

PENGARUH KONSENTRASI PELARUT PADA PROSES EKSTRAKSI ANTOSIANIN DARI BUNGA KEMBANG SEPATU

Dina Agustin¹, Ismiyati²

^{1,2}Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik
Universitas Muhammadiyah Jakarta
ismiyati_umj@yahoo.com

ABSTRAK. Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L) berpotensi sebagai salah satu sumber antosianin yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimutagenik, dan antikarsinogenik. Antosianin dapat rusak pada suhu tinggi (pemanasan) yang biasa digunakan dalam pembuatan sejumlah produk pangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kandungan antosianin dalam bunga kembang sepatu berdasarkan variable konsentrasi pelarut. Penelitian dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol konsentrat dalam air. Variable tetap yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi etanol (60, 70, 80, 90, 96 % (v/v)). Waktu maserasi adalah selama 24 jam pada temperatur ruang dan kondisi terlindung dari cahaya matahari ataupun sinar langsung. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan dipekatkan dengan rotary vakum evaporator dan selanjutnya dianalisis menggunakan instrument Spektrofotometer UV-Visible. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen dan kadar antosianin tertinggi ditandai dengan warna yang paling pekat yang didapatkan dari pelarut etanol 96%. Hasil rendemen tertinggi yang diperoleh adalah 22,05% (b/b) yang mengandung ekstrak antosianin sebesar 48,260 mg dari 25 gram bahan baku. Persamaan yang menghubungkan antara variable konsentrasi pelarut etanol dan rendemen adalah $y = -36,547x^2 + 72,335x + 12,422$. $R^2 = 0,9642$.

Kata kunci : antosianin, ekstraksi, *Hibiscus rosa-sinensis* L, kembang sepatu

PENDAHULUAN

Bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L) adalah salah satu tanaman hias yang mempunyai banyak varian warna, merupakan tanaman semak suku Malvaceae yang berasal dari Asia Timur dan banyak ditanam di daerah tropis dan subtropis. Bunga ini besar, berwarna warni dan tidak berbau. Bunga dari berbagai kultivar dan hibrida ini bisa berupa bunga tunggal (daun mahkota selapis) atau bunga ganda (daun mahkota berlapis) yang berwarna putih hingga kuning, oranye hingga merah tua atau merah jambu. Pada bunga kembang sepatu teridentifikasi adanya senyawa golongan flavonoid, saponin dan antosianin. Bunganya mengandung polifenol, diglukosidasianidin, asam

askorbat, serat, niasin, riboflavin, tiamin, air, hibicetin, alkaloid, dan lendir. Daun bunga kembang sepatu berkhasiat sebagai obat demam pada anak-anak, obat batuk, dan obat sariawan. Bunga kembang sepatu merah (*hibiscusrosa-sinensis*Linn) mengandung antosianin dan flavonoid yang diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai pewarna dan pengawet alami. Ekstrak etanolik bunga tanaman ini dapat menurunkan kadar kolesterol darah total dan serum trigliserida (20-30 %) serta meningkatkan level HDL hingga 12 % dan menurunkan kadar gula darah (Sachdewa dan Khemani, 2003).

Bahan pewarna dapat digolongkan ke dalam empat golongan yaitu bahan pewarna sintesis, bahan pewarna

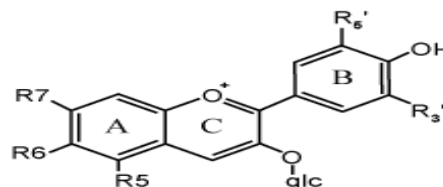
yang dibuat mirip dengan bahan pewarna alami, bahan pewarna anorganik dan bahan pewarna alami. Bahan pewarna alami untuk makanan paling banyak dibuat dari ekstrak tumbuhan, tetapi ada juga dari sumber lain seperti serangga, ganggang, *cyanobacteria*, dan jamur (Mortensen, 2006).

Warna merupakan faktor kualitas yang penting bagi makanan. Warna bersamaan dengan bau, rasa, dan tekstur memegang peranan penting dalam penerimaan makanan (Mann, 1997). Menyadari pentingnya warna, maka produsen makanan seringkali menambahkan pewarna pada produk makanannya baik berupa pewarna alami (pigmen) ataupun pewarna sintetis. Sejak ditemukannya pewarna sintetis, penggunaan pigmen semakin menurun, meskipun tidak hilang sama sekali. Pewarna sintetis lebih disukai karena lebih ekonomis, praktis dan sifat pewarnaannya yang stabil dan seragam. Beberapa kelemahan yang dimiliki oleh pewarna sintetis diantaranya adalah sifatnya yang karsinogenik dan beracun (Winarno, 1997). Kekhawatiran akan keamanan penggunaan pewarna sintetis mendorong pengembangan pewarna alami sebagai bahan pewarna makanan.

Beberapa tanaman telah diteliti sebagai bahan pewarna alami diantaranya adalah ekstrak bunga *Tagetes erecta* L sebagai pewarna tekstil (Jothi, 2008), ekstrak antosianin dari *Redcabbage* (Xavieretal, 2008), ekstrak daun tanaman *Indigoferatinctoria* L dan ekstrak daun tanaman *Baphicacanthuscusia* Brem (Chanayath, et.al, 2000). Bahan pewarna alami dipilih berdasarkan ketersediaan di alam, dan kemudahan untuk memperolehnya. Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscusrosa-sinensis* L) banyak tersedia di sekitar kita, namun pemanfaatan sebagai pewarna alami belum banyak diteliti, oleh sebab itu perlu dilakukan

penelitian ekstrak Bunga Kembang Sepatu sebagai zat pewarna alami.

Antosianin (bahasa Inggris: *anthocyanin*, dari gabungan kata Yunani: *anthos* = "bunga", dan *cyanos* = "biru") adalah pigmen larut air yang secara alami terdapat pada berbagai jenis tumbuhan. Antosianin memiliki rumus struktur sebagai :



Gambar 1. Struktur molekul antosianin

Antosianin yang diteliti dalam penelitian ini adalah cyanidin-3-glucoside chloride (chrysantemin) dengan rumus molekul $C_{12}H_{21}ClO_{11}$ dengan berat molekul 485,5 gr/mol.

Sesuai namanya, pigmen ini memberikan warna pada bunga, buah, dan daun tumbuhan hijau, dan telah banyak digunakan sebagai pewarna alami pada berbagai produk pangan dan aplikasi lainnya. Zat warna dari antosianin timbul, karena adanya susunan ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang, sehingga mampu menyerap cahaya, mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal. Beberapa senyawa antosianin yang paling banyak ditemukan adalah pelargonidin, peonidin, sianidin, malvidin, petunidin, dan delphinidin.

Berbagai macam pigmen antosianin yang diekstrak dari buah-buahan tertentu telah banyak dimanfaatkan sebagai pewarna pada produk minuman ringan, susu, bubuk minuman, minuman beralkohol, produk beku, dll. Penggunaan pewarna alami antosianin semakin diminati karena dapat mengurangi penggunaan pewarna sintetis yang bersifat toksik dan tidak ramah lingkungan. Antosianin juga dimanfaatkan dalam pembuatan

suplemen nutrisi karena memiliki banyak dampak positif bagi kesehatan manusia, dan juga dimanfaatkan dalam proses penyimpanan serta pengawetan buah, serta pembuatan selai buah. Di Jepang, antosianin juga digunakan sebagai pewarna kertas (kertas Awobana), Arinaldo, 2011.

Salah satu fungsi antosianin adalah sebagai antioksidan di dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis, penyakit penyumbatan pembuluh darah, melalui oksidasi lemak jahat dalam tubuh, yaitu lipoprotein densitas rendah. Kemudian antosianin juga melindungi integritas sel endotel dengan melapisi dinding pembuluh darah, sehingga tidak terjadi kerusakan. Kerusakan sel endotel merupakan awal mula pembentukan aterosklerosis sehingga harus dihindari. Selain itu, antosianin juga merelaksasi pembuluh darah untuk mencegah aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler lainnya. Berbagai manfaat positif dari antosianin untuk kesehatan manusia adalah untuk melindungi lambung dari kerusakan, menghambat sel tumor, meningkatkan kemampuan penglihatan mata, serta berfungsi sebagai senyawa anti-inflamasi yang melindungi otak dari kerusakan. Selain itu, beberapa studi juga menyebutkan bahwa senyawa tersebut mampu mencegah obesitas dan diabetes, meningkatkan kemampuan memori otak dan mencegah penyakit neurologis, serta menangkal radikal bebas dalam tubuh.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah kelopak bunga kembang sepatu. Sedangkan bahan yang digunakan untuk proses dan analisa antara lain : etanol, air, NaOH 10%, HCl pekat, Metanol

Alat Penelitian

Rotary evaporator, spektrofotometer, thermometer, tabung reaksi, gelas

ukur, botol sampel, neraca analitik, pipet tetes, gelas piala

Metode penelitian

Pada pembuatan antosianin dari bunga kembang sepatu pada penelitian ini terdiri dari beberapa langkah, yaitu:

Preparasi sampel

Pada proses preparasi ini kelopak bunga kembang sepatu dipotong-potong menjadi ukuran yang lebih kecil, kurang lebih 5 cm, ini bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga reaksi akan berjalan lebih cepat.

Persiapan pelarut

Pelarut yang digunakan adalah aquadest dan etanol dengan volume yang sama yaitu 250 mL. Aquadest dan etanol merupakan pelarut organik yang bersifat tidak bersifat beracun sehingga aman digunakan sebagai pelarut bahan pangan. Etanol bersifat polar sehingga mampu melarutkan senyawa antosianin yang bersifat polar juga.

Ekstraksi

Pada tahap ini, ekstraksi dilakukan secara alami yaitu maserasi. Maserasi (perendaman) dilakukan selama 24 jam dengan pelarut aquadest dan etanol yang divariasikan konsentrasi pelarutnya sesuai variabel konsentrasi. Kelopak bunga kembang sepatu ditimbang sebanyak 25 gram, lalu ditambahkan 250 mL pelarut etanol dengan rentang konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90% dan 96% (%v/v) pada temperatur ruang selama 24 jam.

Evaporasi

Evaporasi dilakukan menggunakan alat instrumentasi yaitu Rotari evaporator. Sampel yang berasal dari proses maserasi kemudian disaring untuk memisahkan ekstrak dengan kelopak bunga kembang sepatu tadi, kemudian dimasukkan ke dalam alat rotari evaporator dan dijalankan sampai tersisa larutan ekstrak antosianin yang lebih pekat.

Metode analisis data

Rendemen

Perhitungan persentase rendemen disajikan sebagai berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak antosianin}}{\text{Berat kelopak bunga kembang sepatu}} \times 100\%$$

Kandungan antosianin

Pengukuran spektrum antosianin menggunakan instrument Spektrofotometer dengan panjang gelombang 528 nm, sedangkan untuk metode perhitungan kandungan ekstrak disajikan sebagai berikut:

$$\frac{\text{Absorban sample}}{\text{Absorban standar}} \times \text{konsentrasi standar} \times \text{FP} \times \text{volume ekstrak} \times 0,418$$

0,418 = kandungan antosianin yang terdapat dalam standar perbandingan antosianin.

Uji Identifikasi Antosianin

Uji identifikasi Antosianin secara kualitatif dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 7 mL hasil ekstraksi yang diperoleh, ditambahkan 2 tetes NaOH 10 % sehingga terjadi perubahan warna menjadi coklat, dan kemudian ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes sehingga warnanya kembali merah.

Penentuan Daya Absorbansi Antosianin

Disini peneliti membandingkan hasil ekstraksi dengan suatu standar yang bernama bilberry extract dimana dalam standar tersebut telah diketahui dengan pasti kadar antosianin yang dikandungnya, sehingga bisa dilihat uji kualitatif zat tersebut. Peneliti menggunakan alat spektrofotometer visible dengan panjang gelombang maksimum antosianin yaitu 528 nm.

Analisis korelasi dan *least square method*

Dari hasil rendemen dan kandungan ekstrak yang didapatkan dihubungkan secara grafik untuk mendapatkan korelasi hubungan terhadap

konsentrasi pelarut ethanol. Untuk mengukur besarnya pengaruh variabel bebas terhadap variabel tergantung dan memprediksi variabel tergantung dengan menggunakan variabel bebas. Gujarati (2006) mendefinisikan analisis regresi sebagai kajian terhadap hubungan satu variabel yang disebut sebagai variabel yang diterangkan (*the explained variabel*) dengan satu atau dua variabel yang menerangkan (*the explanatory*). Variabel pertama disebut juga sebagai variabel tergantung dan variabel kedua disebut juga sebagai variabel bebas

Model persamaan regresi linear sederhana : $Y = a + bX + e$, dimana a adalah kontanta (intersep pada grafik) serta b adalah koefisien regresi yang menunjukkan besarnya pengaruh X terhadap Y (slope pada grafik). Jika data hasil observasi terhadap sampel acak berukuran n telah tersedia, maka untuk mendapatkan persamaan regresi $Y = a + bX$, perlu dihitung a dan b dengan metode kuadrat kekeliruan terkecil (*least square error methods*).

$$b = \frac{n \sum_{i=1}^n X_i Y_i - \sum_{i=1}^n X_i \sum_{i=1}^n Y_i}{n \sum_{i=1}^n X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n X_i \right)^2} ; \quad a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

Analisis korelasi

Untuk menunjukkan besarnya keeratan hubungan antara dua variabel acak yang masing-masing memiliki skala pengukuran minimal interval dan berdistribusi bivariat, digunakan koefisien korelasi yang dirumuskan sebagai berikut:

$$r_{xy} = \frac{n \sum_{i=1}^n X_i Y_i - \sum_{i=1}^n X_i \sum_{i=1}^n Y_i}{\sqrt{n \sum_{i=1}^n X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n X_i \right)^2} \sqrt{n \sum_{i=1}^n Y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n Y_i \right)^2}}$$

Koefisien korelasi yang dirumuskan seperti itu disebut koefisien korelasi Pearson atau koefisien korelasi *product moment*. Besar r adalah $-1 \leq r_{xy} \leq +1$. Tanda $+$ menunjukkan

pasangan X dan Y dengan arah yang sama, sedangkan tanda - menunjukkan pasangan X dan Y dengan arah yang berlawanan. r_{xy} yang besarnya semakin mendekati 1 menunjukkan hubungan X dan Y cenderung sangat erat. Jika mendekati 0 hubungan X dan Y cenderung kurang kuat. $r_{xy} = 0$ menunjukkan tidak terdapat hubungan antara X dan Y

Indeks determinasi (R^2)

Dalam analisis regresi, koefisien korelasi yang dihitung tidak untuk diartikan sebagai ukuran keeratan hubungan variabel bebas (X) dan variabel tidak bebas (Y), sebab dalam analisis regresi asumsi normal bivariat tidak terpenuhi. Untuk itu, dalam analisis regresi agar koefisien korelasi yang diperoleh dapat diartikan maka dihitung indeks determinasinya, yaitu hasil kuadrat dari koefisien korelasi:

$$R^2_{xy} = (r_{xy})^2$$

Indeks determinasi yang diperoleh tersebut digunakan untuk menjelaskan persentase variasi dalam variabel tidak bebas (Y) yang disebabkan oleh bervariasinya variabel bebas (X). Hal ini untuk menunjukkan bahwa variasi dalam variabel tak bebas (Y) tidak semata-mata disebabkan oleh bervariasinya variabel bebas (X), bisa saja variasi dalam variabel tak bebas tersebut juga disebabkan oleh bervariasinya variabel bebas lainnya yang mempengaruhi variabel tak bebas tetapi tidak dimasukkan dalam model persamaan regresinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Penelitian dilakukan dengan variabel konsentrasi pelarut ethanol dalam air yaitu : 96%, 90%, 80%, 70%, dan 60% dengan waktu ekstraksi selama 24 jam dan berat kelopak bunga kembang sepatu 25 gram.

Tabel 1 : Data identifikasi dan intensitas warna ekstrak dengan antosianin variabel konsentrasi solvent

ethanol, dengan sampel kelopak bunga 25 gram waktu maserasi 24 jam pada λ 528nm

No	Konsentrasi ethanol (%)	Identifikasi Antosianin	Warna	Absoransi rata-rata
1	60	Positif	Nila keunguan	0,3517
2	70	Positif	Nila keunguan	0,3871
3	80	Positif	Nila keunguan	0,4315
4	90	Positif	Nila keunguan	0,4878
5	96	Positif	Nila keunguan	0,5094

Tabel 2 : Data hasil ekstraksi dengan variabel konsentrasi solvent ethanol, dengan sampel kelopak bunga 25 gram waktu maserasi 24 jam pada λ 528nm

No	Konsentrasi ethanol (%)	Rendemen (%)
1	60	24,32
2	70	24,12
3	80	23,53
4	90	22,53
5	96	22,05

Disamping data rendemen ekstrak, juga diperoleh data kandungan antosiamin yang terkandung dalam ekstrak yang didapat yang tercantum dalam tabel berikut:

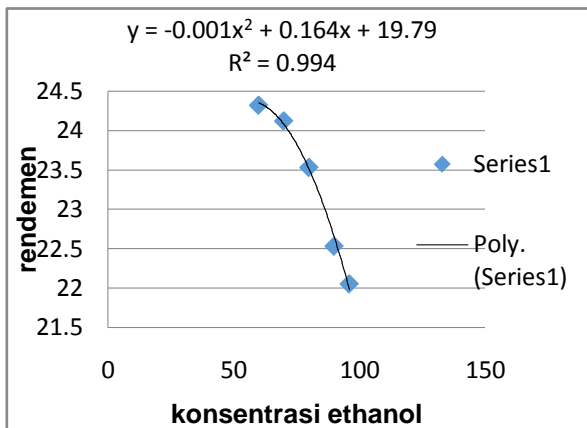
Tabel 3 : data hasil ekstraksi terhadap kadar dengan variabel konsentrasi ethanol, sampel kelopak bunga kembang sepatu pada λ 528nm.

No	Konsentrasi ethanol (%)	Kadar antosianin (mg/ 25 gr bahan baku)
----	-------------------------	---

1	60	42,440
2	70	45,788
3	80	46,345
4	90	47,981
5	96	48,260

Pembahasan

Rendemen yang dimaksud merupakan perbandingan antara bobot hasil ekstraksi (disini hasil berupa ekstrak pekat) terhadap bobot bahan baku yang digunakan untuk proses ekstraksi. Dari tabel 2 dihasilkan grafik hubungan antara konsentrasi pelarut ethanol terhadap rendemen yang dapat dilihat pada grafik di bawah:



Gambar 2 : Grafik hubungan konsentrasi pelarut dengan rendemen

Dari gambar 2 diperoleh persamaan yang merupakan hubungan antara konsentrasi pelarut dengan rendemen yaitu:

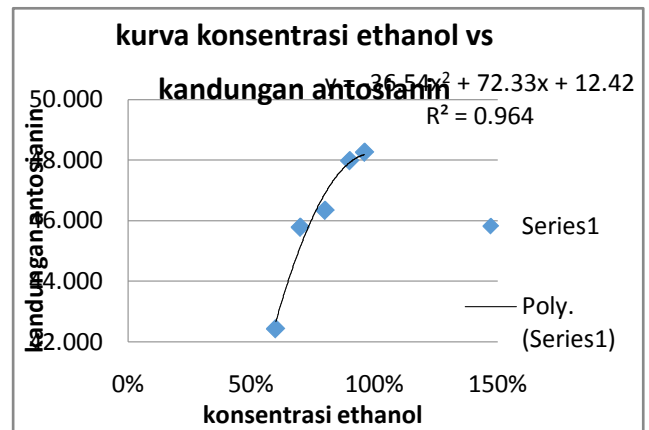
$$y = -0,0015x^2 + 0,1642x + 19,799$$

$$R^2 = 0,9947$$

Dari persamaan di atas terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ethanol yang digunakan maka akan sedikit ekstrak yang dihasilkan yang berarti pula bahwa semakin pekat ekstrak yang didapatkan. Hal ini dikarenakan ethanol yang dikandung pada pelarut, semakin besar fraksi ethanol maka akan semakin banyak yang menguap

ketika di uapkan dengan rotary vakum evaporator sehingga volume ekstrak semakin sedikit, dibandingkan pelarut yang lebih sedikit mengandung komposisi ethanol, karena titik didih ethanol yang lebih rendah dibanding air. Ini berarti akan semakin baik bila digunakan ethanol dengan komposisi lebih besar, disamping itu proses evaporasi juga lebih cepat.

Dari tabel 3 dapat dilihat kandungan antosianin yang diperoleh selama ekstraksi. Kandungan antosianin adalah hasil kandungan antosianin yang terkandung dalam larutan ekstrak pekat yang telah diukur serta dibandingkan terhadap larutan standar baku antosianin yang sudah diketahui persentase kadarnya secara akurat sehingga dapat diketahui kadar antosianin yang terkandung dalam sampel kelopak bunga kembang sepatu. Demikian pula halnya dengan hubungan konsentrasi pelarut dengan kadar antosianin yang dihasilkan, dengan mengkorelasikan hubungan antara konsentrasi pelarut dengan kadar antosianin yang didapat maka didapatkan grafik sebagai berikut:



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi pelarut dengan kandungan antosianin

Dari gambar 3 diatas didapatkan persamaan berupa :

$$y = -36,547x^2 + 72,335x + 12,422$$

$$R^2 = 0,9642$$

Dari persamaan di atas dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ethanol yang digunakan maka akan semakin besar kadar antosianin yang didapatkan. Disini dengan menggunakan pelarut etanol 96% dapat menghasilkan kadar antosianin maksimum yaitu 48,260 mg/ 25 gram kelopak kembang sepatu. Hasil yang didapat pada masing-masing konsentrasi juga tidak berbeda jauh dari satu titik ke titik lainnya dikarenakan antosianin tersebut dapat larut dengan baik dalam etanol karena kepolaran kedua zat tersebut mendekati, sehingga semakin tinggi konsentrasi pelarut ethanol yang digunakan maka semakin tinggi konsentrasi antosianin yang didapat.

Dari data-data di atas korelasi hubungan antara konsentrasi pelarut terhadap rendemen maupun kadar antosianin masing-masingnya adalah $R^2=0,9471$ dan $R^2=0,9642$, dimana hasil korelasi yang didapat memenuhi persyaratan $-1 \leq r \leq 1$.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan kelopak bunga kembang sepatu sebagai salah satu sumber antosianin, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Antosianin dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi kelopak bunga kembang sepatu menggunakan pelarut ethanol konsentrat yang menghasilkan ekstrak pekat yang berwarna merah keunguan.
2. Ekstrak antosianin dari kelopak bunga kembang sepatu dipengaruhi oleh konsentrasi pelarut. Pada konsentrasi pelarut Ethanol 96% didapatkan hasil rendemen sebesar 22,05 % dan ekstrak yang didapat lebih pekat

dan kental dibandingkan pelarut lainnya.

3. Pada konsentrasi optimum tersebut didapat kandungan antosianin sebesar 48,260 mg/ 25 gr kelopak bunga kembang sepatu dengan pembacaan hasil ekstrak menggunakan instrument spektrofotometer pada λ 528 nm.

Saran

1. Penelitian ini dapat dikembangkan dengan meneliti variabel seperti jenis dan pH pelarut yang dipakai, suhu maksimum yang dapat dilakukan agar tidak merusak antosianin tersebut, dan lama waktu maserasi.
2. Pelaksanaan penelitian hendaknya dapat diusahakan seteliti mungkin dan secepat mungkin, khususnya pengaturan variabel bebas untuk menghindari penyimpangan data analisis sehingga akurasi hasil penelitian didapatkan secara maksimal.
3. Peneliti tidak dapat menyelesaikan penelitian lebih cepat dikarenakan ketiadaan alat rotary vakum evaporator, sehingga peneliti harus mencari alat tersebut untuk melanjutkan penelitian. Diharapkan laboratorium kampus Universitas Muhammadiyah Jakarta bisa mengadakan alat tersebut untuk mendukung penelitian lainnya.
4. Dari hasil ekstrak dapat dilanjutkan kepada pembuatan serbuk antosianin dengan mencampurkan ekstrak antosianin dengan suatu bahan pengikat seperti maltodextrin dan dikeringkan dengan spray drying, akan tetapi tidak dilakukan karena keterbatasan alat dan waktu.

DAFTAR PUSTAKA

- Arinaldo, B. 2011. PENGARUH PENAMBAHAN KONSENTRASI

ASAM ASETAT PADA PELARUT
ETANOL TERHADAP
EFEKTIVITAS EKSTRAKSI ZAT
WARNA ANTOSIANIN TERUNG
BELANDA. Skripsi. JURUSAN
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI
PERTANIAN UNIVERSITAS
ANDALAS PADANG

2008. "Extraction of Red
Cabbage Anthocyanins:
Optimization of the Operation
Conditions of the Column
Process". Brazzarch. *biol.*
Technol. Vol. 51.

Chanayath, N., Lhieochaipant, S., and
Phutrakul, S. 2000. "Pigment
Extraction Techniques from
the Leaves of *Indigofera
tinctoria* Linn. and
Baphicacanthus cusia Brem. and
Chemical Structure Analysis of
Their Major Components. CMU".
Journal Vol. 1(2) Thailand:
Chiang Mang University, Chiang
Mai.

Gujarati, D.N., (2006), Dasar-Dasar
Ekonometrika, Erlangga, Jakarta

Jothi, D. 2008. "Extraction of
Natural Dyes from African
Marigold Flower (*Tagetes erecta*
L) for Testile Coloration". *AUTEX.*
Research Journal, Vol.8, No. 2.

Mann. 1997. "Kimia Makanan".
Diterjemahkan oleh Kasasik
Padmawanata. Bandung: Institute
Teknologi Bandung.

Mortensen, A. 2006. "Carotenoids and
other pigment as natural
colorant". *Pure Appl. Chem.*, Vol. I.
78, No. 8, pp. 1477-1491.

Sachdewa, A. dan Khemani, L.D..
2003. "Ekstrak etanol bunga
kembang sepatu yang diberikan
per oral pada tikus percobaan
dapat menurunkan gula darah,
total kholestrol dan trigliserida,
serta menaikkan HDL kholestrol"
India: Department of Chemistry,
Faculty of Science, Dayalbagh
Educational Institute.

Winarno, F. G. 1997. "Kimia Pangan
dan Gizi". Jakarta: PT. Gramedia
Pustaka Utama.

Xavier, M. F., Lopes, T. J., Quadri,
M. G. N., and Quadri, M. B.