

Optimasi Proses Isolasi Antosianin Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) dengan *Respon Surface Methodology (RSM)*

Optimization of the Anthocyanin Isolation Process of Roselle Calyces (*Hibiscus sabdariffa L.*) with *Respon Surface Methodology (RSM)*

Prima Sukmana Resma^{1a}, Septiawan Tri Sutrisno², Mardiah¹

¹Magister Teknologi Pangan Sekolah Pascasarjana Universitas Djuanda Bogor, Jl. Tol Ciawi No.1, Bogor 16720.

²Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Ilmu Pangan Halal Universitas Djuanda Bogor, Jl. Tol Ciawi No.1, Bogor 16720

^aKorespondensi: Prima Sukmana Resma, Email: primaresma@gmail.com

Diterima: 24 - 07 - 2023 , Disetujui: 31 - 08 - 2023

ABSTRACT

Roselle petals extract is a source of anthocyanins that can be used as antioxidants in food, beverage, and cosmetic products. Rosella petals can be easily extracted using water. However, to maintain anthocyanins in optimal amounts, the extraction process must consider factors that influence it, such as light, temperature, metals, and oxygen. The selection of the rosella flower extraction method is based on the aim of obtaining high antioxidant content. The use of pectinase and cellulase can increase anthocyanin levels. This study aims to obtain the optimal concentration of citric acid and sodium metabisulphite in the extraction process of roselle petals using the enzyme pectinase: cellulase: papain (2:2:1) as much as 1000 ppm at 50°C for 10 minutes using the Response Surface Methodology (RSM) which includes the response to anthocyanin levels, degree of acidity (pH) and total dissolved solids. Optimization results show that the use of 1% citric acid and 30% sodium metabisulfite can produce anthocyanin levels up to 1541.650 mg/liter.

Keywords: anthocyanin, antioxidant, enzyme, response surface methodology (RSM), rosella.

ABSTRAK

Ekstrak kelopak bunga rosela merupakan sumber bahan antosianin yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan pada industri produk makanan, minuman dan juga kosmetika. Kelopak bunga rosela dapat dengan mudah dilakukan ekstraksi dengan menggunakan air. Namun demikian, untuk tetap bisa menjaga antosianin dalam jumlah yang optimal proses ekstraksi juga harus mempertimbangkan faktor yang mempengaruhinya seperti cahaya, suhu, logam, dan oksigen. Pemilihan metode ekstraksi bunga rosela didasarkan pada tujuan untuk memperoleh kandungan antioksidan yang tinggi. Penggunaan pektinase dan selulase dapat meningkatkan kadar antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi optimal penggunaan asam sitrat dan natrium metabisulfit pada proses ekstraksi kelopak bunga rosela dengan menggunakan enzim pektinase : selulase : papain (2:2:1) sebanyak 1000 ppm pada suhu 50°C selama 10 menit dengan menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)* yang meliputi respon terhadap kadar antosianin, derajat keasaman (pH) dan total padatan terlarut. Hasil optimasi didapatkan bahwa penggunaan 1% asam sitrat dan 30% natrium metabisulfite dapat menghasilkan kadar antosianin hingga 1541,650 mg/ liter.

Kata kunci: antosianin, antioksidan, enzim, response surface methodology (RSM), rosella.

PENDAHULUAN

Bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) mengandung zat bioaktif antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan alami sehingga mampu mencegah radikal bebas. Keberadaan antosianin pada tanaman rosela terletak di dalam sel vakuola yang sebagian besar ditemukan pada kelopak bunga (Saati, 2014). Antosianin merupakan zat warna alami golongan flavonoid dengan tiga atom karbon yang diikat oleh sebuah atom oksigen untuk menghubungkan dua cincin aromatik benzene (C_6H_6) di dalam struktur utamanya dan mudah larut air (Wallace, 2011). Antosianin mudah rusak akibat degradasi oleh pH, cahaya, suhu, logam, dan oksigen sehingga diperlukan metode ekstraksi yang efektif dan efisien untuk memperoleh kandungan antosianin.

Ekstraksi bahan alam pada umumnya menggunakan teknik maserasi menggunakan pelarut (Nhon, 2022). Pemilihan metode ekstraksi bunga rosela didasarkan pada tujuan untuk memperoleh kandungan antioksidan yang tinggi. Penggunaan pektinase dan selulase dapat meningkatkan kadar antosianin (Wallace, 2011). Selulase membantu pelepasan antosianin dengan mekanisme menghancurkan dinding sel ubi jalar ungu, sedangkan pektinase mengkatalisis interstitium untuk proses hidrolisis menjadi asam pektat dan galakturonat yang kemudian akan menghasilkan pelepasan antosianin dalam sel (Wang et al, 2022). Proses ekstraksi antosianin bunga rosela menggunakan enzim pektinase : selulase (1:1) diketahui dapat meningkatkan rendemen sebesar 73.31% (Fitri, 2017). Enzim papain dapat menghidrolisis protein untuk mencegah oksidasi antosianin sehingga meningkatkan rendemennya (Shu et al, 2018). Optimasi kondisi ekstraksi bunga rosela segar dengan Response Surface Method (RSM) menggunakan enzim pektinase dan selulase juga telah dilaporkan menghasilkan kondisi ekstraksi paling optimum yaitu dengan penggunaan enzim 1000 ppm, suhu ekstraksi 50 °C dan waktu ekstraksi 10 menit (Mardiah et al, 2018). Penelitian Wang et al (2022) menyatakan bahwa total antosianin meningkat dengan rasio 2:2:1 senyawa enzim (pektinase : selulase : papain) hingga 2,26 mg/g. Kondisi asam menentukan ekstraksi antosianin, semakin rendah derajat asam (pH) semakin tinggi kadar antosianin. Ekstraksi pada kondisi asam dengan penambahan asam sitrat 2% menunjukkan kadar antosianin sebesar 1063 mg/100 gram (Abou-Arab, 2011). Sulfur dioksida digunakan sebagai pengawetan makanan dan terbukti menjadi pilihan yang sangat baik bagi makanan dengan pH rendah seperti anggur. SO₂ digunakan sebagai pengawet, juga bersifat sebagai antioksidan (Marzalek K et al 2017). Menurut Perka BPOM No 36 tahun 2013, ambang maksimum penggunaan sulfit pada kategori konsentrat sari buah adalah 50 mg/kg.

Response Surface Methodology (RSM) merupakan metode statistika yang banyak digunakan untuk melihat optimasi dari sebuah proses. Hal ini dapat dilihat dari respon yang tampak akibat pengaruh faktor (variable independent) yang diberikan, sehingga diharapkan proses penelitian yang dilakukan dapat menghemat biaya dan tidak membutuhkan waktu lama (Prabudi, 2018). Pada penelitian ini RSM digunakan untuk mengetahui optimasi isolasi antosianin pada kelopak bunga rosela segar dengan menggunakan kombinasi enzim pektinase, selulase dan papain terhadap total padatan terlarut, kadar antosianin dan nilai pH.

MATERI DAN METODE

Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan kelopak bunga rosela segar dari perkebunan di Palimanan, Jawa Barat dengan penambahan kombinasi enzim pektinase, selulase dan papain (2:2:1) pada konsentrasi 1000 ppm. Ekstraksi dilakukan menggunakan peralatan gelas dengan menambahkan aquades, natrium metabisulfit ($Na_2S_2O_5$) dan asam sitrat yang kemudian dilakukan pemanasan menggunakan *waterbath* pada suhu 50 °C dan waktu

ekstraksi 10 menit kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kain saring. Analisis kadar antosianin menggunakan KCl, HCl dan Na-Asetat digunakan sebagai reagen.

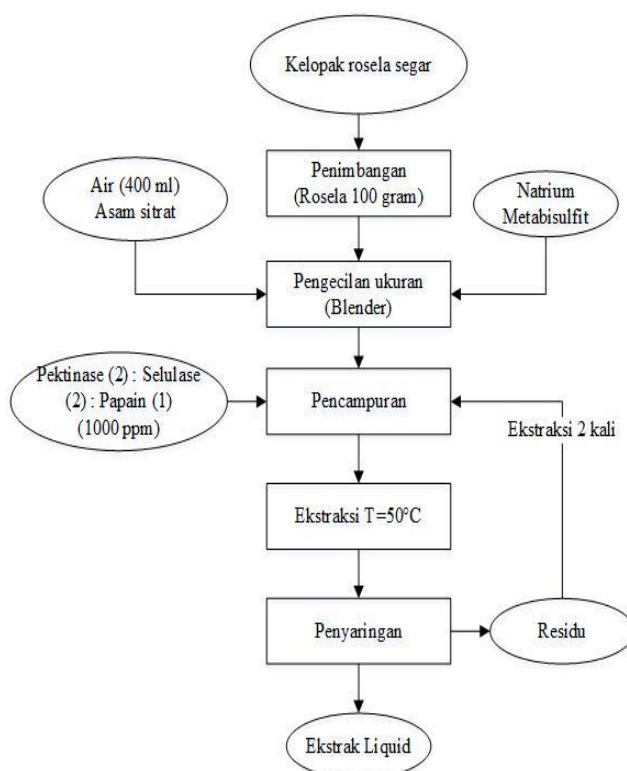
Proses analisis kadar antosianin, derajat asam (pH) dan total padatan terlarut ekstrak kelopak bunga rosela dilakukan dengan menggunakan timbangan digital, refrigerator, pH meter, digital refractometer, gelas ukur, labu ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, mikro pipet, spektrofotometri UV-Vis dan alat penunjang lainnya.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan selama 4 bulan yaitu pada bulan Mei sampai bulan Agustus 2023. Penelitian dilaksanakan di PT Heavenly Nutrition Indonesia dan Laboratorium Institut Pertanian Bogor.

Metode Penelitian

Perlakuan yang dilakukan dalam percobaan ini adalah menambahkan konsentrasi asam sitrat antara 0-2% dan natrium metabisulfat 10-50ppm. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut air dan penambahan enzim pektinase : selulase : papain (2:2:1) sebanyak 1000 ppm pada suhu 50°C selama 10 menit (Modifikasi Mardiah *et al*).



Gambar 1. Diagram alir proses ekstraksi maserasi kelopak bunga rosela

Desain percobaan *Response Surface Methodology* (RSM) menggunakan respon surface *Central Composite Design* (CCD) dengan memanfaatkan aplikasi *Design-Expert*®13. Respon perlakuan yang akan dihasilkan antara lain kandungan antosianin (%), derajat keasaman (pH) dan total padatan terlarut (°Brix), Setelah ditentukan faktor dan respon dan diinput dalam aplikasi, kemudian muncul 13 formula desain yang disajikan pada Tabel 1. Selanjutnya dilakukan percobaan sesuai dengan desain yang dihasilkan dari aplikasi menggunakan proses ekstraksi sesuai pada Gambar 1. Hasil aktual yang didapatkan dari percobaan kemudian diinput pada *software* DX-13.

Tabel 1. Rancangan percobaan dengan perlakuan konsentrasi asam sitrat dan sulfit

No	Faktor A	Faktor B
	Konsentrasi Asam Sitrat (%)	Konsentrasi Natrium Metabisulfit (%)
1	0	30
2	1	1
3	0	50
4	1	30
5	0	10
6	2	30
7	1	58
8	2	10
9	1	30
10	1	30
11	2	50
12	1	30
13	1	30

Analisis Produk

Ekstrak kelopak bunga rosela dilakukan analisis kimia meliputi kadar antosianin (mg/L), derajat asam (pH) dan total padatan terlarut (°Brix). Penentuan kadar antosianin menggunakan metode pH diferensial, yaitu dengan mengukur absorbansi larutan ekstrak rosela pada pH 1 dan pH 4.5 yang diukur pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm. Kadar antosianin dihitung sebagai sianidin-3-glukosida dengan koefisien ekstingsi molar 26.900 L mol⁻¹ cm⁻¹ dan berat molekul 449,2 (Giusti dan Worsltad, 2001).

$$\text{Abs} = [(A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4,5}]$$

$$\text{Kadar antosianin (mg/L-1)/ppm} = A \times \text{BM} \times \text{fp} \times 1000 / \epsilon \times L$$

Keterangan :

$$A : \text{Abs} = [(A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4,5}]$$

$$\text{BM} : \text{Bobot molekul (9449,2)}$$

$$\text{Fp} : \text{faktor pengenceran}$$

$$\epsilon : \text{koefisien ekstingsi molar (26.900)}$$

$$L : \text{diameter kuvet (1 cm)}$$

Derajat keasaman (pH) diukur menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan buffer pH 4 dan pH 7. Penentuan total padatan terlarut menggunakan digital refraktometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Formula yang dihasilkan dari RSM telah dilakukan percobaan dan menghasilkan data yang dapat dilihat pada Tabel 2. Respon ini akan digunakan untuk menentukan optimasi proses isolasi antosianin pada bunga rosela. Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa respon perlakuan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit memberikan nilai tertinggi pada kadar antosianin 1541,64 mg/ liter yang diperoleh dengan pemberian asam sitrat sebesar 1% dan natrium metabisulfite sebesar 30ppm.

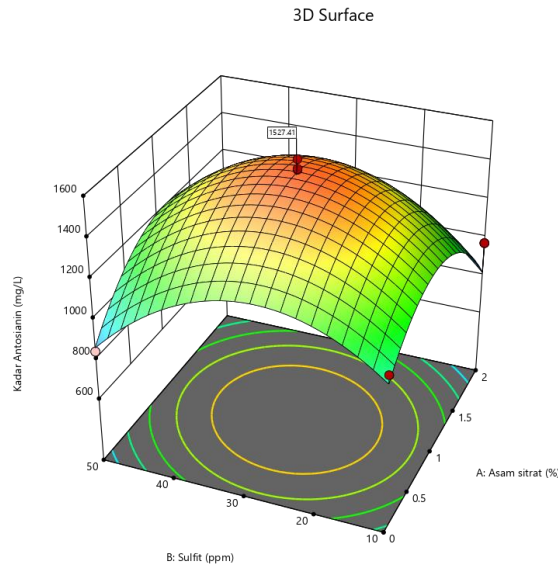
Tabel 2. Hasil perlakuan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit terhadap respon kandungan

No	Faktor A Konsentrasi Asam Sitrat (%)	Faktor A Konsentrasi Natrium Metabisulfit (ppm)	Kadar Antosianin (mg/ liter)	Derajat Keasaman (pH)	Total Padatan Terlarut (°Brix)
1	0	30	969,87	2,43	1,80
2	1	1	804,22	2,25	2,38
3	0	50	844,96	2,38	1,58
4	1	30	1541,64	2,26	2,60
5	0	10	1063,38	2,51	1,40
6	2	30	732,08	2,15	3,46
7	1	58	879,70	2,27	2,45
8	2	10	976,55	2,16	3,18
9	1	30	1472,17	2,26	2,60
10	1	30	1496,22	2,26	2,60
11	2	50	1054,70	2,09	3,18
12	1	30	1487,06	2,26	2,60
13	1	30	1496,82	2,26	2,60

Kadar Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosela

Antosianin merupakan zat organik berupa pigmen larut air pada sel vakuola yang tersusun dari aglikon (antosianidin) dan residu karbohidrat yang mungkin berupa glukosa, xilosa, galaktosa, arabinosa, rhamnosa atau rutinosa (Oancea, 2012). Proses ekstraksi akan mengakibatkan dinding sel vakuola pecah sehingga banyak antosianin yang terekstrak. Pada lingkungan asam (pH = 1), antosianin akan ditemukan dalam bentuk kation flavylum (berwarna merah) yang membuatnya sangat larut dalam air. Amperawati (2019) pada penelitiannya menemukan bahwa semakin banyak pengulangan ekstraksi maka warna ekstrak kelopak bunga rosela semakin jernih.

Pada Tabel 2 menunjukkan kadar antosianin dengan nilai tertinggi adalah 1541,64 mg/liter dan nilai terendah adalah 732,08 mg/ liter. Dengan nilai ini respon dapat mendeskripsikan bahwa kadar antosianin dipengaruhi oleh konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit yang ditambahkan selama proses ekstraksi. Pada Gambar 2, terlihat bahwa kadar antosianin tercapai maksimal pada perlakuan penambahan asam sitrat sebanyak 1% dan penambahan natrium metabisulfit sebanyak 30 ppm. Tujuan utama penggunaan asam sitrat dalam proses ekstraksi kelopak bunga rosela adalah melindungi antosianin (Ferreira et al., 2020). Dalam proses ekstraksi antosianin, penambahan asam sitrat dapat digunakan untuk menurunkan pH larutan ekstraksi. Antosianin lebih stabil pada kondisi pH rendah karena molekul sianidin terprotonisasi dan membentuk ion positif atau kation. Sebaliknya kondisi pH meningkat molekul terdeprotonisasi membentuk ion negatif atau anion (S Wahyuningsih et al 2017). SO₂ disamping digunakan sebagai pengawet, juga bersifat sebagai antioksidan. Antioksidan melindungi antosianin dari kerusakan oksidatif selama proses ekstraksi, sehingga mempertahankan kualitas dan stabilitas antosianin yang dihasilkan. Mekanisme tersebut terjadi tidak dengan menghilangkan oksigen secara langsung, tetapi dengan mengikat prekursor yang terlibat dalam reaksi oksidatif dan senyawa hasil oksidasi (Marzalek K et al 2017).



Gambar 2. Profil 3D respon kadar antosianin terhadap pengaruh konsentrasi asam sitrat dan sulfit

Berdasarkan uji ANOVA untuk respon kadar antosianin pada ekstrak kelopak bunga rosela mendapati nilai F adalah 20,05. Nilai signifikansi menunjukkan 0.0005, sehingga $P < 0,05$ maka menunjukkan hasil yang signifikan terhadap perlakuan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit. Data hasil uji ANOVA dapat dilihat pada Tabel 3.

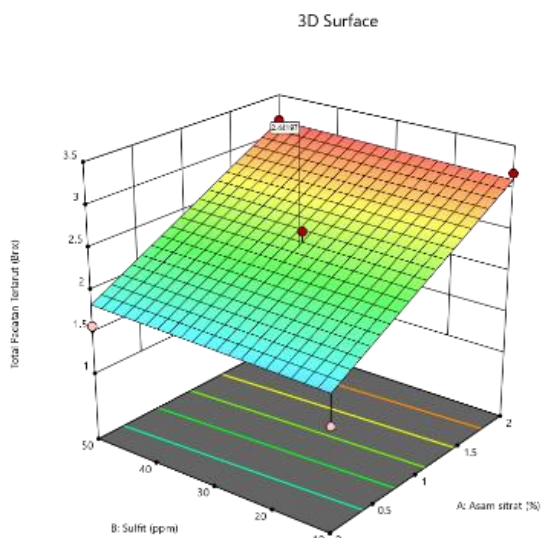
Tabel 3. Data Uji ANOVA dari masing-masing respon

Respon	Uji ANOVA	
	F-value ($P < 0,05$)	p-value ($P < 0,05$)
Kadar antosianin (%)	20,05	0.0005
Derajat keasaman (pH)	40,10	< 0.0001
Total padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix)	58,90	< 0.0001

Total Padatan Terlarut Ekstrak Kelopak Bunga Rosela

Total padatan terlarut merupakan keseluruhan unsur atau komponen yang larut dalam air baik zat organik maupun anorganik. Total padatan terlarut juga disebut sebagai kadar gula total (Rivaldi et al, 2019). Pada Tabel 2 tampak bahwa total padatan terlarut berada pada nilai 1,40 – 3,46. Nilai tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi asam sitrat 2% dan natrium metabisulfit 30% dengan nilai 3,46. Sedangkan nilai terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi asam sitrat 0% dan natrium metabisulfit 10% dengan nilai 1,40. Hal ini menunjukkan terjadi peningkatan total padatan terlarut dengan penambahan konsentrasi

asam sitrat dan natrium metabisulfit. Respon total padatan terlarut akibat dari pengaruh perlakuan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit dapat dilihat pada Gambar 3.

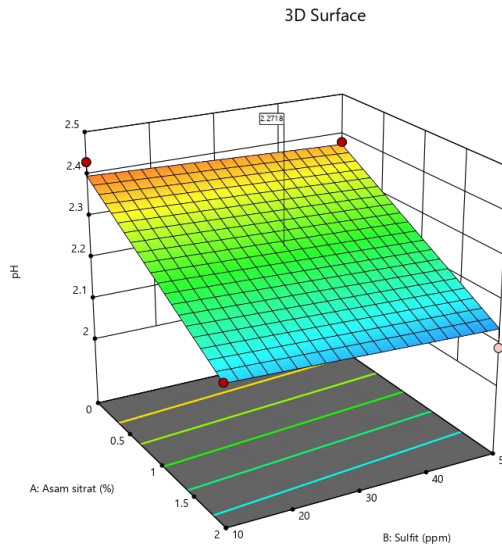


Gambar 3. Profil 3D dari respon total padatan terlarut terhadap pengaruh konsentrasi asam sitrat dan sulfit

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfite berbanding lurus dengan peningkatan total padatan terlarut. Yaitu semakin tinggi konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit yang ditambahkan pada proses ekstraksi akan semakin tinggi pula nilai total padatan terlarut. Berdasarkan hasil uji ANOVA total padatan terlarut pada ekstrak kelopak bunga rosela menunjukkan nilai F sebesar 58.90. Sedangkan nilai signifikansi yang dihasilkan <0.0001 yang mana $P < 0.05$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa model ini memberikan hasil yang signifikan terhadap perlakuan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfite.

Derajat Keasaman (pH)

Asam sitrat untuk ekstraksi antosianin banyak digunakan dengan alasan untuk menjaga kestabilan antosianin (Fitriyanti *et al.*, 2022). Zat warna antosianin stabil pada pH 2 – 5 (Hidayah, 2014). Penggunaan asam sitrat sebanyak 20% menghasilkan warna yang lebih intens terhadap ekstrak (Zulfina, 2018). Hasil perlakuan yang ditunjukkan pada tabel dapat dibaca derajat keasaman (pH) berada diantara nilai 2,09 – 2,51. Dari respon yang didapatkan mendeskripsikan jika peningkatan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfite menghasilkan nilai derajat asam (pH) yang semakin rendah. Asam sitrat mengandung unsur ion H^+ atau ion hidrogenium H_3O^+ yang menyebabkan rasa asam. Semakin meningkat konsentrasi asam yang ditambahkan, maka semakin meningkat pula pelepasan ion H^+ sehingga penurunan pH terjadi (Fajarwati *et al.*, 2017). Menurut Nardini *et al.* (2018), seiring dengan meningkatnya penambahan sulfit pada anggur secara linier meningkatkan kandungan asam galat ($p < 0,005$). Penambahan asam galat dapat menurunkan derajat keasaman (pH).

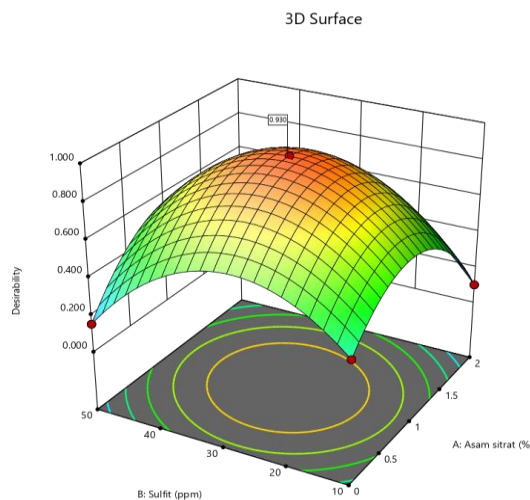


Gambar 4. Profil 3D dari respon nilai pH terhadap pengaruh konsentrasi asam sitrat dan sulfit

Gambar grafik di atas menjelaskan respon derajat keasaman (pH) yang dihasilkan memberikan gambaran bahwa perlakuan konsentrasi asam sitrat dan sulfit yang ditambahkan memberikan respon nyata. Dimana tampak semakin tinggi konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit, maka semakin rendah nilai pH pada ekstrak kelopak bunga rosela. Uji ANOVA memberikan gambaran yang signifikan dengan nilai F sebesar 40,10 dan nilai signifikansi < 0.0001 . Sehingga dapat mengindikasikan $P < 0,05$ yang artinya model dapat mendeskripsikan perlakuan konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit.

Optimasi Proses Isolasi Ekstraksi Kelopak Bunga Rosela

Ekstrak kental bunga rosella adalah ekstrak yang dibuat dari perhiasan bunga *Hibiscus sabdarifa L.*, suku Mavaceae, mengandung antosianin tidak kurang dari 0,10% dihitung sebagai sianidin-3-O-glukosida (Kemenkes RI, 2017). Kandungan antosianin pada ekstrak bunga rosela menjadi alternatif sumber antioksidan alami yang digunakan untuk mencegah terjadinya kerusakan oksidatif dengan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Dengan manfaat tersebut, ekstrak bunga rosela banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku produk makanan, minuman dan produk kecantikan lain.



Gambar 5. Profil 3D desirability antara faktor dan respon

Dari *historical data* yang diinput pada aplikasi RSM diperoleh model yang disarankan untuk menghasilkan kadar antosianin sebesar 1541.650 mg/L dengan melakukan ekstraksi menggunakan asam sitrat sebesar 1% dan natrium metabisulfit sebanyak 30%. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5 parameter *desirability* yang nilainya menunjukkan 0,948. Di mana semakin mendekati angka 1, maka menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki mendekati sempurna. Dengan perlakuan konsentrasi asam sitrat 1% dan natrium metabisulfite 30% derajat asam (pH) berada pada 2,26 dan total padatan terlarut 2,6. Hidayah (2014) menyatakan kondisi derajat asam antara 2 – 5 dapat menjaga kestabilan antosianin, sehingga pada perlakuan ini antosianin dapat dipertahankan kestabilannya. Namun demikian tidak menutup kemungkinan penurunan terjadi akibat adanya faktor lain seperti cahaya, suhu, logam, dan oksigen selama proses penyimpanan.

KESIMPULAN

Response Surface Methodology (RSM) menggunakan respon surface *Central Composite Design* (CCD) dengan aplikasi Design-Expert®13 dapat digunakan untuk optimasi proses isolasi antosianin kelopak bunga rosela berdasarkan pada respon yang dihasilkan seperti kadar antosianin, derajat asam (pH) dan total padatan terlarut. Perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap respon. Sebagaimana didapatkan kadar antosianin tercapai maksimal dengan nilai 1541,650 mg/L. Konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit yang tinggi, akan menurunkan derajat asam (pH) yang dihasilkan pada ekstrak kelopak bunga rosela. Sedangkan nilai padatan terlarut akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi asam sitrat dan natrium metabisulfit yang ditambahkan pada proses ekstraksi. Dari respon yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa optimasi antosianin pada ekstrak kelopak bunga rosela dapat dilakukan dengan menggunakan konsentrasi asam sitrat sebesar 1% dan konsentrasi natrium metabisulfite sebesar 30%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou_Arab, AA., Ferial M., Abu-Salem dan Esmat A. (2011). Physico-Chemical Properties of Natural Pigments (Anthocyanin) Extracted from Roselle Calyces (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of America Science*, 7(7).
- Amperawati, S., Hastuti, P., Pranoto, Y., Santoso, U. (2019). Efektifitas Frekuensi Ekstraksi Serta Pengaruh Suhu dan Cahaya Terhadap Antosianin dan Daya Antioksidan Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(1).
- Fajarwati, NH., Parnanto, NHR., Manuhara, GJ. (2017). Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat dan Suhu Pengeringan Terhadap Karakteristik Fisik, Kimia dan Sensori Manisan Kering Labu Siam (*Sechium edule Sw.*) dengan Pemanfaatan Pewarna Alami dari Ekstrak Rosela Ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 58(3).
- Ferreira, Lauren Fresinghelli, Natalia Machado Minuzzi, Renata Fritzsche Rodrigues, Roberson Pauletto, Eliseu Rodrigues, Tatiana Emanuelli, and Vivian Caetano Bochi. (2020). Citric Acid Water-Based Solution for Blueberry Bagasse Anthocyanins Recovery: Optimization and Comparisons with Microwave-Assisted Extraction (MAE). *Lwt* 133(August):110064. doi: 10.1016/j.lwt.2020.110064.
- Fitri, Silvi. Penambahan Enzim pada Ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*) Segar dan Kering, Serta Pengaruhnya Terhadap Antioksidan Fenol dan Uji Stabilitas Selama Penyimpanan (2017). [Skripsi]. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Ilmu Pangan Halal. Universitas Djuanda Bogor.

- Fitriyanti, R. Emmawati, E. Yuliantini, A. (2022) Analisis Antosianin dari Buah Dengan Berbagai Macam Pelarut Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Health Sains*, 3(7).
- Giusti, M.M, dan Worlstad, R.E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Oregon State University. Available at <http://does.org/masterli/facsample.htm-37k> (diakses 08 Juni 2023).
- Hidayah, T., Pratjojo W., Widiarti N. (2014). Uji Stabilitas Pigmen dan Antioksidan Ekstrak Zat Warna Alami Kulit Buah Naga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 3(2).
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Farmakope Herbal Indonesia II. Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta
- Mardiah., Hasanah, RN., Novidahlia, N., Hasan, AEZ. (2018). Optimasi Kondisi Ekstraksi Menggunakan Enzim Dengan Response Surface Methodology (RSM) Terhadap Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*). *Jurnal Pertanian* 9(2),84-91.
- Marszałek K., Woźniak Ł., Kruszewski B., Skąpska S. The Effect of High Pressure Techniques on the Stability of Anthocyanins in Fruit and Vegetables. *Int. Jurnal Molecule Science* 18:277. DOI: 10.3390/ijms18020277.
- Nardini, M., Garaguso, I. (2018). Effect of Sulfites on Antioxidant Activity, Total Polyphenols, and Flavonoid Measurements in White Wine. *National Library of Medicine: Pub Med Central*, 5867550. DOI: [10.3390/foods7030035](https://doi.org/10.3390/foods7030035)
- Nhon, H T N., My, N T D., Vi, V N T., Lien, P T K., Minh, N T T., Duy, Le Nguyen Doan., Anh, L T H., Dao, D T A. Enhancement of extraction effectiveness and stability of anthocyanin from *Hibiscus sabdariffa L*. *Jiurnal Agriculture Food Research*, 100408.
- Oancea S., Draghici O. (2013). pH and thermal stability of anthocyanin-based optimized extracts of Romanian red onion cultivars. *Czech Journal Food Science* 31, 283–291. DOI: 10.17221/302/2012-CJFS
- Prabudi, M., Nurtama B., Purnomo EH. (2018). Aplikasi Response Surface Methodology (RSM) dengan Historical Data pada Optimasi Proses Produksi Burger. *Jurnal Mutu Pangan* 5(2), 109-115.
- Rivaldi, S., Yunus Y., Munawar AA. (2019). Prediksi Kadar Total Padatan Terlarut (TPT) dan Vitamin C Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica L*) Menggunakan Near Infrared Spectroscopy (NIRS) dengan Metode Partial Least Square (PLS). *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 4(2).
- Saati, E A. (2014). Eksplorasi Pigmen Antosianin Bahan Hayati Lokal Pengganti Rodhamin B dan Uji Efektivitasnya pada Beberapa Produk Industri/Pangan. *Jurnal Gamma* 9(2), 1 -12.
- Shu G., Mei S., Zhang Q., Xin N., Chen, H. (2018). Application of the Plackett-Burman design determines the main factors affecting the anti-oxidative activity of goat's milk casein hydrolyzed by Alcalase and papain. *Acta Sci. Polon. Technol* 17, 257–266.
- Wallace, T. C. Anthocyanins in Cardiovascular Disease. American Society for Nutrition. *Adv. Nutr.* 2011 2: 1 – 7. DOI://doi.org/10.3945/an.110.000042
- Wang, F., Zhang, S., Deng, G., Xu, K., Xu, H., Liu, J. (2022). Extracting Total Anthocyanin from Purple Sweet Potato Using an Effective Ultrasound-Assisted Compound Enzymatic Extraction Technology. *National Library of Medicine: PubMed Central*, 35889219. DOI: 10.3390/molecules27144344.

Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., Pinzon, R. T. (2016). Proses Menua, Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan. CDK 245. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana, 43(10).

Zulfina, T., Safriani, N., & El Husna, N. (2018). Ekstraksi Antosianin dari Buah Senggani (*Melastoma polyanthum* Bl.) dengan Variasi Rasio Bahan dengan Pelarut dan Konsentrasi Asam Sitrat. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 3(4), 835-839.