandingkan dengan literatur, nilai Rf yang diperoleh pada uji KLT ini masuk dalam rentang standar nilai Rf antosianin yaitu dengan rentang Rf 0,06-0,96 sebagai senyawa antosianin (Hayati, dkk, 2015). Hasil yang diperoleh didukung oleh data-data sebelumnya tentang identifikasi antosianin pada daun miana terdapat antosianin berupa pelargonidin, sianidin, peonidin, dan delphinidin (Lestario, dkk, 2009).

Tabel 2. Hasil Identifikasi Antosianin dengan KLT

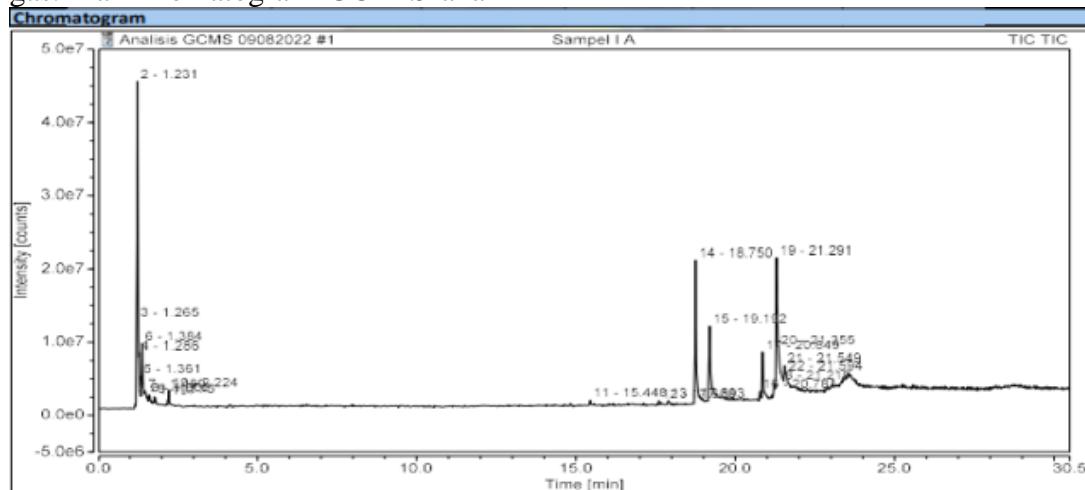
Jenis Sampel	Warna visual (warna UV)	Nilai Rf
Sampel I A	Merah kecoklatan (biru kehijauan)	0,358
Sampel I E	Merah kecoklatan (biru kehijauan)	0,375
Sampel II A	Merah kecoklatan (biru kehijauan)	0,417
Sampel II E	Merah kecoklatan (biru kehijauan)	0,375

c. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

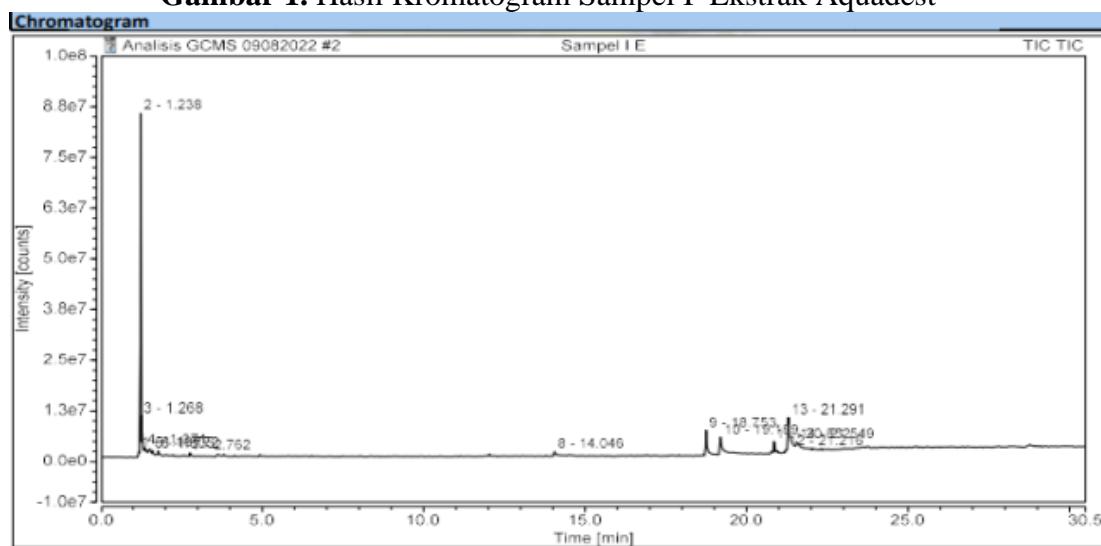
. Ekstrak yang telah dihasilkan diidentifikasi menggunakan GC-MS untuk mengetahui senyawa apa saja

yang terkandung dalam daun miana. Gas Chromatography-Mass Spectrometry adalah kepanjangan dari GC-MS yang diterjemahkan dalam bahasa Indonesia menjadi kromatografi gas-spektrometri massa. Kromatografi gas berfungsi untuk memisahkan senyawa campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi jenis senyawa yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas. Dari kromatogram GC-MS akan

diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi dari spektra GC-MS akan diperoleh informasi struktur senyawa yang terdeteksi (Astuti, 2006). Fase diam yang digunakan adalah kolom kaca dengan panjang kolom 0,25 mm x 30 m x 0,25 μm . Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah Helium. Hasil GC-MS dapat dilihat pada gambar 1-4 sebagai berikut:



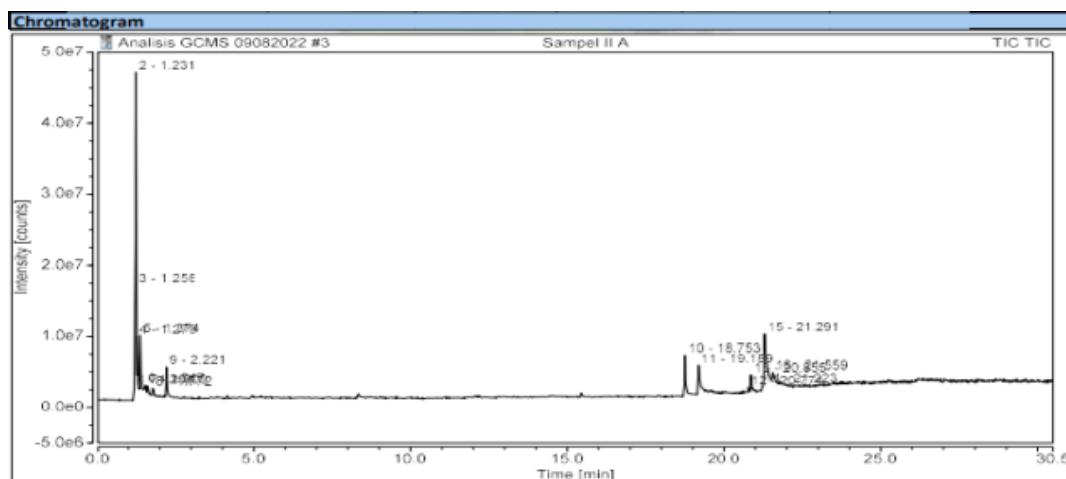
Gambar 1. Hasil Kromatogram Sampel I Ekstrak Aquadest

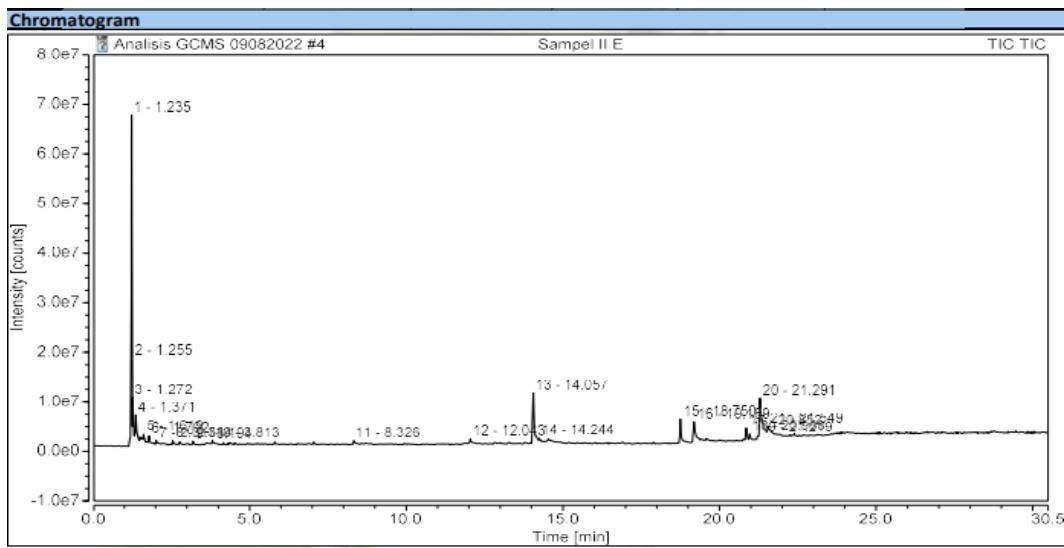


Gambar 2. Hasil Kromatogram Sampel I Ekstrak Etanol

Tabel 3. Identifikasi senyawa dari ekstrak aquadest sampel I

No	Waktu retensi (menit)	Luas area (%)	Nama senyawa
1.	1.197	0.71	Pseudosolasodine diacetate
2.	1.231	12.74	4-Androsten-9a-fluoro-17a-methyl-3a,6B,11B,17B-tetra-ol, tetra-trimethylsilyl
3.	1.265	8.40	L-Valine, N-[N,O-bis(2,4-dinitrophenyl)-L-tyrosyl]-, methyl ester
4.	1.286	0.72	Gibberellic acid
5.	1.361	1.19	2-Amino-1,3-propanediol
6.	1.384	5.21	Acetic acid
7.	1.480	3.13	trans-13-Octadecenoic acid
8.	1.602	1.11	D-Fructose, diethyl mercaptal, pentaacetate
9.	1.775	0.72	d-Gala-1-ido-octonic amide
10.	2.224	1.14	2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]
11.	15.448	0.35	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptan-3-ol, 6-(3-hydroxy-1-but enyl)-1,5,5-trimethyl
12.	17.608	0.35	Ethanol, 2-(9-octadecenyoxy)-, (Z)
13.	17.893	0.61	Cyclopentanone, 2-(2-octenyl)-
14.	18.750	15.05	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
15.	19.1972	10.55	l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate ester
16.	20.781	0.56	7,10-Octadecadienoic acid, methyl ester
17.	20.849	5.75	11-Octadecenoic acid, methyl ester
18.	21.219	0.67	17-Octadecynoic acid
19.	21.291	14.51	trans-13-Octadecenoic acid
20.	21.355	10.63	trans-13-Octadecenoic acid
21.	21.549	2.61	9-Hexadecenoic acid
22.	21.594	3.29	trans-13-Octadecenoic acid

**Gambar 3.** Hasil Kromatogram Sampel II Ekstrak Etanol

**Gambar 4.** Hasil Kromatogram Sampel II Ekstrak Etanol**Tabel 4.** Identifikasi senyawa dari ekstrak etanol sampel I

No	Waktu retensi (menit)	Luas area (%)	Nama senyawa
1.	1.187	0.99	Docosahexaenoic acid, 1,2,3- propanetriyl ester
2.	1.238	51.99	Ethanol, 2-(trimethylsilyl)
3.	1.268	1.84	[1,1'-Bicyclopentyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester
4.	1.371	1.24	Desulphosinigrin
5.	1.605	0.46	2-[4-methyl-6-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)hexa-1,3,5-trienyl]
6.	1.772	0.87	Quinoline, N-benzoyl-1,2,3,4-tetrahydro
7.	2.762	0.76	Ethanol, 2-(9-octadecenyoxy)-,(z)
8.	14.046	1.54	Melibiose
9.	18.753	8.23	Hexadecanoic acid, methyl ester
10.	19.189	8.35	Isopropyl palmitate
11.	20.852	3.23	trans-13-Octadecenoic acid, methyl ester
12.	21.216	0.46	9- Octadecenoic acid (Z)-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester
13.	21.291	19.18	trans-13-Octadecenoic acid
14.	21.549	0.86	9-Hexadecenoic acid

Tabel 5. Identifikasi senyawa dari ekstrak aquadest sampel II

No	Waktu retensi (menit)	Luas area (%)	Nama senyawa
1.	1.204	1.56	2-[4-methyl-6-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)hexa-1,3,5-trienyl]
2.	1.231	22.86	4-Androsten-9a-fluoro-17a-methyl-3a,6B,11B,17B-tetra-ol, tetra-tri
3.	1.258	16.90	17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-3-styrylhexadecahydrocy
4.	1.279	1.54	Gibberellic acid
5.	1.374	6.47	Acetic Acid
6.	1.547	2.89	Octadecanoic acid, 9,10-epoxy-18-(trimethylsiloxy)-, methyl ester
7.	1.609	1.68	Arachidonoyl ethanolamide
8.	1.772	1.32	Octadecanoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester, cis
9.	2.221	4.11	2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]
10.	18.753	5.90	Hexadecanoic acid, methyl ester
11.	19.189	6.79	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate
12.	20.774	0.56	Ethanol, 2-(9,12-octadecadienyloxy)-, (Z,Z)-
13.	20.855	2.93	11-Octadecenoic acid, methyl ester
14.	21.223	0.36	Ethanol, 2-(9,12-octadecadienyloxy)-, (Z,Z)-
15.	21.291	19.78	trans-13-Octadecenoic acid
16.	21.559	4.37	trans-13-Octadecenoic acid

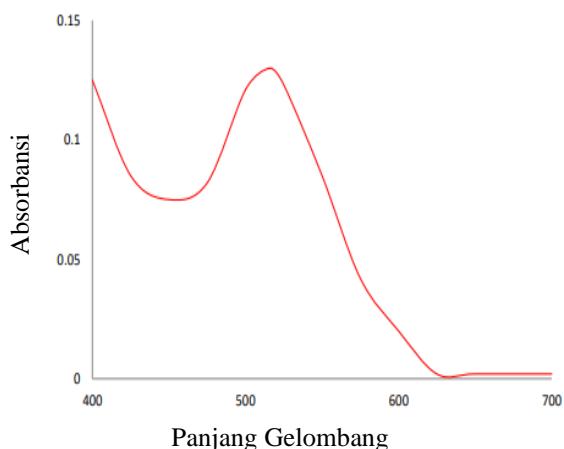
Tabel 6. Identifikasi senyawa dari ekstrak etanol sampel II

No	Waktu retensi (menit)	Luas area (%)	Nama senyawa
1.	1.235	25.03	Ethanol, 2-(trimethylsilyl)-
2.	1.255	5.87	4-Androsten-9a-fluoro-17a-methyl-11B,17B-diol-3-one, tri-trimeth
3.	1.272	1.45	Gibberellic acid
4.	1.371	3.29	Acetic acid
5.	1.619	0.91	8,11-Octadecadiynoic acid, methyl ester
6.	1.792	1.12	9-Octadecenoic acid, (2-phenyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl ester
7.	2.013	0.60	Cyclopentaneundecanoic acid
8.	2.544	0.97	d-Mannose
9.	3.194	0.65	Mannosamine
10.	3.813	0.83	1-Oxacyclopentadecan-2-one, 15-ethenyl-15-methyl
11.	8.326	0.72	10,13-Octadecadiynoic acid, methyl ester
12.	12.043	1.65	Gibberellic acid
13.	14.057	14.07	a-D-Galactopyranoside, methyl
14.	14.244	1.15	10,12-Tricosadiynoic acid, TMS derivative
15.	18.750	5.83	Hexadecanoic acid, methyl ester
16.	19.189	7.76	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate
17.	20.852	2.46	11-Octadecenoic acid, methyl ester
18.	20.968	1.20	Ethanol, 2-(9-octadecenyloxy)-, (Z)
19.	21.219	0.69	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol
20.	21.291	18.25	trans-13-Octadecenoic acid
21.	21.549	5.52	9-Hexadecenoic acid

Hasil identifikasi dengan GC-MS diperoleh senyawa flavonoid. Antosianin merupakan turunan dari senyawa flavonoid. Adapun senyawa flavonoid yang ditemukan seperti Gibberellic acid, dan 4-Androsten-9a-fluro-17a-methyl-3a,6 β ,11 β , 17 β -tetra-ol,tetra-trimethylsilyl. Faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin adalah struktur antosianin dan komponen-komponen lain yang terdapat pada bahan pangan tersebut. Antosianin dapat membentuk kompleks dengan komponen polifenolik lainnya. Komponen flavonol dan flavon yang biasanya selalu berkonjugasi dengan antosianin juga memiliki kontribusi dalam menjaga stabilitas antosianin (Gomez, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Ridwan (2005), menunjukkan senyawa kimia daun miana yaitu saponin, tanin, minyak atsiri, eugenol, senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid.

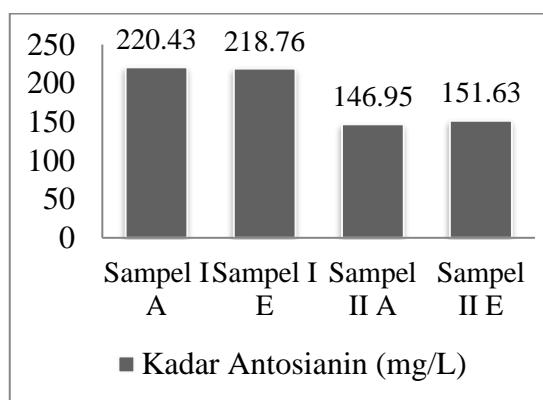
5. Analisis Kadar Total Antosianin

Ekstrak yang telah dihasilkan diuji kadar total antosianinnya dengan metode pH diferensial spektrofotometri. Metode pH diferensial spektrofotometri merupakan perhitungan melalui perbedaan absorbansi sinar tampak pada pH yaitu pada pH 1 dan pH 4,5. Senyawa antosianin sangat stabil dalam keadaan asam. Keadaan yang semakin asam akan menyebabkan tingginya kandungan total antosianin yang ditunjukan dengan nilai absorbansi yang tinggi (Gao dan Mazza, 1996). Spektrum serapan antosianin daun miana yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Panjang Gelombang Maksimum Ekstrak Antosianin Daun Miana

Berdasarkan uji spektrofotometer UV-Vis diketahui panjang gelombang yang diperoleh adalah 516 nm. Hal ini sesuai dan menunjukkan adanya antosianin pada hasil eksraksi, dimana panjang gelombang antosianin secara teoritis yaitu pada rentang panjang gelombang 505-545 nm (Harborne, 1987). Panjang gelombang 700 nm digunakan untuk mengoreksi kekeruhan atau kontaminan lain yang masih berada dalam sampel. Sampel bener-benar jernih maka absorbansi pada 700 nm adalah 0 (Suzery dkk. 2010). Tetapi, pada penelitian ini absorbansi pada panjang gelombang 700 nm tidak memberikan nilai 0, hal ini disebabkan masih adanya partikel-partikel kecil dalam sampel. pH 1 antosianin berbentuk kation flavilium yang berwarna merah, sedangkan pada pH 4,5 antosianin berbentuk hemiketal yang tak berwarna (Giusti & Worlsta, 2001).



Gambar 6. Hasil Kadar Total Antosianin

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa kadar antosianin pada sampel I yang diperoleh lebih besar yaitu untuk pelarut aquadest sebanyak 220,43 mg/L dan untuk pelarut etanol sebanyak 218,76 mg/L dibandingkan kadar antosianin sampel II yaitu untuk pelarut aquadest 146,95 mg/L dan untuk pelarut etanol sebanyak 151,63 mg/L.

Penelitian sebelumnya mendapatkan total antosianin daun miana jenis *Coleus scutellarioides* L (Benth) sebesar 820,894 mg/L dan 923,181 mg/L (Hardiyanti, dkk, 2016). Kadar antosianin yang didapatkan pada daun miana dari setiap penelitian menunjukkan hasil yang berbeda-beda hal ini tergantung dari banyaknya sampel yang akan diekstraksi, menggunakan pelarut yang berbeda dan metode ekstraksi yang digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar antosianin ekstrak aquadest dan etanol daun miana berwarna variasi merah dan hijau jenis *Coleus scutellarioides* (L.) Benth yaitu 220,43 mg/L dan 218,76 mg/L sedangkan kadar antosianin ekstrak aquadest dan etanol

daun miana berwarna ungu jenis *Coleus scutellarioides* (L.) Benth yaitu 146,95 mg/L dan 151,63 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Arixs. 2006. *Mengenal Olahan Bahan Pangan Nonberas*. Bandung :Cybertokoh
- Astuti M. S. 2006. Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L). Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Christinawati T. 2007. Identifikasi Antosianin Flavonoid pada Herba Pagagan Embun Hasil Isolasi Secara Kromatografi Lapis Tipis. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma
- Du H., Wu, J., Ji, K. X., Zeng, Q. Y., Bhuiya, M. W., Su, S., Shu, Q. Y., Ren, H. X., Liu, Z. A., and Wang, L. S. 2015. Methylation Mediated by An Anthocyanin, O-Methyltransferase, Is Involved in Purple Flower Coloration in *Paeonia*. *Journal of Experimental Botany*. 66 (21)
- Gao L and Mazza G. 1996. Extraction of Anthocyanin Pigments from Purple Sunflower Hulls. *Journal Of Food Science*. 61. No. 3. 600-603.
- Giusti M. M. and Worlsta R. E. 2001. *Characterization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy*. Oregon: Oregon State University.
- Gomez Alvarez, E., Borrás, E., Viidanoja, J and Hjorth, J.

2009. Unsaturated dicarbonyl products from the OH-initiated photo-oxidation of furan, 2-methylfuran and 3-methylfuran. *Atmospheric Environment*. 43(9)
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung :ITB
- Hardiyanti Yuniar, Djaswir Darwis, dan Adlis Santoni. 2016. Ekstraksi Dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin Dari Daun Miana (*Coleu S Scu Tellarioides L* (Benth).) Serta Aplikasi Pada Minuman. *Jurnal kimia*.
- Hayati K.E., Ningsih, R dan Latifah. 2015. Antioxidant Activity od Flavonoid from Rhizoma *Kaempferia galangal L.* Extract. *Journal of Chemstry*. Vol.4. No.2
- Julianto Tatang Shabur. 2019. *Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia
- Kartasapoetra. 1988. *Teknologi Budaya Tanaman Pangan di Daerah Tropis*. Jakarta : Bina Aksara.
- Lestario Lydia Ninan, Hartati Soetjipto dan Agustine Eviningyun. 2009. Identifikasi Antosianin dan Antosianidin dari Daun Iler (*Coleus scutellarioides L* Benth) var. Crispa dan Var. Parfivolius. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IV*. No. 3:665-676.
- Maulid Rendy Rohmatul dan Ainun Nikmati Laily. 2015. Kadar Total Pigmen Klorofil dan Senyawa Antosianin Ektrak Kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) berdasarkan Umur Daun. *Seminar Nasional*. FKIP UNS
- Nguyen P dan Cin VD. 2009. The role of light on foliage colour development in coleus (*Solenostemonscutellarioides* (L.) Codd). *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(2009) 934–945.
- Podungge M.R, Salimi Y.K , dan Duengo S. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (*Coleus Scutellerooides* Benth.). *Jurnal Entropi*. 1(1), 67-74
- Ridwan. 2005. *Skala Pengukuran Variabel-Variabel Penelitian*. Bandung : Alfabeta
- Sundari D. 2019. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mongostana L*) sebagai Pewarna Alami pada Blush On. *Karya Tulis Ilmia*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama
- Suzery M, Lestari S dan Cahyono B. 2010. Penentuan Total Antosianin Dari Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*) Dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi. *Jurnal Sains & Matematika*. Vol. 18, No. 1.