1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pewarna adalah salah satu kelompok dari bahan tambahan pangan (BTP) yang sering digunakan dalam produk pangan untuk membuatnya menjadi lebih menarik dan menambah selera, yang merupakan faktor-faktor penting dalam memilih makanan. Pewarna dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok: pewarna natural, pewarna *nature-identical*, dan pewarna artifisial/sintetik (Carocho et al., 2015). Pewarna natural, atau disebut juga pewarna alami, biasanya didapatkan dari tanaman, serangga atau binatang, maupun mineral, merupakan produk sumber daya hayati yang dapat diperbarui, berdampak minimal pada lingkungan, dan telah digunakan sejak zaman dahulu. Namun setelah ditemukan pewarna sintetik *"mauve"* oleh W. H. Perkin pada tahun 1856 serta maraknya produksi dan aplikasi pewarna sintetik, penggunaan pewarna natural menurun secara drastis (Shahid et al., 2013). Pewarna sintetik lebih disukai karena membutuhkan biaya produksi yang rendah, memiliki kepekatan warna yang kuat, dan stabil (Sigurdson et al,, 2017).

Kesadaran akan bahaya pewarna sintetik sudah muncul sejak tahun 1980-an, yang didukung dengan penelitian tentang pewarna sintetik seperti *indigocarmine* yang dapat memproduksi superoksida dismutase berbahaya selama metabolisme pada tikus (Kohno et al., 2005), serta *tartrazine* yang dikaitkan dengan iritabilitas, kegelisahan, dan gangguan tidur pada anak-anak (Rowe & Rowe, 1994). Penggunaan pewarna sintetik menyebabkan efek detrimental baik pada lingkungan, maupun diasosiasikan dengan alergi, efek toksik, karsinogenik, serta respons negatif pada tubuh. Berdasarkan hal-hal tersebut, pewarna natural muncul kembali sebagai alternatif dari pewarna sintetik. Selain itu, gaya hidup masa kini yang serba natural berbasis barang-barang *naturally sustainable* semakin mendukung penggunaan pewarna natural, yang diasosiasikan dengan kualitas dan kesehatan, sedangkan pigmen sintetik dinilai secara kritis oleh konsumen (Shahid et al., 2013). Selain memberikan warna pada produk pangan sama halnya dengan pewarna sintetik, pewarna natural lebih aman, memberikan manfaat kesehatan di samping manfaat organoleptik, dan berkontribusi terhadap sifat fungsional dari produk pangan (Carocho et al., 2014).

Sejumlah besar tanaman, serangga, maupun hewan telah diekstrak dan digunakan sebagai pewarna natural, diantaranya adalah antosianin (He & Monica Giusti, 2010). Antosianin merupakan pigmen bunga yang paling penting, memberikan warna ungu hingga biru, oranye, merah, merah muda hingga (Castañeda-Ovando et al., 2009; Iwashina, 2015). Selain dapat memberikan kontribusi warna yang aman karena bersumber dari buah, bunga, dan sayuran, antosianin juga memiliki potensi antioksidan dan antimikroba, yang dapat membantu dalam stabilitas dan meningkatkan umur produk pangan, serta memberikan manfaat bagi kesehatan (Silva et al., 2017). Telah dilakukan berbagai penelitian *review* yang membuktikan bahwa pigmen antosianin dari berbagai sumber dapat digunakan sebagai pewarna alami untuk produk pangan dan farmaseutikal (Alappat & Alappat, 2020; Khoo et al., 2017; Priska et al., 2018), produksi, pemanenan dan penyimpanan bunga *edible*, komponen fenolik yang dikandung, dan metode ekstraksi antosianin dari bunga *edible* (Pires et al., 2019), kandungan fitokemikal, manfaat kesehatan, dan toksikologi bunga *edible* (Lu et al., 2016); serta pengolahan dan ekstraksi komponen bioaktif bunga *edible* (Zhao et al., 2019). Namun analisis mengenai dokumentasi penggunaan pewarna alami antosianin dari bunga *edible* seperti rosella, mawar, dan telang pada produk pangan belum banyak ditemukan.

Oleh karena itu, penelitian yang membahas tentang pewarna antosianin dari bunga-bungaan pada produk pangan perlu dilakukan. Pewarna antosianin yang akan diulas merupakan pewarna yang berasal dari bunga *edible* (rosella, mawar, dan telang) dan didapatkan dari proses ekstraksi dengan metode maserasi. Proses ekstraksi dengan metode selain maserasi tidak diulas karena metode-metode tersebut masih belum banyak digunakan untuk membuat ekstrak bunga *edible* untuk diaplikasikan pada produk pangan, dan metode ekstraksi maserasi cenderung lebih mudah dilakukan dan tidak membutuhkan kondisi yang ekstrim maupun biaya yang mahal.

Ulasan dari studi ini adalah aplikasi antosianin dalam ekstrak bunga *edible* yaitu rosella, mawar, dan telang sebagai pewarna alami pada berbagai produk pangan dari penelitian-penelitian yang sudah dilakukan. Fokus dari penelitian adalah mengulas karakteristik ekstrak hasil ekstraksi dengan metode maserasi dari bunga *edible* (rosella, mawar, dan telang) berdasarkan kondisi ekstraksi dan karakteristik fisikokimia produk pangan seperti warna, total antosianin, aktivitas antioksidan, serta pH setelah penambahan ekstrak.

Hipotesis dari penelitian adalah jenis bunga, kondisi ekstraksi metode maserasi, serta metode pengolahan produk yang berbeda memberikan pengaruh terhadap efektivitas dan karakteristik pewarna antosianin saat diaplikasikan pada produk pangan dan karakteristik fisikokimia produk pangan dengan aplikasi pewarna antosianin dari bunga *edible* (rosella, mawar, dan telang).

1.2. Tinjauan Pustaka

1.2.1. Pewarna

Menurut US *Food and Drug Administration* (FDA), aditif warna adalah "seluruh bahan, tidak terkecuali dari bagian 201(t), yang merupakan pewarna, pigmen, maupun zat lain yang terbuat dari proses sintesis atau sejenisnya, ataupun diekstraksi, diisolasi, atau diturunkan, baik dengan atau tidak dengan perubahan identitas final atau intermediet, dari sayuran, hewan, mineral, atau sumber lain, dan bila ditambahkan atau diaplikasikan pada makanan, obat, kosmetik, tubuh manusia atau bagiannya, dapat (baik mandiri maupun melalui reaksi dengan zat lain) memberikan warna." (Sigurdson et al., 2017). Seiring berjalannya waktu, industri pangan semakin berkembang, yang berimbas pada meningkatnya keinginan konsumen akan produk pangan yang menarik, nutritif, sehat, dan berkualitas sensori yang tinggi; sehingga diperlukan adanya perkembangan teknik atau metode yang diimplementasikan pada industri pangan untuk memenuhi keinginan tersebut. Warna dari produk pangan dapat dipengaruhi oleh kondisi eksternal seperti cahaya, udara, suhu, kelembaban, serta kondisi penyimpanan (Türker & Erdogˇdu, 2006). Oleh karena itu, pewarna makanan diaplikasikan untuk mengimbangi dan mengatasi karakteristik-karakteristik yang tidak diinginkan, sekaligus menghomogenkan warna dari produk pangan melalui perbaikan variasi warna dan/atau peningkatan warna yang sudah ada pada produk pangan (Martins et al., 2016).

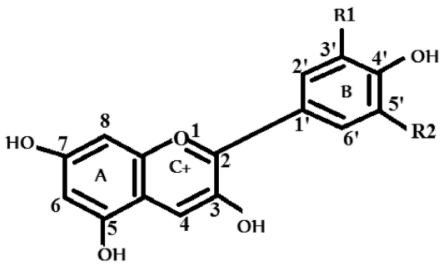
Pewarna dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok: pewarna natural, pewarna *nature-identical*, dan pewarna artifisial/sintetik. Pewarna natural adalah pewarna yang disintesis secara natural dari bahan alami; pewarna *nature-identical* adalah pewarna yang disintesis di pabrik, namun mengimitasi pewarna natural (contoh: riboflavin dan beta karoten) (Carocho et al., 2015). Pewarna natural didapatkan dari bahan alami seperti tanaman, hewan/serangga, maupun mineral yang diekstrak. Beberapa contoh pigmen alami yang

banyak digunakan sebagai pewarna natural adalah antosianin (He & Monica Giusti, 2010); betalain (Celli & Brooks, 2017), serta klorofil dan karotenoid (Mortensen, 2006).

Pewarna sintetik dibuat secara spesifik menggunakan bahan kimia, contohnya seperti *Allura red* yang memberikan warna merah dan *tartrazine* untuk warna kuning. Produk pangan yang diberi warna menggunakan pewarna sintetik cenderung lebih stabil warnanya, namun dalam penggunaannya harus memperhatikan ambang batas supaya tidak memberikan efek negatif bagi tubuh. Di Indonesia, pemerintah sudah mengatur tentang jenis pewarna alami dan sintetik yang diizinkan maupun dilarang digunakan dalam makanan, serta batas maksimum penggunaan pewarna: Surat Keputusan Menteri Kesehatan No. 235/Menkes/Per/VI/79, Surat Keputusan Menteri Kesehatan No. 239/Menkes/Per/V/85, dan Surat Keputusan Menteri Kesehatan No. 722/Menkes/Per/IX/88 (Putra et al., 2012).

1.2.2. Antosianin

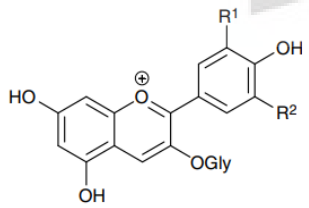
Antosianin, yang merupakan bagian dari kelas flavonoid, merupakan pigmen alami yang banyak digunakan sebagai pewarna natural. Dalam bahasa Yunani, *anthos* berarti bunga, dan *kyanose* berarti biru. Antosianin merupakan glikosida bagian paling besar dari pigmen polifenolik dalam *kingdom* tanaman, yang bertanggung jawab dalam memberikan warna merah, ungu, dan biru pada buah, kelopak bunga, dan sebagian sayuran, yang terakumulasi pada vakuola sel tanaman. Antosianin dibedakan berdasarkan jumlah kelompok terhidroksilasi, jumlah gula yang terikat pada struktur, asam alifatik atau aromatik yang terikat pada gula dalam molekul, dan posisi ikatannya. Struktur umum antosianin adalah cincin aromatik (A) yang terikat pada cincin heterosiklik (C) yang mengandung oksigen, dan terikat oleh ikatan karbon-karbon pada cincin aromatik kedua (B) (Gambar 1) (Amogne et al., 2020).



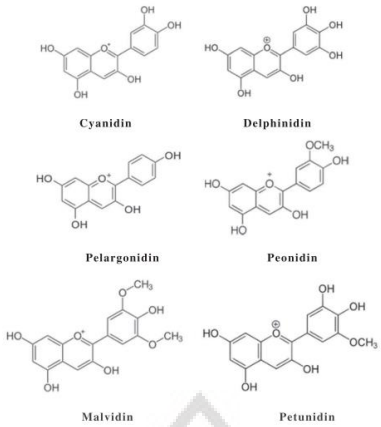
Gambar 1. Struktur umum antosianin. A, B = hidrokarbon aromatik; C = cincin heterosiklik (Amogne et al., 2020)

Lebih dari 500 jenis antosianin dan 23 antosianidin (aglikon dari antosianin) telah diidentifikasi di alam. Enam aglikon pada Tabel 1 adalah yang paling biasa ditemukan pada makanan (Coultate & Blackburn, 2018). Antosianin merupakan pigmen yang larut air, memberikan warna merah hingga biru pada tanaman. Aglikon (antosianidin) terikat pada gula di alam dan dapat diasilasi dengan asam aromatik maupun alifatik. Glikosilasi dan asilasi dapat meningkatkan stabilitas antosianin, yang mengakibatkan antosianidin sederhana jarang ditemukan di alam (Sigurdson et al., 2017). Pada buah, sayur, dan bunga, distribusi enam antosianidin umum berbeda-beda, dengan urutan *cyanidin* (30%), *delphinidin* (22%), pelargonidin (18%), peonidin, malvidin (7,5%), dan petunidin (5%) (He & Monica Giusti, 2010). Keenam aglikon antosianin yang umum ditemukan di alam memiliki struktur kationik flavilium pada pH rendah, dan yang membedakan satu dengan yang lain adalah perbedaan substituen pada cincin B (Gambar 2) (Kähkönen & Heinonen, 2003).

Tabel 1. Struktur dan absorbansi maksimal antosianidin umum (Coultate & Blackburn, 2018)

	Antosianin	**R^1**	**R^2**	**λ_{max}[a]**
	Pelargonidin	H	H	503
	Cyanidin	OH	H	517
	Peonidin	OCH_3	H	517
	Delphinidin	OH	OH	526
	Petunidin	OCH_3	OH	526
	Malvidin	OCH_3	OCH_3	529

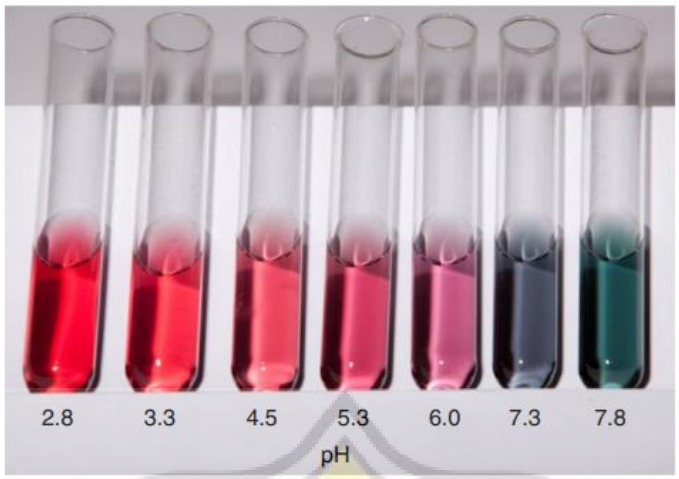
[a] λ_{max} yang ditunjukkan adalah dari 3-O-*glucoside* yang bersangkutan pada pH 3



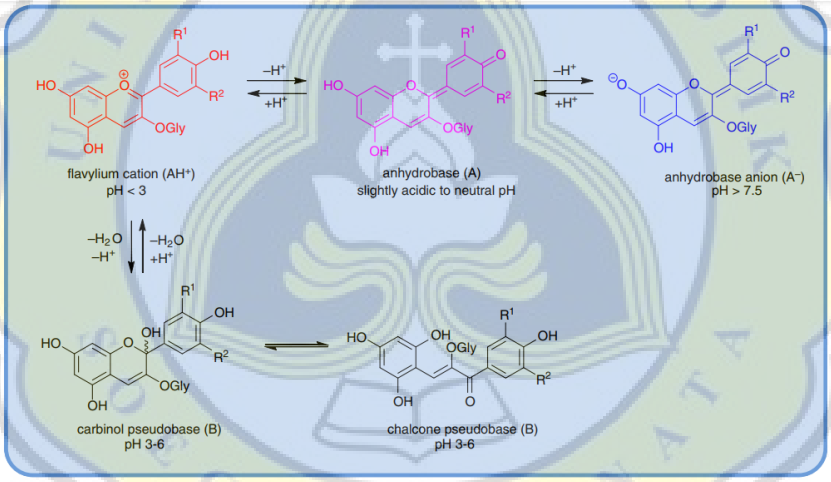
Gambar 2. Struktur antosianidin umum (Khoo et al., 2017)

Penggunaan antosianin sebagai pewarna natural pada makanan atau minuman telah diperbolehkan secara luas di Eropa (E163), Jepang, USA, dan berbagai negara lain (Coultate & Blackburn, 2018). Warna dari masing-masing antosianin ditentukan dari jumlah kelompok hidroksil (dan derajat metilasi), serta sifat, jumlah, dan posisi gugus gula. Komponen-komponen gula yang biasanya menempel pada 3-O-posisi dapat membawa komponen fenolik seperti asam kafeat atau ferulat. Molekul gula yang biasa terikat pada antosianidin membentuk antosianin adalah glukosa, ramnosa, xylosa, galaktosa, arabinosa, dan fruktosa; dalam bentuk mono-, diglikosida, serta bentuk terasilasi (Kähkönen & Heinonen, 2003).

Kegunaan antosianin sebagai pewarna alami terbatas oleh pH. Antosianin dalam larutan berwarna merah pada pH <3, dan flavan nukleus ada terutama sebagai kation flavilium yang sangat stabil (AH^+). Saat pH meningkat, terjadi deprotonasi yang membuat bentuk flavilium berada dalam kondisi ekuilibrium dengan *quinonoidal base* (A) yang ungu/biru dan dengan *quinonoidal base* anionik (A^-) pada pH tinggi yang berwarna biru (Gambar 3 dan Gambar 4). Terlebih lagi, di atas pH = 2, kation flavilium rentan terhadap adisi air (hidrasi) pada C-2, menghasilkan *carbinol pseudobase* (B) yang tidak berwarna, yang mungkin terbuka cincinnya ke *chalcone pseudobase* (C) yang berada dalam bentuk cis- (C_{cis}) atau trans- (C_{trans}); dimana kedua isomer tersebut berwarna kekuningan (Coultate & Blackburn, 2018).



Gambar 3. Larutan antosianin dari kubis merah pada berbagai pH (Coultate & Blackburn, 2018)



Gambar 4. Efek perubahan pH terhadap struktur dan warna antosianin (Coultate & Blackburn, 2018)

Stabilitas antosianin ditentukan oleh pH, cahaya, suhu, dan strukturnya. Antosianin lebih stabil pada pH rendah, serta dapat terdegradasi dengan meningkatnya suhu dan ekspos cahaya. Adanya grup hidroksil atau metoksil pada struktur cincin B antosianin dapat menurunkan stabilitas antosianin dalam larutan. Antosianin umumnya ditemukan pada bunga dan buah dari berbagai tanaman. Kebanyakan dari bunga yang berwarna merah, ungu, dan biru mengandung antosianin. Beberapa contoh bunga berwarna merah yang dapat dimakan adalah rosella merah, *pineapple sage* merah, *red clover*, dan *pink blossom*. Beberapa bunga biru yang dapat dimakan adalah *cornflower*, *blue rosemary*, *blue chicory*

dan bunga telang (*butterfly pea*); sedangkan bunga ungu antara lain lavender, violet, *purple sage*, *purple passion flower*, dan *purple mint*. Kebanyakan dari bunga-bunga tersebut telah digunakan secara tradisional untuk obat, pewarna, dan dimakan secara langsung. Selain kegunaan tradisionalnya, bunga dan buah merah, biru, dan ungu juga dikonsumsi untuk manfaatnya (Khoo et al., 2017).

Antioksidan alami diterima oleh konsumen dengan baik karena dianggap lebih aman. Antioksidan sintetik diregulasi dengan ketat oleh pemerintah, sedangkan antioksidan dari bahan alami mirip dengan makanan yang dikonsumsi manusia sehari-hari dan memiliki peran yang penting dalam diet manusia (Awe et al., 2013). Selain regulasi, antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) dalam dosis besar dilaporkan memberikan efek samping toksik seperti perubahan patologis, enzim, maupun lipid pada hewan pengerat dan kera. BHT juga dilaporkan memiliki efek teratogenik dan karsinogenik pada hewan pengerat (Branen, 1975). Caleja et al. (2017) melakukan penelitian membandingkan biskuit dengan antioksidan alami dari bunga *chamomile* dan *fennel* dan antioksidan sintetik BHA. Dilaporkan bahwa aplikasi kedua antioksidan tidak mengubah warna ataupun nilai nutritif biskuit, serta kedua antioksidan memberikan aktivitas antioksidan yang mirip pada biskuit. Oleh karena itu, antioksidan alami dapat menjadi solusi praktis untuk konsumen yang lebih memilih makanan “bebas” aditif sintetik. Terlebih lagi, aditif natural didapatkan dari ekstraksi menggunakan air sehingga lebih aman dan ramah lingkungan (Caleja et al., 2017).

Antosianin termasuk dalam kelas flavonoid yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, antibakterial, antiinflamasi, hepatoprotektif, dan antikolesterol (Da-Costa-Rocha et al., 2014). Antosianin dalam buah beri, *blackcurrants*, dan berbagai buah warna merah hingga biru adalah antioksidan yang kuat. Terlebih lagi, wortel hitam, kubis merah, dan kentang ungu yang kaya antosianin telah dikonsumsi sebagai makanan fungsional untuk mencegah penyakit (Khoo et al., 2017). Di samping berperan sebagai pigmen pemberi warna pada tanaman, antosianin menunjukkan kemampuan mencegah oksidasi lipid seperti *low-density lipoprotein* (LDL) dan liposom (l) *in vitro* pada manusia, serta aktivitas merantas radikal bebas (Kähkönen & Heinonen, 2003).

1.2.3. Bunga *Edible*

Pada zaman dahulu, bunga digunakan dalam makanan, salad, dan minuman. Roma dan Yunani kuno mengkonsumsi bunga *edible* untuk menambah rasa pada makanan asin dan manis. Orang Cina telah menambahkan bunga sebagai bahan baku dalam berbagai resep, contohnya adalah bunga dari *Osmanthus fragrans Lour* dan *Flos sophorae* dalam *pastry*, sup, dan bubur. Bunga violet dan mawar telah digunakan dalam salad, dan lavender digunakan dalam saus. Di Eropa, bunga dandelion ditambahkan pada minuman dan salad, serta bunga sering digunakan sebagai dekorasi makanan pada *banquet* aristokrat (Zhao et al., 2019). Bunga *edible* juga banyak digunakan di Indonesia, contohnya *Etlingera elatior* (bunga kecombrang) dan *Sesbania grandiflora* (bunga turi) direbus dan disajikan dengan saus kacang. Bunga *Carica papaya* dan *Musa sp.* juga dikonsumsi secara umum sebagai osengan sayur. Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) banyak digunakan dalam produk pangan seperti jeli, minuman siap minum, minuman berkarbonasi, produk fermentasi, saus, dan selai. Selain itu, rosella juga dapat diseduh untuk dikonsumsi secara praktis, yang biasanya ditemani oleh *Clitoria ternatea* (bunga telang). *Viola sp.* sering digunakan sebagai hiasan untuk salad, sup, *dessert*, dan minuman (Prabawati et al., 2021). Bunga *edible* semakin populer yang dibuktikan dengan peningkatan jumlah buku masak bunga *edible*, artikel kuliner dalam majalah, serta acara televisi. Konsumen menggunakan bunga *edible* dalam makanan sebagai hiasan, maupun bahan dalam salad, sup, makanan pembuka, makanan penutup, dan minuman (Kaisoon et al., 2011).

Warna dan rasa yang bervariasi membuat bunga *edible* dipercaya mengandung bermacam-macam komponen nutrisi dan bioaktif. Warna dari bunga ditentukan oleh berbagai komponen kimia, seperti karotenoid dan flavonoid. Kelopak bunga merupakan sumber antioksidan, vitamin, dan mineral yang memiliki manfaat baik bagi diet dan kesehatan manusia (Zhao et al., 2019). Bunga *edible* merupakan sumber komponen antioksidan natural seperti fenol dan antosianin, serta memiliki sifat *non-toxic* dan dapat memberikan efek positif bagi kesehatan. Saat dibandingkan dengan buah-buahan atau sayur-sayuran, bunga *edible* memiliki sifat antioksidan yang lebih tinggi karena kandungan fenol dan antosianinnya (Hnin et al., 2021; Prabawati et al., 2021).

Bunga *edible* yang merupakan sumber antioksidan telah diteliti efektif sebagai agen antitumor, antiinflamasi, dan antimutagenik biologis (Benvenuti et al., 2016). Komponen fitokemikal yang terdapat dalam bunga *edible* antara lain adalah flavonol, flavon, antosianin, asam fenolat, serta flavanol. Pada bunga, antosianin yang paling banyak

terkandung adalah derivatif *cyanidin*, terutama *cyanidin*-3-*O*-glukosida. Beberapa bunga yang banyak mengandung antosianin dan telah digunakan sebagai pewarna adalah rosella, mawar Cina (Lu et al., 2016), *Hibiscus rosa-sinensis* L. (bunga kembang sepatu), *Rosa damascena* (Pires et al., 2019), *Clitoria ternatea* (Cortez et al., 2017), *Centaura cyanus* (*cornflower*) (Pires et al., 2018), petunia (Kumari et al., 2021), serta *poppy* (Bayram et al., 2015).

a. Bunga Rosella

Bunga rosella (Gambar 5) yang memiliki nama latin *Hibiscus sabdariffa* L. (famili *Malvaceae*) adalah bunga yang banyak tumbuh di Asia Tenggara, Afrika, dan sebagian negara tropis di Amerika (Mgaya-Kilima et al., 2015). Selain warna merah, bunga rosella juga ada dalam warna hijau dan merah tua, namun warna merah adalah yang paling sering digunakan, karena kandungan antosianin tingginya yang dapat mencapai 1,5 g/kg, serta asam dan vitamin C. Antosianin dominan dalam bunga rosella adalah *delphinidin*-3-sambubiosida (71%) dan *cyanidin*-3-sambubiosida (29%) (Andzi Barhé & Feuya Tchouya, 2016).

Rosella dimakan mentah sebagai sayuran, dan banyak digunakan dalam produksi jeli, jus, selai, *wine*, sirup, kue, es krim, minuman tonik, serta perasa. Bunga rosella juga biasa digunakan menjadi minuman, biasa dikenal dengan teh rosella. Selain dimakan dan diminum, bunga rosella banyak digunakan dalam pengobatan tradisional (Andzi Barhé & Feuya Tchouya, 2016; Borrás-Linares et al., 2015; Mgaya-Kilima et al., 2015). Di Mesir, bunga rosella digunakan untuk membuat teh "*cacody*" dan minuman fermentasi, serta di Sudan dan Nigeria, bunga rosella direbus bersama gula menghasilkan minuman bernaka "karkade" atau "zoborodo". Bunga rosella juga digunakan untuk mewarnai dan memberi rasa rum di Hindia Barat (Da-Costa-Rocha et al., 2014).

Komponen dalam bunga rosella adalah glukosa, asam malat, tokoferol, asam linoleat, serta antosianin terutama *delphinidin*-3-sambubiosida. Total antosianin dalam bunga rosella adalah 12,96 mg/g, yang terdiri dari *delphinidin*-3-O-sambubiosida (7,03 mg/g), *delphinidin*-3-O-glukosida (1,54 g/mg), dan *cyanidin*-3-O-sambubiosida (4,4 mg/g) (Jabeur et al., 2017). Dilaporkan dalam studi bahwa asam organik yang dikandung rosella adalah asam malat dan asam sitrat sebesar 13% (Setyasih, Pranata, Purwijantiningsih, & Kerja, 2008). Pigmen warna merah dalam bunga rosella merupakan *delphinidin* 3-

sambubiosida (85% dari antosianin) dan pigmen merah muda merupakan *cyanidin* 3-sambubiosida, yang berkontribusi terhadap 51% aktivitas antioksidan bunga rosella, sedangkan 24% yang lain adalah kontribusi dari komponen fenolik. Komponen fenolik yang terkandung dalam rosella sebanyak 23 mg/g berat kering (Tsai et al., 2002). Pigmen antosianin dalam bunga rosella dapat berperan sebagai pewarna dan agen antioksidan yang baik (Mgaya-Kilima et al., 2015).

Gambar 5. Bunga rosella (Amogne et al., 2020)

b. Bunga Mawar

Bunga mawar (*Rosa* L.) merupakan bunga *edible* yang memiliki warna cemerlang dan aroma yang kaya. Bunga mawar merupakan bahan baku penting untuk produksi rempah dan makanan fungsional. Mawar telah dikonsumsi dalam berbagai budaya selama bertahun-tahun terutama sebagai selai, teh, kue, dan ekstrak perasa. Selain itu, mawar juga digunakan sebagai obat. *Rosa damascena* merupakan spesies paling penting untuk menghasilkan minyak esensial yang bernilai tinggi (Sengul et al., 2017). Kandungan dalam minyak esensial *R. damascena* adalah *citronellol*, geraniol, nerol, *phenyl ethyl alcohol*, *nonadecane*, *nonadecene*, eugenol, dan geranil asetat. *Citronellol* adalah kandungan yang paling dominan dengan persentase 14,5-47%. Perbedaan kandungan kimiawi minyak esensial mawar dipengaruhi oleh bagian mawar yang digunakan, kesegaran atau kekeringan bunga, dan penggunaan larutan asam dalam ekstraksi (Mahboubi, 2016).

Mawar spesies *Rosa damascena* (Gambar 6 & 7) merupakan silangan dari *R. gallica* dan *R. phoenicia* termasuk dalam famili *Rosaceae* yang memiliki lebih dari 200 spesies dan 18000 kultivar di seluruh dunia. *R. damascena* berasal dari Iran yang kemudian dibawa

ke Eropa dan dibudidayakan di negara-negara Eropa, terutama Bulgaria dan Turki (Mahboubi, 2016), namun juga dapat dibudidayakan di Indonesia. Tanaman mawar dapat tumbuh di berbagai iklim, namun tumbuh dengan baik di daerah tinggi (700-1000 m dpl.) yang sejuk dan lembab (Wulandari, 2016). *Rosa damascena* biasa dikenal dengan nama *Damask rose*, banyak digunakan dalam industri parfum, obat-obatan, dan makanan. *R. damascena* kering banyak dimakan secara langsung dengan *yoghurt* di Iran (Boskabady et al., 2011). Bunga mawar banyak digunakan sebagai dekorasi makanan, makanan penutup, sebagai minuman, serta jus (Matyjaszczyk & Śmiechowska, 2019). Kandungan fenolik dalam mawar berperan sebagai agen antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antimutagenik, serta antidepresan (Boskabady et al., 2011).

Kebanyakan *Rosa damascena* memiliki bunga dengan warna putih hingga merah muda magenta di alam (Gambar 6). Perbedaan warna dari bunga disebabkan adanya perbedaan kandungan antosianin. Semakin tinggi kandungan antosianin dalam bunga, maka warnanya semakin gelap. Bunga mawar putih tidak mengandung antosianin (Khaleghi & Khadivi, 2020). Bunga mawar putih mengandung 66,2% *citronellol* dan geraniol, sedangkan bunga mawar merah muda mengandung 39,7% *citronellol* dan nerol. Selain komponen yang berkontribusi terhadap aromanya, bunga mawar juga mengandung komponen yang tidak berkontribusi terhadap aroma seperti parafin (*heptadecane*, *nonadecane*, *heneicosane*, dan *tricosane*) (Safaei-Ghomi et al., 2009). Baydar et al. (2016) menyatakan bahwa warna merah muda pada bunga *Rosa damascena* lebih dominan dibandingkan warna bunga yang lain seperti putih atau merah. Tidak adanya warna biru/ungu pada mawar disebabkan karena dalam bunga mawar tidak terkandung *delphinidin* (Tanaka et al., 2008).

Gambar 6. *Rosa damascena* (Khaleghi & Khadivi, 2020)

Kandungan dalam bunga mawar Damask diantaranya adalah terpene, glikosida, flavonoid, antosianin, asam karboksilat, myrcene, vitamin C, kaempferol dan quercetin (Boskabady et al., 2011). *Citronellol* (14,5-47,5%), *nonadecane* (10,5-40,5%), geraniol (5,5-18%), dan *henicosane* (7-14%) merupakan komponen dominan dalam minyak esensial *R. damascena* (Loghmani-Khouzani et al., 2007). Bayram et al. (2015) melaporkan bahwa bunga mawar mengandung 322,6 mg *cyanidin*-3-glukosida *equivalent*/kg ekstrak kering. Nilai IC50 yang menunjukkan aktivitas antioksidan bunga mawar adalah 103,2 µg/ml (Bayram et al., 2015).

Jumlah total antosianin yang terkandung dalam *R. damascena* pada penelitian Sengul et al. (2017) adalah 155,31 mg/100 ml, dengan antosianin yang dominan adalah malvidin-3,5-diglukosida klorida (19,25 µg/l) dan pelargonidin-3,5-di-O-glukosida klorida (15,14 µg/l). Pelargonidin-3-O-glukosida klorida (9,50 µg/l), *delphinidin* klorida (4,89 µg/l), *cyanidin-3*-O-glukosida klorida (4,59 µg/l) juga terkandung dalam bunga mawar. Aktivitas antioksidan kelopak mawar diukur dengan metode DPPH yang menghasilkan angka IC_{50} sebesar 0,97 µg/ml (Sengul et al., 2017). Komposisi antosianin maupun komponen bioaktif dalam bunga dipengaruhi oleh varietas, kedewasaan, kondisi penumbuhan, dan iklim (Bayram et al., 2015).

Gambar 7. *Rosa damascena* merah muda (Mahboubi, 2016)

c. Bunga Telang

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) (Gambar 8) yang dalam bahasa Inggris biasa disebut *butterfly pea* adalah bunga dapat dimakan yang termasuk dalam famili *Fabaceae*. Tanaman telang banyak terdistribusi di daerah-daerah tropis seperti Asia, Karibia, serta Amerika Tengah dan Amerika Selatan. *Clitoria ternatea* banyak digunakan untuk mengobati stress dan depresi dalam pengobatan Ayurveda. Berbagai komponen fenolik seperti rutin, kaempferol, serta *delphinidin* dan glikosidanya ditemukan dalam bunga telang. Pigmen antosianin natural dari bunga telang telah digunakan secara luas terutama di Asia untuk ditambahkan pada makanan sebagai pewarna alami (Chusak et al., 2019). Bunga telang banyak digunakan dalam salad, makanan penutup, sayur, maupun sebagai obat (Kaisoon et al., 2011). Di Kerala (India) dan Filipina, bunga telang serta tunas muda dan daunnya dimakan sebagai sayuran. Penggunaan bunga telang sebagai pemberi warna biru terang pada kue beras juga dilakukan di Malaysia (Mukherjee et al., 2008).

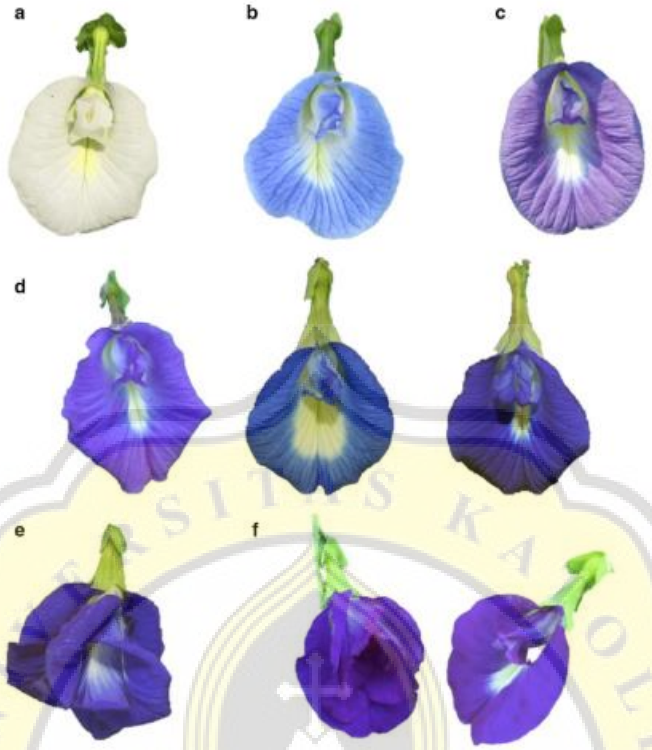
Pigmen antosianin yang dominan dalam bunga telang adalah *delphinidin* yang merupakan pigmen biru kemerahan hingga ungu, dan memberikan warna biru pada bunga. Enam jenis ternatin (pigmen biru) mayor yang diisolasi dari kelopak bunga telang adalah A1, A2, B1, B2, D1, dan D2, dengan karakteristik *delphinidin* 3,3,5-triglukosida, *delphinidin* 3-O-β-glukosida, *delphinidin* 3-O-α-glukosida, dan *delphinidin*-3-neohesperidosida yang terasilasi (Terahara et al., 1998). Selain mengandung antosianin, bunga telang juga mengandung kaempferol, rutin, quercetin, myricetin, serta glukosidanya (Kaisoon et al., 2011).

Perbedaan warna dari bunga telang dipengaruhi total antosianin yang dikandung. Bunga telang dengan warna putih tidak mengandung antosianin (meskipun tetap mengandung komponen fenolik dan memiliki aktivitas antioksidan), bunga warna biru muda

mengandung antosianin yang lebih sedikit daripada bunga warna ungu muda maupun biru/ungu tua. Meskipun begitu, total antosianin yang dikandung oleh bunga telang dari berbagai lokasi penumbuhan berbeda-beda (Havananda & Luengwilai, 2019), yang disebabkan karena komposisi antosianin maupun komponen bioaktif dalam bunga dipengaruhi oleh varietas, kedewasaan, kondisi penumbuhan, dan iklim (Bayram et al., 2015). Total antosianin, asam askorbat, komponen fenolik dari bunga telang dengan warna ungu tua bunga rangkap cenderung lebih tinggi daripada bunga telang berwarna biru/ungu tua/muda bunga tunggal (Havananda & Luengwilai, 2019).

Warna dari bunga telang dapat terdiri dari putih, biru, bahkan *mauve*. Perbedaan warna kelopak tersebut disebabkan karena perbedaan kandungan antosianin dalam bunga. Bunga telang biru dan *mauve* mengandung antosianin, sedangkan bunga putih tidak. Antosianin dalam bunga biru adalah ternatin yang merupakan *delphinidin* terpoliasilasi oleh gugus *p-coumaroyl* yang menghasilkan warna biru. Sedangkan antosianin dalam bunga *mauve* adalah *delphinidin* yang tidak terpoliasilasi, menghasilkan warna *mauve*. Meskipun begitu, kandungan lain seperti kaempferol, quercetin, dan myricetin glikosida pada ketiga bunga tetap sama (Kogawa et al., 2007).

Pada sebuah studi yang telah dilakukan, total fenolik, total flavonoid, total antosianin, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga telang dengan metode maserasi yang kemudian dikeringkan menggunakan *spray dryer* adalah 53 mg *gallic acid equivalents*/g ekstrak kering, 11,2 mg *catechin equivalent*/g ekstrak kering, 1,46 mg *cyanidin*-3-glukosida/g ekstrak kering, dan 0,17 mg *trolox equivalent*/mg ekstrak kering. Uji aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang dengan metode DPPH mendapatkan hasil angka IC50 sebesar 0,47 mg/ml (Chayaratanasin et al., 2015). Pada penelitian Chaiyasut et al. (2016), dilaporkan bahwa ditemukan antosianin jenis malvidin-3-*glucoside* sebanyak 0,12 µg/mg ekstrak (diperkirakan dari grafik dalam jurnal) dalam bunga telang.



Gambar 8. Bunga telang (a = putih, bunga tunggal, b = biru muda, bunga tunggal, c = ungu muda, bunga tunggal, d = biru tua-ungu tua, bunga tunggal, e = biru tua-ungu tua, bunga rangkap, f = biru tua-ungu tua, bunga tunggal dan semi rangkap) (Havananda & Luengwilai, 2019)

1.2.4. Antosianin dalam Bunga *Edible*

Keberadaan antosianin dalam bunga *edible* membuatnya memiliki warna yang bervariasi, mulai dari oranye, merah, ungu, dan biru, yang dapat dimanfaatkan menjadi sumber pigmen natural penghasil warna dan rasa. Asam fenolat dan flavonoid adalah komponen aktif biologis yang paling banyak ditemukan pada kelopak bunga *edible*. Antosianin dalam bunga *edible* biasa ditemukan dalam bentuk derivatif *cyanidin*, terutama *cyanidin* 3-O-glukosida; namun juga ditemukan malvidin-3-O-glukosida serta *delphinidin*-3-O-glukosida pada *Nelumbo nucifera; delphinidin*-3,7-O-diglukosida pada *Crocus sativus* L.; *delphinidin*-3-O-(4”*p*-coumaroyl)-rutinosida-5-O-glukosida pada *V. tricolor*; serta pelargonidin-3-O-sophorosida pada *Tropaeolum majus* L. merah (Pires et al., 2019). Antosianin dominan yang ditemukan pada *Rosa hybrida* pink dan merah adalah *cyanidin*

3,5-di-O-glukosida, sedangkan pelargonidin 3,5-di-O-glukosida pada varietas oranye (Kumari et al., 2021).

Enam aglikon antosianidin yang biasa ditemukan di alam memiliki karakteristik yang berbeda-beda. *Cyanidin* adalah pigmen berwarna ungu kemerahan (magenta); *delphinidin* memberi warna biru kemerahan atau ungu, yang biasanya bertanggung jawab atas warna biru dari bunga; pelargonidin memiliki warna merah yang membuat bunga berwarna oranye; peonidin yang berwarna magenta kebanyakan ditemukan pada buah beri dan anggur, serta bunga berwarna biru; malvidin adalah pigmen berwarna ungu yang banyak ditemukan pada bunga berwarna biru, yang berwarna merah gelap pada anggur merah; sedangkan petunidin merupakan pigmen berwarna merah gelap atau ungu yang dapat ditemukan pada kelopak bunga berwarna ungu serta *blackcurrants* (Khoo et al., 2017).

Pada lingkungan pH rendah, *cyanidin* berwarna merah, ungu pada pH netral (7-8), dan biru pada lingkungan pH tinggi (>11). Peonidin memiliki warna merah ceri pada pH rendah, yang dapat berubah menjadi biru pada pH 8. Stabilitas peonidin pada pH tinggi lebih tinggi daripada *cyanidin, delphinidin,* dan pelargonidin. Petunidin yang merupakan antosianin terasilasi juga lebih stabil pada pH tinggi. *Cyanidin* dan *delphinidin* lebih stabil pada kondisi pH asam. Meskipun *delphinidin* merupakan pigmen berwarna ungu, *delphinidin* dapat memberikan warna biru pada bunga saat berada pada pH tinggi (Khoo et al., 2017).

Penyimpanan ekstrak antosianin bunga telang dengan solven etanol 50% ditambah 1,5 N HCl di refrigerator terbukti menghambat degradasi pigmen antosianin dan meningkatkan retensinya hingga 67,47% (Pham et al., 2020). Pada sebuah studi yang dilakukan, ekstrak rosella yang dipanaskan selama 30 menit pada suhu 60, 70, 80, 90, dan 100°C, mempertahankan kandungan antosianinnya sebesar 99,9%; 99,2%; 99,4%; 86%; dan 79%. Percobaan yang menambahkan ekstrak rosella (yang melalui proses pemanasan pada suhu 80°C selama satu jam) pada *cupcake* (dipanggang pada suhu 175°C selama ± 20 menit) menemukan hasil total antosianin dalam *cupcake* turun menjadi 77% (Abdel-Moemin, 2016). Chanukya & Rastogi (2016) yang menambahkan ekstrak bunga mawar *freeze-thaw* dan osmosis pada yoghurt mendapatkan hasil total antosianin sebesar 125,3 mg/L menjadi 98,29 mg/L pada hari ke-11 penyimpanan. Pada hari ke-14 penyimpanan, total antosianin dalam yoghurt turun menjadi 93,4 mg/L (degradasi 25,4%) disertai

perubahan sedang dari nilai kemerahan (a*) yoghurt (10,24 menjadi 8,11). Ekstrak bunga *cornflower* yang ditambahkan pada matriks makanan dengan pH ≥ 4,5 menghasilkan warna biru yang kuat, namun penurunan pH yang signifikan mengubah warna biru dari ekstrak menjadi merah (Różyło, Szymańska-Chargot, Gawlik-Dziki, & Dziki, 2021). Pigmen antosianin dari bunga *Ranunculus asiaticus* yang diaplikasikan pada minuman berkarbonasi (pH 3,5) dapat dipertahankan hingga kurang lebih 62% setelah penyimpanan selama 6 bulan dalam botol plastik berwarna di refrigerator, dibandingkan dengan botol yang disimpan pada suhu ruang yang hanya meretensi 8% warna (Amr & Al-Tamimi, 2007).

Ekstrak antosianin dari bunga *Hibiscus* menunjukkan aktivitas menahan kematian sel dopaminergik yang diinduksi rotenon melalui gangguan aktivasi mikroglia dan perbaikan disfungsi mitokondria, menunjukkan aktivitas neuroprotektif serta kemampuan untuk meningkatkan kinerja kognitif, memori, dan motorik, yang dapat memiliki potensi dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif seperti Parkinson dan Alzheimer. *Cyanidin*-3-glukosida terbukti dapat menghambat inflamasi yang diinduksi karagenan dan peritonitis melalui inhibitasi produksi prostaglandin E2 dan menurunkan regulasi ekspresi *cyclooxygenase*-2, menunjukkan aktivitas anti-inflamasi (Pires et al., 2019).

1.2.5. Pengolahan Bunga *Edible* yang Mengandung Antosianin

a. Pengeringan dan Pengecilan Ukuran

Pengeringan bunga dapat dilakukan untuk memperpanjang umur simpan, karena proses pengeringan menghambat degradasi enzim serta membatasi pertumbuhan mikroorganisme. Pengeringan bunga dapat dilakukan dengan berbagai metode, diantaranya adalah metode konvensional (*natural drying* dan *hot air drying*) serta metode novel (*microwave* dan *freeze drying*) (Zhao et al., 2019). Pengeringan bunga dengan metode konvensional terdiri dari pengeringan secara natural dan dengan udara panas. Pengeringan bunga secara natural dilakukan dengan panas matahari (*sun drying*), udara terbuka (*air drying*), dan pengeringan di bawah tempat teduh (*shade drying*), merupakan cara yang simpel, tidak membutuhkan peralatan khusus maupun biaya yang besar. Namun pengeringan natural sangat tergantung pada cuaca dan memerlukan waktu yang lama sehingga memperbesar resiko kontaminasi. Pengeringan dengan udara panas (*hot air*

drying) tidak dipengaruhi oleh cuaca, namun paparan udara panas pada sampel selama waktu yang panjang dapat merusak sifat nutrisional serta penampilan bunga (Zhao et al., 2019). Metode pengeringan dengan udara memakan waktu yang paling lama, sekitar 2-7 hari hingga berbulan-bulan, tergantung jenis sampel yang dikeringkan. Keuntungan dari metode pengeringan ini adalah tidak menggunakan panas sehingga komponen yang labil terhadap suhu lebih dipertahankan (Nn, 2015).

Beberapa metode pengeringan bunga yang terbaru adalah pengeringan dengan *microwave* dan *freeze-drying*. Metode pengeringan dengan *microwave* dilakukan dengan gelombang elektromaknetik frekuensi tinggi dengan rentang 300 MHz sampai 300 kMHz. Air yang merupakan molekul bipolar dengan polaritas yang kuat akan bergetar dan menghasilkan panas saat proses pengeringan dengan *microwave* (Zhao et al., 2019). Pengeringan sampel dengan *microwave* menggunakan radiasi elektromagnetik yang menghasilkan panas, mempersingkat waktu pengeringan namun dapat mendegradasi fitokemikal (Nn, 2015). *Freeze drying* (*lyophilization*) adalah proses pengeringan dengan mengubah cairan di dalam sampel dari fase solid menjadi gas melalui sublimasi dibawah kondisi vakum. Metode-metode pengeringan tersebut tidak menggunakan suhu tinggi, sehingga hilangnya nutrisi dan komponen aroma dari bunga relatif kecil. Namun metode novel memiliki kekurangan, yaitu investasi awal dan biaya operasi yang tinggi, terutama pada metode *freeze-drying* (Zhao et al., 2019).

Setelah dikeringkan, bunga dapat dikecilkan ukurannya dengan dibuat menjadi bubuk yang partikelnya lebih kecil dan homogen. Pengecilan ukuran sampel meningkatkan kontak permukaan antara sampel dengan solven. Pengecilan ukuran bunga biasa dilakukan menggunakan mortar dan alu maupun blender elektrik. Penggilingan/penggerusan (*grinding*) menghasilkan sampel yang kasar, sedangkan sampel bubuk memiliki partikel yang lebih kecil dan homogen, menyebabkan kontak permukaan dengan solven lebih efektif. Mortar dan alu, blender listrik, dan gilingan adalah alat-alat yang biasa digunakan untuk mengecilkan ukuran sampel (Nn, 2015).

b. Ekstraksi Antosianin

Terdapat bermacam-macam metode ekstraksi pigmen antosianin dari bunga yang dapat dilakukan. Tiap metode memiliki keuntungan dan kekurangannya masing-masing.

Antosianin dari bunga dapat diekstrak baik dari bunga yang masih segar maupun bunga yang sudah dikeringkan. Pada kebanyakan aplikasi, sampel kering lebih diminati karena sampel segar lebih rapuh dan mudah terdeteorisasi. Selain bentuk bunga, ukuran sampel juga mempengaruhi proses ekstraksi.

Maserasi adalah metode yang paling sering digunakan untuk mengekstrak antosianin dari bunga. Metode ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam solven dan didiamkan pada suhu ruang selama minimal 3 hari dengan agitasi yang sering, untuk melembutkan dan merusak dinding sel bunga hingga melepaskan fitokemikal yang *soluble*. Setelah didiamkan, larutan kemudian ditekan atau disaring dengan filtrasi. Infusi dan dekoksi adalah variasi maserasi, pelarut yang digunakan adalah air dingin atau air mendidih, hanya waktu perendaman pada infusi lebih pendek; serta pada dekoksi, sampel dididihkan dalam rasio spesifik (misal 1:4 atau 1:6). Teknik ini adalah teknik yang paling mudah dan simpel, namun menggunakan volume solven yang banyak sehingga perlu dilakukan manajemen limbah yang baik (Nn, 2015).

Metode *soxhlet* yang disebut juga ekstraksi panas kontinyu juga dapat digunakan untuk mengekstrak antosianin. Sampel bubuk diletakkan dalam *thimble* terbuat dari kertas saring atau selulosa yang kuat, kemudian diletakkan dalam kolom *thimble* dalam alat *soxhlet*. Solven dipanaskan dalam kolom bawah, kemudian menguap ke dalam *thimble*, terkondensasi dan menetes kembali. Metode *soxhlet* membutuhkan solven yang lebih sedikit daripada maserasi, namun solven yang banyak digunakan adalah solven yang mudah terbakar dan berbahaya, sehingga berpotensi mengeluarkan emisi toksik saat ekstraksi. Selain itu, solven yang digunakan harus murni sehingga perlu dikeluarkan biaya yang besar. Proses ekstraksi *soxhlet* juga dinilai kurang ramah lingkungan (Nn, 2015).

Ekstraksi antosianin dari bunga dapat dilakukan dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (*Sonication*). Metode UAE merupakan ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik pada rentang 20 kHz sampai 2000 kHz. Kontak antara gelombang ultrasonik dengan sampel merubah sifat fisik dan kimiawinya, serta merusak dinding sel bunga, memfasilitasi lepasnya komponen dan meningkatkan perpindahan solven ke dalam sel bunga. Metode UAE cenderung simpel dan relatif rendah biaya yang bisa digunakan untuk ekstraksi fitokemikal skala kecil maupun besar. Namun, penggunaan gelombang

ultrasonik lebih dari 20 kHz dapat memberikan efek pada fitokemikal aktif yaitu pembentukan radikal bebas. Mesin UAE dapat dilihat pada Gambar 9 (Nn, 2015).

Gambar 9. Mesin UAE (Nn, 2015)

Dua metode lain yang dapat digunakan untuk mengekstrak antosianin dari bunga-bungaan adalah *accelerated solvent extraction* (ASE) dan *supercritical fluid extraction* (SFE), namun kedua metode tersebut jarang digunakan karena memerlukan biaya yang sangat tinggi (Nn, 2015).

1.2.6. Aplikasi Pewarna Antosianin pada Produk Pangan

Antosianin digunakan dalam berbagai produk pangan untuk menghasilkan warna pink, merah, biru, dan ungu (Alappat & Alappat, 2020). Ekstrak antosianin telah banyak digunakan pada produk pangan, diantaranya adalah ekstrak antosianin dari kulit anggur yang digunakan pada selai berwarna ungu, minuman, serta produk *confectionary*. Penggunaan antosianin dalam minuman yoghurt dan campuran jus buah juga semakin populer (Khoo et al., 2017). Seiring meningkatnya kekhawatiran konsumen akan efek negatif dari pewarna makanan sintetik, semakin banyak industri pangan yang menggunakan antosianin sebagai substitusi pewarna sintetik *Allura red*, yang merupakan pewarna sintetik yang paling banyak digunakan (He & Monica Giusti, 2010). Antosianin dari bunga telang yang diekstrak dan diaplikasikan pada es lilin dapat menggantikan pewarna sintetis *food grade* biru berlian CI 42090 yang tetap mempertahankan warnanya dengan stabil setelah disimpan di *freezer* (Pratimasari, 2018). Ekstrak antosianin banyak digunakan dalam makanan dan minuman ringan, es krim, susu kedelai, agar-agar, mie, santan, dan buah-buahan kering (Priska et al., 2018).

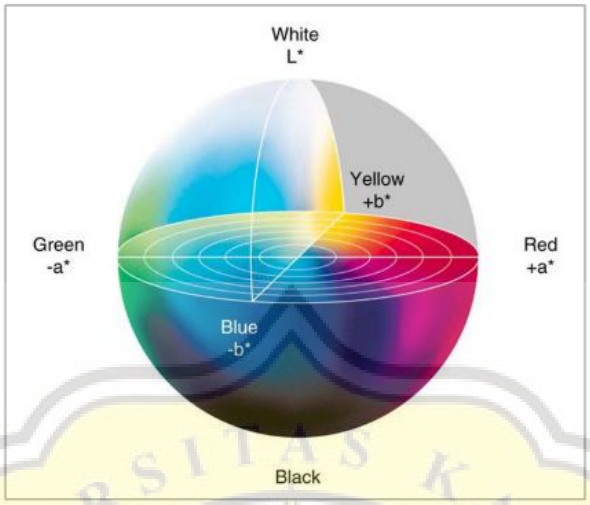
Antosianin merupakan salah satu anggota kelas flavonoid yang paling kurang stabil terhadap panas, sehingga cenderung mudah terdegradasi saat diaplikasikan pada produk pangan yang melalui pemrosesan panas (terutama pada suhu di atas 60°C) serta penyimpanan (Dangles & Fenger, 2018). Aplikasi antosianin sebagai pewarna pada produk pangan dapat dilakukan dengan penambahan senyawa-senyawa lain untuk meningkatkan stabilitasnya. Beberapa senyawa yang dapat ditambahkan untuk meningkatkan stabilitas antosianin pada produk pangan adalah senyawa polimerik seperti pektin, protein, dan gum; komponen fenolik seperti flavonoid C-glukosida yang dapat meningkatkan intensitas warna; serta ion metalik seperti besi (Cortez et al., 2017). Mannoprotein dari kapang dapat ditambahkan pada minuman model pH 7 mengandung antosianin yang dipanaskan pada suhu 80°C (pasteurisasi) dan 126°C (sterilisasi) untuk meningkatkan waktu paruh kehilangan warna hingga 5,4 kali (Dangles & Fenger, 2018). Penambahan gum arab pada solusi antosianin wortel ungu dapat menghambat kehilangan warna pada pH 3 dan suhu 40°C (Chung et al., 2016). Protein *whey* yang terdenaturasi panas dapat mempertahankan warna antosianin minuman model hingga 70% setelah 7 hari pada suhu 40°C (Chung et al., 2015). Eksperimen-eksperimen yang telah dilakukan tersebut menunjukkan bahwa interaksi antosianin dan protein (termasuk glikoprotein dalam gum arab) dapat melindungi warna dari antosianin, meskipun mekanisme perlindungannya masih belum diketahui dengan pasti (Chung et al., 2016). Mikro- atau nanopartikel solid sebagai sistem pengantar antosianin juga dapat digunakan untuk meningkatkan efektivitas antosianin. Antosianin yang dienkapsulasi dalam partikel *chitosan* dan *carboxymethylchitosan* (CMC) terbukti meningkat stabilitasnya (terdegradasi 12% setelah 3 hari pada 40°C; sedangkan kontrol terdegradasi sebesar 90°C) (Ge et al., 2018).

1.2.7. Karakteristik Produk

a. Intensitas Warna

Warna mempengaruhi estetika, keamanan, karakteristik sensori, serta penerimaan produk pangan; sehingga merupakan salah satu faktor penentu penting bagi konsumen untuk memilih produk pangan yang akan dikonsumsi (Clydesdale, 1993). Metode yang umum digunakan untuk menguji karakteristik warna dari produk pangan adalah sistem warna CIELab yang digunakan secara luas untuk menentukan koordinat warna L* (*luminosity*,

dari hitam hingga putih), a* (koordinat merah hingga hijau), dan b* (koordinat kuning hingga biru) (Gambar 10) (Cortez et al., 2017).



Gambar 10. Sistem warna CIELab (Cortez et al., 2017)

b. Total Antosianin

Kandungan antosianin memiliki korelasi penting terhadap aktivitas antioksidan dalam pangan dan produknya. Antosianin yang merupakan komponen fenolik memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sehingga semakin tinggi kandungan antosianin dalam produk pangan maka aktivitas antioksidannya juga semakin kuat (Connor et al., 2002). Kandungan antosianin dalam dalam makanan dapat diukur menggunakan uji diferensiasi pH, yaitu menggunakan dua larutan *buffer* yang berbeda jenis dan pHnya untuk melarutkan sampel, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (Juniarka et al., 2011).

c. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merujuk pada komponen yang dapat memperlambat atau mencegah oksidasi lemak maupun molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi reaksi berantai oksidatif; sehingga dapat mencegah atau memperbaiki kerusakan sel tubuh yang disebabkan oleh oksigen. Peran antioksidan dapat dilaksanakan melalui beberapa cara, diantaranya: agen pereduksi, perantas radikal bebas, pengompleks potensial dari logam pro-oksidan, serta peredam oksigen singlet (Chanwitheesuk et al., 2005).

Beberapa metode digunakan untuk mengestimasi aktivitas antioksidan dalam buah, sayur, serta produk pangan, diantaranya: 2,2-azinobis (3-*ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid*) (ABTS), 2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *ferric reducing antioxidant power* (FRAP), dan *oxygen radical absorption capacity* (ORAC). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dilakukan menggunakan larutan ABTS, metode DPPH dilakukan dengan larutan DPPH, larutan *buffer* asetat digunakan dalam metode FRAP, dan kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer; sedangkan metode ORAC dilakukan menggunakan *automated plate reader* (Thaipong et al., 2006). Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan, dengan hasil nilai IC_{50} (*inhibitory concentration* 50%) yaitu konsentrasi antioksidan untuk menghambat 50% oksidasi. Kekuatan antioksidan ditunjukkan dari nilai IC_{50}, jika angka IC_{50} semakin kecil maka antioksidan semakin tinggi aktivitasnya (Lung & Destiani, 2018) (Tabel 2).

Tabel 2. Tingkat kekuatan antioksidan (Lung & Destiani, 2018)

Intensitas Antioksidan	**Nilai IC_{50} (µg/mL)**
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-250
Lemah	250-500
Tidak aktif	>500

d. pH

Tingkat keasaman atau kebasaan suatu produk dapat dinyatakan dengan derajat keasamaan yang sering disebut pH. pH dinyatakan dengan angka, dimana jika sebuah produk memiliki pH di bawah 7, maka produk tersebut bersifat asam; jika pH produk di atas 7, maka produk tersebut bersifat basa; sedangkan produk yang memiliki pH 7 dikatakan netral (Ihsanto & Hidayat, 2014). Pengukuran pH produk pangan biasa dilakukan dengan pH meter yang dikalibrasi dengan aquades untuk menetralkan pH pada pH meter (Laksmi, M, & Kusrahayu, 2012).

1.2.8. Identifikasi Masalah

Masalah yang dapat diidentifikasi berdasarkan latar belakang dan literatur-literatur *review* yang sudah ada antara lain adalah:

1. Bagaimana karakteristik fisikokimia pewarna antosianin dari berbagai jenis bunga *edible* (rosella, mawar, telang)?
2. Bagaimana pengaruh pra-perlakuan dan kondisi ekstraksi maserasi bunga *edible* (rosella, mawar, telang) terhadap karakteristik fisikokimia ekstrak pewarna antosianin?
3. Bagaimana pengaruh proses pengolahan produk terhadap karakteristik fisikokimia produk pangan dengan pewarna alami antosianin dari bunga *edible* (rosella, mawar, telang)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik fisikokimia pewarna antosianin dari bunga *edible* (rosella, mawar, telang) yang didapatkan dari proses ekstraksi maserasi dengan berbagai kondisi, serta pengaruh penambahan pewarna alami yang mengandung antosianin dan proses pengolahan produk terhadap karakteristik fisikokimia produk pangan.