

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Telang (*Clitoria ternatea*)

Tanaman Telang atau biasa disebut *Butterfly Pea Flower* merupakan jenis bunga dalam famili *Fabaceae* yang tumbuh merambat dengan tinggi 6 meter, ranting halus, dan daun majemuk (Zussiva et al., 2012). Bunga telang merupakan bunga majemuk, terbentuk pada ketiak daun, memiliki tangkai silindris, panjangnya kurang lebih 1,5 cm, memiliki kelopak berbentuk corong, mahkota berbentuk kupu-kupu dan berwarna biru, tangkai benang sari berlekatan membentuk tabung, kepala sari bulat, tangkai putik silindris, kepala putik bulat. Buah berbentuk polong, panjang 7-14 cm, bertangkai pendek, buah yang masih muda berwarna hijau setelah tua berubah warna menjadi hitam (Hartono et al., 2013). Tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) berasal dari Amerika Selatan bagian tengah yang menyebar ke daerah tropik sejak abad 19, terutama ke Asia Tenggara termasuk Indonesia. Tanaman ini tumbuh subur di bawah sinar matahari penuh, tetapi dapat tumbuh di bawah naungan seperti di perkebunan karet dan kelapa. Bunga telang (*Clitoria ternatea*) memiliki kemampuan beradaptasi dengan baik pada jenis tanah berpasir, mampu beradaptasi pada lingkungan dengan curah hujan 500- 900 mm, juga dapat tumbuh dan hidup pada intensitas hujan serendah-rendahnya 400 mm, salinitas, serta dapat tetap hidup meskipun terdapat gulma disekitarnya. Bunga telang (*Clitoria ternatea*) merupakan tumbuhan yang berhabitat di dataran rendah lembab dan dataran rendah agak lembab. Bunga telang (*Clitoria ternatea*) dapat berfungsi sebagai tanaman penutup tanah dan dapat berfungsi maksimal ketika umur tanaman mencapai 4 – 6 minggu setelah penanaman. Bunga telang (*Clitoria ternatea*) merupakan salah satu dari 60 spesies *Clitoria* yang tersebar di dunia (Kosai et al. 2015). Berikut ini nama umum dan klasifikasi dari bunga telang menurut (Cronquist, 1981) :

Nama umum

Indonesia : Kembang telang

Inggris : *Butterfly pea*

Klasifikasi

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
 Sub kingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)
 Divisi : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)
 Kelas : *Magnoliopsida* (berkeping dua / dikotil)
 Sub Kelas : *Rosidae*
 Ordo : *Fabales*
 Famili : *Fabaceae* (suku polong-polongan)
 Genus : *Clitoria*
 Spesies : *Clitoria ternatea*



(Marpaung, A.M. 2020)

Gambar 2.1 (Kiri) Tanaman telang, (kanan atas) bunga telang, (kanan bawah) bagian-bagian bunga telang.

Bunga telang termasuk tumbuhan monokotil dan mempunyai bunga yang berwarna biru, putih dan coklat. Bunga telang merupakan bunga berkelamin dua (*Hermaphroditus*) karena memiliki benang sari (alat kelamin jantan) dan putik (alat kelamin betina) sehingga sering disebut dengan bunga sempurna atau bunga lengkap.

2.1.1. Manfaat Bunga Telang

Bunga telang memiliki warna putih atau biru yang jelas dan ukuran yang relatif besar, sehingga digunakan sebagai tanaman hias di seluruh dunia, selain itu

bunga telang (*Clitoria ternatea*) juga dimanfaatkan sebagai obat untuk mata dan juga menjadi pewarna alami makanan atau minuman. Potensi bunga telang sebagai pakan yang baik karena memiliki nilai nutrisi yang tinggi dan juga sangat disukai ternak (Suarna, 2005). Jika ditinjau dari segi fitokimianya, bunga telang (*Clitoria ternatea*) mengandung beberapa bahan aktif yang berpotensi dijadikan obat-obatan. Potensi farmakologi bahan aktif pada bunga telang (*Clitoria ternatea*) antara lain sebagai anti kanker, anti inflamasi, anti bakteri, antioksidan, analgesik, antiparasit dan antisida, antihistamin, antidiabetes, immunomodulator, dan berpotensi juga dalam susunan syaraf pusat (Budiasih, 2017). Beberapa dokumen etnobotani mencatat pemanfaatan *Clitoria ternatea*, diantaranya adalah masyarakat Kapuas, Kalimantan Barat sebagai obat, hias dan adat (Haryanti et al. 2015), masyarakat di Gianyar, Bali untuk upacara adat, obat dan hias (Sutara 2016; Paramita et al. 2017; Defiani & Kriswiyanti 2019), dan masyarakat di Sulawesi Tengah memanfaatkan bunga dan akar *Clitoria ternatea* sebagai tanaman obat (Tabeo et al. 2019). Kembang telang (*Clitoria ternatea*) sudah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan berbagai penyakit sehingga dijadikan salah satu tanaman obat keluarga (TOGA). Bagian *Clitoria ternatea* yang umum dimanfaatkan adalah bunga dan daun. Bunga *Clitoria ternatea* dapat mengobati mata merah, mata lelah, tenggorokan, penyakit kulit, gangguan urinaria dan anti racun (Rokhman 2007; Triyanto 2016). Daun kembang telang yang ditumbuk dapat mengobati luka yang bernanah sedangkan jika direbus dan dicampur dengan tumbuhan lainnya dapat mengobati keputihan (Putri 2019). Di Asia Tenggara, pigmen biru bunga biasanya digunakan sebagai bahan pewarna makanan karena stabilitas tinggi. Melihat manfaat dan sifat dari bunga telang yang mudah tumbuh di Indonesia, serta aman untuk dikonsumsi maka antosianin dari bunga telang berpotensi untuk dijadikan pewarna alami pada bahan pangan. Warna biru dari bunga telang telah dimanfaatkan sebagai pewarna biru pada ketan di Malaysia. Bunga telang juga dimakan sebagai sayuran di Kerala (India) dan di Filipina (Lee dkk., 2011).

2.1.2. Kandungan Senyawa dalam Bunga Telang

Pigmen yang terkandung di dalam bunga telang meliputi flavanoids,

carotenoids, dan betalains (Yoshikazu, 2005 dalam Zussiva et al., 2012). Satu gram ekstrak kering bunga telang mengandung flavonoid rata-rata 11.2 mg ekuivalen katekin (Chayaratanasin et al., 2015). Flavonoid 25,8 mg setara kuersetin per gram ekstrak (Singh et al., 2018). Komponen flavonoid pada bunga telang adalah flavonol, antosianidin, flavanol, dan flavon (Gambar 2). Sekalipun demikian, antosianin bukanlah flavonoid yang paling banyak di dalam bunga telang. Fraksi antosianin hanya sekitar 27% dari total flavonoid dalam bunga telang (Kazuma et al., 2003). Adapun kandungan bunga telang dalam 100 gram dapat dilihat pada Tabel 2.1

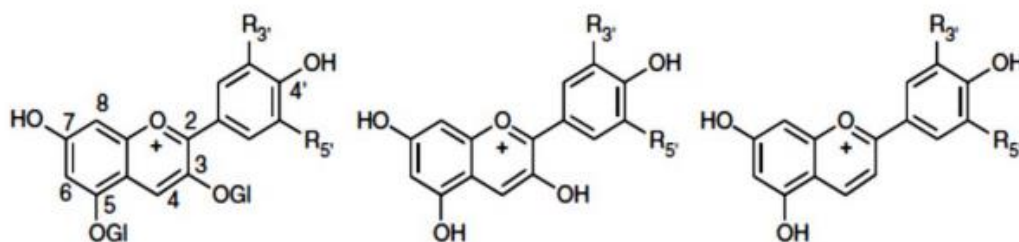
Kandungan Gizi	Kadar (%)
Kadar Air	92,4
Protein	0,32
Lemak	2,5
Karbohidrat	2,23
Serat Kasar	2,1

(Neda et al., 2013)

2.2 Antosianin

Antosianin adalah pigmen dari kelompok flavonoid yang larut dalam air, memiliki warna merah sampai biru dan tersebar luas pada tanaman. Terutama pada buah dan bunga, namun terdapat juga pada sayur-sayuran. Antosianin merupakan turunan struktur aromatik tunggal yaitu sianidin dan terbentuk dari pigmen sianidin dengan adanya penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi, dan glikosilasi. Antosianin memiliki kemampuan untuk bereaksi baik dengan asam maupun dengan basa, dalam media asam antosianin berwarna merah sedangkan dalam media basa berwarna ungu, biru dan hijau (Apriandi, 2003). Antosianin terletak pada bagian sel vakuola suatu tanaman, sehingga antosianin dapat diambil dari bagian-bagian tanaman seperti mahkota bunga, daun, buah, biji-bijian, hingga pada umbi-umbian. Pada beberapa jenis buah ataupun umbi-umbian, antosianin tidak saja terkandung pada bagian daging buah maupun umbi-umbiannya, tetapi juga terkandung pada bagian kulitnya. Konsentrasi antosianin pada tanaman dapat diamati dari tingkat kepekatan atau warna pada tanaman tersebut (Melania dkk, 2018). Saat ini terdapat 700 jenis antosianin yang

didapatkan dari berbagai jenis tanaman. Beberapa jenis antosianin yang memiliki peranan penting dalam bidang pangan antara lain pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, malvidin, petunidin, dan glikosida-glikosida antosianidin. Selain itu, terdapat dua jenis antosianin yang biasa digunakan sebagai senyawa referensi yaitu turunan sianidin dan peonidin. Secara kimia, antosianin merupakan turunan dari suatu struktur aromatic yaitu sianidin, namun memiliki perbedaan pada ikatan antara gugus R_{3'} dan R_{5'}, sementara itu R merupakan jenis glikon (gugus gula) (Melania dkk, 2018).



(Bechtold dan Rita, 2009)

Gambar 2.2 Struktur molekuler untuk antosianin (OGI = glikosida), antosianidin dan deoksiantosianin

Kata antosianin berasal dari bahasa Yunani dimana ‘anthos’ berarti bunga dan ‘kyanos’ berarti biru. Antosianin termasuk dalam kategori flavonoid yang merupakan grup dari senyawa fenolik. Secara kimia merupakan glikosida dari polimetoksi dan derivat polihidroksi dari flavilium atau garam 2-fenilbenzopirilium (Khanh, 2015). Flavonol, flavan-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanonol adalah kelas tambahan flavonoid yang berbeda dalam oksidasi dari antosianin (Armanzah dan Tri, 2016).

Antosianin dicirikan oleh gugus hidroksil pada posisi 4' dan 7, dan gula pada posisi 3 (monoglikosida) atau 3 dan 5 (diglikosida). Di sisi lain, dalam antosianidin kelompok hidroksil mengambil posisi glikosida, yang mengarah ke struktur yang tidak stabil dalam larutan. Sebaliknya, yang disebut deoksiantosianidin berhubungan dengan antosianidin yang tidak memiliki hidroksil di posisi 3 (tetapi menahan hidroksil pada posisi 5), dan cukup stabil dalam larutan (Bechtold dan Rita, 2009).

Ikatan rangkap pada gugus kromofor (gugus dengan senyawa radikal) pada struktur antosianin membuat antosianin dapat menyerap cahaya pada spektrum

cahaya sinar tampak, oleh karena itu analisis pigmen antosianin memungkinkan menggunakan spektroskopi. Tingkat kepekatan warna pada tanaman berbanding lurus dengan banyak dan panjangnya susunan ikatan rangkap terkonjugasi pada suatu struktur kimia antosianin. Tingkat kepekatan warna juga berpengaruh pada penentuan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis, karena semakin pekat warna pada suatu tanaman maka penyerapan cahaya akan terjadi pada panjang gelombang yang lebih panjang (Melania dkk, 2018). Antosianin merupakan senyawa yang bersifat hidrofilik sehingga mempermudah antosianin untuk larut dalam air. Antosianin juga dapat terlarut dalam pelarut organik seperti etanol, methanol, aseton, dan kloroform. Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh kondisi pelarut, tingkat kestabilan antosianin pada pelarut dengan pH netral (pH = 7) dapat dicapai dengan menambahkan asam-asam organik seperti asam asetat, asam sitrat, asam askorbat, asam butirat, asam malat, asam tartarat, ataupun asam klorida. Penambahan asam lemah akan mempengaruhi warna antosianin, pada pH = 3 warna merah pada antosianin akan memudar, pada pH = 4 antosianin akan berwarna merah keunguan, pada pH = 5-6 antosianin akan berwarna ungu, dan pada pH = 7 akan berwarna ungu biru (Melania dkk, 2018).

Antosianin memiliki struktur cincin aromatik yang berisi komponen polar dan residu glikosil sehingga menghasilkan molekul polar. Antosianin akan lebih mudah terlarut dalam air dibandingkan dengan pelarut non-polar, karena air memiliki sifat polar. Antosianin stabil pada suhu 50 °C, memiliki berat molekul 207,08 gram/mol, rumus molekul $C_{15}H_{11}O$, rentan terhadap cahaya dan terdegradasi pada suhu diatas 70 °C (Talavera dkk., 2004). Selain faktor suhu, terdapat beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi kestabilan/kesetimbangan antosianin antara lain banyaknya intensitas cahaya yang berkontak dengan antosianin, suhu, kopoligment, ion logam, oksigen, enzim, konsentrasi, dan tekanan. Apabila terdapat ketidaksesuaian pada faktor-faktor diatas akan mengakibatkan degradasi pada antosianin. Degradasi pada antosianin terjadi ketika terjadi hidrolisis pada ikatan glikosidik dan cincin aglikon, sehingga aglikon-aglikon tersebut akan menjadi labil dan akan membuat senyawa antosianin menjadi tidak berwarna (Melania dkk, 2018).

Faktor	Keterangan
pH	Pada pH asam, kondisi paling berwarna (stabil) akan tercapai
O ₂ dan H ₂ O ₂	Akan mengoksidasi antosianin sehingga membuat antosianin tidak berwarna
Suhu	Semakin tinggi kenaikan suhu, akan menyebabkan antosianin terdegradasi
Cahaya	Antosianin akan terdegradasi apabila berkontak dengan cahaya lampu ataupun cahaya matahari

(Vargas dan Lopez, 2003)

Tabel 2.2 Faktor yang Mempengaruhi Stabilitas Antosianin

Pelarut yang sering digunakan pada ekstraksi antosianin yaitu etanol, methanol, isopropanol, aseton, dan aquades. Pemilihan pelarut yang akan digunakan pada proses ekstraksi, akan menentukan kualitas dari suatu ekstraksi dan memiliki daya yang besar untuk melarutkan (Hidayat, 2004).

2.3 Ekstraksi

Pengambilan zat warna dari bunga telang ini dapat dilakukan dengan ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu metode untuk mengeluarkan komponen tertentu dari zat padat atau zat cair dengan pelarutan. Teknik ekstraksi yang digunakan untuk pengambilan zat warna dari kelopak bunga telang ini merupakan ekstraksi zat padat (*leaching*). Pada ekstraksi padat-cair, satu atau beberapa komponen yang dapat larut dipisahkan dari bahan padat dengan bantuan pelarut. Leaching merupakan suatu proses pemisahan atau pengambilan fraksi padat yang diinginkan dari fraksi padat lain dalam suatu campuran padat-padat dengan menggunakan *solvent cair* (Mc.Cabe,1993). Faktor-faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi, antara lain (Guenter,1987 : Bernasconi, 1995) :

1. Jenis Pelarut

Proses ekstraksi dapat berjalan dengan baik bila pelarut memenuhi syarat-syarat selektif, mampu melarut, reaktifitas rendah, titik didih rendah, murah, tidak korosif, tidak mudah terbakar, tidak eksplosif bila bercampur dengan udara, tidak menyebabkan emulsi, stabil secara kimia dan termal.

Polaritas suatu pelarut memiliki peran penting dalam proses ekstraksi karena polaritas pelarut berpengaruh pada daya larut. Kelarutan pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik dan nilai polaritas pelarut. Nilai polaritas suatu

pelarut berbanding lurus dengan nilai konstanta dielektriknya (Stahl, 1969).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dapat berupa pelarut murni (tanpa campuran) ataupun pelarut dengan sedikit zat terlarut (*solute*) didalamnya. Semakin lama proses ekstraksi berlangsung, maka kemampuan absorpsi pelarut (*solvent*) untuk melarutkan zat terlarut (*solute*) akan semakin berkurang.

Konstanta Dielektrik	Nama Pelarut	Polaritas
1,890	Petroleum ringan	
2,023	Sikloheksan	
2,238	Karbon tetraklorida Trikloroetilen	
2,284	Benzene Diklorometan	
4,806	Kloroform	
4,340	Etileter	
6,020	Etilasetat	
20,700	Aseton n-propanol	
24,300	Etanol	
33,620	Metanol	
80,37	Air	

(Stahl, 1969)

Tabel 2.3 Nilai Konstanta Dielektrik Beberapa Zat Pelarut

Keterangan: Semakin kebawah, polaritas pelarut semakin meningkat

Berikut beberapa jenis pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi yaitu sebagai berikut (Treyball, 1980; Mc.Cabe, 2005; Skoog.W.H., 2002):

1. Pelarut organik

Keuntungan menggunakan pelarut organik adalah pelarut organik memiliki titik didih rendah, dan juga mencegah pertumbuhan jamur. Namun, terdapat beberapa kerugian apabila menggunakan pelarut organik diantaranya harganya yang cukup mahal, terdapat pelarut organik yang bersifat toksik (karsinogenik), dan mudah terbakar. Berikut beberapa jenis pelarut organik antara lain etanol, methanol, CHCl_3 , eter, dan heksana. (Treyball, 1980; Mc.Cabe, 2005;

Skoog.W.H., 2002).

2. Air

Keuntungan menggunakan pelarut air adalah harganya relatif lebih murah dari pelarut organik, mudah diperoleh, tidak toksik, stabil, memiliki titik didih cukup tinggi sehingga tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan pelarut ini digunakan apabila senyawa yang ingin diekstrak dapat larut dalam air. Namun terdapat beberapa kerugian dari pelarut ini diantaranya dapat ditumbuhi jamur ataupun mikroba, tidak selektif terhadap senyawa yang akan diekstrak, memiliki titik didih 100 °C (tidak bisa dipakai apabila senyawa yang akan diekstrak merupakan senyawa yang bersifat termolabil), dan membutuhkan proses lama pada saat pengeringan (Treyball, 1980; Mc. Cabe, 2005; Skoog.W.H., 2002). Pelarut yang dapat mengekstrak antosianin dari tumbuhan antara lain etanol, metanol, dan air.

Terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam menentukan jenis pelarut:

a. Kepolaran dan kelarutan pelarut

Untuk bisa melarutkan zat aktif yang terkandung dalam suatu tanaman, diperlukan pelarut yang memiliki kepolaran yang sama dengan zat aktif yang akan diekstrak. Hal ini bertujuan agar pelarut dapat melarutkan zat aktif (solute) dengan maksimal. Semakin tinggi kelarutan suatu pelarut maka semakin sedikit pula pelarut yang dibutuhkan.

b. Selektifitas

Pelarut dengan selektifitas tinggi akan mempermudah pada saat proses pemurnian, karena dengan tingkat selektifitas yang tinggi maka secara otomatis jumlah pengotor yang ikut terekstrak akan lebih sedikit dan jumlah zat aktif yang terekstrak akan lebih banyak.

c. Murah dan mudah diperoleh

Pelarut dengan harga terjangkau dan mudah diperoleh akan sangat berpengaruh terhadap modal yang dikeluarkan pada saat pembelian bahan.

d. Tidak korosif, tidak beracun, stabil secara termal, dan tidak mudah terbakar

e. Tidak menyebabkan terbentuk emulsi

Pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang tidak mudah membentuk

emulsi, karena dengan adanya emulsi proses difusi dapat terganggu.

f. Tidak reaktif

Selama proses ekstraksi berlangsung, diharapkan tidak terjadi reaksi yang dapat mengubah struktur kimia dari zat aktif yang akan diekstrak (tidak ada reaksi antara pelarut dengan zat aktif) (Sabel dan Warren, 1973).

g. Titik didih

Pelarut diharapkan memiliki titik didih yang cukup rendah. Pelarut dengan titik didih tinggi memerlukan pemanasan dengan suhu yang lebih tinggi, hal ini dapat membuat kerusakan pada zat aktif yang akan diekstrak. Namun, titik didih pelarut juga tidak boleh terlalu rendah dikarenakan bisa terjadi kehilangan pelarut dalam jumlah besar pada saat pemanasan (Sabel dan Warren, 1973).

h. Viskositas dan densitas

Viskositas dan densitas yang lebih rendah dapat mempermudah pelarut untuk mengalir dan kontak dengan bahan padatan.

i. Sifatnya terhadap air

Pelarut yang memiliki sifat hidrofilik lebih disarankan dibandingkan pelarut yang bersifat hidrofobik, karena pelarut yang bersifat hidrofobik akan ditolak terlebih dahulu oleh keberadaan air sebelum sempat menembus dinding sel dan mengambil zat aktif yang ingin diekstrak.

j. Kecepatan alir pelarut

Kecepatan alir pelarut harus lebih besar dari laju alir bahan yang ingin diekstrak, supaya ekstrak sudah terlarut pada pelarut dapat sesegera mungkin diangkut dari permukaan bahan padat.

2. Suhu

Suhu ekstraksi yang tinggi akan berpengaruh positif terhadap proses ekstraksi karena adanya peningkatan kecepatan difusi. Kelarutan zat terlarut (pada partikel yang diekstraksi) di dalam pelarut akan naik bersamaan dengan kenaikan suhu sehingga laju ekstraksi yang lebih tinggi dan hasil yang diperoleh lebih besar. Suhu operasi yang tinggi akan meningkatkan kecepatan difusi, meningkatkan kelarutan dari larutan, dan menurunkan viskositas pelarut. Dengan viskositas pelarut yang lebih rendah, kelarutan yang dapat dicapai lebih besar. Suhu operasi harus disesuaikan dengan kelarutan pelarut, stabilitas pelarut,

tekanan uap pelarut, dan selektifitas pelarut (McCabe, 1985). Makin tinggi suhu ekstraksi, semakin besar juga potensi kerusakan pada komponen-komponen yang diekstrak (Sabel dan Warren, 1973). Pada ekstraksi menggunakan metode ekstraksi *soxhlet*, suhu yang digunakan menyesuaikan dengan titik didih pelarut yang digunakan, metode ekstraksi ini tidak dapat digunakan apabila komponen yang ingin diekstrak merupakan senyawa termolabil (peka terhadap suhu).

3. Waktu

Semakin lama waktu ekstraksi maka akan memberikan hasil yang diperoleh lebih besar, karena kontak antara pelarut dan bahan yang diekstraksi juga akan semakin lama sehingga akan menyebabkan pelarut semakin diperkaya oleh solute. Semakin lama waktu reaksi, maka semakin lama waktu kontak pelarut dan solute sehingga semakin banyak ekstrak yang didapat. Namun, apabila waktu yang dibutuhkan terlalu lama maka proses ekstraksi tersebut tidak ekonomis (Skoog, 2014). Ekstraksi antosianin menggunakan pelarut etanol dengan suhu ekstraksi 60,6 °C mencapai waktu optimal pada menit ke-46 (Pham T.N. dkk, 2019).

4. pH

Rentang pH disesuaikan dengan kestabilan zat yang ingin diekstraksi. Misal untuk klorofil, suasana asam dan basa akan membuat klorofil terhidrolisis menjadi klorofilid (Skoog, 2014). Ekstraksi antosianin akan optimum pada pH asam (pH = 4 - 5) dikarenakan kondisi antosianin yang stabil pada rentang pH tersebut. Menurut Meiny dkk (2010), semakin asam pelarut (pH semakin kecil) maka yield antosianin yang didapat semakin meningkat. Namun, hal ini akan mempengaruhi kestabilan antosianin dalam larutan dimana antosianin stabil pada range pH 4-5.

5. Porositas dan difusivitas

Struktur yang berpori memungkinkan terjadinya difusi internal solute dan permukaan padatan ke pori-pori padatan tersebut. Semakin besar difusivitas maka semakin cepat pula difusi internal yang terjadi (McCabe, 1985).

6. Pengadukan

Pengadukan akan mencegah terbentuknya suspensi atau endapan serta efektif untuk membentuk suatu lapisan interphase (McCabe, 1985). Pada ekstraksi antosianin diperlukan adanya pengadukan, hal ini bertujuan untuk meratakan konsentrasi yang ada dilarutan luar sel dengan larutan dalam sel (Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1986).

7. Mode operasi

Pemilihan mode operasi perlu diperhatikan karena akan mempengaruhi keberhasilan dari proses ekstraksi.

8. Ukuran Bahan padat yang diekstraksi

Semakin kecil ukuran bahan, maka semakin besar luas permukaan zat padat, sehingga laju perpindahan massanya semakin besar. Dengan kata lain, jarak untuk berdifusi yang dialami oleh zat terlarut adalah kecil.

9. Rasio bahan padatan dan pelarut

Perbandingan bahan padatan dengan pelarut mempengaruhi hasil dari ekstraksi. Semakin besar berat bahan padatan dibandingkan pelarut, maka hasil ekstraksi juga akan semakin besar, hal ini diakibatkan luas kontak permukaan bahan padatan dengan pelarut semakin besar. Jumlah pelarut perlu disesuaikan agar tidak terjadi pemborosan (McCabe, 1985). Jumlah pelarut sangat berpengaruh terhadap jumlah ekstrak yang didapat. Semakin banyak pelarut yang digunakan, maka semakin banyak ekstrak yang didapat (Carolina dkk, 2014). Rasio optimum bahan padatan/pelarut (*solute / solvent*) pada ekstraksi antosianin menggunakan pelarut etanol adalah 23:1 (Pham T.N. dkk, 2019).

Jenis-jenis metode ekstraksi di antaranya :

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan sampel dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi

termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Istiqomah, 2013). Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi sel pada tanaman dengan konsentrasi senyawa dalam pelarut. Setelah proses ekstraksi berhenti, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kekurangan dari metode ini adalah memerlukan waktu lama dalam proses ekstraksinya, butuh banyak pelarut, dan besar kemungkinan beberapa senyawa akan hilang. Selain itu, terdapat beberapa senyawa yang sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun, keuntungan dari metode ini adalah dapat menghindari terjadinya kerusakan pada senyawa - senyawa yang bersifat termolabil (tidak tahan panas) (Mukhriani, 2014). Solvent yang digunakan pada ekstraksi menggunakan metode maserasi harus bisa melarutkan senyawa target, dalam ekstraksi kali ini pelarut yang digunakan adalah aquadest.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*exhaustiva extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk sampel pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampung ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013). Metode ekstraksi ini selalu menggunakan pelarut baru dan biasanya ekstraksi dilakukan pada suhu ruang. Prinsip dasar dari metode ekstraksi ini adalah dengan menaruh padatan yang akan diekstraksi kedalam suatu bejana silinder yang dibawahnya telah diberi sekat berpori. Metode ekstraksi ini dibagi menjadi empat tahap yaitu tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi (penetesan/penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh jumlah ekstrak yang diinginkan (Istiqomah, 2013).

3. Soxhlet

Metode ekstraksi *soxhlet* adalah salah satu teknik ekstraksi yang paling sederhana. Ekstraksi ini umumnya dikenal sebagai ekstraksi padat-cair dimana

pada proses ini mengambil zat terlarut dari padatan sampel dengan menggunakan pelarut cair (Yahaya, 2013). Ekstraksi *soxhlet* berlangsung pada tekanan atmosfer, memanfaatkan pelarut pada suhu mendidih untuk ekstraksi selektif dari senyawa yang ditargetkan. Ekstraksi *soxhlet* adalah teknik konvensional yang memberikan pemulihan tertinggi. Metode ini biasanya digunakan untuk mengevaluasi kinerja metode lain (Saini dan Young, 2018). Secara umum mekanisme ekstraksi *soxhlet* berlangsung dengan menguapkan pelarut yang terdapat dalam labu didih, pelarut yang menguap akan terkondensasi dan menetes ke dalam thimble *soxhlet* yang berisi sampel. Dalam thimble *soxhlet* ini akan berlangsung pengekstraksian *solute* dari sampel secara kontinu. Pelarut yang mengandung *solute* akan melewati pipa kapiler thimble dan kembali ke dalam labu didih (Yahaya, 2013). Dalam labu didih, distilasi akan memisahkan *solute* yang didapat dari pelarut, pelarut segar akan kembali menguap dan terkondensasi ke dalam penahan thimble (Kristijarti dan Ariestya, 2012). Keuntungan utama ekstraksi *soxhlet* antara lain yaitu (Khanh, 2015):

1. Merupakan teknik dasar sederhana yang langkah-langkahnya mudah dilakukan.
2. Digunakan sebagai referensi standar untuk berbagai metode resmi lainnya.
3. Selama proses ekstraksi, sampel diambil oleh pelarut segar secara berulang-ulang sehingga perpindahan yang terjadi seimbang.
4. Labu distilasi membantu mempertahankan suhu yang relatif tinggi untuk proses ekstraksi sehingga mengurangi panas yang digunakan.
5. Setelah ekstraksi, tidak perlu melakukan langkah penyaringan apa pun.

Kerugian utama yang signifikan antara lain yaitu (Khanh, 2015):

1. Tidak dapat menerapkan agitasi untuk merangsang dan mempercepat proses.
2. Pelarut harus mudah menguap.
3. Sampel hanya diekstraksi pada titik didih menggunakan pelarut berlimpah dengan waktu yang lama sehingga menyebabkan dekomposisi termal pada senyawa yang diekstrak.

Teknik ekstraksi *soxhlet* berpotensi diterapkan untuk ekstraksi minyak dan

senyawa fenolik lainnya untuk ekstraksi antosianin dari sayuran. Tujuan dari penggunaan metode soxhlet adalah untuk mengetahui berapa banyak zat warna yang dapat diekstrak dari suatu bahan. Metode soxhlet dapat menghasilkan *yield* yang lebih banyak dibandingkan dengan metode lainnya (Khanh, 2015; Kristijarti dan Ariesty, 2012).

4. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Istiqomah, 2013). Metode ini menggunakan pelarut dengan jumlah yang relatif sedikit, karena adanya sistem pendinginan balik. Metode ini dilakukan dengan cara memanaskan pelarut pada titik didihnya (Istiqomah, 2013)

5. *Ultrasound – Assisted Extraction*

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz) (Mukhriani, 2014).

6. Distilasi Uap

Metode ini memanfaatkan adanya perbedaan titik didih antara air dengan senyawa yang akan diekstrak. Senyawa yang akan diekstrak akan diuapkan, kemudian akan terkondensasi sehingga terjadilah pemisahan antara air dengan ekstrak. Pada metode ini, kondisi ekstrak bisa memisah sempurna ataupun memisah Sebagian (Istiqomah, 2013).

7. Ekstrak Biologi

Metode ini menggunakan bantuan mikroorganisme pada proses ekstraksinya (Istiqomah, 2013).

2.4 Jenis-Jenis Pewarna dalam Industri Pangan

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 033 Tahun 2012 Pewarna (Colour), yaitu bahan tambahan pangan berupa pewarna alami dan pewarna sintetis, yang ketika ditambahkan atau diaplikasikan pada pangan, mampu memberi atau memperbaiki warna. Pewarna makanan merupakan BTP (Bahan Tambahan Pangan) sering ditambahkan pada makanan dengan alasan

untuk meningkatkan daya tarik makanan, menstabilkan warna, menyeragamkan warna makanan dan membuat identitas produk pangan (Pahmawati, 2011).

Tujuan penambahan pewarna adalah menutupi kualitas rendah dari produk makanan, menjaga rasa makanan, menutupi perubahan warna akibat terpapar cahaya atau udara (Pahmawati, 2011). Warna juga digunakan sebagai indikator kesegaran atau kematangan. Baik tidaknya cara mencampur atau mengolah ditandai dengan adanya keseragaman dan pemerataan warna (Azmiyawati, 2007). Penggunaan pewarna makanan sebenarnya diperbolehkan selama dalam jumlah yang terbatas. Namun, bila pewarna yang dipakai adalah pewarna non makanan, contohnya pewarna tekstil, kertas atau pewarna sintetis pangan tetapi dalam jumlah yang berlebihan, tentu akan berbahaya untuk kesehatan konsumen (Yuliarti, 2007).

2.4.1 Klasifikasi Zat Pewarna Makanan

Secara umum zat pewarna dibedakan menjadi dua jenis, yaitu :

a. Zat warna alami

Adalah zat warna yang diperoleh dari alam atau tumbuhan baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara tradisional zat warna alami diperoleh dengan ekstraksi atau perebusan tanaman yang ada disekitarnya. Bagian-bagian tanaman yang dapat dipergunakan untuk zat warna alami adalah kulit, ranting, daun, akar, bunga, biji atau getah (Fitrihana, 2007). Pewarna alami, sering dicampurkan ke dalam makanan dan minuman. Contohnya karamel, suji dan coklat (Fadhilah, 2012). Zat pewarna alami (ZPA) digunakan untuk mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan zat pewarna sintetis (ZPS) yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan serta gangguan kesehatan pada manusia. Pewarna alami tidak bersifat polutif, tidak berefek samping, tidak merugikan kesehatan, tidak beracun, dan ramah lingkungan, tapi dalam pemanfaatan ZPA memiliki kendala seperti ketersediaan variasi warna yang sangat terbatas dan ketersediaan bahan yang tidak siap pakai sehingga diperlukan proses-proses khusus untuk dijadikan larutan pewarna tekstil sehingga tidak praktis jika dibandingkan dengan ZPS yang lebih mudah diperoleh, ketersediaan warna terjamin, jenis warna bermacam-macam dan lebih praktis dalam penggunaannya (Purwanto, 2016).

Pewarna alami mudah mengalami degradasi atau pemudaran pada saat diolah dan disimpan, bersifat tidak cukup stabil terhadap panas, cahaya dan pH tertentu. Namun, pewarna alami merupakan alternatif pewarna yang tidak toksik, dapat diperbaharui (renewable), mudah terdegradasi dan ramah lingkungan (Hernani, 2017). Menurut Hambali, et al., 2014 zat warna alami yang sering digunakan sebagai zat warna makanan adalah:

1. Antosianin: Pewarna ini memberikan pengaruh warna ungu, merah, biru atau coklat. Antosianin banyak ditemukan pada buah-buahan seperti anggur, strawberry, raspberry, apel, beberapa jenis bunga, dan pada tumbuhan-tumbuhan lainnya. Dalam industri pangan, antosianin perlu mendapatkan perlakuan lebih karena sifat antosianin yang mudah terdegradasi dan sangat terpengaruh oleh pH, sehingga memerlukan penambahan garam untuk membantu menstabilkannya.
2. Karotenoid: Dapat memberikan warna kuning, merah dan oranye. Senyawa ini biasa digunakan untuk mewarnai keju, margarin, sop, pudding, es krim, dan mie dengan kadar pemakaian antara 1 ppm hingga 10 ppm. Senyawa ini dapat diambil dari beberapa jenis tanaman seperti buah papaya, kulit pisang, tomat, cabai merah, wortel, mangga, ubi jalar, dan terdapat juga pada beberapa jenis bunga berwarna kuning dan merah
3. Klorofil: Zat warna hijau yang terdapat dalam bentuk daun, permukaan batang tanaman dan kulit buah-buahan.
4. Kurkumin: Merupakan zat warna alami yang diperoleh dari tanaman kunyit (*Zingiberaceae*). Zat warna ini biasa dipakai dalam minuman non-alkohol. Akan tetapi kurkumin masih kalah dengan zat warna sintesisnya dikarenakan warna yang dihasilkan kurang mencolok.
5. Biksin: Zat warna ini biasa digunakan pada mentega, margarin, minyak jagung, dan salad dressing. Warna yang dihasilkan oleh biksin adalah kuning mentega sampai warna kuning pada buah persik. Namun terdapat beberapa kelemahan pada zat warna ini yaitu tidak tahan terhadap cahaya, tidak tahan terhadap panas, dan harganya sedikit mahal.
6. Karamel: Karamel bisa diperoleh dari pemanasan molase, hidrolisa pati, dekstrosa, gula inverb, laktosa, sirup malt, dan glukosa. Terdapat 3 jenis penggunaan karamel yang dibedakan berdasarkan kelasnya: a. Karamel yang

tahan terhadap asam, karamel jenis ini berwujud cair dan biasa digunakan pada minuman yang mengandung CO₂ dan memiliki sifat asam. b. Karamel untuk roti, karamel jenis ini berwujud cair dan biasa digunakan pada produk-produk makanan seperti biskuit, cake, dan roti. c. Karamel kering, karamel jenis ini biasa digunakan untuk campuran dalam bentuk kering.

7. Titanium Oksida: Terdapat dua jenis titanium oksida yaitu rutil dan anastase, rutil tidak dapat digunakan sebagai pewarna makanan sedangkan anastase bisa digunakan sebagai pewarna makanan. Dalam prakteknya, anastase biasa digunakan pada makanan yang memiliki tekstur sedikit padat (semi solid) dan akan memberikan efek warna opaque.

8. Cochineal, karmin, dan asam karminat: Zat warna ini diperoleh dari hewan *coccus cacti* betina yang dikeringkan. Hewan ini memiliki habitat hidup di kaktus-kaktus yang ada di Kepulauan Canary dan Amerika Selatan. Warna yang dihasilkan oleh Cochineal adalah merah. Warna merah yang dihasilkan berasal dari asam karminat yang ada didalam hewan tersebut. Zat warna ini harganya relatif mahal, sehingga sedikit pula yang memakainya. Karmin biasa digunakan untuk melindungi bahan berprotein dengan cara melapisinya (ebookpangan.com, 2006).

Zat warna alami yang terkandung pada tanaman, biasanya masih tercampur dengan senyawa-senyawa aktif lainnya. Hal ini mempersulit penelitian mengenai toksikologi zat warna alami dari tanaman. Keamanan pewarna alami telah diakui, namun penggunaannya belum dapat dilakukan secara menyeluruh, karena kendala seperti rasanya yang kurang sedap, terjadinya penggumpalan saat disimpan dan tidak stabil dalam penyimpanannya (Cahyadi, 2008). Jika dibandingkan dengan zat warna sintesis, zat warna alami dianggap lebih aman jika dikonsumsi karena tidak memberikan dampak negatif. Namun zat warna alami memiliki kelemahan-kelemahan jika dibandingkan dengan zat warna sintesis yaitu, konsentrasi pigmen warna rendah, stabilitas pigmen rendah, warna yang dihasilkan kurang seragam, dan spektrum warna pada zat warna sintesis lebih luas dibanding zat warna alami (Koswara, S., 2009).

Tabel 2.4 Sifat-sifat Pada Beberapa Pigmen Alami

Golongan Pigmen	Jumlah Senyawa	Warna	Sumber	Kelarutan	Kestabilan
Antosianin	120	Orange, merah	Tanaman	Air	Peka terhadap pH, dan panas
Flavonoid	600	Tak berwarna, kuning	Banyak tanaman	Air	Sedikit tahan terhadap panas
Beta antosianin	20	Tak berwarna	Tanaman	Air	Tahan terhadap panas
Tanin	20	Tak berwarna, kuning	Tanaman	Air	Tahan terhadap panas
Betalain	76	Kuning, merah	Tanaman	Air	Peka terhadap panas
Kuinon	200	Kuning sampai hitam	Tanaman, bakteri, alga	Air	Tahan terhadap panas
Xanton	20	Kuning	Tanaman	Air	Tahan terhadap panas
Karotenoid	300	Tak berwarna, kuning, merah	Tanaman, hewan	Lemak	Tahan terhadap panas
Khlorofil	25	Hijau, coklat	Tanaman	Air, lemak	Peka terhadap panas
Pigmen heme	6	Merah, coklat	Hewan	Air	Peka terhadap panas

(Clydesdale dan Francis, 1976)

b. Pewarna sintetis, yaitu zat pewarna yang pembuatannya disengaja dengan tujuan untuk menghasilkan warna yang diinginkan. Pewarna sintetis ini bisa didapatkan dengan cara mereaksikan senyawa kimiawi, namun tidak semua pewarna sintetis dapat dipakai sebagai bahan tambahan makanan, karena harus menjalani proses sertifikasi terlebih dahulu (Azmiyawati, 2007). Keamanan pewarna makanan sintetis dalam makanan ditetapkan bahwa kandungan Arsen tidak boleh lebih dari 0,0004%, Timbal tidak boleh lebih dari 0,0001% dan logam berat lainnya tidak boleh ada (Cahyadi, 2008).

Tabel 2.5 Perbedaan pewarna sintetis dan alami

Perbedaan	Zat Pewarna Sintetis	Zat Pewarna Alami
Warna yang dihasilkan	Lebih cerah dan lebih homogen	Lebih pudar dan tidak homogeny
Variasi warna	Banyak	Sedikit
Harga	Lebih murah	Lebih mahal
Ketersediaan	Tidak terbatas	Terbatas
Kestabilan	Stabil	Kurang Stabil

2.4.2 Peraturan Penggunaan Pewarna Makanan

Pengawasan penggunaan pewarna pada produk pangan dicantumkan dalam Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 033 Tahun 2012 dan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 239/Men.Kes/Per/V/85. Di bawah ini merupakan jenis bahan pewarna alami dan sintetis.

Tabel 2.6 Bahan pewarna alami

Kelompok	Warna	Sumber	Kelarutan	Stabilitas
Anthosianin	Jingga-merah-biru	Tanaman	Air	Peka terhadap panas dan pH
Tannin	Tidak berwarna	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Flavonoid	Kuning	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Betalain	Kuning-merah	Tanaman	Air	Sensitif terhadap panas
Karotenoid	Kuning-merah	Tanaman/hewan	Lipida	Stabil terhadap panas
Klorofil	Hijau-coklat	Tanaman	Lipida dan air	Sensitif terhadap panas

(Tranggono, dkk., 1989)

Tabel 2.7 Bahan pewarna sintetis

No.	Nama	Warna
	Azo:	
1.	Tartazin	Kuning
2.	Sunset Yellow FCF	Oranye
3.	Allura Red AC	Merah (kekuningan)
4.	Ponceau 4R	Merah
5.	Red 2G	Merah
6.	Azorubine	Merah
7.	Fast Red E	Merah
8.	Amaranth	Merah (kebiruan)
9.	Brilliant Black BN	Ungu
10.	Brown FK	Kuning Coklat
11.	Brown HT	Coklat
	Triarylmethane:	
12.	Brilliant Blue FCF	Biru
13.	Patent Blue V	Biru
14.	Green S	Biru kehijauan
15.	Fast Green FCF	Hijau
	Quinoline:	
16.	Quinoline Yellow	Kuning kehijauan
	Xanthene:	
17.	Erythrosine	Merah

(JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives))