4. PEMBAHASAN

Upaya meningkatkan kualitas dari produk pangan dapat dilakukan melalui berbagai cara, salah satunya adalah dengan menambahkan pewarna pada produk pangan. Pewarna yang banyak ditambahkan dalam produk pangan dapat berasal dari berbagai sumber. Dalam studi ini, akan diulas tentang pewarna dari ekstrak yang diperoleh dari bunga *edible* seperti bunga rosella, mawar, dan bunga telang. Bunga *edible* yang berbeda saat dibuat menjadi ekstrak menghasilkan ekstrak dengan karakteristik yang berbeda-beda pula, mengikuti karakteristik dari bunga tersebut. Perbedaan yang paling mudah dilihat adalah warna dari masing-masing ekstrak.

Ekstrak dari bunga rosella memiliki warna merah keunguan akibat kandungan antosianin yang dominan dalam bunga rosella seperti *delphinidin* dan *cyanidin* (Mgaya-Kilima et al., 2015; Tsai et al., 2002). Dalam bunga rosella, pigmen *delphinidin* mendominasi sebesar 85% dari kandungan antosianin dan memberikan warna kemerahan, sedangkan *cyanidin* memberikan warna merah muda (Tsai et al., 2002). *Cyanidin* juga dapat memberikan warna ungu kemerahan (Khoo et al., 2017). Ekstrak dari bunga mawar *Damask* (*Rosa damascena*) memiliki warna merah muda hingga merah, yang disebabkan oleh kandungan antosianin dengan jenis pelargonidin, malvidin, dan *cyanidin* (Chanukya & Rastogi, 2016; Sengul et al., 2017). Pelargonidin memberikan warna merah hingga oranye, malvidin memberikan warna merah hingga ungu, serta *cyanidin* memberikan warna ungu kemerahan (Khoo et al., 2017). Selain bunga rosella dan mawar, telah banyak dilakukan ekstraksi dari bunga telang. Ekstrak dari bunga telang memiliki warna biru hingga ungu yang dikarenakan antosianin dominan yang terkandung dalam bunga telang adalah *delphinidin* dan *cyanidin* (Chayaratanasin et al., 2015; Mukherjee et al., 2008). Pigmen *delphinidin* memberikan warna biru kemerahan atau ungu, namun dapat pula bertanggung jawab atas *hue* biru pada bunga. Warna ungu kemerahan dihasilkan dari pigmen *cyanidin.* Pada larutan dengan pH yang rendah (pH <3), *cyanidin* berwarna merah, ungu pada pH larutan 7-8, dan biru pada larutan pH tinggi (pH >11) (Khoo et al., 2017).

4.1. Pengaruh Kondisi Ekstraksi Metode Maserasi Bunga Terhadap Karakteristik Ekstrak Bunga Rosella, Mawar, dan Telang

Penggunaan bunga-bungaan sebagai pewarna alami biasa dilakukan dengan mengolahnya menjadi ekstrak terlebih dahulu. Karakteristik ekstrak yang dikaji dalam studi ini adalah

total antosianin, aktivitas antioksidan, serta pH dari ekstrak yang didapatkan melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi dengan berbagai kondisi perlakuan pendahuluan dan kondisi ekstraksi.

4.1.1. Perlakuan Pendahuluan (*Pre-Treatment*)

Berdasarkan data yang telah diperoleh, dapat dilihat bahwa ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi maserasi dari bunga *edible* (rosella, mawar, telang) seluruhnya melalui perlakuan pendahuluan yang dapat berupa pengecilan ukuran, pengeringan, maupun keduanya. Pengeringan bunga yang digunakan sebagai pewarna dapat dilakukan menggunakan berbagai alat dan lama waktu. Dengan dilakukan pengeringan sebelum digunakan, sampel bunga dapat diperpanjang umur simpannya karena proses pengeringan akan menghambat degradasi enzim dan membatasi pertumbuhan mikroorganisme (Zhao et al., 2019). Pada beberapa kasus, keberadaan air dapat menurunkan stabilitasnya karena berbagai reaksi kimiawi maupun enzimatik yang tidak diinginkan dapat terjadi akibat adanya kandungan air dalam sampel (Domínguez-Rodríguez et al., 2017). Pengecilan ukuran bunga, baik menjadi bubuk maupun bubur, dapat meningkatkan kontak permukaan yang mendorong difusi dari partikel solid ke dalam solven, sekaligus merusak organel bunga sehingga permeabilitas solven lebih baik (Zhao et al., 2019). Alat yang beragam digunakan pada perlakuan *pre-treatment* sampel bunga yang digunakan sebagai pewarna dengan metode ekstraksi.

Bunga rosella pada penelitian Abdel-Moemin (2016) dikeringkan menggunakan *vacuum-dryer* sebelum kemudian digerus menjadi bubuk. Monteiro et al. (2017) mengeringkan bunga rosella di bawah tempat teduh (*shade dried*) lalu digerus sebelum diekstrak. Pengeringan dengan oven (Setyasih et al., 2008) serta pengeringan dengan metode *hot air dryer* (Ramli et al., 2021; Shikov et al., 2012) juga digunakan. Selain itu, terdapat pula bunga yang sudah kering langsung dihaluskan menggunakan blender (Adriana et al., 2020; Attahmid et al., 2020; Isnaini, 2010; Pires et al., 2018) sebelum diekstrak. Bunga telang pada penelitian Chusak et al. (2019) hanya melalui proses *pre-treatment* pengeringan saja sebelum ekstraksi; serta pada penelitian Palimbong & Pariama (2020), bunga telang hanya melalui proses pengecilan ukuran saja.

Pengeringan bunga dengan metode *shade drying* (Monteiro et al., 2017), oven (Setyasih et al., 2008), serta *hot air drying* (Shikov et al., 2012), merupakan pengeringan dengan

metode konvensional. Metode *shade drying* adalah metode pengeringan yang dapat dilakukan dengan mudah dan murah (Zhao et al., 2019), namun sangat tergantung pada iklim dan waktu yang diperlukan untuk mengeringkan sampel lebih lama serta lebih rentan terkontaminasi (Nn, 2015). Pengeringan menggunakan oven (Setyasih et al., 2008) dan *hot air drying* (Shikov et al., 2012) memiliki keuntungan yaitu tidak tergantung pada iklim, namun paparan udara panas pada sampel dengan waktu yang cukup lama dapat merusak sifat fungsional dari sampel, terutama komponen yang tidak stabil terhadap panas seperti antosianin (Zhao et al., 2019). Hal tersebut terbukti pada penelitian Shikov et al. (2012), bunga mawar yang dikeringkan menggunakan *hot air dryer* menghasilkan total antosianin yang lebih rendah daripada bunga rosella yang dikeringkan menggunakan *vacuum-dryer* pada penelitian Abdel-Moemin (2016). Pengeringan yang dilakukan dengan *vacuum-dryer* (Abdel-Moemin, 2016) merupakan contoh dari pengeringan metode novel. Pengeringan dengan metode novel dilakukan menggunakan peralatan yang lebih baru dan canggih sehingga dapat meningkatkan kualitas dari produk (Zhao et al., 2019), seperti yang dapat dilihat pada ekstrak rosella pada penelitian Abdel-Moemin (2016) yang memiliki total antosianin paling tinggi dari seluruh ekstrak yang diulas.

Selain pengeringan, perlakuan pendahuluan sebelum proses ekstraksi bunga dapat berupa proses pengecilan ukuran. Pengecilan ukuran sampel dapat membuat proses ekstraksi lebih efektif, karena luas permukaan sampel yang kontak dengan solven lebih besar (Nn, 2015). Hal tersebut dapat dilihat terbukti pada penelitian-penelitian yang telah dilakukan, seperti ekstrak bunga rosella pada penelitian Abdel-Moemin (2016) dimana dilakukan perlakuan pendahuluan penggerusan bunga yang sudah kering menjadi bubuk; dibandingkan dengan ekstrak bunga rosella pada penelitian Isnaini (2010), dimana dilakukan pengecilan ukuran bunga rosella menggunakan blender. Total antosianin dalam ekstrak pada penelitian Abdel-Moemin (2016) lebih tinggi daripada ekstrak penelitian Isnaini (2010).

4.1.2. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengekstrak antosianin dalam bunga *edible* untuk digunakan sebagai pewarna beragam. Namun, dalam studi ini, proses ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak bunga rosella, mawar, dan telang yang diulas adalah dengan teknik maserasi.

Dalam ekstraksi menggunakan metode maserasi, sampel direndam dalam solven dan didiamkan selama waktu tertentu yang bertujuan untuk melunakkan dan merusak dinding sel dari bahan (dalam studi ini: bunga) (Nn, 2015). Pelarut masuk ke dalam sel bahan melalui proses difusi yang menyebabkan keluarnya senyawa aktif dari bahan akibat adanya tekanan osmosis. Proses ekstraksi dapat dipercepat baik dengan pengadukan maupun pemanasan. Suhu yang semakin tinggi serta pengadukan yang semakin cepat dapat mempercepat proses ekstraksi; namun suhu yang tinggi beresiko merusak komponen yang tidak stabil terhadap panas seperti antosianin (Maleta et al., 2018). Perubahan dari suhu, waktu, maupun solven dapat dilakukan untuk meningkatkan performansi dari proses ekstraksi (Nn, 2015).

Pada penelitian Abdel-Moemin (2016), dilakukan ekstraksi bunga rosella dengan metode maserasi menggunakan pelarut aquades dengan rasio 1:2 selama 1 malam. Ekstrak yang didapat kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 1 jam lalu disaring. Pelarut aquades juga digunakan pada ekstraksi maserasi bunga rosella pada penelitian Isnaini (2010), rasio bunga dibanding pelarut adalah 1:3, serta ekstraksi dilakukan pada suhu 40°C selama 15 menit, kemudian disaring dan ditambah gelatin. Penambahan gelatin pada ekstrak dilakukan supaya ekstrak yang dihasilkan menjadi lebih kental (Isnaini, 2010). José et al. (2019) juga melakukan ekstraksi maserasi pada bunga rosella dengan pelarut aquades, namun suhu yang digunakan adalah 100°C selama 30 menit, kemudian ekstrak disaring.

Ekstraksi maserasi bunga rosella dengan pelarut aquades yang dilakukan pada suhu 25-30°C selama 30 menit atau 120 menit juga digunakan pada penelitian Monteiro et al. (2017). Setyasih et al. (2008) menggunakan ekstrak bunga rosella hasil maserasi dengan pelarut aquades hangat. Rasio bunga berbanding pelarut yang digunakan adalah 10 gram bunga dengan 1500 mL pelarut. Ekstraksi dilakukan selama 60 menit kemudian disaring. Ekstraksi bunga rosella dengan metode maserasi menggunakan pelarut aquades dengan rasio 1:10 juga dilakukan oleh Adriana et al. (2020) dengan suhu 100°C selama 30 menit yang kemudian disaring sebelum digunakan. Ekstrak bunga rosella yang dihasilkan dalam penelitian memiliki nilai IC_{50} rendah yang menandakan ekstrak rosella memiliki intensitas antioksidan yang sangat kuat (Lung & Destiani, 2018).

Seluruh ekstraksi bunga rosella pada penelitian-penelitian yang diulas dilakukan menggunakan pelarut aquades, kecuali pada penelitian Attahmid et al. (2020) dimana

ekstraksi metode maserasi dilakukan dengan pelarut asam sitrat 2% dengan rasio 1:10 (50 gram sampel bunga dengan 500 mL pelarut) pada suhu ruang selama 24 jam. Ekstrak yang didapatkan kemudian disaring dan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Pelarut yang paling umum digunakan dalam ekstraksi antosianin adalah etanol 95% yang memiliki kepolaran yang hampir sama dengan antosianin, sehingga pelarutan antosianin lebih mudah. Umumnya, ekstraksi antosianin dilakukan dalam kondisi asam karena sifat antosianin yang kurang stabil dalam larutan netral atau basa. Pengasam yang umum digunakan adalah asam sitrat dan HCl. Membran sel tanaman dapat terdenaturasi saat ditambahkan HCl, selain itu, pigmen antosianin dapat larut dan keluar dari sel (Kristiana et al., 2012).

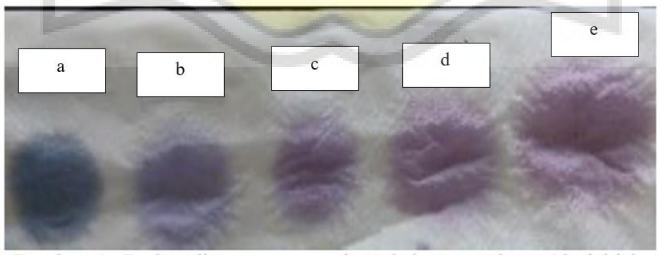
Bunga mawar diekstrak dengan metode maserasi pada penelitian Visita & Putri (2014) dengan pelarut aquades yang ditambah asam sitrat dilakukan pada suhu 10-12°C selama 30 menit, sebelum selanjutnya ditambah dekstrin maupun maltodekstrin dan dikeringkan dengan pengering kabinet bersuhu 60°C selama 12 jam, kemudian diblender menjadi bubuk. Dekstrin dan maltodekstrin merupakan bahan pengisi yang memiliki peran dalam penstabilan suspensi, pengikat dan pencegah penguapan komponen volatil, serta bahan enkapsulasi supaya kandungan nutrisi yang mudah rusak pada proses pengolahan dapat dipertahankan. Perbedaan antara dekstrin dan maltodekstrin adalah dekstrin merupakan senyawa polisakarida, sedangkan maltodekstrin merupakan senyawa hidrokoloid (Visita & Putri, 2014).

Ekstrak bunga mawar yang digunakan pada penelitian Pires et al. (2018) adalah hasil ekstraksi maserasi dengan bantuan alat *stirring plate*. Pelarut yang digunakan adalah aquades dengan rasio 1:50 pada suhu 25°C selama 1 jam dengan kecepatan 150 rpm, sebelum selanjutnya disaring dan dibekukan (*lyophilized*) (Pires et al., 2018). Liofilisasi (*freeze drying*) adalah proses dimana air dalam sampel dibekukan dan dihilangkan menggunakan prinsip sublimasi, yang dapat digunakan untuk senyawa-senyawa yang tidak stabil dalam larutan namun stabil dalam bentuk kering, atau senyawa yang termolabil seperti antosianin (Wang, 2000).

Ramli et al. (2021) menggunakan ekstrak bunga telang hasil metode maserasi dengan *incubator shaker*. Pelarut yang digunakan adalah aquades dengan rasio 1 gram bunga berbanding 100 mL pelarut, dengan suhu 70°C selama 2 jam dengan kecepatan 150 rpm.

Ekstrak yang didapat kemudian disentrifugasi dan disaring. Metode maserasi bunga telang pada penelitian Chusak et al. (2019) dilakukan dengan merebus bunga dalam aquades pada suhu 90-95°C selama 30 menit dan disaring. Teknik merebus sampel tersebut merupakan variasi dari metode ekstraksi maserasi yang sering disebut dekoksi (Nn, 2015). Perbedaan kandungan ekstrak dalam konsentrasi yang berbeda dapat dikarenakan oleh ekstrak dengan konsentrasi lebih tinggi mengandung proporsi bunga telang lebih banyak daripada proporsi bunga telang dalam ekstrak dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga komponen dari bunga telang yang terekstrak juga menjadi lebih banyak (Isnaini, 2010).

Asam sitrat dengan konsentrasi 0%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, dan 1% digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi maserasi bunga telang dengan rasio bunga berbanding pelarut 1:10. Ekstraksi dilakukan pada suhu ruang (25°C) selama 1 hari, kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30-40°C (Palimbong & Pariama, 2020). Antosianin merupakan pigmen yang lebih stabil dalam kondisi asam. Kation flavilium antosianin yang terbentuk dalam kondisi asam menyebabkan kelarutan antosianin dalam air semakin meningkat dan antosianin lebih stabil (Khoo et al., 2017), sehingga ekstrak hasil ekstraksi dengan pelarut yang lebih asam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Semakin tinggi konsentrasi asam sitrat yang digunakan dalam ekstraksi, warna biru ekstrak yang dihasilkan semakin pudar dan warna dari ekstrak semakin ungu, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 13. Hal tersebut disebabkan karena antosianin merupakan pigmen dengan sifat amfoter, yaitu sensitif terhadap perubahan pH, dimana semakin asam pH lingkungan maka warna dari antosianin semakin merah; sedangkan pada pH lingkungan basa antosianin berwarna biru (Khoo et al., 2017).



Gambar 13. Perbandingan warna ekstrak bunga telang dengan perbedaan konsentrasi asam sitrat: a) 0% b) 0,25% c) 0,5% d) 0,75% e) 1% (Palimbong & Pariama, 2020)

Antosianin merupakan molekul polar, sehingga untuk mengekstraknya umum digunakan etanol, metanol, aseton, dan air, baik dengan maupun tambahan pengasam. Asam ditambahkan dalam solven karena sifat antosianin yang tidak stabil dalam larutan netral atau basa, serta penambahan asam dapat membantu merusak membran sel dan memfasilitasi solubilitas antosianin. Meskipun solven yang diasamkan lebih efektif dalam mengekstrak antosianin, pengasaman yang berlebihan dapat merusak pigmen antosianin, sehingga pengasaman solven biasanya dilakukan menggunakan asam lemah dan asam kuat dengan konsentrasi rendah, seperti asam trifluoroasetat (0,5-3%) dan asam hidroklorida (<1%). Dalam studi disebutkan bahwa metanol atau etanol merupakan solven pengekstrak antosianin paling stabil, dan performansinya lebih efektif dengan penambahan pengasam (Amogne et al., 2020).

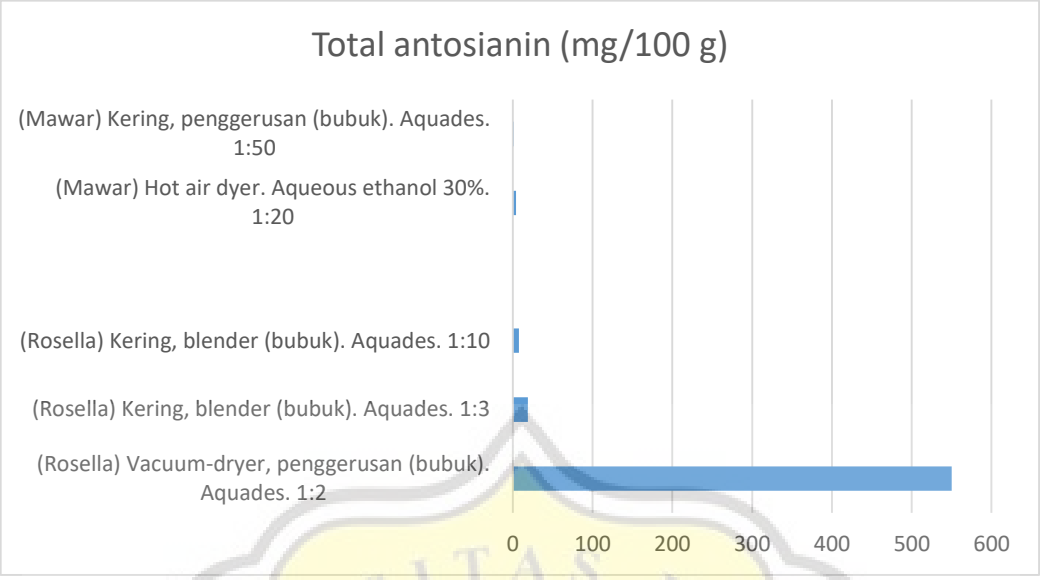
Metanol, aseton, dan campuran *aqueous*nya adalah pelarut yang paling sering digunakan untuk mengekstrak polifenol, termasuk antosianin. Namun, penggantian pelarut menjadi yang lebih ramah lingkungan seperti air, etanol, atau campuran keduanya semakin marak, terutama mengingat syarat industri pangan dan farmasi untuk menghasilkan produk yang ramah lingkungan (Pires et al., 2019). Sineiro et al. (2008) menyebutkan bahwa hasil ekstraksi komponen polifenolik banyak didapatkan dari ekstraksi dengan solven etanol, metanol, maupun campuran dengan air; meskipun solven lain seperti etil asetat atau aseton juga populer. Air dan etanol merupakan solven yang paling banyak digunakan karena level toksiknya yang rendah dan hasil ekstraksi yang banyak. Mengubah rasio antara campuran air dan etanol juga dapat memberikan keuntungan bagi proses ekstraksi dengan mengubah kepolaran solven, yang dapat disesuaikan dengan sifat komponen yang akan diekstrak (Sineiro et al., 2008).

Semakin banyak pelarut yang digunakan, total antosianin dan aktivitas antioksidan dalam ekstrak semakin menurun yang disebabkan karena besarnya fraksi pelarut berbanding bunga. Suhu saat dilakukannya proses ekstraksi juga mempengaruhi total antosianin dan total aktivitas antioksidan dalam ekstrak, dimana suhu ekstraksi yang semakin tinggi akan menurunkan total antosianin dalam ekstrak serta aktivitas antioksidan, karena antosianin merupakan pigmen yang tidak stabil pada suhu tinggi (terutama mulai suhu 60°C), sehingga proses ekstraksi optimal dilakukan pada suhu 30-50°C (Isnaini, 2010).

Pelarut yang semakin banyak serta suhu yang semakin tinggi akan menurunkan derajat kepekatan warna serta meningkatkan kecerahan dari ekstrak. Saat diekstrak dengan pelarut yang semakin banyak dan suhu yang semakin tinggi maka antosianin yang berada dalam ekstrak semakin sedikit, sehingga kepekatannya berkurang. Penggunaan pelarut yang semakin banyak dapat memudahkan masuknya pelarut dalam sel bahan, sehingga ekstraksi yang dilakukan relatif lebih cepat dan komponen yang terekstrak relatif lebih banyak. Namun, banyaknya fraksi pelarut dibandingkan bunga dalam ekstrak dapat membuat kadar antosianin menjadi turun (Isnaini, 2010).

Suhu yang semakin meningkat dalam proses ekstraksi antosianin dapat meningkatkan laju difusi dan solubilitas analit dalam solven, yang meningkatkan efisiensi ekstraksi. Namun, suhu ekstraksi yang meningkat juga dapat meningkatkan laju degradasi antosianin. Umumnya, ekstraksi antosianin konvensional dilakukan pada suhu 20 hingga 50°C. Antosianin dan warnanya terdegradasi dengan cepat pada suhu lebih dari 70°C (Amogne et al., 2020; Rajbhar et al., 2015). Hal tersebut terbukti pada ekstrak bunga rosella dalam penelitian Abdel-Moemin (2016) dan Isnaini (2010) dimana ekstraksi dilakukan pada suhu 25°C (suhu ruang) dan 40°C yang memiliki total antosianin lebih tinggi daripada ekstrak pada penelitian Adriana et al. (2020) yang dilakukan pada suhu 100°C.

Waktu ekstraksi juga dapat mempengaruhi karakteristik ekstrak. Kontak yang berkepanjangan antara solven dengan sampel yang terjadi saat proses ekstraksi yang lebih lama dapat meningkatkan jumlah sel sampel yang pecah dan bahan aktif yang terekstrak, hingga tercapai kesetimbangan antara konsentrasi sampel dan pelarut (Chairunnisa et al., 2019). Teori tersebut sesuai dengan hasil dari ekstrak bunga rosella hasil ekstraksi selama satu malam pada penelitian Abdel-Moemin (2016) yang memiliki total antosianin lebih tinggi daripada ekstrak pada penelitian Isnaini (2010) yang didapatkan dari ekstraksi selama 15 menit. Namun, ekstrak bunga rosella pada penelitian Adriana et al. (2020) yang didapatkan dari ekstraksi selama 30 menit memiliki total antosianin yang lebih sedikit daripada ekstrak hasil ekstraksi selama 15 menit. Hal tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan kondisi ekstraksi lain seperti rasio dan suhu yang mempengaruhi karakteristik ekstrak (Chairunnisa et al., 2019).

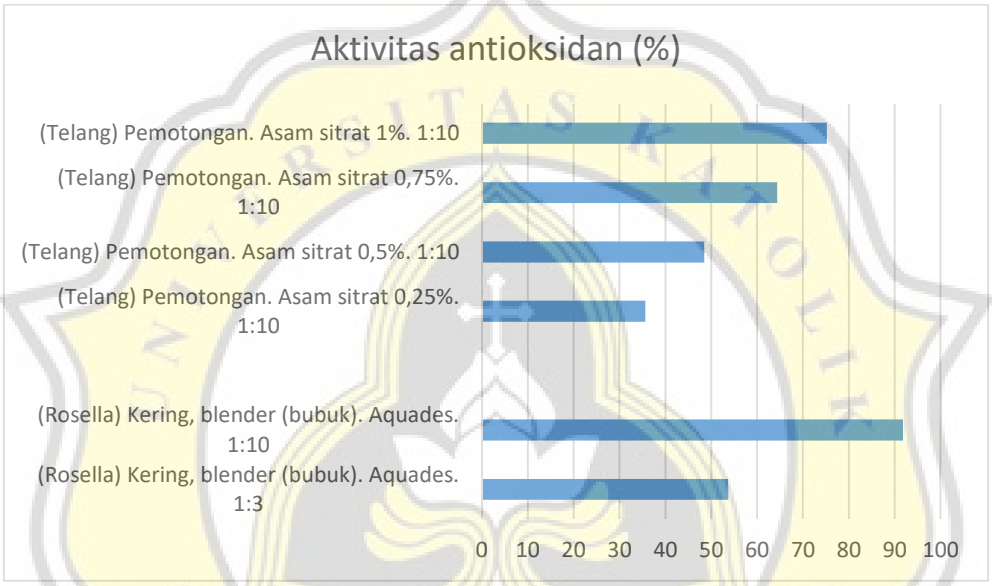


Gambar 14. Grafik kandungan total antosianin ekstrak dari berbagai perlakuan pendahuluan, pelarut, dan rasio ekstraksi maserasi

Grafik yang menunjukkan kandungan total antosianin dalam ekstrak bunga mawar dan rosella dapat dilihat pada Gambar 14. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak yang mengandung total antosianin paling tinggi adalah dari hasil ekstraksi bunga rosella yang melalui perlakuan pendahuluan pengeringan dengan *vacuum dryer* dan pengecilan ukuran menjadi bubuk; serta ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut aquades dengan rasio 1:2. Ekstrak bunga rosella yang didapatkan dari bunga rosella kering yang dibuat menjadi bubuk dan melalui proses ekstraksi maserasi menggunakan pelarut aquades dengan rasio 1:10 dan 1:3 memiliki total antosianin yang lebih rendah daripada ekstrak bunga rosella dengan perlakuan *vacuum-dryer* dan rasio ekstraksi 1:2. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa semakin banyak pelarut yang digunakan maka fraksi pelarut dalam ekstrak semakin banyak dibandingkan fraksi bunga, sehingga total antosianin yang terkandung dalam ekstrak pun semakin rendah (Isnaini, 2010).

Teori tersebut juga sesuai dengan hasil ekstrak bunga mawar berdasarkan studi, dimana ekstrak bunga mawar yang diperoleh dari bunga mawar yang melalui perlakuan pendahuluan pengeringan dengan *hot air dryer* dengan pelarut *aqueous ethanol* 30% dengan rasio 1:20 memiliki total antosianin yang lebih tinggi daripada ekstrak bunga mawar dari bunga mawar kering yang dikecilkan ukurannya menjadi bubuk dan diekstrak menggunakan pelarut aquades dengan rasio 1:50. Selain itu, perbedaan pelarut dapat menyebabkan perbedaan total antosianin yang dikandung ekstrak. Metanol atau etanol

dapat mengekstrak antosianin dengan baik (Amogne et al., 2020), sesuai dengan hasil yang didapatkan dimana ekstrak bunga mawar yang diekstrak dengan pelarut *aqueous ethanol* mengandung antosianin yang lebih tinggi daripada ekstrak bunga mawar dengan pelarut aquades. Perbedaan kandungan antosianin dalam ekstrak bunga rosella dan mawar dapat disebabkan karena perbedaan jenis bunga yang dapat menyebabkan perbedaan kandungan komponen dalam masing-masing bunga, sehingga antara bunga satu dan yang lain dapat mengandung komponen yang sama namun dalam jumlah yang berbeda (Kaisoon et al., 2011).



Gambar 15. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak dari berbagai perlakuan pendahuluan, pelarut, dan rasio ekstraksi maserasi

Grafik aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang dan rosella dapat dilihat pada Gambar 15. Berdasarkan grafik, dapat dilihat bahwa ekstrak dari bunga rosella yang melalui perlakuan pendahuluan pengeringan dan pengecilan ukuran hingga menjadi bubuk dan diekstrak menggunakan pelarut aquades dengan rasio 1:10 (bunga berbanding pelarut) memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan ekstrak yang lain. Hal tersebut tidak sesuai dengan teori yang disampaikan oleh Isnaini (2010) dan Ali et al. (2013) yang menyatakan bahwa semakin banyak pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, fraksi pelarut menjadi lebih besar dibanding bunga, sehingga dapat menurunkan antosianin yang terkandung dalam ekstrak, yang kemudian menurunkan aktivitas antioksidan dari ekstrak.

Alfian & Susanti (2012) yang meneliti tentang kandungan fenolik bunga rosella dengan variasi tempat tumbuh menyatakan bahwa perbedaan lokasi tumbuhnya bunga dapat menyebabkan terjadinya perbedaan kandungan fenolik dari bunga meskipun varietasnya sama. Kandungan dalam bunga dapat dipengaruhi oleh suhu, intensitas cahaya, serta kesuburan tanah dari tempat bunga tersebut tumbuh. Saat bunga tumbuh di lokasi yang berbeda, terdapat perbedaan antara ketiga faktor tersebut antara tempat satu dengan yang lainnya, yang berimbas pada kandungan fenolik dari bunga, termasuk antosianin. Teori tersebut dapat menjelaskan mengapa kandungan antosianin maupun aktivitas antioksidan bunga yang varietasnya sama dapat berbeda. Selain itu, dapat pula disebabkan karena ekstrak rosella dari ekstraksi dengan rasio 1:3 ditambahkan gelatin, sehingga dapat menurunkan konsentrasi rosella dalam ekstrak, yang berimbas pada menurunnya total antioksidan dari ekstrak (Wicaksono et al., 2019).

Ekstrak bunga telang yang didapatkan dari ekstraksi maserasi dengan pelarut asam sitrat memiliki aktivitas antioksidan yang meningkat seiring meningkatnya konsentrasi dari asam yang digunakan. Antosianin merupakan pigmen alami yang lebih stabil dalam kondisi asam. Dalam studi disebutkan bahwa salah satu pengasam terbaik dalam ekstraksi antosianin adalah asam sitrat dengan konsentrasi 3%, sehingga ekstraksi yang dilakukan dengan asam sitrat dapat menghasilkan ekstrak dengan total antosianin dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Kristiana et al., 2012). Meskipun begitu, aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga telang yang diekstrak dengan asam sitrat 1% lebih rendah daripada aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella hasil ekstraksi maserasi dengan pelarut aquades. Penyebab hal tersebut dapat berupa perbedaan perlakuan pendahuluan, dimana bunga telang yang diekstrak hanya melalui proses pemotongan, sedangkan bunga rosella melalui proses pengecilan ukuran dengan blender menjadi bubuk. Luas permukaan sampel menjadi lebih besar saat sampel dikecilkan ukurannya menjadi bubuk, sehingga kontak sampel dengan solven lebih baik, dan ekstraksi dapat berjalan dengan lebih efektif (Nn, 2015). Selain itu, perbedaan jenis bunga dapat menyebabkan perbedaan kandungan komponen dalam masing-masing bunga, sehingga antara bunga satu dan yang lain dapat mengandung komponen yang sama namun dalam jumlah yang berbeda (Kaisoon et al., 2011). Kultivar, operasi *post-harvest*, kondisi ekstraksi *calyx*, dan formulasi tidak memiliki dampak yang besar pada variabel pH (Bechoff et al., 2014; Ramirez et al., 2010).

4.2.Pengaruh Proses Pengolahan Produk Terhadap Karakteristik Fisikokimia Produk Pangan Berpewarna Alami Ekstrak Bunga Rosella, Mawar, dan Telang

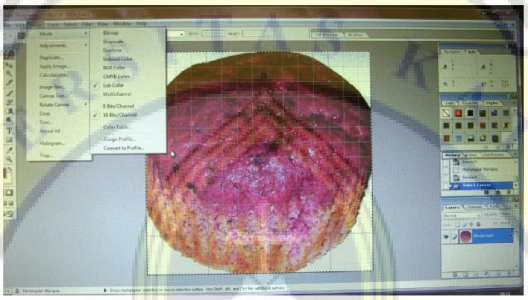
Proses pengolahan produk pangan dapat mempengaruhi karakteristik yang dihasilkan oleh pigmen antosianin dari bunga *edible* (rosella, mawar, telang), mengingat sifat antosianin yang labil terutama terhadap panas (Amogne et al., 2020). Panas banyak digunakan dalam proses pengolahan produk pangan, seperti panas dari oven (Abdel-Moemin, 2016; Pasukamonset et al., 2017, 2018; Visita & Putri, 2014), perebusan (Adriana et al., 2020; Attahmid et al., 2020; Isnaini, 2010; José et al., 2019), pengukusan (Isnaini, 2010), pengkonsentratan dan pasteurisasi (Monteiro et al., 2017), penggorengan (Setyasih et al., 2008), pasteurisasi (Shikov et al., 2012), pengukusan dan pengeringan (Ramli et al., 2021), panas dari *rice cooker* maupun *microwave oven* (Chusak et al., 2019).

4.2.1. Bunga Rosella

Ekstrak bunga rosella hasil maserasi diaplikasikan ke *cupcake* pada penelitian Abdel-Moemin (2016). Adonan *cupcake* yang sudah ditambah ekstrak bunga rosella dengan konsentrasi 20% kemudian dipanggang dalam oven dengan suhu 175°C selama 20 menit. Pemanggangan *cupcake* menurunkan retensi antosianin hingga 77% dari *cupcake.* Terdapat perbedaan warna dari *crumb dan crust* pada *cupcake* baik tanpa atau dengan tambahan ekstrak rosella, dimana warna *crumb* dari *cupcake* lebih terang daripada warna *crust* yang ditunjukkan oleh lebih tingginya nilai L pada *crumb* (89, 60) daripada *crust cupcake* (71, 18). Hal tersebut dapat disebabkan karena reaksi Maillard yang terjadi saat proses pemanggangan hanya terjadi pada bagian permukaan *cupcake,* yang menghasilkan warna kecoklatan sehingga warna *crust cupcake* lebih gelap. Kandungan asam organik dalam ekstrak rosella diduga dapat membantu menstabilkan warna dari *cupcake* ekstrak bunga rosella dengan menurunkan pH (pH *cupcake* kontrol tanpa ekstrak rosella lebih tinggi (7,9) daripada pH *cupcake* dengan tambahan ekstrak (7,5)) (Abdel-Moemin, 2016).

Cupcake dengan pewarna ekstrak rosella (Gambar 16) memiliki hasil uji *chromameter* koordinat L sebesar 60, koordinat a* sebesar 50 dan koordinat b* sebesar 30, dibandingkan dengan *cupcake* kontrol tanpa ekstrak rosella yang tidak mengandung antosianin serta memiliki koordinat L sebesar 89, koordinat a* sebesar -0,5, dan koordinat b* sebesar 65. Nilai L yang semakin rendah memiliki arti bahwa warna produk semakin gelap, koordinat a* yang semakin positif menandakan warna produk semakin merah, dan

koordinat b* yang semakin positif berarti warna produk semakin mengarah ke arah kuning. Kandungan total antosianin dalam *cupcake* ekstrak rosella adalah 435 mg *cyanidin*-3-*glucoside*/100 g berat kering, sedangkan dalam *cupcake* kontrol tidak terkandung antosianin. Meskipun begitu, ada penurunan sebesar 23% total antosianin dalam *cupcake* jika dibandingkan dengan total antosianin dalam ekstrak rosella awal. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak rosella terbukti dapat mengubah warna dan menambah kandungan antosianin dari *cupcake. Cupcake* memiliki pH 7,5 yang lebih tinggi dan mendekati netral jika dibandingkan dengan pH ekstrak rosella (Abdel-Moemin, 2016).



Gambar 16. *Cupcake* dengan tambahan ekstrak rosella dalam program *Photoshop* pada penelitian primer (Abdel-Moemin, 2016)

Isnaini (2010) menambahkan ekstrak bunga rosella hasil maserasi pada agar-agar, sirup, kue mangkuk, serta kue lapis pada penelitian. Koordinat warna Lab, total antosianin, dan aktivitas antioksidan yang didapatkan berbeda-beda meskipun konsentrasi ekstrak yang ditambahkan sama, yang menunjukkan bahwa penambahan ekstrak rosella dengan konsentrasi sama pada produk dan proses pemasakan yang berbeda menghasilkan hasil performansi pewarna yang berbeda pula (Isnaini, 2010).

Agar-agar yang berwarna paling gelap, kemerahan, serta memiliki total antosianin dan aktivitas antioksidan tertinggi, melalui proses pemasakan yang sama dengan sirup; yaitu proses perebusan pada suhu 100°C selama 10 menit. Kadar gula yang lebih tinggi pada sirup daripada agar-agar dapat menyebabkan kecerahan meningkat, warna merah kurang kuat, serta total antosianin dan aktivitas antioksidan yang lebih rendah daripada agar-agar. Degradasi antosianin dapat dipercepat dengan adanya gula, karena terbentuk furfural dan 5-*hydroxymethyl*-furfural saat asam dan gula dipanaskan secara bersamaan (Isnaini, 2010).

Karakteristik (kecerahan, kemerahan, total antosianin, aktivitas antioksidan) kue mangkuk dan kue lapis lebih rendah daripada agar-agar maupun sirup. Hal ini dapat disebabkan karena panas yang digunakan saat proses pembuatan produk lebih tinggi, serta waktu pemanasan lebih lama. Meskipun kue mangkuk dan kue lapis dikukus dengan suhu yang sama (110℃), namun karakteristik kue lapis lebih rendah dari kue mangkuk, yang dapat dikarenakan waktu pengukusan kue lapis lebih lama (30 menit) daripada kue mangkuk (15 menit), sehingga degradasi antosianin lebih banyak mengingat antosianin adalah senyawa yang tidak stabil terhadap suhu tinggi (Isnaini, 2010).

Pada percobaan José et al. (2019), ditambahkan ekstrak bunga rosella hasil maserasi pada nanas yang telah diblender membentuk *pulp*, kemudian ditambah gula serta pektin lalu dipanaskan dalam panci *stainless steel* hingga total padatan terlarutnya mencapai konsentrasi 65ºBrix. Selai yang sudah jadi kemudian ditambah asam sitrat hingga pHnya menjadi 3,2 dan dikemas dalam toples kaca yang sudah disterilisasi. Asam sitrat yang ditambahkan dalam selai memiliki peran untuk memperbaiki keasaman dan menurunkan pH. Selain itu, asam sitrat dapat memperpanjang umur simpan produk serta mencegah rusaknya rasa dan aroma (Fajarwati et al., 2017). Penurunan pH yang disebabkan oleh penambahan asam sitrat dapat meningkatkan stabilitas antosianin yang memiliki sifat lebih stabil pada lingkungan pH rendah (Khoo et al., 2017).

Ekstrak ditambahkan dengan konsentrasi 5, 10, dan 15%, dan didapatkan hasil bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang ditambahkan maka semakin besar pula kandungan antosianin di dalam selai nanas (3,6 mg/100 g; 4,37 mg/100 g; 5,08 mg/100 g). Kelopak rosella yang digunakan dalam ekstrak merupakan sumber flavonoid dan antosianin, sehingga saat ditambahkan dalam selai dapat meningkatkan kadar antosianinnya. Meskipun mengandung antosianin, selai nanas hasil percobaan memiliki kadar yang lebih rendah daripada literatur-literatur yang ada. Dilaporkan dalam jurnal bahwa hal tersebut dapat terjadi karena adanya degradasi antosianin selama proses pembuatan selai karena sifat antosianin yang sensitif terhadap degradasi oleh berbagai faktor seperti pH, suhu tinggi, cahaya, oksigen, serta agitasi berlebihan (Nguyen et al., 2018).

Bubur (*pulp*) nanas yang belum ditambah ekstrak memiliki pH 3,8, sedangkan pH selai nanas dengan tambahan ekstrak bunga rosella dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%

adalah 2,91; 2,74; dan 2,66. Selain mengalami penurunan karena tambahan asam sitrat, ekstrak bunga rosella juga diduga berkontribusi dalam penurunan pH selai nanas, karena bunga rosella mengandung asam organik dengan persentase tinggi, seperti asam malat, asam sitrat, dan asam askorbat (Riaz & Chopra, 2018). Meskipun tidak dilakukan uji *chroma* pada penelitian, dilaporkan bahwa selai dengan tambahan ekstrak bunga rosella memiliki warna kemerahan (José et al., 2019), yang merupakan karakteristik dari pigmen antosianin yaitu bertanggung jawab atas warna merah, ungu, hingga biru (Amogne et al., 2020).

Monteiro et al. (2017) menambahkan ekstrak bunga rosella pada minuman berbagai bentuk (konsentrat minuman *under-vacuum*, sirup *dilute-to-taste*, minuman infusi RTD, minuman infusi RTD konvensional). Konsentrat minuman *under-vacuum* dibuat dengan mengevaporasi ekstrak rosella (1:5) pada tekanan 0,4 bar hingga mencapai konsentrasi 62ºBrix, sedangkan minuman infusi RTD (1:40) dan sirup *dilute-to-taste* (1:10) dibuat dengan menambahkan gula pada ekstrak hingga tercapai konsentrasi 62 dan 17ºBrix. Ketiga minuman lalu dipasteurisasi pada suhu 75°C selama 30 menit, didinginkan, dan dikemas. Minuman infusi RTD konvensional dibuat dengan menambahkan gula pada ekstrak (1:20) hingga tercapai konsentrasi 15ºBrix, kemudian dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 20 menit, didinginkan, dan dikemas (Monteiro et al., 2017).

Hasil dari percobaan tersebut adalah densitas warna yang paling tinggi dimiliki oleh konsentrat minuman *under-vacuum*, diikuti oleh sirup *dilute-to-taste*, infusi RTD, dan infusi RTD konvensional. Produk minuman yang dibuat dengan metode novel juga memiliki *hue* yang lebih rendah (berwarna lebih merah dan tidak kekuningan/kecoklatan) daripada produk minuman yang dibuat secara konvensional. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan kondisi sampel sebelum ekstraksi (bubuk pada metode novel, utuh pada metode konvensional); serta pasteurisasi (75°C 30 menit pada metode novel, 90°C 20 menit pada metode konvensional). Perlakuan suhu panas dapat meningkatkan polimerisasi antosianin oleh kondensasi dan kopigmentasi. Polimerik antosianin secara kimia lebih stabil daripada bentuk monomerik bebasnya, namun dapat berkontribusi pada perubahan tidak diinginkan pada *hue* menjadi lebih kekuningan/kecoklatan, sesuai dengan hasil penelitian dimana minuman infusi RTD konvensional memiliki *hue* yang lebih tinggi dan terlihat lebih kekuningan dibandingkan ketiga minuman yang dibuat dengan metode novel (Monteiro et al., 2017).

Keempat minuman dengan bentuk berbeda memiliki total antosianin dan aktivitas antioksidan yang berbeda-beda. Urutan minuman dengan total antosianin dan aktivitas antioksidan dari rendah ke tinggi adalah minuman infusi RTD konvensional (44 mg Cy-3-glu/L; AEAC = 292 mg/L), sirup *dilute-to-taste* (83 mg Cy-3-glu/L; AEAC = 323 mg/L), minuman infusi RTD (112 mg Cy-3-glu/L; AEAC = 409 mg/L), dan konsentrat minuman *under-vacuum* (234 mg Cy-3-glu/L; AEAC = 557 mg/L). Perbedaan total antosianin dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam masing-masing minuman dapat disebabkan karena adanya perbedaan rasio ekstraksi yang digunakan, serta proses pembuatan minuman. Saat diekstrak dengan pelarut yang semakin banyak dan suhu yang semakin tinggi maka antosianin yang berada dalam ekstrak semakin sedikit, sehingga kepekatannya berkurang (Isnaini, 2010), sesuai dengan hasil yang dilaporkan pada penelitian Monteiro et al. (2017), dimana konsentrat minuman *under-vacuum* yang dibuat menggunakan ekstrak bunga rosella hasil ekstraksi dengan rasio 1:5 memiliki total antosianin dan aktivitas antioksidan yang paling tinggi di antara keempat minuman.

Minuman infusi RTD konvensional memiliki total antosianin dan aktivitas antioksidan yang paling rendah di antara seluruh minuman meskipun dibuat dengan ekstrak rosella hasil ekstraksi dengan rasio 1:20 (pelarut lebih sedikit daripada ekstrak untuk minuman infusi RTD yaitu 1:40). Hal tersebut dapat disebabkan karena minuman infusi RTD konvensional mengalami pasteurisasi dengan suhu yang lebih tinggi daripada ketiga minuman lain (konsentrat minuman *under-vacuum*, sirup *dilute-to-taste*, minuman infusi RTD) yaitu 90°C meskipun waktu pasteurisasi lebih singkat (20 menit). Antosianin merupakan pigmen yang tidak stabil pada suhu tinggi, sehingga dengan meningkatnya suhu, degradasi antosianin lebih banyak (Isnaini, 2010). Meskipun pH yang dihasilkan dari keempat bentuk minuman berbeda-beda (2,52; 2,61; 2,56; 2,45), namun hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara pH minuman rosella satu dengan yang lain (Monteiro et al., 2017).

Keripik bengkuang hasil penggorengan vakum pada suhu 90°C selama 45 menit yang direndam selama 10 jam dalam ekstrak rosella hasil maserasi dengan konsentrasi 0,67% dan 1,3% mendapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka warna dari keripik semakin gelap (nilai L menurun) dan total antosianin semakin meningkat (1,4 mg/L & 3 mg/L). Selain perendaman bengkuang dalam ekstrak rosella, warna keripik yang lebih gelap juga dapat disebabkan karena adanya reaksi *Maillard* saat

proses penggorengan yang menghasilkan warna cokelat pada keripik. Warna keripik yang direndam dalam ekstrak rosella juga berubah menjadi kemerahan, meskipun parameter warna kemerahan tidak diukur menggunakan *chromameter*. Meskipun tidak dilakukan uji pH, dilakukan uji kadar total asam pada keripik bengkuang hasil penelitian yang mendapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak rosella yang digunakan untuk merendam keripik, maka kadar total asam pada keripik semakin tinggi (1,3%; 3,5%). Hal tersebut disebabkan karena pH dari ekstrak rosella yang asam (3,14) akibat adanya asam-asam organik dalam bunga rosella. Kandungan asam yang semakin tinggi pada produk dapat memperpanjang umur simpannya akibat sifat asam yang dapat berperan sebagai pengawet (Setyasih et al., 2008).

Penelitian Adriana et al. (2020) adalah ekstrak bunga rosella dengan konsentrasi 15%, 30%, dan 45% yang ditambahkan dalam jeli pepaya. Ekstrak rosella ditambahkan dalam campuran sari pepaya, gelatin, dan fruktosa yang sudah dipanaskan dan diaduk selama 15 menit, lalu diaduk kembali sambil masih dipanaskan selama 10 menit. Api dimatikan dan ditambahkan asam sitrat dalam jeli kemudian diaduk, dituang dalam cetakan dan dibiarkan hingga padat (Adriana et al., 2020). Hasil yang dilaporkan adalah semakin tinggi konsentrasi ekstrak rosella yang ditambahkan, total antosianin (0,07 mg/g; 0,11 mg/g; 0,15 mg/g) serta aktivitas antioksidan (56,14%; 59,54%; 61,92%) dari jeli semakin meningkat. Terjadi penurunan kadar antosianin dan aktivitas antioksidan dari ekstrak rosella saat ditambahkan dalam jeli pepaya, terutama jumlah antosianin yang menjadi relatif sedikit, yang dapat diakibatkan oleh proses pemanasan saat pembuatan jeli yang dapat mendegradasi antosianin yang tidak stabil pada suhu tinggi (Silva et al., 2017). Uji pH tidak dilakukan pada jeli, namun dilakukan uji total asam tertitrasi dimana ditunjukkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak rosella yang ditambahkan maka semakin tinggi pula total asam tertitrasi pada jeli (1,5%, 1,86%, 2%) dibandingkan jeli yang tidak ditambah ekstrak rosella (1,09%) (Adriana et al., 2020). Hal tersebut dikarenakan rosella mengandung asam-asam organik yang dapat menurunkan pH saat ditambahkan dalam produk (Riaz & Chopra, 2018).

Selain jeli pepaya, ekstrak rosella juga ditambahkan pada jeli bengkuang pada penelitian Attahmid et al. (2020) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Ekstrak bunga rosella ditambahkan pada sari bengkuang yang sudah dicampur dengan h*igh fructose syrup* 20% dan sorbitol, kemudian dipanaskan hingga suhu 80°C dan ditambah karagenan-konjak

sebagai agen pengental serta asam sitrat 0,2%. Cairan jeli kental kemudian dituang dalam cetakan dan dibiarkan hingga padat. Jeli bengkuang dengan tambahan ekstrak rosella beragam konsentrasi memiliki pH yang lebih tinggi daripada ekstrak rosella (2,16), dimana pH jeli semakin menurun (3,91; 3,56; 3,34; 3,19; 3,09) seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak yang ditambahkan (Attahmid et al., 2020), akibat asam-asam organik yang dikandung bunga rosella (Riaz & Chopra, 2018). Nilai IC_{50} produk semakin menurun (297,99 ppm, 279,26 ppm, 99,21 ppm) seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak, yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan semakin tinggi karena IC_{50} adalah banyaknya antioksidan yang diperlukan untuk menghambat aktivitas radikal bebas (Lung & Destiani, 2018). Namun, aktivitas antioksidan dalam seluruh permen jeli dengan tambahan ekstrak rosella menunjukkan hasil yang lebih rendah daripada aktivitas antioksidan ekstrak rosella, yang dapat diakibatkan karena proses pemasakan jeli dengan suhu panas yang mendegradasi antosianin (Attahmid et al., 2020).

4.2.2. Bunga Mawar

Bunga mawar juga dapat digunakan sebagai sumber pewarna alami pada produk pangan. Pada penelitian Shikov et al. (2012), ekstrak bunga mawar hasil maserasi ditambahkan pada stroberi kaleng dengan konsentrasi 250 dan 500 ppm. Stroberi yang ditambah ekstrak bunga mawar diperbaiki teksturnya dengan direndam dalam larutan *brine* dari 25% gula dalam *buffer* asam sitrat dan $CaCl_2$ sebagai agen pengeras (*firming agent*) dalam toples kaca. Ekstrak bunga mawar ditambahkan, dan toples disegel dibawah injeksi uap dan dipasteurisasi pada suhu 93°C dan tekanan 2 bar sebelum disimpan di tempat gelap pada suhu 4°C selama 7 hari (Shikov et al., 2012).

Berdasarkan penelitian dilaporkan bahwa stroberi yang ditambah ekstrak bunga mawar memiliki tingkat kecerahan (nilai L) dan hue yang lebih rendah (35, 38; 30,31) daripada stroberi tanpa tambahan ekstrak (40; 35) yang menandakan bahwa warna stroberi menjadi lebih kemerahan dan gelap. Penambahan ekstrak bunga mawar meningkatkan retensi pigmen stroberi hasil perbaikan tekstur dan pasteurisasi sebesar 70 dan 81%. Proses pasteurisasi menggunakan panas yang dilakukan pada stroberi kaleng diduga dapat mendegradasi antosianin yang tidak stabil pada suhu tinggi sehingga menurunkan nilai *chroma* pada stroberi kaleng dengan tambahan ekstrak (30, 29) daripada stroberi tanpa tambahan ekstrak (47). Penurunan nilai *chroma* menunjukkan pengurangan kekuatan

tinctorial dari produk yang dapat disebabkan karena adanya degradasi antosianin (Shikov et al., 2012).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total antosianin (*cyanidin*-3-glukosida) dalam stroberi kaleng tanpa tambahan ekstrak (1,22 mg/kg) lebih banyak daripada buah stroberi kaleng dengan tambahan ekstrak mawar (1,18 mg/kg; 1,17 mg/kg), meskipun tidak terlalu jauh berbeda. Total antosianin (pelargonidin-3-glukosida; pelargonidin-3-malonyl-glukosida; pelargonidin-3-*succinyl*-glukosida) dari stroberi kaleng tanpa tambahan ekstrak lebih rendah (43,03 mg/kg; 0,66 mg/kg; 8,26 mg/kg) daripada stroberi kaleng yang ditambah ekstrak bunga mawar (64,73 mg/kg; 75,6 mg/kg & 0,90 mg/kg; 1 mg/kg & 14,25 mg/kg; 15,69 mg/kg). Peningkatan kandungan antosianin dari stroberi kaleng dengan tambahan ekstrak mawar dapat disebabkan karena kandungan antosianin dalam ekstrak (Shikov et al., 2012).

Aktivitas antioksidan (TEAC & FRAP) stroberi kaleng dengan ekstrak bunga mawar lebih tinggi (2029,3 µmol/100 g; 2276,5 µmol/100 g & 1294,1 µmol/100 g; 1600,2 µmol/100 g) daripada stroberi kaleng tanpa tambahan ekstrak (1886,5 µmol/100 g & 1196,8 µmol/100 g). Terjadi peningkatan sebesar 8-21% dan 8-34% pada aktivitas antioksidan (TEAC dan FRAP) stroberi dengan tambahan ekstrak bunga mawar (Shikov et al., 2012) akibat dari pigmen antosianin yang dapat berperan sebagai antioksidan (Alappat & Alappat, 2020). Stabilitas warna dari produk yang meningkat juga dilaporkan. Tidak dilakukan uji pH pada stroberi kaleng hasil penelitian (Shikov et al., 2012).

Pada penelitian Visita & Putri (2014), ekstrak bunga mawar enkapsulasi dekstrin dan maltodekstrin hasil maserasi dengan konsentrasi 2,5%; 5%; dan 7,5% diaplikasikan pada *cookies* yang dimatangkan dalam oven bersuhu 150°C selama 20 menit. Dilaporkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diaplikasikan pada produk maka akan meningkatkan warna kemerahan (nilai a* meningkat) dan aktivitas antioksidan, serta produk menjadi semakin gelap (nilai L menurun). Nilai L *cookies* dengan tambahan ekstrak enkapsulasi dekstrin bunga mawar dengan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 7,5% adalah 50, 44, 42; sedangkan *cookies* dengan ekstrak enkapsulasi maltodekstrin memiliki nilai L 50, 45, dan 43. Parameter kemerahan (a*) dari *cookies* dengan ekstrak enkapsulasi dekstrin adalah 22, 25, dan 27; sedangkan *cookies* dengan ekstrak enkapsulasi maltodekstrin adalah 22, 25, dan 30. *Cookies* dengan tambahan ekstrak mawar hasil

enkapsulasi maltodekstrin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (72%, 78%, 80%) daripada *cookies* dengan tambahan ekstrak mawar hasil enkapsulasi dekstrin (60%, 70%, dan 72%) (Visita & Putri, 2014) yang dapat disebabkan karena maltodekstrin memiliki daya ikat yang lebih kuat terhadap komponen yang disalut (antosianin) daripada dekstrin (Purwati et al., 2016), sehingga dapat mempertahankan antosianin lebih baik. Tidak dilakukan uji pH pada *cookies* hasil penelitian (Visita & Putri, 2014).

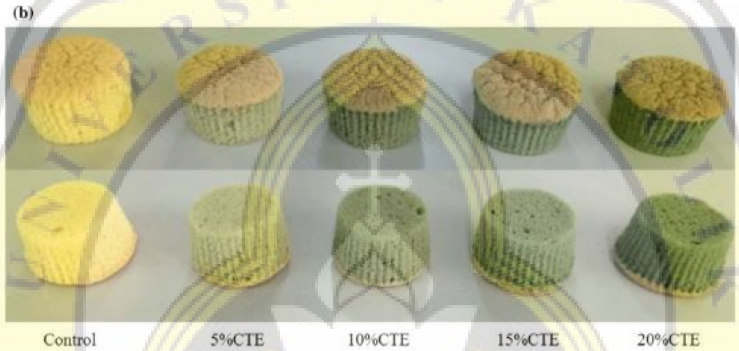
Ekstrak bunga mawar ditambahkan ke yoghurt komersial dengan konsentrasi 0,15% pada penelitian Pires et al. (2018). Yoghurt dengan tambahan ekstrak bunga mawar berwarna lebih gelap yang dilihat dari nilai L lebih rendah (88) daripada yoghurt tanpa pewarna (93), maupun yoghurt dengan pewarna komersial (E163) (89). Tingkat kemerahan yoghurt meningkat dengan adanya penambahan ekstrak bunga mawar, ditunjukkan dari nilai a* yoghurt tanpa pewarna yang memiliki nilai a* -3,5, yang meningkat menjadi 2,2 setelah ditambah ekstrak bunga mawar. Meskipun nilai a* yoghurt dengan ekstrak bunga mawar (2,2) lebih rendah daripada yoghurt dengan pewarna komersial (E163) (3,1), namun dilaporkan tidak ada beda signifikan pada hasil analisis, sehingga ekstrak bunga mawar dapat menjadi alternatif pewarna komersial E163 (Pires et al., 2018).

4.2.3. Bunga Telang

Penambahan ekstrak bunga telang sebagai pewarna alami pada produk pangan juga telah banyak dilakukan. Ekstrak bunga telang dalam bentuk *spray dried* ditambahkan pada *sponge cake* dan *pork patties* (Pasukamonset et al., 2017, 2018). Dalam penelitian Pasukamonset et al. (2018), ekstrak bunga telang *spray dried* ditambahkan dalam konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% dalam *sponge cake* yang kemudian dimatangkan dengan oven pada suhu 180°C selama 15 menit. Uji pH dari *sponge cake* hasil penelitian tidak dilakukan.

Crumb dari *cake* yang ditambah ekstrak bunga telang memiliki warna yang lebih gelap daripada *cake* tanpa tambahan ekstrak bunga telang (nilai L: 70,58), dengan intensitas yang terus meningkat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak (nilai L menurun: 57,38; 48,80; 45,49; 40,32). Tingkat kemerahan dari *crumb cake* dengan tambahan ekstrak menurun drastis yang ditunjukkan dengan berkurangnya nilai a* seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak (-3,45; -5,28; -6,17; -7,01) dibandingkan dengan *crumb cake* tanpa tambahan ekstrak bunga rosella (nilai a*: 5,53), sedangkan tingkat kebiruan dari *crumb*

cake dengan tambahan ekstrak semakin meningkat yang ditunjukkan dengan menurunnya nilai b* seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak (21,46; 18,07; 14,80; 13,37), dibandingkan dengan nilai b* dari *crumb cake* tanpa tambahan ekstrak (36,40) (Pasukamonset et al., 2018). Angka b* yang semakin kecil (bahkan negatif) menandakan warna dari suatu produk semakin biru (Cortez et al., 2017). Kandungan antosianin dalam bunga telang bertanggung jawab memberikan warna biru hingga ungu dalam ekstrak maupun saat diaplikasikan pada produk pangan (Chayaratanasin et al., 2015). Dalam penelitian Pasukamonset et al. (2018), *crumb cake* tanpa tambahan ekstrak bunga telang memiliki warna kuning, sehingga saat ditambahkan ekstrak bunga telang yang berwarna biru, warna akhir dari *cake* menjadi kehijauan (Gambar 17).



Gambar 17. Hasil sponge cake dengan pewarna ekstrak bunga telang berbagai konsentrasi (Pasukamonset et al., 2018)

Crust dari *sponge cake* dengan tambahan ekstrak bunga telang memiliki warna yang lebih gelap yang ditunjukkan dengan nilai L lebih rendah (48,77; 39,82; 38,81; 35,65) daripada *crumb sponge cake* dengan tambahan ekstrak bunga telang (57,38; 48,8; 45,49; 40,32). Hal tersebut dapat disebabkan karena *sponge cake* dimatangkan dengan panas dari oven, yang mengakibatkan terjadinya reaksi *Maillard* yang menghasilkan warna coklat, menyebabkan warna produk menjadi lebih gelap. Reaksi *Maillard* terjadi pada permukaan *sponge cake* yang menyebabkan warna dari *crust* lebih gelap daripada *crumb* meskipun *cake* dipanggang pada suhu yang sama (Abdel-Moemin, 2016).

Nilai b* yang menunjukkan parameter kebiruan pada *crust sponge cake* dengan tambahan ekstrak bunga telang lebih besar (28,03; 26,33; 25,21; 22,14) dibandingkan dengan *crumb sponge cake* (21,46; 18,07; 14,80; 13,37) yang menunjukkan warna dari *crust* lebih kekuningan (Pasukamonset et al., 2018), yang juga dapat disebabkan karena terjadinya

reaksi *Maillard* pada permukaan *sponge cake* yang membentuk warna kecoklatan (Abdel-Moemin, 2016). Sama halnya dengan parameter kemerahan/kehijauan yang ditunjukkan oleh nilai a*, *crust sponge cake* memiliki nilai a* yang lebih besar (12,64; 11,95; 11,49; 10,63) daripada *crumb sponge cake* (-3,45; -5,28; -6,17; -7,01) (Pasukamonset et al., 2018), menunjukkan warna kehijauan pada *crumb* lebih terlihat karena tidak terjadi reaksi *Maillard* yang menghasilkan warna cokelat pada *crumb sponge cake* (Abdel-Moemin, 2016).

Ekstrak bunga telang juga memberikan tambahan komponen flavonoid dan aktivitas antioksidan pada *cake*. *Cake* tanpa tambahan ekstrak sudah memiliki kandungan komponen flavonoid (38,48 µg *catechin*/g *cake*) dan aktivitas antioksidan (IC_{50} = 186,96 mg/mL). Total komponen flavonoid dalam *cake* meningkat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak (53,09; 57,3; 62,8; 63,22 µg *catechin*/g *cake*). Nilai IC_{50} yang menunjukkan aktivitas antioksidan dalam *cake* semakin menurun seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak (179,99; 148,61; 120,78; 91,55 mg/mL), yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan dari *cake* semakin besar (Pasukamonset et al., 2018). Nilai IC_{50} dari *cake* tanpa tambahan ekstrak (189,96 mg/mL) dan *cake* dengan tambahan ekstrak 5-15% yang berkisar antara 120,78 hingga 179,99 mg/mL termasuk produk dengan intensitas antioksidan sedang, sedangkan *cake* dengan ekstrak bunga telang konsentrasi 20% memiliki nilai IC_{50} 91,55 mg/mL yang termasuk dalam produk dengan intensitas antioksidan kuat (Lung & Destiani, 2018).

Pork patties dibuat dengan mencampurkan daging babi giling dengan tambahan ekstrak bunga telang dalam bentuk *spray dried* dengan konsentrasi 0,02%, 0,04%, 0,08% dan 0,16% dan dibentuk menjadi *patty*. *Pork patties* kemudian dimatangkan dalam oven bersuhu 160°C hingga suhu internalnya mencapai 70°C, dan di*hold* selama 10 menit (Pasukamonset et al., 2017). Hasil yang didapatkan adalah penambahan ekstrak bunga telang membuat produk berwarna semakin gelap yang ditunjukkan dengan menurunnya nilai L yang semakin meningkat intensitasnya seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak (44,33; 44,20; 43,37; 42,94) dibandingkan produk tanpa tambahan ekstrak (45,47), serta kehijauan (nilai a* menurun: 5,47; 5,71; 5,08; 4,41; 3,96) meskipun tidak terlalu signifikan. Parameter b* mengalami kenaikan (14,28; 14,35; 14,62; 14,65; 14,75) yang menandakan bahwa warna dari produk semakin kekuningan, meskipun tidak signifikan. Perubahan warna dari produk tersebut selain disebabkan oleh penambahan ekstrak bunga

telang, juga dapat diakibatkan oleh reaksi *maillard* yang berjalan selama proses pematangan *pork patties* dengan oven, yang menghasilkan warna kecoklatan pada produk (Nooshkam et al., 2019).

Pork patties dengan tambahan ekstrak bunga telang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (0,11; 0,13; 0,14; 0,16 mg *trolox equivalent*/g sampel) dibandingkan *pork patty* tanpa tambahan ekstrak bunga telang (0,10 mg *trolox equivalent*/g sampel) yang dapat diakibatkan karena ekstrak bunga telang mengandung antosianin serta komponen bioaktif seperti *delphinidin*-3,5-glukosida, kaempferol, *p-coumaric acid*, dan enam ternatin mayor (ternatin A1, A2, B1, B2, D1, D2) yang memiliki sifat antioksidan (Pasukamonset et al., 2017). Meskipun aktivitas antioksidan *pork patties* dengan tambahan ekstrak bunga telang lebih tinggi daripada *pork patties* tanpa tambahan ekstrak, tetap ada penurunan aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang saat diaplikasikan pada *pork patties*. Hal ini dapat disebabkan karena proses pematangan *pork patties* menggunakan oven dengan suhu panas, mengakibatkan terjadinya degradasi antosianin yang tidak stabil terhadap suhu tinggi (Isnaini, 2010). Tidak dilakukan uji pH pada produk hasil penelitian (Pasukamonset et al., 2017).

Ramli et al. (2021) merendam beras dalam ekstrak bunga telang (1%) hasil maserasi dengan rasio 1:2 menggunakan *waterbath* yang diaduk setiap 10 menit. Beras kemudian disaring dan dikukus pada suhu 100°C selama 10 menit, dan dikeringkan menggunakan *hot air dryer* dengan suhu 40°C hingga kadar airnya mencapai 12-14%. Warna produk dari terang ke yang paling gelap (nilai L tinggi ke rendah) adalah nasi MRQ 74 *parboiled* (38,59), nasi MRQ 76 *parboiled* (28,14), dan nasi *glutinous parboiled* (22,96). Semakin rendah kandungan amilosa pada beras maka warna nasi yang dihasilkan semakin gelap (nilai L menurun). Beras MRQ 74 dengan kandungan amilosa paling tinggi membentuk struktur yang kompak setelah *parboiling* akibat gelatinisasi pati yang menyebabkan berkurangnya penyebaran cahaya (Ramli et al., 2021).

Seiring menurunnya kandungan amilosa beras, warna nasi semakin kemerahan yang ditunjukkan dengan meningkatnya nilai a* (-5,66; -0,64; 0,39), sedangkan parameter kebiruan (b*) tetap dipertahankan pada seluruh varian beras tanpa pengaruh kandungan amilosa. Amilopektin yang dikandung beras *glutinous* memfasilitasi migrasi pigmen biru ke *endosperm* beras, yang menghasilkan nasi dengan warna kebiruan hasil komponen

flavonoid seperti *delphinidin* dan ternatin. Selain pengaruh dari ekstrak bunga telang, perlakuan *parboiling* meningkatkan reaksi enzimatik maupun nonenzimatik yang menghasilkan diskolorasi akibat suhu tinggi, membentuk pigmen warna cokelat pada nasi (Ramli et al., 2021).

Ekstrak bunga telang meningkatkan total komponen flavonoid dalam nasi sebesar 52,80%, 54,87, dan 56,62% dari nasi MRQ 74, MRQ 76, dan *glutinous.* Hal tersebut dapat disebabkan karena adanya antosianin dan kandungan flavonoid dalam ekstrak bunga telang seperti kaempferol, quercetin, dan myricetin yang terserap masuk dalam endosperm beras selama proses *parboiling.* Aktivitas antioksidan nasi *glutinous parboiled* lebih tinggi daripada kedua varian nasi MRQ 74 dan 76 (75,41%, 74,88%, 74,31%; 2142, 1971, 1929 Fe^{2+} µmol/g). Lebih tingginya kandungan komponen flavonoid dan aktivitas antioksidan nasi *glutinous parboiled* dibandingkan nasi MRQ 74 dan MRQ 76 *parboiled* dapat disebabkan karena kandungan amilopektin dalam beras *glutinous* lebih banyak daripada beras MRQ 74 dan MRQ 76. Amilopektin memfasilitasi absorbsi dan pengikatan polifenol dalam beras melalui mekanisme gelatinisasi dengan laju hidrasi yang lebih cepat akibat molekulnya yang bercabang dan kemampuan mengikat komponen fenolik yang lebih kuat. Aplikasi ekstrak bunga telang meningkatkan nilai FRAP nasi MRQ 74, MRQ 76, dan *glutinous* masing-masing sebesar 59,22%, 60,33%, dan 27,55% (Ramli et al., 2021), sesuai dengan teori yang dinyatakan oleh Prior et al. (2005) bahwa konstituen hidroksi dari residu aromatik komponen flavonoid memiliki korelasi positif dengan kekuatan reduksi.

Urutan jumlah total komponen flavonoid, fenolik, maupun aktivitas antioksidan dari rendah ke tinggi adalah nasi *parboiled* tanpa tambahan ekstrak bunga telang, diikuti oleh beras, lalu nasi *parboiled* dengan tambahan ekstrak bunga telang pada seluruh varian beras. Hal tersebut dapat diakibatkan karena terjadinya *leaching* komponen fenolik dari beras ke air rebusan dan penggunaan suhu panas untuk memasak beras hingga setengah jadi, sehingga kandungan flavonoid maupun fenolik yang sensitif terhadap panas dapat terdegradasi, menurunkan aktivitas antioksidan (Figueroa-Robles et al., 2021).

Total komponen flavonoid, fenolik, maupun aktivitas antioksidan nasi *parboiled* dengan aplikasi ekstrak bunga telang meningkat karena ekstrak mengandung antosianin dan komponen flavonoid seperti kaempferol, quercetin, dan myricetin (Ramli et al., 2021).

Terjadi penurunan aktivitas antioksidan (metode DPPH) nasi *parboiled* dengan tambahan ekstrak bunga telang dibandingkan dengan nasi *parboiled* tanpa tambahan ekstrak bunga telang, yang dapat disebabkan karena kurangnya pelepasan fenolik terikat saat dilakukan ekstraksi nasi *parboiled* akibat adanya ikatan hidrogen yang kuat antara komponen fenolik bunga telang dengan komponen beras seperti protein dan pektin (Hu et al., 2017).

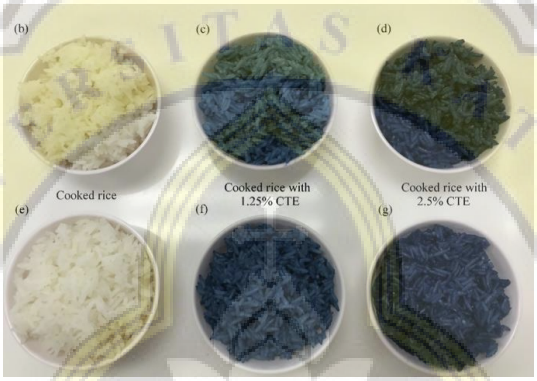
Ekstrak bunga telang juga ditambahkan dalam nasi pada penelitian Chusak et al. (2019) dengan konsentrasi 1,25% dan 2,5%. Nasi dimasak dengan *rice cooker* dan *microwave oven* sebagai perbandingan. Beras yang telah dicuci dua kali dimasak dengan *rice cooker* menggunakan perbandingan beras berbanding air (termasuk ekstrak bunga telang) 1:1,3 selama kurang lebih 10 menit, dan setelah matang nasi didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit. Beras yang dimasak dalam *microwave oven* dicuci sebanyak tiga kali, dan dimasak dengan rasio beras berbanding air (termasuk ekstrak bunga telang) 1:2,3 selama 11 menit dalam *microwave oven* 800 watt, dan setelah matang didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit seperti nasi yang dimasak dengan *rice cooker* (Chusak et al., 2019).

Aplikasi ekstrak bunga telang menambahkan kandungan antosianin dalam nasi, dilaporkan dalam jurnal bahwa nasi tanpa tambahan ekstrak bunga telang tidak memiliki kandungan antosianin. Semakin besar konsentrasi ekstrak yang ditambahkan maka semakin besar pula total antosianin yang terkandung dalam nasi, baik yang dimasak dengan *rice cooker* (2,7; 4,9 µg/g) maupun dengan *microwave oven* (3,1; 4,8 µg/g). Nasi yang dimasak menggunakan *microwave oven* memiliki total antosianin yang lebih tinggi daripada nasi yang dimasak dengan *rice cooker* meskipun waktu pemasakan lebih lama (11 menit) kecuali pada nasi dengan ekstrak konsentrasi 2,5% yang dimasak dengan *rice cooker*, walaupun tidak ditemukan beda signifikan pada analisis (Chusak et al., 2019).

Selain menambahkan kandungan antosianin dalam nasi, aplikasi ekstrak bunga telang meningkatkan total senyawa fenolik dalam nasi, baik yang dimasak dengan *rice cooker* maupun *microwave oven*. Nasi tanpa tambahan ekstrak bunga telang hasil pemasakan dengan *rice cooker* dan *microwave oven* memiliki total senyawa fenolik sebesar 8,8 dan 7,9 µg *gallic acid equivalent*/g. Aplikasi ekstrak bunga telang meningkatkan total senyawa fenolik dalam nasi yang dimatangkan dengan *rice cooker* menjadi 144,8 dan 249,9 µg *gallic acid equivalent*/g; dan nasi yang dimatangkan dengan *microwave oven*

menjadi 157,2 dan 256,6 µg *gallic acid equivalent*/g (Chusak et al., 2019). Hal tersebut dapat dikarenakan ekstrak bunga telang yang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti ternatin, *delphinidin* dan derivatnya, serta glikosida flavonoid (Chayaratanasin et al., 2015), sehingga meningkatkan total kandungan senyawa fenolik dan antosianin pada nasi.

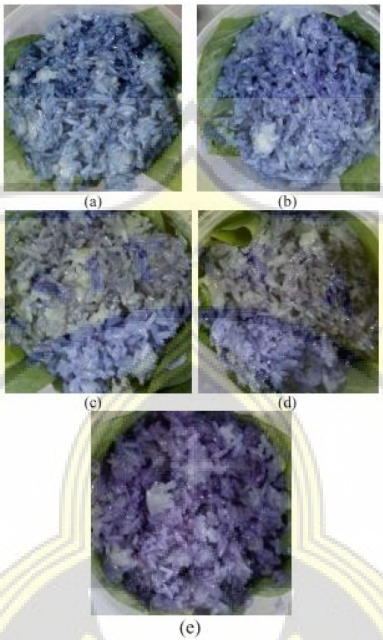
Meskipun tidak dilakukan uji warna dengan *chromameter,* dicantumkan foto nasi hasil penelitian pada jurnal (Gambar 18). Dapat dilihat bahwa penambahan ekstrak bunga telang mengubah warna nasi menjadi biru, yang meningkat kepekatannya seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak bunga telang yang ditambahkan (Chusak et al., 2019).



Gambar 18. Aplikasi ekstrak bunga telang pada nasi: (b-d) nasi dimasak dalam *rice cooker* dan (e-g) nasi dimasak dalam *microwave oven* (Chusak et al., 2019)

Tape ketan pada penelitian Palimbong & Pariama (2020) dibuat dengan penambahan ekstrak bunga telang hasil maserasi. Beras ketan yang sudah dikukus ditambah ekstrak bunga telang dengan konsentrasi pelarut 0%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, dan 1% serta ragi, kemudian didiamkan untuk fermentasi dalam wadah tertutup selama 2-3 hari. Semakin besar konsentrasi pelarut yang digunakan (asam sitrat) maka semakin besar pula aktivitas antioksidan dalam produk tape ketan yang diteliti dalam percobaan (5,13%, 26,06%, 30,90%, 31,02%, 35,35%). Aktivitas antioksidan dari tape ketan lebih rendah dibandingkan aktivitas antioksidan dari ekstrak bunga telang. Dalam jurnal dilaporkan hal tersebut dapat disebabkan karena proses fermentasi beras ketan menjadi tape ketan dapat memecah kandungan dalam bahan pangan, yang mengakibatkan berubahnya sifat bahan pangan tersebut. Air dan alkohol (dan karbon dioksida) yang dihasilkan oleh reaksi fermentasi dapat melarutkan antosianin, sehingga menurunkan aktivitas antioksidan yang dikandung dalam tape ketan. Warna tape ketan yang dihasilkan juga terlihat semakin

keunguan seiring bertambahnya konsentrasi pelarut yang digunakan seperti pada Gambar 19 (Palimbong & Pariama, 2020). Hal tersebut disebabkan karena antosianin dapat berubah warna tergantung pada kondisi eksternal. Pada pH tinggi, antosianin dapat berwarna kekuningan, biru pada pH netral, dan merah pada pH rendah (Coultate & Blackburn, 2018).



Gambar 19. Aplikasi ekstrak bunga telang pada tape ketan: (a) 0%, (b) 0,25%, (c) 0,5%, (d) 0,75%, (e) 1% (Palimbong & Pariama, 2020)

4.3. Bahan Baku Produk Terhadap Kestabilan Antosianin dari Bunga Rosella, Mawar, dan Telang pada Produk Pangan

Aplikasi ekstrak bunga *edible* sebagai pewarna alami pada produk pangan dilakukan pada berbagai produk dengan berbagai bahan baku. Dalam studi ini, bahan baku yang digunakan untuk menghasilkan produk pangan dengan aplikasi pewarna ekstrak bunga *edible* (rosella, mawar, telang) adalah tepung terigu (Abdel-Moemin, 2016; Pasukamonset et al., 2018; Visita & Putri, 2014), agar (Isnaini, 2010), tepung beras (Isnaini, 2010), susu (Pires et al., 2018), daging babi (Pasukamonset et al., 2017), beras (Chusak et al., 2019; Ramli et al., 2021), serta beras ketan (Palimbong & Pariama, 2020; Ramli et al., 2021).

Terigu (*Triticum aestivum*) adalah salah satu tumbuhan yang memiliki peran penting dalam pangan dunia. Terigu memiliki kandungan protein sebesar 7-15%, yang biasanya

kaya akan asam glutamat dan prolin. Seiring berjalannya waktu, terigu tidak hanya berwarna putih saja, namun mulai muncul terigu yang difortifikasi dengan antosianin seperti terigu ungu, biru, dan hitam. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh antosianin dalam terigu diakibatkan oleh posisi antosianin dalam lapisan terigu, dimana warna ungu dihasilkan oleh antosianin yang berada pada lapisan *pericarp*, biru dihasilkan oleh antosianin pada lapisan aleuron, dan gabungan keduanya menghasilkan terigu dengan warna hitam. Adanya varietas terigu berwarna akibat antosianin dapat menunjukkan bahwa terigu dapat mengikat antosianin dengan baik (Sharma et al., 2022).

Tidak hanya terigu, beras (*Oryza sativa*) juga merupakan salah satu tumbuhan dengan peran penting sebagai makanan pokok bagi separuh populasi dunia, terutama Asia, Amerika Selatan, dan Afrika. Beras dapat dikategorikan berdasarkan kandungan amilosanya: *waxy* (0-2%), rendah (13-20%), dan tinggi (>25%). Kandungan amilosa dalam beras memiliki hubungan yang berbanding terbalik dengan jumlah total senyawa fenolik. Semakin rendah amilosa yang dikandung beras, maka kandungan amilopektin semakin besar. Laju hidrasi dari amilopektin beras lebih tinggi, yang memfasilitasi penyerapan senyawa flavonoid larut air seperti antosianin ke dalam endosperm beras melalui mekanisme difusi. Terlebih lagi, tidak adanya rongga udara dan struktur berpori dalam endosperm beras *glutinous* (beras ketan) yang kaya akan amilopektin terbukti meningkatkan kapasitas menyerap airnya. Berdasarkan hal tersebut, maka beras ketan yang memiliki rasio amilopektin lebih tinggi dibanding amilosa jika dibandingkan dengan beras yang rasio amilosanya lebih tinggi, dapat mengandung antosianin yang lebih tinggi saat difortifikasi dalam kondisi yang sama (Ramli et al., 2021).

Susu yang merupakan bahan baku *yoghurt* memiliki warna dasar putih, sehingga saat pigmen antosianin diaplikasikan, warna dari produk dapat menjadi lebih cerah. Pada penelitian Jing & Giusti (2005), pigmen antosianin diaplikasikan pada susu, susu skim, dan larutan *buffer* fosfat dengan pH 6,8 sebagai kontrol. Dalam penelitian dilaporkan bahwa antosianin lebih stabil dalam susu daripada larutan kontrol, dimana setelah dipanaskan dengan suhu 70°C selama 30 menit, kandungan antosianin yang tersisa pada larutan kontrol hanya sebesar 52,1%, dan terus menurun dalam waktu 120 menit menjadi 30%. Susu skim meretensi antosianin sebesar 90,3% setelah dipanaskan selama 30 menit, dan setelah 120 menit kandungan antosianin turun menjadi 63,4%. Kandungan antosianin dalam susu *whole* setelah dipanaskan selama 30 menit adalah 95,5%, yang turun menjadi

76,6% setelah dipanaskan selama 120 menit. Hal tersebut dapat dikarenakan kandungan lemak dan protein dalam susu dapat melindungi antosianin dari degradasi, dengan membentuk kopigmentasi yang meningkatkan stabilitas antosianin (Jing & Giusti, 2005).

Aplikasi ekstrak antosianin pada daging babi dalam penelitian Jayawardana et al. (2012) dan Pasukamonset et al. (2017) terbukti meningkatkan aktivitas antioksidan dan menurunkan tingkat oksidasi lipid dalam daging, namun tidak memberikan perbedaan signifikan pada warna dari daging babi (Jayawardana et al., 2012; Pasukamonset et al., 2017). Agar adalah produk hayati yang berasal dari rumput laut *Gelidium* dan *Gracilaria* yang merupakan kelompok *Rhodophyceae*. Larut dalam air panas dan dapat membentuk gel merupakan sifat agar yang mirip gelatin (Setyaningrum, Sumarni, & Hardi, 2017). Agar termasuk dalam kelompok *gum* yang dapat digunakan untuk mengenkapsulasi antosianin supaya lebih stabil (Cortez et al., 2017).

4.4. Peluang Aplikasi Ekstrak dari Bunga Rosella, Mawar, dan Telang pada Produk Pangan

Ekstrak mengandung antosianin yang dihasilkan dari bunga rosella, mawar, dan telang terbukti memiliki potensi untuk dijadikan pewarna alami yang dapat diaplikasikan pada produk pangan. Karakteristik ekstrak yang berbeda dari tiap-tiap bunga menyebabkan adanya perbedaan saat ekstrak diaplikasikan pada produk pangan. Selain karakteristik ekstrak bunga sendiri, proses pengolahan dari masing-masing produk pangan juga mempengaruhi performansi pewarna antosianin yang dihasilkan oleh ekstrak dari bunga. Aplikasi ekstrak dari bunga tidak hanya menghasilkan warna untuk produk, namun juga dapat menambah total antosianin yang berkaitan dengan aktivitas antioksidan dari produk, karena sifat antosianin yang dapat berperan sebagai agen antioksidan (Alappat & Alappat, 2020).

Berdasarkan data dari jurnal-jurnal primer yang telah dikumpulkan, dapat dilihat bahwa ekstrak mengandung antosianin dari bunga rosella diaplikasikan pada *cupcake* (Abdel-Moemin, 2016), agar-agar, sirup, kue mangkuk, kue lapis (Isnaini, 2010), selai nanas (José et al., 2019), konsentrat minuman, sirup, minuman infusi (Monteiro et al., 2017), keripik (Setyasih et al., 2008), dan jeli (Adriana et al., 2020; Attahmid et al., 2020). Kandungan antosianin dalam bunga rosella yang dapat diekstrak untuk dijadikan pewarna alami untuk diaplikasikan pada produk pangan antara lain adalah *delphinidin*-3-

sambubiosida, *cyanidin*-3-sambubiosida, dan *delphinidin*-3-glukosida (Abdel-Moemin, 2016). *Delphinidin* adalah pigmen berwarna ungu kemerahan, sedangkan *cyanidin* adalah pigmen yang memberikan warna merah pada pH rendah (Khoo et al., 2017). Selain antosianin, bunga rosella juga mengandung asam-asam organik yang menyebabkan ekstrak bunga rosella memiliki pH rendah (bersifat asam) yang optimal bagi antosianin yang lebih stabil dalam kondisi asam (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Aplikasi ekstrak bunga rosella pada *cupcake* terbukti memberikan warna merah muda keunguan yang kuat, serta menambah kadar antosianin pada *cupcake* (Abdel-Moemin, 2016). Ekstrak bunga rosella yang diaplikasikan pada agar-agar, sirup, kue mangkuk, dan kue lapis pada penelitian Isnaini (2010) terbukti memberikan warna merah, dengan urutan intensitas warna merah paling kuat dimiliki oleh agar-agar, sirup, kue mangkuk, dan kue lapis. Agar-agar dan sirup yang ditambah ekstrak antosianin memiliki warna merah yang lebih kuat, serta memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kue mangkuk dan kue lapis. Hal tersebut disebabkan karena proses pemasakan agar-agar dan sirup menggunakan suhu dan waktu pemasakan yang lebih rendah daripada kue mangkuk dan kue lapis, yaitu perebusan dengan suhu 100℃ selama 10 menit; sehingga antosianin yang memiliki sifat sensitif terhadap suhu tinggi dapat dipertahankan lebih baik (Isnaini, 2010).

Selain proses pemasakan, pH dari agar-agar dan sirup juga lebih rendah daripada pH kue mangkuk dan kue lapis, yang mengakibatkan antosianin dari ekstrak lebih stabil. Intensitas warna merah yang kurang kuat pada kue mangkuk dan kue lapis diakibatkan karena proses pemasakan kue dengan pengukusan selama 15 dan 30 menit pada suhu 110℃ menyebabkan terjadinya degradasi antosianin yang sensitif terhadap suhu panas; serta pH kue yang lebih tinggi (7,6 dan 8,17) menurunkan stabilitas antosianin (Isnaini, 2010).

Monteiro et al. (2017) mengaplikasikan ekstrak bunga rosella pada konsentrat minuman *under-vacuum*, sirup *dilute-to-taste*, minuman infusi RTD, dan minuman infusi RTD konvensional. Keempat minuman aplikasi ekstrak bunga rosella memiliki pH yang rendah (asam) sehingga antosianin dari bunga rosella berada dalam kondisi stabil dan mempertahankan aktivitas antioksidannya. Namun proses pembuatan minuman yang berbeda-beda menyebabkan perbedaan jumlah antosianin, dimana minuman infusi RTD

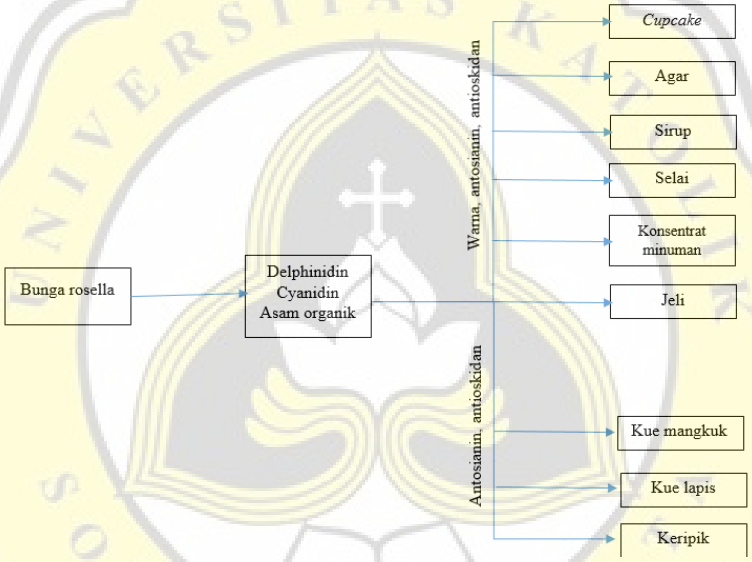
konvensional yang melalui proses pasteurisasi dengan suhu tertinggi (90°C) dalam waktu 20 menit memiliki total antosianin, aktivitas antioksidan, dan kepekatan warna yang paling rendah. Konsentrat minuman *under-vacuum* memiliki total antosianin, aktivitas antioksidan, serta kepekatan warna yang paling tinggi diantara ketiga minuman yang dipasteurisasi pada suhu 75°C selama 30 menit. Proses pasteurisasi dengan suhu yang lebih tinggi (90°C) dapat mendegradasi antosianin yang tidak stabil terhadap suhu tinggi (Monteiro et al., 2017).

Aplikasi ekstrak bunga rosella terbukti menambah kandungan antosianin dalam selai nanas, serta memberikan warna kemerahan pada selai. Selai nanas yang memiliki pH rendah membuat antosianin dari bunga rosella berada dalam keadaan stabil dan dapat dipertahankan, meskipun proses pemasakan selai yaitu perebusan dapat menurunkan kandungan antosianin (José et al., 2019). Ekstrak rosella pada penelitian Setyasih et al. (2008) diaplikasikan dengan merendam irisan bengkuang, sebelum kemudian digoreng dengan penggorengan vakum. Aplikasi ekstrak bunga rosella terbukti meningkatkan kadar antosianin dalam keripik bengkuang, namun tidak terlalu memberikan warna karena terjadi reaksi *maillard* selama proses penggorengan yang menghasilkan warna cokelat pada keripik yang menutupi warna kemerahan dari ekstrak bunga rosella (Setyasih et al., 2008).

Penambahan ekstrak rosella dalam jeli pepaya pada penelitian Adriana et al. (2020) terbukti memberikan warna merah pada jeli, dibandingkan dengan jeli pepaya tanpa tambahan ekstrak yang berwarna jingga. Selain memberikan warna pada jeli, aplikasi ekstrak rosella juga meningkatkan total antosianin dan aktivitas antioksidan yang dimiliki jeli (Adriana et al., 2020). Ekstrak bunga rosella juga diaplikasikan pada jeli bengkuang dalam penelitian Attahmid et al. (2020), yang terbukti memberikan warna merah serta menambah aktivitas antioksidan dari jeli. Jeli bengkuang dalam penelitian memiliki pH yang rendah (asam) sehingga antosianin dalam ekstrak bunga rosella berada dalam kondisi yang stabil (Attahmid et al., 2020).

Pengelompokan aplikasi ekstrak bunga rosella dapat dilihat pada Gambar 20. Aplikasi ekstrak bunga rosella pada produk pangan terbukti dapat memberikan warna dan meningkatkan total antosianin dan aktivitas antioksidan pada produk seperti *cupcake* (Abdel-Moemin, 2016), agar-agar, sirup (Isnaini, 2010), selai (José et al., 2019),

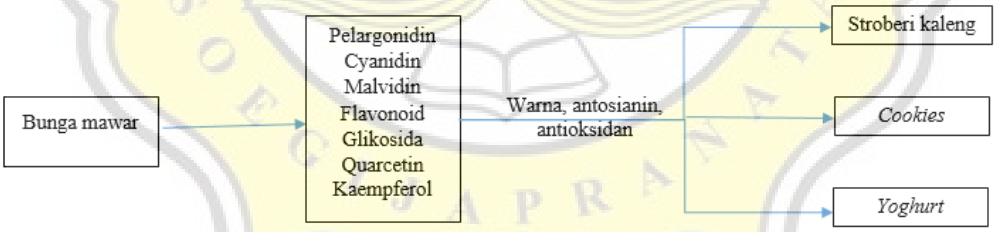
konsentrat minuman *under-vacuum* (Monteiro et al., 2017), serta jeli (Adriana et al., 2020; Attahmid et al., 2020). Namun pada beberapa produk seperti kue mangkuk, kue lapis (Isnaini, 2010), serta keripik (Setyasih et al., 2008), ekstrak bunga rosella hanya meningkatkan total antosianin maupun aktivitas antioksidan dalam produk, dan kurang dapat memberikan kontribusi warna yang dapat disebabkan karena adanya proses menggunakan panas diantaranya pengukusan (Isnaini, 2010) dan penggorengan (Setyasih et al., 2008) yang dapat mendegradasi antosianin yang tidak stabil pada suhu tinggi, maupun terjadi reaksi lain yang dapat menghasilkan warna dan menutupi warna dari bunga rosella, contohnya adalah reaksi *maillard* yang menghasilkan warna cokelat (Setyasih et al., 2008).



Gambar 20. Diagram aplikasi bunga rosella

Bunga lain yang ekstraknya dapat berpotensi sebagai pewarna alami adalah bunga mawar. Kandungan antosianin terutama jenis pelargonidin, *cyanidin*, dan malvidin terkandung dalam bunga mawar, yang dapat berperan sebagai agen antioksidan (Chanukya & Rastogi, 2016; Sengul et al., 2017; Wulandari, 2016). Pelargonidin merupakan pigmen yang memberikan warna merah, *cyanidin* memberikan warna merah pada pH rendah, serta malvidin dapat memberikan warna keunguan hingga merah gelap (Khoo et al., 2017). Selain antosianin, bunga mawar juga mengandung berbagai komponen seperti flavonoid, glikosida, asam karboksilat, quercetin, kaempferol, hingga vitamin C (Boskabady et al., 2011).

Pengelompokan aplikasi ekstrak bunga mawar dapat dilihat pada Gambar 21. Ekstrak bunga mawar diaplikasikan pada stroberi kaleng (Shikov et al., 2012), *cookies* (Visita & Putri, 2014), dan *yoghurt* (Pires et al., 2018). Penambahan ekstrak bunga mawar pada stroberi kaleng terbukti meningkatkan kandungan antosianin serta aktivitas antioksidan dalam stroberi, serta memberikan warna kemerahan pada stroberi, meskipun terjadi pengurangan kekuatan *tinctorial* dari stroberi. Kekuatan *tinctorial* yang berkurang diduga disebabkan karena adanya proses pasteurisasi menggunakan panas yang mendegradasi antosianin (Shikov et al., 2012). Warna kemerahan juga diberikan ekstrak bunga mawar pada *cookies* dalam penelitian Visita & Putri (2014) selain meningkatkan aktivitas antioksidan dari *cookies*. Ekstrak bunga mawar yang ditambahkan pada *yoghurt* terbukti meningkatkan warna kemerahan hingga menyerupai *yoghurt* yang diwarnai pewarna komersial E163 (Pires et al., 2018). Aplikasi ekstrak bunga mawar pada produk stroberi kaleng (Shikov et al., 2012), *cookies* (Visita & Putri, 2014), dan *yoghurt* (Pires et al., 2018) terbukti memberikan kontribusi warna, sekaligus meningkatkan kandungan total antosianin dan aktivitas antioksidan dari produk karena kandungan antosianin dan berbagai komponen lain dalam bunga mawar (Boskabady et al., 2011; Chanukya & Rastogi, 2016; Sengul et al., 2017; Wulandari, 2016).



Gambar 21. Diagram aplikasi bunga mawar

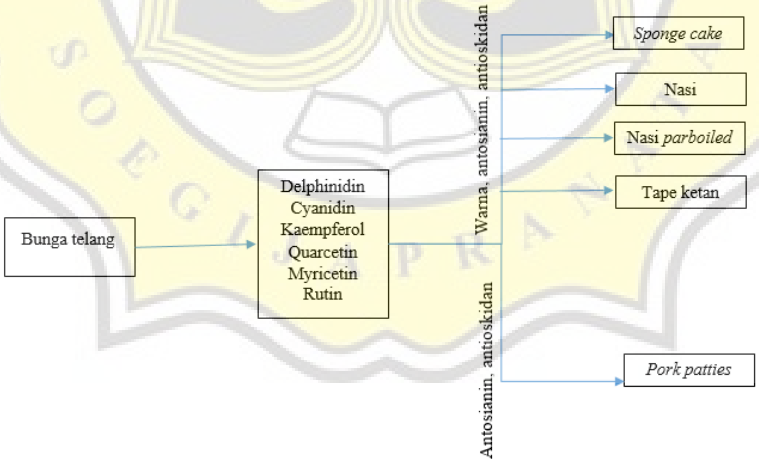
Antosianin yang dikandung ekstrak bunga telang juga dapat diaplikasikan pada produk pangan, diantaranya adalah *sponge cake* (Pasukamonset et al., 2018), *pork patties* (Pasukamonset et al., 2017), nasi (Chusak et al., 2019; Ramli et al., 2021), dan tape ketan (Palimbong & Pariama, 2020). Kandungan dalam bunga telang antara lain adalah komponen fenolik seperti kaempferol, quercetin, myricetin, dan rutin. Antosianin yang

ditemukan dalam bunga telang adalah jenis *delphinidin* dan *cyanidin* (Chusak et al., 2019; Mukherjee et al., 2008). *Delphinidin* adalah pigmen yang memberikan warna biru kemerahan atau ungu, sedangkan *cyanidin* memberikan warna merah pada pH rendah, ungu pada pH netral, dan biru pada pH tinggi (Khoo et al., 2017).

Pengelompokan aplikasi ekstrak bunga telang dapat dilihat pada Gambar 22. Pada aplikasi ekstrak bunga telang ke *sponge cake*, dilaporkan bahwa ekstrak bunga telang terbukti menurunkan warna kemerahan dan meningkatkan warna kebiruan pada *cake*. Warna biru yang diberikan oleh ekstrak membuat *sponge cake* memiliki warna hijau yang disebabkan karena adonan *sponge cake* yang memiliki warna kuning, sehingga saat ditambahkan ekstrak bunga telang yang berwarna biru warnanya bercampur membentuk warna hijau. Pengamatan warna *sponge cake* bagian *crust* juga dilakukan, dimana warna kehijauan lebih tidak terlihat (Pasukamonset et al., 2018) karena adanya reaksi *Maillard* yang menghasilkan warna cokelat (Abdel-Moemin, 2016). Selain memberikan warna, ekstrak bunga telang juga meningkatkan komponen flavonoid dan aktivitas antioksidan dalam *cake* (Pasukamonset et al., 2018). Aplikasi ekstrak bunga telang pada *pork patties* yang dilakukan oleh Pasukamonset et al. (2017) terbukti tidak terlalu memberikan warna pada *pork patties*, yang dapat disebabkan karena adanya warna cokelat yang dihasilkan oleh reaksi *maillard* saat proses pematangan *patty*. Meskipun tidak memberikan warna yang signifikan, penambahan ekstrak bunga telang pada *pork patties* terbukti meningkatkan aktivitas antioksidannya (Pasukamonset et al., 2017).

Pada penelitian Ramli et al. (2021), ekstrak bunga telang yang ditambahkan pada nasi terbukti meningkatkan total komponen flavonoid, fenolik, dan aktivitas antioksidannya. Selain itu, ekstrak bunga telang juga memberikan warna kebiruan pada nasi (Ramli et al., 2021). Penambahan ekstrak bunga telang ke nasi juga dilakukan oleh Chusak et al. (2019), yang mendapatkan hasil bahwa kandungan antosianin dan total senyawa fenolik dalam nasi meningkat seiring penambahan ekstrak bunga telang. Warna dari nasi juga secara signifikan berubah seiring penambahan ekstrak bunga telang, menjadi biru yang semakin pekat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak yang ditambahkan (Chusak et al., 2019). Penambahan ekstrak bunga telang ke tape ketan terbukti memberikan warna biru hingga keunguan pada tape, sesuai dengan perbedaan konsentrasi pelarut yang digunakan dalam ekstrak. Aktivitas antioksidan dari tape ketan juga bertambah karena adanya aplikasi ekstrak bunga telang pada tape (Palimbong & Pariama, 2020).

Ekstrak bunga telang dalam aplikasinya pada produk pangan dapat memberikan kontribusi warna yang baik pada *sponge cake* (Pasukamonset et al., 2018), nasi (Chusak et al., 2019), dan tape (Palimbong & Pariama, 2020); serta nasi *parboiled* (Ramli et al., 2021) meskipun tidak sesignifikan kontribusi warna dari nasi (Chusak et al., 2019). Perbedaan kontribusi warna yang diberikan ekstrak bunga telang pada nasi dapat disebabkan karena perbedaan proses pengolahan. Pada pengolahan nasi *parboiled*, nasi yang sudah direndam dengan ekstrak bunga telang dikukus pada suhu 100°C dan kemudian dikeringkan menggunakan *hot air dryer* pada suhu 40°C (Ramli et al., 2021), sedangkan nasi dimatangkan dengan *microwave oven* maupun *rice cooker* (Chusak et al., 2019). Adanya panas yang berkelanjutan pada proses pengolahan nasi *parboiled* dapat menyebabkan antosianin dari bunga telang terdegradasi karena sifatnya yang sensitif terhadap suhu tinggi (Setyasih et al., 2008). Aplikasi ekstrak bunga telang kurang memberikan kontribusi warna pada *pork patties*, dan hanya meningkatkan kandungan antosianin dan aktivitas antioksidannya (Pasukamonset et al., 2017), yang dapat disebabkan karena proses pengolahan *pork patties* yaitu pemanggangan dimana terjadi reaksi *maillard* menghasilkan warna cokelat dan menutupi warna dari bunga telang (Setyasih et al., 2008).



Gambar 22. Diagram aplikasi bunga telang

Aplikasi ekstrak bunga-bungaan pada produk pangan memberikan karakteristik yang berbeda-beda berdasarkan karakteristik bunga yang digunakan sebagai ekstrak. Pigmen antosianin dalam bunga rosella dan mawar memberikan warna kemerahan maupun merah

muda pada bunga, sehingga saat diolah menjadi ekstrak dan diaplikasikan pada produk pangan memberikan warna yang sama pula (Ali et al., 2013; Boskabady et al., 2011; Khaleghi & Khadivi, 2020; Mahboubi, 2016; Purwati et al., 2016). Bunga telang yang memiliki warna biru hingga keunguan mengandung pigmen antosianin yang jika diolah menjadi ekstrak dan diaplikasikan pada produk pangan dapat memberikan warna biru hingga keunguan seperti bunga aslinya (Fizriani et al., 2021; Pratimasari, 2018).

Perbedaan perlakuan pada saat ekstraksi yang mencakup perlakuan pendahuluan dan kondisi ekstraksi dapat mengakibatkan ekstrak yang dihasilkan memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Pengeringan dan pengecilan ukuran yang dilakukan pada sampel sebelum dilakukan ekstraksi dapat membuat proses ekstraksi berlangsung lebih efektif. Pada beberapa kasus, keberadaan air dapat menurunkan stabilitasnya karena berbagai reaksi kimiawi maupun enzimatik yang tidak diinginkan dapat terjadi akibat adanya kandungan air dalam sampel (Domínguez-Rodríguez et al., 2017), sehingga sampel kering lebih diminati. Pengecilan ukuran sampel dapat membuat proses ekstraksi lebih efektif, karena luas permukaan sampel yang kontak dengan solven lebih besar (Nn, 2015).

Terdapat beberapa hal lain yang mempengaruhi karakteristik ekstrak selain perlakuan pendahuluan dan jenis bunga, di antaranya adalah rasio pelarut berbanding sampel, suhu, dan waktu ekstraksi. Rasio pelarut berbanding sampel yang tidak terlalu besar membuat fraksi bunga berbanding pelarut tidak jauh berbeda sehingga ekstrak memiliki karakteristik (total antosianin dan aktivitas antioksidan) yang lebih baik. Selain itu, proses ekstraksi antosianin baik dilakukan pada suhu yang tidak terlalu tinggi karena antosianin merupakan pigmen yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Umumnya, ekstraksi antosianin konvensional dilakukan pada suhu 20 hingga 50°C. Antosianin dan warnanya terdegradasi dengan cepat pada suhu lebih dari 70°C. Semakin lama dilakukannya ekstraksi maka semakin banyak pula komponen yang terekstrak, hingga tercapai kesetimbangan antara konsentrasi sampel dan pelarut (Amogne et al., 2020; Rajbhar et al., 2015).

Proses pemanasan yang digunakan untuk mengolah produk pangan dapat mendegradasi antosianin yang tidak stabil pada suhu tinggi sehingga mengubah karakteristik dari produk dengan aplikasi antosianin (Attahmid et al., 2020; Silva et al., 2017). Selain degradasi antosianin, proses pemanasan produk dapat mengakibatkan terjadinya reaksi

Maillard yang menghasilkan warna cokelat, sehingga menyebabkan warna produk menjadi lebih gelap dan dapat menutupi warna yang dihasilkan antosianin (Abdel-Moemin, 2016; Nooshkam et al., 2019). Perlakuan pemanasan dengan *parboiling* dapat meningkatkan reaksi enzimatik maupun non-enzimatik yang menghasilkan diskolorasi akibat suhu tinggi, membentuk pigmen warna cokelat pada produk dan menutupi warna dari ekstrak mengandung antosianin (Ramli et al., 2021).

Proses perebusan dapat mengakibatkan terjadinya *leaching* komponen fenolik seperti antosianin ke air rebusan sehingga kandungan flavonoid maupun fenolik yang sensitif terhadap panas dapat terdegradasi, menurunkan aktivitas antioksidan dari produk (Figueroa-Robles et al., 2021). Proses fermentasi juga dapat mempengaruhi karakteristik dari produk pangan dengan aplikasi ekstrak. Air dan alkohol (dan karbon dioksida) yang dihasilkan oleh reaksi fermentasi dapat melarutkan antosianin, sehingga menurunkan aktivitas antioksidan yang dikandung dalam produk (Palimbong & Pariama, 2020).

Sebagian besar proses pengolahan menyebabkan antosianin menjadi terdegradasi, yang mengurangi jumlahnya dalam produk pangan. Namun juga terdapat proses yang mempertahankan antosianin dalam ekstrak, seperti penyalutan dengan maltodekstrin maupun dekstrin, dimana antosianin dalam ekstrak dapat diikat sehingga mengurangi degradasi saat produk pangan melalui proses pengolahan dan total antosianin, aktivitas antioksidan, serta warna dari produk dapat dipertahankan (Purwati et al., 2016). Selain itu, bahan dari produk pangan juga dapat mempengaruhi karakteristiknya, seperti amilopektin yang dapat memfasilitasi migrasi pigmen antosianin ke bahan dalam produk, sehingga warna dari ekstrak mengandung antosianin dapat dipertahankan (Ramli et al., 2021).