

INDIKATOR TITRASI ASAM-BASA DARI EKSTRAK BUNGA SEPATU (*Hibiscus rosa sinensis* L)

Indicator of Acid-Base Titration from the Extract of *Hibiscus rosa sinensis* L Flower

Siti Nuryanti, Sabirin Matsjeh, Chairil Anwar, Tri Joko Raharjo

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta 55281
Email: sitinoer_untad@yahoo.com

ABSTRAK

Titration acid-base memerlukan indikator untuk menunjukkan perubahan warna pada setiap interval derajat keasaman (pH). Indikator sintetis yang digunakan selama ini mempunyai beberapa kelemahan seperti polusi kimia, ketersediaan dan biaya produksi mahal. Upaya penelitian sudah dilakukan untuk menggantikan indikator sintetis dengan indikator dari ekstrak mahkota bunga sepatu. Indikator herbal tersebut dibuat dengan cara mengekstrak mahkota bunga *Hibiscus rosa sinensis* L dengan menggunakan pelarut metanol-asam asetat. Kemudian dievaluasi dengan indikator pembanding fenolftalein dan metil oranye (produksi E merck) untuk titrasi asam-basa yaitu asam kuat-basa kuat, basa lemah-asam kuat dan asam lemah-basa kuat. Dari hasil penelitian diketahui bahwa indikator dari mahkota bunga sepatu untuk menunjukkan titik ekuivalen dalam titrasi tersebut memberikan hasil yang setara dengan indikator pembandingnya. Hasil penelitian menunjukkan, indikator dari mahkota bunga sepatu dapat sebagai pengganti indikator sintetis (metil oranye dan fenolftalein) yang selama ini digunakan.

Kata kunci: Indikator, titrasi asam-basa, mahkota bunga, bunga sepatu

ABSTRACT

Titration acid-base needs indicator to show the change of color on interval of hydrogen exponent/degree of acid (pH). Indicator of synthetic which always be used have disadvantages like chemical pollution, stock and expensive of production cost. The research has been carried out to substitute the synthetic indicator with herbal indicator extracted from flower crown of *Hibiscus rosa sinensis* L extract. The herbal indicator was extracted from the flower crown *Hibiscus rosa sinensis* L using a mixture methanol-acetic acid. Then it was evaluated with phenolphthalein and methyl orange (E merck) comparer to titration the acid-base, they are strong acid-strong base, weak base-strong acid and weak acid-strong base. The result of research show that herbal indicator of flower crown *Hibiscus rosa sinensis* L to show the equivalent point in all titrations give peer result with the comparison. With the research result hoped that indicator titration acid-base flower crown *Hibiscus rosa sinensis* L is able to as replace synthetic indicator (metyl orange and phenolphtalein) which always be used before.

Keywords: Indicator, titration acid-base, flower crown, *Hibiscus rosa sinensis* L

PENDAHULUAN

Tanaman bunga sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L), mudah dibudidayakan di daerah beriklim tropis dengan stek batang, mulai berbunga umur 3-4 bulan (Rauf dan Nuryanti, 2004). Kelopak bunganya dikenal sebagai *refrigerant* dan *demulcent*, daunnya digunakan untuk obat pencahar, sedangkan akarnya dimanfaatkan sebagai obat batuk. Studi fitokimia

mengungkapkan terdapat bahan-bahan kimia diantaranya flavonoid, flavonoid glikosida, hibiscetine, asam sitrat, asam tartrat, siklopropenoid dan pigmen antosianin (Anja dkk., 2003; Gilani dkk., 2005). Antosianin yang terdapat pada bunga sepatu adalah jenis pelargonidin (Nuryanti dan Pursitasari, 2008).

Antosianin dari berbagai tanaman semakin banyak digunakan dalam industri makanan dan obat-obatan karena

warnanya menarik dan aman bagi kesehatan. Warna antosianin sangat dipengaruhi oleh struktur antosianin serta derajat keasaman (pH) (Jacman dkk., 1987). Antosianin cenderung tidak berwarna di daerah pH netral, di dalam larutan yang pHnya sangat asam ($\text{pH} < 3$) memberikan warna merah yang maksimum, sedangkan di dalam larutan alkali ($\text{pH} 10,5$) pigmen antosianin mengalami perubahan warna menjadi biru (Torskangerpoll dkk., 2005).

Berdasarkan perubahan warna pada ring pH tersebut, mungkinkah bahan alam khususnya bunga yang mengandung antosianin dapat digunakan sebagai indikator titrasi asam-basa. Bunga sepatu yang berwarna merah mengandung antosianin, dapatkah ekstrak bunga tersebut digunakan sebagai indikator titrasi asam-basa. Di dalam titrat dan titran yang ditambah indikator dari ekstrak bunga tersebut dapat memberikan perubahan warna yang jelas untuk menunjukkan titik ekuivalen dan memberikan hasil yang setara dengan indikator pembanding fenolftalein dan metil oranye (indikator sintetis).

Indikator sintetis tersebut sangat dibutuhkan di tingkat sekolah lanjutan sampai dengan perguruan tinggi, yang selama ini digunakan memiliki beberapa kelemahan seperti polusi kimia, ketersediaan dan biaya produksi tinggi. Indikator sintetis titrasi asam-basa harganya pun relatif mahal dan sangat sulit didapatkan di daerah pedesaan (khususnya di luar Jawa).

Tujuan penelitian ini yang utama adalah bagaimana membuat ekstrak bunga sepatu sebagai indikator titrasi asam-basa. Selain itu bertujuan untuk mengetahui apakah indikator dari ekstrak mahkota bunga sepatu dapat digunakan sebagai pengganti indikator sintetis. Keberhasilan penelitian ini secara fundamental dapat membantu pemerintah di bidang pendidikan dan dapat mengalihkan indikator sintetis ke bahan alam yang mudah dilestarikan, akan dapat meningkatkan nilai ekonomis bunga sepatu serta dapat sebagai acuan untuk pembuatan indikator dari bunga tersebut bagi guru kimia di pedesaan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Mahkota bunga sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Trisik, Kabupaten Kulon Progo, diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada. Bunga yang digunakan sebagai sampel adalah bunga yang berwarna merah. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah natrium karbonat, natrium bikarbonat, asam asetat, indikator metil oranye (MO), indikator fenolftalein (PP), asam asetat, metanol, natrium hidroksida, dan asam klorida, semua bahan kimia tersebut yang digunakan dalam penelitian ini berderajat proanalisis produksi E. Merck.

Alat yang digunakan antara lain seker untuk ekstraksi (IKA®KS 130 basic), rotaevaporator Buchii (R-124), corong Buchner, pH meter (Hanna HI-8314), buret mikro (JENCONS Scientific USA), pipet mikro (SOLOREK Swiss), pipet volum, erlenmeyer, pengaduk magnet dan neraca analitik (Libror EB-330 Shimadzu).

Preparasi Ekstrak Mahkota Bunga Sepatu

Ditimbang sebanyak 50 g mahkota bunga sepatu, lalu dicuci dengan aquades sampai bersih, dipotong kecil-kecil, kemudian ditambah pelarut n-heksana sebanyak 500 mL dan dimaserasi selama 20 jam selanjutnya disaring. Residu hasil penyaringan diekstrak dengan pelarut etil asetat sebanyak 500 mL selama 20 jam. Residu kemudian diekstraksi kembali dengan metanol-asam asetat sebanyak 500 mL selama 20 jam. Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan penyaring kain kasa, kemudian disaring kembali dengan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan kemudian dievaporasi sampai volume menjadi setengahnya. Hasil evaporasi siap digunakan sebagai indikator titrasi asam-basa.

Uji Coba Ekstrak Mahkota Bunga Sepatu Sebagai Indikator

Titration basa kuat dengan asam kuat. Diukur sebanyak 45 mL larutan NaOH yang sudah distandarisasi, lalu dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian ditambah beberapa tetes indikator ekstrak mahkota bunga sepatu sampai larutan berwarna hijau muda, selanjutnya dititrasi dengan larutan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna. Titrasi dilakukan 3 kali dan dicatat volume larutan HCl 0,1 N yang diperlukan untuk titrasi. Indikator fenolftalein merupakan indikator titrasi asam-basa memiliki jangkauan pH 8,0-9,6 (Day dan Underwood, 1998), indikator ini digunakan sebagai pembanding. Dilakukan penelitian yang sama dengan menggantikan indikator ekstrak bunga sepatu dengan indikator pembanding fenolftalein.

Titration basa lemah dengan asam kuat. Diukur sebanyak 45 mL NaHCO_3 , dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditambah beberapa tetes indikator dari ekstrak mahkota bunga sepatu sampai larutan berwarna hijau muda, kemudian dititrasi dengan larutan HCl 0,1 N yang sudah distandarisasi. Penambahan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna. Titrasi dilakukan 3 kali dan dicatat volume larutan HCl 0,1 N yang diperlukan untuk titrasi.

Menurut Day dan Underwood (1998) indikator metil oranye mempunyai jangkauan pH 3,1-4,4 merupakan indikator titrasi basa lemah-asam kuat, sehingga indikator tersebut dipakai sebagai pembanding. Dalam penelitian ini dikerjakan titrasi yang sama dengan menggunakan indikator metil oranye sebagai pembanding.

Titrasi asam lemah dengan basa kuat. Diukur sebanyak 45 mL larutan asam asetat (CH_3COOH), dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditambah beberapa tetes indikator ekstrak bunga sepatu sampai larutan berwarna merah muda, lalu dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N yang sudah distandarisasi. Penambahan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna. Titrasi dilakukan 3 kali dan dicatat volume larutan HCl 0,1 N yang diperlukan untuk titrasi. Dalam penelitian ini dikerjakan titrasi yang sama dengan menggunakan indikator fenolftalen sebagai pembanding.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Mahkota Bunga Sepatu Sebagai Indikator Titrasi Asam-Basa

Hasil indikator dari ekstrak mahkota bunga sepatu yang diperoleh, menunjukkan perubahan warna yaitu dalam larutan asam berwarna merah dan dalam basa berwarna hijau. Perubahan warna ekstrak mahkota bunga sepatu dalam larutan asam dan basa disebabkan adanya antosianin, larutan ekstrak mahkota bunga sepatu dalam asam tidak berwarna dalam basa berwarna violet (Bhagat dkk., 2008). Antosianin dalam strukturnya mengandung kation flavilium, dapat terjadi perubahan warna karena terjadinya perubahan bentuk struktur yang disebabkan oleh pengaruh pH. Hasil analisis ekstrak mahkota bunga sepatu, dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, kondisi larutan pada pH 8 muncul serapan pada daerah panjang gelombang (λ maks) 601 nm, warna larutan dalam pH tersebut hijau kebiruan. Perubahan bentuk struktur antosianin karena pengaruh pH disajikan pada Gambar 1.

Antosianin struktur (1) pada Gambar 1, dalam kondisi asam berwarna merah, apabila pH dinaikan ($\text{pH} < 4$) akan terbentuk karbinolbase (3) tidak berwarna dan selanjutnya

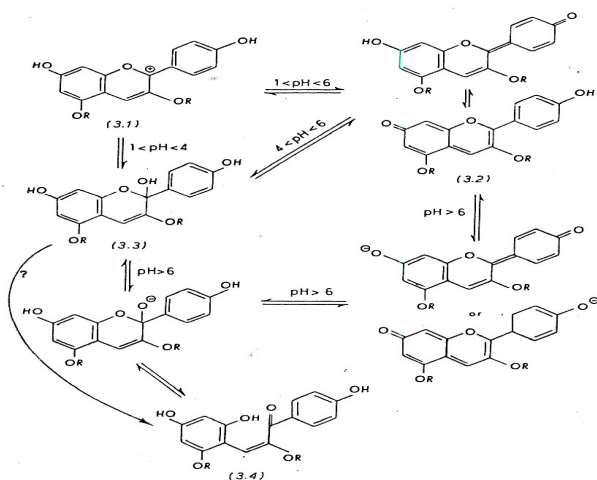
terjadi kestimbangan tautomeri membentuk kalkon (4). Pada kondisi $\text{pH} > 6$ mengalami perubahan bentuk struktur menjadi anhidrobase (2), yang dapat terjadi perluasan ikatan delokal, sehingga menyebabkan perubahan berwarna yang lebih kuat intensitasnya dan menghasilkan warna biru. Anhidrobase tersebut memberikan serapan pada daerah panjang gelombang (λ maks) 610 nm (Mabry dkk., 1987; Brouillard dan Delaporte, 1977; Brouillard dkk., 1982).

Uji Coba Ekstrak Mahkota Bungasepatu Sebagai Indikator Titrasi Asam-Basa

Titrasi basa kuat dengan asam kuat. Ekstrak mahkota bunga sepatu sebagai indikator karena mengandung antosianin, yang dapat mengalami kesetimbangan dengan membentuk senyawa anhidrobase. Hasil yang diperoleh pada titrasi basa kuat dengan asam kuat menunjukkan pH di atas 9,60 berwarna hijau, perubahan warna tersebut menunjukkan jangkauan pH indikator fenolftalein yaitu 8,0-9,6 (Day dan Underwood, 1998). Diantara pH 9,60-4,85 terjadi perubahan warna sedikit demi sedikit dari hijau menjadi merah, dan pH di bawah 4,85 larutan berwarna merah. Indikator pembanding yang digunakan fenolftalein, hasil yang diperoleh dengan indikator pembanding menunjukkan pH di atas 9,50 berwarna merah muda, diantara pH 9,50-4,90 terjadi perubahan sedikit demi sedikit dari merah muda menjadi tidak berwarna, pH dibawah 4,90 larutan tidak berwarna. Pada uji ini ekstrak mahkota bunga sepatu dapat digunakan untuk titrasi basa kuat dengan asam kuat. Hal ini dibuktikan hasil titrasi menggunakan ekstrak bunga tersebut dan indikator fenolftalein sebagai pembanding memberikan hasil yang setara.

Titrasi basa lemah dengan asam kuat. Hasil titrasi basa lemah dengan asam kuat, menggunakan indikator ekstrak mahkota bunga sepatu yang diperoleh menunjukkan pH di atas 4,29 berwarna hijau, diantara pH 4,29-3,09 terjadi perubahan warna sedikit demi sedikit dari hijau menjadi merah, dan pH di bawah 3,09 larutan berwarna merah. Perubahan warna dari indikator ekstrak bunga sepatu tersebut berada dalam jangkauan indikator metil oranye yaitu pada 4,4-3,1 (Day dan Underwood, 1998). Indikator pembanding yang digunakan metil oranye, hasil yang diperoleh dengan indikator pembanding menunjukkan pH di atas 4,55 berwarna kuning, diantara pH 4,55-3,0 terjadi perubahan sedikit demi sedikit dari kuning menjadi merah. Pada uji ini ekstrak mahkota bunga sepatu dapat digunakan untuk titrasi basa lemah dengan asam kuat. Hal ini dibuktikan hasil titrasi menggunakan ekstrak tersebut memberikan hasil yang setara dengan indikator metil oranye.

Titrasi asam lemah dengan basa kuat. Hasil titrasi asam lemah dengan basa kuat dengan menggunakan indikator ekstrak mahkota bunga sepatu yang diperoleh menunjukkan pH di bawah 5,80 berwarna merah, diantara pH 5,80-9,55



Gambar 1. Bentuk kesetimbangan kation flavilium pada antosianin dalam berbagai rentang pH (Mabry dkk., 1987; Brouillard dan Delaporte, 1977; Brouillard dkk., 1982)

terjadi perubahan warna sedikit demi sedikit dari merah menjadi hijau, dan pH di atas 9,55 larutan berwarna hijau. Indikator pembanding yang digunakan fenolftalein, hasil yang diperoleh dengan indikator pembanding menunjukkan pH di atas 9,10 berwarna merah muda, diantara pH 5,70-9,10 terjadi perubahan sedikit demi sedikit dari tidak berwarna menjadi merah, di atas pH 9,10 berwarna merah muda. Pada uji ini ekstrak mahkota bunga sepatu dapat digunakan untuk titrasi asam lemah dengan basa kuat. Hal ini dibuktikan titrasi menggunakan ekstrak tersebut memberikan hasil yang setara dengan indikator fenolftalein. Hasil titrasi menggunakan indikator ekstrak bunga sepatu pada berbagai kondisi titrasi seperti terangkum dalam Tabel 1.

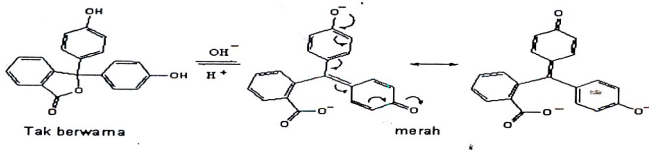
Pada titrasi basa kuat-asam kuat, basa lemah-asam kuat dan sebaliknya, titik ekuivalen yang terjadi pada saat titrasi berlangsung tidak akan dapat diamati secara visual (dengan mata), karena perubahan warna dari suatu indikator baru bisa teramati pada saat mol titran lebih besar dari pada mol titrat, sehingga yang bisa teramati pada saat titrasi adalah titik akhir titrasi. Sebagai contoh pada titrasi asam kuat-basa kuat yaitu 50 mL 0,1 M HCl dititrasi dengan 0,1 M NaOH (Sumber data buku analisa kimia kualitatif, Day dan Underwood, 1998) pada saat volume NaOH 49,95 mL pH titrat 4,30, dan pada saat volume NaOH tepat 50 mL pH titrat 7,0 akan tetapi ketika volume NaOH 50,05 mL (hanya kelebihan 0,05 mL) pH titrat naik dratis mencapai 9,70 indikator fenolftalein berwarna merah. Pada saat terjadinya titik ekuivalen secara teoritis pH 7, indika-

tor fenolftalein yang digunakan belum memberikan perubahan warna. Daerah pH titik ekuivalen tersebut berada antara rentang pH 4,30-9,70 (Day dan Underwood, 1998). Jika dibandingkan dengan hasil penelitian titrasi basa kuat dengan asam kuat menggunakan indikator yang sama rentang pH teramati antara 4,90-9,50, sedangkan dengan menggunakan indikator ekstrak bunga sepatu rentang pH teramati antara 4,85-9,60. Berdasarkan data tersebut bila dibandingkan ada kemiripan (hampir sama). Begitu pula untuk titrasi asam lemah dengan basa kuat dan sebaliknya titik ekuivalen pada saat berlangsungnya titrasi tidak dapat teramati, sehingga yang bisa teramati dalam titrasi asam-basa adalah titik akhir titrasi.

Senyawa-senyawa organik yang dapat digunakan sebagai indikator dalam titrasi mempunyai karakteristik yaitu senyawa memberikan perubahan warna terhadap perubahan suasana pH larutan. Perubahan warna dapat terjadi melalui proses keseimbangan bentuk molekul dan ion dari senyawa indikator tersebut. Sebagai contoh senyawa fenolftalein merupakan indikator asam lemah-basa kuat, seperti yang disajikan pada Gambar 2, mengalami perubahan kesetimbangan ion yang diikuti perubahan warna dari tidak berwarna pada kondisi asam menjadi merah pada kondisi basa. Dari reaksi kesetimbangan, diketahui bahwa senyawa indikator berada dalam bentuk ion yang dapat menghasilkan perubahan warna merah (Purwono dan Mahardani, 2009). Perubahan warna tersebut karena senyawa fenol dalam bentuk ion mengalami delokalisasi membentuk quinoid.

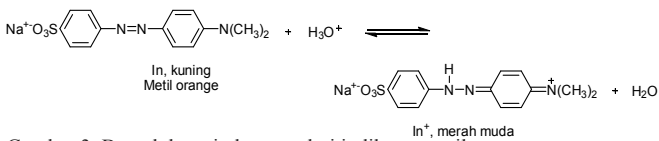
Tabel 1. Penggunaan indikator ekstrak bunga sepatu pada berbagai kondisi titrasi

Indikator	Kondisi titrasi dan titik ekuivalen					
	Asam lemah-basa kuat (CH ₃ COH dengan NaOH)		Basa kuat-asam kuat (NaOH dengan HCl)		Basa lemah-asam kuat (NaHCO ₃ dengan HCl)	
	Vol. NaOH 0,1 N (mL)	Warna akhir titrasi dan pH titrat	Vol. HCl 0,1 N (mL)	Warna akhir titrasi dan pH titrat	Vol. HCl 0,1 N (mL)	Warna akhir titrasi dan pH titrat
Fenolftalein	45,23 ± 0,342	Tdk berwarna-merah, pH 5,70 - 9,10	45,20 ± 0,312	Merah-tdk berwarna, pH titrat 9,50-4,90		
Metil oranye					45,23 ± 0,30	Kuning-merah, pH larutan 4,55-3,0
Bunga sepatu	45,30 ± 0,35	Merah-hijau pH titrat 5,80 - 9,55	45,37 ± 0,297	Hijau-merah, pH titrat 9,60 - 4,85	45,38 ± 0,35	Hijau-merah, pH titrat 4,29-3,09
	Terjadi kenaikan pH pada titik akhir titrasi. Titik ekuivalen tercapai diantara rentang pH tersebut		Terjadi penurunan pH pada titik akhir titrasi. Titik ekuivalen tercapai diantara rentang pH tersebut		Terjadi penurunan pH pada titik akhir titrasi. Titik ekuivalen terjadi diantara rentang pH tersebut	



Gambar 2. Bentuk kestimbangan dari fenolftalein

Indikator metil oranye banyak digunakan dalam titrasi asam kuat-basa lemah merupakan suatu basa berwarna kuning, dengan penambahan ion hidrogen menghasilkan kation berwarna merah muda (Day dan Underwood, 1998). Bentuk kesetimbangan dari metil oranye seperti disajikan pada Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Bentuk kesetimbangan dari indikator metil oranye

Struktur antosianin mempunyai delokalisasinya yang dapat diperpanjang akibat pengaruh basa (kenaikan pH), membentuk anhidrobase, sehingga terjadi perubahan warna. Perubahan bentuk struktur yang menyebabkan terjadinya perubahan warna ini ada kemiripan dengan indikator fenolftalein. Sehingga ekstrak mahkota bunga sepatu yang mengandung senyawa antosianin dapat sebagai pengganti indikator sintetis.

KESIMPULAN

Ekstrak mahkota bunga sepatu dapat digunakan sebagai indikator pada titrasi asam-basa (asam kuat-basa kuat, asam lemah-basa kuat dan basa lemah-asam kuat). Perubahan warna dalam asam berwarna merah dan basa berwarna hijau. Terjadinya perubahan warna karena dalam ekstrak tersebut mengandung antosianin, yang dalam strukturnya terdapat kation flavilium membentuk anhidrobase akibat perubahan pH. Indikator ekstrak mahkota bunga sepatu mempunyai kemiripan dengan indikator metil oranye dan fenolftalein, sehingga dapat sebagai pengganti indikator tersebut.

SARAN

Untuk memperkaya khasanah pengetahuan pemanfaatan bunga sepatu yang berwarna merah, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang identifikasi struktur antosianin yang terdapat dalam bunga tersebut serta aplikasinya sebagai antioksidan dan zat pewarna.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Dikti, Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia, yang telah memberikan dana penelitian melalui Program Penelitian Hibah Bersaing, dengan nomor kontrak: 1787/H28/KP/2007 tanggal 30 April 2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Amor, B. dan Allaf, K. (2009). Impact of texturing using instant pressure drop treatment prior to solvent extraction of anthocyanins from Malaysian roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Food Chemistry* 115: 820-825.
- Anja, K., Latti, Kaisu, R., Riihinen, Pirjo, S. dan Kainulaine (2008). Isolasi and structure characterization of new anthocyanin derivat yellow pigments in oged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 190-196.
- Abdul, R.A. dan Nuryanti (2002). Pengaruh konsentrasi larutan terasi terhadap pertumbuhan akar tanaman bunga sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L). *Jurnal Kimia Tadulako* 5: 13-17.
- Bhagat, V.C., Radheshyam, D.P., Channerker, R.P., Shetty, S.C. dan Atul, A.S. (2008). Herbal indicators as a substitute to synthetic indicators. *Journal of Green Pharmacy* 122: 162-163.
- Brouillard, R. dan Delaporte (1977). Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration and tautomeric reactions of malvidin-3-glucoside. *American Journal Chemical Society* 99: 8461-8468.
- Brouillard, R., Iacobucci, G.A. dan Sweeny, J.G. (1982). Chemistry of anthocyanin pigments. 9. UV-visible spectrophotometric determination of the acidity constants of apigenidin and three related 3-dioxyflavilium Salts. *American Journal Chemical Society* 104: 7585-7590.
- Day dan Underwood (1998). *Quantitative Analysis: Analisis Kimia Kuantitatif, Terbitan ke-2*, (diterjemahkan oleh Soendoro, Widaningsih dan Rahardjeng), Penerbit Erlangga Surabaya.
- Gilani A., Sumra B., Khalid, H., Jabaz dan Abdul, J.S. (2005). Presence of cholinergic and calcium channel blocking activities explains the traditional use of *Hibiscus rosa-sinensis* in constipation and diarrhoea. *Journal of Ethnopharmacology* 102: 289-294.

- Jackman, R.L., Yada, R.Y., Tung, M.A. dan Speers, R.A. (1987). Separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis - A review. *Journal of Food Biochemistry* **11**: 179-208.
- Laleh, H., Frydoonfar, R., Heidary, R., Jamei dan Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four berberis species. *Journal of Nutrition* **5**: 90-92.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. dan Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer Verlag, New York.
- Nuryanti, S. dan Pursitasari, D.P. (2008). Isolasi Antosianin pada Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis L*) dan Penentuan Reliabilitasnya sebagai Indikator asam-basa. Seminar Nasional UGM Yogyakarta, 2008.
- Purwono, B. dan Mahardani, C. (2009). Pembuatan senyawa turunan azo dari eugenol dan penggunaannya sebagai indikator titrasi. *Indonesian Journal of Chemistry* **9**: 95-98.
- Torskangerpoll, Qyvind, M. dan Andersen (2004). Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Journal of Food Chemistry* **89**: 427-444.