

## I. PENDAHULUAN

Bab ini akan menjelaskan tentang : (1) Latar Belakang Penelitian, (2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pemikiran, (6) Hipotesa Penelitian dan (7) Tempat dan Waktu penelitian.

### 1.1. Latar Belakang Penelitian

*Mulberry* atau murbei atau bebesaran (latin: *Morus Alba L.*) adalah tanaman yang asli berasal dari daerah tropis dan subtropis di Amerika, Afrika dan Asia. Asia merupakan asal dari mayoritas spesies asli murbei. Oleh karena struktur wilayah Indonesia yang berada pada wilayah lintas garis khatulistiwa dengan sinar matahari yang melimpah sepanjang tahun, murbei banyak ditemukan di Indonesia. Tumbuhan ini tumbuh baik pada daerah dengan ketinggian 10-150 meter dpl. Pada umumnya tanaman ini dibudidayakan untuk jadi makanan ulat sutera. Tak heran jika murbei banyak ditanam di daerah penghasil sutera alam seperti Jepara dan Temanggung. Di Jawa Barat sendiri penghasil tanaman murbei banyak ditemukan di daerah Lembang, Maribaya, dan Pangalengan.

Luas lahan aktual tanaman murbei yang digunakan untuk persuteraan alam yang telah berproduksi pada tahun 1997/1998 di Indonesia tercatat kurang lebih 400 hektar, terdiri dari usaha tani persuteraan alam intensif dan yang masih dalam masa pertumbuhan seluas 200 hektar. Sedangkan usahatani persuteraan alam tradisional yang telah dirintis sejak 20 tahun yang lalu seluas 2000 hektar.

Daun murbei memiliki banyak manfaat, selain enak dibuat sayur dan berkhasiat untuk peluruh keringat, peluruh kencing, mendinginkan darah, pereda demam, penerang penglihatan, penurun tekanan darah tinggi, mengatasi diabetes melitus, memperbanyak ASI, mengatasi gangguan pencernaan, kolesterol tinggi, sakit kulit, kaki gajah, sakit kepala dan malaria. Selain itu daun murbei juga memiliki kadar klorofil yang cukup tinggi, sehingga sangat cocok untuk dijadikan pewarna alami.

Warna merupakan faktor yang cukup penting bagi banyak makanan, baik makanan yang tidak di proses maupun makanan yang telah diolah di banyak industri pangan. Sama halnya bau, rasa dan tekstur, warna memegang peranan yang sangat penting dalam penerimaannya oleh konsumen. Selain itu warna juga dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia yang terjadi di dalam makanan, seperti pencoklatan dan pengkaramelan (deMan, 1997)

Pewarna tambahan didefinisikan sebagai zat warna atau bahan lain yang dibuat dengan cara sintesis atau kimiawi, hewan atau sumber lain yang diekstraksi, diisolasi, bila ditambahkan atau digunakan ke bahan makanan atau obat bisa menjadi bagian dari warna bahan tersebut (Tranggono dkk, 1990)

Beberapa pewarna alami yang berasal dari tanaman dan hewan, diantaranya adalah klorofil, mioglobin dan hemoglobin, anthosianin, flavonoid, tannin, betalain, quinon dan xanthon, serta karotenoid (Cahyadi, 2006).

Adanya keterbatasan pasokan pewarna alami menimbulkan usaha-usaha untuk mengembangkannya. Salah satunya yaitu dengan peningkatan nilai

ekonomis daun mulberry melalui isolasi klorofil, mengingat akan pentingnya dan bergunanya klorofil bagi kehidupan baik di bidang pangan maupun non pangan.

Zat pewarna sintetis pada umumnya banyak digunakan oleh banyak industri pangan, karena memiliki banyak keunggulan diantaranya stabilitas warna dan variasi warnanya lebih baik dibandingkan dengan zat pewarna alami (Winarno, 1997).

Pewarna sintetis yang diizinkan di Indonesia contohnya antara lain amaranth, eritrosin, biru berlian, ponceau 4R, hijau s, indigotin, sedangkan pewarna sintetis yang dilarang antarlain rhodamin B, guinea green B, magenta, methanil yellow (Cahyadi, 2006).

Penggunaan pewarna makanan alami semakin lama semakin ditinggalkan produsen makanan. Hal ini disebabkan oleh karena kurang praktis dalam pemakaiannya terkait dengan belum adanya pewarna alami yang dijual di pasaran sehingga produsen makanan harus membuat sendiri pewarna makanan yang dibutuhkan tersebut. Disamping itu kelemahan dari penggunaan pewarna alami adalah warna yang kurang stabil yang bisa disebabkan oleh perubahan pH, proses oksidasi, pengaruh cahaya dan pemanasan, sehingga intensitas warnanya sering berkurang selama proses pembuatan makanan. Pigmen dari alam mempunyai sifat fisika dan kimia yang berbeda-beda. Kebanyakan sensitif terhadap proses oksidasi, perobahan pH dan cahaya (Downham et al, 2000).

Klorofil atau pigmen utama tumbuhan banyak dimanfaatkan sebagai food supplement yang dimanfaatkan untuk membantu mengoptimalkan fungsi

metabolik, sistem imunitas, detoksifikasi, meredakan radang (inflamatorik) dan menyeimbangkan sistem hormonal (Limantara, 2007).

Salah satu sifat kimia klorofil yang penting adalah ketidakstabilan yang ekstrim, seperti sensitif terhadap cahaya, panas, oksigen, dan degradasi kimia yang meliputi reaksi feofitinasia reaksi pembentukan klorofilid, dan reaksi oksidasi (Gross, 1991).

Hambatan terhadap hasil ekstrak pigmen hijau adalah dengan terjadinya berbagai kerusakan terhadap warna yang dihasilkan. Klorofil yang berwarna hijau dapat berubah menjadi hijau kecoklatan dan mungkin berubah menjadi coklat akibat adanya perlakuan-perlakuan selama pengolahan seperti perlakuan asam, panas tinggi dan browning enzimatis (Putri dkk, 2003).

Untuk mendapatkan warna hijau yang maksimal maka perlu digunakan larutan pengestrak yang cocok dengan sifat klorofil dimana klorofil bisa larut di dalamnya. Proses lain seperti *blanching* juga perlu diterapkan dalam ekstraksi karena dengan adanya *blanching* akan menghambat kerja dari enzim klorofilase (Putri dkk, 2003).

## **1.2. Identifikasi Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, masalah yang dapat diidentifikasi untuk penelitian yaitu:

1. Bagaimana pengaruh perlakuan *blanching* terhadap karakteristik pewarna alami daun *mulberry*?
2. Bagaimana pengaruh jenis bahan pengestrak terhadap karakteristik pewarna alami daun *mulberry*?

3. Bagaimana pengaruh interaksi antara perlakuan *blanching* dan jenis bahan pengekstrak terhadap karakteristik pewarna alami daun *mulberry*?

### **1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian**

Maksud dari penelitian adalah untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh perlakuan *blanching* dan jenis bahan pengekstrak sehingga didapatkan perlakuan dan jenis bahan pengekstrak terbaik dan yang diinginkan sehingga didapatkan pewarna alami yang baik dan aman untuk dikonsumsi.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan *blanching* dan jenis bahan pengekstrak terhadap karakteristik pewarna alami daun *mulberry*.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian adalah untuk meningkatkan nilai ekonomis daun *mulberry* dan penganeekaragaman (diversifikasi) dari daun *mulberry* sebagai pewarna hijau alami.

### **1.5. Kerangka Pemikiran**

Ekstraksi yang tepat untuk mendapatkan ekstrak klorofil daun yaitu dengan cara maserasi, dimana bahan direndam selama beberapa jam dengan pelarut. Cara maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana dan mudah digunakan. Ekstraksi ini digunakan dua kali (remaserasi) yaitu dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama (Ketut, 2000).

Pada proses ekstraksi terdapat juga beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ekstrak yang dihasilkan, diantaranya jenis perlakuan pada bahan

baku yang akan di ekstrak, serta jenis bahan pengestrak yang digunakan juga dapat mempengaruhi banyaknya ekstrak yang dihasilkan.

Proses seperti *blanching* juga perlu diterapkan dalam ekstraksi karena dengan adanya blanching akan menghambat kerja dari enzim klorofilase sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya degradasi warna atau bahkan penurunan kuantitas klorofil. *Blanching* dapat dilakukan dengan pencelupan bahan yang dalam hal ini daun suji ke dalam air panas 100°C selama kurang lebih 1 menit. Keberadaan pencelupan air mendidih ini selain dapat menghambat kerja enzim, dapat pula membunuh sel tumbuhan sehingga organel kloroplas kemudian hancur dan klorofil dapat keluar dengan mudah (T. Robinson, 1995)

Perlakuan *blanching* pada daun suji dapat dilangsungkan dengan air panas pada temperatur dan waktu *blanching* berbeda-beda. Pada penelitian Lira Oktaviani (1987) *blanching* dilakukan dengan air pada suhu 100°C selama 1 menit, sedangkan menurut Kurniawati Wulan Sari, *blanching* dapat dilakukan pada suhu 75°C selama 30 menit. Perbedaan temperatur dan lamanya waktu *blanching* ini sendiri didasarkan pada berbagai pertimbangan peneliti, namun yang jelas perlakuan *blanching* sangat perlu dilakukan dalam mengawali proses ekstraksi klorofil (Prasetyo dkk, 2012).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Putri dkk (2003), bahwa terdapat kecenderungan kenaikan jumlah total klorofil dengan menggunakan jenis larutan pengestrak yang berbeda (air, alkohol 85%, aseton 85%). Berdasarkan analisa ragam perlakuan jenis pengestrak dan perlakuan *blanching* pada suhu

70°C selama 10 menit memberikan pengaruh yang sangat nyata ( $\alpha=0,01$ ) terhadap jumlah klorofil.

Menurut Putri, dkk (2003) total klorofil ekstrak daun paling besar didapatkan pada perlakuan tanpa diberi perlakuan *blanching* dengan total klorofil sebesar 10,84%. Sedangkan dengan diberi perlakuan *blanching* pada suhu 70°C selama 10 menit memiliki total klorofil 8,17%.

Penurunan total klorofil akibat perlakuan *blanching* karena adanya *blanching* suhu 70°C selama 10 menit, perlakuan panas akan menyebabkan klorofil dirubah menjadi *pheophytin* dengan substitusi magnesium oleh hidrogen pada saat pemanasan sehingga total klorofil ekstrak daun suji menjadi lebih rendah (Putri dkk, 2003).

Reaksi feofitinisasi yang biasa terjadi dapat dilihat pada proses perebusan sayuran yang mengandung klorofil. Klorofil terdapat dalam bentuk terikat secara kompleks dengan molekul protein. Pada proses perebusan tersebut, protein dari senyawa kompleks tersebut akan mengalami denaturasi, sehingga klorofil akan dibebaskan. Klorofil yang bebas ini sangat tidak stabil, dan ion magnesium yang terdapat di dalamnya dapat dengan mudah digantikan oleh ion hidrogen. Akibatnya warna sayuran yang semula hijau berubah menjadi kecoklatan karena terbentuknya feofitin (Prasetyo dkk, 2012).

Menurut laporan Mac Kinney dan Weast (1940) bahwa aktifitas maksimum dari enzim klorofilase adalah 75°C. Jones *et al.* (1963) melaporkan bahwa blansir pada temperatur 100°C selama 4 detik secara nyata menginaktivasi enzim klorofilase. Hal ini ditandai dengan sedikitnya atau tidak ada perubahan ke arah

pembentukan klorofilid atau feoforbid (F.Salisbury dan C.W. Ross, 1995) (Prasetyo dkk, 2012).

Pada temperatur kamar enzim klorofilase hanya aktif jika ada pelarut-pelarut organik. Sedangkan dalam pelarut air, fungsi enzim akan optimum pada kisaran temperatur 65 - 75 °C. Diduga hal ini diakibatkan oleh keadaan enzim yang secara fisik terikat kuat pada lipoprotein lamela. Menurut laporan Mac Kinney dan Weast (1940) bahwa aktifitas maksimum dari enzim klorofilase adalah 75°C. Jones et al. (1963) melaporkan bahwa blansir pada temperatur 100°C selama 4 detik secara nyata menginaktivasi enzim klorofilase. Hal ini ditandai dengan sedikitnya atau tidak ada perubahan ke arah pembentukan klorofilid atau feoforbid. (F.Salisbury dan C.W. Ross, 1995)

Pemanasan merupakan proses fisika yang dapat mengakibatkan kerusakan klorofil. Klorofil terdapat dalam bentuk ikatan kompleks dengan protein yang diduga menstabilkan molekul klorofil dengan cara memberikan ligan tambahan. Pemanasan dapat mengakibatkan denaturasi protein sehingga klorofil menjadi tidak terlindung lagi. Selama pemanasan, asam-asam organik dalam jaringan dibebaskan yang mengakibatkan pembentukan feofitin. Pemanasan juga memberi pengaruh terhadap aktivitas enzim klorofilase dan enzim lipoksigenase. Pengaruh blansir pada sayuran hijau terhadap pembentukan klorofilid dan feoforbid menunjukkan bahwa blansir pada temperatur 82,2°C meningkatkan aktivitas enzim klorofilase, tetapi blansir pada temperatur 100°C membuat klorofilase inaktif (J.B.Harborne, 1987; Othmer, 1993 ; Prasetyo dkk, 2012).

Pada dasarnya isolasi klorofil yang pernah dilakukan terhadap daun suji dilakukan melalui mekanisme ekstraksi padat-cair. Pemilihan pelarut termasuk salah satu faktor penting dalam kesuksesan unjuk kerja proses ekstraksi padat cair. (Gamse,2002; Sayyar, 1999) Beberapa jenis pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi klorofil adalah aseton 80 %, etanol 95 %, dan air (Prasetyo dkk, 2012).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pitriani (2003), menunjukkan bahwa alkohol merupakan pelarut yang paling baik dan dapat menarik atau melarutkan pigmen klorofil dari daun. Dengan konsentrasi pelarut yang sama serta perbandingan daun dengan pelarut 1:10. Pengukuran absorban dilakukan pada panjang gelombang 660nm berdasarkan gelombang maksimum untuk klorofil standar dihasilkan nilai absorban untuk ekstrak yang menggunakan pelarut alkohol sebesar 1,898 sedangkan ekstrak yang menggunakan pelarut aseton sebesar 0,950.

Jumlah klorofil terekstrak di dalam ekstrak daun semakin besar apabila menggunakan alkohol 85% dan aseton 85% sebagai larutan pengestrak, diduga karena alkohol 85% dan aseton 85% memiliki tingkat kepolaran yang lebih mendekati tingkat kepolaran klorofil dibandingkan air sebagai larutan pengestrak. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, rerata total klorofil daun dengan larutan pengestrak air adalah 6,23 ppm; alkohol 85% adalah 10,25 ppm; dan aseton 85% adalah 12,03 ppm (Putri dkk, 2003). Hal ini diperkuat oleh Fennema (1996) bahwa klorofil lebih mudah terekstrak dengan menggunakan etanol dan aseton.

Menurut hasil penelitian Fiqi Ferdian (2007), bahwa kandungan ekstrak klorofil lebih banyak dihasilkan dengan menggunakan pelarut alkohol dibandingkan aseton dan n-heksan, hasil yang diperoleh menggunakan pelarut alkohol sebesar 2739,00 ppm, sedangkan hasil ekstrak klorofil dengan menggunakan pelarut aseton dan n-heksan sebesar 1740,44 ppm dan 2165,95 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa alkohol yang memiliki sifat bipolar larut dengan air bereaksi lebih cepat dalam memecah kloroplas dan menarik klorofil dari daun, sehingga kadar klorofil yang dihasilkan lebih tinggi dari pada pelarut aseton dan n-heksan. Kemudian alkohol juga memiliki polaritas yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut aseton dan n-heksan sehingga klorofil cenderung lebih banyak melarut dengan alkohol dibandingkan dua pelarut lainnya.

Pelarut n-hexan dan aseton memiliki titik didih yang rendah dibandingkan dengan alkohol, kemudian n-hexan dan aseton juga memiliki sifat tidak larut sedikit larut dalam air dibandingkan dengan alkohol akibatnya pelarut tersebut lebih sedikit memecah kloroplas dan melakukan panarikan klorofil dari daun. Sehingga jumlah klorofil yang dihasilkan lebih sedikit (Ferdian, 2007).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Pitriani (2003), pelarut alkohol yang paling optimal dapat melarutkan pigmen klorofil adalah pada konsentrasi alkohol 95%. Terlihat pada perbandingan daun suji dengan alkohol 1:5 dan konsentrasi alkohol 95% memiliki nilai konsentrasi pigmen klorofil paling tinggi yaitu 33,106 ppm dibandingkan dengan perlakuan-perlakuan lainnya. Semakin kecil konsentrasi alkohol maka pigmen klorofil yang dihasilkan akan semakin rendah,

juga sebaliknya semakin besar konsentrasi alkohol sebagai pengestraksi maka konsentrasi pigmen klorofil akan semakin tinggi.

Klorofil memiliki kemudahan terekstrak dengan pelarut organik seperti aseton, alkohol, metanol, etil asetat, piridin dan dimetilformamid (Fennema, 1996). Menurut De Man (1997) Klorofil yang masih memiliki gugus *fitol* memiliki daya larut terhadap air yang rendah (Putri dkk, 2003).

Penggunaan jenis bahan pengestrak yang dipilih untuk mengekstrak klorofil pada daun *mulberry* yaitu alkohol, aseton, dan n-hexan. Jenis bahan pengestrak tersebut dipilih karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan jenis bahan pengestrak lain diantaranya karena mudah didapatkan, harga yang terjangkau, serta ketiga jenis bahan pengestrak tersebut memiliki titik didih yang tidak terlalu rendah sehingga dapat memecah kloroplas dan menarik klorofil dari daun *mulberry*, selain itu ketiga jenis bahan pengestrak tersebut memiliki nilai konstanta dielektrikum yang cukup untuk dijadikan range dalam penilaian jenis bahan pengestrak terbaik yang dapat dipilih. Kekurangan dari tiga jenis bahan pengestrak tersebut adalah mudah menguap pada suhu ruang sehingga ketika proses ekstraksi harus dilakukan secara tertutup. Pelarut polar seperti air tidak dipilih karena polaritas air dengan klorofil pada daun *mulberry* berbeda.

Tujuan isolasi klorofil dari hasil ekstrak, dilakukan filtrasi, pemekatan hasil ekstrak dengan evaporator dan dilanjutkan dengan sentrifugasi. Hal khusus yang diketemukan pada sebagian besar penelitian mengenai isolasi klorofil pada berbagai penelitian adalah evaporasi yang dilangsungkan terjadi secara vakum dengan suhu di bawah 40°C. Proses filtrasi, evaporasi dan sentrifugasi yang

dilaksanakan bertujuan untuk pemurnian klorofil dari hasil ekstrak yang masih mengandung pelarut dari proses ekstraksi (Prasetyo dkk, 2012).

Ketidakstabilan senyawa klorofil dalam daun dapat menghambat dan mengganggu perolehan klorofil dalam proses ekstraksi padat-cair ini. Namun di lain pihak, ketidakstabilan klorofil dapat diatasi dengan penambahan zat penstabil klorofil yang cocok seperti asam sitrat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , magnesium karbonat 1%, kalsium karbonat, atau dengan dimetilanilina. Tujuan penambahan zat stabil adalah diperolehnya zat warna alami yang stabil pada jangka waktu penyimpanan tertentu sekaligus mencegah terbentuknya senyawa turunan klorofil (Utami, 2002).

### **1.6 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas, maka dapat diperoleh hipotesis yaitu : Diduga perlakuan *blanching*, jenis bahan pengestrak, dan interaksi pengaruh perlakuan *blanching* dan jenis bahan pengestrak berpengaruh terhadap karakteristik pewarna alami dari daun *mulberry*.

### **1.7. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2015, bertempat di Laboratorium Penelitian Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung, Jl Setiabudhi No 193.