



**EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN DARI KULIT BUAH
DUWET (*Syzygium cuminii*) DENGAN VARIASI JENIS
PELARUT DAN KONDISI SUHU EKSTRAKSI**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu (S1)
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Oleh :

FITRIYAH AGUSTINA

NIM : 001710101128

1 Terima 15 Feb 01 Feb 2005

No. 1000

Militer
Pembelian

864.06
AGU
r

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

DOSEN PEMBIMBING

PUSPITA SARI STP. M.Agr. (DPU)


Ir. UNUS, MS. (DPA I)

Ir. WIWIK SITI WINDRATI, MP. (DPA II)

Diterima Oleh :
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember
Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (SKRIPSI)

Di pertahankan pada :
Hari : Jum'at
Tanggal : 31 Desember 2004
Tempat : Ruang ujian – FTP

Tim Penguji
Ketua



Puspita Sari, STP, MAg.
Nip. 132 206 012

Anggota I



(Ir. Unus, MS.)
NIP. 130 368 786

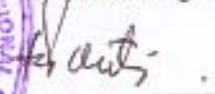
Anggota II



(Ir. Wiwik Siti Windrati, MP)
NIP. 130 787 732



Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



(Ir. Siti Hartanti, MS.)
NIP. 130 350 763

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.
(Alam Nasyrah : 608)

Sabar yang utama adalah dikala musibah mulai menimpa
(H.R. Bukhari)

Medan kata-kata tak semudah medan berfikir dan medan amal atau perjuangan tak semudah medan kata-kata, meski perjuangan itu terkadang menyakitkan but we must brave and patient to face it.
(friend)

Karya ini kupersembahkan Kepada :

Kedua orang tuaku yang selalu mendukung dan mengarahkanku.
Rasa terima kasihku tak terhingga atas segala pengorbanan dan cinta kasihmu

Kakak-kakakku
Kalianlah yang memotivasiku untuk mendapatkan yang lebih baik

My love
Engkaulah penyemangatkku hingga aku mampu berjuang menghadapi segalanya

Sobat-sobat baikku
Kalianlah yang membuatku mampu bertahan karena persahabatan yang indah

Almamater yang kubanggakan

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah Swt yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga Karya Ilmiah Tertulis dengan judul “ EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN DARI KULIT BUAH DUWET (*Syzygium cumini*) DENGAN VARIASI JENIS PELARUT DAN KONDISI SUHU EKSTRAKSI” dapat terselesaikan dengan baik. Karya Ilmiah Tertulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Dalam proses penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis ini, penulis banyak mendapat bantuan dan fasilitas dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, dengan penuh rasa hormat dan rendah hati penulis mengucapkan terima kasih kepada :

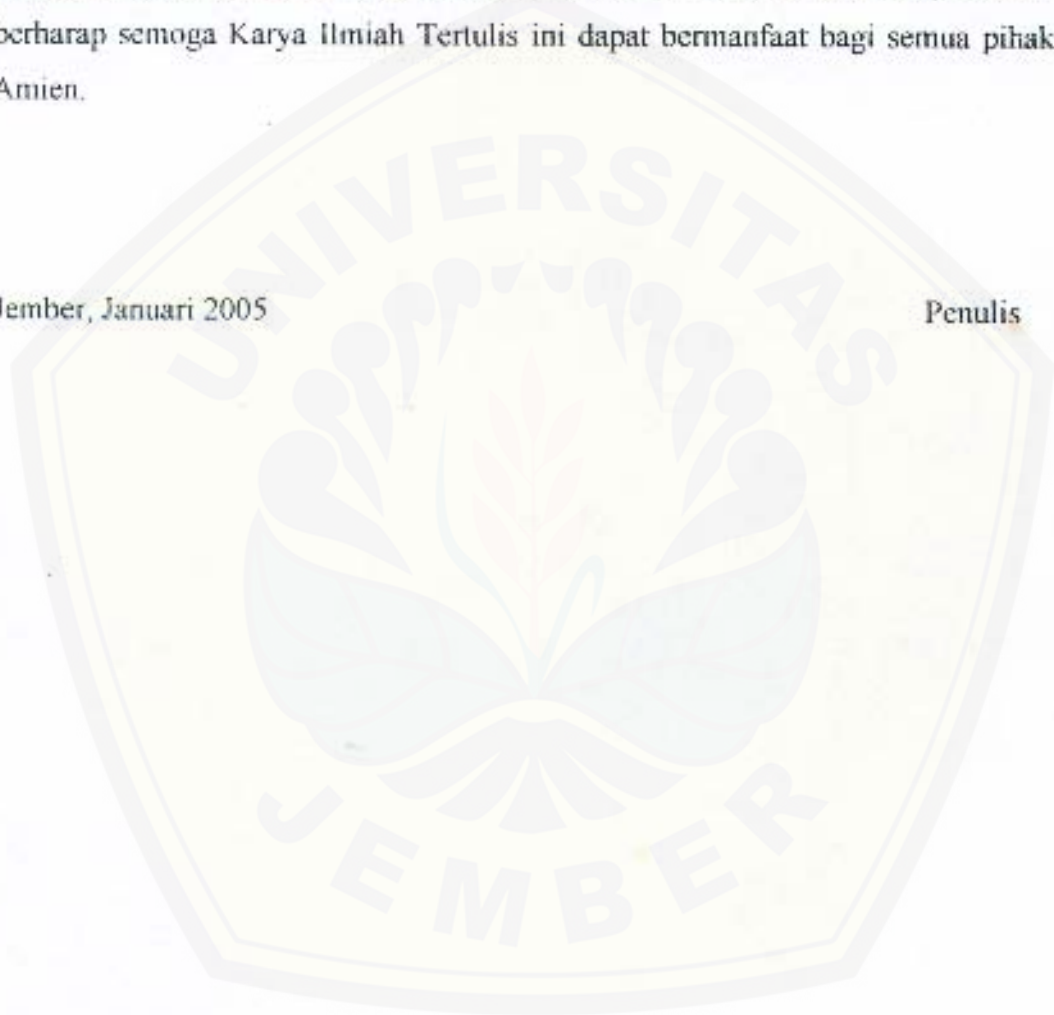
1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian.
2. Ir. Susijahadi., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.
3. Puspita Sari, STP. MAgr., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah banyak memberikan bimbingan dan pengarahan selama ini sehingga penyusunan Karya Ilmiah Tertulis ini dapat terselesaikan.
4. Ir. Unus, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota I (DPA I), yang telah memberikan saran dan koreksi untuk penyempurnaan penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
5. Ir. Wiwik Siti Windrati, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota II (DPA II) dan sekaligus Dosen wali yang telah banyak membantu dan memberikan kritik maupun saran demi kelancaran kuliah.
6. Segenap Teknisi Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian yang telah banyak memberikan bantuan selama penelitian.
7. Segenap karyawan dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian.
8. Teman-teman yang telah banyak membantu selama penelitian dan penyusunan KIT (Dina, Mas Komar, Ibnu, Heri, Toko, Efi NA, Mona, Tina, Lusi).

9. Teman-teman FTP/THP angkatan '00 khususnya (Yultin, Anisa, Fita, Ikhsan, Nani C, Inggrit) dan seluruh angkatan FTP.
10. Semua pihak yang telah banyak membantu.

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan penulisan yang akan datang. Penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak. Amien.

Jember, Januari 2005

Penulis



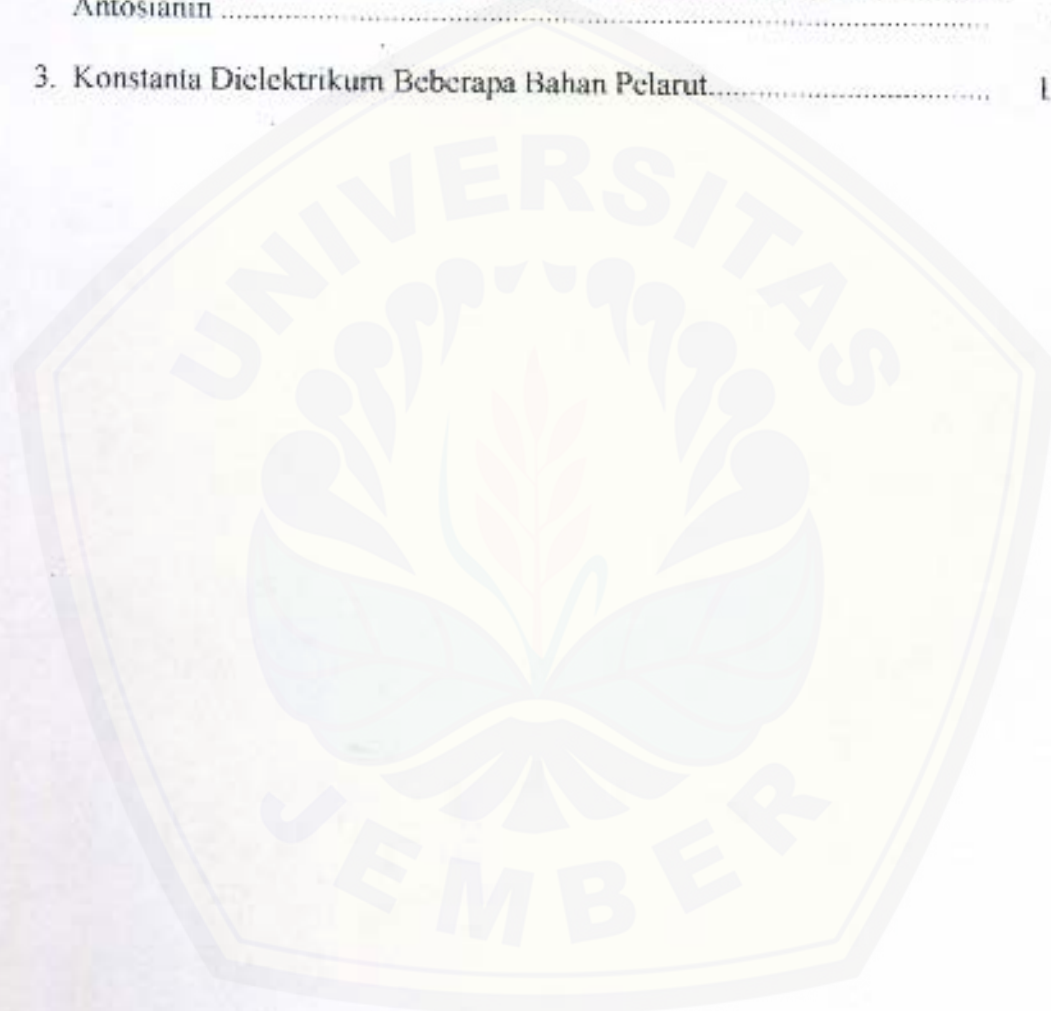
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
RINGKASAN.....	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Buah Duwet	3
2.2 Pewarna Makanan	5
2.3 Antosianin	7
2.4 Penggunaan Pigmen Antosianin.....	12
2.5 Ekstraksi Antosianin.....	13
2.6 Penelitian Terdahulu.....	17
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Bahan dan Alat.....	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.3 Metode Penelitian	18

3.3.1 Rancangan Penelitian.....	18
3.3.2 Ekstraksi Pigmen Antosianin.....	19
3.4 Parameter Pengamatan.....	20
3.5 Prosedur Analisa.....	20
3.5.1 Total Rendemen.....	20
3.5.2 Konsentrasi Antosianin.....	20
3.5.3 Rendemen Antosianin.....	22
3.5.4 Pengaruh pH terhadap Intensitas Warna.....	22
IV. PEMBAHASAN	
4.1 Total Rendemen.....	24
4.2 Konsentrasi Antosianin.....	25
4.3 Rendemen Antosianin.....	28
4.4 Pengaruh pH terhadap Intensitas Warna.....	29
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Komposisi Kimia Yang Terkandung Dalam Buah Duwet per 100 gram	5
2. Gugus Pengganti Pada Struktur Kation Flavium Untuk Membentuk Antosianin	8
3. Konstanta Dielektrikum Beberapa Bahan Pelarut.....	15

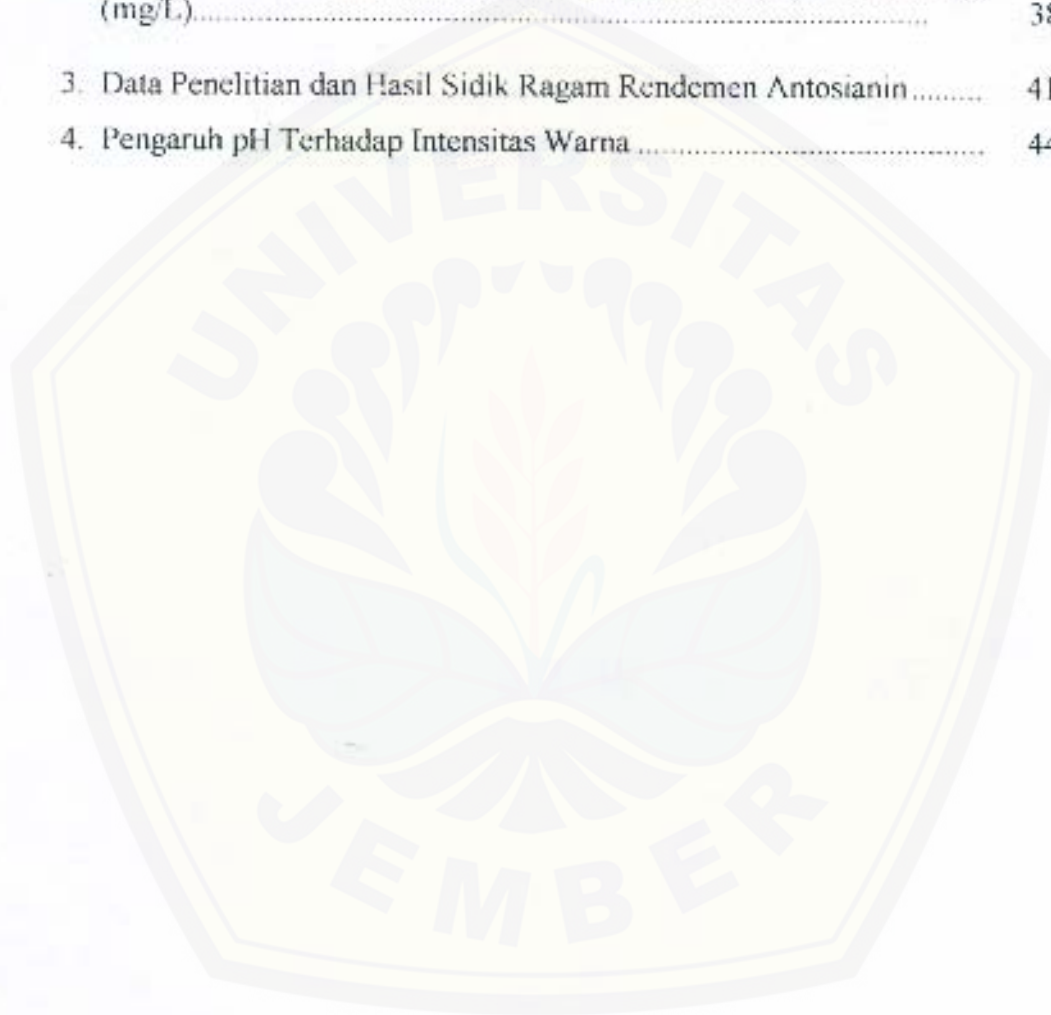


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Rangka Struktur Kation Flavium Dan Penomoran Atom Karbonnya ...	8
2. Struktur Senyawa Antosianidin.....	8
3. Perubahan Struktur Antosianin Menjadi Basa Karbinol	11
4. Diagram Alir Ekstraksi Antosianin Dari Kulit Buah Duwet.....	21
5. Histogram Total Rendemen Pada Ekstraksi Menggunakan Variasi Jenis Pelarut Dan Kondisi Suhu Ekstraksi.....	24
6. Histogram Konsentrasi Antosianin Pada Ekstraksi Menggunakan Variasi Jenis Pelarut Dan Kondisi Suhu Ekstraksi	26
7. Histogram Rendemen Antosianin Pada Ekstraksi Menggunakan Variasi Jenis Pelarut Dan Kondisi Suhu Ekstraksi	28
8. Grafik Pengaruh pH Terhadap Intensitas warna Pigmen Antosianin.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran	
1. Data Penelitian dan Hasil Sidik Ragam Total Rendemen (%)	36
2. Data Penelitian dan Hasil Sidik Ragam Konsentrasi Antosianin (mg/L).....	38
3. Data Penelitian dan Hasil Sidik Ragam Rendemen Antosianin	41
4. Pengaruh pH Terhadap Intensitas Warna	44



Fitriyah Agustina, 001710101128, Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini*) dengan Variasi Jenis Pelarut dan Kondisi Suhu Ekstraksi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, Dosen Pembimbing : Puspita Sari, S.TP, MAg. (DPU) dan Ir. Unus, MS. (DPA).

RINGKASAN

Dewasa ini banyak produk pangan yang menggunakan zat pewarna sintetis. Ironisnya pada industri pangan tersebut banyak menggunakan pewarna sintetis yang bukan merupakan zat pewarna untuk makanan maupun minuman. Karena pada umumnya pewarna sintetis mengandung residu logam berbahaya yang dapat menyebabkan penyakit. Hal ini dapat menyebabkan dampak negatif terhadap kesehatan manusia seperti penyakit kanker, stroke dan jantung. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu usaha untuk menghasilkan zat pewarna alami yang aman untuk diaplikasikan pada produk pangan dan bahkan dapat meningkatkan kesehatan manusia. Salah satu usaha tersebut dengan memanfaatkan kulit buah duwet sebagai alternatif zat pewarna alami. Pada kulit buah duwet diketahui mengandung pigmen antosianin yaitu *sianidin ramnoglikosida*, *petunidin* dan *malvidin* yang merupakan pigmen pembentuk warna merah seperti halnya pada buah anggur. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan suhu ekstraksi serta kombinasi antara jenis pelarut dan suhu ekstraksi tertentu yang menghasilkan rendemen antosianin tertinggi.

Ekstraksi pigmen antosianin dari kulit buah duwet menggunakan pelarut air, etanol, isopropanol, air-etanol (1:1), air-isopropanol (1:1), etanol-isopropanol (1:1), dan air-etanol- isopropanol (1:1:1) pada kondisi suhu ruang (27°C) dan suhu dingin (5°C). Analisa yang dilakukan yaitu total rendemen (%), konsentrasi antosianin (mg/L), rendemen antosianin (%) dan sebagai informasi tambahan untuk aplikasi produk pangan maka dilakukan pengamatan pengaruh pH terhadap intensitas warna.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total rendemen terendah diperoleh pada ekstraksi menggunakan pelarut isopropanol pada suhu dingin sebesar 40.250 % sedangkan total rendemen tertinggi diperoleh pada ekstraksi menggunakan kombinasi pelarut air-isopropanol pada suhu ruang sebesar 71.540 %. Konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin terendah dihasilkan pada ekstraksi menggunakan pelarut isopropanol pada suhu dingin yaitu berturut-turut sebesar 48.519 mg/L dan 0.013 % sedangkan pada ekstraksi menggunakan kombinasi pelarut air-etanol pada suhu ruang dihasilkan konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin tertinggi yaitu berturut-turut sebesar 10007.027 mg/L dan 2.778 %. Intensitas warna yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi dipengaruhi oleh nilai pH dimana semakin tinggi pH maka intensitas warnanya semakin menurun.



1.1 Latar Belakang

Dewasa ini penggunaan bahan pewarna pada industri pangan semakin meningkat karena faktor warna berpengaruh terhadap tingkat persepsi konsumen. Suatu bahan yang dinilai bergizi, enak dan teksturnya sangat baik tidak akan dimakan apabila memiliki warna yang tidak sedap dipandang atau memberi kesan telah menyimpang dari warna yang seharusnya.

Zat warna merupakan bahan tambahan yang banyak digunakan oleh industri pengolahan makanan untuk mewarnai makanan yang dihasilkannya. Karena secara visual, faktor warna tampil terlebih dahulu didalam menentukan mutu suatu produk makanan sehingga faktor warna menjadi pertimbangan bagi konsumen untuk memilih produk makanan.

Semakin berkembangnya industri pengolahan makanan maka penggunaan bahan pewarna terutama pewarna sintetis semakin meningkat. Hal ini dikarenakan pewarna sintetis harganya lebih murah dan spektrum warnanya lebih luas bila dibandingkan dengan pewarna alami. Namun penggunaan bahan pewarna sintetis pada bahan pangan kurang aman bagi kesehatan karena pewarna sintetis mengandung residu logam sehingga dapat menyebabkan diare atau keracunan. Efek lain dari penyalahgunaan bahan pewarna sintetis yaitu dapat menimbulkan penyakit kronis yang berbahaya seperti kanker, stroke dan penyakit jantung.

Meningkatnya kesadaran konsumen akan keamanan pangan maka penggunaan bahan pewarna sintetis dalam pengolahan makanan mulai dihindari dan mulai beralih pada penggunaan pewarna alami. Namun ketersediaan pewarna alami yang masih terbatas jumlahnya, sehingga perlu dilakukan pencarian sumber pewarna alami baru yang dapat diperoleh dari tanaman khas Indonesia yang berpotensi sebagai sumber pewarna alami.

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang dikenal memiliki berbagai jenis buah-buahan. Salah satu buah-buahan tropis yang diketahui mengandung pigmen antosianin yaitu buah duwet. Selama ini pemanfaatan buah duwet belum optimal dan hanya sebatas dikonsumsi secara langsung sehingga

perlu dilakukan penelitian tentang buah duwet untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan pewarna alami. Menurut Anonim (2001), disebutkan bahwa buah duwet (*Syzygium cumini*) mengandung pigmen antosianin yaitu sianidin ramnoglukosida, petunidin dan malvidin yang merupakan pigmen pembentuk warna merah seperti halnya pada buah anggur.

1.2 Permasalahan

Salah satu cara untuk mendapatkan pigmen antosianin dari kulit buah duwet yaitu dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut. Permasalahan yang ada yaitu belum diketahui jenis pelarut dan kondisi suhu ekstraksi sesuai yang dapat menghasilkan rendemen antosianin maksimal. Untuk mengetahui kestabilan pigmen antosianin terhadap pengaruh pH maka dilakukan pengamatan intensitas warna terhadap pH sebagai informasi tambahan untuk aplikasi pada produk pangan.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut terhadap ekstrak pigmen antosianin yang dihasilkan.
2. Untuk mengetahui pengaruh suhu ekstraksi terhadap ekstrak pigmen antosianin yang dihasilkan
3. Untuk mengetahui adanya kombinasi antara jenis pelarut dan suhu ekstraksi tertentu yang menghasilkan rendemen antosianin tertinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain :

- a. Pengetahuan mengenai cara ekstraksi pigmen antosianin dari kulit buah duwet sehingga dapat digunakan sebagai alternatif bahan pewarna alami.
- b. Meningkatkan nilai ekonomis dari buah duwet



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Duwet

Duwet atau jamblang (*Syzygium cuminii*, dulu : *Eugenia cuminii*) tumbuh baik ditanah subur diketinggian 300 meter diatas permukaan laut. Namun sebetulnya anggota famili *Myrtaceae* (jambu-jambuan) itu mampu tumbuh ditanah gersang. Buah asal Asia Tenggara yang mempunyai ketinggian mencapai 20 meter ini biasanya musim panennya jatuh pada bulan September – November (Anonim, 2000).

Buah duwet (*Syzygium cuminii*) mempunyai banyak nama lokal. Di Jawa Barat menamakan duwet sebagai jamblang. Jawa Tengah menamakan dengan juwet atau duwet, sebutan ini sama dengan sebutan di Jawa Timur. Tetapi di Madura menamakan duwet sebagai dhalas atau dhuwak. Kemudian di Bali, menjuluki duwet sebagai jujutan. Ada juga yang menamakan duwet dengan dalas, plum jawa atau anggur sepet (Anonim, 1987).

Menurut Tampubolon (1995), tumbuhan duwet dapat dikenali dengan daunnya yang tebal bersirip seling dan pada ujungnya sedikit berlekuk. Bunganya berwarna putih atau merah yang mengandung sarimadu sehingga banyak dihinggapi lebah. Buahnya sebesar biji rambutan dan berwarna ungu tua, berbentuk bulat telur, sering melengkung. Daging buahnya berwarna kuning abu-abu atau juga ungu muda, berair dengan rasa kelat sedikit asam manis dan hampir tidak beraroma. Biji persegi panjang, sedikit pahit dan keping biji berwarna hijau muda.

Varietas duwet bermacam-macam, seperti duwet liar atau duwet kerikil, duwet gentong atau duwet biasa, duwet item, duwet daging, duwet buten, duwet gajih atau duwet bawang. Duwet gajih atau duwet bawang ini dimakan bukan sebagai buah tetapi sebagai obat yang berkhasiat menyembuhkan penyakit kencing manis (Anonim, 2000).

Menurut anonim (2004), mulai buah, biji, bahkan daunnya, duwet ternyata multikhasiat yaitu mampu mengusir berbagai penyakit. Tapi untuk menyembuhkan diabetes, yang dimanfaatkan bijinya adalah duwet bawang, jenis

buahnya berwarna putih. Tapi duwet jawa yang ungu merupakan anti ngompol karena buah dan bijinya mengandung zat tanin yang mengerutkan saluran kencing. Jadi, jangan kebanyakan memakan duwet jenis ini supaya tidak demam. Adanya asam galat pada duwet juga bagus untuk meredam diare. Tidak ada buah, kulit kayunya pun dapat direbus dan airnya diminum sehingga diare berhenti. Bahkan phytomelin dan phytosterol dapat menormalkan kerja pankreas dan menyembuhkan luka bagi penderita diabetes. Duwet juga mencegah kelebihan kolesterol yang membuat tenaga berkurang dan cepat lelah. Rebusan biji duwet yang ditumbuk dapat mengembalikan kebugaran.

Buah duwet umumnya memang berwarna ungu sampai kehitaman. Di India dan Philipina, buah duwet biasanya dimakan dengan dicampuri sedikit garam dan dikocok dalam sebuah mangkok tertutup agar buah menjadi lembut dan getahnya yang mengandung tanin (penyebab timbulnya rasa sepet) dapat diserap oleh garam. Duwet dapat pula diolah untuk dijadikan minuman semacam anggur atau sirup, jus dan jelly (Anonim, 2001).

Kandungan kimia yang ada dalam buah duwet meliputi antimellin (suatu glikosida), jambulol atau jambolin, tanin (12% - 19% pada batang, 12% - 13% pada daun dan 8% - 9% pada kulit batang), asam galat, asam palmitat, asam lemak, amilum dan fitosterol. Pada buahnya terkandung kalsium dan zat besi (Tampubolon, 1995). Dalam *The Illustrated Medicinal Plants of Taiwan Volume 4*, menyebutkan bahwa buah, biji dan kulit duwet mengandung asam betulinat, cugianin, friedelin, epifriedelanol, β -sitosterol, asam asetil oleanolat, asam elegat, mirisetin, sianidin ramno-glukosida, petunidin, malvidin dan jambolin (Anonim, 2001). Komposisi kimia yang terkandung dalam buah duwet dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia yang terkandung dalam buah duwet per 100 gram.

Komposisi Kimia	Jumlah
Air (g)	84 – 86
Protein (g)	0,2 – 0,7
Lemak (g)	0,3
Karbohidrat (g)	14 – 16
Serat (g)	0,3 – 0,9
Kadar abu	0,4 – 0,7
Kalsium (mg)	8 – 15
Fosfor (mg)	15
Zat besi (mg)	1,2
Riboflavin (mg)	0,01
Niasin (mg)	0,3
Trase vitamin A & tiamin (mg)	5- 18

Sumber : Anonim, 2001

2.2 Pewarna Makanan

Warna makanan sering menjadi indikasi flavor dan rasa dari makanan tersebut (Downhan and Collin, 2000). Menurut Fardiaz *et al.* (1987), warna makanan besar sekali pengaruhnya terhadap kesan atau persepsi konsumen terhadap bau, rasa, flavor maupun tekstur.

Lebih lanjut dijelaskan oleh Jenie *et al.* (1994), bahwa warna makanan menjadi salah satu faktor yang menentukan apakah makanan tersebut akan diterima atau ditolak oleh konsumen. Oleh karena itu, berbagai usaha diupayakan untuk mempertahankan agar makanan tetap mempunyai warna yang menarik.

Pada pengolahan makanan, bahan pewarna sering ditambahkan untuk memperkuat warna asli makanan yang bersangkutan atau sama sekali merupakan satu-satunya warna penentu dari makanan tersebut. Pewarna tersebut bisa berupa bahan sintetik maupun ekstrak pigmen yang telah dimurnikan. Bahan pewarna ditambahkan kedalam makanan yang bertujuan untuk menarik selera dan keinginan konsumen (Winarno, 1980).

Bahan pewarna tambahan dikelompokkan dalam tiga kategori, yaitu senyawa organik sintetik (seperti warna FD & C), mineral atau warna anorganik (seperti oksida besi) dan pigmen yang diekstrak dari tanaman atau hewan seperti karotenoid atau antosianin (Tranggono, 1990). Menurut Furia (1968), pewarna tambahan sangat diperlukan dalam industri pangan modern. Bahan pewarna sintetik dan pigmen (bahan pewarna alami) digunakan untuk memodifikasi warna suatu produk makanan.

Dewasa ini terdapat kecenderungan penyalahgunaan pemakaian bahan pewarna untuk sembarang bahan pangan sehingga timbul persepsi negatif tentang bahan pewarna sintetik terutama pengaruh negatif terhadap kesehatan (Boyd, 2000). Menurut Astuti (2003), beberapa hasil penelitian mengungkapkan bahwa pewarna sintetik bersifat karsinogenik dan dapat menimbulkan penyakit kronis yang berbahaya seperti kanker, stroke dan penyakit jantung.

Adanya pengaruh negatif yang ditimbulkan dari penggunaan bahan pewarna sintetik maka penggunaan bahan pewarna sintetik sudah mulai dihindari dan beralih pada penggunaan bahan pewarna alami (*natural colorant*). Bahan pewarna alami dapat diperoleh dari bermacam-macam sumber seperti sayuran dan buah-buahan. Beberapa kelompok senyawa yang digunakan sebagai bahan pewarna alami adalah karotenoid, flavonoid (seperti antosianin dan betalain) dan kurkuminoid (Boyd, 2000).

Menurut Fardiaz *et al.* (1987), penggunaan pewarna alami umumnya dianggap lebih aman bila dibandingkan dengan zat warna sintesis dan digolongkan sebagai zat warna yang tidak perlu mendapat sertifikasi. Penggunaan pewarna sintetik selalu dalam kekhawatiran bahwa setiap saat bahan ini bisa dinyatakan tidak layak untuk dipakai sebagai bahan pewarna makanan. Namun penggunaan bahan alamipun tidak lepas dari permasalahan seperti keterbatasan pasokan. Selain itu masalah stabilitas selama pengolahan dan penyimpanan selalu menjadi kendala. Dewasa ini, banyak dilakukan penelitian dalam bidang zat warna yang mempunyai kecenderungan untuk mengisolasi dan menentukan stabilitas atau daya simpan pewarna alami.

Menurut Hendry and Houghton (1996), warna yang ditambahkan pada makanan mempunyai beberapa tujuan antara lain :

1. Mempertegas warna yang telah ada pada makanan, tetapi kurang nampak seperti yang diharapkan oleh konsumen.
2. Meyakinkan keseragaman warna makanan dari proses keproses.
3. Mempertahankan kenampakan asli makanan, karena warna makanan tersebut dipengaruhi oleh proses.
4. Untuk memberi warna pada makanan sebagai identifikasi produk, misal warna kuning pada lemon.

Menurut Fardiaz *et al.* (1987), bila dibandingkan dengan pewarna sintetis, penggunaan pewarna alami mempunyai keterbatasan-keterbatasan antara lain :

1. Seringkali memberi rasa dan flavor khas yang tidak diinginkan.
2. Konsentrasi pigmen rendah.
3. Stabilitas rendah.
4. Keceragaman warna kurang baik.
5. Spektrum warna tidak seluas seperti pada pewarna sintetis.

Sedangkan bahan pewarna buatan mempunyai banyak kelebihan bila dibandingkan dengan bahan pewarna alami yaitu dalam hal keseragaman warna, keanekaragaman warna, kestabilan warna, penyimpanannya lebih mudah dan lebih tahan lama (Winarno *et al.*, 1980).

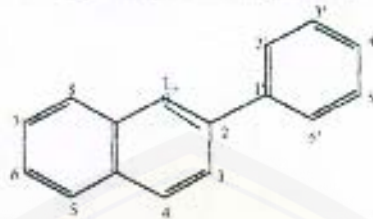
2.3 Antosianin

Antosianin adalah glikosida dari antosianidin yang terdiri dari 2-phenyl benzopyrilium (flavylium) (Maga and Tu, 1994). Menurut Bridle dan Timberlake (1997), antosianin adalah pewarna alami yang berasal dari familia flavonoid. Pigmen ini larut dalam air (*water soluble*) yang bertanggung jawab untuk warna merah, biru, violet dan tersebar sangat luas didunia tumbuhan.

Pigmen antosianin terdiri dari aglikon yaitu antosianidin yang teresterifikasi oleh satu atau lebih molekul gula (Francis, 1985). Molekul gula yang teresterifikasi pada aglikon bisa satu atau lebih dimana gula yang sering kita jumpai adalah glukosa, rannosa, galaktosa, xilosa dan arabinosa. Keragaman antosianidin dapat terjadi karena perbedaan sifat gulanya, jumlah satuan gula dan letak ikatan gula. Tambahan sebuah gula dapat mengganti warna pigmen dari merah menjadi biru, tapi pigmen dengan dua ikatan gula lebih biru daripada pigmen dengan hanya satu ikatan gula (Bennion, 1980).

Seluruh senyawa antosianin merupakan senyawa turunan dari kation flavium. Dua puluh jenis senyawa antosianin telah ditemukan, tetapi hanya enam yang memegang peranan penting dalam bahan pangan yaitu pelargonidin, sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin dan malvidin. Sedangkan senyawa-senyawa bentuk lainnya sangat jarang ditemui (Francis, 1985). Menurut

Tranggono (1990), semua antosianidin merupakan derivat dari struktur dasar kation flavilium. Pada molekul flavilium ini terjadi substitusi dengan molekul OH dan Ome untuk membentuk antosianidin. Adapun rangka struktur antosianidin dan penomoran atom karbonnya dapat dilihat pada Gambar 1.



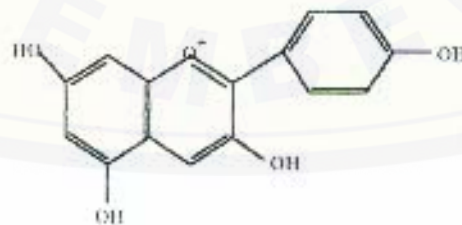
Gambar 1. Rangka struktur kation flavilium dan penomoran atom karbonnya (Winarno dan Laksmi, 1973).

Pada setiap inti flavilium terdapat sejumlah molekul yang berperan sebagai gugus pengganti. Tabel 2 menunjukkan sejumlah gugus pengganti yang paling umum ditemui pada antosianin. Untuk lebih jelasnya struktur antosianidin dapat dilihat pada Gambar 2.

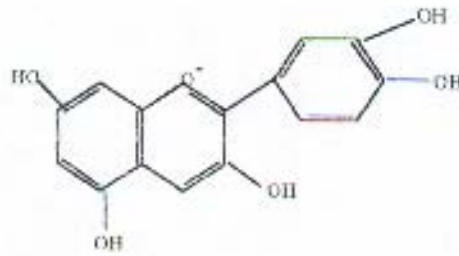
Tabel 2. Gugus pengganti pada struktur kation flavilium untuk membentuk antosianin.

Struktur Antosianidin	Gugus pada Karbon nomor		
	3'	4'	5'
Pelargonidin	H	OH	H
Sianidin	OH	OH	H
Delpinidin	OH	OHI	OH
Peonidin	OMe	OH	H
Petunidin	OMe	OHI	OH
Malvidin	OMe	OH	OMe

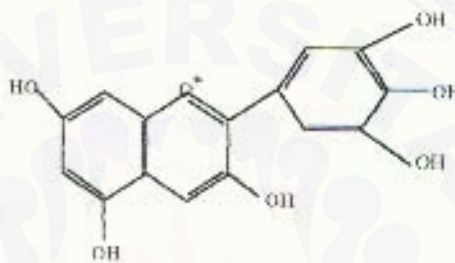
Sumber : Tranggono, 1990.



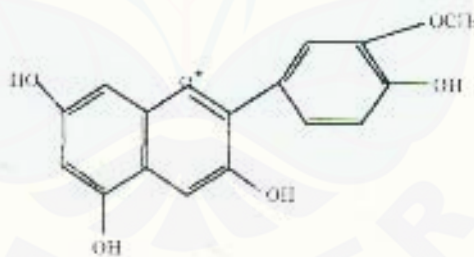
3, 5, 7, 4' kation tetrahidrosiflavium (Peralgonidin)



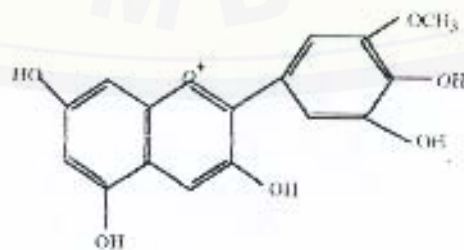
3, 5, 7, 3', 4' kation pentahidroksiflavium (Sianidin)



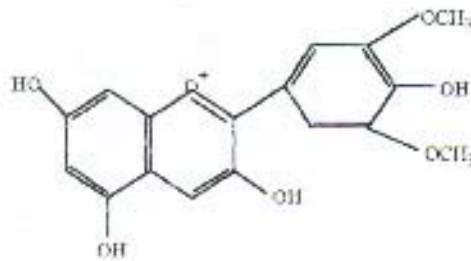
3, 5, 7, 3', 4', 5' kation heksahidroksiflavium (Delpinidin)



3, 5, 7, 4' kation tetrahidroksi-3' metoksiflavium (Peonidin)



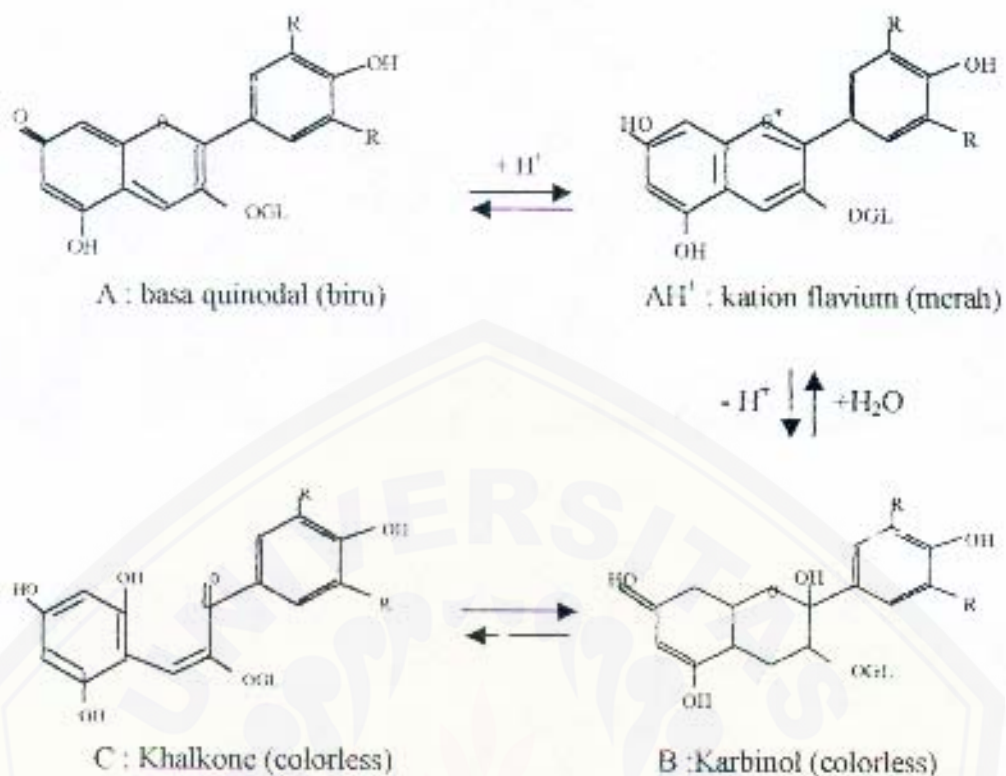
3, 5, 7, 4', 5' kation pentahidroksi-3' metoksiflavium (Petunidin)



3, 5, 7, 4' kation tetrahidroksi-3', 5' dimetoksiflavium (Malvidin)

Gambar 2. Struktur senyawa antosianidin (Francis, 1985)

Antosianin adalah salah satu senyawa yang reaktif. Sifat reaktif ini disebabkan oleh inti kation flavium dari pigmen antosianin yang kekurangan elektron. Reaksi-reaksi yang terjadi pada antosianin umumnya menyebabkan terjadinya kerusakan warna. Kerusakan warna pigmen antosianin disebabkan oleh berubahnya kation flavium yang berwarna merah menjadi basa karbinol yang tidak berwarna dan akhirnya menjadi khalkone yang tidak berwarna (Francis, 1985). Perubahan struktur antosianin menjadi basa karbinol ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Perubahan struktur antosianin menjadi basa karbinol (Fennema, 1996)

Menurut Tranggono (1990), warna antosianin hilang karena reaksi enzimatik. Sistem enzim glikosidase melepaskan aglikon dari gulanya sehingga membuatnya tidak stabil atau fenolase yang memerlukan interaksi oleh hidroksi fenol. Reaksi yang mungkin terjadi yaitu katekol secara enzimatik dioksidasi menjadi o-kuinon yang kemudian mengoksidasi antosianin secara non enzimatik menghasilkan senyawa yang tak berwarna.

Beberapa derivatif dari antosianin diproduksi untuk menghasilkan warna yang lebih stabil. Derivatisasi dilakukan dengan substitusi pada posisi tiga. Dengan penambahan metil atau fenil pada posisi empat pada flavium menghasilkan warna yang sangat stabil. Kaidah umum mengenai ketergantungan warna pada metilasi dan glikosilasi adalah bahwa metilasi meningkatkan kemerahan, sedangkan peningkatan jumlah gugus hidroksil bebas akan meningkatkan kebiruan, akan tetapi ketergantungan warna pada pH dan keberadaan pigmen serta kation logam menyebabkan kaidah ini tidak ada harganya kecuali jika kita menghadapi pigmen murni (Tranggono, 1990).

Terdapat berbagai faktor yang menyebabkan antosianin kehilangan warnanya. Faktor-faktor tersebut diantaranya suhu, pH, ada tidaknya cahaya, enzim, oksigen, gula serta senyawa degradasinya. Setiap faktor memberikan kontribusi terhadap diskolorisasi antosianin dan dipengaruhi oleh jenis antosianinnya. Tetapi secara umum suhu, cahaya, oksigen dan pH memegang peranan utama dalam proses diskolorisasi antosianin (Francis, 1989).

Lebih lanjut dijelaskan oleh Francis (1989), laju degradasi warna antosianin dipercepat dengan adanya asam askorbat, asam amino, fenol dan gula. Senyawa-senyawa tersebut dapat berkondensasi dengan antosianin melalui suatu reaksi yang kompleks. Menurut Fennema (1996), tingkat degradasi sangat berubah-ubah tergantung masing-masing antosianin karena perbedaan strukturnya. Umumnya, peningkatan gugus hidroksil menurunkan stabilitas, sedangkan peningkatan gugus metil meningkatkan stabilitas.

2.4 Penggunaan Pigmen Antosianin

Manusia sejak lama telah mengkonsumsi antosianin bersamaan dengan buah atau sayuran yang mereka makan. Selama ini tidak pernah terjadi suatu penyakit atau keracunan yang disebabkan oleh termakannya pigmen ini. Hal ini menyebabkan antosianin merupakan salah satu sumber pewarna untuk makanan yang dapat menggantikan bahan pewarna sintetik (Brouillard, 1982).

Bahan pewarna antosianin banyak diisolasi dan digunakan dalam beberapa bahan olahan baik makanan maupun minuman. Pigmen antosianin biasanya dijual dalam bentuk serbuk atau larutan pekat (Tranggono, 1990).

Ekstrak antosianin berfungsi baik dilingkungan asam, seperti pada jus buah-buahan dan menyediakan penampakan warna merah atau merah violet. Umumnya antosianin stabil pada pH 2 sehingga aplikasi antosianin sebagai pewarna makanan dan minuman dapat dilakukan pada pH seperti untuk minuman ringan, minuman beralkohol, manisan, saus, pikel, makanan beku atau makanan kaleng serta yoghurt. Ekstrak antosianin dari anggur, cranberry, elderberry digunakan sebagai bahan pewarna dan flavor jus buah-buahan (Francis, 1989).

Selain sebagai zat warna alami antosianin telah diteliti memiliki kegunaan yang bagus untuk kesehatan yaitu antosianin memiliki efek anti tumor, aktifitas antioksidan, anti inflamantori dan dapat memperbaiki sistem fungsi sirkulasi (Boyd, 2000).

2.5 Ekstraksi Antosianin

Yang dimaksud dengan ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran (Bernasconi *et al.*, 1995). Menurut Suyitno (1989), ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu bahan yang merupakan sumber dari bahan tersebut, seperti misalnya ekstraksi cairan buah-buahan (Suyitno, 1989). Maryanto (1997) menjelaskan lebih lanjut bahwa proses ekstraksi dimaksudkan untuk memisahkan suatu komponen yang dikehendaki dari suatu bahan dimana bahan tersebut dapat berupa cairan maupun padatan.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara, tetapi umumnya menggunakan pelarut berdasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam suatu campuran. Pada ekstraksi tersebut terjadi pemisahan pada komponen yang mempunyai kelarutan lebih rendah terhadap pelarut yang digunakan. Komponen yang larut dapat berupa cairan maupun padatan, sedangkan produk utama dalam proses ekstraksi adalah ekstraknya, yaitu campuran pelarut dengan komponen yang larut (Suyitno, 1989).

Menurut Hui (1992), ekstraksi terdiri dari 3 tahapan, diantaranya :

1. Pencampuran bahan baku dengan pelarut sehingga terjadi kontak dari keduanya.
2. Pemisahan bahan baku.
3. Pengambilan bahan terlarut dari pelarut.

Menurut Nur *et al.* (1981), efektifitas dari ekstraksi tidak dapat dilepaskan dari kemampuan bahan pengekstrak untuk melarutkan senyawa yang diekstrak.

Peristiwa pembentukan larutan dikatakan sebagai interaksi antara pelarut dengan zat yang dilarutkan. Bila dihubungkan dengan energi, maka pelarutan merupakan:

- a Peristiwa pemutusan ikatan "*solute-solute*" yang membutuhkan energi.
- b Peristiwa pemutusan ikatan "*solven-solven*" yang membutuhkan energi.
- c Peristiwa pembentukan ikatan "*solute-solven*" yang menghasilkan energi.

Jadi bila energi yang dilepaskan pada c dapat menutup energi yang dibutuhkan pada tahap a dan b, maka zat dapat larut. Untuk mendapatkan senyawa pengekstrak yang baik, diperlukan bahan pengekstrak yang memiliki kepolaran yang sama.

Antosianin dapat diekstrak dengan pelarut agak polar dan jenis pelarut yang digunakan mempunyai kesesuaian kelarutan dengan antosianin, baik dari segi polaritasnya maupun tingkat kelarutannya dalam air atau dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi. Karena kelarutan suatu zat kedalam suatu pelarut sangat ditentukan oleh kecocokan sifat antara zat terlarut dengan pelarut, yaitu *like dissolves like* (Saati *et al.*, 2002).

Ekstraksi antosianin biasanya dilakukan dengan menggunakan metanol, etanol atau air yang telah diasamkan dengan HCl, asam sitrat atau asam asetat (Markham, 1988). Sedangkan menurut Metrivier *et al.* (1980), ekstraksi pigmen antosianin dari bahan nabati umumnya menggunakan larutan pengekstrak HCl dalam metanol. Lebih lanjut dijelaskan oleh Fieser dan Fieser (1957), HCl dalam metanol akan mendenaturasi membran sel tanaman kemudian melarutkan pigmen antosianin keluar dari sel.

Metanol dan etanol merupakan alkohol rantai pendek yang dapat bercampur secara merata dengan air dalam berbagai proporsi (Fieser dan Fieser, 1957). Kedua senyawa tersebut umum digunakan sebagai pengekstrak atau pelarut dari berbagai senyawa lainnya. Polaritas dari kedua senyawa tersebut lebih rendah dibandingkan dengan air, sehingga digunakan sebagai pelarut yang baik bagi senyawa yang relatif kurang polar. Menurut Plane dan Sienko (1961), kelarutan suatu senyawa dalam senyawa lain dipengaruhi oleh tingkat kesamaan dari sifat-sifat elektrik dari molekul pelarut dan senyawa yang dilarutkan, misalnya kesamaan yang tinggi dalam momen dipol pelarut dan senyawa yang dilarutkan akan menghasilkan daya tarik menarik yang kuat antara molekul-molekul pelarut dan senyawa yang dilarutkan.

Menurut Sudarmadji *et al.* (1989), secara fisika, tingkat polaritas dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum suatu bahan pelarut. Konstanta dielektrikum beberapa jenis pelarut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Konstanta dielektrikum beberapa bahan pelarut

Bahan Pelarut	Konst. Dielektrikum	Tingkat Kklarutan dalam Air		
		Tak Larut	Sedikit	Misibel
t-butanol	10.09	-	-	m
2-butanol	15.80	-	s	-
n-butanol	17.80	-	s	-
2-propanol	18.30	-	-	m
1-propanol	20.10	-	s	-
etanol	24.30	-	-	m
metanol	33.60	-	-	m
air	80.40	-	-	m

m : misibel artinya dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi.

Sumber : Sudarmadji *et al.* (1989).

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan atau efisiensi ekstraksi adalah :

1. Luas permukaan singgung zat pelarut dengan bahan yang diekstrak.
2. Lama proses ekstraksi.
3. Jumlah tingkatan ekstraksi yang dilakukan.
4. Suhu ekstraksi.
5. Sifat zat pelarut maupun bahan.

(Maryanto, 1997).

Luas permukaan singgung zat pelarut dengan bahan yang diekstrak berpengaruh terhadap kecepatan atau efisiensi ekstraksi. Agar perpindahan massa yang berlangsung pada bidang kontak antara fase padat (bahan yang diekstrak) dengan fase cair (zat pelarut) besar maka bahan tersebut perlu memiliki permukaan yang seluas mungkin. Hal ini dapat dicapai dengan memperkecil ukuran bahan ekstraksi. Dalam hal ini semakin kecil partikel maka semakin pendek jalan yang harus ditempuh pada perpindahan massa dengan cara difusi, sehingga semakin rendah tahanannya (Bernasconi *et al.*, 1995).

Berdasarkan penelitian Metriva (1995), jika waktu ekstraksi diperpanjang maka jumlah antosianin akan menurun. Hal ini terjadi karena pada waktu ekstraksi berlangsung selama 24 jam pigmen antosianin berada pada bentuk kation flavium yang reaktif. Jika waktu ekstraksi diperpanjang lagi maka akan bereaksi dengan komponen lain yang terdapat dalam bahan ekstrak seperti gula, protein dan asam askorbat sehingga menyebabkan terjadinya degradasi warna. Degradasi warna antosianin terjadi karena kation flavium yang berwarna merah berubah menjadi karbinol yang tidak berwarna.

Bernasconi *et al.* (1995) menjelaskan bahwa dengan satu tahap ekstraksi tunggal, umumnya tidak mungkin seluruh ekstrak akan terlarutkan. Hal ini disebabkan adanya kesetimbangan antara ekstrak yang terlarutkan dan ekstrak yang masih tertinggal dalam bahan ekstraksi. Pelarutan lebih lanjut hanya mungkin dengan cara memisahkan larutan ekstrak dari bahan ekstraksi dan mencampurkan bahan ekstrak tersebut dengan pelarut yang baru. Proses ini harus dilakukan berulang-ulang, hingga derajat ekstraksi yang diharapkan (konsentrasi ekstrak dalam residu ekstraksi yang diijinkan) tercapai.

Menurut Geankoplis (1983), semakin tinggi suhu ekstraksi maka kecepatan perpindahan massa dari solut ke solvent akan semakin tinggi, karena suhu mempengaruhi nilai koefisien transfer massa dari suatu komponen. Semakin tinggi suhu, semakin kecil viskositas fasa cair dan semakin besar kelarutan ekstrak dalam pelarut. Selain itu kecenderungan pembentukan emulsi berkurang pada suhu yang tinggi. Lebih lanjut dijelaskan oleh Winarno (1980) bahwa kecepatan reaksi akan meningkat dua kali setiap peningkatan suhu 10°C.

Guenther (1987) menjelaskan bahwa pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan. Dalam pemilihan pelarut, pelarut harus mampu melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar serta titik didih antara zat yang diekstrak dengan pelarutnya tidak boleh terlalu dekat. Lebih lanjut dijelaskan oleh Shriner *et al.* (1980), pelarut polar hanya akan melarutkan solut polar dan pelarut non polar hanya akan melarutkan solut non polar pula atau *like dissolves like*.

Menurut Charley (1970), antosianin adalah senyawa yang bersifat amfoter yaitu memiliki kemampuan untuk bereaksi baik dengan asam atau basa. Dalam media asam, antosianin berwarna merah seperti halnya saat dalam vakuola sel dan berubah menjadi ungu atau biru jika berada pada media basa. Perubahan warna terjadi karena perubahan kondisi lingkungan ini tergantung dari gugus yang terikat pada struktur dasar dan posisi ikatannya.

2.6 Penelitian Terdahulu

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Swadesi (2003), ekstraksi pigmen antosianin buah duwet dilakukan dengan menggunakan pelarut air, etanol, isopropanol, air-etanol (1:1), air-isopropanol (1:1), etanol-isopropanol (1:1) dan air-etanol-isopropanol (1:1:1) pada suhu ruang (27°C) dan suhu dingin (10°C). Hasil penelitian menunjukkan bahwa total rendemen terendah diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut isopropanol sebesar 24.188 % pada suhu dingin dan total rendemen tertinggi dihasilkan pada ekstraksi menggunakan kombinasi pelarut air-etanol sebesar 69.383 % pada suhu ruang. Ekstraksi menggunakan pelarut isopropanol pada suhu dingin menghasilkan kandungan antosianin dan rendemen antosianin terendah sebesar 8.349 mg/L dan 0.002 % sedangkan kandungan antosianin dan rendemen antosianin tertinggi dihasilkan pada ekstraksi menggunakan pelarut air pada suhu ruang sebesar 1500.116 mg/L dan 0.417 %. Adapun pengaruh pH terhadap intensitas warna pigmen antosianin menunjukkan bahwa semakin besar nilai pH maka nilai absorbansi semakin kecil sehingga warna merah antosianin semakin memudar dan semakin kecil nilai pH maka nilai absorbansi semakin besar sehingga warna merah antosianin semakin kuat.



III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah duwet. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, etanol, isopropanol, KCl, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$ (*Sodium acetate*) dan HCl pekat.

Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi blender (National), freezer (Telfcold CF 200), pengering beku (Snijders scientific), timbangan mortal (Ohaus), Stirer (Gerhardt), sentrifuse, penyaring vakum (Vacumbrand ME 2), rotary evaporator (Buchi rotavapor), spatula, beaker glass, gelas ukur, kertas saring, botol film, labu ukur, tabung reaksi, pH meter (JenWay), kuvet, spektrofotometer (Secomam) dan stopwatch (Made in China).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan dengan dua tahap yaitu :

Tahap 1 : Penelitian Pendahuluan pada bulan Februari 2004.

Tahap 2 : Penelitian Utama pada bulan Maret 2004 — Agustus 2004.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor yaitu jenis pelarut dan kondisi suhu ekstraksi.

Faktor A = Jenis pelarut

A_1 = pelarut air

A_2 = pelarut etanol

A_3 = pelarut isopropanol

A_4 = pelarut air : etanol (1 : 1)

A_5 = pelarut air : isopropanol (1 : 1)

A_6 = pelarut etanol : isopropanol (1 : 1)

A_7 = pelarut air : etanol : isopropanol (1 : 1 : 1)

Faktor B = Suhu ekstraksi

B_1 = kondisi suhu dingin (5°C)

B_2 = kondisi suhu ruang (27°C)

Kombinasi perlakuan :

A_1B_1 A_2B_1 A_3B_1 A_4B_1 A_5B_1 A_6B_1 A_7B_1

A_1B_2 A_2B_2 A_3B_2 A_4B_2 A_5B_2 A_6B_2 A_7B_2

Data hasil penelitian dianalisis keragamannya dengan model persamaan :

$$Y_{ijk} = \mu + K_k + A_i + \delta_{ik} + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Dimana :

Y_{ijk} = Nilai pengamatan atau respon pada kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B.

μ = Nilai rata-rata sebenarnya

A_i = Pengaruh aditif dari kelompok ke-A

B_j = Pengaruh aditif dari kelompok ke-B

K_k = Pengaruh aditif dari kelompok ke-KH

δ_{ik} = Pengaruh galat yang muncul pada taraf ke-i dari faktor A dalam kelompok ke-k, sering disebut galat petak utama (galat A)

$(AB)_{ij}$ = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B

E_{ijk} = Pengaruh galat kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-l faktor A dan taraf ke-j faktor B sering disebut sebagai galat anak petak (galat B) (Gaspersz, 1991).

Uji lebih lanjut dilakukan dengan menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

3.3.2 Ekstraksi Pigmen Antosianin

Sebelum dilakukan tahap ekstraksi pigmen antosianin, dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu yaitu buah duwet segar diambil kulitnya (kadar air 85.08 %) kemudian diblender untuk memperluas permukaan bahan dan dikeringkan pada pengering beku (freeze drying). Sampel kering (kadar air 10.47 %) sebanyak 1,5 gram diekstraksi dengan menggunakan pelarut (air, etanol, isopropanol, air-etanol, air-isopropanol, etanolisopropanol, air-etanol-isopropanol) sebanyak 100

ml selama 1 jam dan diulang 3 kali. Ekstraksi dilakukan pada kondisi suhu ruang (27°C) dan suhu dingin (5°C). Hasil ekstraksi kemudian disentrifuse selama 15 menit dan disaring dengan menggunakan penyaring vakum. Residu dari hasil penyaringan kemudian diekstraksi lagi dan filtrat digabung untuk selanjutnya dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C . Setelah sampel menjadi pekat kemudian dibekukan dalam *freezer* terlebih dahulu kemudian dikeringkan dengan pengering beku (*freeze drying*). Diagram alir ekstraksi pigmen antosianin dari kulit buah duwet disajikan pada Gambar 4.

3.4 Parameter Pengamatan

Adapun parameter yang diamati terhadap hasil ekstraksi yang diperoleh meliputi :

- a Total rendemen
- b Konsentrasi antosianin
- c Rendemen antosianin
- d Sebagai informasi tambahan untuk aplikasi pada produk pangan maka dilakukan pengamatan pengaruh pH terhadap intensitas warna

3.5 Prosedur Analisa

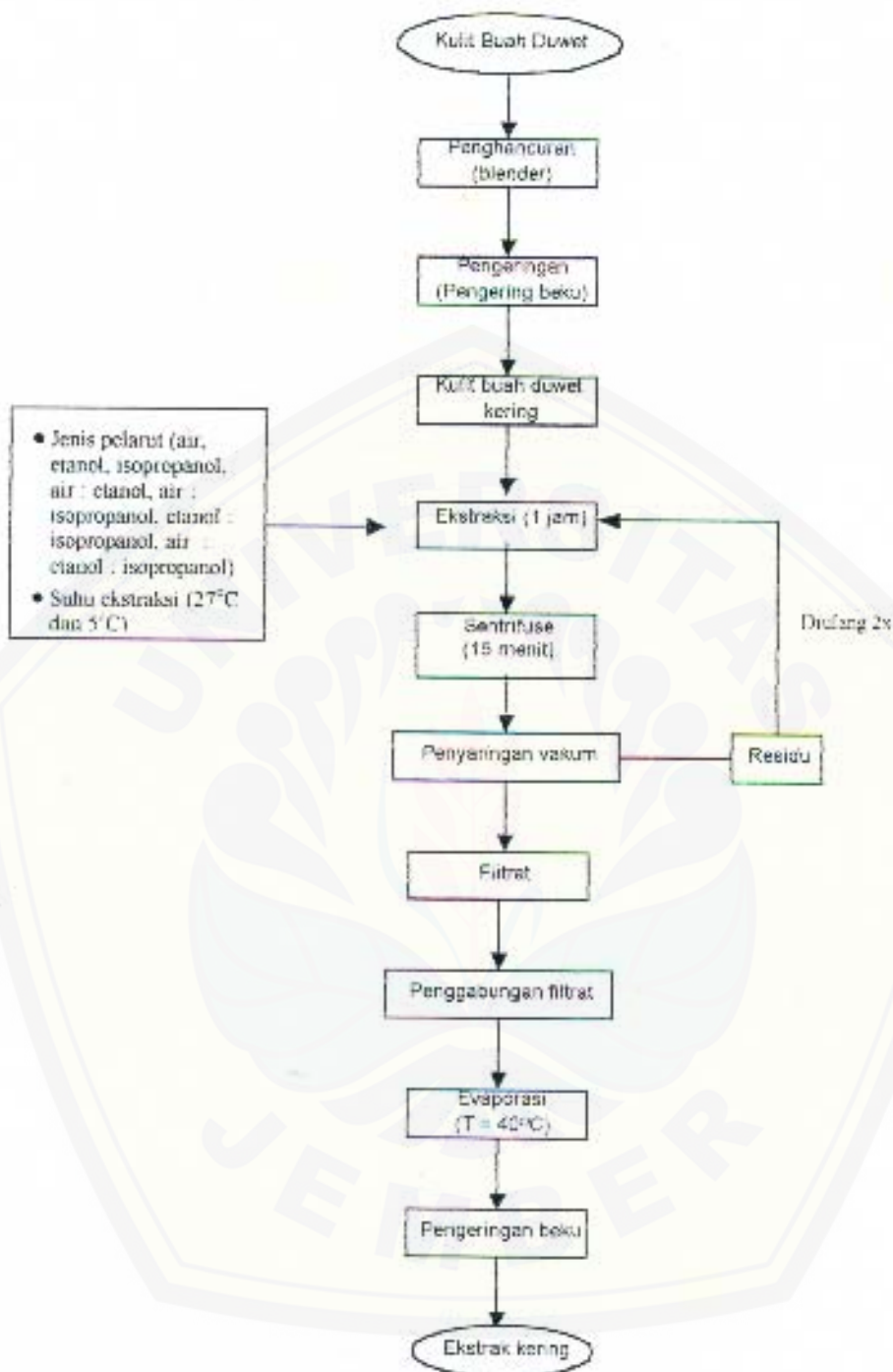
3.5.1 Total Rendemen

Rendemen total dihitung dalam persen sebagai berat ekstrak kering pigmen antosianin dibagi berat awal kulit buah duwet kering.

$$\text{Total rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kering pigmen antosianin}}{\text{Berat awal kulit buah duwet kering}} \times 100 \%$$

3.5.2 Konsentrasi Antosianin

Metode pengukuran konsentrasi antosianin didasarkan pada metode pH differential yang dikembangkan oleh Prior *et al.* (1998). Adapun prosedur analisisnya yaitu sampel kering dilarutkan dalam masing-masing pelarut dan ditera sampai 25 ml. Siapkan 2 tabung reaksi, tabung reaksi pertama dimasukkan larutan buffer pH 1 sebanyak 4.95 ml dan tabung reaksi kedua dimasukkan larutan buffer



Gambar 4. Diagram alir ekstraksi antosianin dari kulit buah duwet

pH 4.5 sebanyak 4.95 ml pula. Masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan larutan sampel sebanyak 0.05 ml dan didiamkan selama 15 menit. Perlakuan tersebut diulang sebanyak 3 kali. Pengukuran absorbansi dari kedua pH tersebut diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm. Nilai absorbansi dari masing-masing pH diukur dengan rumus :

$$A = [(A_{520} - A_{700})_{pH 1} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4.5}]$$

Total antosianin dihitung sebagai sianidin-3-glikosida menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar 29600 L cm^{-1} dan berat molekul (BM) sebesar 448.8.

$$\text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} = (A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000) / (C \times l)$$

Dimana :

A = absorbansi

BM = berat molekul (448.8)

FP = faktor pengenceran

C = ekstingsi molar (29600 L cm^{-1})

3.5.3 Rendemen Antosianin

Rendemen antosianin dihitung dalam persen sebagai konsentrasi antosianin dibagi dengan konsentrasi awal kulit buah duwet kering.

$$\text{Rendemen antosianin} = \frac{\text{Konsentrasi antosianin (mg/L)}}{\text{Konsentrasi awal kulit buah duwet kering (mg/L)}} \times 100\%$$

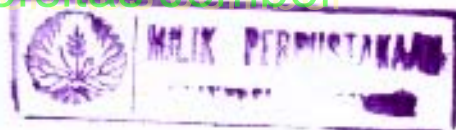
3.5.4 Pengaruh pH terhadap Intensitas Warna

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 520 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum pigmen antosianin buah duwet yang diukur menggunakan *computerized spektrofotometer* (Hitachi, Jepang) pada panjang gelombang 400 — 600 nm.

Ekstrak antosianin yang dianalisis merupakan pigmen antosianin yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan kombinasi pelarut air-etanol. Hal ini didasarkan pada hasil penelitian bahwa dengan kombinasi pelarut air-etanol dihasilkan konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin tertinggi. Sampel sebanyak 0.015 ml dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi yang telah diisi dengan larutan buffer pH (0.25; 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 1.75; 2.00; 2.25;



2.50; 2.75; 3.00; 3.25; 3.50; 3.75; 4.00; 4.25; 4.50; 4.75; 5.00) sebanyak 5 ml dan ditiadakan selama 15 menit. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Nilai absorbansi yang diperoleh diplotkan dengan pH membentuk suatu grafik dimana nilai absorbansi sebagai ordinat dan pH sebagai absisnya.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Jenis pelarut memberikan pengaruh sangat nyata terhadap total rendemen, konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin yang dihasilkan.
2. Suhu ekstraksi memberikan pengaruh nyata terhadap total rendemen dan berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin yang dihasilkan.
3. Interaksi antara jenis pelarut dan suhu ekstraksi tidak memberikan pengaruh nyata pada total rendemen yang dihasilkan tetapi berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin. Ekstraksi menggunakan kombinasi pelarut air-etanol pada suhu ruang merupakan perlakuan terbaik karena menghasilkan konsentrasi antosianin dan rendemen antosianin tertinggi yaitu berturut-turut sebesar 10007,027 mg/L dan 2,778 %.
4. Intensitas warna pigmen antosianin dari kulit buah duwet yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi dipengaruhi oleh nilai pH. Semakin besar nilai pH maka nilai absorbansi semakin kecil sehingga intensitas warnanya semakin memudar dan sebaliknya semakin kecil nilai pH maka nilai absorbansi semakin besar sehingga intensitas warnanya semakin kuat.

5.2 Saran

Proses ekstraksi yang telah dilakukan ini merupakan proses ekstraksi antosianin secara kasar karena masih banyak mengandung senyawa-senyawa lain selain antosianin maka perlu dilakukan proses pemurnian hasil ekstraksi menggunakan teknik kolom kromatografi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1987. Sekilas Buah Juwet dan Khasiatnya. Trubus. No 208.
- _____. 2000. Plum jawa Multiguna. Trubus. No 365.
- _____. 2001. Kisah Si Empat Sekawan. Trubus. No 377.
- _____. 2002. Tanaman Berkhasiat. Intisari Mediatama, Gramedia, Jakarta.
- _____. 2004. Duwet Libas Berbagai Penyakit. (<http://www.minggupagi.com/article.php>)
- Astuti, Y. 2003. Aplikasi Bubuk Pewarna Alami Kayu Secang (*Caesalpinia cappan Linn*) pada Makanan Basah dan Permen. Seminar Nasional PATPI, Yogyakarta.
- Bennion, M. 1980. The Science of Food. Wiley & Sons Co., New York.
- Bernasconi, G. Gerster, H. Hauser, H. Stauble, H. Dan Schneifer, E. 1995. Teknologi Kimia. PT. Pradnya Paramita, Bandung.
- Budiarto, H. 1991. Stabilitas Antosianin Manggis (*Garcinia mangostana*) dalam Minuman Berkarbonat. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. FATETA IPB, Bogor.
- Boyd, W. 2000. Natural Color as Funtional Ingredients in Healthy food. Cereal Foods World, 45 (5), 221-222.
- Brouillard, R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanins. Didalam Anthocyanin as Food Colours. Markakis, P. (Ed). Academic Press, New York.
- Bridle, P and C.F. Timberlake. 1997. Anthocyanins as Natural food Colours- Selected Aspects. Food Chemistry, 58 (1-2), 103-109.
- Demam, J. M. 1997. Kimia Makanan. Penerbit ITB, Bandung.
- Downhan, A. And Paul, C. 2000. Colouring Our Foods in The Last Next Millenium. Journal of Food Science and Technology, Volume 35 , 5 – 22.
- Fardiaz, S., R. Dewanti, dan S. Budiyanto, 1987. Risalah Seminar Bahan Tambahan Kimiawi (Food Additives). Himpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia, Gabungan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Fennema, O. R. 1996. Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc., New York.

- Fieser, I.F dan M. Fieser. 1957. Introduction to Organic Chemistry. Maruzen Company Ltd.,Tokyo.
- Francis. 1985. Pigmen and Other Colorants. Didalam Food Chemistry. Fennema, O.R. (Ed). Marcel Dekker Inc.,New York.
- _____. 1989. Food Colorants : Anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28, 273-314.
- Furia, T.E. 1968. Hand Book of Food Additives. The Chemical Rubber Co., New York.
- Fulcki, T dan F. J. Francis. 1968. Quantitative Methods for anthocyanins. Journal Of Food Science, Volume 33, 72-83.
- Gaspersz. 1991. Metode Perancangan Percobaan untuk Ilmu-ilmu Pertanian, Ilmu Teknik, Biologi. Armico, Bandung.
- Guenther, E. 1987. Minyak Atsiri I. Terjemahan. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Hendry, G.A.F and J.D. Houghton. 1996. Natural Food Colorants. 2nd Edition. Blackie Academic and Professional, London.
- Hui, Y.H. 1982. Encyclopedia of Food Science and Technology. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Jenic, B.S.L., Helianti, dan S. Fardiaz. 1994. Pemanfaatan Ampas Tahu, Onggok dan Dedak untuk Produksi Pigmen Merah oleh *Monascus purpureus*. Buletin Teknologi dan Industri Pangan, Vol (5), 22-29.
- Maga, J.A and A.T. Tu. 1994. Food Additive Toxicology. Marcel Dekker Inc., New York.
- Markham, K.R. 1998. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. IPB, Bandung.
- Maryanto. 1997. Diktat Kuliah : Satuan Operasi. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember, Jember.
- Metrivier, R.D., F.J. Francis dan E.M. Clydesdale. 1980. Solvent Extraction of Anthocyanins from Wine Pomace. J. Food Science. 45 ,1099 – 1100.
- Metriwa, M. 1995. Mempelajari Ekstraksi antosianin dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*) Menggunakan Pelarut Metanol yang Diasamkan. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. FATETA IPB, Bogor.
- Plane, R. Dan Sienko, M. 1961. Chemistry. Kogakusha Co. Ltd., Tokyo.

- Nur, M.A, M. Sjachri dan K. Iskandarsyah. 1981. Kimia Dasar II. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Saati, E.a., T. Susanto dan Yuniarta. 2002. Ekstraksi dan Identifikasi Pigmen Antosianin Bunga Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn). Seminar Nasional PATPI, Malang.
- Sakidja. 1989. Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen Antosianin dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) variasi Binjai. Dalam Lydia S. Wijaya, Simon B. Widjanarko, Tri Susanto, 2001. Biosain Vol. 1 No 2, hal. 50
- Shriner, Fuson, Curtin and Morrilli. 1980. The Systematic Identification of Strawberry Compounds. 6th Edition. John Wiley and Sons Inc., Singapore.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Suyitno. 1989. Petunjuk Laboratorium Rekayasa Pangan Proyek Pengembangan. Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII). PAU Pangan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Tampubolon, O.T. 1995. Tumbuhan Obat. Bhatara, Jakarta.
- Tranggono. 1990. Bahan Pangan Tambahan. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz, D. Fardiaz. 1980. Pengantar Teknologi Pangan. Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G dan S.D Laksmi. 1973. Pigmen dalam Pengolahan Pangan. Departemen Teknologi Hasil Pertanian. FATEMETA IPB. Bogor.
- Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Lampiran I. Data Penelitian dan Hasil Sidik Ragam Total Rendemen (%)

Perlakuan	T	Kelompok		Jumlah	Rata-rata
		I	II		
Air	R	69.821	69.821	139.642	69.821
Air	D	68.736	70.007	138.743	69.372
Etanol	R	58.101	62.159	120.260	60.130
Etanol	D	59.484	41.253	100.737	50.369
Isopropanol	R	47.559	46.803	94.362	47.181
Isopropanol	D	40.965	39.535	80.500	40.250
Air-Etanol	R	70.411	70.948	141.359	70.680
Air-Etanol	D	69.043	69.064	138.107	69.054
Air-Isopropanol	R	72.095	70.986	143.081	71.540
Air-Isopropanol	D	73.469	69.055	142.524	71.262
Etanol-Isopropanol	R	58.620	58.788	117.408	58.704
Etanol-Isopropanol	D	54.059	54.839	108.898	54.449
Air-Etanol-Isopropanol	R	70.981	69.244	140.225	70.112
Air-Etanol-Isopropanol	D	67.941	67.364	135.305	67.653
Jumlah		881.285	859.866	1741.151	
Rata-rata		62.949	61.419		62.184

Tabel dua arah Faktor A & B

Pelarut	Suhu		Jumlah	Rata-rata
	Ruang	Dingin		
A	139.642	138.743	278.385	69.596
E	120.260	100.737	220.997	55.249
I	94.362	80.500	174.862	43.716
AE	141.359	138.107	279.466	69.867
AI	143.081	142.524	285.605	71.401
EI	117.408	108.898	226.306	56.577
AEI	140.225	135.305	275.530	68.883
Jumlah	896.337	844.814	1741.151	
Rata-rata	64.024	60.344		62.184

Keterangan :

- A = Air
 E = Etanol
 I = Isopropanol
 AE = Air-Etanol
 AI = Air-Isopropanol
 EI = Etanol-Isopropanol
 AEI = Air-Etanol-Isopropanol

Hasil Analisis Sidik Ragam Total Rendemen (%)

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung		F-tabel	
						5%	1%
Blok	1	16.38477	16.38477	1.23376	ns	4.667	9.074
Perlakuan	13	2828.04641	217.54203	16.38080	**	2.577	3.905
Faktor A	6	2657.64065	442.94011	33.35316	**	2.915	4.620
Faktor B	1	94.80784	94.80784	7.13898	*	4.667	9.074
Interaksi	6	75.59792	12.59965	0.94875	ns	2.915	4.620
Galat	13	172.64394	13.28030				
Total	27	3017.07511					

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Berbeda tidak nyata
 kk 5.86%

Uji Beda Faktor A (Jenis Pelarut)

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
AI	71.401	1	a
AE	69.867	2	a
A	69.596	3	a
AEI	68.883	4	a
EI	56.577	5	b
E	55.249	6	b
I	43.716	7	c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Uji Beda Faktor B (Suhu Ekstraksi)

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
Ruang	64.024	1	a
Dingin	60.344	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Lampiran 2. Data Penelitian dan Hasil Sidik Ragam Konsentrasi Antosianin (mg/L)

Perlakuan	T	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
		I	II	III		
A	R	8487.779	8667.450	8810.733	25965.961	8655.320
A	D	8014.719	8042.011	7759.995	23816.724	7938.908
E	R	4994.416	5121.778	5203.655	15319.849	5106.616
E	D	4380.349	4544.100	4594.136	13518.585	4506.195
I	R	172.849	136.460	204.689	513.998	171.332
I	D	50.035	45.486	50.035	145.556	48.519
AE	R	10034.319	9806.886	10179.876	30021.081	10007.027
AE	D	9474.835	9388.411	9402.057	28265.303	9421.768
AI	R	9206.465	9147.332	9417.978	27771.775	9257.258
AI	D	8082.949	8615.141	8487.779	25185.869	8395.289
EI	R	3159.037	3124.922	3379.646	9663.605	3221.201
EI	D	1946.822	1955.919	2037.795	5940.535	1980.178
AEI	R	8774.343	8801.635	8787.989	26363.967	8787.989
AEI	D	7782.738	7964.684	7650.827	23398.249	7799.416
Jumlah		84561.653	85362.214	85967.188	255891.054	
Rata-rata		6040.118	6097.301	6140.513		6092.644

Tabel dua arah Faktor A & B

Pelarut	Suhu		Jumlah	Rata-rata
	Ruang	Dingin		
A	25965.961	23816.724	49782.685	8297.114
E	15319.849	13518.585	28838.433	4806.406
I	513.998	145.556	659.554	109.926
AE	30021.081	28265.303	58286.384	9714.397
AI	27771.775	25185.869	52957.644	8826.274
EI	9663.605	5940.535	15604.140	2600.690
AEI	26363.967	23398.249	49762.216	8293.703
Jumlah	135620.235	120270.819	255891.054	
Rata-rata	6458.106	5727.182		6092.644

Keterangan : A = Air

E = Etanol

I = Isopropanol

AE = Air-Etanol

AI = Air-Isopropanol

EI = Etanol-Isopropanol

AEI = Air-Etanol-Isopropanol

Hasil Sidik Ragam Konsentrasi Antosianin (mg/L)

Sumber Keragaman	df	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Blok	2	71009.9497	35504.9748	2.08582 ns	3.369	5.526
Perlakuan	13	486349153.5306	37411473.3485	2197.82513 **	2.119	2.904
Faktor A	6	479611498.7000	79935249.7833	4695.98456 **	2.474	3.591
Faktor B	1	5609632.6557	5609632.6557	329.55109 **	4.225	7.721
Interaksi	6	1128022.1749	188003.6958	11.04472 **	2.474	3.591
Galat	26	442573.1109	17022.0427			
Total	41	486862736.5912				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Berbeda tidak nyata
 kk 2.14%

Uji Beda Faktor A (Jenis Pelarut)

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
AE	9714,397	1	a
AJ	8826,274	2	b
A	8297,493	3	c
AEI	8293,703	4	c
E	4806,406	5	d
EI	2600,690	6	e
I	109,926	7	f

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Uji Beda Faktor B (Suhu Ekstraksi)

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
Ruang	6458,215	1	a
Dingin	5727,182	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Interaksi Perlakuan Kedua Faktor

Perlakuan	T	Rata-rata	Rank	Notasi
AE	R	10007,027	1	a
AE	D	9421,768	2	b
AI	R	9257,258	3	b
AEI	R	8787,989	4	c
A	R	8656,078	5	c
AI	D	8395,290	6	d
A	D	7938,908	7	e
AEI	D	7799,416	8	e
E	R	5106,616	9	f
E	D	4506,195	10	g
EI	R	3221,202	11	h
EI	D	1980,178	12	i
I	R	171,333	13	j
I	D	48,519	14	j

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Lampiran 3. Data Penelitian dan Hasil Sidik Ragam Rendemen Antosianin (%)

Perlakuan	T	Kelompok			Jumlah	Rata-rata
		I	II	III		
A	R	2.318	2.368	2.408	7.094	2.365
A	D	2.223	2.231	2.153	6.607	2.202
E	R	1.384	1.419	1.442	4.245	1.415
E	D	1.210	1.255	1.269	3.734	1.245
I	R	0.048	0.038	0.057	0.143	0.048
I	D	0.014	0.013	0.014	0.041	0.013
AE	R	2.785	2.722	2.826	8.333	2.778
AE	D	2.621	2.597	2.601	7.819	2.606
AI	R	2.557	2.540	2.615	7.712	2.571
AI	D	2.235	2.382	2.347	6.963	2.321
EI	R	0.877	0.868	0.939	2.683	0.894
EI	D	0.539	0.541	0.564	1.644	0.548
AEI	R	2.437	2.445	2.441	7.323	2.440
AEI	D	2.160	2.211	2.124	6.495	2.165
Jumlah		23.407	23.629	23.798	70.834	
Rata-rata		1.672	1.688	1.700		1.686

Tabel dua arah Faktor A & B

Pelarut	Suhu		Jumlah	Rata-rata
	Ruang	Dingin		
A	7.094	6.607	13.700	2.283
E	4.245	3.734	7.979	1.330
I	0.143	0.041	0.184	0.031
AE	8.333	7.819	16.152	2.692
AI	7.712	6.963	14.675	2.446
EI	2.683	1.644	4.327	0.721
AEI	7.323	6.495	13.818	2.303
Jumlah	37.532	33.302	70.834	
Rata-rata	1.787	1.586		1.687

Keterangan :
 A = Air
 E = Etanol
 I = Isopropanol
 AE = Air-Etanol
 AI = Air-Isopropanol
 EI = Etano!-Isopropanol
 AEI = Air-Etanol-Isopropanol

Hasil Sidik Ragam Rendemen Antosianin(%)

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Blok	2	0.00548	0.00274	2.09441 ns	3.369	5.526
Perlakuan	13	37.26491	2.86653	2191.06486 **	2.119	2.904
Faktor A	6	36.74847	6.12475	4681.51568 **	2.474	3.591
Faktor B	1	0.42592	0.42592	325.55715 **	4.225	7.721
Interaksi	6	0.09052	0.01509	11.53199 **	2.474	3.591
Galat	26	0.03402	0.00131			
Total	41	37.30441				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Berbeda tidak nyata
 kk 2.14%

Uji Beda Nyata Terkecil Faktor A (Jenis Pelarut)

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
AE	2.692	1	a
AI	2.446	2	b
AEI	2.303	3	c
A	2.283	4	c d
E	1.330	5	d
EI	0.721	6	e
I	0.031	7	f

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Uji Beda Nyata Terkecil Faktor B(Suhu Ekstraksi)

Perlakuan	Rata-rata	Rank	Notasi
Ruang	1.787	1	a
Dingin	1.586	2	b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Interaksi Perlakuan Kedua Faktor

Perlakuan	T	Rata-rata	Rank	Notasi
AE	R	2,778	1	a
AE	D	2,606	2	b
AI	R	2,571	3	b
AEI	R	2,440	4	c
A	R	2,365	5	d
AI	D	2,321	6	d
A	D	2,202	7	e
AEI	D	2,165	8	e
E	R	1,415	9	f
E	D	1,245	10	g
EI	R	0,894	11	h
EI	D	0,548	12	i
I	R	0,048	13	j
I	D	0,013	14	j

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada Uji BNT taraf 5%.

Lampiran 4. Pengaruh pH terhadap Intensitas Warna

pH	ABSORBANSI			RATA-RATA
	1	2	3	
0,25	0,665	0,620	0,661	0,649
0,50	0,605	0,632	0,622	0,620
0,75	0,627	0,612	0,596	0,612
1,00	0,573	0,564	0,563	0,567
1,25	0,467	0,478	0,439	0,461
1,50	0,430	0,428	0,452	0,437
1,75	0,398	0,343	0,363	0,368
2,00	0,270	0,236	0,287	0,264
2,25	0,152	0,165	0,192	0,170
2,50	0,109	0,131	0,146	0,129
2,75	0,117	0,107	0,110	0,111
3,00	0,084	0,086	0,070	0,080
3,25	0,074	0,082	0,058	0,071
3,50	0,064	0,070	0,076	0,070
3,75	0,042	0,057	0,061	0,053
4,00	0,048	0,061	0,055	0,055
4,25	0,049	0,048	0,049	0,049
4,50	0,043	0,051	0,048	0,047
4,75	0,044	0,043	0,044	0,044
5,00	0,040	0,040	0,040	0,040