

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Senduduk Bulu

2.1.1 Pengertian Buah Senduduk Bulu

Herendong Bulu atau juga dikenal dengan Senduduk Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D. Don) merupakan sejenis tumbuhan renek yang biasa ditemui tumbuh liar di kawasan semak samun dan belukar. Buah ini merupakan spesies tumbuhan penceroboh (*invasive plant species*) di kebanyakan rantau tropika. Habitatnya sama seperti senduduk biasa memandangkan kedua-duanya mempunyai ciri-ciri yang hampir sama.

Clidemia hirta (L.) D. Don dari keluarga Melastomataceae satu kumpulan terbesar (taxon) terdiri daripada 200 genus dan kira-kira 4000 spesies dari herba, pokok dan tumbuhan renek tersebar luas di kawasan tropika. Kira-kira 30 spesis dari keluarga tumbuhan ini digunakan bagi tujuan perobatan di Asia-Pasifik.

Batang dan daunnya mempunyai bulu-bulu halus yang kesat. Permukaan daun berwarna hijau berkilat dan daunnya berbentuk bujur. Daunnya lebar dan meruncing di bagian ujung. Urat daun kecil dan banyak, membentuk petak di atas daun. Daun dibahagikan kepada beberapa bahagian (selalunya empat) oleh urat daun yang besar seolah-olah pangsa.



Gambar 1. Daun Senduduk Bulu

Bunganya muncul dalam bentuk jambak di hujung ranting. Bunga yang biasa ditemui berwarna putih atau merah jambu cair atau merah jambu muda.

Buahnya berbentuk bulat dan berbulu halus. Warnanya hijau ketika muda dan akan menjadi hitam berkilat apabila ranum.



Gambar 2. Buah Senduduk Bulu

Buah beri hitamnya memanjang sehingga 8 milimeter (0.31in) dan rasanya sedikit seperti blueberry. Setiap buah mengandung lebih daripada 100 biji benih kecil (0.5 mm). Ia berbunga dan berbuah sepanjang tahun jika berkeadaan lembap secukupnya. Satu pokok boleh menghasilkan lebih daripada 500 buah dalam satu tahun. Biji benih dari buah ini boleh bertahan di dalam tanah sehingga 4 tahun.

Faktor penggunaan buah ini untuk di makan di kalangan manusia masih belum dikaji sepenuhnya. Kandungan antosianin pada buah ini, pH nya berkisar antara 1-3, karena antosianin pada buah senduduk bulu ini lebih stabil pada kondisi asam dan tidak berbahaya kepada manusia. Sehingga buah ini banyak dijadikan jus sirup yang dihasilkan dari buah ini amat lezat. Sirupnya mempunyai warna biru indigo yang cantik dan boleh digunakan untuk meningkat dan menghilangkan rasa pahit pada teh seperti teh *yerba mate*.

Klasifikasi buah Senduduk Bulu adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Order	: <i>Myrtales</i>
Family	: <i>Melastomataceae</i>
Genus	: <i>Clidemia</i>
Species	: <i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don

2.1.2 Kegunaan Senduduk Bulu

Dalam perobatan tradisional melayu dan asli, senduduk bulu digunakan untuk mengobati penyakit sawan. Kaedah yang digunakan ialah dengan mengambil secekek daunnya dan disapukan dengan minyak kepayang. Daun ini diletakkan pada ubun-ubun anak-anak setiap pagi sehingga sembuh. Selain itu ia juga digunakan untuk mengobati luka. Daunnya dilayurkan pada api dan digentel untuk mengeluarkan getahnya. Getah ini kemudiannya disapukan pada bagian yang luka.

2.1.3 Kandungan Senduduk Bulu

Buah Senduduk bulu mengandung senyawa flavonoida, saponin, glikosida, antosianin dan steroida/triterpenoida. Zat aktif yang dikandung oleh buah senduduk bulu yang berperan sebagai penyembuh luka yaitu:

- a. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan, dan jika diberikan pada kulit dapat menghambat pendarahan.
- b. Steroid berfungsi sebagai antiinflamasi.
- c. Saponin memiliki kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Robinson, 1995).
- d. Tanin berfungsi sebagai astrigen yang dapat menyebabkan penutupan pori-pori kulit, memperkeras kulit, menghentikan eskudat dan pendarahan yang ringan (Anief, 1997).
- e. Antosianin berfungsi sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkap radikal (Jurnal Kimia, 2013)

2.2 Pewarna Alami

2.2.1 Pengertian Pewarna Alami

Pewarna alami adalah zat warna alami (pigmen) yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau dari sumber mineral. Zat warna ini telah digunakan sejak dahulu dan umumnya dianggap lebih aman daripada zat warna sintetis. Pada daftar FDA (*Food and Drug Administration*) atau badan pengawas obat dan

makanan, pewarna alami dan pewarna sintetis alami tergolong dalam uncertified color additives karena tidak memerlukan sertifikat kemurnian kimiawi (Anonim, 2009).

Zat warna alami dapat dikelompokkan sebagai warna hijau, kuning dan merah. Penggunaan zat warna alami untuk makanan dan minuman tidak memberikan efek merugikan bagi kesehatan, seperti halnya zat warna sintetis yang semakin banyak penggunaannya. Zat warna sintetis lebih sering digunakan karena keuntungannya antara lain stabilitasnya lebih tinggi dan penggunaannya dalam jumlah kecil sudah cukup memberikan warna yang diinginkan, namun penggunaan zat warna sintetis dapat mengakibatkan efek samping yang menunjukkan sifat karsinogenik. Adanya batasan-batasan pada penggunaan beberapa macam zat warna sintetis mengakibatkan pentingnya penelitian terhadap zat warna alami.

Berkembangnya industri pengolahan pangan dan terbatasnya jumlah serta kualitas zat pewarna alami menyebabkan pemakaian zat warna sintetis meningkat. Pewarna sintetis pada makanan kurang aman untuk konsumen karena diantaranya ada yang mengandung logam berat yang berbahaya bagi kesehatan. Oleh sebab itu, perlu ditingkatkan pencarian alternatif sumber zat pewarna alami. Zat pewarna alami yang berpotensi untuk diekstrak diantaranya adalah antosianin.

Pemakaian zat warna yang berasal dari tanaman telah dilakukan oleh pendahulu kita, misalnya daun suji, daun pandan, kunyit, bunga rosela dan sebagainya. *Myoglobin* dan *Hemoglobin* adalah zat warna yang tersusun oleh protein dan mempunyai inti berupa zat besi. Baik *Hemoglobin* maupun *Myoglobin* memiliki fungsi yang serupa yaitu berfungsi dalam transfer oksigen untuk keperluan metabolisme.

2.2.2 Klasifikasi Zat Warna

Zat warna memiliki bermacam-macam klasifikasi seperti klasifikasi zat warna berdasarkan sumber diperolehnya, bentuk kimia, dan cara pemakaiannya.

Klasifikasi zat warna berdasarkan sumber diperolehnya terdiri dari:

1. Zat warna alami adalah zat warna yang dibuat dengan menggunakan tumbuh-tumbuhan, binatang, dan mineral.
2. Zat warna buatan (sintetik) adalah zat warna yang dibuat dari hasil penyulingan residu dan minyak bumi.

Klasifikasi zat warna berdasarkan bentuk kimia adalah zat warna yang memperhatikan bentuk, gugusan, ikatan atau inti pada zat warna tersebut, misalnya zat warna nitroso, nitro, azo, antrakuinon, lakton, dan lain-lain.

Klasifikasi zat warna berdasarkan cara pemakaiannya terbagi menjadi dua bagian, yaitu zat warna yang larut dalam air dan zat warna yang tidak larut dalam air. Zat warna yang larut dalam air diantaranya sebagai berikut:

1. Zat warna asam, yaitu garam natrium dari asam organik atau asam mineral seperti asam sulfonat atau asam karboksilat. Zat warna asam dipergunakan dalam suasana asam dan memiliki daya serap langsung terhadap serat protein atau poliamida.
2. Zat warna basa disebut juga zat warna kation karena bagian yang berwarna dari zat warna basa mempunyai muatan positif. Zat warna basa memiliki daya serap terhadap serat protein.
3. Zat warna direk, yaitu garam asam organik yang dipergunakan untuk mencelup serat-serat selulosa seperti kapas dan rayon viskosa.
4. Zat warna mordan dan kompleks logam, yaitu zat warna yang dipergunakan untuk mewarnai serat wol atau poliamida. Zat warna ini mempunyai daya serap yang tinggi terhadap serat-serat tekstil dan memiliki ketahanan luntur yang baik.
5. Zat warna belerang, yaitu zat warna yang merupakan zat warna senyawa organik yang mengandung belerang pada sistem kromofornya. Zat warna belerang dipergunakan untuk mencelup serat selulosa.
6. Zat warna reaktif, yaitu zat warna yang dapat bereaksi dengan selulosa

dan protein. Zat warna ini memiliki ketahanan luntur yang baik khususnya pada serat selulosa dan rayon viskosa.

7. Zat warna bejana, yaitu zat warna yang telah diubah struktur molekulnya menjadi garam natrium dari ester asam sulfat. Zat warna ini dipergunakan untuk mencelup serat-serat selulosa.

Sedangkan zat warna yang tidak larut dalam air diantaranya adalah sebagai berikut :

1. Zat warna pigmen, yaitu zat warna yang tidak memiliki daya serap terhadap serat tekstil sehingga dalam penggunaannya zat warna pigmen harus dicampur dengan resin. Zat warna pigmen dipergunakan sebagai pewarna bahan pelapis, kulit, dan produk-produk kosmetik.
2. Zat warna dispersi, yaitu zat warna organik yang dibuat secara sintetik. Zat warna dispersi dipergunakan untuk mencelup serat tekstil yang bersifat termoplastik dan hidrofob (serat yang tidak suka air) seperti serat poliamida, poliakrilat, dan poliester.

2.2.3 Jenis-Jenis Pewarna Alami

Pigmen zat pewarna yang diperoleh dari bahan alami, antara lain (Hidayat, N., & Saati, E. A., 2006) :

1. Klorofil

Pigmen ini menghasilkan warna hijau, diperoleh dari daun. Jenis pigmen ini banyak digunakan untuk makanan. Saat ini bahkan mulai digunakan pada berbagai produk kesehatan. Pigmen klorofil banyak terdapat pada dedaunan, seperti daun suji, pandan, katuk dan lain-lain.

2. Karoten

Pigmen ini menghasilkan warna jingga sampai merah, dapat diperoleh dari wortel, pepaya, dan lain-lain. Karoten digunakan untuk mewarnai produk-produk minyak dan lemak seperti minyak goreng dan margarin.

3. Biksin

Pigmen ini menghasilkan warna kuning, dapat diperoleh dari biji pohon *Bixa orellana*. Biksin sering digunakan untuk mewarnai mentega,

margarin, minyak jagung, dan *salad dressing*.

4. Karamel

Pigmen ini menghasilkan warna coklat gelap merupakan hasil dari hidrolisis karbohidrat, gula pasir, laktosa, dan lain-lain.

5. Antosianin

Pigmen ini menghasilkan warna merah, oranye, ungu, biru, kuning yang banyak terdapat pada bunga dan buah-buahan, seperti buah anggur, strawberry, duwet, bunga mawar, *kana rosella*, pacar air, kulit manggis, kulit rambutan, ubi jalar ungu, daun bayam merah, dan lain-lain.

6. Tanin

Pigmen ini menghasilkan warna coklat yang terdapat dalam getah.

7. Kurkumin

Pigmen ini menghasilkan warna kuning yang berasal dari kunyit. Biasanya sering digunakan sebagai salah satu bumbu dapur, sekaligus pemberi warna kuning pada masakan yang kita buat.

Kegunaan zat warna yaitu :

1. Untuk memberi kesan menarik bagi konsumen.
2. Menyeragamkan warna makanan dan membuat identitas produk pangan.
3. Untuk menstabilkan warna atau untuk memperbaiki variasi alami warna. Dalam hal ini penambahan warna bertujuan untuk menutupi kualitas yang rendah dari suatu produk sebenarnya tidak dapat diterima apalagi bila menggunakan zat pewarna yang berbahaya.
4. Untuk menutupi perubahan warna akibat paparan cahaya, udara atau temperatur yang ekstrim akibat proses pengolahan dan selama penyimpanan.
5. Untuk menjaga rasa dan vitamin yang mungkin akan terpengaruh sinar matahari selama produk disimpan.

2.2.4 Kelebihan dan Kekurangan Zat Pewarna Alami

Zat pewarna alami yang dihasilkan memiliki kelebihan diantaranya :

- a. Aman dikonsumsi.
- b. Warna lebih menarik.
- c. Terdapat zat gizi.
- d. Mudah didapat dari alam.

Selain memiliki kelebihan, zat pewarna alami juga memiliki kekurangan diantaranya :

- a. Seringkali memberikan rasa dan flavor khas yang tidak diinginkan.
- b. Tidak stabil pada saat proses pemasakan.
- c. Konsentrasi pigmen rendah.
- d. Stabilitas pigmen rendah.
- e. Keseragaman warna kurang baik.
- f. Spektrum warna tidak seluas seperti pada pewarna sintetis.
- g. Susah dalam penggunaannya.
- h. Pilihan warna sedikit atau terbatas.
- i. Kurang tahan lama.

2.3 Asam Sitrat

2.3.1 Pengertian Asam Sitrat

Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang ditemukan pada daun dan buah tumbuhan genus Citrus (jeruk-jerukan). Senyawa ini merupakan bahan pengawet yang baik dan alami, selain digunakan sebagai penambah rasa masam pada makanan dan minuman ringan. Dalam biokimia, asam sitrat dikenal sebagai senyawa antara dalam siklus asam sitrat yang terjadi di dalam mitokondria, yang penting dalam metabolisme makhluk hidup. Zat ini juga dapat digunakan sebagai zat pembersih yang ramah lingkungan dan sebagai antioksidan.

Asam sitrat terdapat pada berbagai jenis buah dan sayuran, namun ditemukan pada konsentrasi tinggi, yang dapat mencapai 8% bobot kering, pada jeruk lemon dan limau (misalnya jeruk nipis dan jeruk purut).

Rumus kimia asam sitrat adalah $C_6H_8O_7$ (strukturnya ditunjukkan pada tabel informasi di sebelah kanan). Struktur asam ini tercermin pada nama IUPAC-nya, asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat.

2.3.2 Kegunaan Asam Sitrat

Penggunaan utama asam sitrat saat ini adalah sebagai zat pemberi cita rasa dan pengawet makanan dan minuman, terutama minuman ringan. Kode asam sitrat sebagai zat aditif makanan (*E number*) adalah E330. Garam sitrat dengan berbagai jenis logam digunakan untuk menyediakan logam tersebut (sebagai bentuk biologis) dalam banyak suplemen makanan. Sifat sitrat sebagai larutan penyangga digunakan sebagai pengendali pH dalam larutan pembersih dalam rumah tangga dan obat-obatan.

Kemampuan asam sitrat untuk meng-kelat logam menjadikannya berguna sebagai bahan sabun dan deterjen. Dengan meng-kelat logam pada air sadah, asam sitrat memungkinkan sabun dan deterjen membentuk busa dan berfungsi dengan baik tanpa penambahan zat penghilang kesadahan. Demikian pula, asam sitrat digunakan untuk memulihkan bahan penukar ion yang digunakan pada alat penghilang kesadahan dengan menghilangkan ion-ion logam yang terakumulasi pada bahan penukar ion tersebut sebagai kompleks sitrat.

Asam sitrat digunakan di dalam industri bioteknologi dan obat-obatan untuk melapisi (*passivate*) pipa mesin dalam proses kemurnian tinggi sebagai ganti asam nitrat, karena asam nitrat dapat menjadi zat berbahaya setelah digunakan untuk keperluan tersebut, sementara asam sitrat tidak.

2.3.3 Sifat-Sifat Asam Sitrat

Sifat-sifat fisis asam sitrat dirangkum pada tabel di bawah. Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil $COOH$ yang dapat melepaskan proton dalam larutan. Jika hal ini terjadi, ion yang dihasilkan adalah ion sitrat. Sitrat sangat baik digunakan dalam larutan penyangga untuk mengendalikan pH larutan. Ion sitrat dapat bereaksi dengan banyak ion logam membentuk garam

sitrat. Selain itu, sitrat dapat mengikat ion-ion logam dengan pengkelatan, sehingga digunakan sebagai pengawet dan penghilang kesadahan air.

Pada temperatur kamar, asam sitrat berbentuk serbuk kristal berwarna putih. Serbuk kristal tersebut dapat berupa bentuk anhydrous (bebas air), atau bentuk monohidrat yang mengandung satu molekul air untuk setiap molekul asam sitrat. Bentuk anhydrous asam sitrat mengkristal dalam air panas, sedangkan bentuk monohidrat didapatkan dari kristalisasi asam sitrat dalam air dingin. Bentuk monohidrat tersebut dapat diubah menjadi bentuk anhydrous dengan pemanasan di atas 74 °C. Secara kimia, asam sitrat bersifat seperti asam karboksilat lainnya. Jika dipanaskan di atas 175 °C, asam sitrat terurai dengan melepaskan karbon dioksida dan air.

Asam sitrat memiliki titik didih 219 F dengan PH 0,6. Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil COOH yang dapat melepas proton dalam larutan. Jika hal ini terjadi, ion yang dihasilkan adalah ion sitrat. Sitrat sangat baik digunakan dalam larutan penyangga untuk mengendalikan pH larutan. Ion sitrat dapat bereaksi dengan banyak ion logam membentuk garam sitrat.

Selain itu, sitrat dapat mengikat ion-ion logam dengan pengkelatan, sehingga digunakan sebagai pengawet dan penghilang kesadahan air.

2.4 Antosianin

Antosianin (bahasa inggris: *anthocyanin*, dari gabungan kata Yunani: *anthos* = "bunga", dan *cyanos* = "biru") adalah pigmen larut air yang secara alami terdapat pada berbagai jenis tumbuhan. Sesuai namanya, pimen ini memberikan warna pada bunga buah, dan daun tumbuhan hijau, dan telah banyak digunakan sebagai pewarna alami pada berbagai produk pangan dan berbagai aplikasi lainnya. Antosianin merupakan sub tipe senyawa organik dari keluarga flavonoid, dan merupakan anggota kelompok senyawa yang lebih besar yaitu polifenol. Beberapa senyawa antosianin yang paling banyak ditemukan adalah pelargonidin, peonidin, sianidin, malvidin, petunidin, dan delfinidinidin (Muldja, 1995).

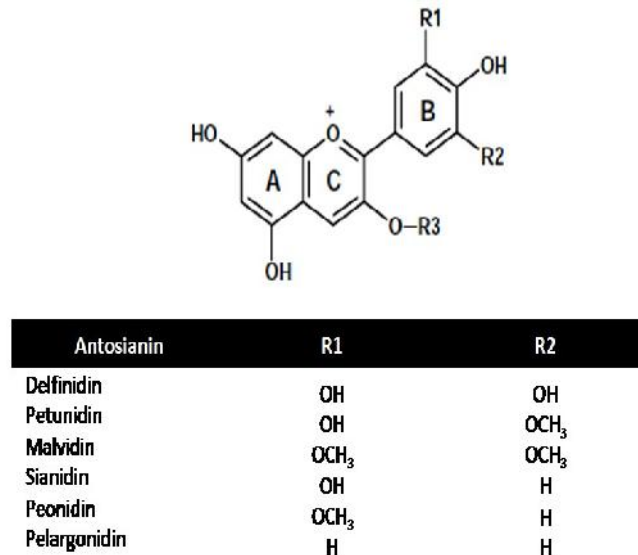
Gugus gula pada antosianin bervariasi, namun kebanyakan digunakan dalam bentuk glukosa, ramnosa, ggalaktosa, atau arabiosa. Gugus gula ini bisa dalam bentuk mono atau disakrida dan dapat diasilasi dengan asam fenolat dan asam alifatis, terdapat sekitar 539 jenis antosianin yang telah diekstrak dari tanaman.

Pigmen antosianin berubah warna akibat perubahan pH solvent. Dalam pH asam antosianin kebanyakan berwarna merah, sedang dalam suasana alkali berubah menjadi biru (Widjarnako, 1991). Antosianin dan beberapa flavonoid lainnya dikabarkan bermanfaat di dunia kesehatan seperti fungsinya sebagai antikarsinogen, antibacterial, antiviral dan antioksidan (Wester dan Wood, 2010).

Tidak seperti golongan flavonoid lain, antosianin selalu terdapat sebagai glikosida kecuali sesepora aglikon antosianidin. Hidrolisis dapat terjadi selama autolisis jaringan tumbuhan atau pada saat isolasi pigman, sehingga antosianin ditemukan sebagai senyawa jadian. Pada pH yang lebih rendah dari 2, antosianidin berada sebagai kation (ion flavilium); tetapi pada pH sel vakuol yang sedikit asam, bentuk kuonoid lain terdapat juga (Robinson, 1995).

Aglikon atau antosianidin bersifat kurang stabil dibandingkan antosianin dan dalam jaringan tanaman berada sebagai suatu glikosida dengan gugus glukosa pada posisi cincin 3` dan 5` (Eskin. 1979). Sifat fisika dan kimia dari antosianin dilihat dari kelarutan antosianin dalam pelarut polar seperti methanol, aseton, atau klorofom, terlebih sering dengan air dan diasamkan dengan asam klorida atau asam format (Socaciu. 2007). Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang dihasilkan dari tanaman berwarna berkisar dari orange dan merah ke biru dan ungu (Oszmianski dan Lee. 1990).

Pada umumnya seluruh antosianin memiliki struktur dasar karbon flavilium (AH^+) seperti pada gambar berikut:



Gambar 3. Rumus struktur antosianin

Substitusi beberapa gugus kimia pada rangka antosianin dapat mempengaruhi warna yang diekspresikan oleh antosianin dan kestabilannya. Penambahan gugus glikosida atau peningkatan jumlah gugus hidroksi bebas pada cincin A (Gambar 3) menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil. Sebaliknya, penambahan jumlah gugus metoksi atau metilasi akan menyebabkan warna cenderung merah dan relatif stabil.

Asam fenolat diketahui dapat menstabilkan dan memperkuat warna antosianin. Contoh asam fenolat yang dapat berperan sebagai ko-pigmentasi tersebut adalah asam sinapat dan asam ferulat. Ko-pigmentasi juga dapat terjadi dengan keberadaan logam. Beberapa logam bervalensi dua atau tiga seperti magnesium dan aluminium dapat membentuk kompleks dengan antosianin dan menciptakan warna biru.

Bentuk kompleks tersebut menyebabkan antosianin lebih stabil. Reaksi ko-pigmentasi ini dapat terjadi dengan dua macam mekanisme. Pertama, terjadi reaksi intramolekul melalui ikatan kovalen pada gugus aglikon antosianin dengan asam organik, senyawa aromatik, atau flavonoid, atau kombinasi ketiganya. Mekanisme kedua yaitu reaksi intramolekular yang melibatkan pembentukan

ikatan hidrofobik yang lemah antara flavonoid dan antosianin.

Di dalam larutan, antosianin berada dalam lima bentuk kesetimbangan tergantung pada kondisi pH. Kelima bentuk tersebut yaitu kation flavilium, basa karbinol, kalkon, basa quinonoidal, dan quinonoidal anionik. Pada bentuk ini, antosianin berada dalam kondisi paling stabil dan paling berwarna. Ketika pH meningkat di atas 4 terbentuk senyawa antosianin berwarna kuning (bentuk kalkon), senyawa berwarna biru (bentuk quinoid), atau senyawa yang tidak berwarna (basa karbinol). Oleh karena pigmen ini paling stabil di pH rendah, aplikasi pigmen antosianin sering digunakan untuk produk-produk seperti minuman ringan, manisan, saus, pikel, makanan kalengan, dan yoghurt yang bersifat asam.

Temperatur juga dapat menggeser kesetimbangan antosianin. Perlakuan panas dapat menyebabkan kesetimbangan antosianin cenderung menuju bentuk yang tidak berwarna, yaitu basa karbinol dan kalkon. Jenis pelarut antosianin secara nyata mempengaruhi warna yang diekspresikannya. Sifat antosianin yang hidrofilik menyebabkannya sering diekstrak dengan menggunakan pelarut alkohol atau air. Pelarut alkohol menghasilkan warna antosianin yang lebih biru dibandingkan dengan pelarut air.

Pengaruh gula terhadap stabilitas antosianin masih menjadi perdebatan. Beberapa sumber menyebutkan bahwa gula dapat menginduksi peningkatan intensitas warna antosianin, terutama pada kondisi sedikit asam. Namun sumber yang lain menyebutkan bahwa keberadaan asam askorbat, glukosa, dan fruktosa secara bersama-sama dapat mempercepat degradasi antosianin. Selain gula dan asam askorbat, asam amino dan fenol juga diketahui dapat mempercepat degradasi antosianin karena keempat senyawa tersebut dapat berkondensasi dengan antosianin menghasilkan phlobafen yang berwarna coklat.

Pewarna alami tidak membutuhkan sertifikat (tanpa nomor FD and C). Namun demikian, penggunaan antosianin dalam pada beberapa produk makanan dibatasi dan pembatasannya bervariasi antar negara. Biasanya, Amerika Serikat adalah negara yang paling ketat dalam batas maksimum penggunaan pewarna antosianin.

2.4.1 Sifat Kimia dan Fisika Antosianin

Sifat fisika dan kimia dari antosianin dilihat dari kelarutan antosianin larut dalam pelarut polar seperti metanol, aseton atau kloroform, terlebih sering dengan air dan diasamkan dengan asam klorida atau asam format. (Socaciu, 2007). Antosianin stabil pada pH 3.5 dan suhu 50 °C, mempunyai berat molekul 207,08 gr/mol dan rumus molekul $C_{15}H_{11}O$ (Fennema. 1996). Antosianin dilihat dari penampakan berwarna merah, merah senduduk, ungu dan biru mempunyai panjang gelombang maksimum 515 nm sampai 545 nm, bergerak dengan eluen BAA (n-butanol, asam asetat, air) pada kertas (Harborne. 1996).

2.4.2 Warna dan Stabilitas Antosianin

Warna dan stabilitas pigmen antosianin tergantung pada struktur molekul secara keseluruhan. Substitusi pada struktur antosianin A dan B akan berpengaruh pada warna antosianin. Pada kondisi asam warna antosianin ditentukan oleh banyaknya substitusi pada cincin B. Semakin banyak substitusi OH akan menyebabkan warna semakin biru, sedangkan metoksilasi menyebabkan warna semakin merah (Arisandi, 2001).

Konsentrasi pigmen juga sangat berperan dalam menentukan warna. Pada konsentrasi yang encer antosianin berwarna biru, sebaliknya pada konsentrasi pekat berwarna merah, dan konsentrasi sedang berwarna ungu. Adanya tannin akan banyak mengubah warna antosianin. Antosianin merupakan pigmen alami yang memberi warna merah pada seduhan kelopak bunga rosela dan bersifat antioksidan.

Menurut Belitz dan Grosch (1999) penambahan gugus hidroksil menghasilkan pergeseran ke arah warna biru (pelargonidin → sianidin → delphinidin), dimana pembentukan glikosida dan metilasi menghasilkan pergeseran ke arah warna merah (pelargonidin → pelargonidin-3-glukosida; sianidin → peonidin).

Degradasi antosianin terjadi tidak hanya selama ekstraksi dari jaringan tumbuhan tetapi juga selama proses dan penyimpanan jaringan makanan.

Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, sinar dan oksigen, serta faktor lainnya seperti ion logam (Niendyah, 2004).

1. pH

Faktor pH tidak hanya mempengaruhi warna antosianin tetapi juga mempengaruhi stabilitasnya. Antosianin lebih stabil dalam larutan asam dibanding dalam larutan alkali (Markakis, 1992). Dalam medium cair kemungkinan antosianin dalam empat bentuk struktur yang tergantung pada pH. Diantaranya basa quonidal, kation flavilium, basa karbinol yang tidak berwarna, dan khalkon tidak berwarna (Von Elbe and Schwartz, 1996 dan Arthey dan Ashurst, 2001).

2. Suhu

Pemanasan bersifat “irreversible” dalam mempengaruhi stabilitas pigmen dimana kalkon yang tidak berwarna tidak dapat kembali menjadi kation flavilium yang berwarna merah. Degradasi antosianin dipengaruhi oleh temperatur. Antosianin terhiroksilasi adalah kurang stabil pada keadaan panas daripada antosianin termetilasi terglukosilasi atau termetilasi (Arthey dan Ashurst, 2001).

3. Cahaya

Antosianin tidak stabil dalam larutan netral atau basa dan bahkan dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya, sehingga larutan sebaiknya disimpan di tempat gelap dan suhu dingin (Harborne, 1996).

4. Oksigen

Oksidatif mengakibatkan oksigen molekuler pada antosianin. Oksigen dan suhu nampaknya mempercepat kerusakan antosianin. Stabilitas warna antosianin selama proses menjadi rusak akibat oksigen (Arthey dan Ashurst, 2001).

5. Kopigmentasi

Kopigmen (penggabungan antosianin dengan antosianin atau komponen organik lainnya) dapat mempercepat atau memperlambat proses degradasi, tergantung kondisi lingkungan. Bentuk kompleks turun dengan adanya protein tannin, flavonoid lainnya, dan polisakarida. Walaupun sebagian komponen tersebut tidak berwarna, mereka dapat meningkatkan warna antosianin dengan pergeseran batokromik, dan meningkatkan penyerapan warna pada panjang

gelombang penyerapan warna maksimum. Kompleks ini cenderung menstabilkan selama proses dan penyimpanan (Fennema, 1996)

2.4.3 Manfaat Antosianin pada bahan pangan

Berbagai macam pigmen antosianin yang diekstrak dari buah-buahan tertentu telah banyak dimanfaatkan sebagai pewarna pada produk minuman ringan, susu, bubuk minuman, minuman beralkohol, produk beku, dll. Penggunaan pewarna alami seperti antosianin semakin diminati karena dapat mengurangi penggunaan pewarna sintetik yang bersifat toksik dan tidak ramah lingkungan. Antosianin juga dimanfaatkan dalam pembuatan suplemen nutrisi karena memiliki banyak dampak positif bagi kesehatan manusia. Selain itu, antosianin juga dimanfaatkan dalam proses penyimpanan serta pengawetan buah, serta pembuatan selai buah. Di Jepang, antosianin tidak hanya digunakan sebagai pewarna makanan, tetapi juga digunakan sebagai pewarna kertas (kertas Awobana).

2.4.4 Penentuan Kadar Total Antosianin (Less dan Francis, 1972)

Penentuan konsentrasi total antosianin mencampurkan hasil ekstraksi dengan larutan campuran etanol dan HCL kemudian dilakukan pengujian dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang yang ditentukan yaitu 535 nm. Total antosianin dihitung dengan rumus : (Lee Et Al, 2005).

Pigmen Antosianin (*Cyanidin-3-glucoside equivalents, mg/L*)

$$\frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times I}$$

Dimana:

A = Absorbansi (nm)

I = Tebal Kuvet (1 cm)

MW = Berat Molekul (449,2 g/mol)

DF = Faktor Pengenceran

ϵ = Kofisien Molar (26900 L x mol⁻¹ x cm⁻¹)

2.5 Isolasi

Isolasi adalah suatu usaha bagaimana caranya memisahkan senyawa yang bercampur sehingga kita dapat menghasilkan senyawa tunggal yang murni. Tumbuhan mengandung ribuan senyawa sebagai metabolit primer dan metabolit sekunder. Biasanya proses isolasi senyawa dari bahan alami mengisolasi senyawa metabolit sekunder, karena dapat memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Kandungan senyawa dari tumbuhan untuk isolasi dapat diarahkan pada suatu senyawa yang lebih dominan dan salah satu usaha isolasi senyawa tertentu maka dapat dimanfaatkan pemilihan pelarut organik yang akan digunakan pada isolasi tersebut, dimana pelarut polar akan lebih mudah melarutkan senyawa polar dan sebaliknya senyawa non polar lebih mudah larut dalam pelarut non polar. (Harborne, 1987)

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah Suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Ekstraksi merupakan proses pengambilan komponen-komponen yang kita inginkan dalam suatu bahan (bahan alam). Komponen ini biasanya memiliki beberapa sifat, secara garis besar proses pengambilan komponen pada bahan alam dapat menggunakan pelarut seperti air, etanol dan sebagainya, pelarut yang digunakan haruslah sesuai dengan senyawa yang akan kita ambil dari bahan alam. Jenis-jenis ekstraksi tersebut sebagai berikut:

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin (Sudjadi, 1988).

Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana. Sedangkan kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin.

Metode maserasi dapat dilakukan dengan modifikasi sebagai berikut :

- a. Modifikasi maserasi melingkar
- b. Modifikasi maserasi digesti
- c. Modifikasi Maserasi Melingkar Bertingkat
- d. Modifikasi remaserasi
- e. Modifikasi dengan mesin pengaduk (Sudjadi, 1988).

2. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon (Sudjadi, 1988).

Keuntungan metode ini adalah :

- a. Dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung.
- b. Digunakan pelarut yang lebih sedikit
- c. Pemanasannya dapat diatur (Sudjadi, 1988).

Kerugian dari metode ini :

- a. Karena pelarut didaur ulang, ekstrak yang terkumpul pada wadah di sebelah bawah terus-menerus dipanaskan sehingga dapat menyebabkan reaksi peruraian oleh panas.
- b. Jumlah total senyawa-senyawa yang diekstraksi akan melampaui kelarutannya dalam pelarut tertentu sehingga dapat mengendap dalam wadah dan membutuhkan volume pelarut yang lebih banyak untuk melarutkannya.
- c. Bila dilakukan dalam skala besar, mungkin tidak cocok untuk menggunakan pelarut dengan titik didih yang terlalu tinggi, seperti metanol atau air, karena seluruh alat yang berada di bawah komdensor perlu berada pada temperatur ini untuk pergerakan uap pelarut yang efektif (Sudjadi, 1988).

Metode ini terbatas pada ekstraksi dengan pelarut murni atau campuran azeotropik dan tidak dapat digunakan untuk ekstraksi dengan campuran pelarut, misalnya heksan : diklormetan = 1 : 1, atau pelarut yang diasamkan atau dibasakan, karena uapnya akan mempunyai komposisi yang berbeda dalam pelarut cair di dalam wadah (Sudjadi, 1988).

3. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat (marc) telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Sutriani,L . 2008).

4. Refluks

Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Kerugiannya adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator (Sutriani,L . 2008).

5. Leaching

Leaching adalah peristiwa pelarutan terarah dari satu atau lebih senyawaan dari suatu campuran padatan dengan cara mengontakkan dengan pelarut cair. Pelarut akan melarutkan sebagian bahan padatan sehingga bahan terlarut yang diinginkan dapat diperoleh. Metode ini memiliki 3 variabel penting, yaitu temperatur, area kontak dan jenis pelarut. Istilah leaching sering dirancukan dengan sebutan ekstraksi, demikian pula alatnya sering dirancukan sebagai ekstraktor. Untuk memahami konsep leaching maka sangat penting untuk memahami kesetimbangan fasa padat-cair.

Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut dalam pelarut polar dan sebaliknya (Sutriani, L. 2008).

Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh:

- a. Selektivitas, pelarut hanya boleh melarutkan ekstrak yang diinginkan.
- b. Kelarutan, pelarut sedapat mungkin memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar.
- c. Kemampuan tidak saling bercampur, pada ekstraksi cair, pelarut tidak boleh larut dalam bahan ekstraksi.
- d. Kerapatan, sedapat mungkin terdapat perbedaan kerapatan yang besar antara pelarut dengan bahan ekstraksi.
- e. Reaktivitas, pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen bahan ekstraksi.
- f. Titik didih, titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat karena ekstrak dan pelarut dipisahkan dengan cara penguapan, distilasi dan rektifikasi.

2.7 Spektrofotometer

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu obyek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya yang dilewatkan akan sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet.

Spektrofotometer dibagi menjadi dua jenis yaitu spektrofotometer *single-beam* dan spektrofotometer *double-beam*. Cahaya yang dapat dilihat oleh manusia disebut cahaya terlihat/tampak. Biasanya cahaya yang terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang, mulai dari 400 nm sampai dengan 700 nm, seperti pelangi di langit. Hubungan antara warna pada sinar tampak dengan panjang gelombang terlihat pada tabel dibawah ini. Dalam tabel tersebut tercantum warna dan warna komplementernya yang

merupakan pasangan dari setiap dua warna dari spektrum yang menghasilkan warna putih jika dicampurkan.

Tabel 1. Spektrum Warna

Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400 – 435	Lembayung (violet)	Hijau Kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Hijau-biru	Jingga
490 – 500	Biru hijau	Merah
500 – 560	Hijau	UnguKemerahan
560 – 580	Kuning-hijau	Ungu
580 – 595	Kuning	Biru Kehijauan
595 – 610	Jingga	Hijau Kebiruan
610 – 750	Merah	Hijau

Sumber : *Penuntun Praktikum Kimia Analitik Instrumen, 2010.*

Komponen instrumen untuk spektrofotometer serapan sinar tampak dan ultra violet terdiri dari 6 komponen, yaitu:

1. Sumber cahaya
2. Pemilihan panjang gelombang
3. Pemegang sampel
4. Detector radiasi
5. Amplifier
6. Pembaca sinyal

Jika zat menyerap cahaya tampak dan UV maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju ke keadaan tereksitasi. Perpindahan elektron ini disebut transisi elektronik. Apabila cahaya yang diserap adalah cahaya inframerah maka elektron yang ada dalam atom atau elektron ikatan pada suatu molekul dapat hanya akan bergetar (vibrasi). Sedangkan gerakan berputar elektron terjadi pada energi yang lebih rendah lagi misalnya pada gelombang radio. Atas dasar inilah spektrofotometri dirancang untuk mengukur konsentrasi suatu zat yang ada dalam suatu sampel. Dimana zat yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Ketika cahaya mengenai sampel sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan.

Spektrofotometri UV/VIS merupakan metode penting yang mapan, andal dan akurat. Dengan menggunakan Spektrofotometri UV/VIS, substansi tak dikenal dapat diidentifikasi dan konsentrasi substansi yang dikenal dapat ditentukan. Pelarut untuk spektroskopi UV harus memiliki sifat pelarut yang baik dan memancarkan sinar UV dalam rentang UV yang luas.

Spektrofotometer Uv-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmitansi, reflektansi dan absorpsi dari cuplikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer sesuai dengan namanya merupakan alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi cahaya secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum sinar tampak yang sinambung dan monokromatis. Sel pengabsorpsi untuk mengukur perbedaan absorpsi antara cuplikan dengan blanko ataupun pembanding.

Spektrofotometer UV-Vis (Ultra Violet-Visible) adalah salah satu dari sekian banyak instrumen yang biasa digunakan dalam menganalisa suatu senyawa kimia. Spektrofotometer umum digunakan karena kemampuannya dalam menganalisa begitu banyak senyawa kimia serta kepraktisannya dalam hal preparasi sampel apabila dibandingkan dengan beberapa metode analisa.

Spektrofotometri UV/Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV/Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibanding kualitatif.