

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Keamanan Pangan

Menurut Undang-Undang Republik Indonesia No. 18/2012 tentang pangan, keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi. Berbicara mengenai mutu bahan pangan, pasti tidak lepas dari berbagai jenis perincian mutu. Segala garis besar mutu bahan pangan dapat dicirikan berdasarkan mutu sensorik/indrawi/organoleptiknya, mutu kimianya, mutu fisiknya ataupun mutu mikrobiologinya. Mutu sensorik merupakan sifat produk /komoditas pangan yang diukur dengan proses pengindraan menggunakan penglihatan (mata), penciuman (hidung), pencicipan (lidah), perabaan (ujung jari tangan), dan pendengaran (telinga). Beberapa sifat fisik penting dalam bahan pangan adalah berat jenis, titik beku, titik gelatinisasi pati, bilangan penyabunan, dan indeks bias. Dengan kata lain sifat fisik berhubungan dengan karakteristik bahan dan komponennya. Salah satu karakter penting yang berhubungan dengan sifat fisik adalah sifat fungsional dari bahan pangan atau komponennya. Mutu kimia suatu produk pangan ditentukan oleh komposisi bahan (pengukuran kadar air, lemak, protein, karbohidrat, vitamin, mineral) serta perubahannya selama proses pengolahan, termasuk untuk mengetahui kerusakan/kehilangan zat gizi tertentu yang diakibatkan oleh perlakuan selama proses pengolahan. Mutu mikrobiologis suatu produk pangan ditentukan oleh ada tidaknya mikroba pada produk tersebut baik yang bersifat patogen maupun tidak. Adanya mikroba terutama mikroba patogen pada produk pangan akan menyebabkan terjadinya keracunan. Uji dilakukan untuk mengetahui cemaran bakteri, kapang, khamir dan virus (Mamuaja, 2016).

Keamanan pangan adalah segala upaya yang dapat ditempuh untuk mencegah adanya indikasi yang membahayakan pada bahan pangan. Untuk memenuhi kebutuhan akan keadaan bebas dari resiko kesehatan yang disebabkan

oleh kerusakan, pemalsuan dan kontaminasi, baik oleh mikroba atau senyawa kimia, maka keamanan pangan merupakan terpenting baik untuk dikonsumsi pangan dalam negeri maupun untuk tujuan ekspor. Keamanan pangan merupakan masalah kompleks sebagai hasil interaksi antara toksisitas mikrobiologik, toksisitas kimia dan status gizi. Hal ini berkaitan, dimana pangan yang tidak aman akan mempengaruhi kesehatan manusia yang pada akhirnya menimbulkan masalah terhadap status gizi (Windu, 2016).

Nurlaela (2011), menyatakan bahwa keamanan pangan merupakan kebutuhan masyarakat, karena diharapkan melalui makanan yang aman, masyarakat akan terlindungi dari penyakit atau gangguan kesehatan lainnya. Menurut Aminah dan Hidayah (2006), makanan jajanan masih mempunyai resiko terhadap kesehatan seperti infeksi oleh mikroorganisme patogen, keracunan, resiko kanker dan lain sebagainya. Resiko tersebut dapat terjadi karena minimnya pengetahuan tentang keamanan makanan jajanan. Pangan yang tidak aman dapat menyebabkan penyakit yang disebut dengan *foodborne disease*, yaitu gejala penyakit yang timbul akibat mengkonsumsi pangan yang mengandung bahan/senyawa beracun atau organisme patogen (Sucipto, 2015). Menurut pernyataan dari Herman dkk (2015), *Food borne disease* adalah penyakit akibat makanan yang terkontaminasi oleh mikroorganisme atau racun. Makanan yang telah terkontaminasi oleh mikroorganisme atau racun masuk ke dalam tubuh melalui proses pencernaan yang dapat menyebabkan penyakit, seperti *syndrome gastrointestinal* atau gejala *neurologic*.

## **B. Kerupuk Berwarna Merah**

### **1. Kerupuk**

Menurut Standar Industri Indonesia (1985), kerupuk adalah makanan kering yang terbuat dari tepung tapioka atau tepung sagu dengan atau tanpa penambahan bahan tambahan makanan lainnya yang dibutuhkan. Kerupuk adalah bahan kering berupa lempengan tipis yang terbuat dari adonan yang bahan utamanya adalah pati (Tarwiyah, 2001). Kerupuk adalah makanan ringan yang dibuat dari adonan tepung tapioka dicampur dengan bahan perasa seperti udang atau ikan. Pada dasarnya

bahan baku pembuatan kerupuk adalah tepung tapioka dan tepung terigu saja dimana tepung terigu merupakan produk impor dari luar Indonesia (Wahyuningtyas dkk, 2014).

Kerupuk adalah suatu jenis makanan kering yang terbuat dari bahan-bahan yang mengandung pati cukup tinggi. Pengertian lain menyebutkan bahwa kerupuk merupakan jenis makanan kecil yang mengalami pengembangan volume membentuk produk yang porus dan mempunyai densitas rendah selama proses penggorengan. Demikian juga produk ekstrusi akan mengalami pengembangan pada saat pengolahannya. Pengembangan kerupuk merupakan proses ekspansi tiba-tiba dari uap air dalam struktur adonan sehingga diperoleh produk yang volumenya mengembang dan porus. Pada dasarnya kerupuk mentah diproduksi dengan gelatinisasi pati adonan pada tahap pengukusan, selanjutnya adonan dicetak dan dikeringkan. Pada proses penggorengan akan terjadi penguapan air yang terikat dalam gel pati akibat peningkatan suhu dan dihasilkan tekanan uap yang mendesak gel pati sehingga terjadi pengembangan dan sekaligus terbentuk rongga-rongga udara pada kerupuk yang telah digoreng (Koswara, 2009).

## 2. Jenis-jenis Kerupuk

Menurut Setiawan dkk. (2013) kerupuk dibedakan atas dua kelompok, yaitu kerupuk kasar dan kerupuk halus. Kerupuk kasar dibuat dari bahan baku tepung dengan penambahan bumbu-bumbu saja, sedangkan kerupuk halus terbuat dari bahan baku tepung dan biasanya selain bumbu-bumbu juga ditambah bahan-bahan lain, seperti udang, telur, dan sebagainya.

Berdasarkan penggunaan proteinnya, kerupuk dibagi menjadi kerupuk tidak bersumber protein dan kerupuk bersumber protein. Kerupuk bersumber protein merupakan kerupuk yang mengandung protein, baik protein hewani maupun nabati. Sedangkan kerupuk bukan sumber protein, tidak ditambahkan bahan sumber protein seperti ikan, udang, kedelai dan sebagainya dalam proses pembuatannya (Chaniago, 2019).

### 3. Pembuatan Kerupuk

Menurut Koswara (2009), Pembuatan kerupuk secara umum terdiri dari tiga tahap penting, yaitu pembuatan adonan, pencetakan adonan dan pengeringan.

- Pembuatan adonan kerupuk

Pembuatan adonan kerupuk dilakukan dengan mencampurkan bahan utama dan bahan-bahan tambahan yang diaduk secara merata, lalu diuleni dengan tangan sehingga dihasilkan adonan yang liat dan homogen.

- Pencetakan adonan kerupuk

Pencetakan adonan kerupuk dimaksudkan untuk memperoleh bentuk dan ukuran yang seragam. Keseragaman ukuran penting untuk memperoleh penampakan dan penetrasi panas yang merata sehingga memudahkan proses penggorengan dan menghasilkan kerupuk goreng dengan warna yang seragam.

- Pengeringan

Proses pengeringan kerupuk mentah bertujuan untuk menghasilkan bahan dengan kadar air tertentu. Pengeringan kerupuk bertujuan juga untuk pengawetan, pengurangan ongkos transportasi dan mempertahankan mutu.

## C. Bahan Tambahan Pangan

### 1. Pengertian Bahan Tambahan Pangan

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.033/MenKes/2012, Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan yang tidak digunakan sebagai bahan baku pangan, tidak mempunyai nilai gizi yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan, dan/atau pengangkutan untuk menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan baik secara langsung maupun tidak.

## 2. Penggolongan Bahan Tambahan Pangan

Berdasarkan fungsinya, menurut Peraturan Menkes No. 235 tahun 1979, BTP dapat dikelompokkan menjadi 14 yaitu :

- Antioksidan
- Antikempal
- Pengasam, penetral dan pendapar
- Enzim
- Pemanis buatan
- Pemutih dan pematang
- Penambah gizi
- Pengawet
- Pengemulsi, pemantap dan pengental
- Peneras
- Pewarna sintetis dan alami
- Penyedap rasa dan aroma, Sekuestran; dll.

BTP dikelompokkan berdasarkan tujuan penggunaannya di dalam pangan. Pengelompokkan BTP yang diizinkan digunakan pada makanan dapat digolongkan sebagai :

- Pewarna
- Pemanis buatan
- Pengawet
- Antioksidan
- Antikempal
- Penyedap dan penguat rasa serta aroma
- Pengatur keasaman
- Pemutih dan pematang tepung
- Pengemulsi
- Pemantap dan pengental
- Pengeras, Sekuestran, Humektan, Enzim dan Penambah gizi.

### 3. Tujuan Penambahan Bahan Tambahan Pangan

Menurut Yuliarti (2007), Bahan Tambahan Pangan dalam kehidupan sehari – hari sudah marak penggunaannya dalam pembuatan berbagai macam makanan, adapun fungsi dan tujuan penggunaan bahan tambahan pangan pada pangan diantaranya yaitu untuk :

- Mengawetkan pangan dengan mencegah pertumbuhan mikroba perusak pangan atau mencegah terjadinya reaksi kimia yang dapat menurunkan mutu pangan.
- Membentuk pangan menjadi lebih baik, renyah dan lebih enak di mulut
- Memberikan warna dan aroma yang lebih menarik sehingga menambah selera.
- Meningkatkan kualitas pangan.
- Menghemat biaya.

Adapun tujuan lain penambahan Bahan Tambahan Pangan dalam makanan menurut Saparinto dan Hidayati (2006) secara umum adalah untuk meningkatkan nilai gizi makanan, memperbaiki nilai estetika dan sensori makanan, memperpanjang umur simpan (*shelf life*) makanan.

## **D. Pewarna Bahan Pangan**

### 1. Pengertian Pewarna Bahan Pangan

Penentuan mutu bahan pangan pada umumnya sangat bergantung pada beberapa faktor, seperti cita rasa, tekstur, dan nilai gizinya, juga sifat mikrobiologis. Tetapi, sebelum faktor-faktor lain dipertimbangkan, secara visual faktor warna tampil lebih dahulu dan kadang-kadang sangat menentukan (Cahyadi, 2008). Menurut pernyataan Winarno (2004), warna merupakan salah satu aspek penting dalam hal peberimaan konsumen terhadap suatu produk pangan. Warna dalam bahan pangan dapat menjadi ukuran terhadap mutu, warna juga dapat digunakan sebagai indikator ksesgaran atau kematangan.

Zat pewarna adalah bahan tambahan pangan yang dapat memperbaiki warna makanan yang berubah atau menjadi pucat selama proses pengolahan atau untuk memberi warna pada makanan yang tidak berwarna agar kelihatan lebih menarik (Winarno, 2005). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 033 tahun 2012, pewarna adalah bahan tambahan pangan berupa pewarna alami dan pewarna sintetis, yang ketika ditambahkan atau diaplikasikan pada pangan, mampu memberi atau memperbaiki warna.

## 2. Tujuan Penambahan Zat Pewarna

Penambahan zat pewarna pada makanan menurut Winarno (2004) adalah sebagai berikut :

- Memberikan kesan menarik bagi konsumen
- Menyeragamkan dan menstabilkan warna makanan
- Menutupi perubahan warna akibat proses pengolahan dan penyimpanan.

## 3. Klasifikasi Zat Pewarna Bahan Pangan

Zat pewarna yang digunakan dalam produksi pangan dapat berupa zat pewarna alami maupun sintetis/buatan. Zat pewarna alami dapat diperoleh dari pigmen tanaman, misalnya warna hijau yang didapat dari klorofil dedaunan hijau dan warna oranyemerah yang berasal dari karotenoid wortel. Sedangkan zat pewarna sintetis merupakan zat pewarna yang sengaja dibuat melalui pengolahan industri. Zat pewarna sintetis biasanya digunakan karena komposisinya lebih stabil, seperti Sunset yellow FCF yang memberi warna oranye, Carmoisine untuk warna merah, serta Tartrazine untuk warna kuning.

Pada produk pangan yang perlu dihindari adalah penggunaan zat pewarna yang berlebihan, tidak tepat, dan penggunaan zat pewarna berbahaya yang tidak diperuntukkan untuk pangan karena dapat memberikan dampak negatif terhadap kesehatan. Penggunaan zat pewarna baik alami maupun buatan sebagai bahan tambahan makanan telah diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor

722/MenKes/Per/VI/88 mengenai Bahan Tambah Makanan. Sedangkan zat warna yang dilarang digunakan dalam pangan tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 239/MenKes/Per/V/85 mengenai Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan sebagai Bahan Berbahaya diantaranya adalah Rhodamin B dan Methalyn Yellow (Sajiman, Nurhamidi dan Mahpolah, 2015).

**Tabel 2.1 Sifat-Sifat Bahan Pewarna Alami**

Kelompok	Warna	Sumber	Kelarutan	Stabilitas
Karamel	Cokelat	Gula dipanaskan	Air	Stabil
Anthosianin	Jingga merah biru	Tanaman	Air	Peka terhadap panas dan pH
Flavonoid	Tanpa kuning	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Leucoanthosianin	Tidak berwarna	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Tannin	Tidak berwarna	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Batalain	Kuning, merah	Tanaman	Air	Sensitif terhadap panas
Quinon	Kuning-hitam	Tanaman bakteria lumut	Air	Stabil terhadap panas
Xanthon	Kuning	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Karotenoid	Tanpa kuning- merah	Tanaman/hewan	Lipida	Stabil terhadap panas
Klorofil	Hijau, cokelat	Tanaman	Lipida dan Air	Sensitif terhadap panas
Heme	Merah, cokelat	Hewan	Air	Sensitif terhadap panas

Sumber: Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambah Pangan (2008)

**Tabel 2.2 Bahan Pewarna Sintetis yang Diizinkan di Indonesia**

Pewarna		Nomor Indeks Warna (C.I.No.)	Batas Maksimum Penggunaan
Amaran	Amaranth: CI Food Red 9	16185	Secukupnya
Biru Berlian	Brilliant blue FCF : CI Food red 2	42090	Secukupnya
Eritrosin	Erithrosin : CI Food red 14	45430	Secukupnya
Hijau FCF	Fast green FCF : CI	42053	Secukupnya



	Food green 3		
Hijau S	Green S : CI Food green 4	44090	Secukupnya
Indigotin	Indigotin : CI Food Blue I	73015	Secukupnya
Ponceau 4R	Ponceau 4R : CI Food red 7	16255	Secukupnya
Kuning Kuinelin	Quineline yellow : CI Food yellow 13	74005	Secukupnya
Kuning FCF	Sunset yellow FCF : CI Food yellow 3	15980	Secukupnya
Riboflavin	Riboflavina	-	Secukupnya
Tartrazine	Tartrazine	19140	Secukupnya

Sumber : Peraturan Menkes RI Nomor 722/Menkes/Per/IX/88

**Tabel 2.3 Bahan Pewarna Sintetis yang Dilarang di Indonesia**

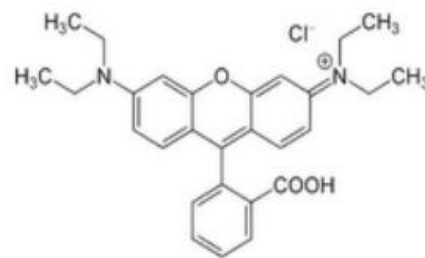
Bahan Pewarna		Nomor Indeks Warna (C.I.No.)
Citrus red No.2		12156
Ponceau 3 R	(Red G)	16155
Ponceau SX	(Food Red No. 1)	14700
Rhodamine B	(Food Red No.5)	45170
Guinea Green B	(Acid Green No.3)	42085
Magenta	(Basic Violet No.14)	42510
Chrysoidine	(Basic Orange No.2)	11270
Butter Yellow	(Solvent Yellow No.2)	11020
Sudan I	(Food Yellow No.2)	12055
Methanil Yellow	(Food Yellow No.14)	13065
Auramine	(Ext. D & C Yellow No.1)	41000
Oil Oranges SS	(Basic Yellow no.2)	12100
Oil Oranges XO	(Solvent Oranges No.7)	12140
Oil Yellow AB	(Solvent Oranges No.5)	11380
Oil Yellow OB	(Solvent Oranges No.6)	11390

Sumber : Peraturan Menkes RI Nomor 722/Menkes/Per/IX/88

Di Indonesia, peraturan mengenai penggunaan zat pewarna yang diizinkan dan dilarang untuk pangan diatur melalui SK Menteri Kesehatan RI Nomor 722/Menkes/Per/IX/88 mengenai bahan pangan. Akan tetapi, seringkali terjadi penyalahgunaan pemakaian zat pewarna untuk sembarang bahan pangan, misalnya zat pewarna untuk tekstil dan kulit dipakai untuk mewarnai bahan pangan. Hal ini jelas sangat

berbahaya bagi kesehatan karena adanya residu logam berat pada zat pewarna tersebut. Timbulnya penyalahgunaan tersebut antara lain disebabkan oleh ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk pangan, dan disamping itu harga zat pewarna untuk industri jauh lebih murah dibandingkan dengan harga zat pewarna untuk pangan (Cahyadi 2008).

### E. Rhodamin B



**Gambar 2.1 Struktur Kimia Rhodamin B**

Sumber: Wisnu, 2008

Rhodamin B adalah pewarna terlarang yang sering ditemukan pada makanan, terutama makanan jajanan. Rhodamin B, yaitu zat pewarna berupa serbuk kristal berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau, serta mudah larut dalam larutan warna merah terang berfluoresan sebagai bahan pewarna tekstil atau pakaian. Jenis jajanan yang banyak dijumpai dan dicampuri dengan Rhodamin B, antara lain bubur delima, cendol, kolangkaling, cincau dan kue-kue lainnya. Setelah dicampuri bahan ini makanan tersebut menjadi berwarna merah muda terang (Yamlean, 2011).

Menurut pernyataan Sajiman dkk. (2015), Rhodamin B sering disalahgunakan pada pembuatan kerupuk, terasi, cabe merah giling, agar-agar, aromanis/kembang gula, manisan, sosis, sirup, minuman, dan lain-lain. Ciri-ciri pangan yang mengandung rhodamin B antara lain warnanya cerah mengkilap dan lebih mencolok, terkadang warna terlihat tidak homogen (rata), ada gumpalan warna pada produk, dan bila dikonsumsi rasanya sedikit lebih pahit.

Penggunaan Rhodamin B pada makanan dalam waktu yang lama (kronis) akan dapat mengakibatkan gangguan fungsi hati maupun kanker. Namun demikian, bila terpapar Rhodamin B dalam jumlah besar maka dalam waktu singkat akan terjadi gejala akut keracunan Rhodamin B. Bila Rhodamin B tersebut masuk melalui makanan maka akan mengakibatkan iritasi pada saluran pencernaan dan mengakibatkan gejala keracunan dengan air kencing yang berwarna merah atau merah muda. Dengan menghirup Rhodamin B dapat pula mengakibatkan gangguan kesehatan, yakni terjadinya iritasi pada saluran pernapasan. Demikian pula apabila zat kimia ini mengenai kulit, maka kulit pun akan mengalami iritasi. Mata yang terkena Rhodamin B juga akan mengalami iritasi yang ditandai dengan mata kemerahan dan timbunan cairan atau udem pada mata (Yuliarti, 2007).

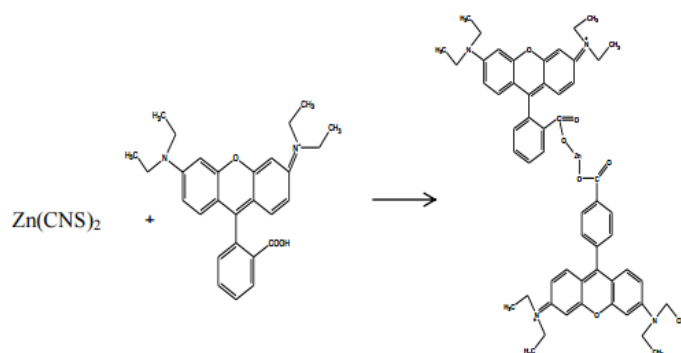
Berbagai penelitian dan uji telah membuktikan bahwa dari penggunaan zat pewarna ini pada makanan dapat menyebabkan kerusakan pada organ hati. Pada uji terhadap mencit, diperoleh hasil yaitu terjadi perubahan sel hati dari normal menjadi nekrosis dan jaringan disekitarnya mengalami disintegrasi atau disorganisasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya piknotik dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma, batas antar sel tidak jelas, susunan sel tidak teratur dan sinusoid tidak utuh. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin berat sekali tingkat kerusakan jaringan hati mencit (Yamlean, 2011).

#### **F. Tinjauan Reaksi Reagen $Zn(CNS)_2$**

Ligan  $CNS^-$  merupakan salah satu ligan jembatan yang bisa menghubungkan dua atom pusat untuk membentuk senyawa koordinasi inti ganda. Ligan ini mudah diperoleh dan tidak bersifat racun serta tidak reaktif sehingga aman untuk penelitian (Budavari, 2001). Ligan  $CNS^-$  dapat diperoleh dari garam kalium tiosianat ( $KCNS$ ) maupun natrium tiosianat ( $NaCNS$ ). Kompleks tiosianat dari beberapa logam, khususnya Co, Hg dan Fe telah diketahui dengan baik dan secara ekstensif telah dipelajari, namun masih sedikit perhatian terhadap kompleks tiosianat dari Zn. Keberadaan suatu ion kompleks ini, ditunjukkan oleh walden dengan mengisolasi padatan

$K_2Zn(CNS)_4 \cdot 2H_2O$  (Ringbom, 1963). Pada strukturnya, ligan  $CNS^-$  mempunyai dua atom donor yang dapat disumbangkan ke atom pusat, yaitu atom donor N dan atom donor S (Setyawati, 2007).

Jika rhodamin B direaksikan dengan Zn-tiosianat ( $Zn(CNS)_2$ ) yaitu perubahan warna larutan dari larutan berwarna merah menjadi berwarna ungu. Perubahan warna ini disebabkan karena terbentuknya senyawa kompleks Zn-tiosianat-rhodamin B ( $(RB)_2Zn(CNS)_4$ ).



**Gambar 2.2 Dugaan reaksi  $Zn(CNS)_2$  dengan rhodamin B**

Sumber: Prabowo, (2012)

### G. Analisis Kolorimetri secara Pencitraan Digital

Kolorimetri merupakan suatu teknik analisis kuantitatif untuk sampel berwarna, yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu zat berdasarkan intensitas cahaya warna larutan. Pengembangan teknik analisis kolorimetri dengan menggunakan alat yang sederhana dan relatif mudah penggunaannya telah dilakukan oleh beberapa peneliti diantaranya telah melakukan penelitian dengan menggunakan alat scanner dan teknik pencitraan digital dari sampel larutan pewarna makanan. Kurva standar yang dihasilkan merupakan hasil pengolahan data dengan teknik pencitraan digital. Di mana hasil pencitraan digital diperoleh 1 (satu) buah kurva standar untuk salah satu komponen warna RGB. Intensitas cahaya warna yang dihasilkan oleh setiap larutan berwarna setara dengan konsentrasinya. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah kurva standar untuk komponen warna RGB, yaitu komponen warna *Red* (R), *Green* (G), dan *Blue* (B) untuk setiap sampel yang diukur, tidak hanya salah satu warna yang digunakan sebagai kurva standarnya seperti yang dilakukan oleh peneliti

sebelumnya (Rusmawan dkk, 2011). Teknik ini menggunakan software *Image J* 1.48 untuk menghasilkan intensitas pada masing-masing warna komplementer, merah, hijau, biru kemudian diolah dalam penentuan absorbansi dengan menggunakan persamaan Lambert-Beer (Rismiarti, 2018).

#### **H. Image J**

Program *Image J* digunakan untuk penentuan nilai *RGB* dengan didasarkan pada hasil perhitungan nilai yang mewakili dari tiga warna primer *red*, *green* dan *blue*. Pemilihan *red*, *green* dan *blue* karena merupakan warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum. Selain itu, ketiga warna tersebut dapat bergabung secara bersamadan membentuk banyak warna. Cahaya putih diperoleh ketika intensitas tertinggi dari setiap warna digabungkan secara bersama sedangkan cahaya hitam akan terbentuk ketika setiap warna digabungkan secara bersama pada intensitas yang sama dengan nol (Ferreira dan Rasband, 2010). Menurut hasil penelitian Robot, dkk (2018), pengukuran dalam bentuk citra digital menggunakan perangkat lunak ImageJ sangat efektif untuk diterapkan. Pada penelitian ini, sebelum semua data citra diukur secara otomatis menggunakan perangkat *ImageJ*, sebelumnya dilakukan uji beberapa daun untuk diukur secara manual. Hasil pengukuran secara manual kemudian dibandingkan dengan pengukuran secara otomatis menggunakan *ImageJ*. Data yang dihasilkan dari pengukuran secara otomatis menunjukkan hasil yang sama dengan pengukuran manual.