

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Jenis – Jenis Zat Warna Alami

Penentuan mutu makanan ditentukan oleh cita rasa, warna, tekstur, nilai gizi maupun sifat mikrobiologinya. Warna dapat digunakan sebagai indikator kesegaran atau kematangan, selain itu warna dapat memberikan petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan seperti pencoklatan dan pengkaramelan. Warna makanan disebabkan oleh pigmen alam atau pewarna yang ditambahkan. Pigmen alam adalah golongan senyawa yang berasal dari hewan atau tumbuhan. Pigmen alam mencakup pigmen yang sudah terdapat dalam makanan dan pigmen yang terbentuk pada pemanasan, penyimpanan, atau pengolahan (De Man, 1997). Menurut Winarno (2002), masing – masing pigmen warna mempunyai kestabilan yang berbeda terhadap kondisi pengolahan seperti terlihat pada Tabel 1.

Umumnya zat warna alam terbentuk dari kombinasi tiga unsur, yaitu karbon, hidrogen dan oksigen, tetapi ada beberapa zat warna yang mengandung unsur lain seperti nitrogen pada indigotin dan magnesium pada klorofil. Jaringan tumbuhan seperti bunga, batang, kulit, kayu, biji, buah, akar dan kayu mempunyai warna – warna karakteristik yang disebut pigmen dalam botani (Lemmens & Soetjipto, 1992).

Tabel 1. Jenis senyawa pigmen alami dan sifatnya

Jenis Pigmen	Jumlah Senyawa	Warna	Sumbernya	Pelarut	Kestabilan
Antosianin	120	Jingga, merah, biru	Tanaman	Air	Peka pada perubahan pH, panas
Flavonoid	600	Tak berwarna, kuning	Umumnya tanaman	Air	Tahan panas
Leukoantosianin	20	Tak berwarna	Tanaman	Air	Tahan panas
Tannin	20	Tak berwarna, kuning	Tanaman	Air	Tahan panas
Betalain	70	Kuning, merah	Tanaman	Air	Peka terhadap panas
Kuinon	200	Kuning sampai hitam	Tanaman, bakteri	Air	Tahan panas
Xanton	30	Kuning	Tanaman	Air	Tahan panas
Karotenoid	300	Tak berwarna, kuning, merah	Tanaman	Lemak	Tahan panas
Klorofil	25	Hijau, coklat	Tanaman	Lemak, air	Peka terhadap panas
Pigmen heme	6	Merah, coklat	Hewan	Air	Peka terhadap panas

Sumber : Laren (1986)

Adapun jenis – jenis senyawa zat warna alam yang terkandung dalam tumbuhan adalah klorofil (hijau) pada daun; karoten (kuning oranye) pada umbi dan daun; likopene (merah) pada bunga dan buah; flavon (kuning) pada bunga, akar dan kayu; antosianin (kuning kemerahan, merah lembayung) pada buah dan bunga; betalain (kuning merah) menyerupai antosianin atau flavonoid pada beet merah; xanton (kuning) pada buah mangga (Tranggono, 1990).

Pada pengolahan makanan modern, bahan pewarna sering ditambahkan dengan tujuan memperbaiki warna dari bahan makanan atau untuk memperkuat warna asli dari bahan makanan tersebut. Suatu zat pewarna sintetis harus melalui berbagai prosedur pengujian sebelum

digunakan untuk zat pewarna makanan yang dikenal dengan proses sertifikasi. Zat pewarna yang diizinkan penggunaannya dikenal sebagai *permitted color* atau *certified color* (Winarno, 2002)

Peraturan mengenai zat warna dalam makanan ditetapkan oleh masing – masing negara, dengan tujuan antara lain untuk menjaga kesehatan dan keselamatan rakyat dari hal – hal yang dapat timbul karena pemakaian zat warna tertentu yang dapat membahayakan kesehatan. Peraturan di suatu negara berbeda dengan negara lainnya, suatu zat warna yang dilarang di suatu negara belum tentu dilarang oleh negara lainnya. Aturan penggunaan zat pewarna di Indonesia diatur dalam SK menteri kesehatan RI tanggal 22 Oktober 1973 No 11332/A/SK/73 (Tabel 2).

Tabel 2. Jenis Zat Pewarna Makanan dan Minuman yang diijinkan di Indonesia

Warna	Nama	Nomor indeks nama
I. Zat warna alam		
Merah	Alkanat	75520
Merah	<i>Cochineal red</i> (karmin)	75470
Kuning	<i>Annato</i>	75120
Kuning	Karoten	75130
Kuning	Kurkumin	75300
Kuning	Safron	75100
Hijau	Klorofil	75810
Biru	Ultramarin	77007
Coklat	Caramel	
Hitam	<i>Carbon black</i>	77266
Hitam	Besi oksida	77499
Putih	Titanium oksida	77891
II.Zat warna sintetik	Nama	Nomor indeks nama
Merah	Carmoisine	14720
Merah	<i>Amaranth</i>	16185
Merah	<i>Erythrosim</i>	45430
Oranye	<i>Sunsetyellow FCF</i>	15985
Kuning	<i>TartrazineQuineline yellow</i>	19140
Kuning	<i>Quineline yellow</i>	47005
Hijau	<i>Fast green FCF</i>	42053
Biru	<i>Briliant blue FCF</i>	42090
Biru	<i>Indigocarmine (indigotine)</i>	42090
Ungu	<i>Violet GB</i>	42640

(Sumber : Winarno, 2002)

Zat warna sintetis yang dilarang di Indonesia diatur dalam peraturan Menkes RI tanggal 19 Juni 1979, No. 235/Menkes/Per/VI/79, dapat dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Jenis zat warna sintetis yang dilarang di Indonesia

No	Zat warna	C.I.no
1	Citrus Red No 2	12156
2	Ponceau 3R (Red G)	16155
3	Ponceau SX (Food Red no 1)	14700
4	Rhodamine B (Food Red no 5)	45170
5	Guinea Green B (Acid Green no 3)	42085
6	Magenta (Basic Violet no 14)	42510
7	Chrysoidine (Basic orange no 2)	11270
8	Butter Yellow (solvent yellow no 1-4)	11020
9	Sudan 1 (food yellow no 14)	12055
10	Metanil Yellow (Ext.D&C Yellow no 2)	13065
11	Auramine (Basic Yellow no 2)	41000
12	Oil orange SS (solvent orange no 7)	12100
13	Oil orange XO (Solvent orange no 5 )	12140
14	Oil Yellow AB (solvent yellow no 5)	11380
15	Oil Yellow OB (Solvent yellow no 6)	11390

(Sumber : Fardiaz dkk., 1986)

Semakin tinggi kesadaran konsumen untuk mendapatkan makanan yang alami, membuat zat warna asli jauh lebih disenangi untuk digunakan dalam pengolahan makanan. Banyak warna cemerlang yang dimiliki oleh tanaman dan hewan bisa digunakan sebagai pewarna tambahan makanan.

**B. Kedudukan Taksnomi dan Kandungan Kecombrang (*Nicolaia speciosa*, Horan)**

Setiap daerah mempunyai nama khusus untuk kecombrang, misalnya Kala (Gayo), Puwar kijung (Minangkabau), Kecombrang (Jawa Tengah), Honje (Sunda), Atimengo (Gorontalo), Katimbang (Makasar), Salahawa (Seram), Petikala (Ternate dan Tidore). Kecombrang secara umum juga disebut sebagai Kantan di wilayah Malaya (Sudarsono, 1994). Tanaman kecombrang merupakan tanaman tahunan yang berbentuk semak dengan tinggi 1-3 m (Gambar 1). Tanaman ini mempunyai batang semu, tegak, berpelelah, membentuk rimpang, dan berwarna hijau. Daunnya tunggal, lanset, ujung dan pangkal runcing tetapi rata, panjang daun sekitar 20-30 cm dan lebar 5-15 cm, pertulangan daun menyirip, dan berwarna hijau. Bunga kecombrang merupakan bunga majemuk yang berbentuk bongkol dengan panjang tangkai 40-80 cm (Gambar 2).



Gambar 1. Tanaman Kecombrang  
(Anonim a , 2010)



Gambar 2. Bunga kecombrang  
(Anonim a , 2010)

Panjang benang sari  $\pm$  7,5 cm dan berwarna kuning. Putiknya kecil dan putih. Mahkota bunganya bertaju, berbulu jarang dan warnanya merah jambu. Biji kecombrang berbentuk kotak atau bulat telur dengan warna putih atau merah jambu. Buahnya kecil dan berwarna coklat. Akarnya berbentuk serabut dan berwarna kuning gelap (Syamsuhidayat, 1991).

Pada dasarnya, yang disebut dengan bunga kecombrang adalah suatu karangan bunga yang terdiri atas bagian bunga, daun pelindung, daun gagang, daun gantilan, kelopak, mahkota, putik, dan buah. Bunga kecombrang adalah bunga majemuk yang terdiri atas bunga-bunga kecil di dalam karangan bunga dan muncul pada saat bunga sudah tua (Soedarsono, 1994).

Kedudukan taksonomi tanaman Kecombrang (*Nicolaia speciosa*, Horan)

adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta  
 Sub – divisi : Angiospermae  
 Kelas : Monocotyledonae  
 Bangsa: Zingiberales  
 Suku : Zingiberaceae  
 Marga : *Nicolaia*  
 Jenis : *Nicolaia speciosa*, Horan.

(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991)

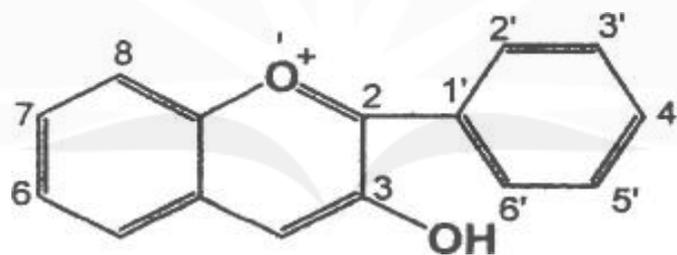
Kecombrang akan tumbuh dan berkembang dengan baik bila ditanam di tempat yang relatif ternaungi, tanahnya beraerasi dan berdrainase baik, cukup air dan unsur hara. Bila persyaratan tersebut terpenuhi maka tanaman akan menghasilkan bunga terus menerus sepanjang tahun. Pada waktu berumur 2 tahun, tanaman ini akan berbunga dan berbuah. Buah kecombrang mirip nanas besar dan berwarna merah muda atau merah (Soedarsono, 1994).

Komponen bunga kecombrang terdiri dari zat aktif alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa anti mikrobial yang memiliki kemampuan antiseptik, mematikan kuman, antioksidasi, fungisida (Valianty, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak kecombrang memiliki konsentrasi antioksidan yang tinggi yaitu sebesar 92.92 %, dalam 0.5 g/ml ekstrak kecombrang dengan pelarut etanol (Krismawati, 2007). Komponen, antioksidan pada kecombrang ternyata memiliki kekuatan yang cukup besar untuk menangkal senyawa radikal bebas sehingga mencegah terjadinya oksidasi. Komponen dari bunga kecombrang yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik. Grup yang paling penting dari senyawa fenolik adalah flavonoid, termasuk di dalamnya katekin, antosianidin, flavon dan glikosida (Tang, 1991), yang banyak ditemukan pada tanaman kecombrang.

### C. Pigmen Antosianin

Antosianin adalah zat warna alami yang bersifat sebagai antioksidan yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan. Lebih dari 300 struktur antosianin yang ditemukan telah diidentifikasi secara alami (Wrolstad, 2001). Antosianin adalah pigmen dari kelompok flavonoid yang larut dalam air, berwarna merah sampai biru dan tersebar luas pada tanaman. Terutama terdapat pada buah dan bunga, namun juga terdapat pada daun. Kadar antosianin cukup tinggi terdapat pada berbagai tumbuh-tumbuhan seperti misalnya: *bilberries* (*vaccinium myrtillus* L), minuman anggur merah (*red wine*), dan anggur (Jawi dkk., 2007). Struktur antosianin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur antosianin (Laren, 1986)

Manusia sejak lama telah mengonsumsi antosianin bersamaan dengan buah dan sayuran yang mereka makan. Selama ini tidak pernah terjadi suatu penyakit atas keracunan yang disebabkan oleh pigmen ini sehingga antosianin aman untuk dikonsumsi, tidak beracun dan tidak menimbulkan mutasi gen (Nugrahan ,2007). Beberapa penelitian di Jepang menyatakan bahwa antosianin memiliki fungsi fisiologi. Misalnya sebagai antioksidan,

antikanker, dan perlindungan terhadap kerusakan hati (Tanuwijaya, 2007). Antosianin juga berperan sebagai pangan fungsional, sebagai contoh “*food ingredient*” yang sangat berguna bagi kesehatan mata dan retina yang pertama kali dipublikasikan di Jepang pada tahun 1997 (Imelda, 2002).

### C.1 Sifat Fisik Antosianin

Antosianin adalah kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar dalam tanaman. Pada dasarnya, antosianin terdapat dalam sel epidermal dari buah, akar, dan daun pada buah tua dan masak. Pada beberapa buah-buahan dan sayuran serta bunga memperlihatkan warna-warna yang menarik yang mereka miliki termasuk komponen warna yang bersifat larut dalam air dan terdapat dalam cairan sel tumbuhan (Fennema, 1976).

Zat pewarna alami antosianin tergolong ke dalam turunan benzopiran. Struktur utama turunan benzopiran ditandai dengan adanya dua cincin aromatik benzena ( $C_6H_6$ ) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang membentuk cincin (Moss, 2002).

Menurut De Man (1997), pigmen antosianin terdapat dalam cairan sel tumbuhan, senyawa ini berbentuk glikosida dan menjadi penyebab warna merah, biru, dan violet yang banyak terdapat pada buah dan sayur. Antosianin berwarna kuat dan namanya diambil dari nama bunga. Sebagian besar, antosianin mengalami perubahan selama penyimpanan dan pengolahan.

## C.2 Sifat Kimiawi Antosianin

Secara kimia semua antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal, yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi dan glikosilasi (Harborne, 1996). Antosianin adalah senyawa yang bersifat amfoter, yaitu memiliki kemampuan untuk bereaksi baik dengan asam maupun dalam basa. Dalam media asam antosianin berwarna merah seperti halnya saat dalam vakuola sel dan berubah menjadi ungu dan biru jika media bertambah basa. Perubahan warna karena perubahan kondisi lingkungan ini tergantung dari gugus yang terikat pada struktur dasar dari posisi ikatannya (Charley, 1970).

Sifat fisika dan kimia dari antosianin dilihat dari kelarutan antosianin larut dalam pelarut polar seperti metanol, aseton, atau kloroform, terlebih sering dengan air dan diasamkan dengan asam klorida atau asam format (Socaciu, 2007). Antosianin stabil pada pH 3,5 dan suhu 50°C mempunyai berat molekul 207,08 gram/mol dan rumus molekul  $C_{15}H_{11}O$  (Fennema, 1996). Antosianin dilihat dari penampakan berwarna merah, merah senduduk, ungu dan biru mempunyai panjang gelombang maksimum 515-545 nm, bergerak dengan eluen BAA (nbutanol- asam asetat-air) pada kertas (Harborne, 1996).

## C.3 Warna dan Stabilitas Antosianin

Warna dan stabilitas pigmen antosianin tergantung pada struktur molekul secara keseluruhan. Substitusi pada struktur antosianin A dan B akan berpengaruh pada warna antosianin. Pada kondisi asam warna antosianin ditentukan oleh banyaknya substitusi pada cincin B. Semakin banyak substitusi

OH akan menyebabkan warna semakin biru, sedangkan metoksilasi menyebabkan warna semakin merah (Arisandi, 2001)

Degradasi antosianin terjadi tidak hanya selama ekstraksi dari jaringan tumbuhan tetapi juga selama proses dan penyimpanan jaringan makanan (Fennema, 1996). Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, temperatur, sinar dan oksigen, serta faktor lainnya seperti ion logam (Niendyah, 2004).

### **C.3.1 Transformasi Struktur dan pH**

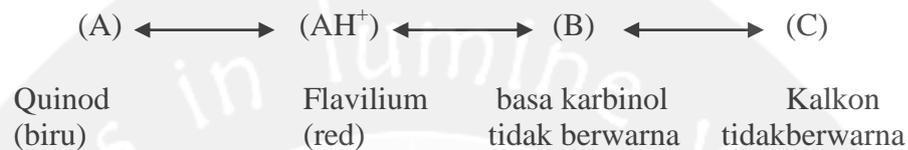
Pada umumnya, penambahan hidroksilasi menurunkan stabilitas, sedangkan penambahan metilasi meningkatkan stabilitas. Warna dalam makanan mengandung antosianin yang kaya akan pelargonidin, sianidin, atau aglikon delphinidin kurang stabil dari makanan yang kaya akan petunidin atau aglikon malvidin (Fennema, 1996).

Faktor pH ternyata tidak hanya mempengaruhi warna antosianin ternyata juga mempengaruhi stabilitasnya. Antosianin lebih stabil dalam larutan asam dibanding dalam larutan alkali (Markakis, 1992). Dalam medium cair kemungkinan antosianin berada dalam empat bentuk struktur yang tergantung pada pH. Struktur tersebut adalah basa quinoidal (A), kation flavilium (AH<sup>+</sup>), basa karbinol yang tidak berwarna (B), dan khalkon tidak berwarna (C) ( Von Elbe and Schwartz, 1996 dalam Arthey dan Ashurst, 2001).

### **C.3.2 Suhu**

Pemanasan bersifat “irreversible” dalam mempengaruhi stabilitas pigmen dimana kalkon yang tidak berwarna tidak dapat kembali menjadi

kation flavilium yang berwarna merah (James, 1996). Degradasi antosianin dipengaruhi oleh temperatur. Antosianin terhidroksilasi adalah kurang stabil pada keadaan panas daripada antosianin termetilasi terglukosilasi atau termetilasi (Arthey dan Ashurst, 2001).



Diketahui ada empat struktur antosianin yang terbentuk dalam larutan cair yang ditunjukkan di atas. Pemanasan bergeser ke persamaan kalkon tak berwarna dan reaksi berbalik adalah lebih rendah daripada reaksi selanjutnya. Mekanisme yang tepat dari degradasi termal antosianin tidak sepenuhnya terurai (Arthey dan Ashurst, 2001).

### C.3.3 Cahaya

Antosianin tidak stabil dalam larutan netral atau basa dan bahkan dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya, sehingga larutan sebaiknya disimpan di tempat gelap dan suhu dingin (Harborne, 1996). Secara umum diketahui bahwa cahaya mempercepat degradasi antosianin. Efek tersebut dapat dilihat pada jus anggur dan *red wine*. Pada *wine* metilasi diglikosida yang terasilasi dan metilasi monoglikosida (Fennema, 1996).

Antosianin juga tidak stabil ketika terkena sinar tampak dan ultraviolet dan inti lain dari radiasi ion. Dekomposisi sebagian besar tampak menjadi fotooksidasi karena asam p-hidroksibenzoat diidentifikasi sebagai hasil degradasi minor (Arthey dan Ashurst, 2001). Kemampuan cahaya membuat

antosianin tereksitasi lewat transfer elektron yang dapat mempengaruhi pigmen ke dekomposisi fotokimia.

#### **C.3.4 Oksigen**

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

#### **C.3.5 Kopigmentasi**

Kopigmen (penggabungan antosianin dengan antosianin atau komponen organik lainnya) dapat mempercepat atau memperlambat proses degradasi, tergantung kondisi lingkungan. Bentuk kompleks turun dengan adanya protein, tannin, flavonoid lainnya, dan polisakarida. Walaupun sebagian komponen tersebut tidak berwarna, mereka dapat meningkatkan warna antosianin dengan pergeseran batokromik, dan meningkatkan penyerapan warna pada panjang gelombang penyerapan warna maksimum. Kompleks ini cenderung menstabilkan selama proses dan penyimpanan. Warna stabil dari *wine* dipercaya hasil dari senyawa antosianin sendiri (Fennema, 1996).

#### **D. Metode Ekstraksi**

Menurut Voight (1995), pada dasarnya terdapat dua prosedur untuk membuat sediaan obat tumbuhan, yaitu ekstraksi dan perasan. Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dengan menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan cara mengeringkan suatu bahan dan dihaluskan, kemudian diproses dengan cairan

pengekstraksi (pelarut). Jenis ekstraksi yang digunakan tergantung dari kelarutan bahan yang terkandung dalam tanaman serta stabilitasnya. Ekstraksi yang tepat tergantung pada tekstur dan kandungan air bahan yang akan diekstraksi serta jenis senyawa yang akan diisolasi.

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Brian, 1989). Dalam metode ekstraksi bahan alam, dikenal suatu metode maserasi yaitu metode perendaman. Penekanan utama dalam metode ini adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi padat cair, yaitu dengan cara merendam beberapa menit jaringan tumbuhan yang telah diblender dalam pelarut yang sesuai kemudian disaring dengan corong Buchner dan akhirnya dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak pigmen (Arisandi, 2001).

Untuk mengisolasi senyawa antosianin, metode yang biasa digunakan adalah mengekstraksi jaringan segar dengan cara maserasi dalam alkohol yang mempunyai titik didih yang rendah dan mengandung asam. Pelarut organik yang biasa digunakan adalah methanol. Hal ini karena metanol merupakan senyawa yang polar sehingga pigmen antosianin dapat mudah larut, selain itu titik didihnya yang relatif rendah  $65^{\circ}\text{C}$ , sehingga memudahkan dalam pemekatan ekstrak. Antosianin merupakan senyawa yang tidak stabil di dalam larutan netral atau basa, sehingga ekstraksi dilakukan

pada kondisi asam. Jadi penambahan asam dalam metanol dimaksudkan untuk menjaga agar kondisi media asam (Arisandi, 2001).

Pelarut yang seringkali digunakan untuk mengekstrak antosianin adalah etanol, metanol, isopropanol, aseton, atau dengan air (aquades) dalam kombinasi dengan asam, seperti asam klorida, asam asetat, asam format, atau asam askorbat (Hidayat dan Saati, 2006). Pada proses ekstraksi pigmen antosianin dari bunga kana menggunakan etanol 95%: aquades: asam sitrat (5:4:1) sebagai pelarut terbaik untuk menghasilkan ekstrak antosianin bunga kana (Tanuwijaya, 2007).

Menurut Guenther (1987) pelarut adalah salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh faktor-faktor berikut ini:

1. Selektifitas

Pelarut hanya boleh melarutkan ekstrak yang diinginkan, bukan komponen-komponen lain dari bahan ekstraksi.

2. Kelarutan

Pelarut sedapat mungkin memiliki komponen melarutkan ekstrak yang besar (kebutuhan pelarut lebih sedikit).

3. Reaktifitas

Pada umumnya pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimiapada komponen-komponen bahan ekstraksi.

#### 4. Titik didih

Karena ekstrak dan pelarut biasanya harus dipisahkan dengan cara penguapan, destilasi atau rektifikasi, maka titik didih kedua bahan itu tidak boleh terlalu dekat. Ditinjau dari segi ekonomi, akan menguntungkan jika pada proses ekstraksi titik didih tidak terlalu tinggi.

#### 5. Kriteria yang lain

Pelarut sedapat mungkin harus murah, tersedia dalam jumlah besar, tidak beracun, tidak dapat terbakar, tidak eksplosif, tidak bercampur dengan udara, tidak korosif, tidak membentuk terjadinya emulsi, memiliki viskositas yang rendah dan stabil secara kimia dan termis.

### **E. Hipotesis**

1. Interaksi antara jenis pelarut dan asam pada proses ekstraksi bunga kecombrang berpengaruh terhadap kualitas pigmen antosianin yang dihasilkan.
2. Pigmen antosianin yang diekstraksi dari bunga kecombrang efektif digunakan dalam mewarnai cenil.