

## IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini membahas mengenai : (1) Hasil Penelitian Pendahuluan, (2) Hasil Penelitian Utama, dan (3) Formulasi Optimal Terpilih.

### 4.1. Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yang dilakukan ada tiga jenis, yaitu pengujian skrining fitokimia daun *mulberry*, kadar air simplisia dan penentuan metode pengeringan terbaik. Penentuan metode pengeringan terbaik dilakukan dengan dua cara yakni pengeringan alami dengan bantuan sinar matahari dan pengeringan buatan dengan menggunakan *tunnel dryer*. Hasil dari pengeringan daun *mulberry* ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dan kadar air. Hasil aktivitas antioksidan terbaik dan kadar air simplisia yang sesuai dengan standar simplisia dipilih menjadi metode pengeringan yang dipakai untuk penelitian utama yakni pembuatan *hard candy* dari ekstrak daun *mulberry*.

#### 4.1.1. Skrining Fitokimia

Analisis bahan baku utama dalam pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* yaitu analisis skrining fitokimia. Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu bahan. Skrining fitokimia adalah tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam tumbuhan. Skrining fitokimia dikenal juga sebagai metode analisis untuk menentukan jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan karena sifatnya yang dapat bereaksi secara khas dengan pereaksi tertentu (Harborne, 1987).

Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan pada daun *mulberry* meliputi uji fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid dan steroid. Metode yang digunakan dalam skrining fitokimia harus memiliki persyaratan yaitu metodenya sederhana dan cepat, peralatan yang digunakan sesedikit mungkin, selektif dalam mengidentifikasi senyawa-senyawa tertentu, dan dapat memberikan informasi tambahan mengenai keberadaan senyawa tertentu dalam kelompok senyawa yang diteliti. Golongan senyawa kimia dapat ditentukan dengan cara uji warna, penentuan kelarutan, bilangan Rf, ciri spektrum UV, namun secara umum penentuan golongan senyawa kimia dilakukan dengan cara uji warna dengan menggunakan pereaksi yang spesifik karena dirasa lebih sederhana.

Pengujian skrining fitokimia terhadap bahan baku pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* yakni daun *mulberry* dilakukan secara kualitatif dengan cara uji warna dengan menggunakan pereaksi yang spesifik. Berdasarkan hasil yang didapat daun *mulberry* positif mengandung fenol, tanin, flavonoid, dan steroid. Data hasil analisis skrining fitokimia daun *mulberry* dapat dilihat pada lampiran 13. Hasil ini sesuai dengan penelitian Damayanthi (2008) bahwa daun *mulberry* memiliki nilai fenol yang tinggi, daun *mulberry* dilaporkan kaya akan kandungan flavonoid yang memiliki aktivitas biologis yang termasuk dalam aktivitas antioksidan, daun segar *mulberry* pun mengandung theaflavin, tanin, serta kafein. Fenol meliputi berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan dan mempunyai ciri yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Flavonoid merupakan golongan fenol

yang terbesar, selain itu juga terdapat fenol monosiklik sederhana, fenilpropanoi, dan kuinon fenolik (Harborne, 1987).

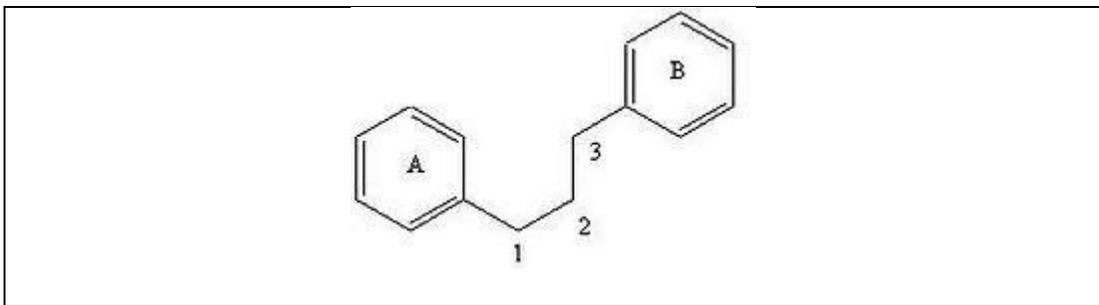
Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007).

Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana yaitu orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987).

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh. Senyawa fenolik yang terkandung dalam daun *mulberry* juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan hal ini karena pada strukturnya terdapat gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga radikal senyawa fenolik dapat meredam radikal bebas. Pengujian tanin dan juga fenol menggunakan preaksi yang sama karena tanin merupakan bagian dari fenol. Terbentuknya warna jingga hingga coklat karena tanin merupakan golongan senyawa polifenol, di mana ion  $Fe^{3+}$  akan bereaksi dengan gugus fenol yang merupakan kandungan dari tanin perubahan warna disebabkan oleh

reaksi penambahan  $\text{FeCl}_3$  dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin.

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar, mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (Cincin benzene tersubstitusi) yang dihubungkan oleh alifatik tiga karbon dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007).

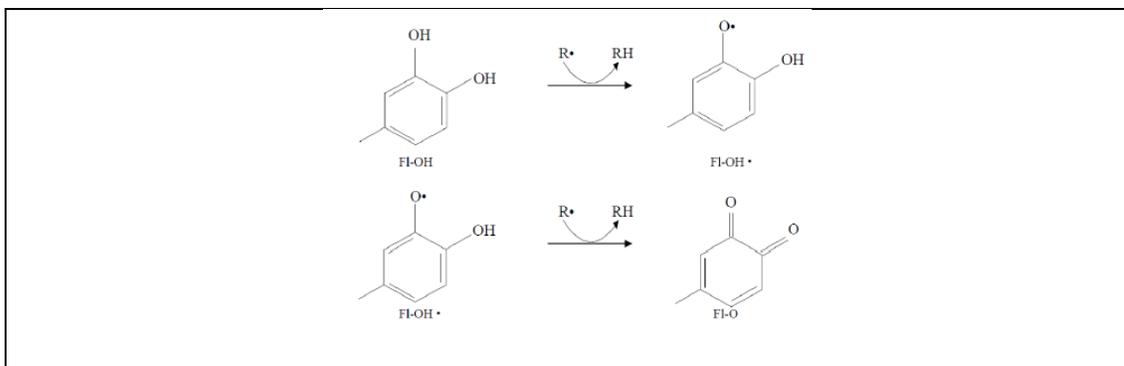


Gambar 7. Stuktur Dasar Flavonoida

Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino. Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau yang terdapat pada bagian tumbuhan daun, akar, kayu, kulit, tepungsari, nectar, bunga, buah buni dan biji.

Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula (Harborne, 1987).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas, dimana  $R\cdot$  merupakan senyawa radikal bebas,  $Fl-OH$  merupakan senyawa flavonoid sedangkan  $Fl-OH\cdot$  merupakan radikal flavonoid. Reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa flavonoid seperti dalam Gambar 8 berikut :



Gambar 8. Mekanisme Peredaman Radikal oleh Flavonoid

Identifikasi golongan steroid ditandai dengan timbulnya warna hijau atau adanya perubahan dari bahan sebelum direaksikan dengan reagen. Senyawa triterpenoid/steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna. Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4 cincin yang saling bergabung (Bhat *et al*, 2009). Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa

turunan esternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar.

#### **4.1.2. Kadar Air Simplisia**

Pembuatan simplisia daun *mulberry* dilakukan dengan cara pengeringan. Pembuatan simplisia dengan cara ini dilakukan dengan pengeringan cepat, tetapi dengan suhu yang tidak terlalu tinggi. Pengeringan yang terlalu lama akan mengakibatkan simplisia yang diperoleh ditumbuhi kapang. Pengeringan dengan suhu yang tinggi akan mengakibatkan perubahan kimia pada kandungan senyawa aktifnya. Pengeringan yang dilakukan dalam pembuatan simplisia daun *mulberry* ini dilakukan dua cara yakni pengeringan alami dengan bantuan sinar matahari dan pengeringan buatan dengan menggunakan *tunnel dryer*.

Pengeringan dengan matahari dilakukan selama 3 hari berturut-turut dengan menggunakan tray untuk menampung daun *mulberry* dan pengeringan dengan *tunnel dryer* dilakukan selama 1 jam pada suhu 50°C. Suhu pengeringan tergantung kepada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30°C sampai 90°C, tetapi suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 60°C. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C sampai 45°C. Sesuai dengan penelitian Butkhup (2007) yang menyatakan bahwa ekstrak daun *mulberry* dari pengeringan metode oven (50°C) (40,96 mg / 100g berat kering) memiliki kandungan total flavonoid tertinggi, diikuti dengan pengeringan matahari

(37.99 mg / berat kering 100g), pengeringan beku (36,14 mg / berat kering 100g), dan pengeringan metode oven (80°C) (28.09 mg / berat kering 100g). Kemampuan ekstrak metanol daun *mulberry* dari oven pengeringan (50°C) metode menunjukkan kemampuan hambat yang tinggi (62.96%). Oleh karena itu daun *mulberry* dilakukan pengeringan pada suhu 50 °C.

Pembuatan simplisia dengan cara pengeringan dimaksudkan untuk menurunkan kandungan air dalam bahan agar mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama, dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu. Menurut Pramono (2005) jika kadar air dalam bahan masih tinggi dapat mendorong enzim melakukan aktivitasnya mengubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain. Hal ini tidak akan terjadi jika bahan dikeringkan sehingga kadar airnya rendah.

Selama proses pengeringan bahan simplisia, faktor-faktor tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh simplisia kering yang tidak mudah mengalami kerusakan selama penyimpanan. Setelah pengeringan berlangsung daun yang telah kering kemudian dilakukan penghancuran, setelah hancur simplisia daun *mulberry*

dilakukan pengepakan di wadah tertutup yang rapat dan diberi silica gel untuk menjaga kadar airnya (Harbone. 1987).

Simplisia daun *mulberry* kedua metode pengeringan yang dilakukan diuji kadar airnya dengan metode gravimetri. Data hasil analisis kadar air simplisia daun *mulberry* dapat dilihat pada lampiran 9, sedangkan tabel hasil analisis kadar air simplisia daun *mulberry* dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 6. Hasil Analisis Kadar Air Simplisia Daun *Mulberry*

Metode Pengeringan	Kadar Air
Pengeringan Alami (Matahari, 3 hari)	8,10 %
Pengeringan Buatan ( <i>Tunnel Dryer</i> , T=50°C, t = 1 jam)	7,08 %

Kadar air yang aman bagi suatu simplisia adalah 10-12%, sedangkan menurut Departemen Kesehatan RI (1985), simplisia dinilai cukup aman bila mempunyai kadar air kurang dari 10% kadar hal tersebut bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri dan jamur pada tahap penyimpanan dan penghilangan kadar air dalam jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang daya tahan bahan selama masa penyimpanan. Berdasarkan hasil pengujian kadar air kedua simplisia dengan metode pengeringan berbeda yakni simplisia daun *mulberry* metode pengeringan alami memiliki kadar air sebesar 8,10% dan simplisia daun *mulberry* metode pengeringan alami memiliki kadar air sebesar 7,08%, keduanya menunjukkan hasil kadar air yang baik dan memenuhi standar yakni mempunyai kadar air kurang dari 10%, tetapi dilihat dari kelemahan yang dimiliki oleh metode pengeringan alami yang paling berpengaruh yaitu pigmen memucat dan flavor pun mudah menguap (*volatile flavor*), jumlah

waktu yang dibutuhkan untuk melakukan pengeringan adalah selama 3 hari, dan kadar air metode pengeringan alami dengan bantuan matahari memiliki kadar air lebih besar, alangkah lebih baik jika memiliki kadar air yang rendah agar simplisia lebih tahan lama, maka metode pengeringan yang dipilih yakni metode pengeringan buatan dengan *tunnel dryer*.

Pengeringan alamiah dilakukan dengan panas sinar matahari langsung. Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah diterapkan, yang dilakukan dengan cara membiarkan bagian yang telah dipotong-potong di udara terbuka di atas tampah-tampah. Kadar air yang diperoleh dari simplisia pengeringan metode pengeringan alami lebih besar dibandingkan dengan metode pengeringan buatan hal ini disebabkan karena metode pengeringan alami tanpa pengontrolan kondisi seperti suhu, kelembaban dan aliran udara. Dengan cara ini kecepatan pengeringan sangat tergantung kepada keadaan iklim, sehingga cara ini hanya baik dilakukan di daerah yang udaranya panas atau kelembabannya rendah, serta tidak turun hujan. Hujan atau cuaca yang mendung dapat memperpanjang waktu pengeringan sehingga memberi kesempatan pada kapang atau mikroba lainnya untuk tumbuh sebelum simplisia tersebut kering. Sinar ultra violet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan. Pengeringan buatan atau dengan bantuan alat dapat diperoleh simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringan akan lebih merata dan waktu pengeringan akan lebih cepat, tanpa dipengaruhi oleh keadaan cuaca.

Pengeringan dengan alat dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat, akan tetapi penggunaan suhu yang terlampau tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan (Pramono, 2006).

Menurut Harbone (1987) pengeringan dengan cara aliran udara (kering angin) lebih baik dari pada menggunakan pengeringan dengan suhu tinggi, pengeringan pada suhu diatas 70°C akan menyebabkan kehilangan kandungan kimia penyusun bahan tersebut. Selain pengaruh sinar ultraviolet yang terdapat pada cahaya matahari dapat menimbulkan kerusakan kandungan kimia bahan. Daya tahan suatu simplisia selama penyimpanan sangat tergantung pada jenis simplisia, kadar airnya dan cara penyimpanannya. Beberapa simplisia yang dapat tahan lama dalam penyimpanan jika kadar airnya diturunkan 4 sampai 8%, sedangkan simplisia lainnya mungkin masih dapat tahan selama penyimpanan dengan kadar air 10 sampai 12% (Pramono, 2005).

Simplisia daun *mulberry* yang dihasilkan memiliki warna hijau muda terang. Hasil simplisia daun *mulberry* metode pengeringan alami dan buatan memiliki warna sedikit berbeda, yakni simplisia daun *mulberry* metode pengeringan alami memiliki warna hijau lebih kusam dibandingkan dengan simplisia daun *mulberry* metode pengeringan buatan, hal ini disebabkan karna sinar UV yang bersifat oksidator kuat

yang akan membuat pigmen memucat dan flavor pun mudah menguap (*volatile flavor*).



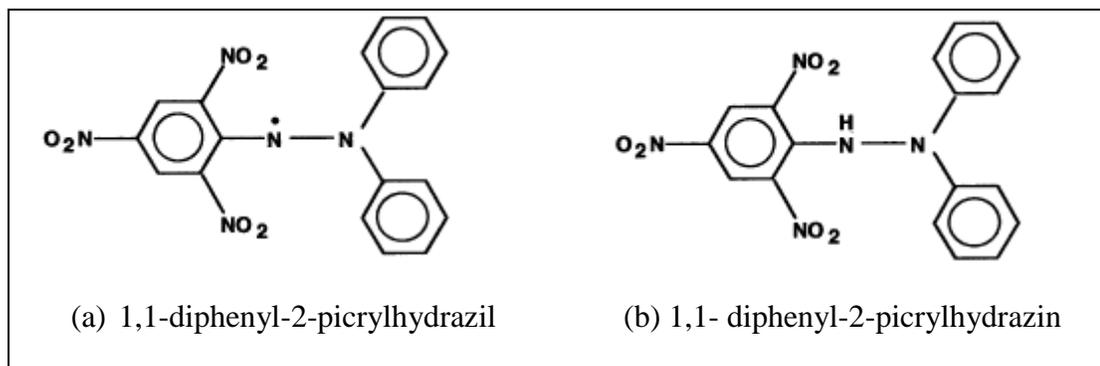
Gambar 9. Warna Simplisia Daun *Mulberry* dengan Dua Metode Pengeringan (1) Pengeringan Matahari, dan (2) Pengeringan Buatan (*Tunnel Dryer*)

#### 4.1.3. Aktivitas Antioksidan

Metode yang dilakukan untuk pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian pendahuluan ini adalah metode DPPH. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010).

Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration*), Nilai IC<sub>50</sub> merupakan parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Spektrofotometer UV-Vis merupakan gabungan antara spektrofotometer UV dan Visible. Menggunakan dua buah sumber cahaya berbeda, sumber cahaya di daerah ultraviolet (200–350 nm) UV dan sumber cahaya tampak (visible) (350 – 800 nm), oleh karena itu jenis spektrofotometer ini banyak diminatai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif dan memiliki hasil yang lebih akurat. Kemudahan metode ini adalah dapat digunakan baik untuk sample berwarna juga untuk sample tak berwarna. Hal ini sesuai dengan kebutuhan dalam pengujian aktivitas antioksidan, dimana senyawa atau DPPH berperan sebagai radikal bebas dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak 517 nm akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazin yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazin akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning

pucat dan dapat diamati perubahan warna menggunakan spektrofotometer UV-Vis karena alat ini didasarkan pada penggunaan sinar UV dan ultraviolet sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).



Gambar 10. Struktur DPPH (a) Radikal Bebas dan (b) Radikal Bebas yang Telah Bereaksi dengan Antioksidan

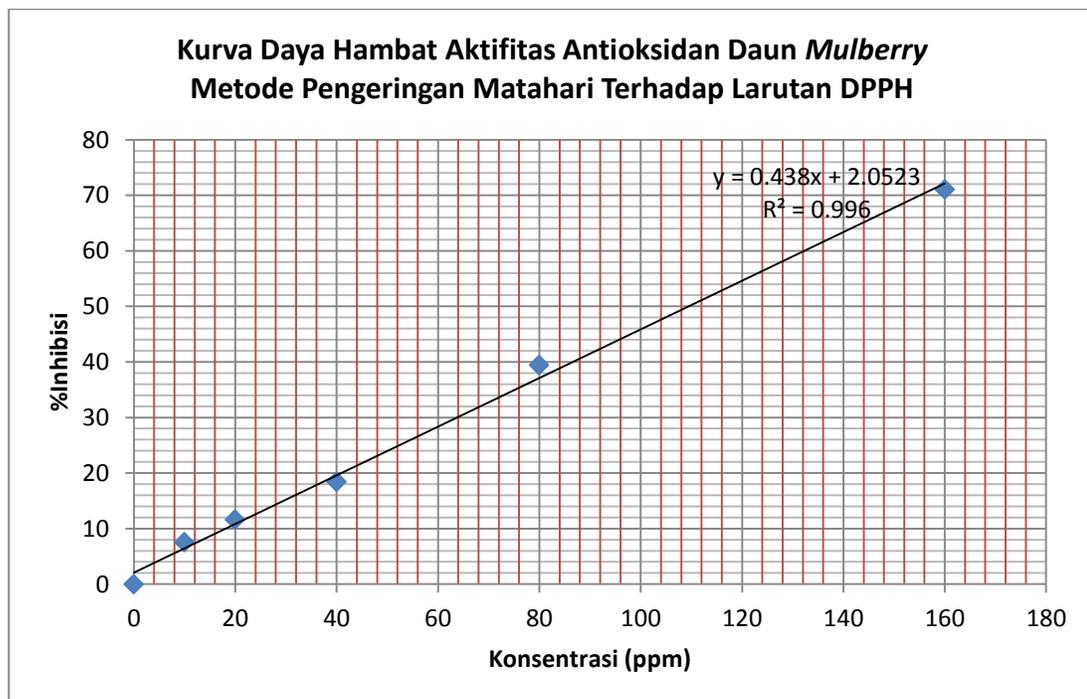
Berdasarkan hasil analisis aktivitas antioksidan kedua daun *mulberry* yang telah dikeringkan dengan dua metode pengeringan berbeda dapat dilihat pada tabel 7, 8, dan 9, sedangkan data perhitunagn hasil analisis aktivitas antioksidan daun *mulberry* dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 7. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Kedua Metode Pengeringan

No	Kode Sampel	Parameter Uji	Metode Uji	Hasil Uji (IC <sub>50</sub> )
1	Daun Mulberry Pengeringan Alami	Potensi Aktivitas Antioksidan	DPPH	(109,47± 3,33) ppm
2	Daun Mulberry Pengeringan Buatan			(69,77±2,45) ppm

Tabel 8. Data Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Daun *Mulberry* Metode Pengeringan Alami (Sinar Matahari)

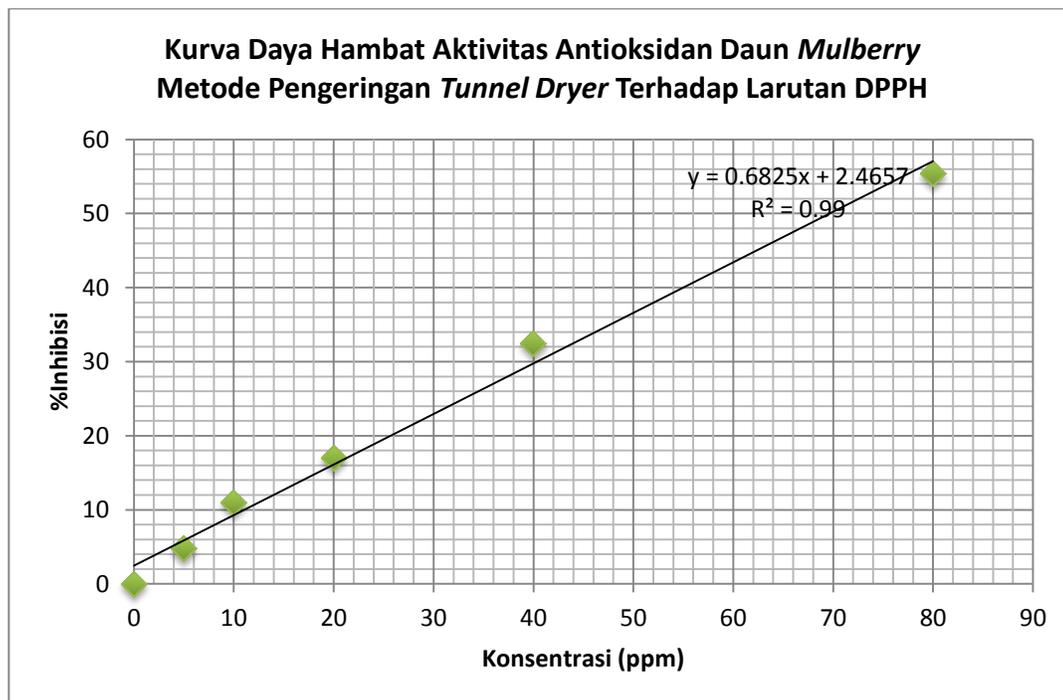
Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi			IC <sub>50</sub> (ppm)			IC <sub>50</sub> (ppm)
	Ulangan			Ulangan			
	1	2	3	1	2	3	
0	0,00	0,00	0,00	109,62	113,05	106,40	<b>109,47</b>
160	71,50	66,91	74,78				
80	39,22	40,88	38,25				
40	17,17	19,95	18,20				
20	12,79	12,29	9,72				
10	5,48	9,73	7,38				



Gambar 11. Kurva Daya Hambat Aktifitas Antioksidan Daun *Mulberry* Metode Pengeringan Matahari Terhadap Larutan DPPH

Tabel 9. Data Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Daun Mulberry Metode Pengeringan Buatan (*Tunnel Dryer*)

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi			% Inhibisi			IC <sub>50</sub> (ppm)
	Ulangan			Ulangan			
	1	2	3	1	2	3	
0	0,00	0,00	0,00	70,98	71,42	66,69	<b>69,77</b>
80	54,32	54,15	57,58				
40	32,40	31,22	33,74				
20	17,05	17,68	16,38				
10	10,35	10,37	12,22				
5	6,82	4,51	2,93				



Gambar 12. Kurva Daya Hambat Aktivitas Antioksidan Daun *Mulberry* Metode Pengeringan *Tunnel Dryer* Terhadap Larutan DPPH

Nilai IC<sub>50</sub> simplisia (Daun kering) metode alami maupun buatan didapat dari hasil perhitungan persamaan regresi linier, dimana persamaan regresi dari simplisia dengan pengeringan alami adalah  $y = 0,438x + 2,0523$  dan  $R = 0,996$ , sedangkan

pengeringan buatan adalah  $y = 0,6825x + 2,4657$  dan  $R=0,99$ . Koefisien  $y$  pada persamaan ini adalah sebagai  $IC_{50}$ , sedangkan koefisien  $x$  pada persamaan ini adalah konsentrasi dari ekstrak yang akan dicari nilainya, dimana nilai dari  $x$  yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Nilai  $r$  0,996 dan 0,99 yang mendekati +1 (bernilai positif) menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin besar aktivitas antioksidannya.

$IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% atau  $IC_{50}$  dapat dikatakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm ( $IC_{50} < 50$  ppm), kuat ( $50$  ppm  $< IC_{50} < 100$  ppm), sedang ( $100$  ppm  $< IC_{50} < 150$  ppm), lemah ( $150$  ppm  $< IC_{50} < 200$  ppm), dan sangat lemah ( $IC_{50} > 200$  ppm) (Molyneux, 2004).

Dari hasil pengujian anktivitas antioksidan metode DPPH terhadap daun *mulberry* dengan dua metode pengeringan berbeda didapat bahwa daun *mulberry* yang dikeringkan dengan metode pengeringan alami atau matahari memiliki aktivitas antioksidan sebesar 109,47 ppm yang memiliki aktivitas antioksidan sedang sedangkan daun *mulberry* yang dikeringkan dengan metode pengeringan buatan (*tunnel dryer*) memiliki aktivitas antioksidan sebesar 69,77 ppm yang memiliki

aktivitas antioksidan kuat. Oleh karena itu metode pengeringan yang dipilih untuk dilakukan di penelitian utama dalam pembuatan ekstrak dan *hard candy* daun *mulberry* adalah metode pengeringan buatan dengan alat *tunnel dryer* karena memiliki aktivitas antioksidan terbaik yaitu 66,77 ppm. Menurut Molyneux (2004), menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh berkisar antara 200-1000 µg/mL, sehingga daun *mulberry* memiliki potensi aktivitas antioksidan yang kuat.

#### **4.2. Hasil Penelitian Utama**

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian utama yaitu respon kimia, fisik, dan organoleptik. Respon organoleptik meliputi warna, kilap, rasa, dan tekstur (*mouthfeel*) pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Respon kimia yang diuji meliputi aktivitas antioksidan dan kadar air. Respon fisik meliputi uji kekerasan (tekstur). dengan 8 formulasi.

##### **4.2.1. Hasil Respon Organoleptik**

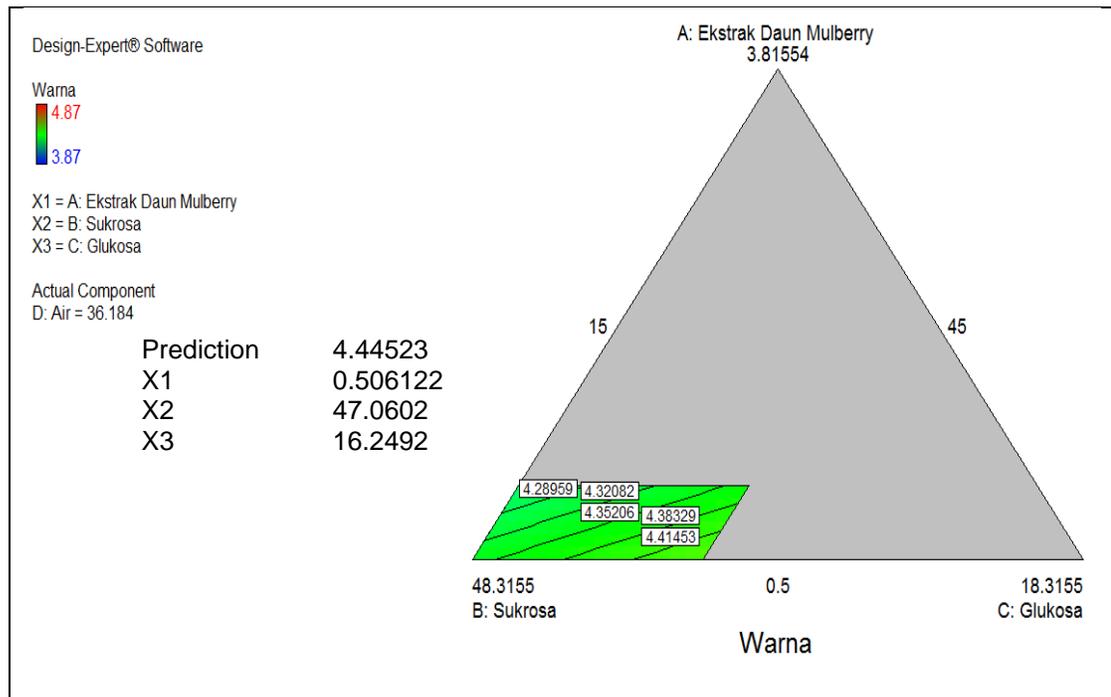
Uji organoleptik yang dilakukan adalah uji deskripsi. Uji deskripsi ini dilakukan untuk mengetahui mutu dari ke delapan formulasi dengan mendeskripsikan sifat sifat yang menentukan mutu atau atribut mutu dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Uji deskripsi ini menggunakan 15 panelis agak terlatih dengan atribut mutu yaitu warna, kilap, rasa, dan tekstur (*mouthfeel*).

#### 4.2.1.1. Warna

Uji organoleptik metode uji deskripsi untuk respon warna dilakukan untuk mengetahui mutu dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry*, dimana *hard candy* ekstrak daun *mulberry* ini menggunakan ekstrak *mulberry* yang memiliki warna yang sangat pekat yaitu warna hijau kehitaman dan sangat berpengaruh pada warna akhir dari permen. Penggunaan ekstrak daun *mulberry* ini di ke 8 formulasi berbeda-beda, oleh karena itu atribut warna dianggap dapat mewakili mutu dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Setelah itu dapat dilihat formulasi terbaik dengan atribut warna menggunakan *design expert*.

Hasil ANOVA dapat dilihat pada lampiran 16 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik tidak berpengaruh terhadap atribut warna yang ditunjukkan dengan hasil *not significant* (tidak signifikan) dimana "Model F-nilai" 0,09 berarti model tidak relatif signifikan. Nilai-nilai "Prob> F" kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari 0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke-8 formulasi tidak berbeda nyata, hal ini disebabkan karena warna *hard candy* ekstrak daun *mulberry* disebabkan oleh penambahan ekstrak daun *mulberry* yang memiliki warna hijau kehitaman, dimana rentang antara batas minimum dan maksimum yang tidak terlalu jauh, jadi penggunaan ekstrak daun *mulberry* untuk ke-8 formulasi tidak banyak perbedaan dan begitu pula dengan hasil uji deksripsi yang menunjukkan bahwa nilai yang dihasilkan tidak jauh berbeda. Hasil pun menunjukkan memiliki standar deviasi 0,27.

Grafik formulasi optimal berdasarkan respon atribut mutu warna dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar 13. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Atribut Mutu Warna

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil uji organoleptik dengan respon atribut mutu warna menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan uji organoleptik warna adalah 3.87-4.87, didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji organoleptik (uji deskripsi) untuk atribut mutu warna menurut program *Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* 0,506%, sukrosa 47,060% glukosa 16,250%, dan air 36,184% dengan skala atribut mutu warna terbaik menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah 4,45.

Hasil uji organoleptik terbesar jatuh pada formulasi 6 yang berarti memiliki warna hijau kehitaman yang pekat atau kuat tapi jika dilihat dari penambahan ekstrak daun *mulberry* yang menyebabkan warna pada permen ini hanya 0,500% atau penambahan ekstrak yang paling rendah dibandingkan ke-7 formulasi yang lainnya. Seharusnya formulasi ini memiliki warna yang tidak terlalu pekat bahkan dapat dikatakan rendah tapi hasil menunjukkan berbeda, apalagi dengan penambahan air sebesar 37,6711% yang membuat ekstrak lebih encer dan warna tidak terlalu pekat. Ini dapat disebabkan karena kondisi panelis yang kurang baik dan mungkin kurang memahami pemberian skala yang telah dijelaskan, selain itu faktor lain bisa disebabkan oleh pencahayaan lab yang digunakan karena timbulnya warna dibatasi oleh faktor terdapatnya sumber sinar dimana pengaruh tersebut terlihat apabila suatu bahan dilihat di tempat yang suram dan di tempat yang gelap akan memberikan perbedaan yang mencolok. Selanjutnya adanya anggapan bahwa sampel yang ada telah disusun secara tidak acak, artinya mungkin ada panelis yang beranggapan posisi sampel yang dinilai, dimana suatu sampel dinilai lebih tinggi ataupun lebih rendah dari kenyataannya dan umumnya lebih rendah walaupun telah disusun secara acak. Saat dilakukan pengujian pada kenyataannya panelis menilai tidak adanya perbedaan yang nyata untuk setiap formulasi terhadap atribut mutu warna, namun tidak semua panelis memiliki nilai yang sama karena setiap panelis mempunyai sensitivitas yang berbeda-beda (Kartika, 1987).

Warna pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry* selain dipengaruhi oleh ekstrak daun *mulberry* juga oleh penambahan air dimana semakin banyak air maka warna ekstrak pun akan semakin pudar. Warna yang dihasilkan oleh *hard candy* ekstrak daun *mulberry* adalah hijau kehitaman yang pekat hal ini disebabkan penggunaan ekstrak yang sangat kental atau pasta dimana warna yang didapat sangat intens dan benar-benar ekstrak dari daun *mulberry*.

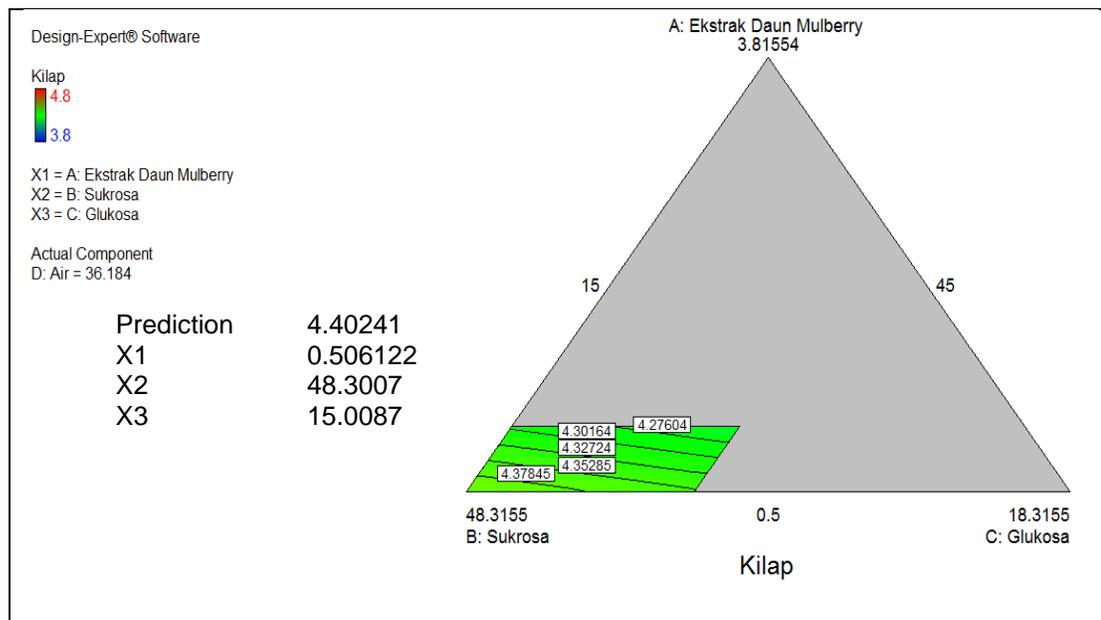
Menurut Kartika (1987) warna adalah faktor penentu kualitas makanan yang penting. Warna sangat dipengaruhi oleh kesegaran bentuk dan tekstur makanan tersebut. Warna merupakan sifat pertama yang diamati konsumen sedangkan sifat-sifat lain akan dinilai kemudian. Warna menarik akan memberikan asumsi makanan memiliki rasa yang enak dibandingkan dengan suatu produk yang memiliki warna tidak menarik meskipun komposisinya sama. Makanan yang kurang menarik sering diasumsikan memiliki rasa yang tidak enak.

#### **4.2.1.2. Kilap**

Hasil ANOVA dapat dilihat pada lampiran 17 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik tidak berpengaruh terhadap atribut kilap yang ditunjukkan dengan hasil *not significant* (tidak signifikan) dimana "Model F-nilai" 0,05 berarti model tidak relatif signifikan. Nilai-nilai "Prob> F" kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari 0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke-8 formulasi tidak berbeda nyata. Standar deviasi sebesar 0,30.

*Hard candy* merupakan salah satu permen non-kristalin yang memiliki tekstur keras, penampakan mengkilat dan bening. Menurut Martin (1995), *High Boiled Sweet (Hard Candy)* adalah permen yang mempunyai tekstur yang keras, penampakan yang jernih dan biasanya terdiri dari komponen dasar sakarosa dan sirup glukosa serta bahan-bahan lain yang dapat ditambahkan untuk memberikan rasa dan penampakan yang lebih baik.

Sukrosa mempunyai sifat sedikit higroskopis dan mudah larut dalam air. Semakin tinggi suhu maka kelarutannya semakin besar. Sukrosa akan meleleh pada suhu  $160^{\circ}\text{C}$  dan membentuk cairan transparan yang kental tanpa terjadi dekomposisi sedangkan pada suhu yang lebih tinggi antara  $190^{\circ}\text{-}220^{\circ}\text{C}$  terjadi dekomposisi secara lengkap dan dihasilkan karamel berwarna gelap. Pemanasan lebih lanjut akan menghasilkan  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ , asam asetat, dan aseton (deMan, 1989).



Gambar 14. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Atribut Mutu Kilap

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil uji organoleptik dengan respon atribut mutu kilap menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan uji organoleptik warna adalah 3,8-4,8 didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji organoleptik (uji deskripsi) untuk atribut mutu kilap menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* sebesar 0,506%, sukrosa 48,300%, glukosa 15,008%, dan air 36,184% dengan skala atribut mutu kilap terbaik menurut program DX 7 adalah 4,40.

Permen dengan penampilan sangat diharapkan maka proses pembuatannya diusahakan sedikit saja kecenderungan untuk mengkristal, apalagi terjadi kristalisasi pada produk permen akan berakibat mengurangi penampilan yang jernih seperti kaca, dan membentuk masa yang kabur. Kekurangan ini disebut *graining*, dan mengakibatkan penampilan yang kurang memuaskan sehingga terasa kasar pada lidah jika permen tersebut dikunyah. Kristalisasi akan terjadi secara spontan tetapi dapat dicegah dengan menggunakan bahan-bahan termasuk sirup glukosa dan gula invert yang tidak mengkristal, tetapi sangat menghambat terjadinya kristalisasi pada permen (Buckle, 1989). Permen yang jernih dapat dihasilkan dengan kandungan air yang rendah dan penambahan sirup glukosa yang akan mempertahankan viskositas tinggi. Agar dihasilkan permen dengan kejernihan yang baik atau mirip dengan air, dibutuhkan gula dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Permen yang mengkilap dan

tampilan seperti kaca disebabkan juga oleh penggunaan sukrosa, karena sukrosa memberikan kesan kilap ketika mengeras (Harahab, 2010).

Pernyataan ini dibuktikan dari hasil uji organoleptik atribut mutu kilap dimana formulasi 3 dan 7 yang menggunakan sukrosa dalam jumlah terbesar yaitu 48,750%, dimana masing-masing memiliki nilai atribut mutu kilap yang besar yakni formulasi 4,6 atau kuat dan 4,8 atau kuat. Penggunaan sukrosa yang banyak pada formulasi tersebut diimbangi dengan penggunaan glukosa yang baik maka permen tidak terjadi kristalisasi yang menyebabkan permen bermasa kabur atau penampakan yang buram.

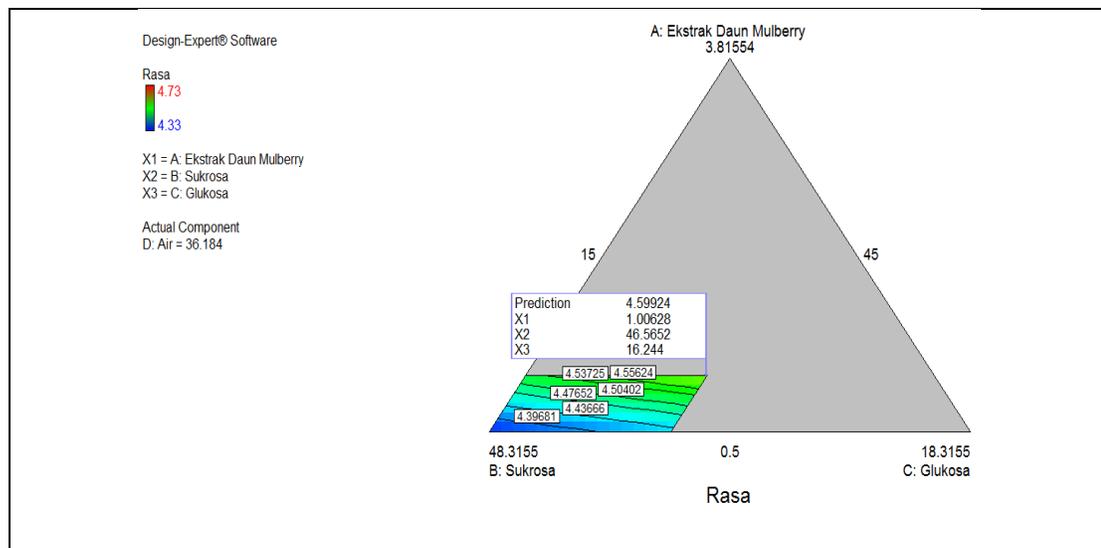
#### **4.2.1.3. Rasa**

Uji organoleptik dengan respon atribut mutu rasa dilakukan untuk mengetahui mutu dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry*, dimana mutu yang diinginkan dari respon atribut mutu rasa ini adalah rasa atau flavor dari daun *mulberry* yang kuat dan menonjol dimana menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun *mulberry* yang banyak dan menunjukkan bagus pula aktivitas antioksidan yang merupakan salah satu respon kimia. Penggunaan ekstrak daun *mulberry* di ke 8 formulasi berbeda-beda, sehingga berpengaruh pada hasil akhir permen yaitu salah satunya, maka atribut rasa dianggap dapat mewakili mutu dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Setelah itu dapat dilihat formulasi terbaik dengan atribut warna menggunakan *design expert*.

Data hasil ANOVA atribut mutu rasa dapat dilihat dilampiran 18 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik berpengaruh terhadap atribut rasa yang ditunjukkan dengan hasil *significant* (signifikan) dimana “Model F value” 7,39

menunjukkan model signifikan. Nilai-nilai "Prob> F" kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari 0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke delapan formulasi hasilnya adalah berbeda nyata (*significant*) dan memiliki standart deviasi 0,12. Ke-8 formulasi ini berpengaruh karena walaupun batasan minimum dan maksimum penggunaan ekstrak daun *mulberry* tidak berbeda jauh tapi tetap memiliki persentasi yang berbeda beda, dimana panelis merasakan langsung *hard candy* ekstrak daun *mulberry* yang memiliki rasa daun *mulberry* cukup kuat sehingga panelis menemukan perbedaan. Hal ini berbeda dengan warna yang terpengaruh oleh faktor luar tanpa dirasakan terlebih dahulu, dimana dengan merasakan panelis benar-benar bias mengetahui perbedaan dari rasa ke-8 formulasi.

Grafik formulasi optimal berdasarkan repon atribut mutu rasa dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Atribut Mutu Rasa

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil uji organoleptik dengan respon atribut mutu rasa menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan uji organoleptik warna adalah 4,33-4,7 didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji organoleptik (uji deskripsi) untuk atribut mutu rasa menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* 1%, sukrosa 46,565%, glukosa 16,244%, dan air 36,184% dengan skala atribut mutu rasa terbaik menurut program DX 7 adalah 4,6.

Hasil organoleptik tertinggi untuk atribut rasa adalah formulasi 4 dengan mendapat nilai 4,73 yang artinya memiliki rasa daun *mulberry* yang kuat. Formulasi ke 4 ini penggunaan ekstrak daun *mulberry* sebanyak 0,998% sangat tinggi karena batas atas penggunaan ekstrak daun *mulberry* adalah 1 %, maka hasil ini telah sesuai dimana semakin banyak penggunaan ekstrak daun *mulberry* maka semakin kuat pula rasanya. Tetapi jika dilihat dari penggunaan ekstrak daun *mulberry* formulasi ke-7 lebih unggul karena menggunakan 1% ekstrak daun *mulberry*, tetapi rasa tidak hanya dipengaruhi oleh ekstrak daun *mulberry* saja tapi juga bahan lain seperti sukrosa, glukosa, dan air. Formulasi ke-7 menggunakan air lebih banyak yakni 35,154% dibandingkan dengan formulasi ke-4 dengan menggunakan air 34,044%, dimana semakin banyak air maka ekstrak akan semakin encer oleh karena itu formulasi 7 sedikit dibawah formulasi 4 karena penggunaan sukrosa dan glukosa tidak berbeda jauh. Nilai atribut mutu rasa terendah diraih oleh formulasi 1 dan 6 dengan

penggunaan ekstrak daun *mulberry* sebesar 0,500% dengan nilai atribut mutu rasa sebesar 4,4 dan 4,3. Formulasi 3 dan 8 dimana ekstrak daun *mulberry* yang digunakan masing – masing adalah 0,532% dan 0,509% dengan nilai atribut mutu rasa sebesar 4,4.

Rasa pahit yang terasa pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry* disebabkan oleh polifenol atau senyawa fenol yang bersifat antioksidan kuat. Walaupun memiliki rasa yang kurang nyaman tetapi memiliki manfaat yang baik, hal ini yang menjadikan rasa sebagai salah satu atribut yang menentukan mutu permen ini. Rasa merupakan faktor yang cukup penting dari suatu produk makanan selain penampakan dan warna. Umumnya produk pangan tidak hanya terdiri dari salah satu rasa saja, akan tetapi merupakan gabungan dari berbagai macam rasa (kartika,1987)

#### **4.2.1.4. Tekstur (*Mouthfeel*)**

Uji organoleptik untuk atribut mutu tekstur (*mouthfeel*) bertujuan untuk mengetahui mutu dari tekstur permen yang dihasilkan dari ke-8 formulasi. Setelah itu dilihat formulasi terbaik menurut uji organoleptik tekstur (*mouthfeel*) *hard candy* ekstrak daun *mulberry* menurut *design expert*.

Data hasil ANOVA atribut mutu tekstur dapat dilihat dilampiran 19 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik tidak berpengaruh terhadap atribut tekstur yang ditunjukkan dengan hasil *not significant* (tidak signifikan) dimana “Model F value” 0,21 menunjukkan model tidak relatif signifikan. Nilai-nilai “Prob> F” kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari

0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke delapan formulasi hasilnya adalah tidak berbeda nyata (*not significant*) dan memiliki standart deviasi 0,34. Ke-8 formulasi ini tidak berbeda nyata disebabkan oleh perbedaan proporsi disetiap bahan yang digunakan, dimana tekstur dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry* ini sangat dipengaruhi oleh jumlah sukrosa, air dan glukosa. Bahan utama dalam pembuatan permen jenis ini adalah sukrosa, air dan sirup glukosa. Sukrosa dan sirup glukosa merupakan bahan yang sangat penting dalam pembuatan permen. Permen yang menggunakan sukrosa murni mudah mengalami kristalisasi, oleh karena itu perlu digunakan bahan lain untuk meningkatkan kelarutan dan menghambat kristalisasi, misalnya sirup glukosa. Penambahan sirup glukosa yang berlebihan mengakibatkan produk menjadi lengket dan tidak dapat mengeras (Koswara,2009).

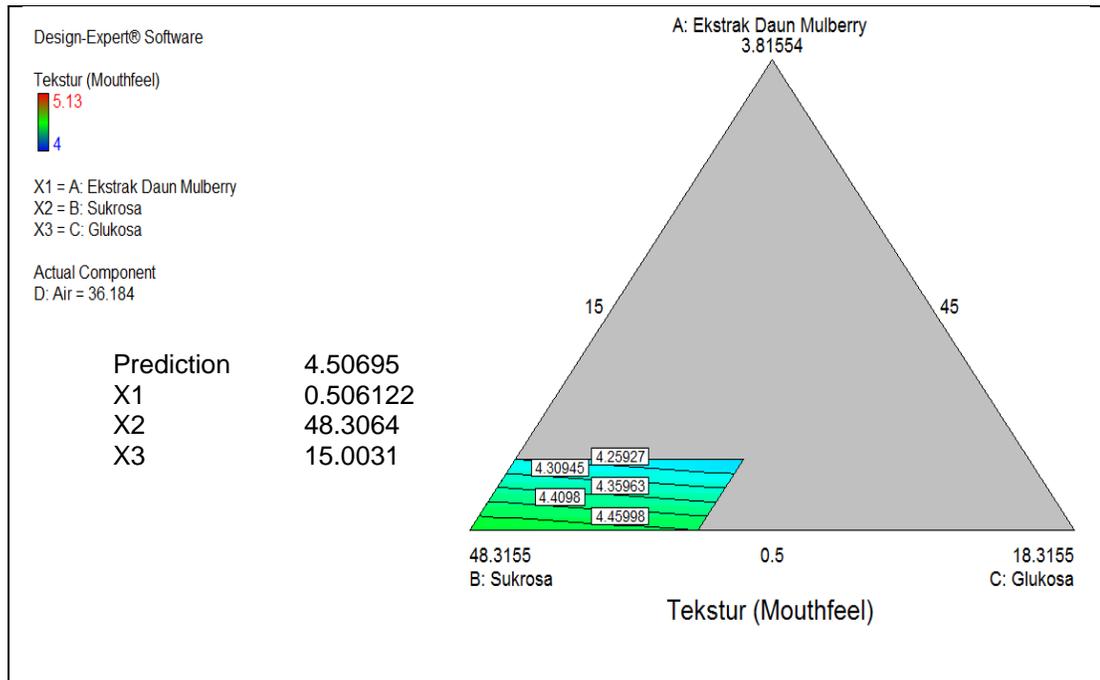
Perbandingan jumlah sukrosa dengan sirup glukosa yang digunakan dalam pembuatan kembang gula sangat menentukan tekstur. Mengatur perbandingan antara sukrosa dengan sirup glukosa merupakan perpaduan ilmiah dan seni yang menarik, untuk mendapatkan tekstur yang diinginkan, perlu perbandingan yang khas dan tepat untuk kedua bahan ini. Standar Nasional Indonesia (2008) menyatakan bahwa kembang gula adalah jenis makanan selingan berbentuk padat, dibuat dari gula, glukosa atau pemanis lain atau dengan atau tanpa penambahan bahan makanan lain dan bahan tambahan makanan yang diijinkan.

Parameter mutu yang penting dalam permen adalah tekstur yang merupakan jumlah beberapa sifat fisik. Sifat-sifat tersebut bervariasi dalam jenis permen yang

berbeda, antara lain lunak (*soft*), tekstur empuk pada marshmallow sampai keras seperti gelas pada permen keras (*hard candy*). Semakin banyak sukrosa yang digunakan maka permen semakin keras. Sirup glukosa berfungsi memperlunak hasil atau hasilnya halus sehingga permen yang dihasilkan tidak terlalu keras, selain itu juga berfungsi mencegah pengkristalan sukrosa atau gula). Semua sirup glukosa berfungsi untuk mengontrol kristalisasi sukrosa didalam *high boiled sweet* (Alkarim 2009).

Hal ini dibuktikan dengan hasil uji organoleptik atribut mutu tekstur (*mouthfeel*), dimana penggunaan glukosa yang berlebihan menyebabkan permen sulit mengeras sehingga permen akan mudah meleleh dan saat dimakan akan menempel disela-sela gigi atau rongga mulut. Formulasi 1 memiliki nilai yang paling tinggi yakni 5,13 atau kuat. Formulasi ini menggunakan sukrosa 48,395% dan glukosa 15,001%. Seperti yang telah dikatakan bahwa semakin banyak sukrosa yang digunakan maka permen semakin keras, dan semakin banyak glukosa yang digunakan permen akan sulit mengeras, walaupun dalam formulasi 1 penggunaan sukrosa bukan yang terbesar tetapi penggunaan glukosa yang relative kecil dapat mengimbangi sukrosa yang menghasilkan tekstur yang keras namun baik saat dikunyah.

Grafik formulasi optimal berdasarkan repon atribut mutu rasa dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Atribut Mutu Tekstur (*Mouthfeel*)

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil uji organoleptik dengan respon atribut mutu tekstur menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan uji organoleptik warna adalah 4-5,13 didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji organoleptik (uji deskripsi) untuk atribut mutu rasa menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* 0,506%, sukrosa 48,306%, glukosa 15,003%, dan air 36,184% dengan skala atribut mutu rasa terbaik menurut program DX 7 adalah 4,51.

## 4.2.2. Hasil Respon Kimia

### 4.2.2.1. Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Analisa kadar air perlu dilakukan karena kadar air menentukan mutu dari permen yang diinginkan. Menurut SNI 01-3547-1994 kadar air maksimum untuk *hard candy* adalah 3,5%. Kadar air mempengaruhi penampakan dan tekstur dari *hard candy*. Selain itu banyaknya kadar air yang terkandung dalam permen mempengaruhi struktur *hard candy*. Jika kadar air pada *hard candy* terlalu tinggi dapat menyebabkan *hard candy* tidak dapat mengeras sehingga tidak terbentuk *hard candy* atau terbentuk permen yang mudah meleleh. Lalu kadar air yang tinggi juga akan menyebabkan kelembaban sehingga mudah terkontaminasi oleh mikroorganisme karena bakteri dan jamur akan mudah tumbuh, mengingat bahwa bakteri dan jamur mudah tumbuh pada substrat yang lembab, jika hal ini terjadi maka penampakan permen akan buruk dan mengurangi tingkat penerimaan konsumen karena permen yang dihasilkan mudah rusak dan memiliki tekstur yang lembek, lengket, dan mudah berair. Sedangkan jika kadar air rendah dibawah persyaratan yang ditetapkan sangat diharapkan untuk menghasilkan *hard candy* yang maksimal. Kadar air yang dihasilkan dipengaruhi oleh banyaknya jumlah bahan yang digunakan di ke-8 formulasi karena ke-8 formulasi tersebut memiliki jumlah bahan yang berbeda-beda, setelah itu dilihat formulasi terbaik berdasarkan respon kadar air dapat dilihat menurut *design expert*.

Hasil ANOVA dapat dilihat pada lampiran 20 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik berpengaruh terhadap kadar air yang ditunjukkan dengan hasil *significant* (signifikan) dimana “Model F-value 6,70 berarti model adalah signifikan. Nilai-nilai "Prob> F" kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari 0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke-8 formulasi berbeda nyata. Hasil pun menunjukkan memiliki standar deviasi 0,25. Ke-8 formulasi menunjukkan hasil yang berbeda nyata, hal ini disebabkan karena kadar air dipengaruhi oleh jumlah bahan yang digunakan yakni sukrosa, glukosa, dan air, selain bahan suhu pemesanan pun menentukan jumlah kadar air *hard candy*. Karena ke-8 formulasi memiliki proporsi bahan yang berbeda-beda dimana bahwa semakin tinggi konsentrasi sukrosa dan semakin rendah konsentrasi sirup glukosa maka kadar air semakin rendah. Hal ini disebabkan karena kelarutan pada sukrosa semakin rendah, dan juga dengan semakin rendah konsentrasi sirup glukosa, maka air atau bahan-bahan yang terlarut di dalamnya akan semakin sedikit. Sehingga kadar air semakin turun (Jackson, 1995). Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Buckle, *et al* (1987) yang menyatakan bahwa jika gula (sukrosa) ditambahkan ke dalam bahan makanan dalam konsentrasi tinggi (paling sedikit 40 %) padatan terlarut, maka sebagian dari air yang ada menjadi tidak tersedia. Batas bawah dan batas atas yang diterapkan dalam program *Design Expert* 7.0 metode *mixture d-optimal* untuk bahan sukrosa memiliki rentang yang cukup jauh, yakni batas bawah sebesar 45,00% dan batas atas 48,75% oleh karena itu setiap

formulasi memiliki variasi formulasi sukrosa yang lebih beragam dan menghasilkan kadar air yang berbeda pula.

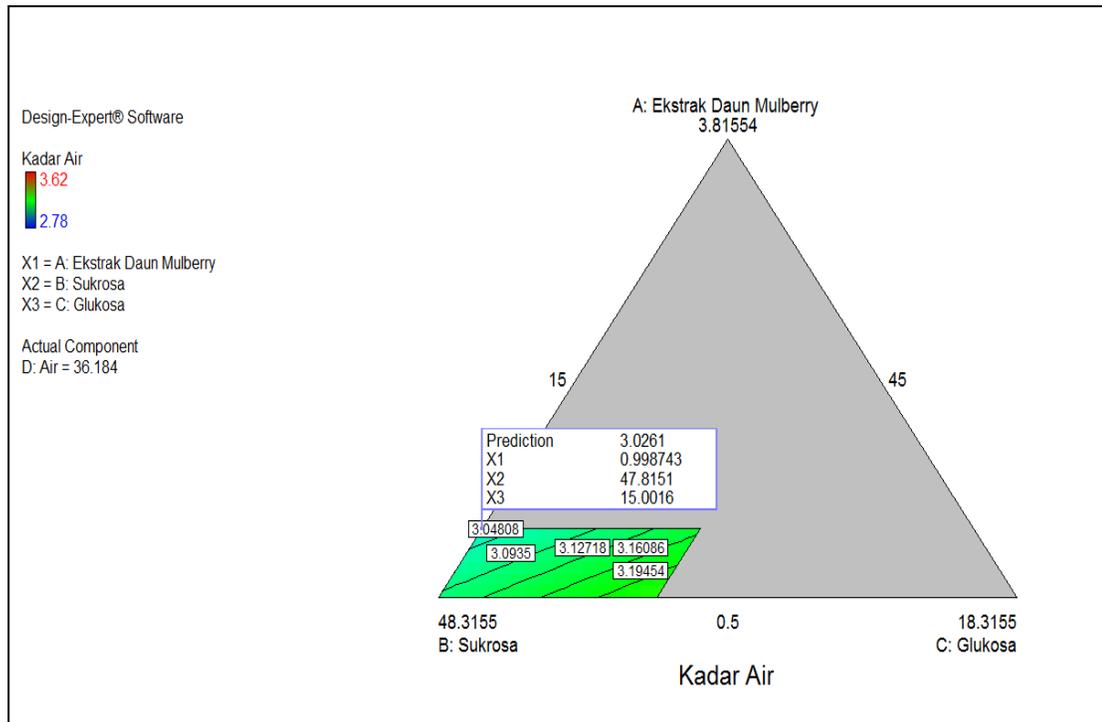
Formulasi yang memiliki kadar air paling rendah yaitu formulasi 4 dengan kadar air sebesar 2,78%, formulasi 4 ini jumlah sukrosa yang digunakan adalah 48,748% walupun bukan jumlah terbesar seperti yang dimiliki formulasi 3 dan 7 yakni 48,750 tetapi formulasi 4 menggunakan air 34,004% yang merupakan jumlah air yang paling kecil artinya dengan jumlah air yang sedikit waktu penguapan air saat proses pemasakan pun lebih cepat sehingga kadar air yang tersisa lebih sedikit. Tujuan dari pemanasan adalah untuk mengurangi kandungan air yang terdapat pada bahan serta untuk meningkatkan kelarutan dari sukrosa. Pemanasan yang terlalu cepat akan mengakibatkan kadar air bahan tinggi, sehingga tekstur sangat lembek, serta menyebabkan kelarutan sukrosa menjadi rendah yang menyebabkan terjadinya kristalisasi sukrosa selama pendinginan. Sedangkan pemanasan yang terlalu lama dapat mengakibatkan perubahan warna pada permen akibat terjadinya karamelisasi. Kadar air terendah kedua dimiliki oleh formulasi 3 yakni 3% dengan jumlah air yang digunakan 34,470%, dan kadar air tertinggi dimiliki oleh formulasi 8 yaitu sebesar 3,62%, data hasil penelitian kadar air dapat dilihat pada lampiran 11.

Terdapat satu formulasi yang memiliki kadar air yang sangat tinggi bahkan tidak memenuhi syarat kadar air SNI yaitu formulasi 8 yaitu 3,62% sedangkan standar SNI tentang syarat mutu *hard candy* kadar air maksimum yang dibolehkan 3,5%. Hal ini disebabkan karena penggunaan air yang banyak yakni 37,999%, sukrosa yang

rendah yaitu 45,243%, dan glukosa yang paling tinggi diantara 8 formulasi yaitu 16,250%, selain itu sifat dari *hard candy* yang mengandung banyak sukrosa dimana sukrosa mempunyai sifat sedikit hidroskopis serta bersifat stabil di udara terbuka dan dalam keadaan yang langsung berhubungan dengan udara dapat menyerap air sebanyak 1%. (Sudarmaji, 1982). Komposisi sukrosa dan gula invert berpengaruh terhadap kadar air. Peningkatan kadar air permen selama penyimpanan disebabkan karena terjadinya absorpsi uap air lingkungan oleh permen karena pengaruh pengemasan yang kurang baik. Semakin tinggi jumlah air yang ditambahkan maka semakin tinggi pula kadar air yang terkandung pada *hard candy*, selain itu dalam penelitian Wahyuni (1998) bahwa semakin tinggi kandungan sukrosa *hard candy*, kadar airnya semakin rendah. Kadar air yang rendah ini diduga selain disebabkan oleh faktor bahan baku juga dipengaruhi oleh suhu pemasakan. peningkatan kadar sukrosa akan meningkatkan kekentalannya.

Selain itu, gula *invert* yang berlebihan mengakibatkan permen lengket atau bahkan produk tidak dapat mengeras (Lawrence 1991). Glukosa dan fruktosa merupakan agen pereduksi (gula reduksi), yaitu menjadi bahan pembawa atau menyebabkan terjadinya proses reduksi atau pengambilan oksigen. Gula invert dalam *hard candy* berfungsi untuk mencegah kristalisasi, karena memiliki tingkat kelarutan yang tinggi.

Formulasi terbaik menurut *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dapat dilihat pada grafik formulasi optimal berdasarkan repon kadar air berikut :



Gambar 17. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Uji Kadar Air

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil analisis fisik menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan hasil uji kadar air adalah 2,78-3,62 didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji kadar air menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* 0,999%, sukrosa 47,815%, glukosa 15,001%, dan air 36,184%. Didapat dari hasil grafik diatas kadar air terbaik menurut DX 7 adalah 3,03% sedangkan kadar air terbaik hasil analisis adalah 2,78%. Hasil kadar air terbaik menurut program DX 7 adalah 3,03% dimana kadar air ini memenuhi syarat SNI yakni kadar air *hard candy* maksimal 3,5%, juga memiliki standar deviasi sebesar 0,25 dalam hal ini standar deviasi tidak boleh melebihi 1.

Permen adalah suatu produk yang diharapkan dapat mempertahankan bentuknya dalam waktu yang cukup lama, dan tidak rusak baik karena pengaruh kimiawi ataupun mikrobiologi, sebelum permen tersebut dikonsumsi. Permen dapat dicetak menjadi berbagai macam bentuk sesuai dengan keinginan. Menurut Buckle *et al.* (1987), permen merupakan produk yang dibuat dengan mendidihkan campuran gula dan air bersama-sama dengan bahan pewarna dan pemberi rasa sampai tercapai kadar air kira-kira 3%. Salah satu jenis permen yang banyak beredar saat ini adalah *hard candy*. *Hard candy* merupakan salah satu permen non kristalin yang dimasak dengan suhu tinggi (140-150<sup>0</sup>C) yang memiliki tekstur keras, penampakan mengkilat dan bening. Kadar air sangat berpengaruh terhadap mutu *hard candy*, karena tingkat keawetan *hard candy* mempunyai hubungan yang erat dengan kadar air yang dikandungnya. Menurut Wahyuni (1998) seni membuat permen dengan daya tahan memuaskan terletak pada pembuatan produk dengan kadar air minimum.

Rendahnya kadar air *hard candy* juga dipengaruhi oleh proses pemanasan. Proses pemanasan akan mengakibatkan berkurangnya jumlah air dalam bahan. Suhu yang digunakan untuk proses pemanasan yaitu 150<sup>0</sup>C. Menurut Winarno (2008) proses pemanasan dapat menyebabkan air yang terdapat pada bahan tersebut akan menguap. Proses pemanasan yang dilakukan pada suhu yang sama untuk bahan yang jumlah airnya berbeda menyebabkan kadar air produk yang dihasilkan akan berbeda. Suhu pemasakan juga berpengaruh terhadap kadar air, semakin tinggi suhu pemasakan maka kadar air *hard candy* maka kadar air semakin rendah, hal ini

disebabkan karena dengan tingginya suhu pemasakan maka semakin banyak air dalam bahan yang mengalami penguapan. Kadar air dipengaruhi oleh komposisi sukrosa dan gula invert, suhu pemasakan, lama penyimpanan, dan air. Sirup glukosa juga dapat digunakan sebagai pemanis bersama dengan sukrosa. Perbandingan jumlah sirup glukosa dan sukrosa yang dipergunakan dalam pembuatan permen sangat menentukan tekstur yang terbentuk (Herschdoefer 1972 ).

Suhu yang digunakan untuk membuat permen agar kadar air mencapai kira-kira 3% adalah 150<sup>0</sup>C. Teknik membuat permen dengan daya tahan yang memuaskan terletak pada pembuatan produk dengan kadar air minimum sehingga kecil kemungkinan kecenderungan untuk mengkristal (Buckle *et al.*, 1987). Hasil penelitian Wahyuni (1998) menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan untuk pembuatan *hard candy* maka kekerasannya semakin tinggi dan kadar air semakin rendah, tetapi apabila pemasakan terlalu lama dengan suhu yang tinggi maka akan terjadi kekosongan atau karamelisasi sehingga akan kehilangan cita rasa dan warna, namun apabila suhu yang digunakan rendah dan dengan waktu pemasakan yang singkat, maka permen tidak akan terbentuk. Selama proses pemasakan perlu dilakukan pengadukan supaya panasnya dapat merata dan mencegah kekosongan, pengadukan yang dilakukan tidak boleh terlalu cepat atau sambil memukul-mukul yang dapat mengakibatkan timbulnya gelembung-gelembung udara, bila hal ini terjadi kembang gula yang dihasilkan akan berongga sehingga merusak tekstur (Harahab, 2010).

Reaksi karamelisasi yang terjadi merupakan reaksi pencoklatan non-enzimatis yaitu reaksi karamelisasi yang menyebabkan permen menjadi gelap. Proses tersebut terjadi karena setiap molekul sukrosa dipecah menjadi molekul glukosa dan fruktosa, suhu tinggi mampu mengeluarkan molekul air dari setiap molekul gula, sehingga terbentuk *glukosan* dan *fruktosan* (dehidrasi). Setelah proses pemecahan dan dehidrasi adalah reaksi polimerisasi yaitu terbentuknya komponen polimer yang berwarna, menyebabkan larutan berwarna gelap (Winarno 2008). Komponen gelap tersebut adalah *hidroksimethyl furfural* (Meyer 1978). Larutan gula yang digunakan sebagai bahan utama pembuatan *hard candy* dengan pemanasan pada suhu tinggi akan mengeras dan mengalami penurunan kadar air. Hal ini sesuai dengan Winarno (2008), bila larutan sukrosa diuapkan maka konsentrasinya akan meningkat, demikian juga dengan titik didihnya. Keadaan ini akan terus berlangsung sehingga air menguap semua dan keseluruhan larutan merupakan cairan sukrosa yang lebur.

Meskipun pada umumnya produk permen dirancang untuk bertahan dalam kondisi paling “keras” selama distribusi dan penjualan, sehingga mempunyai keawetan atau daya simpan yang tinggi hingga 12 bulan, tetapi selama penyimpanan dan distribusi masih mungkin terjadi penurunan mutu. Karena itu cara memilih dan menyimpan permen perlu mendapat perhatian. Memilih dan menyimpan permen harus disesuaikan dengan jenis dan sifat permen tersebut. Misalnya jika permen tersebut termasuk jenis permen keras (*hard candies, non kristal*), maka mutu permen yang baik adalah tidak lengket atau lembek, dan harus disimpan ditempat yang

kering, karena kadar air permen *hard candy* sangat rendah serta banyak mengandung senyawa hasil reaksi sukrosa, maka bersifat dapat menyerap air (higroskopis) jika disimpan di tempat yang lembab. Jika hal tersebut terjadi, maka akan terjadi kristalisasi sebagian gula yang terdapat dalam permen. Permen jenis ini hendaknya dibungkus dengan pembungkus yang tidak tembus air dan disimpan dalam wadah tertutup. Untuk menghasilkan *high boiled sweet* dengan mutu yang baik serta lebih tahan disimpan maka produk harus memiliki kadar air yang minimum dan keseimbangan perbandingan antara gula dan sirup glukosa/gula invert yang tepat. Untuk mencapai hal tersebut maka larutan gula dan sirup glukosa dipanaskan untuk menetapkan atau mengatur kadar padatan atau kadar air dari produk yang dihasilkan. Titik atau batas pemanasan mempengaruhi dari kadar padatan (konsentrasi berkurang). Prinsip inilah yang digunakan dalam industri makanan untuk beberapa keuntungan (Harahab, 2010).

#### **4.2.2.2. Aktivitas Antioksidan**

Analisis aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Aktivitas antioksidan dianggap dalah satu mutu dari permen karena daun *mulberry* yang dipakai sebagai bahan dalam pembuatan permen mengandung antioksidan. Sesuai dengan hasil analisis skrining fitokimia daun *mulberry* mengandung flavonoid, tanin, fenol, dan steroid. Sesuai dengan penelitian Damayanthi *et.al* (2008) bahwa daun *mulberry* memiliki nilai fenol yang tinggi, daun *mulberry* dilaporkan kaya akan kandungan

flavonoid yang memiliki aktivitas biologis yang termasuk dalam aktivitas antioksidan, daun segar *mulberry* pun mengandung theaflavin, tanin, serta kafein. Ekstrak ethanol daun *mulberry* mengandung quersentin dan antosianin. Kedua macam senyawa tersebut termasuk kedalam kelompok glikosida flavonoid. Senyawa tersebut memiliki banyak gugus hidroksi (OH) yang dapat berfungsi sebagai antiradikal bebas atau antioksidan. Tanin sebagian besar tersusun atas katekin, epikatekin, epikatekin galat, epigalo katekin, epigalo katekin galat dan,ngalokatekin, sedangkan flavonoid berupa flavonol yaitu quercetin, kempferol dan myricetin. Pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* ini menggunakan ekstrak daun *mulberry* dimana ke-8 formulasi mengandung ekstrak daun *mulberry* yang berbeda-beda dan memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda-beda pula, setelah itu formulasi terbaik dilihat berdasarkan respon aktivitas antioksidan menurut *design expert*.

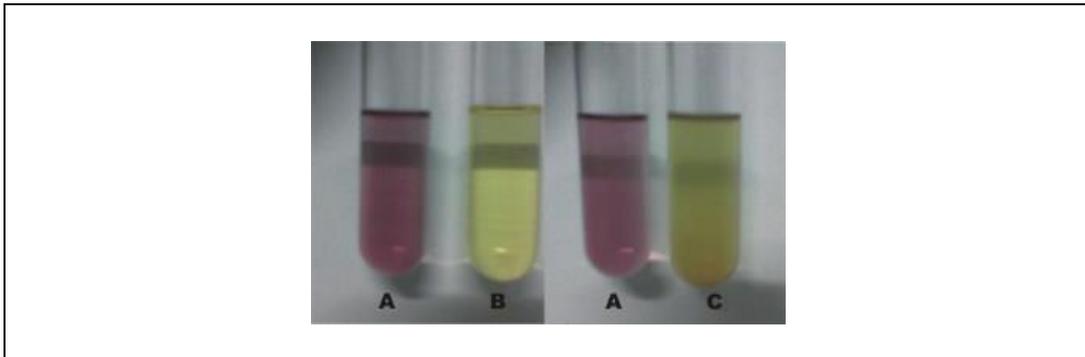
Hasil ANOVA dapat dilihat pada lampiran 21 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan hasil *not significant* (tidak signifikan) dimana "Model F-nilai" 5,88 berarti model tidak relatif signifikan. Nilai-nilai "Prob> F" kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari 0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke-8 formulasi tidak berbeda nyata, hal ini dikarenakan baiknya aktivitas antioksidan yang terkandung dalam permen dipengaruhi oleh bahan yang digunakan yakni ekstrak daun *mulberry*. Ke-8 *hard candy* daun *mulberry* memiliki jumlah bahan yang berbeda-beda salah satunya

ekstrak daun *mulberry*. Penggunaan ekstrak daun *mulberry* pada pembuatan permen sangatlah kecil, dan batas bawah hingga batas atas yang digunakannya pun memiliki rentang yang sangat kecil yaitu 0,5%-1%, ini dikarenakan penggunaan ekstrak dalam jumlah kecil saja sudah sangat mempengaruhi warna, penggunaan ekstrak yang banyak menyebabkan warna akhir permen menjadi hijau pekat hingga hitam dan rasa yang dihasilkan cenderung pahit. Karena rentang penggunaan ekstrak yang tidak terlalu jauh maka hasil analisis aktivitas antioksidan *hard candy* daun *mulberry* tidak berbeda nyata.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007). Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan (Winarsi, 2007). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Radikal bebas erat kaitannya dengan kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Fessenden, 1986). Radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel, yaitu protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida.

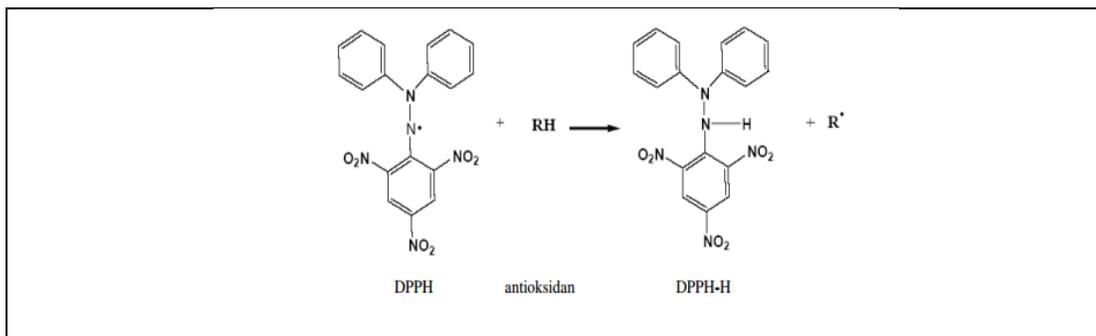
Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. (Winarsi, 2007).

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan *hard candy* daun *mulberry* adalah dengan metode DPPH. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC50). DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. Pengamatan terhadap penangkapan radikal DPPH dapat dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi. Hal ini dapat terjadi oleh karena adanya reduksi radikal oleh antioksidan (AH) atau bereaksi dengan senyawa radikal lainnya (Yu dkk, 2002). Untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH, maka pengukuran reaksi warna dilakukan pada konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan semakin besar pula peredamannya yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Dikarenakan pada konsentrasi tinggi senyawa yang terkandung akan semakin banyak dan menyebabkan semakin besar pula aktivitas antioksidannya.



Gambar 18. Perubahan Warna Reaksi Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH (A) kontrol negative, (B) kontrol positif, dan (C) larutan uji

Uji aktivitas antioksidan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Metode ini berdasarkan reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga akan dihasilkan DPPH-H (bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH atau dapat dikatakan juga adanya keberadaan antioksidan akan menetralkan radikal DPPH dengan menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Penghilangan warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 517 nm. (Windono, 2004).



Gambar 19. Reaksi Penangkapan Radikal oleh DPPH

Formulasi yang memiliki aktivitas antioksidan paling baik dimiliki oleh formulasi 2 yakni 0,49%, disusul oleh formulasi 4 dengan 0,56% kemudian formulasi 7 dengan 0,58% dan formulasi yang memiliki aktivitas antioksidan terburuk dimiliki oleh formulasi 1 dengan 1,30%. Jika ditinjau dari jumlah ekstrak yang digunakan dalam formulasi seharusnya formulasi 7 yang lebih unggul karena penggunaan ekstrak daun *mulberry* paling besar yakni 1%, formulasi 2 0,985%, formulasi 4 dan 0,998%, tetapi jika dilihat kembali perbedaan penggunaan ekstrak daun *mulberry* memiliki perbedaan yang sangat kecil. Semakin besar konsentrasi atau banyaknya ekstrak maka aktivitas antioksidan semakin baik pula. Aktivitas antioksidan pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry* tidak begitu baik atau aktivitasnya rendah, karena bahan yang diuji dengan metode DPPH ini adalah *hard candy* atau produk, dimana produk atau *hard candy* ekstrak daun *mulberry* ini memiliki komponen lain seperti sukrosa, glukosa, dan air, DPPH tidak selalu mendeteksi senyawa aktif dalam suatu bahan atau produk saja, ditambah proporsi setiap bahan dalam pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berbeda beda untuk 8 formulasi yang akan mempengaruhi kinerja DPPH. Selain karena hal tersebut faktor pertama yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan adalah senyawa flavonoid masih dalam bentuk ekstrak yang tidak murni sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Menurut Fukumoto dan Mazza (2000) aktivitas antioksidan akan meningkat dengan

bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida. Senyawa flavonoid di alam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikon flavonoid. Menurut Harborne (1987) bahwa flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida ( flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal atau aglikon flavonoid, oleh karena itu untuk menganalisis flavonoid lebih baik untuk menghidrolisis glikosida yang terikat pada flavonoid tersebut sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang mungkin terdapat dalam ekstrak asal.

Faktor kedua yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan yaitu diduga senyawa yang terkandung kemungkinan adalah flavonoid golongan flavanon. Senyawa flavanon pada umumnya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Faktor yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan pada senyawa flavanon pada umumnya disebabkan oleh gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavanon hanya sedikit dan pada cincin C flavanon tidak memiliki ikatan ganda pada ikatan 2-3 gugus 4-okso, sehingga kemungkinan besar untuk menstabilkan struktur senyawanya yang kehilangan elektron dari proses donor hidrogen dalam struktur senyawa flavanon tidak terjadi dengan demikian senyawa golongan flavanon pada umumnya memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lemah. Faktor lain yang juga berpengaruh pada aktivitas antioksidan adalah proses, dimana antioksidan ini mudah teroksidasi dan terdegradasi oleh udara dan panas. Bahan yang memiliki potensi aktivitas antioksidan yang diproses dengan panas dan terkena udara langsung akan

merusak kandungan kimia sehingga mempengaruhi aktivitas antioksidan (Burda dan oleszek, 2001).

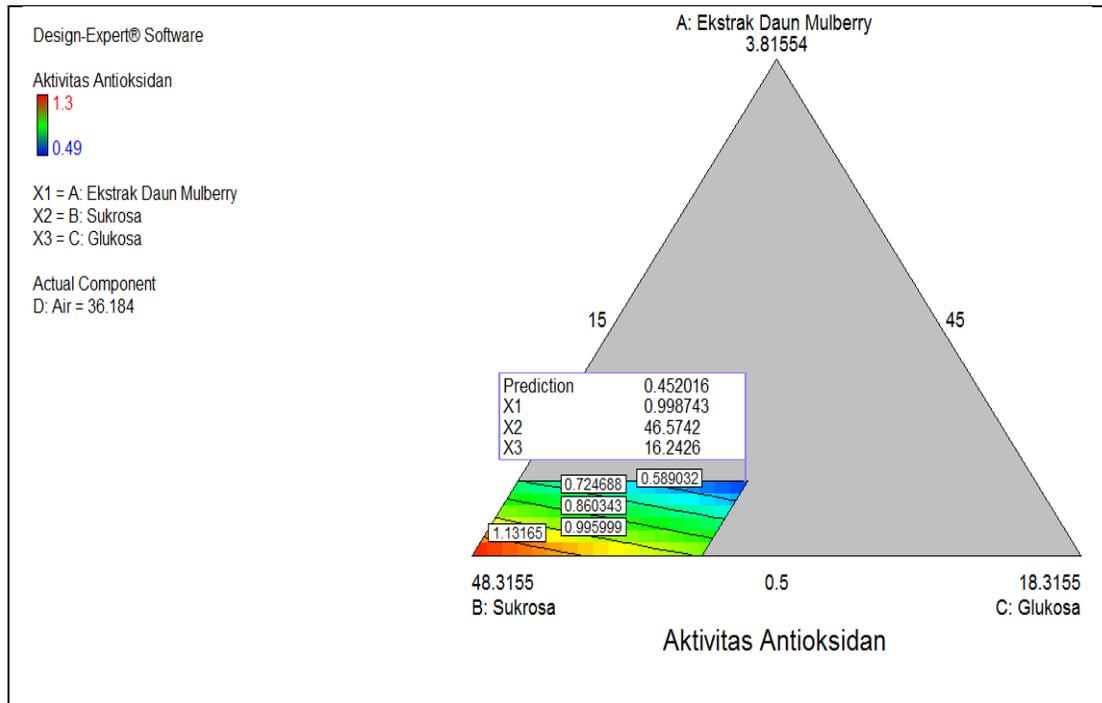
Aktivitas antioksidan yang diperoleh dihitung nilai IC50 dengan persamaan regresi linier. Nilai IC50 berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai IC50 menunjukkan semakin besar kemampuan antioksidannya. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning. Perubahan absorbansi akibat reaksi ini telah digunakan secara luas untuk menguji kemampuan beberapa molekul sebagai penangkap radikal bebas.

Menurut Badarinath (2010), kandungan senyawa fenolik akan mempengaruhi aktivitas penangkapan radikal bebas suatu bahan. Aktivitas antioksidan ini berkaitan dengan kadar tanin, jika kadar tanin menurun maka aktivitas antioksidan akan menurun juga. Hal tersebut juga dikemukakan oleh Rohdiana dan Widianara (2008) bahwa tanin merupakan zat yang berperan sebagai antioksidan, sebagai contoh pengolahan teh melalui proses oksidasi enzimatis tanin ini akan teroksidasi menjadi teaflavin dan akan terkondensasi menjadi tearubigin, hal tersebut menyebabkan menurunnya kandungan tanin, sehingga aktivitas antioksidan juga akan menurun. Hal ini juga dinyatakan dalam Rohdiana (2001), bahwa menurunnya komponen bioaktif seperti tanin menyebabkan daya antioksidan lebih rendah, karena tanin sudah

teroksidasi menjadi theaflavin. Theaflavin merupakan senyawa turunan dari tanin yang teroksidasi yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan tanin (Yulia, 2006).

Aktivitas diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul *Difenil Pikril Hidrazil* dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa *Difenil Pikril Hidrazin* dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning, adanya penurunan nilai absorbansi DPPH yang diberi sampel terhadap kontrol mempunyai arti bahwa telah terjadinya penangkapan radikal DPPH oleh sampel, dengan penangkapan radikal tersebut mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadinya penurunan absorbansi. Dari data pengukuran nilai absorbansi dapat dianalisis pengaruh konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi dimana peningkatan aktivitas sebanding dengan bertambahnya konsentrasi. Ditentukan persamaan regresi dan untuk selanjutnya dari persamaan diplotkan aktivitas 50% sehingga diperoleh harga konsentrasi efektif (IC50). IC50 merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Data hasil analisis dan grafik ke-8 formulasi dapat dilihat pada lampiran 12.

Formulasi terbaik menurut DX 7 dapat dilihat pada grafik formulasi optimal berdasarkan repon aktivitas antioksidan berikut :



Gambar 20. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil analisis aktivitas antioksidan menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan hasil uji aktivitas antioksidan adalah 0,49-1,30 didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji aktivitas antioksidan menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* 0,999%, sukrosa 46,574%, glukosa 16,243%, dan air 36,184%. Didapat dari hasil grafik diatas aktivitas antioksidan terbaik menurut *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah 0,45% sedangkan hasil analisis aktivitas terbaik hanya 0,49%. Standar deviasi yang dimiliki sebesar 0,33 dalam hal ini standar deviasi tidak boleh melebihi 1.

### 4.2.3. Hasil Respon Fisik

#### 4.2.3.1. Uji Kekerasan (Tekstur)

Pengujian fisik yang dilakukan pada *hard candy* ekstrak daun *mulberry* adalah uji tekstur untuk menguji kekerasan *hard candy* dengan menggunakan alat penetrometer. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat kekerasan atau tekstur dari *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Uji tekstur (kekerasan) dilakukan karena merupakan salah satu kriteria mutu penting bagi berbagai jenis permen. Penggunaan ekstrak daun *mulberry* ini di ke 8 formulasi berbeda-beda, oleh karena itu setiap formulasi memiliki kekerasan yang berbeda pula, setelah itu dapat dilihat formulasi terbaik dengan uji tekstur menggunakan *design expert*.

Hasil ANOVA dapat dilihat pada lampiran 22 menunjukkan bahwa ke-8 formulasi secara statistik berpengaruh terhadap tekstur (kekerasan) yang ditunjukkan dengan hasil *significant* (signifikan) dimana “Model F-value 37,77 berarti model adalah signifikan. Nilai-nilai "Prob> F" kurang dari 0,0500 menunjukkan istilah model yang signifikan. Nilai lebih besar dari 0,10 menunjukkan istilah model yang tidak signifikan, jadi ke-8 formulasi berbeda nyata. Hasil pun menunjukkan memiliki standar deviasi 0,11, hal ini disebabkan karena ke-8 formulasi memiliki proporsi bahan yang berbeda-beda dimana semakin banyak sukrosa yang digunakan maka tablet semakin keras (Alkarim 2009), dimana batas bawah dan batas atas yang diterapkan dalam program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* untuk bahan sukrosa memiliki rentang yang cukup jauh, yakni batas bawah sebesar 45,00% dan

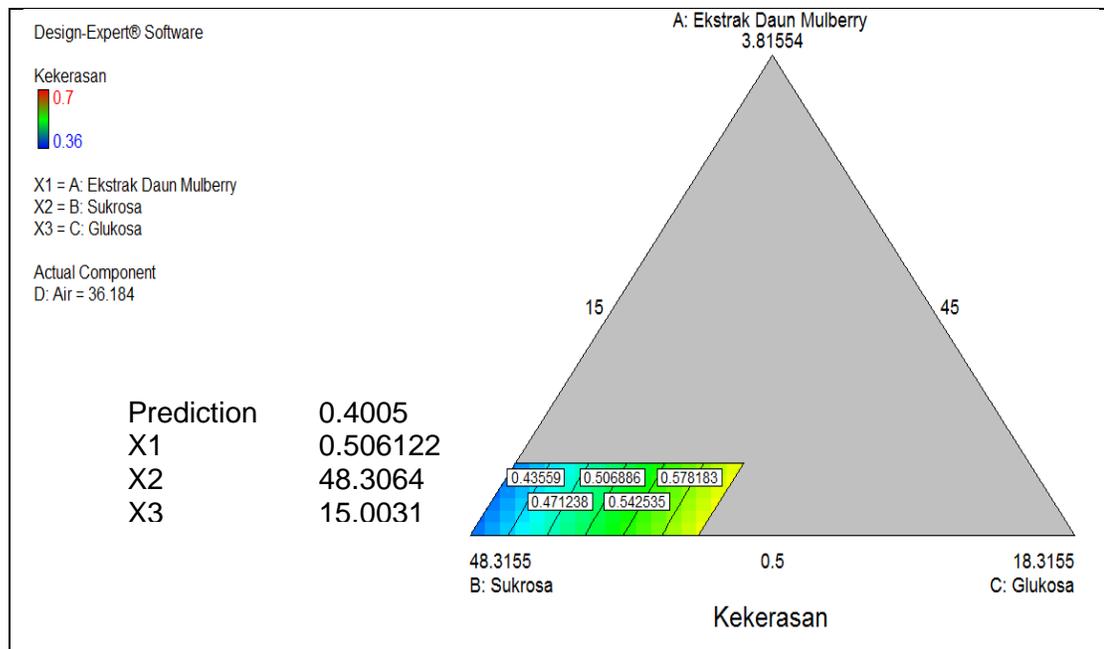
batas atas 48,75% oleh karena itu setiap formulasi memiliki variasi formulasi sukrosa yang lebih beragam dan menghasilkan tingkat kekerasan yang berbeda pula. Selain karena kandungan sukrosa perbedaan tingkat suhu pemasakan menentukan jenis permen yang dihasilkan yaitu suhu tinggi menghasilkan permen keras, suhu sedang menghasilkan permen yang lunak, dan suhu dingin menghasilkan permen kenyal.

Kekerasan yang paling tinggi dimiliki oleh formulasi 7, disusul formulasi 1 kemudian 3 dan 6 setelah itu 4 dan 5, dan yang terakhir adalah formulasi 2 dan 8 yang memiliki tekstur yang tidak sekeras ke-6 formulasi lainnya. Data hasil pengujian tekstur (kekerasan) dengan menggunakan penetrometer dapat dilihat pada lampiran 13.

Formulasi 7 yang memiliki tingkat kekerasan tinggi dengan memperoleh hasil rata-rata sebesar 0,36mm/dt dimana semakin besar hasil maka semakin lunak bahan yang diuji, sebaliknya semakin kecil hasil maka bahan yang diuji semakin keras, ini disebabkan karena prinsip dari alat tersebut. Penetrometer memiliki satuan mm/gram/dt yang memiliki arti bahwa millimeter menandakan kedalaman sampel yang mampu ditusuk oleh jarum, lalu gram adalah berat yang digunakan disini digunakan pemberat sebesar 100 gram, dan detik adalah waktu yang digunakan untuk penusukan pada bahan yang diuji yaitu selama 10 detik artinya angka yang ditunjukkan atau dihasilkan memperlihatkan kemampuan penusukan jarum dari alat pengukur untuk menusuk bahan pada kedalaman tertentu selama 10 detik dengan

demikian besarnya hasil pengukuran menandakan bahan tersebut memiliki tingkat kekerasan yang rendah karena jarum masuk lebih dalam pada produk atau bahan.

Grafik formulasi optimal berdasarkan repon atribut mutu warna dapat dilihat pada gambar 21.



Gambar 21. Model Grafik Formulasi Optimal Berdasarkan Respon Uji Tekstur (Kekerasan)

Berdasarkan hasil dari model grafik formulasi optimal atau terbaik dilihat dari hasil analisis fisik menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dengan batasan hasil uji fisik adalah 0,36-0,7 didapat formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan uji fisik menurut program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* adalah ekstrak daun *mulberry* 0,506%, glukosa 48,306%, glukosa 15,003%, dan air 36,184% dengan tekstur (kekerasan) sebesar 0,40 mm/gram/dt.

Seperti yang telah dikatakan bahwa formulasi yang memiliki tekstur paling keras yakni formulasi 7 dengan nilai 0,36 mm/gram/dt, formulasi paling lunak adalah formulasi 2 dan 8 dengan hasil yang sama yaitu 0,7 mm/gram/dt sedangkan menurut program *Design Expert 7.0* uji tekstur yang paling baik adalah 0,40 mm/gram/dt. Formulasi 7 menghasilkan permen yang paling keras, ini disebabkan oleh penggunaan sukrosa yang banyak, yakni 48,750% dimana jumlah ini adalah jumlah tertinggi, selain itu penggunaan glukosa pun rendah yaitu 15,096% walaupun jumlah ini kalah rendah dengan formulasi 1 yaitu 15,001% dan formulasi 6 yaitu 15,00% tetapi jumlah sukrosa yang digunakan formulasi 1 dan 6 adalah 48,395% dan 46,862%. Selain penggunaan sukrosa dan glukosa penggunaan air pun ikut mempengaruhi tekstur, semakin banyak penambahan air maka tingkat kekerasan *hard candy* semakin rendah, sebaliknya semakin rendah air yang ditambahkan maka tingkat kekerasan *hard candy* semakin tinggi. Formulasi yang memiliki air banyak akan lebih sulit dan lama menguapkan air yang terkandung sementara jika dipanaskan terlalu lama akan mengalami karamelisasi sehingga menurunkan mutunya. Formulasi 7 menggunakan air yang cukup rendah yakni 35,154%. Jumlah air yang terendah sebenarnya dimiliki oleh formulasi 3 dan 4 tetapi kedua formulasi tersebut menggunakan jumlah glukosa yang lebih besar yakni 16,248% dan 16,250%.

Pembuatan permen, perbandingan komposisi pemanis sangat menentukan tingkat kekerasan dan kemanisan dari permen tersebut. Komposisi sukrosa yang terlalu tinggi menghasilkan permen yang keras. Demikian sebaliknya, komposisi

glukosa yang terlalu tinggi menghasilkan permen yang lunak, tetapi walupun penggunaan sukrosa membuat permen semakin keras tapi perlu diperhatikan karena permen yang terlalu banyak menggunakan sukrosa akan mengalami kristalisasi. Permen yang menggunakan sukrosa murni mudah mengalami kristalisasi. Perbandingan jumlah sukrosa dengan sirup glukosa yang digunakan dalam pembuatan permen sangat menentukan tekstur. Campuran sukrosa dengan sirup glukosa dapat membuat tekstur yang dihasilkan lebih menarik, tetapi kekerasannya cenderung menurun. Mengatur perbandingan antara sukrosa dengan sirup glukosa merupakan perpaduan ilmiah dan seni yang menarik, untuk mendapatkan tekstur yang diinginkan, perlu perbandingan yang khas dan tepat untuk kedua bahan ini. Pada suhu 20°C hanya 66,7% sukrosa murni yang dapat larut. Bila larutan sukrosa 80% dimasak hingga 109,6°C dan kemudian didinginkan hingga 20°C, 66,7% sukrosa akan terlarut dan 13.3% terdispersi. Bagian sukrosa yang terdispersi ini akan menyebabkan kristalisasi pada produk akhir. Oleh karena itu perlu digunakan bahan lain untuk meningkatkan kelarutan dan menghambat kristalisasi, misalnya sirup glukosa dan gula invert, oleh karena itu penggunaan glukosa sangatlah penting (Sutaredja, *el al*, 2007).

Permen keras adalah permen yang padat teksturnya. Dimakan dengan cara menghisap permen jenis ini larut bersama air liur. Produk permen selalu tersusun atas sukrosa sebagai sumber rasa manis, sedangkan glukosa ditambahkan dalam permen untuk memperbaiki tekstur permen supaya lebih lembut atau tidak kasar, dan

memperbaiki *mouth taste* permen saat dalam rongga mulut dan meleleh dengan lembut. Gula berfungsi untuk memberikan rasa manis dan kelembutan yang mempunyai daya larut tinggi, mempunyai kemampuan menurunkan aktivitas air (aw) dan mengikat air (Hidayat dan Ikariztiana, 2004). Sirup glukosa berfungsi memperlunak hasil atau hasilnya halus sehingga permen yang dihasilkan tidak terlalu keras, selain itu juga berfungsi mencegah pengkristalan sukrosa, tetapi jika terlalu banyak sirup glukosa juga akan menyebabkan permen menjadi lembek teksturnya. Kristalisasi dapat disebabkan oleh padatan terlarut yang berlebih. Penambahan gula yang terlalu banyak akan menyebabkan kembang gula menjadi keras dan berkrystal. Sebaliknya bila penambahan gula yang terlalu sedikit menyebabkan permen menjadi lembek (Margono,2010).

Apabila pemasakan terlalu lama dengan suhu yang tinggi maka akan terjadi kegosongan atau karamelisasi sehingga akan kehilangan cita rasa dan warna, namun apabila suhu yang digunakan rendah dan dengan waktu pemasakan yang singkat, maka permen tidak akan terbentuk. (Minarni, 1996). Kelarutan sukrosa dalam air sangat tinggi dan jika dipanaskan kelarutannya makin bertambah tinggi. Jika dipanaskan sukrosa akan membentuk cairan jernih dan jika didinginkan akan mengeras. Sukrosa yang dimasak dengan suhu tinggi akan berubah kedalam keadaan *glassy* berupa cairan super jenuh dan tidak berkrystal setelah pencetakan. Permen yang jernih dapat dihasilkan dengan kandungan air yang rendah dan penambahan sirup glukosa yang akan mempertahankan viskositas tinggi. Kadar air mempengaruhi

penampakan dan tekstur dari *hard candy*, jika kadar air pada *hard candy* terlalu tinggi dapat menyebabkan *hard candy* tidak dapat mengeras sehingga tidak terbentuk *hard candy* atau terbentuk permen yang mudah meleleh. Faktor lama penyimpanan berpengaruh terhadap kekerasan *hard candy*. Semakin lama penyimpanan maka kekerasan *hard candy* semakin menurun. Penurunan ini diduga disebabkan proses pengemasan yang kurang baik sehingga selama penyimpanan terjadi penyerapan uap air dari lingkungan. Proses pengemasan pada *hard candy* yang kurang baik dapat menyebabkan permen menjadi lengket dan berair. Hal ini dapat mengakibatkan penurunan kekerasan *hard candy*. Faktor suhu pemasakan juga berpengaruh terhadap kekerasan. Semakin tinggi suhu pemasakan maka permen semakin keras. Hal ini disebabkan karena kadar air permen semakin rendah dengan meningkatnya suhu pemasakan. (Bernard, 1989).

### **4.3. Formulasi Optimal Terpilih**

Formulasi optimal terpilih merupakan suatu solusi atau formulasi optimal yang diprediksikan oleh *design expert* metode *d-optimal* berdasarkan hasil analisis terhadap respon kimia (aktivitas antioksidan dan kadar air), respon fisik (uji kekerasan), serta respon organoleptik (warna, kilap, rasa, dan tekstur *mouthfeel*). Formulasi optimal ini didapat dari pilihan *optimization* kemudian *solution*. *Solution* ini bertujuan memberikan informasi tentang formulasi yang terpilih menurut program. Didapat 1 formulasi optimal berdasarkan kandungan aktivitas antioksidan

terbaik yakni ekstrak daun *mulberry* 1,000%, sukrosa 48,750%, glukosa 15,113%, dan air 35,137%.

Constraints						
Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Ekstrak Daun Mu	maximize	0.5	0.999598	1	1	3
Sukrosa	is in range	45	48.75	1	1	3
Glukosa	is in range	15	16.25	1	1	3
Air	is in range	34.0044	38	1	1	3
Aktivitas Antioks	minimize	0.49	1.3	1	1	3
Kadar Air	minimize	2.78	3.62	1	1	3
Kekerasan	minimize	0.36	0.7	1	1	3

Solutions								
Number	Ekstrak Daun Mulberry	Sukrosa	Glukosa	Air	Aktivitas Antioksid	Kadar Air	Kekerasan	Desirability
1	<u>1.000</u>	<u>48.750</u>	<u>15.113</u>	<u>35.137</u>	<u>0.77305</u>	<u>2.89181</u>	<u>0.367526</u>	<u>0.862</u> <span style="float: right;">Selected</span>

Gambar 22. Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*

Selain memberikan solusi formulasi optimal berdasarkan hasil repon kimia, fisik, dan organoleptik, solusi pun memberikan prediksi hasil respon dari formulasi yang terpilih tersebut, yaitu aktivitas antioksidan 0,77%, kadar air 2,9%, uji kekerasan (tekstur) 0,37 mm/dt, skor atribut mutu warna 4,24 (agak kuat), skor atribut mutu kilap 4,3 (agak kuat), skor atribut mutu rasa 4,6 (kuat), dan skor atribut mutu tekstur (*mouthfeel*) 4,3 (agak kuat). Hasil yang dikeluarkan oleh *design expert* metode *d-optimal* ini menggunakan ekstrak daun *mulberry* dengan jumlah terbanyak yakni 1% dimana penggunaan ekstrak ini akan mempengaruhi aktivitas antioksidan *hard candy* sehingga *hard candy* yang dihasilkan memiliki mutu yang baik karena memiliki

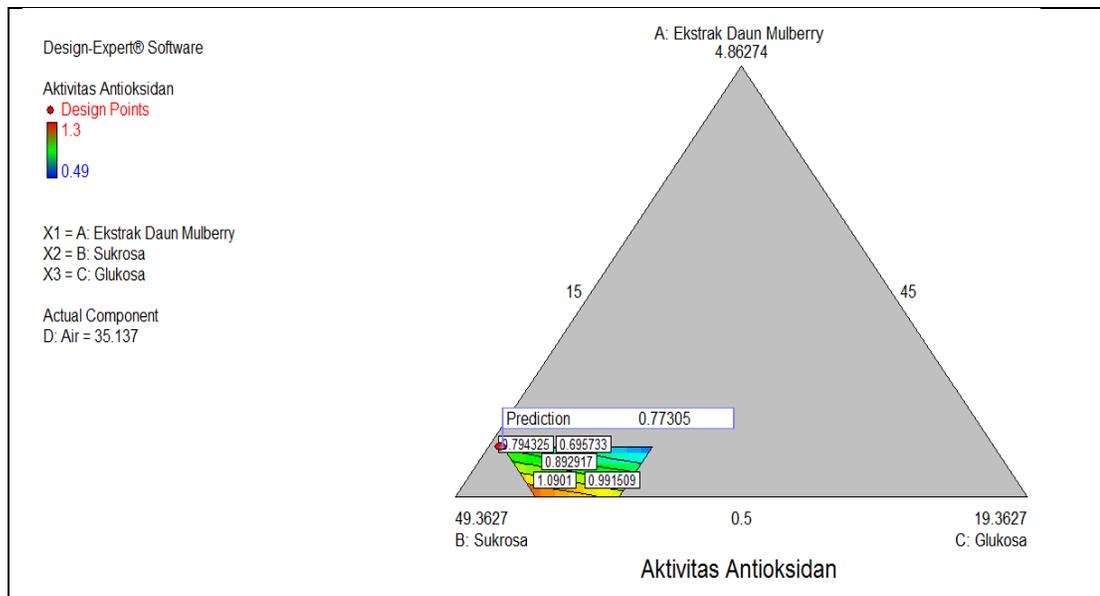
aktivitas antioksidan cukup tinggi. Hasil ini sesuai dengan yang diharapkan bahwa formulasi optimal memiliki kandungan yang paling baik pula.

Component	Name	Level	Low Level	High Level	Std. Dev.	Coding	
A	Ekstrak Daun Mu	1.00	0.50	1.00	0.000	Actual	
B	Sukrosa	48.75	45.00	48.75	0.000	Actual	
C	Glukosa	15.11	15.00	16.25	0.000	Actual	
D	Air	35.14	34.00	38.00	0.000	Actual	
	Total =	100.00					
Response	Prediction	SE Mean	95% CI low	95% CI high	SE Pred	95% PI low	95% PI high
Aktivitas Antioksidan	0.77305	0.14	0.38	1.17	0.25	0.089	1.46
Kadar Air	2.89181	0.10	2.61	3.17	0.17	2.41	3.37
Kekerasan	0.367526	0.021	0.31	0.43	0.037	0.27	0.47
Warna	4.24438	0.26	3.52	4.97	0.45	2.99	5.50
Kilap	4.29192	0.29	3.48	5.11	0.51	2.89	5.70
Rasa	4.56471	0.046	4.44	4.69	0.079	4.34	4.78
Tekstur (Mouthfeel)	4.27995	0.32	3.38	5.18	0.56	2.73	5.83

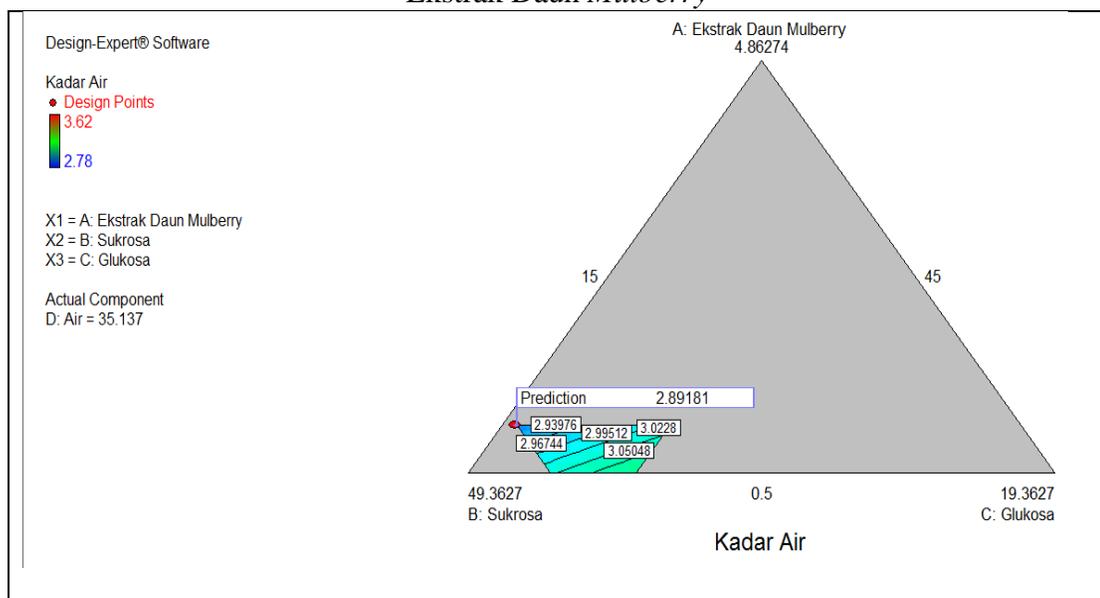
Gambar 23. *Point Prediction* Formulasi Optimal

Hasil prediksi formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* repon kadar air telah sesuai dengan syarat SNI untuk kembang gula keras yakni tidak boleh melebihi 3,5%. Hasil prediksi program terhadap kadar air adalah 2,9%. Uji tekstur (kekerasan) memiliki nilai 0,37 mm/dt yang artinya permen yang akan dihasilkan memiliki tektur yang sangat keras, dimana semakin kecil hasil yang diperoleh maka produk atau permen memiliki tekstur semakin keras hal ini dikarenakan penggunaan sukrosa yang besar yaitu 48,750% dan glukosa 15,113% seperti yang telah dibahas bahwa semakin banyak penggunaan sukrosa maka permen yang dihasilkan semakin keras, sedangkan penggunaan glukosa yang terlalu banyak akan membuat permen

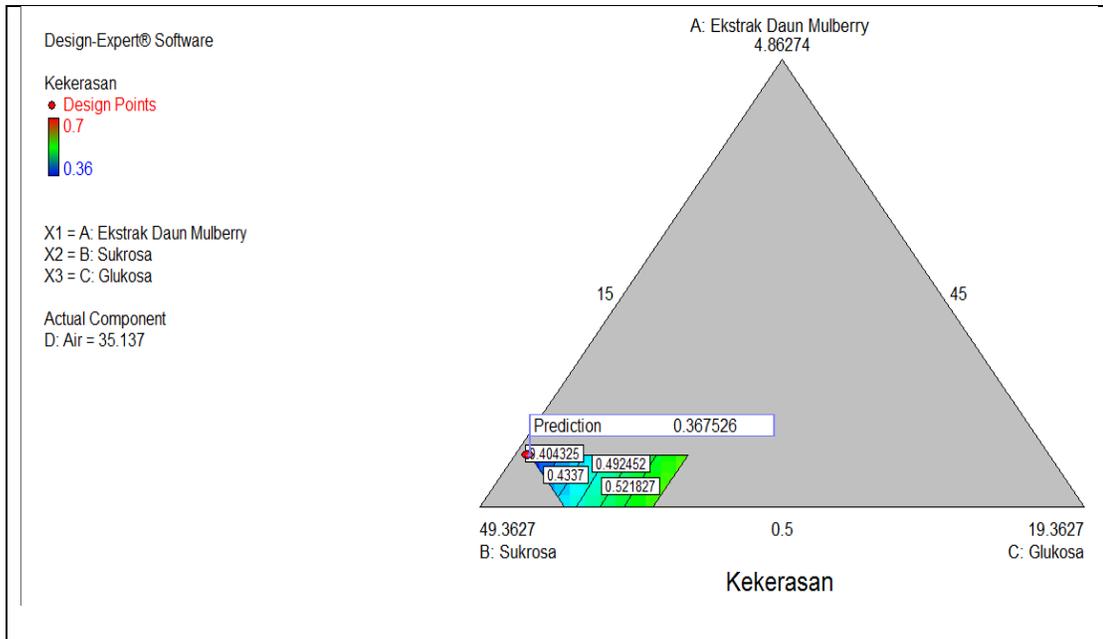
lembek dan sulit terbentuk. Aktivitas antioksidan formulasi terpilih yang diprediksikan memiliki hasil 0,77% hal ini dikarenakan penggunaan gula yang banyak (sukrosa 48,750% dan glukosa 15,113%).



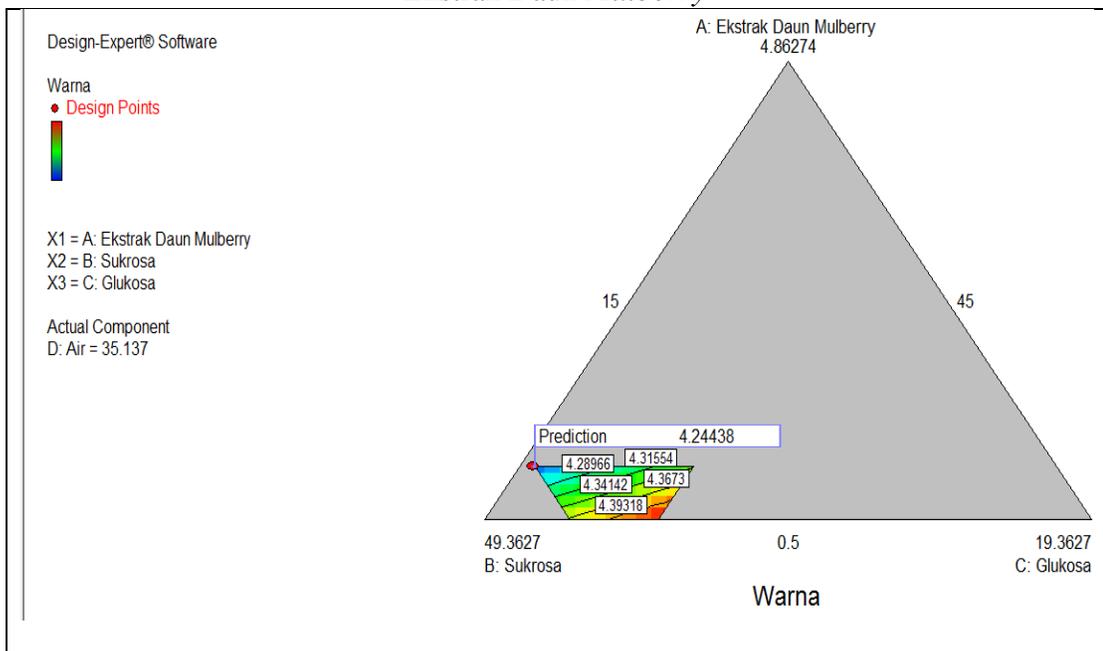
Gambar 24. Grafik Aktivitas Antioksidan Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*



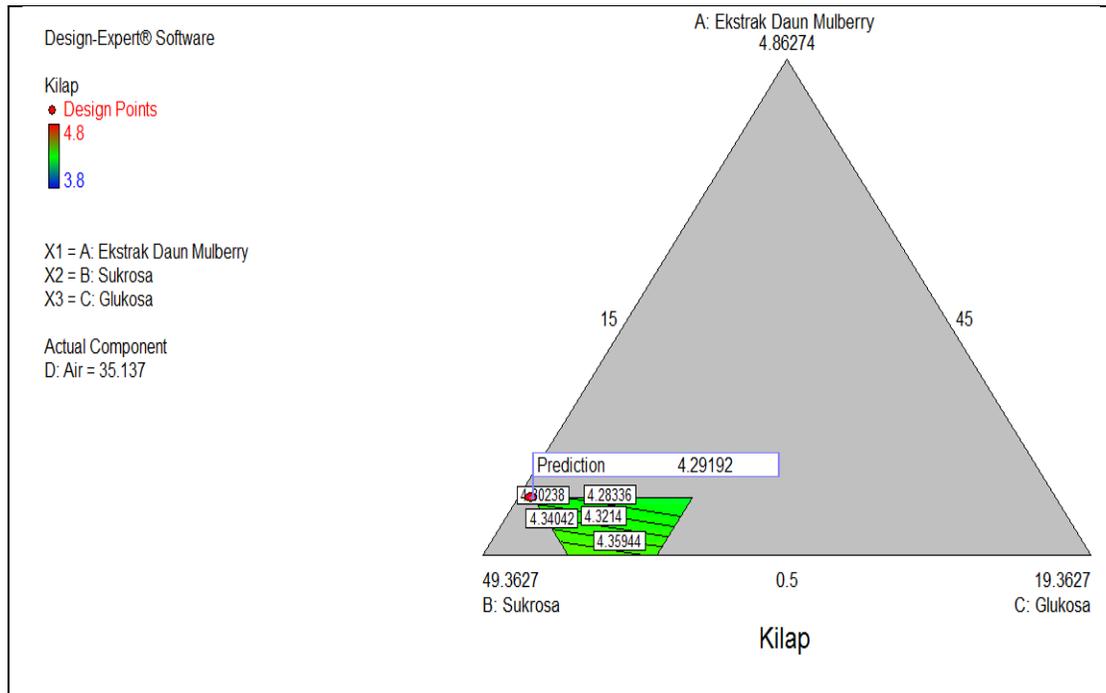
Gambar 25. Grafik Kadar Air Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*



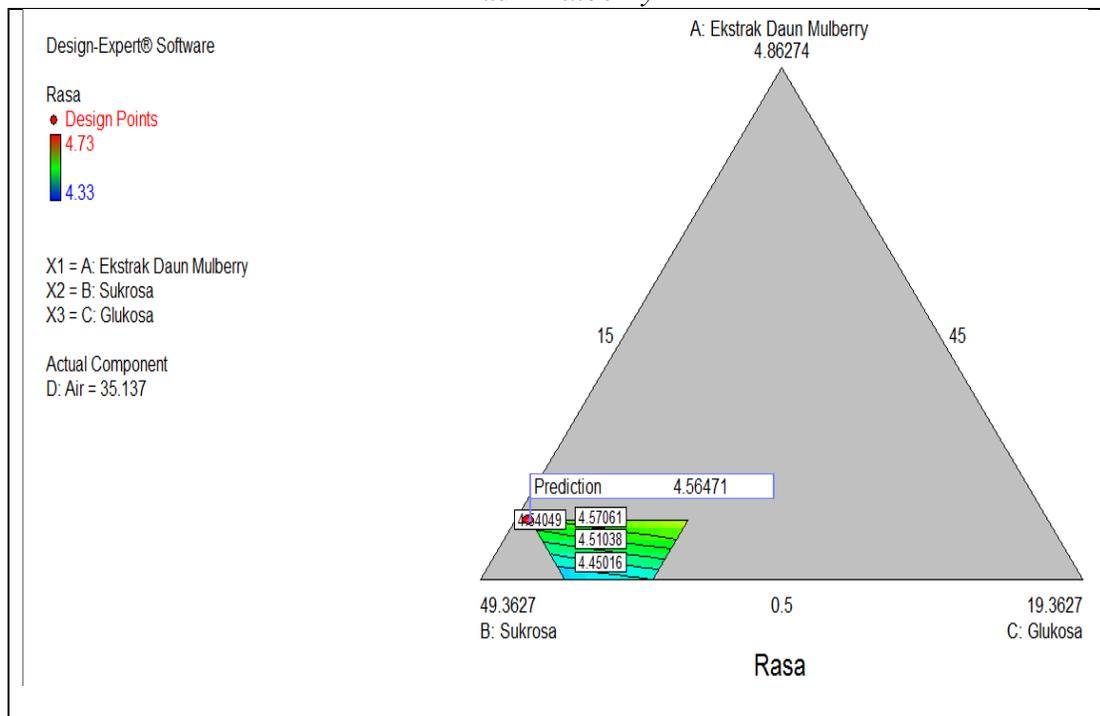
Gambar 26. Grafik Uji Tekstur (Kekerasan) Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*



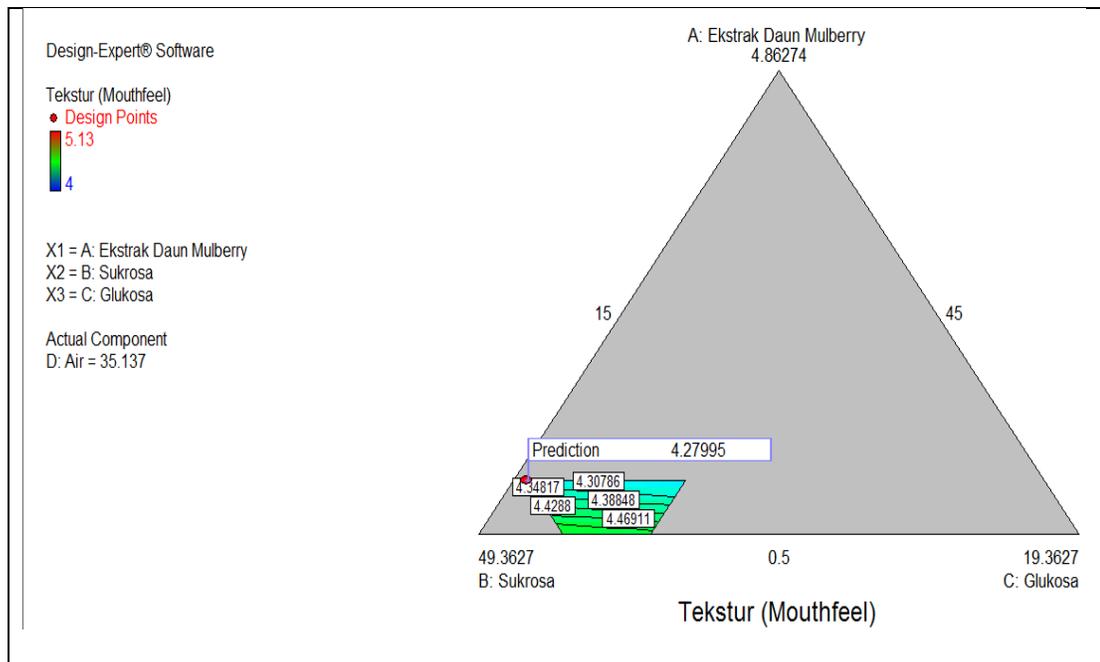
Gambar 27. Grafik Atribut Mutu Warna Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*



Gambar 28. Grafik Atribut Mutu Kilap Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*

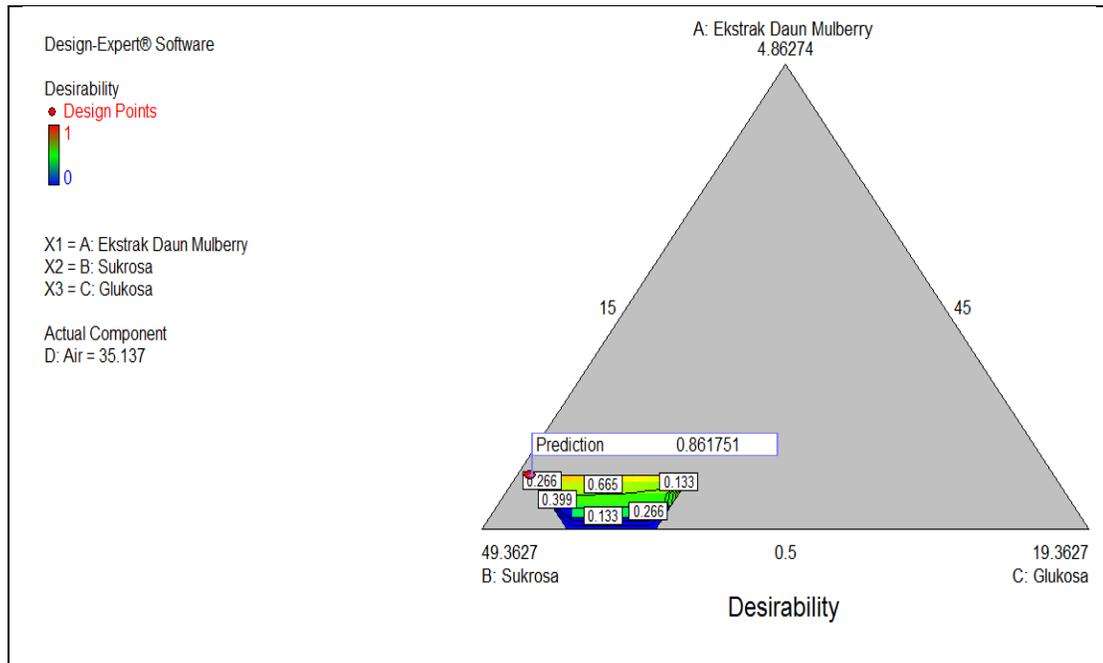


Gambar 29. Grafik Atribut Mutu Rasa Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*



Gambar 30. Grafik Atribut Mutu Tekstur (*Mouthfeel*) Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*

Ketepatan formulasi optimal dari masing-masing respon tersebut dapat dilihat pada *desirability*. *Desirability* adalah derajat ketepatan hasil solusi atau formulasi optimal. Semakin mendekati nilai satu maka semakin tinggi nilai ketepatan optimasi. Nilai *desirability* yang dimiliki formulasi optimal *hard candy* ekstrak daun *mulberry* menurut program DX 7 adalah 0,862 sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai respon memiliki ketepatan yang tinggi.



Gambar 31. Grafik *Desirability* Formulasi Optimal *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*

Ketepatan nilai respon tersebut telah dibuktikan dengan melakukan analisis aktivitas antioksidan, kadar air, dan uji kekerasan dengan penetrometer dari formulasi terpilih menurut *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal*. Berdasarkan hasil analisis aktivitas antioksidan formulasi terpilih 0,52%, kadar air 3%, dan kekerasan dengan penetrometet 0,38 mm/dt. Hasil analisis yang diperoleh tidak berbeda jauh dari yang *Design Expert 7.0* prediksikan dan *hard Candy* ekstrak daun *mulberry* formulasi optimal memiliki aktivitas antioksian yang baik yakni 0,52% dimana aktivitas antioksidan terbaik dimiliki oleh formulasi 2 yaitu 0,49% sehingga dapat dikatakan program *Design Expert 7.0* metode *mixture d-optimal* dapat digunakan untuk mencari formulasi optimal suatu produk tetapi tetap memiliki kandungan terbaik dari suatu produk.