

LAPORAN PENELITIAN

DIPA BIOTROP 2012

**DIVERSIFIKASI PRODUK BERBASIS MURBEI
DI TEACHING FARM SUTERA ALAM IPB**

CLARA M. KUSHARTO

F.X.KOESHARTO

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
SOUTHEAST ASIAN REGIONAL CENTRE FOR TROPICAL BIOLOGY
(SEAMEO BIOTROP)**

2012

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	ii
RINGKASAN EKSEKUTIF.....	iii
ABSTRAK.....	v
I PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Tujuan.....	2
Hasil yang Diharapkan	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
III BAHAN DAN METODE	
Waktu dan Tempat	11
Bahan dan Alat.....	11
Metode pembuatan teh murbei.....	11
Metode pembuatan klorofil murbei.....	12
Metode pembuatan kitosan pupa.....	14
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
Pembuatan teh murbei.....	15
Pembuatan klorofil murbei	18
Pembuatan kitosan pupa.....	27
V KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
VI DAFTAR PUSTAKA.....	31

DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
1	Deskripsi jenis-jenis murbei baru.....	4
2	Karakter fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil.....	8
3	Nilai uji proksimat, serat makanan dan beta-karoten bubuk Cu-turunan klorofil daun cincau hijau dan daun murbei.....	8
4	Formulasi Teh Camellia-murbei.....	15
5	Kadar air teh Camellia-murbei.....	16
6	Total fenol dan aktivitas antioksidan teh Camellia-murbei.....	16
7	Hasil analisis formula F4 dibandingkan dengan standar SNI.....	17
8	Hasil analisis sifat fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil.....	24
9	Hasil uji mutu kitosan kulit pupa.....	29

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
1	Tanaman murbei jenis <i>Morus alba</i>	4
2	Diagram alir pembuatan bubuk klorofil daun murbei.....	13
3	Diagram alir pembuatan kitosan.....	14
4	Daun murbei varietas Kanva di <i>Teaching Farm</i> Sutera Alam, <i>University Farm</i> IPB.....	18
5	Bubuk Cu-Turunan Klorofil pada beberapa penambahan pengisi.....	22
6	Tahap Demineralisasi kulit pupa.....	28
7	Tahap deproteinisasi kulit pupa.....	28
8	Larutan kitosan kulit pupa.....	29

RINGKASAN EKSEKUTIF

Murbei dikenal sebagai makanan utama ulat sutera. Namun, kegunaan tanaman yang berasal dari Cina dan dinamai *sangye* ini tidak terbatas dimanfaatkan oleh peternak ulat sutera. Dari sisi medis tanaman yang dikenal oleh orang Sumatra sebagai kerta, atau kitau, juga berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit.

Berdasarkan Damayanthi *et al* (2007), daun murbei segar memiliki kandungan theaflavin, tanin serta kafein. Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa kimia yang khas terdapat pada daun teh (*Camellia sinensis*). Hal ini menjadi salah satu kekuatan tanaman murbei untuk dapat dibuat minuman layaknya teh. Kekuatan lainnya yang dilaporkan oleh Sofian (2006) adalah adanya senyawa 1-*Deoxynojirimycin* (DNJ), yang berpotensi sebagai obat diabetes melitus. Senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim glukosidase yang berfungsi memecah senyawa polisakarida menjadi monomer-monomer gula (glukosa), sehingga mengurangi penderitaan pengidap diabetes.

Secara umum penelitian ini untuk diversifikasi produksi peternakan ulat sutera dan lebih jauh khususnya untuk realisasi produk teh murbei yang bermanfaat sebagai minuman fungsional; produksi bubuk klorofil murbei yang berwarna hijau dengan pelarut aseton serta produksi kitosan dari pupa ulat sutera. Secara umum harapan dari penelitian ini adalah untuk memberikan alternatif solusi dalam rangka meningkatkan nilai tambah dari daun murbei, sehingga para petani sutera menghasilkan *by-product* yang memberikan *side income*.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa formula teh murbei yang terpilih memiliki komposisi rasio teh murbei berbanding teh hijau sebesar 65:35, dengan kandungan total fenolnya sebesar 730mg/g bk, serta aktivitas antioksidannya sebesar 584 mg/100g AEAC Formula F4 ini juga memenuhi standar SNI teh hitam, sehingga F4 merupakan formula teh murbei yang berkualitas terbaik.

Bubuk Cu-turunan klorofil daun murbei yang dihasilkan melalui proses ekstraksi dengan aseton memiliki kadar warna hijau yang lebih tua dibandingkan dengan pelarut etanol (Rosmiati 2011). Bubuk Cu-Turunan klorofil yang terpilih adalah bubuk dengan penambahan bahan pengisi sebesar 3%. Analisis karakteristik fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil terpilih diantaranya kadar air 7,58%; kelarutan 98,39%; pH 4,52; kadar Cu total 0,43 mg/g dan Cu-Chlorophyllin sebesar 0,23 mg/g. Aktivitas antioksidan bubuk Cu

turunan klorofil terpilih sebesar 19,74%. Kadar Cu total, kadar Cu-Chlorophyllin dan aktivitas antioksidan tersebut lebih rendah dibandingkan bubuk Cu-turunan klorofil dengan pelarut etanol. Namun hasil analisis residu pelarut menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan dalam pembuatan bubuk Cu-turunan klorofil tidak terdeteksi di dalam produk akhir.

Kitosan yang diproduksi dari pupa ulat sutera memiliki potensi mutu berupa warna putih, kadar air 10.0%, kadar abu 1.7%, kadar nitrogen 3.4% dan derajat deasetilasi 84.0%. tingginya nilai derajat deasetilasi mengindikasikan tingginya kemampuan kitosan dalam mengawetkan makanan.

ABSTRAK

Secara umum penelitian ini untuk diversifikasi produksi peternakan ulat sutera dan lebih jauh khususnya untuk realisasi : produksi teh murbei yang bermanfaat sebagai minuman fungsional; produksi bubuk klorofil murbei yang berwarna hijau dengan pelarut aseton serta produksi kitosan dari pupa ulat sutera. Secara umum harapan dari penelitian ini adalah untuk memberikan alternatif solusi dalam rangka meningkatkan nilai tambah dari daun murbei, sehingga para petani sutera menghasilkan *by-product* yang memberi *side income*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa formula teh murbei yang terpilih memiliki komposisi rasio teh murbei berbanding teh hijau sebesar 65:35, dengan kandungan total fenolnya sebesar 730mg/g bk, serta aktivitas antioksidannya sebesar 567 AEAC Formula F4 ini juga memenuhi standar SNI teh hitam, sehingga F4 merupakan formula teh murbei yang berkualitas terbaik. Bubuk Cu turunan klorofil yang terpilih memiliki kadar air 7,58%; kelarutan 98,39%; pH 4,52; kadar Cu total 0,43 mg/g dan Cu-Chlorophyllin sebesar 0,23 mg/g serta aktivitas antioksidan sebesar 19,74% dan residu pelarut (aseton) tidak terdeteksi pada produk akhir. Kitosan yang dihasilkan memiliki potensi mutu berupa warna putih, kadar air 10.0%, kadar abu 1.7%, kadar nitrogen 3.4% dan derajat deasetilasi 84.0% .

1. Pendahuluan

Latar Belakang

Teaching Farm sutera alam (TFSA) IPB terletak di desa Sukamantri, Kabupaten Bogor dengan ketinggian 500 meter dari permukaan laut. Luas lahan TFSA sekitar 25 hektare (ha), tapi yang terpakai baru sekitar 8 ha untuk penanaman pohon murbei dan penangkaran ulat sutera. sejak didirikannya unit sutra pada 2003 lalu, sudah ada 170 petani plasma yang mengembangkan ulat sutra

Sejak tahun 2004, Laboratorium percobaan tanaman bagi sivitas akademika IPB ini ditingkatkan fungsinya menjadi pusat pelatihan pemberdayaan pelaku agribisnis sutera alam. Saat itu ada 40 pemuda atau pelaku budidaya ulat sutra yang melakukan pelatihan untuk meningkatkan pengetahuan dan keahlian mereka dalam budidaya ulat sutra dan pengolahan serat sutra. Untuk kebutuhan pakan ulat, penanaman dan pemeliharaan pohon murbei diserahkan kepada petani/peternak di sekitar kawasan TFSA. Pengembangan ulat sutera, dilakukan dengan melibatkan 42 kelompok tani penggarap yang direkrutnya dari desa sekitar TFSA. Dengan hasil produksi minimal 40 kilogram (kg) kokon setiap bulan. Untuk meningkatkan produktivitas dari potensi tersebut, TFSA memerlukan dana yang tidak sedikit untuk pembelian bibit ulat sutera, tanaman murbei, dan perbaikan peralatan kerja, termasuk mesin-mesin pemintalan. Gambaran pengembangan industri sutera di TFSA tidak jauh dari pengembangan sutera alam di Indonesia. Hal itu menyebabkan industri sutera Indonesia tidak diperhitungkan di dunia. Oleh karena itu, pendapatan petani murbei, peternak ulat sutera, dan para pengrajin sutera lainnya, tidak akan terangkat.

TFSA IPB juga mengadakan pelatihan pemanfaatan kokon ulat sutra menjadi berbagai macam kerajinan tangan di diikuti puluhan remaja putri warga setempat yang bertujuan untuk menggerakkan ekonomi warga melalui pemanfaatan potensi ulat sutra. Berbagai jenis kokon, dari yang berwarna putih polos, kuning keemasan dan coklat abu-abu, dirangkai menjadi berbagai kerajinan tangan dan aplikasi ke kain. Kokon yang kualitasnya bagus akan dipintal menjadi benang, sedangkan kokon yang sudah disortir dibuat menjadi berbagai macam kerajinan tangan mulai dari kap lampu, panel pintu, pembatas ruang, wallpaper, hingga aplikasi baju dan tas.

Pengembangan sumber daya manusia yang dilakukan TFSA ini masih menyisakan satu potensi yang belum tergali, yakni pemanfaatan daun murbei sebagai salah satu cara untuk meningkatkan pendapatan petani murbei. Melihat keberhasilan program pelatihan-pelatihan yang telah dilakukan oleh TFSA, memberikan optimisme bagi berhasilnya

pengembangan ipteks berbasis daun murbei yang akan dilaksanakan sesuai dengan usulan ini.

Tujuan

Secara umum penelitian ini untuk melakukan diversifikasi produksi peternakan ulat sutera dan lebih jauh khususnya untuk realisasi :

1. Produksi teh murbei yang bermanfaat sebagai minuman fungsional
2. Produksi bubuk klorofil murbei yang berwarna hijau dengan pelarut aseton
3. Produksi kitosan dari pupa ulat sutera

Hasil yang diharapkan

Menjadikan teh, bubuk klorofil murbei dan kitosan pupa yang diproduksi siap untuk dipasarkan. Secara umum harapan dari penelitian ini adalah untuk memberikan alternatif solusi dalam rangka mengikis angka kemiskinan dengan meningkatkan nilai ekonomis dari daun murbei, sehingga para petani sutera memiliki *by-product* yang menghasilkan *side income*.

Manfaat dan pentingnya pelaksanaan penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah dapat membantu program pemerintah dalam menurunkan angka kemiskinan masyarakat Indonesia, khususnya para petani sutera, sebab dengan meningkatnya nilai ekonomis dari daun murbei, akan membuka peluang jenis usaha baru dalam pemanfaatan potensi daun murbei yang dapat dikelola oleh petani sutera serta masyarakat disekitarnya.

2. Tinjauan Pustaka

Murbei

Murbei termasuk *Genus Morus* dan *Famili Moraceae*. Murbei pada dasarnya mempunyai bunga kelamin tunggal dan kadang-kadang berkelamin rangkap. Jenis-jenis murbei diklasifikasikan antara lain berdasarkan bentuk dan warna bunga, kuncup, tunas, daun dll. Bentuk-bentuk khas dari daun adalah daun berlekuk dan daun utuh. Murbei dikenal sebagai makanan utama ulat sutera. Namun, kegunaan tanaman yang berasal dari Cina dan dinamai *sangye* ini tidak terbatas dimanfaatkan oleh peternak ulat sutera. Dari sisi medis tanaman yang dikenal oleh orang Sumatra sebagai kerta, atau kitau, juga berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Murbei mempunyai rasa pahit, manis, dan bersifat dingin. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam daun murbei di antaranya *ecdysterone*, *inokosterone*, *lupeol*, *b-sitosterol*, *rutin*, *moracetin*, *soquersetin*, *scopoletin*, *scopolin*, *alfa* dan *beta-hexenal*, *cis-g-hexenol*, *benzaldehyde*, *eugenol*, *linalol*, *benzil alkohol*, *butylamine*, *acetone*, *trigonelline*, *choline*, *adenin*, *asam amino*, *copper*, *zinc*, *vitamin (A, B, dan C)*, *karoten*, *asam klorogenik*, *asam fumarat*, *asam folat*, *formyltertahydrofolik acid*, *mioinositol*, dan *phytoestrogen* (Hariana 2007).

Varietas murbei

Beberapa jenis murbei yang dibudidayakan untuk ulat sutera di antaranya adalah jenis *Morus nigra*, *Morus multicaulis*, *Morus australis*, *Morus alba*, *Morus alba var. Macrophylla* dan *Morus bombycis*. Seiring dengan berkembangnya teknologi di bidang pertanian, maka kemudian bermunculan varietas-varietas murbei yang baru hasil seleksi dan adaptasi, salah satunya adalah *Morus alba var. Kanva* (Atmosoedarjo 2000).

1. Murbei Varietas Kanva : Murbei varietas kanva merupakan salah satu dari jenis murbei alba (*Morus alba*). Ciri dari murbei varietas kanva yaitu, warna batang coklat tua, daun berwarna hijau dengan pucuk hijau kekuningan. Bentuk daun oval, ukuran sedang, tepi daun bergerigi dan permukaan daun tidak mengkilap.
2. Murbei Varietas Multikaulis : Murbei jenis Multikaulis (*Morus multicaulis*) dikenal dengan nama "murbei multi" atau "murbei besar" karena tanamannya cepat besar dan tinggi. Warna batang coklat, daunnya besar, membulat dan permukaannya bergelombang dengan tepi daun bergerigi. Warna daun saat pucuk kuning kemerahan, permukaan daun tidak mengkilap (Atmosoedarjo 2000).

Tabel 1 Deskripsi jenis-jenis murbei baru

No	Jenis Murbei	Warna Batang	Warna Daun	Warna Pucuk	Bentuk daun	Tepi Daun	Permukaan Daun
1	<i>M.cathayana</i>	Coklat tua	Hijau	Kuning kemerahan	Berlekuk	Bergerigi	Tdk mengkilap
2	<i>M.multicaulis</i>	Coklat tua	Hijau	Hijau kekuningan	Bulat lebar	Bergerigi	Tdk mengkilap
3	<i>M.alba</i> var. <i>Kanva</i>	Coklat muda	Hijau	Hijau kekuningan	Oval, ukuran sedang	Bergerigi	Tdk mengkilap
4	<i>M.indica</i> var. <i>S54</i>	Abu-abu	Hijau	Hijau kekuningan	Bulat, cekung	Bergerigi	Tdk mengkilap

Sumber : Atmosoedarjo, 2000



Gambar 1 Tanaman murbei jenis *Morus alba* (Sumber : www.ipteknet.com)

Di Jawa murbei disebut juga besaran, di Vietnam dinamakan *may mon* atau *dau tam*. Di Inggris tanaman ini memiliki banyak nama, di antaranya morus leaf, morus bark, morus fruit, mulberry leaf, mulberry bark, mulberry twigs, white mulberry, dan mulberry. Bunga murbei termasuk kategori bunga majemuk yang berbentuk tandan, sedangkan buahnya mengandung air dan rasanya enak. Tanaman murbei tumbuh dengan baik pada daerah dengan ketinggian lebih dari 100 meter di atas permukaan laut. Agar bisa tumbuh dengan baik murbei membutuhkan sinar matahari yang cukup.

Di kebun yang dikelola LMDH Sukamanah Pangalengan Bandung Selatan terdapat 500 ha atau 5,7% lahan dari 8.734 ha lahan hutan di BKPH Pangalengan dibudidayakan untuk mengembangkan murbei jenis Multikaulis dan Kanva II yang cocok ditanam di

daerah pegunungan dengan ketinggian sekitar 1.000 m di atas permukaan laut (dpl). Pohon murbei tersebut ditanam di sela-sela tanaman keras yang tumbuh di hutan seperti pinus dan cemara. Setiap hektare pohon murbei bisa menghasilkan daun 7 - 12 ton setiap 35 harinya. Sebanyak 5 ton di antaranya bisa dijadikan makanan ulat sutera dan 2 ton lainnya untuk dijadikan teh murbei.

Di kebun murbei university farm-IPB yang dikelola Teaching Farm Sutera alam terdapat hamparan kebun murbei seluas 8 ha, sebagian besar ditanami dengan murbei varietas multicaulis dan kanva. Potensi pengembangan kebun murbei di university farm desa sukamantri kecamatan tamansari kabupaten bogor ini cukup besar hingga 40 ha, dengan ketinggian lahan yang sesuai (>600dpl) untuk tanaman murbei.

Manfaat murbei bagi kesehatan

Efek farmakologis murbei di antaranya peluruh kentut (karminatif), pereda demam (antipiretik), peluruh keringat (diaforetik), peluruh kencing (diuretik), pendingin darah, dan penerang penglihatan (Hariana 2007). Untuk keperluan mengobati penyakit, bagian murbei yang digunakan adalah bagian daun, ranting, buah, dan kulit akarnya. Daun murbei berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit demam karena flu dan malaria, batuk, sakit kepala, sakit tenggorokan, sakit gigi, rematik, darah tinggi (hipertensi). Juga untuk penyakit kencing manis (diabetes mellitus), kaki gajah (elephantiasis tungkai bawah), sakit kulit bisul, radang mata merah, memperbanyak air susu ibu (ASI), muntah darah, dan batuk darah akibat demam panas (iptek.net.id). Syafutri (2008) menyatakan bahwa jus buah murbei dapat direkomendasikan untuk menurunkan kolesterol LDL. Isdiantoro (2003) dalam penelitiannya melaporkan bahwa jus murbei dapat berkhasiat menurunkan tekanan darah pria dewasa. Hal ini salah satunya karena murbei mengandung n-butanol yang memiliki efek diuretik.

Berdasarkan Damayanthi *et al* (2007), daun murbei segar memiliki kandungan theaflavin, tanin serta kafein. Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa kimia yang khas terdapat pada daun teh (*Camellia sinensis*). Hal ini menjadi salah satu kekuatan tanaman murbei untuk dapat dibuat minuman layaknya teh. Kekuatan lainnya yang dilaporkan oleh Sofian (2006) adalah adanya senyawa 1-Deoxynojirimycin (DNJ), yang berpotensi sebagai obat diabetes melitus. Senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim glukosidase yang berfungsi memecah senyawa polisakarida menjadi monomer-monomer gula (glukosa), sehingga mengurangi penderitaan pengidap diabetes.

Mengonsumsi teh murbei secara teratur bisa memperkuat daya tahan tubuh terhadap berbagai penyakit, dan membuat awet muda. Selain itu, daun murbei tidak terkontaminasi oleh pestisida karena daun murbei biasa digunakan sebagai pakan ulat sutra. Menurut penelitian Efendi (2008) teh dari daun murbei dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah pada tikus penderita diabetes. Hal senada juga dilaporkan oleh Amma (2009) bahwa jus dari daun murbei segar maupun yang telah direbus juga mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes.

Klorofil dan Turunannya

Menurut Harbone (1987) klorofil merupakan katalisator dalam proses fotosintesis yang memiliki peranan penting dan berada di alam sebagai pigmen hijau dalam semua jaringan tumbuhan yang berfotosintesis. Gross (1991) menjelaskan bahwa klorofil berfungsi menangkap energi cahaya untuk mengubah karbondioksida menjadi karbohidrat. Karbohidrat dibentuk dalam tumbuhan yang berklorofil melalui reaksi CO_2 dan H_2O dengan bantuan sinar matahari yang disebut sebagai proses fotosintesis (Winarno 2008).

Klorofil a dan klorofil b terdapat pada semua tumbuhan hijau dengan perbandingan 3:1 pada tumbuhan tinggi. Kondisi pertumbuhan dan faktor lingkungan dapat mempengaruhi perbandingan tersebut (Gross 1991). Menurut Sweetman (2005) berat molekul klorofil a adalah 893,5 dan klorofil b adalah 907,51. Klorofil a dan b terdapat dalam tumbuhan, ganggang dan bakteri, sedangkan klorofil c, d dan e terdapat dalam ganggang (Hendry & Houghton 1996).

Turunan klorofil diantaranya:

1. *Chlorophyllide*, reaksi pembentukan *chlorophyllide* terjadi pada hampir semua tumbuhan hijau dimana terdapat enzim klorofilase yang dapat menghidrolisis gugus fitol dari klorofil sehingga terlepas membentuk *chlorophyllide*. *Chlorophyllide* merupakan senyawa berwarna hijau mempunyai sifat spektral yang sama dengan klorofil tetapi lebih larut dalam air. *Chlorophyllide* juga dapat kehilangan ion magnesium yang diganti dengan ion hidrogen membentuk *pheophorbide*. Klorofil dapat dengan mudah dihidrolisis menghasilkan *chlorophyllide* dan fitol pada kondisi asam maupun basa.
2. *Pheophytin* a dan b merupakan turunan klorofil bebas magnesium, dimana *pheophytin* a dan b secara mudah diperoleh dari klorofil dengan perlakuan asam, sehingga

melepaskan magnesium. Reaksi terjadi 1 sampai 2 menit menggunakan HCl dengan konsentrasi 13%. Kecepatan terbentuknya *pheophytin* merupakan reaksi ordo pertama terhadap konsentrasi asam. Warna hijau dari sayuran dengan cepat berubah dari hijau terang menjadi hijau kecoklatan karena pemanasan dan penyimpanan. Asam-asam yang terbentuk adalah asam asetat dan asam pirolidon karboksilat (Gross 1991).

3. *Pheophorbide* a dan b adalah klorofil terhidrolisis tanpa fitol (*chlorophyllide*) yang juga bebas Mg. *Pheophorbide* dihasilkan dari klorofil dengan suasana asam (HCl 30%) atau *chlorophyllide* yang diasamkan (Gross 1991)
4. *Pyrochlorophyll*, turunan pyro dari klorofil atau turunannya adalah senyawa yang kehilangan gugus karboksimetoksi (-COOCH₃) pada C-10 dari cincin isosiklik, suatu gugus yang diganti oleh hidrogen. Klorofil a, *methyl chlorophyllide* a, *pheophytin* a atau *methyl pheophorbide* a bila dipanaskan pada 100⁰C menghasilkan turunan pyro oleh dekarbometoksilasi (Gross 1991)

Cu-Turunan Klorofil

Logam Zn, Cu, Fe, Ni dan Co adalah logam yang biasa digunakan untuk membentuk kompleks turunan klorofil atau molekul porfirin. Namun yang umum digunakan dalam hubungannya dengan kesehatan adalah logam Zn dan Cu. Zn dan Cu bersama dengan kompleks cincin porfirin membentuk suatu ikatan kuat yang lebih tahan panas dan asam dibandingkan dengan klorofil asal. Beberapa penelitian yang menggunakan sayuran telah membuktikan hal tersebut (Canjura *et al.* 1999). Laborde dan Von elbe (1994) menyatakan bahwa ion logam tidak bereaksi dengan klorofil alami, namun hanya bereaksi dengan turunan klorofil.

Berbagai penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa klorofil dan turunannya dapat digunakan sebagai antikanker, antiinflamasi dan antioksidan. Hasil penelitian membuktikan bahwa *Cu-chlorophyllin* mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan klorofil alami (Marquez *et al.* 2005) dan turunan klorofil alami (Ferruzi *et al.* 2002). Hal ini menandakan pentingnya logam terikat dalam porfirin. Prangdimurti (2007) juga menyatakan bahwa ekstrak daun suji dengan kadar klorofil 0,082 mg/ml, klorofil suji dan *Cu-Chlorophyllin* dengan kadar klorofil semuanya setara 0,041 mg/ml mampu menghambat oksidasi LDL secara *in vitro* sebesar 54%, 40% dan 100% secara berturut-turut. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa *Cu-Chlorophyllin* memiliki aktivitas menahan oksidasi LDL yang lebih besar dibandingkan dengan klorofil alami.

Hasil penelitian Nurdin (2009) memperkuat pernyataan tersebut dimana bubuk ekstrak Cu-turunan klorofil sebanyak 16,7 mg/kg BB/hari lebih berpotensi mencegah pembentukan lesi aterosklerosis dibanding dengan klorofil alami maupun klorofil komersil.

Karakteristik fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil dari daun murbei varietas Kanva (Nurdin *et al.* 2009) dan daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr.) (Nurdin 2009 dan Kandiana 2010) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Karakter fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil

Karakteristik	Bubuk Cu-turunan klorofil daun cincau hijau ^{a,b}	Bubuk Cu-turunan klorofil daun cincau hijau ^c
Rendemen (%)	14,20	5,325
pH	7,64	6,275
Kelarutan (%)	98,04	93,44

Sumber: ^a Nurdin (2009), ^b Kandiana (2010), ^c Nurdin *et al.* (2009)

Selain itu Nurdin (2009) dan Nurdin *et al.* (2009) juga melakukan uji warna, analisis proksimat, analisis serat kasar dan kandungan beta karoten bubuk Cu-turunan klorofil daun cincau hijau dan daun murbei. Uji warna dilakukan pada bubuk Cu-turunan klorofil sebelum dan sesudah dipanaskan. Tingkat kecerahan dan kekuningan relatif stabil, penurunan hanya terjadi pada tingkat kehijauan namun relatif kecil.

Tabel 3 Nilai uji proksimat, serat makanan dan beta-karoten bubuk Cu-turunan klorofil daun cincau hijau dan daun murbei

Jenis Analisis	Bubuk Cu-turunan klorofil daun cincau hijau ^a	Bubuk Cu-turunan klorofil daun murbei ^b
Air (%)	6,93	6,35
Protein (%)	0,89	2,79
Lemak (%)	7,11	5,85
Abu (%)	2,63	2,26
Karbohidrat (%)	82,44	78,87
Serat kasar (%)	3,31	3,88
Beta-karoten (mg/100 g)	3,38	-

Sumber: ^a Nurdin (2009), ^b Nurdin *et al.* (2009)

Nurdin *et al.* (2009) melakukan uji fitokimia terhadap bubuk Cu-turunan klorofil daun murbei. Tanin, steroid dan glikosida merupakan zat fitokimia yang paling dominan

(positif sangat kuat). Selain itu kandungan alkaloid, saponin dan flavonoidnya tergolong positif kuat sekali. Bubuk Cu-turunan klorofil ini juga mengandung sedikit (positif lemah) fenolik dan triterpenoid.

Zat fitokimia memiliki potensi sebagai obat alternatif untuk meningkatkan derajat kesehatan. Alkaloid memiliki manfaat bagi tubuh untuk menghilangkan rasa sakit (analgesik), menurunkan tekanan darah dan antimalaria. Glikosida dapat dijadikan sebagai obat jantung, melancarkan buang air kecil, mengencerkan dahak dan prekursor hormon steroid. Manfaat saponin adalah menstimulasi jaringan tertentu seperti epitel hidung, bronkus, dan ginjal. Stimulasi pada ginjal diduga menimbulkan efek diuretika (Sirait 2007). Tanin merupakan senyawa polifenol dari kelompok flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan kuat, anti peradangan dan antikanker. Tanin pada umumnya dimanfaatkan sebagai pengencang kulit dalam kosmetik (Yuliarti 2008). Sifat tanin dapat menciutkan dan mengendapkan protein dari larutan dengan membentuk senyawa yang tidak larut (Sirait 2007). Kandungan tanin dalam bubuk Cu-turunan klorofil juga menjadi nilai tambah tersendiri. Tanin dapat digunakan untuk membunuh bakteri *Stroptococcus pyogenes* dan *Pasteurella multocida* secara *in vitro* (Siswantoro 2008).

Manfaat Klorofil bagi Kesehatan

Hasil penelitian Kumar *et al.* (2004) menunjukkan bahwa klorofil dan beberapa turunannya memiliki kemampuan antioksidatif baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Pernyataan ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Marquez *et al.* (2005) dan Ferruzzi *et al.* (2002) yang menunjukkan bahwa klorofil dan turunannya memiliki kemampuan antioksidan dan antimutagenik. Kemampuan klorofil dan turunannya dimanfaatkan juga sebagai pewarna makanan, penghilang bau badan (Limantara 2009) dan antikanker (Breinholt *et al.* 1995; Hasegawa *et al.* 1995; Keller *et al.* 1996 & Tasseti *et al.* 1997; Barder *et al.* 2006).

Klorofil dan turunannya seperti *pheophytin*, *pyropheophytin*, *pheophorbide* dan *chlorophyllide* telah menunjukkan antimutagenik secara *in vitro* melawan mutagen seperti *3-methylcholanthrene*, *N-methyl-N'-nitri-N'-nitrosoguanidine* (MNNG) dan aflatoksin B1 (Dashwood *et al.* 1991). Klorofil dan *chlorophyllin* juga telah menunjukkan efek antikarsinogenik pada hewan coba, dalam hal ini dalam melawan karsinogen seperti alfatoksin B1 (Breinholt *et al.* 1995), 1,2 *dimethylhydrazine* (Robins & Nelson 1989) dan *dibenzopyrene* (Reddy *et al.* 1999). Mekanisme kerja antimutagenik dan antikarsinogenik

dari klorofil dan *chlorophyllin* tidak diketahui, diduga sifat antioksidan dari klorofil atau *chlorophyllin* yang berperan disini. Kemungkinan lain adalah pembentukan kompleks antara mutagen atau karsinogen dengan klorofil atau *chlorophyllin* yang akan menginaktivasi mutagen atau karsinogen. Berdasarkan *Physicians Desk Reference (PDR) for Nutritional Supplement* klorofil dan *chlorophyllin* dapat dijadikan sebagai suplemen makanan (Hendler & Rorvik 2001).

3. Metodologi

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di dua tempat, yaitu di *TFSA* IPB Sukamantri, Bogor, serta Laboratorium Mini Processing Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Gambung, Bandung. Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan April hingga November 2012.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan berupa daun murbei jenis Kanva, serta kertas pembungkus teh. Alat – alat yang digunakan adalah alat pangkas daun, serta alat – alat pengolahan teh, seperti mesin pelayuan, steaming, mesin penggulung daun, mesin CTC, dan oven pengeringan. Selain itu digunakan juga peralatan pengemas teh.

Metode Pembuatan Teh Mulberry Skala Komersial

Pembuatan teh *mulberry* dilakukan dengan metode oksidasi enzimatik, yakni sebagai berikut :

Prosedur pembuatan teh oksidasi enzimatik

- **Pelayuan**

Tahap pertama pada proses pengolahan teh dengan fermentasi adalah pelayuan. Selama proses pelayuan, daun teh akan mengalami dua perubahan yaitu perubahan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam daun serta menurunnya kandungan air sehingga daun teh menjadi lemas. Proses ini dilakukan pada alat *Withering Trough* atau palung pelayuan selama 14-18 jam. Hasil pelayuan yang baik ditandai dengan pucuk layu yang berwarna hijau kekuningan, tidak mengering, tangkai muda menjadi lentur, bila digenggam terasa lembut dan bila dilemparkan tidak akan buyar serta timbul aroma yang khas seperti buah masak.

- **Penggilingan dan oksimatis**

Secara kimia, proses penggilingan merupakan proses awal terjadinya oksimatis yaitu bertemunya *total katekin* dan enzim polifenol oksidase dengan bantuan oksigen. Penggilingan akan mengakibatkan memar dan dinding sel pada daun teh menjadi rusak. Cairan sel akan keluar dipermukaan daun secara rata. Proses ini merupakan dasar terbentuknya mutu teh. Selama proses ini berlangsung, katekin akan diubah menjadi

theaflavin dan thearubigin yang merupakan komponen penting baik terhadap warna, rasa maupun aroma seduhan teh hitam. Proses ini biasanya berlangsung selama 90-120 menit . Mesin yang biasa digunakan dalam proses penggilingan ini dapat berupa Open Top Roller (OTR), Rotorvane dan Press Cup Roller (PCR)-untuk teh hitam orthodox dan Mesin Crushing Tearing and Curling (CTC)-untuk teh hitam CTC.

- **Pengeringan**

Proses ini bertujuan untuk menghentikan proses oksimatis pada saat seluruh komponen kimia penting dalam daun teh telah secara optimal terbentuk. Proses ini menyebabkan kadar air daun teh turun menjadi 2,5-4%. Keadaan ini dapat memudahkan proses penyimpanan dan transportasi. Mesin yang biasa digunakan dapat berupa ECP (*Endless Chain Pressure Dryer*) maupun FBD (*Fluid Bed Dryer*) pada suhu 90-95°C selama 20-22 menit.

Setiap kemasan kantong celup berisi 1.8 gram yang terdiri dari teh mulberry, green tea dan stevia sebagai penambah citarasa. Packing dengan kertas alumunium dilakukan pada setiap 25 kantong celup, kemudian dimasukkan kedalam dus.

Metode Ekstraksi klorofil

Bahan yang digunakan pada tahapan ini adalah: daun yang mengandung klorofil tertinggi, etanol 95%, HCl, NaOH, kain saring halus. Sedangkan alat yang digunakan adalah blender, gunting, pisau, timbangan, corong Buchner, pompa vakum, refrigerator, spektrofotometer UV-Vis, serta alat-alat gelas lainnya

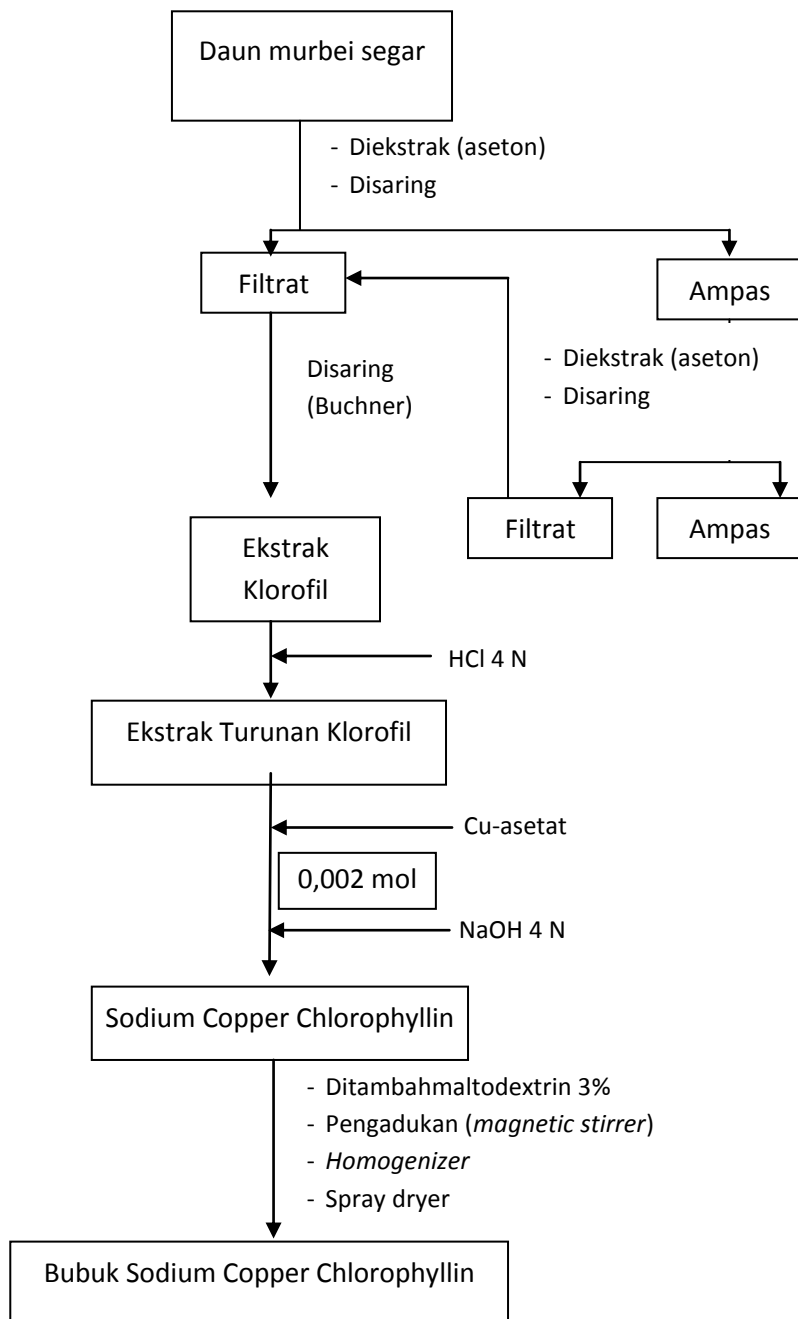
Ekstraksi penyiapan klorofil dilakukan menurut Metode Tonucci dan von Elbe (1992) dengan sedikit modifikasi, yang secara ringkas dapat dilihat pada Gambar 3. Ada 3 langkah yang digunakan dalam tahap ini, yaitu penyiapan bahan ekstraksi klorofil, dan penyiapan turunan klorofil, serta pembuatan kompleks Cu-turunan klorofil

(a). Penyiapan Bahan

Daun dibersihkan dari berbagai kotoran, lalu dilap menggunakan tisu, selanjutnya dikeringanginkan. Kemudian dipotong kecil-kecil dengan gunting untuk memudahkan proses penghancuran.

(b). Ekstraksi Klorofil

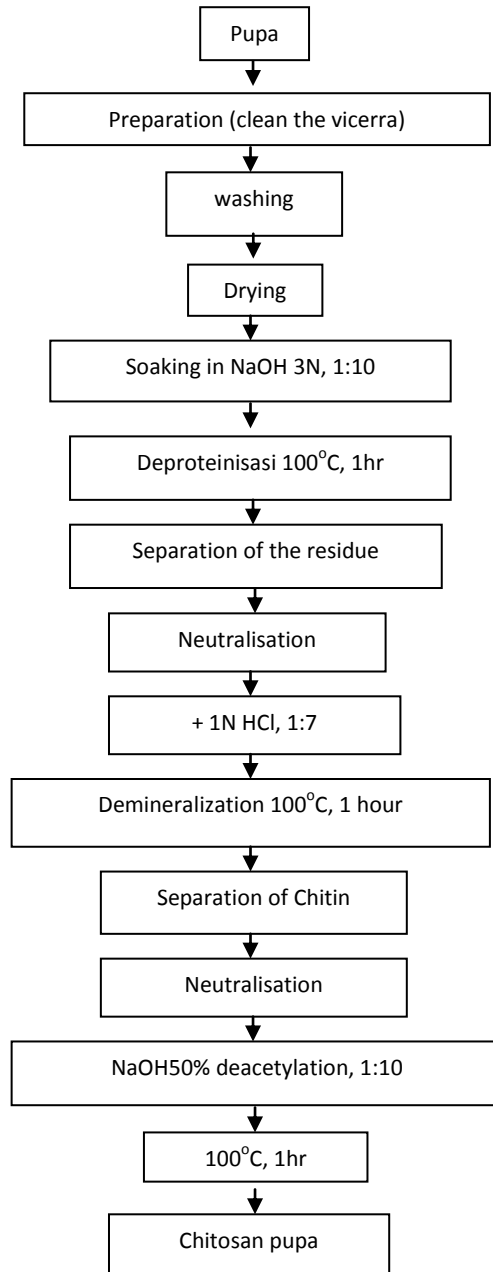
Sebanyak ± 50 gram daun dihancurkan dengan blender menggunakan 125 mL etanol 95% selama 3 menit secara terputus setiap 1 menit. Hancuran kemudian disaring dengan kain saring halus (60 mesh), lalu filtrat yang diperoleh disaring lagi dengan corong Buchner menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan No. 42 secara berturut-turut. Residu dicuci dengan 75 mL etanol 95%, kemudian disaring lagi dengan corong Buchner. Filtrat diambil sebagai ekstrak kasar klorofil. Semua proses dilakukan dalam kondisi terhindar dari cahaya (gelap). Proses pembuatan bubuk klorofil daun murbei secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2. Diagram alir pembuatan bubuk klorofil daun murbei

Metode pembuatan kitosan dari pupa ulat sutera

Pupa ulat sutera mengandung kitin yang merupakan lapisan luar dari skeletal. Kitin dapat diisolasi dari pupa kemudian diproses menjadi kitosan yang memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah sebagai pengawet makanan pengganti formalin. Bahan yang diperlukan berupa pupa ulat sutera, HCl, NaOH, HAC, air destilasi, H₂O₂ / Hipoklorit. Peralatan yang digunakan adalah : Beaker glass, hot plate, mixer, filter screens, dan pan penjemur. Metode pembuatan kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan kitosan

4. Hasil dan Pembahasan

A. Formulasi teh murbei dengan penambahan stevia

a. Penentuan proporsi daun stevia dalam Teh Camellia-Murbei

Proporsi daun stevia ditentukan dengan menguji tingkat kemanisan yang paling disukai kepada 15 panelis terbatas. Proporsi stevia yang diuji adalah 0.5 gr, 0.75 gr, dan 1 gr. Hasil uji menunjukkan bahwa 40% panelis memilih proporsi 0.5 gr, 13.3% memilih proporsi 0.75 gr, dan 46.7% memilih proporsi daun stevia 1 gr sehingga proporsi stevia yang terpilih adalah 1 gr.

b. Formulasi sampel

Setelah didapatkan proporsi daun stevia yang tepat, maka dilakukan pembuatan Teh Camellia-murbei dengan formulasi sebagai berikut :

Tabel 4. Formulasi Teh Camellia-murbei

	Daun murbei (g)	Teh hijau (g)	Daun stevia (g)
F1	0,4	1,6	1,0
F2	0,7	1,3	1,0
F3	1,0	1,0	1,0
F4	1,3	0,7	1,0
F5	1,6	0,4	1,0

c. Ekstraksi sampel

Terdapat lima sampel formulasi Teh Camellia-Murbei dengan dua kali ulangan serta satu sampel teh hijau dan satu sampel teh murbei sebagai kontrol. Sampel diekstrak dengan pelarut metanol pa sebanyak 75-200 ml hingga diperoleh supernatan yang jernih. Supernatan yang jernih kemudian dipekatkan dengan rotavapor dan diencerkan dengan 5 ml metanol pa sehingga diperoleh 5 ml ekstrak sampel. Hasil ekstraksi sampel digunakan untuk analisis total fenol dan aktivitas antioksidan.

d. Analisis kadar air

Sampel sebanyak 5 gr dianalisis kadar air dengan menggunakan oven pada suhu 110 °C selama 24 jam. Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel memiliki kadar air 6-7.4% (bk).

Tabel 5. Kadar air teh Camellia-murbei

Sampel	Rata-rata kadar air (%)
F1	6.7
F2	6.7
F3	6.9
F4	7.4
F5	7.4
Teh murbei	6.4
Teh hijau	3.9

e. Analisis total fenol

Ekstrak sampel sebanyak 5 ml dengan faktor pengenceran sebanyak 50 kali dianalisis total fenol dengan menggunakan pereaksi Folin. Sampel yang telah direaksikan dibaca absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada gelombang 756 λ m.

Tabel 6. Total fenol dan aktivitas antioksidan teh Camellia-murbei

Sampel	Total fenol (mg/100g bk)	Aktifitas antioksidan (mg/100g AEAC)
F1	1216	670
F2	784	600
F3	755	595
F4	730	584
F5	528	563
Teh murbei	176	108
Teh hijau	1866	674
Stevia	1174	355

f. Pemilihan formula terbaik

Formula terbaik didefinisikan sebagai formula dengan komposisi teh murbei yang dominan serta memiliki aktifitas antioksidan dan total fenol yang tinggi. Berdasarkan parameter tersebut formula yang terpilih adalah F4 yang memiliki perbandingan

komposisi teh murbei : teh hijau sebesar 65:35, aktivitas antioksidan 7.42 (AEAC), dan total fenol 730 mg/100g b/k. Formula F4 ini kemudian di analisis berdasarkan standar SNI.

g. Analisis standar SNI formula terpilih

Tabel 7. Hasil analisis formula F4 dibandingkan dengan standar SNI

Analisis	Nilai	SNI*
kadar air (%)	7.55	maksimum 8,00
kadar ekstrak air (%b/b)	48.10	minimum 32,00
kadar abu (%b/b)	7.66	minimum 4,00- maksimum 8,00
kadar abu larut air (%b/b)	91.76	Minimum 45,00

*Sumber : SNI Teh Hijau No. 01-3945-1995

Pembahasan

Hasil analisis (Tabel 4) menunjukkan bahwa semua parameter uji bahwa nilai kadar air satu formula teh dengan yang lainnya tidak terdapat perbedaan yang nyata berdasarkan uji statistik. Seluruh formula teh camellia-murbei memiliki tingkat kadat air seperti yang disyaratkan SNI teh, yakni kurang dari 8%. Hal ini sangatlah baik, karena kadar air merupakan aspek penting bagi daya simpan suatu bahan. Teh kering memiliki sifat higroskopis, sehingga jika kadar airnya semakin rendah maka mutunya akan lebih baik.

Ekstrak air adalah salah satu hal yang dapat menunjukkan banyaknya zat-zat fitokimia yang terlarut pada suatu minuman. Tingginya nilai ekstrak air pada formula F4 akan berkorelasi dengan tingginya kandungan zat-zat fitokimia yang terlarut pada teh, sehingga formula ini akan menghasilokan kualitas the yang lebih baik dari teh standar.

Pada standar teh nilai kadar abu minimal 4% dan maksimum 8%. Teh murbei formula F4 memiliki nilai kadar abu sebesar 7.66%, sehingga kadar abu formula F4 telah memenuhi SNI. Pada suatu minuman diharapkan terdapat mineral-mineral dengan jumlah minimal 4% dan maksimalnya 8%, tingginya kadar abu total teh camellia-murbei dapat disebabkan karena terdapat cemaran logam saat proses pengolahan.

Kadar abu larut air mencerminkan banyaknya kandungan mineral larut air yang terdapat pada minuman teh. Standar kadar abu larut air minimal 45%, sehingga nilaikadar abu larut air yang baik adalah yang lebih tinggi dari strandar minimal. Formula F4 memiliki kadara abu larut air sebesar 90.76%, hal ini menunjukkan bahwa Formula F4

memiliki kualitas kadar abu yang lebih baik daripada standar. Salah satu hal yang menyebabkan masih tingginya nilai kadar abu larut air pada teh yang dihasilkan adalah tingginya tingkat kesuburan tanah dari areal pertanaman murbei, karena kandungan mineral yang terdapat pada tanaman diperoleh dari unsur hara yang terdapat pada tanah.

B. Pembuatan klorofil dengan pelarut aseton

Bahan dasar pembuatan bubuk Cu-turunan klorofil, adalah daun murbei varietas Kanva (Gambar 1). Hal ini karena daun murbei varietas Kanva kandungan klorofilnya lebih tinggi yaitu sebesar 844 ppm (Kusharto *et al.*2008) dibandingkan dengan daun murbei varietas *Multicaulis* (682 ppm), Lembang (420 ppm) dan *Cathayana* (324 ppm) (Nurdin *et al.* 2009). Selain itu daun murbei memiliki khasiat kesehatan seperti menurunkan glukosa darah, bersifat diuretik dan menurunkan tekanan darah (Sianghal *et al.* 2001); meredakan gejala gelisah (Yadav *et al.*(2008); mengurangi perkembangan lesi aterosklerosis pada tikus dengan cara meningkatkan resistensi LDL terhadap oksidasi (Enkhma *et al.* 2008); dan menurunkan tekanan darah sistol dan diastol (Hahm *et al.* 2008). Budidaya tanaman murbei di Indonesia telah lama dilakukan, khususnya untuk pakan ulat sutera. Namun peternakan ulat sutera hanya menghasilkan produk berupa kokon sebagai bahan baku benang sutera yang harga jualnya relatif rendah.



Gambar 4 Daun murbei varietas Kanva di *Teaching Farm* Sutera Alam, *University Fam* IPB

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi merupakan salah satu faktor penting untuk mendapatkan klorofil. Klorofil merupakan senyawa yang larut dalam pelarut organik (Gross 1991). Klorofil a larut dalam alkohol, eter, dan aseton. Klorofil a dalam keadaan murni agak sukar larut dalam petroleum eter dan tidak larut dalam air. Klorofil b dan *pheophytin* b larut dalam alkohol, eter, aseton, dan benzen. Klorofil b dan *pheophytin* b dalam keadaan murni sangat sukar larut dalam petroleum eter dan tidak larut dalam air (Cydesdale *et al.* 1969 diacu dalam Nurdin 2009). Rosmiati (2011) dan Nurdin (2009) menggunakan alkohol sebagai pelarut dalam ekstraksi klorofil, sedangkan dalam penelitian ini digunakan pelarut aseton. Aseton yang digunakan adalah aseton teknis 70%.

Proses ekstraksi dilakukan di ruangan gelap atau redup karena klorofil sangat peka terhadap cahaya (Gross 1991). Daun murbei yang telah dicuci dan ditiriskan kemudian diblender dengan menambahkan pelarut aseton 70% selama 3 menit secara terputus setiap 1 menit. Hal ini dimaksudkan untuk mengurangi kerusakan klorofil. Daun murbei yang telah dihaluskan disaring menggunakan kain saring 60 *mesh*. Proses ekstraksi diulangi sampai klorofil dari daun murbei terekstrak secara sempurna yang ditandai dengan warna etanol yang tetap bening ketika ditambahkan ke dalam ampas daun murbei. Proses ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini sebanyak lima kali.

Pembentukan turunan klorofil yaitu *pheophytin* dilakukan dengan cara mengasamkan ekstrak klorofil dengan menambahkan HCl 13% (Gross 1991) yang setara dengan HCl 4 N ke dalam ekstrak klorofil daun murbei, sampai terjadi perubahan warna dari hijau menjadi coklat zaitun yang merupakan indikator Mg terlepas dari klorofil (Marquez *et al.* 2005). Penurunan pH dilakukan secara bertahap dan tetap diaduk selama pereaksian. Selama proses reaksi terjadi penggantian atom Mg pada klorofil dengan 2 atom H. *Pheophytin* dengan warna coklat zaitun yang stabil dalam penelitian ini diperoleh setelah mereaksikan larutan selama dua jam pada suhu ruang. Turunan klorofil berbentuk *pheophytin* ini tidak larut dalam air (Gross 1991).

Menurut Hendry dan Houghton (1996) turunan klorofil bebas logam seperti *pheophytin* dan *pheophorbide* dengan cincin siklopentanon akan teroksidasi bila terpapar cahaya. Stabilitas klorofil dapat dicapai apabila Mg diganti dengan Cu. Pemilihan Cu sebagai logam pengompleks karena tingkat stabilitas kompleks Cu dengan cincin porfirin klorofil lebih tinggi dibandingkan Mg (Cheng *et al.* 1992 diacu dalam Alshendra 2004) dan Cu merupakan zat gizi mikro yang dibutuhkan tubuh sebagai bagian dari enzim (Anderson 2004; Almatsier 2009). Cu terlibat dalam pembentukan energi di dalam mitokondria melalui transport elektron protein. Cu yang berada dalam sel darah merah

sebagian besar berbentuk metaloenzim superoksida dismutase yang berfungsi sebagai antioksidan serta membantu sintesis melanin dan katekolamin. Cu dalam seruloplasmin berperan pada proses oksidasi besi sebelum ditransportasikan ke dalam plasma (Anderson 2004). Cu dalam enzim metaloprotein berperan pada proses sintesis protein kompleks jaringan kolagen di dalam kerangka tubuh dan pembuluh darah serta pada proses sintesis pembawa rangsangan saraf (*neurotransmitter*) seperti noradrenalin dan neuropeptida seperti enkefalin (Almatsier 2009). Oleh sebab itu penambahan Cu ke dalam turunan klorofil diduga tidak membahayakan kesehatan.

Turunan klorofil yang berikatan dengan Cu, tidak peka terhadap cahaya dan tidak terjadi dekomposisi dengan adanya asam mineral (Sweetman 2005). Demikian juga disebutkan oleh Canjura *et al.* (1999) bahwa kompleks cincin porfirin klorofil dengan Cu membentuk suatu ikatan kuat, yang lebih tahan terhadap asam dan panas dibandingkan dengan klorofil asal (porfirin berikatan dengan Mg). Sebanyak 4 atom Nitrogen (N) pada cincin porfirin mampu membentuk kompleks atau khelat dengan ion Cu^{2+} pada molekul klorofil dan turunannya. Dua atom N melakukan ikatan kovalen dengan atom Cu non-ionik, sedangkan 2 atom lainnya melakukan ikatan kovalen koordinat melalui pembagian bersama satu pasang elektronnya dengan atom Cu. Hal ini membuat kompleks Cu-porfirin atau Cu-turunan klorofil yang terbentuk menjadi stabil.

Aktivitas antioksidan kompleks Cu-turunan klorofil lebih tinggi dibanding klorofil alami (Marquez *et al.* 2005) dan turunan klorofil alami (Ferruzi *et al.* 2002; Marquez *et al.* 2005). Oleh karena itu perlu dilakukan khelat logam dengan klorofil pada cincin porfirin. Selain itu Nurdin (2009) menyatakan bahwa alasan penambahan Cu pada ekstrak turunan klorofil adalah untuk mempertahankan kestabilan warna hijau klorofil serta meningkatkan kelarutan dan pH produk bubuk yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan Gross (1991) yang menyatakan bahwa ikatan khelat Cu dengan turunan klorofil berwarna hijau cerah.

Menurut La Borde dan Von Elbe (1994) dalam Alsuhendra (2004) ion logam hanya bereaksi dengan turunan klorofil, sehingga penambahan jumlah Cu disesuaikan dengan jumlah turunan klorofil. Mengacu pada penelitian yang dilakukan Rosmiati (2011) konsentrasi Cu yang ditambahkan sebesar 0,002 mol. Garam Cu yang digunakan dalam penelitian ini adalah Cu-asetat. Hal ini dikarenakan asam asetat (CH_3COOH) merupakan asam lemah yang tidak bersifat korosif dan dikenal tubuh karena merupakan bahan organik serta reaksinya bersifat hidro dengan produk akhir H_2O dan CO_2 . Selain itu jika ditinjau dari segi teknis dalam sebuah aplikasi untuk industri makanan, penggunaan Cu^{2+} terlalu mahal. Hal ini dapat berpengaruh terhadap biaya produksi bubuk Cu-turunan klorofil.

Cu-asetat pada berbagai perlakuan terlebih dahulu dilarutkan dalam 10 ml akuades agar Cu-asetat mudah terlarut dan bereaksi dengan larutan *pheophytin*. Reaksi ini menghasilkan Cu-*pheophytin* atau lebih dikenal dengan nama Cu-*Chlorophyllin* (Hendry & Houghton 1996). Ekstrak turunan klorofil yang telah ditambahkan Cu²⁺ dinaikkan pH-nya mencapai 8,5 (Von Elbe 1992 diacu dalam Alsuhendra 2004 & Nurdin 2009) dengan cara menambahkan NaOH 4 N. Hal ini bertujuan untuk membuat Cu-*Chlorophyllin* menjadi larut dalam air karena fitil alkohol dan metal alkohol yang bersifat hidrofobik akan terlepas (Sweetman 2005).

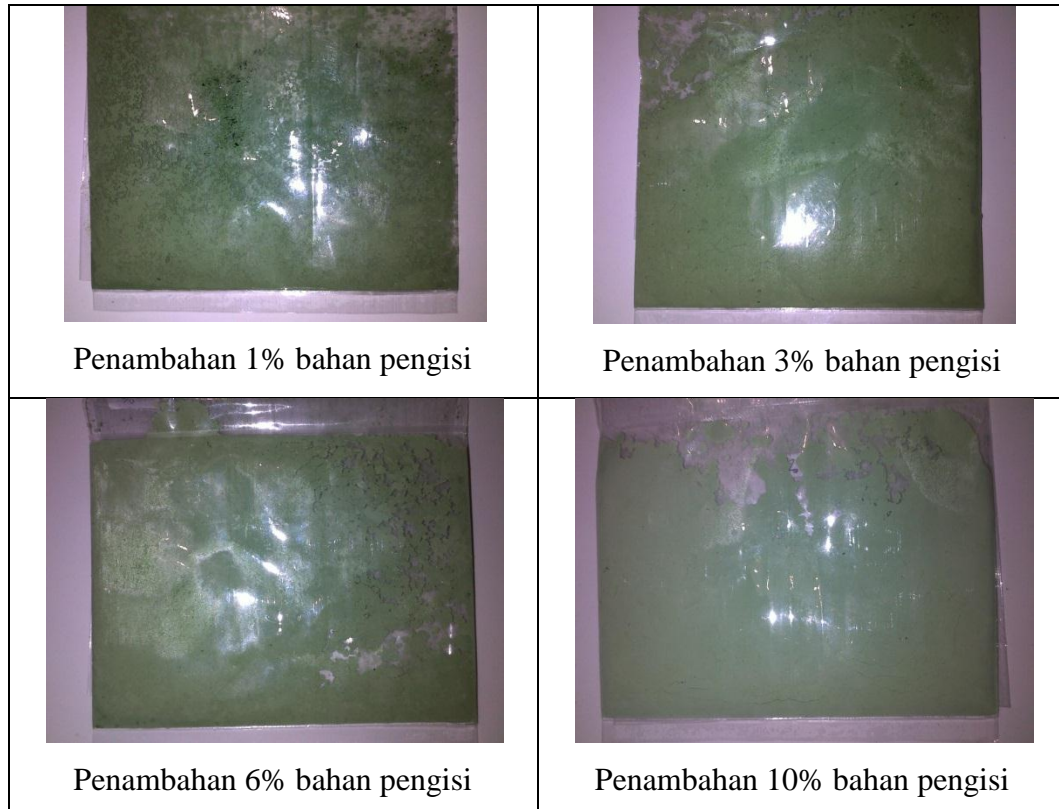
Reaksi dilakukan di dalam labu tertutup selama 24 jam pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya serta diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Alasan penggunaan waktu pereaksian selama 24 jam mengacu pada penelitian Petrovic *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa periode waktu pembentukan kompleks klorofil dengan Cu berkisar antara 2 jam sampai 3 minggu. Kandiana (2010) melakukan penelitian serupa dengan mereaksikan Cu dengan turunan klorofil daun cincau hijau selama 2 jam, hasilnya menunjukkan bahwa jumlah Cu bebas lebih besar dibandingkan Cu terikat yang membentuk Cu-*Chlorophyllin*. Oleh sebab itu dalam penelitian ini dipilih waktu 24 jam dengan tujuan menghasilkan Cu-*Chlorophyllin* yang lebih besar dibandingkan Cu bebas. Selain itu aspek teknis pembuatan bubuk Cu-turunan klorofil juga menjadi pertimbangan dimana 24 jam dirasa masih memungkinkan untuk dilakukan dalam skala industri dibandingkan dengan periode pereaksian selama 3 minggu.

Produk akhir sebagai bahan baku suplemen makanan yang diinginkan adalah bentuk bubuk, maka ekstrak harus dikeringkan. Alat pengering yang digunakan adalah *spray dryer*. Hal ini dikarenakan proses pengeringan menggunakan *spray dryer* lebih cepat dibandingkan dengan pengeringan menggunakan *freeze dryer*. *Spray dryer* mampu mengeringkan satu liter larutan dalam jangka waktu 40-60 menit, sedangkan *freeze dryer* memerlukan waktu 12 jam (Nurdin 2009). Jika ditinjau dari aspek teknis dalam skala industri penggunaan *spray dryer* ini lebih efisien.

Waktu pengeringan yang lebih singkat dan performa bubuk Cu-turunan klorofil yang relatif bagus dapat diperoleh dengan cara menambahkan bahan pengisi pada larutan sebelum dikeringkan. Selain itu bahan pengisi juga digunakan untuk mengikat ekstrak. Hasil penelitian Bianca (1993) dalam Alsuhendra (2004) menunjukkan bahwa bahan pengisi dekstrin lebih baik dibandingkan gum arab dan CMC dilihat dari kelarutan bubuk yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan dekstrin sebesar lebih dari 3% menghasilkan produk yang lebih baik dengan kelarutan tinggi, namun menurunkan

konsentrasi Zn-turunan klorofil yang terdapat dalam bubuk (Alsuhendra 2004; Nurdin 2009; Nurdin *et al.* 2009, Kandiana 2010, Rosmiati 2011). Untuk menghasilkan warna dan tekstur bubuk klorofil yang optimal dilakukan penelitian dengan penambahan bahan pengisi ke dalam larutan Cu-turunan klorofil yang berbeda. Jumlah yang ditambahkan diantaranya 1%, 3%, 6% dan 10%. Bahan pengisi yang digunakan adalah maltodekstrin yang merupakan salah satu jenis dekstrin yang biasa digunakan dalam produk makanan. Hal ini dikarenakan maltodekstrin mempunyai tingkat kelarutan lebih baik dalam air, sehingga dalam aplikasinya akan lebih luas.

Maltodekstrin memiliki sifat kelarutan yang kurang baik dalam aseton. Untuk mendapatkan kelarutan maltodekstrin yang lebih baik maka ditambahkan akuades dengan perbandingan akuades dan aseton sebesar 1:2. Perbandingan ini diperoleh melalui percobaan pendahuluan dengan cara menambahkan akuades sedikit demi sedikit secara kuantitatif sampai maltodekstrin terlarut dengan baik. Hal ini akan membuat mobilisasi partikel dalam serbuk klorofil menjadi lebih merata sehingga menghasilkan warna yang merata dan tersalut dengan baik. Bubuk Cu-turunan klorofil yang diperoleh dari berbagai konsentrasi Cu pada penelitian ini menghasilkan performabubuk yang baik. Bubuk Cu-turunan klorofil daun murbei dapat dilihat pada Gambar 2.



C.

Gambar 5. Bubuk Cu-Turunan Klorofil pada beberapa penambahan pengisi

Bubuk Cu- Turunan klorofil tersebut kemudian dikelompokan berdasarkan tingkatan warna menggunakan *Colour Chart RHS (The Royal Horticultural Society)* dan dianalisis secara deskriptif. RHS merupakan standar untuk menentukan warna tanaman. RHS merupakan referensi standar untuk menentukan warna tanaman. Warna tersebut dibagi menjadi tiga bagian yaitu *hue*, *brightness* dan *saturation*. *Hue* berfungsi membedakan jenis warna utama seperti hijau, merah, biru dan lain-lain. *Brightness* (tingkat kecerahan) merupakan jumlah total cahaya yang dipantulkan oleh warna tersebut atau seberapa banyak cahaya yang diterima oleh mata secara normal pada skala terang sampai gelap. Nilai *brightness* dalam metode *Colour Chart RHS* ini dinyatakan dengan skala angka 1 yang mewakili warna kuning (*Yellow*) sampai dengan 202 yang mewakili warna hitam (*Black*). *Saturation* atau *intensity* merupakan atribut yang membedakan kejernihan ataupun *greyness* sebuah warna yang ditentukan dengan 4 skala dari skala A yang mewakili intensitas warna paling gelap sampai skala D yang mewakili intensitas warna paling pudar (RHS 2001).

Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan *Colour Chart RHS* bubuk Cu- Turunan Klorofil pada berbagai perlakuan tergolong warna hijau (*Green*) dan tingkat kecerahan (*brightness*) sebesar 134. Intensitas warna (*saturation*) bubuk Cu –turunan klorofil untuk penambahan bahan pengisi 1%, 3%, 6% dan 10 % secara berturut-turut adalah A, B, C dan D. Analisis warna ini dilakukan untuk menentukan formula bubuk Cu-turunan klorofil yang terpilih. Nilai intensitas warna yang paling gelap (A) adalah bubuk Cu-turunan klorofil dengan penambahan bahan pengisi sebesar 1%. Namun bubuk tersebut lengket pada alat pengering dan menggumpal, sehingga formula yang terpilih adalah bubuk Cu-turunan klorofil dengan penambahan bahan pengisi maltodekstrin sebesar 3%. Hal ini sesuai dengan penelitian Alshendra (2004) yang menambahkan bahan pengisi dekstrin sebesar 3% pada larutan Cu-turunan klorofil dari daun singkong dengan pelarut etanol. Selain itu Rosmiati (2011) juga menggunakan bahan pengisi maltodekstrin 3% pada larutan Cu-turunan klorofil dari daun murbei dengan pelarut etanol. Warna yang dihasilkan bubuk Cu-turunan klorofil dengan penambahan maltodekstrin 3% dengan pelarut aseton pada penelitian ini lebih hijau dibandingkan bubuk Cu-turunan klorofil dengan pelarut etanol. Bubuk Cu-turunan klorofil dengan pelarut etanol memiliki warna *yellow-green* (Rosmiati 2011).

Analisis karakteristik fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil terpilih diantaranya kadar air, kelarutan, pH, kadar Cu total dan kandungan Cu-*Chlorophyllin*. Hasil analisis karakteristik fisiko-kimia formula terpilih ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 8 Hasil analisis sifat fisiko-kimia bubuk Cu-turunan klorofil

Karakteristik	Bubuk Cu-turunan klorofil dengan pelarut aseton	Bubuk Cu-turunan klorofil dengan pelarut etanol ^a
Kadar air	7,58%	3,71%
Kelarutan	98,39%	97,31%
pH	4,52	7,46
Kadar Cu Total	0,43 mg/g	2,85 mg/g
Kadar Cu- Chlorophyllin	0,23 mg/g	31,14 mg/g

Sumber: ^a Rosmiati (2011)

Kadar air atau susut pengeringan menunjukkan mutu dari suatu produk. Berdasarkan data pada Tabel 5 dapat diketahui bahwa kadar air sebesar 7,58% (bb). Jika dibandingkan dengan bubuk Cu-turunan klorofil dengan pelarut etanol hasilnya lebih tinggi namun angka ini masih memenuhi persyaratan Kepmenkes No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang persyaratan obat tradisional dalam bentuk serbuk yang menyatakan bahwa kadar air tidak boleh melebihi 10% (Kepmenkes 1994).

Kelarutan menunjukkan bahwa banyaknya bagian dari suatu produk yang dapat larut dalam suatu pelarut dengan volume tertentu. Berdasarkan data pada Tabel 5 kelarutan bubuk Cu-turunan klorofil sebesar 98,39% (bk). Produk yang dihasilkan dalam penelitian ini secara keseluruhan masuk dalam kategori tinggi kelarutannya dalam air. Selain itu analisis kadar pH dilakukan untuk menunjukkan tingkat keasaman suatu produk. Berdasarkan hasil analisis kadar pH bubuk Cu turunan klorofil terpilih tergolong asam yaitu sebesar 4,52.

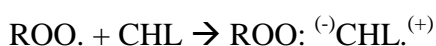
Kadar Cu Total dan Kandungan Cu-*Chlorophyllin* mengacu pada peraturan BPOM RI No. HK.00.05.23.3644 yang menyatakan bahwa batas maksimal jumlah Cu yang diizinkan terdapat dalam produk suplemen makanan adalah 3 mg/hari (BPOM RI 2005) yang diasumsikan sebagai kadar Cu total yang terdapat dalam setiap gram bubuk Cu-turunan klorofil (Kandiana 2010). Berdasarkan data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa kadar Cu total bubuk Cu turunan klorofil sebesar 0,43 mg/g(bb) dan kandungan Cu-*Chlorophyllin* sebesar 0,23 mg/g (bb). Hasil tersebut memenuhi persyaratan BPOM RI No. HK.00.05.23.3644 (BPOM RI 2005) dan masih berada di bawah *Tolerable Upper Level Intake* Cu yang mencapai 10 mg/hari (Young *et al.* 2001). Kandungan Cu total dan Cu *Chlorophyllin* bubuk Cu-turunan klorofil menggunakan pelarut aseton lebih rendah dibandingkan dengan bubuk yang menggunakan pelarut etanol. Hal ini diduga karena

konsentrasi aseton yang digunakan yaitu sebesar 70% sehingga konsentrasi klorofil terlarut lebih sedikit dibandingkan konsentrasi klorofil yang diekstrak menggunakan etanol 96%.

Aktivitas Antioksidan

Ferruzzi *et al.* (2002) menguji kapasitas menangkap radikal bebas berbagai turunan klorofil dalam sistem *in vitro*. Klorofil yang kehilangan logamnya (yaitu Mg) pada pusat cincin porfirin akan menurun kapasitas antioksidannya. Hal ini disebabkan karena logam yang terkelat akan mengakibatkan lebih terkonsentrasinya densitas elektron di pusat cincin dan menjauhi kerangka porfirinnya, sehingga meningkatkan kemampuan mendonorkan elektron dari sistem porfirin yang terkonyugasi. Klorofil yang kehilangan gugus fitilnya menunjukkan peningkatan antioksidasi. Berdasarkan pernyataan tersebut tampak bahwa kerangka porfirin dan keberadaan logam terkelat adalah 2 hal yang penting untuk kapasitas antioksidan.

Mekanisme antioksidan yang dikemukakan oleh Endo *et al.*, (1985) adalah:



Klorofil bereaksi dengan radikal peroksi ROO. Yang dihasilkan pada tahap awal oksidasi minyak dan berubah menjadi radikal π -kation. Radikal π -kation dari klorofil ini berikatan dengan radikal peroksi bermuatan negatif dengan ikatan yang lemah, dan membentuk kompleks yang bersifat antara (intermediat). Kompleks ini kemudian bereaksi dengan radikal peroksi yang lain dan akhirnya menjadi tidak aktif. Kesimpulan yang diperoleh diantaranya: (1) efek antioksidatif klorofil adalah berasal dari struktur porfirinnya, (2) Mg dapat memperkuat aktivitas antioksidan klorofil hanya jika dalam bentuk terkelat, (3) klorofil mereduksi radikal bebas *diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) (4) radikal π -kation dihasilkan oleh klorofil jika klorofil dioksidasi dalam sistem metil linoleat.

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan bubuk Cu turunan klorofil terpilih adalah metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Menurut Koleva *et al.* (2001) metode DPPH merupakan suatu metode kolorimetri yang sederhana, cepat dan mudah serta sensitif untuk memperkirakan aktivitas antiradikal. Selain itu metode DPPH menggunakan jumlah sampel yang sedikit dengan waktu analisis yang singkat. Aktivitas

antioksidan sampel diukur pada panjang gelombang 516 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH, dengan konsentrasi DPPH 1 mM. Perubahan warna pada larutan DPPH dalam methanol menunjukkan adanya aktivitas antioksidan sampel. Warna ungu larutan DPPH dalam penelitian ini perlahan berubah menjadi warna kuning ketika ditambahkan sampel yang mengandung komponen antioksidan (Blois 1958).

Perubahan warna larutan DPPH mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer. Semakin besar penurunan nilai absorbansi menunjukkan bahwa radikal bebas yang diserap antioksidan tersebut semakin banyak. Besarnya aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen (%) aktivitas antioksidan. Standar dalam pengukuran aktivitas antioksidan dalam penelitian ini adalah Vitamin C. Hal ini dikarenakan Vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Selain itu Vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang mudah diperoleh (Blois 1958).

Berdasarkan hasil analisis tersebut, bubuk Cu-turunan klorofil terpilih memiliki aktivitas antioksidan sebesar 19,74% yang berarti komponen antioksidan yang terdapat dalam bubuk tersebut mampu mereduksi 19,74% radikal bebas yang mengoksidasinya. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan bubuk Cu turunan klorofil yang menggunakan pelarut etanol yaitu sebesar 47,07% (Rosmiati 2011). Besarnya aktivitas antioksidan bubuk Cu-turunan klorofil kemudian disetarakan dengan kemampuan Vitamin C yang dinyatakan dalam *Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity* atau biasa disingkat AEAC (mg Vit C/100 g). Bubuk Cu-turunan klorofil dengan penambahan bahan pengisi 3% dan pelarut aseton memiliki aktivitas antioksidan sebesar 19,74 % yang setara dengan 105,21 mg Vitamin C/100 g.

Residu Aseton

Bubuk Cu-turunan klorofil menggunakan aseton sebagai pelarut, sehingga perlu dilakukan analisis kadar aseton. Kadar aseton bubuk Cu turunan klorofil terpilih dalam penelitian ini dianalisis menggunakan alat kromatografi gas (USPC 2006 yang dimodifikasi). Kromatografi gas adalah teknik kromatografi yang bisa digunakan untuk memisahkan senyawa organik yang mudah menguap. Senyawa-senyawa yang dapat ditetapkan dengan kromatografi gas sangat banyak, namun terdapat batasan-batasan. Senyawa-senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian yaitu pada suhu 50°C – 300°C. Jika senyawa tidak mudah menguap atau tidak stabil pada

temperatur pengujian, maka senyawa tersebut bisa diderivatisasi agar dapat dianalisis dengan kromatografi gas (Day & Underwood 1991).

Berdasarkan hasil uji menggunakan kromatografi gas diketahui bahwa kadar aseton pada bubuk Cu-turunan klorofil terpilih kurang dari 0,01% atau tidak terdeteksi. Hasil ini dapat dijadikan pertimbangan untuk menilai keamanan bubuk Cu-turunan klorofil. Hal ini diduga karena *spray dryer* mampu mengubah larutan menjadi serbuk dengan baik. Langkah pertama mekanisme kerja pada *spray dryer* yaitu mengubah seluruh cairan dari bahan yang ingin dikeringkan ke dalam bentuk butiran-butiran cairan dengan cara diuapkan menggunakan *atomizer*. Cairan dari bahan yang telah berbentuk tetesan-tetesan tersebut kemudian di kontakkan dengan udara panas. Peristiwa pengontakkan ini menyebabkan cairan dalam bentuk tetesan-tetesan tersebut mengering dan berubah menjadi serbuk. Selanjutnya proses pemisahan antara uap panas dengan serbuk dilakukan dengan *cyclone* atau penyaring. Setelah di pisahkan, serbuk kemudian kembali diturunkan suhunya sesuai dengan kebutuhan produksi (Setijahartini 1980).

C. Pembuatan kitosan dari kulit pupa

Proses pembuatan kitosan terdiri dari tahap: preparasi, pretreatment, demineralisasi, deproteinisasi, deasetilasi, pengeringan dan pengujian mutu kitosan pupa.

- Tahap Preparasi terdiri dari pembersihan pupa dari isinya dengan cara mengeluarkan semua isinya, kemudian dicuci sampai bersih dan dikeringkan. Pembuatan reagen: Larutan NaOH 3N (untuk proses deproteinisasi). Larutan HCl 1N (untuk proses demineralisasi). Larutan NaOH 50% (untuk proses Deasetilasi) dan larutan asam asetat 2% (untuk pengecekan hsl proses).
- Tahap Pretreatment: Pupa kering ditimbang terus ditambah larutan HCl 1N dengan cara bertahap karena akan mengeluarkan gelembung busa yang banyak , sambil diaduk sampai semua pelarut (1:7) dimasukin . dibiarkan semalam
- Tahap Demineralisasi: Yaitu tahap pemisahan mineral melalui ekstraksi dengan larutan HCl 1N perbandingan 1:7 dan dipanaskan 100 °C selama 1 jam, setelah satu jam larutan dipisahkan dan residu dicuci sampai netral untuk diproses selanjutnya (deproteinisasi).



Gambar 6. Tahap kitosan kulit pupa

- Tahap Deproteinisasi adalah tahap pemisahan protein melalui ekstraksi dengan larutan NaOH 3N perbandingan 1:10, dan pemanasan 90 °C selama 1 jam. Setelah pemanasan 1 jam, dilakukan pemisahan filtrat dan residu dicuci sampai netral menjadi KITIN bisa langsung dikeringkan sebagai kitin atau dilanjutkan untuk proses pembuatan kitosan.



Gambar 7. Tahap deproteinisasi kulit pupa

- Tahap Deasetilasi ; adalah tahap penghilangan gugus asetil melalui ekstraksi dengan larutan NaOH 50%. Perbandingan 1:10 dengan pemanasan sampai suhu 140°C, selama 1 jam. Setelah sejam larutan dipisahkan dan residu di cuci sampai netral di test kelarutan dengan asetat 2%, kalau larut dalam asetat 25% berarti KITOSAN. Hasil yang diperoleh adalah Kitosan dengan rendemen sekitar 5%

masih berwarna hitam, tapi dapat dibleaching dengan hipoklorit pada tahap preparasi kitin su paya dihasilkan kitosan yang putih.

- Tahap selanjutnya adalah pengujian mutu kitosan yaitu uji proksimat (Kadar air, kadar mineral dan kadar nitrogen) serta derajat kelarutan deasetilasi dengan FTIR. Hasil dari pengujian mutu kitosan dari kulit pupa dapt dilihat pada Tabel 9.



Gambar 8. Larutan kitosan kulit pupa

Tabel 9. Hasil uji mutu kitosan kulit pupa

Parameter	Nilai
Kadar Air	10.0%
Kadar Abu	1.7%
Kadar nitrogen	3.4%
Derajat Deasetilasi	84.0%
Rendemen	7.3%
Warna	Putih

Manfaat kitosan adalah sebagai bahan pengawet makanan alami yang aman bagi kesehatan. Senyawa kitosan berasal dari senyawa kitin yang gugus asetilnya di hilangkan. Faktor yang paling berpengaruh dalam kemampuan kitosan sebagai pengawet makanan adalah derajat deasetilasi, yakni banyaknya gugus amin (NH_2) yang terkandung dalam senyawa kitosan. Banyaknya gugus amin tersebut tergantung pada gugus asetil yang terambil. Semakin tinggi derajat deasetilasi maka kemampuan kitosan sebagai pengawet makanan semakin bagus.

Pada penelitian ini kitosan dari kulit pupa memiliki potensi yang sangat baik sebagai pengawet makanan, karena memiliki derajat desetilasi hingga 84.0%.

5. Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mendapatkan formula teh murbei yang memenuhi standar SNI teh hitam, dengan perbandingan komposisi daun murbei dengan teh hijau = 65:35, memiliki kandungan total fenol sebanyak 730 mg/g, dan aktivitas antioksidan sebesar 586 AEAC.

Bubuk Cu turunan klorofil yang terpilih memiliki kadar air 7,58%; kelarutan 98,39%; pH 4,52; kadar Cu total 0,43 mg/g dan Cu-Chlorophyllin sebesar 0,23 mg/g serta aktivitas antioksidan sebesar 19,74% dan residu pelarut (aseton) tidak terdeteksi pada produk akhir.

Kitosan dari kulit pupa yang dihasilkan memiliki potensi yang sangat baik sebagai pengawet makanan, karena memiliki derajat desetilasi hingga 84.0%.

6. Daftar Pustaka

- Alsuhendra. 2004. Daya anti-aterosklerosis Zn-turunan klorofil dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) pada kelinci percobaan [disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Amma NR. 2009. Efek hipoglikemik ekstrak daun murbei (*Morus multicaulis*) terhadap kadar glukosa darah tikus DM [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Arifin SM, Bambang K, Dharmadi A, Santoso J, Adimulyo S, Suryatmo FA, Afandi AD, Sumantri FAS, Heksana EAL, Jumedi D, Purnama A, Sudomo, Sulistryo T, Suhartika, Tepani, Samudi B. 1994. *Petunjuk Teknis Pengolahan Teh*. Bandung: Pusat Penelitian Teh dan Kina.
- Arisandi Y, Andriani Y. 2006. *Khasiat Berbagai Tanaman untuk Pengobatan*. Jakarta: Eska Media.
- Atmosoedarjo S, Kartasubrata J, Kaomini M, Saleh W, Moerdoko W. 2000. *Sutera Alam Indonesia*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- [Badan POM RI] Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2001. *Peraturan Perundang-undangan Dibidang Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar Dan Fitofarmaka. Cetakan Pertama*. Jakarta: BPOM RI
- [Badan POM RI] Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2005. *Peraturan Perundang-undangan dibidang Suplemen Makanan. Cetakan Pertama*. Jakarta : BPOM RI
- Barder HF *et al.*. 2006. Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer and the Netherland cohort study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15(4):717-25
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* 181(26): 1199-1200
- Breinholt VJ, Pereira HC, Arbagost D, Bailey G. 1995. Dietary chlorophyllin is a potent inhibitor of alfatoxin B1 hepatocarcinogenesis in rainbow trout. *Cancer-Res.* 55(1):57-62
- Canjura FL, Watkins RH, Schwartz. 1999. Color improvement and metallo-chlorophyll complexes in continuous flow aseptically processed peas. *Journal of Food Science* 64(6):987-990
- Dainy NC. 2009. Uji Toksisitas Senyawa Total Katekin Teh Camelia-Murbei sebagai Minuman Kesehatan [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*. Jakarta: Trubus Agriwidya.

- Damayanthi E, Kusharto CM, Suprihartini R, Rohdiana D. 2007. *Diversifikasi Produk Teh Sebagai Minuman Kesehatan*. Bogor. Laporan Hasil Penelitian Kerjasama LPPM Intitut Pertanian Bogor dengan Departemen Pertanian (KKP3T).
- Darningsih S. 2008. Formulasi Teh *Camellia-Murbei* dengan Bubuk Jahe (*Zingiber officinale*) dan Asam Jawa (*Tamarindus indica*, L.) sebagai Minuman Kesehatan untuk Meningkatkan Respon Imun Tikus [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Day JR, Underwood AL. 1991. *Quantitative Analysis*. New Jersey: Englewood Cliffs
- de Padua LS, Bunyapraphatsara N, Lemmens RHMJ (Eds.). 1999. Plant Resources of South-East Asia Number 12(1) Medicinal and Poisonous Plants 1. Leiden: Backhuys Publishers. 711 pp.
- Effendi R. Pengendalian Kadar Glukosa Darah oleh Teh Hijau dan atau Teh Daun Murbei Sebagai Minuman Kesehatan [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Endo YR, Usuki, Kaneda T. 1985. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autooxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. *JAOCS* 62: 1387 – 1390
- Erba D, Foti P, Frigerio F, Criscouli F, Testolin G. 2003. *Black Tea Extract Supplementation Decreases Oxidative Damage in Jurkat Cel*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 416. p. 196-201.
- Ferruzzi MG, Schwartz SJ. 2001. Thermal degradation of commercial grade sodium copper chlorophyllin. *J.Agric. Food Chem.* 53(18):7098-7102
- _____, Blakeslee J. 2006. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research* 27: 1-2
- _____, Bohm V, Courtney PD, Schwartz SJ. 2002. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. *Journal of Food Science* 67:2589-2595
- Gomes A, Vedasiromoni JR, Das M, Sharma RM, Ganguly DK. 1995. Antihyperglycemic Effect of Black Tea (*Camelia sinensis*) in Rat. *Journal of Ethnopharmacology*. 45:223-226.
- Gross J.1991. *Pigments In Vegetables Chlorophylls and Carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. K. Pandawinata dan I Soediro, penerjemah. Bandung: ITB Press
- Hartoyo A. 2003. *Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan*. Yogyakarta : Kanisius.

- Hasegawa RB *et al.*. 1995. Inhibitory effect of chlorophyllin on PhIP-induced mammary carcinogenesis in female F344 rats. *Carcinogenesis* 16(9):2245-2246
- Hasegawa RM, Hirose, Kato T, Hagiwara A, Boonyaphiphat P, Nagao M, Ito N, Shirai T. 1995. Inhibitory effect of chlorophyllin on PhIP-induced mammary carcinogenesis in female F344 rats. *Carcinogenesis* 16 (9) : 2243.
- Hendler SS, Rorvik D, editor. 2001. *Physicians Desk Reference (PDR) for Nutritional Supplement*. Montvale: Thomson PDR
- Hendry GAF, Houghton JAD 1996. *Natural Food Colorants, Second edition*. London: Blackie Academic & Professional
- Kandiana M. 2010. Uji toksisitas bubuk ekstrak kompleks Cu-turunan klorofil (Na-Cu-Klorofilin) daun cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr.) sebagai bahan baku suplemen makanan [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Keller PM *et al.*. 1996. Photodynamic imaging of a rat pancreatic cancer with feoforbid a. *Photochem-Photobio* 63(6):860-867
- Keller PM, Sowinsha V, Tasetti F, Heisel A, Hajri S, Evrard J, Marescaux, Aprahamian M. 1996. Photodynamic imaging of a rat pancreatic cancer with pheophorbide-a. *Photochem-Photobiol* 63 (6) : 860 – 867.
- Koleva *et al.* . 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 13: 8-17
- Kumar SS, Shankar B, Sainis KB. 2004. Effect of chlorophyllin against oxidative stress in splenic lymphocytes in vitro and in vivo. *Biochim. Biophys. Acta*. 1672(2):100-111.
- LaBorde LF, von Elbe JH. 1994. Chlorophyll degradation and zinc complex formation with chlorophyll derivatives in heated green vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 42 (5): 1100-1103
- Limantara L. 2009. *Daya Penyembuhan Klorofil*. Malang: Ma Chung Press
- Loni. 2001. Perhatikan informasi gizi di label kemasan. *Media Indonesia*, Juli, hal 13
- Marquez UM, Barros RMC, Sinnecker P. 2005. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International* 38 : 885-891
- Miller JD, Trenholm HL. 1996. *Mycotoxins in grain : compounds other than aflatoxin*. St. Paul: Eagans Press. p. 552
- Muchtadi D. 1992. *Fisiologi Pasca Panen Sayuran dan Buah-buahan*. Bogor: Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor
- Nasution MZ, Tjiptadi W. 1975. *Pengolahan Teh*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Pertanian FATETA IPB.

- Nuridin. 2009. Pembuatan Bubuk ekstrak Cu-turunan klorofil daun cincau (*Premna oblongifolia* Merr.) dan uji praklinis untuk pencegahan aterosklerosis [disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- _____, Khomsan A, Marliyati SA, Ijirana. 2009. Produk bubuk Cu-turunan klorofil dari daun murbei (*Morus alba* L.) dan aplikasinya dalam pencegahan penyakit aterosklerosis [laporan penelitian hibah bersaing]. Palu: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako
- Pramungdimurti E. 2007. Kapasitas antioksidan dan daya hipokolestolemik ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown) [disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- RHS] The Royal Horticultural Society. 2001. Colour Chart, The Royal Horticultural Society. London: RHS
- Robins EW, Nelson RL. 1989. Inhibition of 1,2-dimethylhydrazine-induced nuclear damage in rat colonic epithelium by dchlorophyllin. *Anticancer Res.* 9: 981-985
- Setijahartini S. 1980. *Pengeringan*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- Shimada K, Kawarabayashi T, Tanaka A, Fukada D, Nakamura Y, Yoshiyama M, Takeuchi K, Sawaki T, Hosoda K, Yoshikawa J. 2004. *Oolong Tea Increases Plasma Adiponectin Levels and Low-Density Lipoprotein Particle Size in Patients With Coronary Artery Disease*. Inpress.
- Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB Press
- Siswantoro D. 2008. Kajian aktivitas tanin dengan penisilin terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Pasteurella multocida* secara *in vitro*. <http://adln.lib.unair.ac.id> [5 Mei 2010]
- SNI. http://www.bsn.go.id/sni/sni_detail.php?sni_i
- Susilaningsih N, Johan A, Gunardi, Winarno. 2002. *Efek polifenol teh hijau sebagai imunomodulator pada infeksi*. Malang: Penelitian Hibah Bersaing Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Sweetman SC. 2005. *Martindale The Complete Drug Reference, 34th ed.* London: Pharmaceutical Press
- Tasseti V *et al.*. 1997. In vivo laser-induced fluorescence imaging of rat pancreatic cancer with feoforbid a. *Photochem-Photobio.* 65(6):997-1006
- [USPC] the United States Pharmacopeial Convention. 2006. *The United States Pharmacopeia, Twenty-Ninth Revision (USP 29) and The National Formulary, Twenty-Fourth Edition (NF 24), Asian Edition*. Rockville: USPC

- Winarno FG. 1995. *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: M-Brio Press
- Yoshino K, Suzuki M, Sasaki K, Miyase T, Ang Sano M. 1999. Formation of Antioxidant From Epigallocatechin Gallate in Mild Alkaline Fluids, such as Authentic Intestinal Juice and Mouse Plasma. *J. Nutr. Biochem* 10:223-229
- Young V *et al.*. 2001. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc: a Report of Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board Institute of Medicine*. Washington D.C: National Academy Press
- Yuliarti N. 2008. *Food Supplement, Panduan Mengonsumsi Makanan Tambahan untuk Kesehatan Anda*. Yogyakarta: Banyu Media