

## Studi Pembuatan Carik Celup Alami Bagi Analisis pH Urin dengan Pemanfaatan Antosianin Kol Ungu (*Brassica oleracea*)

\*Ellsie Viendra Permana<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

\*Correspondence Author: Ellsie Viendra Permana, [ellsie.viendra@lecture.unjani.ac.id](mailto:ellsie.viendra@lecture.unjani.ac.id), Cimahi, Indonesia

### Abstrak

Sejauh ini pemeriksaan urin dengan metode carik-celup yang dijalankan di berbagai Laboratorium Kesehatan Indonesia masih bergantung pada produk dipstick import. Selain berbiaya tinggi, dipstick import juga memiliki kandungan reagen yang bersifat toksik, sulit didegradasi dan tidak ramah lingkungan. Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengkaji Antosianin sebagai senyawa flavonoid dari berbagai buah dan sayuran berpigmen untuk keperluan pewarnaan, kolorimetri, dye fluoresensi, ataupun sebagai sumber antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemungkinan pemanfaatan Antosianin sebagai reagen dipstick carik celup pada pemeriksaan pH urin. Antosianin dari kol ungu diekstraksi kemudian dievaporasi hingga dihasilkan larutan indikator yang lebih pekat, dengan konsentrasi 646,6 mg/mL, berwarna awal ungu kemerahan, dan memiliki pH 6. Indikator hasil ekstraksi telah teruji dalam pengujian dengan berbagai buffer pH 1 sd 12, dan menghasilkan range warna yang luas, yaitu dimulai dari 523nm hingga 625 nm. Senyawa Antosianin kemudian diimobilisasi dalam kertas selulosa Whatman no.2 dengan optimasi rasio imobilisasi ialah sebanyak 0,1mL larutan dalam 0,04 gr kertas, dan pengeringan pada suhu kamar selama 4 jam. Pengujian Antosianin pada urin memberikan warna jingga kekuningan cerah pada urin pH 5, jingga pada urin pH 6, jingga kemerahan pada urin pH 7, dan biru tua pada urin pH 10. Simpulan, dipstick carik-celup antosianin dapat dipertimbangkan untuk digunakan dalam penentuan pH sampel urin.

Kata kunci : Antosianin, Carik Celup, Kol Ungu (*Brassica Oleracea*), pH, Urin

### Abstract

*Indonesian Medical Laboratories relies on imported dipstick to run their daily urine analysis up to now. Not only high in cost, the imported dipsticks contain undegradable toxic reagent in which non very environmentally friendly. Some studies conducted to explore Anthocyanin as flavonoid compound derives from many pigmented fruits and vegetables in purpose of coloring, colorimetry, fluorescence dye, and the source of antioxidant. The objective of this study was to explore the possibility to utilize anthocyanin as a dipstick reagent to quantify the urine pH. Anthocyanin was extracted from red cabbage thereafter concentrated using vacuum evaporated result in solution of 646,6 mg/mL, in reddish purple, and having pH of 6. Anthocyanin extract was then observed as color indicator in buffer pH of 1 to 12, resulting in wide color range from 523 nm to 625 nm. The extract anthocyanin was then immobilized in no.2 Whatman cellulose, with optimized ratio of 0,1mL solution in 0,04 gr cellulose, dried for 4 hours in room temperature. In addition, the changing in color of anthocyanin extract was tested to bring bright yellow to urine pH 5, orange to urine pH 6, reddish orange to urine pH 7, and dark blue to urine pH 10. Accordingly, anthocyanin dipstick is suggested to be considered in determination of urine pH.*

*Keywords: Anthocyanin, Dipstick, pH, Red Cabbage, Urine*

## PENDAHULUAN

Dalam beberapa dekade terakhir, dengan semakin pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan, tanpa sadar manusia lebih banyak menggunakan bahan-bahan kimia berbahaya dibandingkan dengan bahan kimia ramah lingkungan. Namun, seringkali manusia tidak menyadari dampak yang akan ditimbulkan dalam jangka panjang. Pemilahan limbah berbahaya pun masih membutuhkan penanganan yang panjang dan berbiaya tinggi. Termasuk dalam dunia kesehatan, sebagian besar bahan yang digunakan untuk alat pemeriksaan laboratorium merupakan bahan kimia berbahaya yang relatif membutuhkan tahap penanganan yang panjang dan bersifat dapat merusak ekosistem. Disisi lain, terdapat banyak bahan alami dari alam yang dapat dimanfaatkan dalam suatu pemeriksaan laboratorium dan limbah yang dihasilkan relatif lebih aman dan mudah terdegradasi.(Hamilton, 2010)

Bahan alami relatif lebih mudah didapatkan dengan biaya yang lebih rendah dibandingkan dengan sintesis bahan kimia, walaupun terkadang tidak memberikan hasil yang sama. Namun, pemanfaatan bahan alami ini masih jarang dilihat sebagai sesuatu yang penting di bidang diagnosis kesehatan. Salah satu contoh bahan alami yang dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan ialah senyawa antosianin yang terdapat dalam kol ungu.

Di Indonesia, kol merupakan jenis sayuran dan kol ungu merupakan salah satu varian yang biasanya digunakan sebagai pelengkap salad. Varian dari kol ungu ini memiliki warna khas yaitu ungu kemerahan, dan memiliki banyak kandungan bermanfaat seperti air, protein, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, fosfor, besi, natrium, kalium, beberapa vitamin, sianohidroksi butena, dan antosianin(Li dkk., 2012). Adanya antosianin inilah sebagai flavanoid yang menghasilkan warna pada kol bergantung pada kondisi tanahnya. Oleh karena itulah, pemanfaatan antosianin di bidang kesehatan akan menjadi suatu hal yang menarik.

Dalam suatu pemeriksaan, umumnya sampel spesimen dari tubuh pasien diperlukan sebagai penunjang analisis seorang dokter dalam mengidentifikasi suatu penyakit. Diantara spesimen tubuh yang cukup representatif dan paling sering diambil dari tubuh pasien ialah darah dan urin, selain juga jaringan tubuh atau cairan tubuh lainnya. Spesimen urin sering diambil untuk menentukan perubahan patologis yang terjadi. Sebagai hasil samping dari metabolisme tubuh, kandungan urin merepresentasikan berbagai proses dan reaksi kimia yang

terjadi dalam tubuh pasien dalam kurun waktu beberapa jam terakhir. Ekskresi urin dan keringat menghasilkan zat-zat buangan sambil juga mengatur jumlah air dan ion yang terdapat dalam cairan tubuh, dan secara tidak langsung mengatur kadar ion  $H^+$  pada cairan tubuh (Pimenta dkk., 2013).

Diantara beberapa metode pemeriksaan urin, metode carik celup lah yang paling sering digunakan dalam pemeriksaan urin rutin, dikarenakan dapat memberikan hasil yang cepat, murah, dan keberlanjutan yg tinggi (Mambatta dkk., 2015). Analisis urin telah berkembang sedemikian rupa dengan adanya metode pemeriksaan urin carik-celup, yang merupakan pemeriksaan rutin sederhana. Secara alamiah, manusia merupakan makhluk visual dimana terdapat ketergantungan akan sumber informasi yang diperoleh melalui visualisasi. Oleh karena itulah manusia lebih menyukai hasil konversi dari data-data kompleks ke dalam bentuk visualisasi dibandingkan dalam format data yang lain (Renjith dkk., 2021).

Sejauh ini pemeriksaan urin dengan cara carik-celup yang dijalankan di berbagai klinik di Indonesia masih bergantung pada produk dipstik import. Dipstik yang digunakan tentu saja memiliki batasan waktu kadaluarsa, dan tidak dapat digunakan jika telah melebihi batas waktu tertentu. Selain berbiaya tinggi, dipstik import juga memiliki beberapa kelemahan diantaranya kandungan reagen yang bersifat toksik, sulit didegradasi dan tidak ramah lingkungan, seperti bromothymol blue, metil merah, dan reagen lainnya. Berdasarkan berbagai penjelasan yang telah dikemukakan, maka penelitian ini dilakukan untuk mengkaji manfaat kandungan pigmen flavonoid antosianin yang terdapat dalam bahan alam kol ungu sebagai reagen dipstik test urin untuk menguji parameter pH pada test urin.

## **METODE PELAKSANAAN**

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian experimental dan menghasilkan data berupa data kualitatif dan kuantitatif. Penelitian dilakukan terhadap komponen senyawa Antosianin dalam Kol Ungu (*Brassica oleracea* L.). Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Kimia Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis – Universitas Jenderal Achmad Yani, Jalan Terusan Jenderal Sudirman no. 644, Kota Cimahi, Jawa Barat pada bulan Oktober - Desember 2016. Data-data yang dihasilkan dalam penelitian ini berupa data primer, meliputi: panjang gelombang maksimum dari senyawa flavanoid

antosianin hasil ekstraksi kol ungu, pengujian ekstrak antosianin terhadap larutan pH 1 sd 12 serta penentuan panjang gelombang maksimumnya, penentuan berat jenis antosianin hasil ekstraksi, pembuatan dan pengujian dipstik antosianin dengan melihat beberapa parameter, serta uji warna ekstrak antosianin terhadap sampel urin.

Sampel yang digunakan ialah sebanyak 170 gram Kol ungu. Maserasi dilakukan terhadap potongan kol ungu menggunakan Etanol 80% selama 21 jam untuk mengikat zat flavanoid antosianin yang berwarna ungu (Ochoa dkk., 2020). Hasil ekstraksi dipekatkan dengan menguapkan etanol menggunakan evaporator vacum (Dragon LAB RE100-Pro). Parameter yang digunakan yaitu speed: 70 rpm, temperatur: 40<sup>0</sup>C untuk 15 menit pertama, 45<sup>0</sup>C untuk 15 menit kedua, dan 50<sup>0</sup>C untuk 15 menit ketiga. Panjang gelombang maksimum hasil ekstraksi diukur menggunakan Spektrophotometer UV-Vis (Genesys 105 UV-Vis – ThermoScientific) dengan aquades sebagai baseline. pH antosianin hasil pemekatan diuji menggunakan indikator pH universal. Pengujian berat jenis dilakukan dengan mengimobilisasi sebanyak 0,05 mL dan 0,1 mL larutan antosianin hasil pemekatan ke dalam kertas Whatman (No.2 125 mm) 2x2 cm, kemudian dikeringkan dan dicari selisih berat kertas sebelum dan setelah dilakukan imobilisasi. Selanjutnya dilakukan pengujian ekstrak antosianin terhadap larutan pH 1 sd 12. Larutan uji dibuat dengan pengaturan berbagai pH menggunakan HCl dan NaOH pada pH 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11, dan 12 sebanyak 10mL, kemudian masing-masing larutan ditambahkan +- 3 tetes senyawa antosianin hasil pemekatan. Setiap larutan tersebut kemudian ditentukan panjang gelombang maksimumnya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Pengujian ekstrak antosianin terhadap larutan buffer pH 5, 7, & 10 dilakukan dengan meneteskan beberapa tetes senyawa anthosianin kedalam larutan Buffer yang kira-kira volumenya 5mL, kemudian hasil perubahan warnanya diamati. Proses pembuatan dipstik dilakukan dengan menggunakan bahan kertas watman yang telah diinjeksi sebanyak 0,5mL senyawa anthosianin. Potongan kertas watman direkatkan dengan menggunakan agarose konsentrasi 0,5%, 1% dan 2%. Kemudian dicoba pula merekatkan dengan albumin + gliserin juga diuji coba dengan menggunakan putih telur. menggunakan perekat seperti agarose,albumin + giserin dan putih telur karena bahan-bahan ini ramah lingkungan dan mudah didapat. Dilakukan pengujian ekstrak antosianin pada urin. 10 mL urin diteteskan dengan 3 tetes ekstrak antosianin, diamati warnanya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

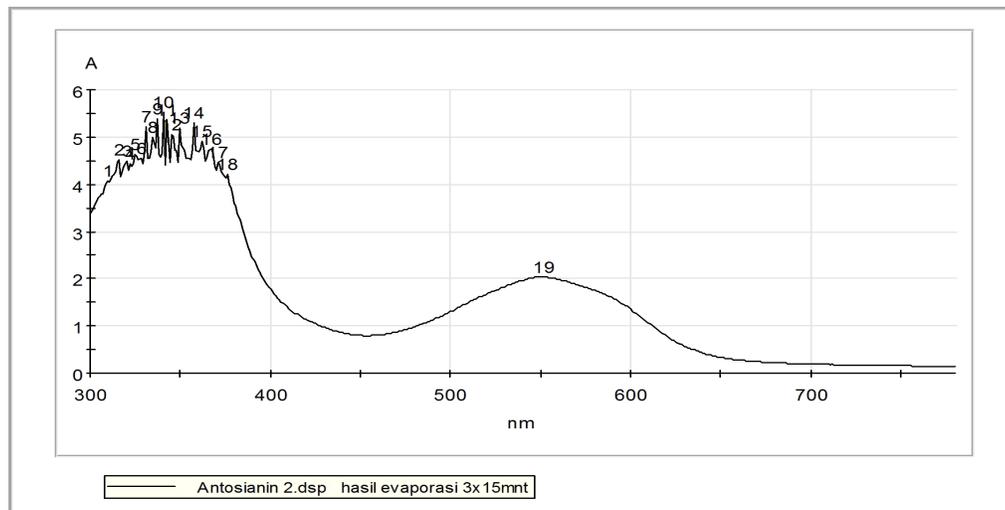
Hasil yang didapatkan dari proses ekstraksi ialah larutan berwarna ungu cerah, sama dengan warna kol ungu sebelum preparasi. Larutan tersebut berbau khas kol namun lebih menyengat, dan sedikit berbusa. Residu kol yang dihasilkan berwarna putih kuning dengan sedikit zat warna ungu masih tersisa. Selama proses maserasi, zat warna flavonoid dari kol ungu terekstraksi dari protein, selulosa, dan dari komponen-komponen lain pada kol. Persentase zat warna yang diperoleh dari sejumlah sampel kol ungu tidak termasuk dalam cakupan penelitian ini. Tujuan dilakukan evaporasi atau pemekatan senyawa ekstrak adalah untuk memekatkan larutan anthosianin yang telah terekstraksi dari kol ungu tersebut.

Hasil ekstrak kemudian dipekatkan menggunakan *Dragon LAB RE100-Pro Evaporator*, sehingga terpisahkan etanol yang bening (tidak berwarna), yang menunjukkan bahwa tidak ada zat warna dari hasil ekstraksi kol yang ikut menguap pada tahap pemekatan ini.



**Gambar 1. Pemekatan hasil ekstraksi kol ungu menggunakan Dragon LAB RE100-Pro (kiri), dan hasil tampungan etanol (kanan)**

Senyawa hasil ekstraksi yang didapatkan disimpan di dalam botol kaca gelap, agar terlindungi dari paparan sinar matahari langsung yang dapat merusak senyawa tersebut (Rundubelo dkk., 2019). pH larutan diukur dengan menggunakan pH universal dan memberikan hasil pH=6. Warna ungu yang dihasilkan kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya dari panjang gelombang 300 – 780 nm, didapatkan hasil spektrum berikut :



**Gambar 2. Spektrum Panjang gelombang maksimum senyawa Antosianin hasil ekstraksi, yang telah diencerkan sebelum ditentukan panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang maksimum**

Dari hasil spektrum tersebut dapat terlihat bahwa pada daerah UV-visibel, hanya didapatkan satu puncak yaitu pada panjang gelombang 552 nm, sementara pada daerah dibawah 400 nm didapatkan banyak puncak. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa panjang gelombang 55 2nm termasuk pada range panjang gelombang senyawa Antosianin pada pH normalnya (pH 6 -7) (Fedenko dkk., 2017). Sehingga, dengan mengekstraksi kol ungu dengan menggunakan etanol 80% dan dengan perbandingan sesuai dengan penelitian Ochoa dkk., (2020), dapat dikatakan bahwa senyawa berwarna ungu yang berhasil diekstraksi pada penelitian ini adalah senyawa flavanoid Antosianin.

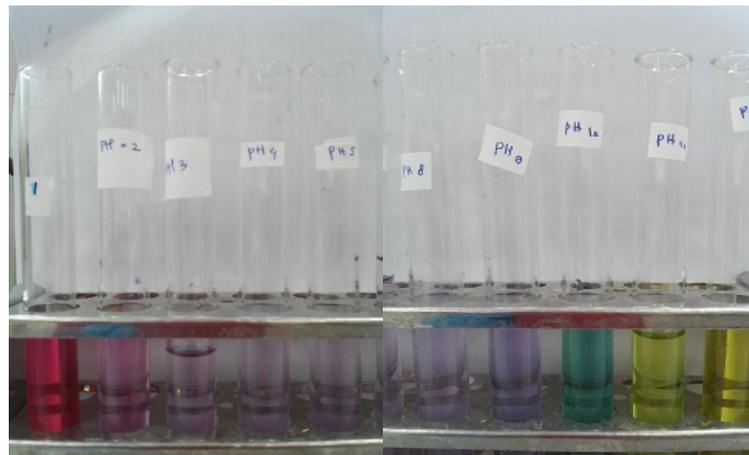
Selain itu, dilakukan hitung berat jenis, dengan cara mengimobilisasi 0,1 mL ekstrak antosianin ke dalam kertas Whatman dan mengeringkannya hingga etanol benar benar telah menguap. Kemudian selisih berat kertas kosong dengan berat kertas + antosianin dihitung. Dari hasil perhitungan tersebut, didapatkan bahwa berat jenis senyawa antosianin hasil pemekatan 3 x 15 menit tersebut memiliki BJ = 64,66 mg dalam 0,1 mL, yang berarti 646,6 mg/mL.

**Tabel 1.**  
**Penentuan berat jenis larutan antosianin hasil ekstraksi dan pemekatan**

No.	Massa Kertas Whatman 2x2 cm Kosong (mg)	Massa Kertas Whatman + 0,1 mL Antosianin Kering (mg)	Massa Antosianin (mg) Dalam 0,1 mL larutan
1.	43,8	107,2	63,4
2.	44,9	111,4	66,5
3.	41,4	106,4	65
4.	53,1	117,6	64,5
5.	42,8	106,7	63,9
Berat antosianin rata-rata			64,66 mg

Sumber : Data Primer, 2016

Kemudian dilakukan pengujian Antosianin sebagai indikator pH. Satu set larutan dengan pH 1 sampai dengan pH 12 dibuat dengan cara melarutkan dan mengencerkan HCl (untuk pH 1 sd 5), NaOH (untuk pH 12 sd 7), dan aquades untuk pH 6, kemudian diukur menggunakan pH meter. Setelah ditetaskan dengan senyawa antosianin, didapatkan perbedaan warna larutan dimulai dari warna merah cerah hingga warna kuning, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3. berikut:



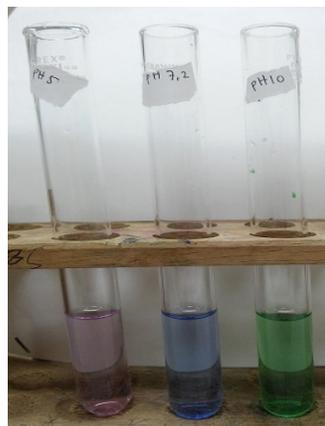
**Gambar 3. Hasil pengujian perubahan senyawa Antosianin dalam larutan pH 1 sd 12**

Hasil pada Gambar 3 tersebut menunjukkan bahwa ekstrak antosianin berubah warna menjadi merah cerah pada pH 1, menjadi pink muda pada pH 2, menjadi berwarna ungu kemerahan pada pH 3 sampai dengan 5, menjadi berwarna ungu kebiruan pada pH 7 dan 8,

ungu biru tua pada pH 9, hijau toska pada pH 10, hijau kekuningan pada pH 11, dan kuning pada pH 12.

Hal ini sedikit berbeda dengan hasil pengujian Antosianin yang dilakukan oleh (Devarayan & Kim, 2015) yang mendapatkan hasil berupa perbedaan warna yang cukup kontras antar setiap larutan. Hal ini dapat disebabkan karena kurang pekatnya ekstrak antosianin yang digunakan sebagai indikator pada penelitian ini, sehingga mengakibatkan warna yang dihasilkan terlihat kurang kontras. Hal ini dapat pula disebabkan oleh perbedaan set larutan pH yang digunakan untuk pengujian. Penelitian pada literatur tersebut menggunakan buffer sebagai set larutan penguji warna, sedangkan pada penelitian ini, set larutan uji yang digunakan dibuat oleh peneliti dari asam kuat HCl dan Basa kuat NaOH, kesalahan dalam pemipetan juga dimungkinkan sebagai salah satu penyebab adanya perbedaan warna yang dihasilkan ini.

Sebagai perbandingan, dilakukan juga pengujian warna senyawa antosianin terhadap buffer asetat pH 5, buffer posfat pH 7, dan buffer amonia pH 10. Hasil yang didapatkan dari penetesan senyawa antosianin terhadap ketiga larutan tersebut ialah sebagai berikut :



**Gambar 4. Pengujian perubahan senyawa Antosianin pada larutan buffer pH 5, 7, dan 10**

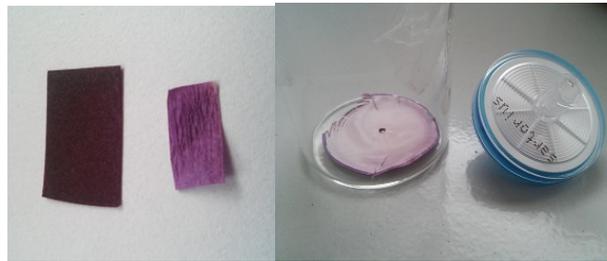
**Tabel 2.**  
**Panjang gelombang maksimum larutan buffer pH 5, 7, dan 10 yang telah diberi indikator senyawa Antosianin**

pH	Rentang panjang gelombang 300 - 400nm	Range Panjang Gelombang 400 -780 nm
Buffer pH 5	320	547
Buffer pH 7	318	594
Buffer pH 10	372	613

Sumber : Data Primer, 2016

Seperti dapat dilihat pada Gambar 4 , pengujian ekstrak antosianin pada larutan buffer pH 5, 7, dan 10 menghasilkan warna ungu muda, biru, dan hijau daun. Jika dibandingkan dengan deretan larutan yang telah dibuat secara analitis di atas, ternyata warna yang dihasilkan pH 7 dan pH 10 pada larutan basa NaOH berbeda dengan warna ekstrak antosianin yang dihasilkan pada larutan buffer pH 7 dan 10. Hal ini kemungkinan disebabkan larutan asam dan basa yang telah dibuat sangatlah tidak stabil sehingga sedikit kesalahan pengenceran akan sangat berpengaruh terhadap pergeseran pH. Sedangkan larutan buffer memiliki pH yang lebih stabil. Namun demikian, percobaan ini memberikan hasil dan bukti bahwa senyawa Antosianin adalah senyawa yang baik untuk digunakan sebagai indikator dan memiliki rentang perubahan warna yang cukup luas sebagai indikator, yaitu dimulai dari range sekitar 520 nm hingga sekitar 620 nm.

Untuk tujuan pembuatan dipstik carik-celup, dibutuhkan media sebagai pengimobilisasi senyawa ekstrak antosianin. Banyak literatur menyatakan bahwa kertas selulosa adalah media yang baik bagi imobilisasi senyawa warna (Isaad & el Achari, 2011). Pada penelitian ini, kertas selulosa yang digunakan ialah kertas isap, membrane filter, dan kertas Whatman. Pada bagian sebelumnya telah dijelaskan pula penggunaan kertas Whatman No.2 ukuran 125 mm dalam penentuan berat jenis hasil ekstraksi kol ungu.



**Gambar 5. Imobilisasi pada kertas Whatman: kertas isap (kiri), dan pada membran filter (kanan).**

Setelah dilakukan pengujian imobilisasi pada berbagai media, yaitu kertas Whatman, kertas isap, dan membran filter, didapatkan hasil bahwa penggunaan kertas Whatman memiliki kapasitas yang paling baik, seperti terlihat pada Gambar 5. Kertas isap memiliki pori yang besar, namun bersifat rapuh. Sedangkan membran filter memiliki kelemahan pada harganya yang tinggi, sulitnya membuka plastik penutup filter, serta warna Antosianin yang pudar dalam membran filter, yang mungkin diakibatkan pori membran yang sangat kecil.

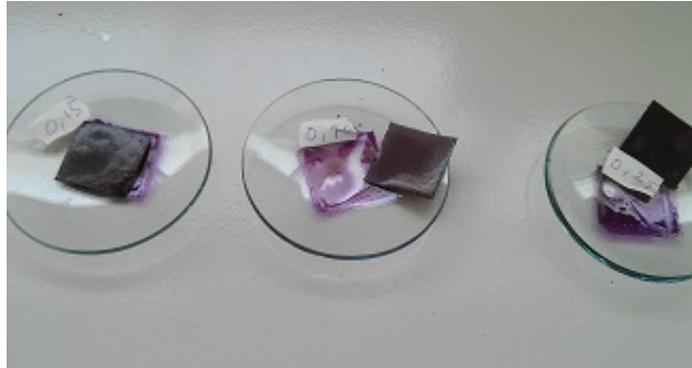
Untuk mengetahui kapasitas dari kertas whatman tersebut dalam mengimobilisasi senyawa antosianin, maka dilakukan sebuah optimasi. Optimasi yang dilakukan ialah dengan menyuntikkan sejumlah larutan antosianin pada kertas Whatman 2x2cm. Optimasi yang dilakukan ialah pada volume 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, dan 0,25 mL. Hasil yang didapatkan ialah seperti yang disajikan pada Tabel 3 dibawah ini.

**Tabel 3.**  
**Penentuan kapasitas kertas Whatman no.2 terhadap larutan Antosianin bj 646,6 mg/mL**

No.	Volume Larutan Antosianin yang disuntikan (mL)	Massa Kertas Whatman 2x2 cm Kosong (mg)	Massa Kertas Whatman + Antosianin Setelah Kering (mg)	Massa ekstrak Antosianin Yang terimobilisasi (mg)
1.	0,05	359	720	361
2.	0,1	386	902	516
3.	0,15	373	Tidak dapat terukur	Tidak dapat dihitung
4.	0,2	351	Tidak dapat terukur	Tidak dapat dihitung
5.	0,25	364	Tidak dapat terukur	Tidak dapat dihitung

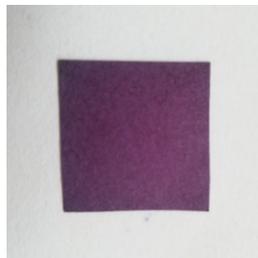
Dari hasil tersebut didapatkan bahwa, ekstrak antosianin (bj 646,6 mg/mL) tidak dapat tertampung lagi oleh kertas Whatman no.2 pada penambahan ekstrak sebanyak 0,15 mL dan

yang lebih dari itu. Senyawa ekstrak antosianin tersisa cukup banyak dan tidak dapat terserap lagi seperti yang dapat dilihat pada Gambar 6 di bawah ini.



**Gambar 6. Imobilisasi senyawa antosianin dalam kertas selulose yang melebihi kapasitas (penambahan ekstrak antosianin 0,15 mL; 0,2 mL dan 0,25 mL)**

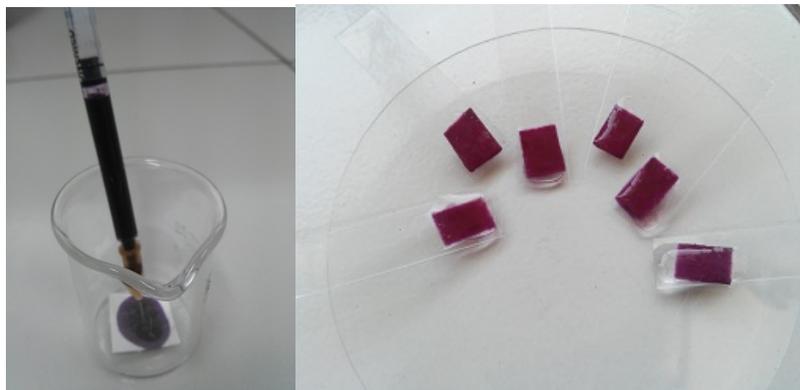
Maka dapat disimpulkan bahwa kertas Whatman no.2 dengan ukuran 2x2 cm (0,04 gram) hanya dapat menampung ekstrak antosianin (bj 646,6 mg/mL) pada volume maksimal 0,1 mL. Dengan kata lain, daya tampung maksimal yang didapatkan ialah 1,62 gr ekstrak antosianin dalam setiap gram kertas Whatman no.2 (1,62gr/gr). Selbihnya, ekstrak antosianin tidak dapat terserap, dan kertas pun tidak dapat kering, melainkan menghasilkan kertas yang lengket. Oleh karena itu, pada percobaan selanjutnya, digunakan volume 0,1 mL ekstrak antosianin (bj 646,6 mg/mL) untuk membuat dipstik.



**Gambar 7. Imobilisasi 0,1 mL senyawa Antosianin dalam Kertas Whatman no.2 2x2 cm**

Untuk tujuan pembuatan dipstik dilakukan impregnasi kertas Whatman no.2 dengan ekstrak antosianin (bj 646,6 mg/mL) sebanyak 0,5mL. Kemudian dilakukan variasi proses pengeringan pada suhu kamar selama +4jam dan pada oven 65°C selama 1 jam. Kertas Whatman berwarna ungu yang telah kering kemudian dibagi menjadi ukuran 1x1 cm. Hasil

yang didapatkan ialah, kertas berwarna ungu tua untuk pengeringan di suhu ruang, dan kertas berwarna ungu kehitaman untuk pengeringan menggunakan oven. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan oven membuat indikator antosianin menjadi tidak representatif untuk pengujian, sehingga pengeringan kertas-kertas berikutnya dilakukan pada suhu ruang. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Rehman dkk., (2017) bahwa senyawa antosianin terdegradasi pada suhu tinggi. Whatman terimpregnasi antosianin yang telah dipotong-potong kemudian ditempelkan pada mika plastik berbentuk persegi panjang yang memfasilitasi area sentuh dan area test menggunakan gel agarose seperti dapat dilihat pada Gambar 8.

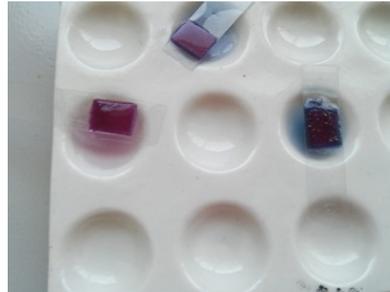


**Gambar 8. Proses pembuatan dipstik (pelapisan dengan gel agarosa)**

Whatman terimpregnasi antosianin direkatkan dengan variasi pelapisan menggunakan 3 jenis perekat yaitu: agarose, albumin dan putih telur. Untuk pelapisan menggunakan agarose (pelarut aquades), dipstik dimasukkan kedalam lemari pendingin selama 2-3jam. Sedangkan untuk pelapisan dengan albumin + gliserin, dipstik dimasukkan kedalam oven selama 24jam. Sedangkan dipstik yang menggunakan putih telur dikeringkan pada suhu ruangan. Bahan-bahan tersebut digunakan karena memiliki pori, mudah didapat dan ramah lingkungan dan tidak bersifat toksik.

Kemudian dilakukan pengujian menggunakan buffer pH 5,7, dan 10. Ternyata pada pengujian ini tidak didapatkan hasil yang diinginkan. Bagi dipstik dengan pelapis agarose konsentrasi 0,5% diharapkan memiliki daya kapilaritas besar, namun setelah dikeringkan dalam lemari es, gel pelapis dipstik lakmus anthosianin hancur. Dipstik dengan pelapis agarose konsentrasi 1%, pelapis tidak hancur, dan larutan buffer dapat menyerap tetapi kertas lakmus lebih mudah lepas jika diimpregnasikan lebih lama. Sementara pada dipstik dengan

pelapis agarose konsentrasi 2%, tidak hancur, tidak terlepas tetapi buffer kurang terserap dengan baik, sehingga nampak hampir tidak terjadi perubahan warna pada beberapa detik pertama. Perubahan warna teramati setelah  $\pm$  2 hingga 3 menit kemudian. Dipstik inilah yang dianggap memiliki hasil paling ideal.



**Gambar 9. Pengujian lakmus antosianin dengan pelapis agarose 2%**

Dikarenakan hasil yang dijelaskan tersebut, maka dilakukan pembuatan dipstik berbahan perkat albumin+gliserin pada satu sisi permukaan kertas saja sehingga terdapat sisi permukaan yang terbuka. Dipstik yang dibuat dengan perekat albumin+gliserin ini pun tidak memberikan hasil yang baik. Dipstik tersebut hampir tidak menunjukkan perubahan warna ketika dicelupkan ke dalam larutan buffer. Ini dapat dikarenakan pori-pori kertas Whatman terisi oleh zat albumin+gliserin yang memadat pada pori whatman. Hasil yang sama didapatkan pula pada pengujian dipstick yang menggunakan putih telur sebagai perekat, yaitu hampir tidak memberikan perubahan warna.

Penelitian dilanjutkan pada pengujian ekstrak antosianin terhadap urin menggunakan metode tetes. Sampel urin yang digunakan adalah sampel urin normal dengan pH 6 yang didapatkan dari mahasiswa Analis Kesehatan, Stikes Jenderal A.Yani yang diukur menggunakan Urinalisis Reagen Strips Verify. Urin ini kemudian diambil 15 mL, disimpan kedalam tabung kemudian ditambahkan 3 tetes ekstrak antosianin, setelah beberapa detik tampak perubahan warna yang terjadi dari warna kuning cerah menjadi berwarna jingga muda, kemudian sampel urin yang sama dibagi menjadi tiga yang masing-masing 15 mL dan ditambah buffer pH 5, 7, dan 10 selanjutnya diuji dengan cara yang sama menggunakan ekstrak antosianin. Terjadi perubahan warna pada masing-masing tabung yang dapat dilihat pada gambar dalam Tabel 4 berikut ini.

**Tabel 4.**  
**Pengujian larutan antosianin pada urin dan pada urin + buffer**

Metode Pengujian	Warna			
	Sampel urin (pH 6)	Sampel urin + buffer pH 5	Sampel urin + buffer pH 7	Sampel urin+ buffer pH 10
Ditetesi ekstrak antosianin				

Sumber : Data Primer, 2016

## SIMPULAN

Dari serangkaian percobaan dalam penelitian ini, diketahui bahwa kandungan zat pigmen antosianin berhasil diekstraksi dari kol ungu dengan pelarut etanol 80% dengan menghasilkan larutan berwarna ungu cerah. Setelah dilakukan pemekatan dengan evaporator vakum, didapatkan larutan indikator antosianin dengan konsentrasi 646,6 mg/mL, dan pH larutan = 6, dan panjang gelombang maksimum 550 nm. Dari pengujian larutan senyawa antosianin hasil ekstraksi, terlihat bahwa antosianin merupakan senyawa yang sangat baik sebagai indikator pH dengan rentang panjang gelombang yang ditemukan dalam penelitian ini ialah mulai dari 523nm hingga 625nm. Dipstik pengujian pH urin telah berhasil dibuat dengan menggunakan bahan-bahan alami yang mudah ditemukan, dan serangkaian data base warna telah ditemukan dengan indikator antosianin. Hasil optimasi imobilisasi larutan Antosianin pada kertas Whatman no.2 ialah sebanyak 1,62 gr ekstrak antosianin dalam setiap gram kertas Whatman no.2. Pengujian ekstrak antosianin pada urin memberikan warna jingga kekuningan cerah pada urin pH 5, jingga pada urin pH 6, jingga kemerahan pada urin pH 7, dan biru tua pada urin pH 10. Namun masih dibutuhkan optimasi lebih lanjut untuk mendesign dipstik pengujian pH dari ekstrak antosianin yang lebih representatif. Optimasi dapat dilakukan pada parameter pemilihan batang dipstik, jenis perekat, serta pemilihan konsentrasi ekstrak antosianin agar warna yang dihasilkan lebih terlihat jelas.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari Hibah Internal tahun 2016 Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Jenderal Achmad Yani (saat ini telah bergabung menjadi Universitas Jenderal Achmad Yani).

## REFERENSI

- Devarayan, K., & Kim, B. S. (2015). Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 209, 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.120>
- Fedenko, V. S., Shemet, S. A., & Landi, M. (2017). UV–vis spectroscopy and colorimetric models for detecting anthocyanin-metal complexes in plants: An overview of in vitro and in vivo techniques. *Journal of Plant Physiology*, 212, 13–28. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2017.02.001>
- Hamilton, R. G. (2010). Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S284–S296. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.055>
- Isaad, J., & el Achari, A. (2011). Colorimetric sensing of cyanide anions in aqueous media based on functional surface modification of natural cellulose materials. *Tetrahedron*, 67(26), 4939–4947. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2011.04.061>
- Li, H., Deng, Z., Zhu, H., Hu, C., Liu, R., Young, J. C., & Tsao, R. (2012). Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. *Food Research International*, 46(1). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.014>
- Mambatta, A. K., Jayarajan, J., Rashme, V. L., Harini, S., Menon, S., & Kuppusamy, J. (2015). Reliability of dipstick assay in predicting urinary tract infection. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 4(2), 265. <https://doi.org/10.4103/2249-4863.154672>
- Ochoa, S., Durango-Zuleta, M. M., & Felipe Osorio-Tobón, J. (2020). Techno-economic evaluation of the extraction of anthocyanins from purple yam (*Dioscorea alata*) using ultrasound-assisted extraction and conventional extraction processes. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 111–123. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2020.04.007>
- Pimenta, A. M., Souto, M. R. S., Catarino, R. I. L., Leal, M. F. C., & Costa Lima, J. L. F. (2013). Ofloxacin Determination in Urine, Serum and Pharmaceuticals Using an Automatic Flow Potentiometric System. *Analytical Sciences* 29:9, 29(9), 893–898. <https://doi.org/10.2116/ANALSCI.29.893>
- Rehman, R. N. U., You, Y., Zhang, L., Goudia, B. D., Khan, A. R., Li, P., & Ma, F. (2017). High temperature induced anthocyanin inhibition and active degradation in *Malus profusion*. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01401>
- Renjith, V., Yesodharan, R., Noronha, J., Ladd, E., & George, A. (2021). Qualitative Methods in Health Care Research. *International Journal of Preventive Medicine*, 12(1). [https://doi.org/10.4103/IJPVM.IJPVM\\_321\\_19](https://doi.org/10.4103/IJPVM.IJPVM_321_19)
- Rundubelo, B. A., Ridhay, A., Hardi, J., Puspitasari, D. J., Kimia, J., Mipa, F., Tadulako, U., Soekarno, P. J., Km, H., Tadulako, K. B., & Palu, T. (2019). Uji stabilitas pigmen ekstrak ubi banggai (*Dioscorea bulbifera* var *celebica* Burkill) pada berbagai variasi pH

dan lama paparan sinar matahari. kovalen: Jurnal Riset Kimia, 5(1), 9–16.  
<https://doi.org/10.22487/KOVALEN.2019.V5.I1.14562>.