

A68

NO: 101 / 3 / BALAI RISET
DAN STANDARISASI INDUSTRI

ASASI INDUSTRI PERDAG
Tel. (0) 42 841274
A 68



BALAI PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN INDUSTRI
S U R A B A Y A

ISOLASI ZAT WARNA COKLAT
DARI KLUWAK (PANGIUM EDULE. R.)

DISPERPUSIKATIM

DEPARTEMEN PERINDUSTRIAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN INDUSTRI

1981 / 1982

8

A688



BALAI PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN INDUSTRI
S U R A B A Y A

ISOLASI ZAT WARNA COKLAT
DARI KLUWAK (PANGIUM EDULE. R.)

DEPARTEMEN PERINDUSTRIAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN INDUSTRI

1981 / 1982

R I N G K A S A N

Perencanaan isolasi zat warna coklat dari daging biji buah kluwak (Pangium edule R) dengan penyari air disertai pemanasan menghasilkan padatan lunak berwarna coklat kehitaman. Usaha pengkristalan / menjadi bentuk serbuk mengalami kesulitan karena padatan isolat mengandung gula dengan kadar 5,72 - 24,73 %, sehingga bersifat higroskopis. Hasil identifikasi menggunakan kromatografi Lapis Tipis dan kertas menunjukkan bahwa warna coklat dalam biji buah kluwak identik dengan warna coklat dari karamel.

Warna coklat biji buah kluwak stabil dalam suasana netral.

DAFTAR ISI.

R I N G K A S A N

DAFTAR ISI

BAB I	: PENDAHULUAN	1.
BAB II	: TINJAUAN PUSTAKA	2.
BAB III	: P E R C O B A A N	11.
	1. Ekstraksi dengan Penyari Air	12.
	2. Kristalisasi	13.
	3. Identifikasi Pewarna menggunakan Metode Kromatografi Kertas & Lapis Tipis	14.
	4. Uji Kadar HCN	16.
	5. Uji Kristalisasi warna Coklat	17.
BAB IV	: HASIL DAN PEMBAHASAN	18.
BAB V	: KESIMPULAN DAN SARAN	25.
BAB VI	: DAFTAR PUSTAKA	26.
	L A M P I R A N	27.

B A B. I

P E N D A H U L U A N

Di Indonesia banyak sumber daya nabati berupa tanaman bagian dari tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan dan keperluan industri, antara lain untuk bahan pewarna.

Seperti diketahui, selama ini zat warna coklat (pewarna alam) yang digunakan dalam industri makanan adalah koramel yang berasal dari gula. Untuk memperbanyak jumlah pewarna yang bisa digunakan dengan aman, perlu kiranya mencoba memanfaatkan potensi yang ada, misalnya warna coklat dari biji kluwak (*Pangium edule* R.).

Penelitian ini didasari atas kenyataan bahwa warna coklat dari biji kluwak sudah sejak lama digunakan oleh masyarakat sebagai pewarna dalam makanan, misalnya Rawon (Jawa Timur) dan Brongkos (Jawa Tengah). Sejauh ini belum ada laporan efek sampingan dan akibat negatif dari pemakaian warna tersebut. Oleh karena itu diharapkan zat warna coklat dari biji kluwak yang termasuk zat warna alam dapat melengkapi jumlah zat warna yang diijinkan digunakan dalam industri khususnya industri makanan

B A B. II

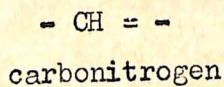
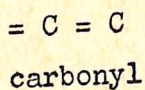
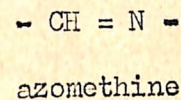
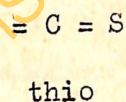
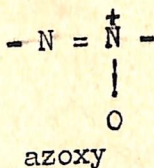
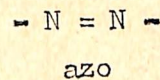
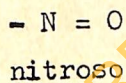
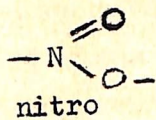
TINJAUAN PUSTAKA.

TEORI ZAT WARNA

Suatu zat akan berwarna bila zat tersebut mengabsorbsi sinar/cahaya yang melewatinya secara selektif dan meneruskan, membiaskan atau memantulkan sebagian dari sinar/cahaya yang tak terabsorbsi. Sinar yang tampak oleh penglihatan memiliki panjang gelombang 400 - 800^oA.

Warna suatu senyawa organik berhubungan dengan adanya gugus-2 tertentu dalam molekulnya yaitu gugus-2 pembawa warna yang disebut gugus chromatophore. Dalam suatu senyawa zat warna bagian dari molekul yang mengandung gugus chromatophore disebut Chromogen.

Contoh-2 gugus chromatophore :

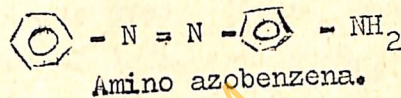
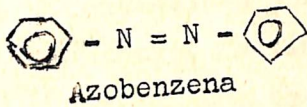


Untuk menimbulkan warna, cukup dengan satu gugus chromatophore terikat pada inti, tetapi biasanya dibutuhkan lebih dari satu gugus. Bila jumlah gugus chromatophore bertambah jumlahnya, warna dari suatu senyawa akan menjadi bertambah gelap.

Selain

Selain gugus chromatophore terdapat suatu gugus yang dapat berfungsi sebagai substituen dan dapat mempermudah atau mempertua warna yang ada meskipun substituen itu sendiri tidak berwarna, gugus ini dinamakan gugus AUXOCHROME, contoh : NH_2 ; $-\text{NR}_2$; $-\text{NHR}$; $-\text{COOH}$; $-\text{OH}$; $-\text{SO}_3\text{H}$.

Effek gugus Auxochrome terlihat pada senyawa Azabenzena, yang berwarna merah tetapi tidak berfungsi sebagai zat pencelup (dye). Bila gugus NH_2 dimasukkan kedalam posisi para pada inti benzena akan terbentuk senyawa Amino azobenzena yang bisa berfungsi sebagai zat pencelup (dye)



Dalam garis besar, zat warna dapat dibagi menjadi tiga golongan besar yaitu :

1. Pigmen dan lake
2. Zat warna tir arang (Coal tar dyes)
3. Zat warna alam.

1. Pigmen dan lake

Pigmen adalah suatu senyawa anorganik yang terdapat di alam maupun sintetis (buatan). Kombinasi logam-2 tertentu dengan pigmen memberikan warna yang ber-beda-2

Contoh pigmen : - Prussian blue (Biru Prussian) mengandung besi.

- Ultramarine blue (Biru ultramarin) mengandung

Al, S & Na.

Biru prussian terurai dalam suasana alkalis, tetapi stabil dalam asam chlorida terurai dengan membebaskan gas H_2S .

Lake adalah kombinasi zat warna organik dengan garam-2 logam. Lake dapat dibuat dari binatang, tumbuh-2 an maupun zat warna tir arang (Coal tar dyes).

Contoh-2 lake yang berasal dari binatang yaitu Cochineal Carmine, yang mengandung Cochineal dan logam Al atau Sn.

Contoh lake yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yaitu :

- Persian berries, berwarna kuning, dibuat dari sari persian berries dan Al
- Brazil Wood, berwarna merah, dibuat dari sari Brazil Wood & Al.

2. Zat warna tir arang (Coal tar dyes)

Zat warna ini dikenal sebagai zat warna buatan, dengan bahan baku hidrokarbon dari tir arang.

Zat warna ini dapat dibagi menjadi dua golongan :

1. dihasilkan dari cat basa ("basic dyes") dengan tannin, tartar emetic, Na-fisfat atau garam-garam Al dari asam lemak.
2. dihasilkan dari cat asam ("Acid dyes") dengan garam-garam dari Pb, Ba, Zn, Al, Sn, Sb, Ca, Fe, dll.

3. Zat warna alam

Banyak sumber daya nabati yang digunakan sebagai zat warna alam, baik yang berasal dari umbi, kayu atau kulit, daun buah atau kulit buah bunga, akar dll.

- karamel dari gula
- karaten dari wortel
- klorofil dari daun-daun
- indigo dari pohon tarum (Indigo fera)
- kurkumin dari umbi kunyit
- dll.

Ada juga zat warna alam yang berasal dari binatang seperti Cochineal dari serangga Coccus cacti

II. 2. PEMBATAHAN PENGGUNAAN ZAT WARNA

Penggunaan zat warna untuk industri khususnya untuk makanan akan kalanya menimbulkan efek sampingan yang merugikan terhadap tubuh manusia. Sejak ditemukan adanya Arsen dan Raksa (Hg) dalam zat warna buatan lainnya, semua zat warna yang dibuat dari tir arang dinyatakan beracun.

Tetapi

Tetapi setelah diketemukannya suatu oksidator yang dapat mengeliminir Arsen, Zat warna buatan dianggap tidak membahayakan. Beberapa pendapat menyatakan bahwa zat warna tir arang tetap berbahaya walaupun tidak mengandung Arsen, seperti yang tertulis dalam literatur, karena menimbulkan efek toksis terhadap organ tubuh manusia.

The National Confectioner Association pada tahun 1899 menerbitkan daftar zat warna yang berbahaya & tidak diijinkan untuk pewarna makanan sebagai berikut :

Biebricht Scarlet
Crocein Scarlet
New Coccine
Croceine Scarle 8 B
Croceine Scarlet O
Satramine
Asam pikrat
Matrius yellow
Resorcine yellow
Victoria yellow

Orange II
Metanil yellow
Sudan I
Orange IV
Naphitol green B
Methylene blue
Bismarck brown G
Chrysoidine

Penelitian lebih lanjut menyimpulkan bahwa beberapa zat warna tersebut diatas, bila dalam keadaan murni dinyatakan tidak membahayakan, oleh karenanya diijinkan digunakan sebagai pewarna makanan.

Untuk melindungi kesehatan konsumen, pemerintah Amerika mengijinkan industri makanan menggunakan pewarna yang berasal dari tir arang.

Setelah diuji oleh " U.S. Food and Drug Administration ".

Pada tahun 1907 " Federal Food and Drug Act " mengumumkan bahwa hanya 7

(tujuh) zat warna yang diijinkan untuk makanan. Dengan semakin majunya teknologi, tahun 1952 sebanyak 18 (delapan belas) zat warna yang diijinkan, kemudian meningkat menjadi 19 (sembilan belas) pada tahun 1950.

Huruf-huruf F D & C dibelakang nama zat warna menyatakan bahwa boleh digunakan untuk Food (makanan), Drug (obat) & Cosmetic (barang kecantikan).

Mereka

Mereka membagi zat warna makanan dalam FD & C merah, FD & C jingga, FD & C kuning, FD & C hijau, FD & C biru dan FD & C ungu.

Adapun daftar lengkapnya sbb :

WARNA FD & C	NO.	NAMA DAGANG	NO. INDEX WARNA
Merah	1	Ponceau 3 R	80
	2	Amaranth	184
	3	Erythrosin B	773
	4	Ponceau S X	-
	32	Oil red XO	-
Jingga	1	Orange I	150
	2	Orange SS	-
Kuning	1	Naphtol yellow S, So dium salt.	10
	2	Naphtol yellow S, Po tassium salt	10
	3	Yellow AB	22
	4	Yellow OB	61
	5	Tartrazine	640
	6	Sunset yellow FCF	-
	1	Guinea green B	666
	2	Light green SF ye - llowish	670
	3	Fast green FCF	-
	1	Brilliant blue FCF	-
Biru	1	Indigotin (indigo carmin)	1180
	2	Acid Violet 6 B	697
Ungu	1		

Sejalan dengan perkembangan dan kemajuan teknologi industri, penggunaan dan macam zat warna semakin banyak sehingga pada tahun 1966 " The Coloring Matter in Food Regulations " mengizinkan pewarna untuk makanan dengan masa berlaku tgl. 26 Juni 1967 sbb. :

Pewarna buatan

Pewarna buatan :

Amaranth

Black PN

Black 7984

Brown FK..

Carmoisine ..

Chocolate brown FB

Chocolate brown HT

Ponceau MX

Ponceau 4 R

Red 2 G

Red 6 B

Red 10 B

Red FB

Erythrosine BS.

Fast red E

Green S

Indigo carmine

Oil yellow XP

Orange G

Orange RN

Sunset yellow FCF

Tartrazine

Violet BNP

Yellow 2 G

Pewarna alam :

Caramel

Carmine

Pewarna dari tanaman :

- pewarna dari buah

- alkanet

- annato

- carotene

- chlorophyl

- flavine

- indigo

Beta-apo-8- carotenal

Xanthaaxanthin

Iron dioxide

Carbon black

Charcoal

Titanium dioxide

Ultramarine

- orchil

- persian berry

- safflower

- saffron

- sandalwood

- turmeric.

Di Indonesia pemakaian pewarna untuk makanan, baik yang diijinkan maupun yang dilarang, diatur oleh Departemen Kesehatan melalui Peraturan Menteri Kesehatan R.I. No. 235/Men.Kes/Per./VI/79 tentang Bahan Makanan Tambahan.

Daftar lengkapnya sebagai berikut :

* PEWARNA YANG DIJINKAN DIGUNAKAN DALAM MAKANAN

I. Pewarna alam

NO.	PEWARNA	NO. INDEKS WARNA (C.I.N.)	BATAS MAKSIMUM PENGGUNAAN
1.	Anato ; C.I. Natural orange 4	75120	Secukupnya
2.	Beta-apo-8-karotenal	-	- " -
3.	Etil-beta-apo-8-karotenoat	-	- " -
4.	Karamel	-	- " -
5.	Karoten ; C.I. Natural brown 5	75130	- " -
6.	Karmin ; C.I. Natural Red 5	75470	- " -
7.	Klorofil C.I. Natural green 3	75810	- " -
8.	Safron; C.I. Natural yellow 6	75100	- " -
9.	Santasantin	-	- " -
10.	Titanium Dioksida; C.I. pigment. white 6	77891	- " -
11.	Turmerik; C.I. Natural Yellow 3	75300	- " -

II. Pewarna Sintetik :

NO.	PEWARNA	NO. INDEKS WARNA (C.I.N.)	BATAS MAKSIMUM PENGGUNAAN
1.	Amaran; C.I. Food Red 9	16185	Secukupnya
2.	Biru berlian; C.I. Food blue 2	42090	- " -

3. Eritrosin

NO.	P E W A R N A	NO. INDEKS WARNA (CIN)	BATAS MAKSIMUM PENGGUNAAN
3.	Eritrosin; C.I. Food Red 14	45430	Secukupnya
4.	Hijau FCF; C.I. Food green 3	42053	- " -
5.	Hijau S; C.I. Food green 4	44090	- " -
6.	Indigotin; C.I. Food blue 1	73015	- " -
7.	Ponceau 4 R; C.I. Food Red 7	16255	- " -
8.	Kuning Kuinolin; C.I. Food Yellow 33	47005	- " -
9.	Kuning FCF; C.I. Food Yellow 3	15985	- " -
10.	Riboflovina	-	- " -
11.	Tartrazin; C.I. Food Yellow 4	19140	- " -

* PEWARNA YANG DILARANG DIGUNAKAN DALAM MAKANAN

NO.	N A M A	NO. INDEKS WARNA (CINo)
1.	Auramine (C.I. Basic yellow 2)	41000
2.	Butter Yellow (C.I. Polvent yellow 2)	11020
3.	Citrus Red No.2	12156
4.	Chrysoidine (C.I. Basic Orange 2)	11270
5.	Guinea Green B (C.I. Acid Green No3)	42085
6.	Magenta (C.I. Basic Violet 14)	42510
7.	Oil Orange SS (C.I. Solvent Orange 2)	12100
8.	Oil Orange XO (C.I. Solvent Orange 7)	12140
9.	Oil Yellow 4B (C.I. Solvent Yellow 5)	11380
10.	Oil Yellow OB (C.I. Solvent Yellow 6)	11390
11.	Ponceau 3 R (C.I. Red 6)	16155
12.	Ponceau SX (C.I. Food Red 1)	14700
13.	Sudan I (C.I. Solvent Yellow 14)	12055
14.	Rhodamine B (C.I. Food Red 15)	45170
15.	Metanil Yellow (IXT.D & C Yellow No.1)	13065

II. 3. TANAMAN KLUWAK (PANGIUM EDULE. R)

Kluwak (*Pangium edule. R*) termasuk keluarga FLACOURTIACEAE. Di daerah-2 lain di Indonesia dikenal nama-nama pucung, pangi, pakem, kepayang, kalowa, ngafu, hapesong dll. Pohonnya dapat mencapai ting- gi sampai 40 m. Di Jawa tumbuh sampai pada ketinggian 1000 m diatas permukaan laut, kebanyakan ditanam secara teratur didataran rendah. Musim berbuah jatuh pada permulaan musim hujan.

Biji kluwak telah sejak lama dikenal sebagai bumbu beberapa ma- sakan yang disukai penduduk. Di Jawa ada beberapa jenis masakan yang menggunakan bumbu kluwak seperti rawon di Jawa Timur, Brongkos di Jawa Tengah & kecap pangi didaerah Saparua. Didaerah Banten & Suma- tra Barat, Cincangan isi kluwak yang telah dijemur selama 2-3 hari digunakan untuk mengawetkan ikan laut dan dalam waktu 7 hari ikan tersebut masih tetap segar.

Biji kluwak mengandung asam Sianida (HCN) yang sangat beracun. Ra- cun ini dapat dihilangkan dengan cara sebagai berikut :

Buah+pucung matang yang jatuh sendiri dari pohon disimpan/dipen- dam dalam tanah atau dibiarkan diatas tanah selama 1 - 2 minggu hingga daging buahnya busuk. Isi buah (10 - 30 biji/puah) dike- luarkan, dimasak ± 2 jam (ditandai dengan cara kedalam masakan dimasukkan gabah sampai pecah). Setelah dingin biji-2 yang ber- warna putih & sangat beracun ini dipendam dalam abu didalam ke- ranjang/dalam tanah, dibiarkan selama 1½ - 2 bulan. Kemudian biji-2 tersebut yang kini berwarna coklat diambil, dicuci dan dijual kepasar sebagai kluwak.

B A B III

PERCOBAAN

Dalam penelitian ini dilakukan percobaan-percobaan meliputi :

1. Ekstraksi dengan penyari air, dengan variabel waktu pemanasan dan volume penyari.
2. Kristalisasi
3. Identifikasi pewarna menggunakan metoda kromatografi Lapis Tipis (K.L.T) & Kromatografi Kertas (K.K.)
4. Uji kadar HCN
5. Uji kestabilan warna coklat.

BAHAN BAKU

- Sebagai bahan dalam penelitian ini digunakan biji buah kluwak yang dijual dipasar.
- Pewarna pembanding : Karamel & Chocolate brown

BAHAN KIMIA

- Kiesel Gel G (type 60)
- Amilum
- NH_4OH
- NaCl
- Alkohol
- n-Butanol
- Asam Asetat Glasial
- Iso Butanol
- KCNS
- AgNO_3
- Ferry Ammonium Sulfat
- dll

ALAT - ALAT

- a. 1 set lengkap alat kromatografi Lapis Tipis, terdiri dari :

- Spreader

- Spreader
 - Mikro pipet
 - Lempeng kaca 20 x 20 cm
 - Holder
 - Bak pengembang (" development chamber ")
 - dll.
- b. 1 Set alat kromatografi kertas, terdiri dari :
- Kertas whatman no. 4
 - Mikro pipet
 - Bak pengembang
- c. Eksikator
- d. Oven
- e. Penangas air
- f. Alat-alat laboratorium lain.

II. 1. PERCOBAAN:1 : EKSTRAKSI DENGAN PENYARI AIR

Percobaan ini dilakukan dengan penyari air karena zat warna coklat dalam kluwak larut dalam air dan air sangat murah harganya dibandingkan jenis penyari yang lain (sangat praktis dan ekonomis).

CARA KERJA :

Biji kluwak yang sudah dicuci bersih dan dikeringkan dipecah kulitnya, isinya (daging biji) yang berwarna coklat tua diambil, dilumatkan lalu ditimbang (A g)

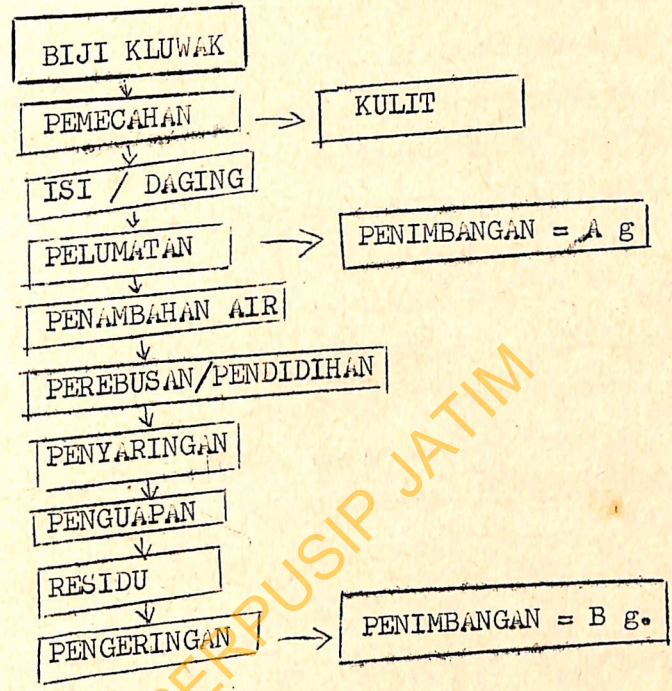
Daging biji dimasukkan kedalam erlenmeyer, dididihkan dengan air (volume tertentu : 10 x A ; 20 x A ; dan 30 x A) dalam waktu tertentu pula (5 menit ; 10 menit ; dan 15 menit).

Hasil rebusan disaring dengan kertas saring, cairan hasil saringan diupkan diatas penangas air, kemudian residu dokeringkan hingga bobot tetap (B g).

Kadar sari

Kadar sari larut dalam air = $\frac{B}{A} \times 100 \%$

SKEMA EKSTRAKSI.



III. 2. PERCOBAAN 2 : KRISTALISASI

Percobaan ini dimaksud untuk memperoleh hasil sari yang berwarna coklat kehitaman dijadikan kristal.

CARA KERJA :

Hasil pengeringan pada percobaan 1 berupa padatan agak lunak, berwarna coklat kehitaman, kemudian diperlakukan melalui 2 cara :

1. Dipanaskan dengan api bebas.
2. Dipanaskan dalam oven.

Hasil pemanasan dengan api bebas, ternyata menjadi gosong dan berbau karamel (gula terbakar). Sedangkan hasil pemanasan dengan oven dalam beberapa jam (2 - 3 jam), padatan menjadi kering dan keras. Tetapi setelah dingin dan didiamkan beberapa waktu menjadi agak lunak lagi (higroskopis), sehingga sukar dijadikan bentuk serbuk.

Ternyata

Ternyata setelah dianalisa padatan sari kluwak ini mengandung gula.

* Cara penetapan kadar gula sebagai berikut :

Padatan sari kluwak diatas ditimbang, dimasukkan kedalam labu takar 50 ml + air secukupnya (25 ml) + 3 ml HCl 25 %. Labu takar dipanaskan dalam penangas air pada suhu 68° - 70° C selama 10 menit. Didinginkan dengan air mengalir. Cairan dinetralkan dengan NaOH 30 % dengan indikator p.p. ; Kemudian diencerkan dengan air sampai 50 ml. Dikocok ber-ulang-2 sampai homogen. Dipipet 10,0 ml larutan tersebut kedalam erlenmeyer 250 ml + 15 ml H_2O + 25,0 ml larutan standar BUFF + beberapa butir batu didih, dipanaskan dengan api kecil selama \pm 2 menit, kemudian dididihkan selama 10 -

menit. Didinginkan dengan air mengalir + 10 - 15 ml larutan KJ 30 % + 25 ml H_2SO_4 25 % (penambahan asam dilakukan pelan-pelan melalui dinding gelas ukur). Kemudian dititrasi dengan larutan baku Tio 0,1 N menggunakan indikator larutan kanji 0,5 % (misalnya diperlukan a ml larutan baku Tio). Dikerjakan blangko : 25 ml H_2O + 25,0 ml larutan Luff dan seterusnya dikerjakan seperti diatas (misalnya diperlukan b ml larutan Tio).

PERHITUNGAN.

(b - a) ml adalah jumlah larutan Tio 0,1 N yang dipergunakan oleh contoh Kemudian dicari dalam Daftar Penetapan Sakar menurut Luff School beberapa mg Sakar (gula) yang setara.

$$\text{Kadar gula (sakar)} = \frac{\text{berat gula (dari daftar x pengenceran)}}{\text{berat contoh}} \times 100 \%$$

III. 3. PERCOBAAN 3 : IDENTIFIKASI PEWARNA.

a. Dengan metoda kromatografi Lapis Tipis :

CARA KERJA :

- Pembuatan Lapisan Tipis :

Dibuat

Dibuat larutan kanji 0,5 % dalam air sebanyak 70 g + 30 g Kiesel gel G type 60, dicampur sama rata, kemudian dimasukkan kedalam spreader dan dilapiskan pada lempeng kaca ukuran 20 x 20 cm setebal 0,25 mm. Lapisan pada kaca dikeringkan pada suhu kamar, kemudian diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 120°C selama 30 menit. Lapisan Tipis diambil dari oven, didinginkan dalam eksikator. Lapisan ini siap untuk digunakan.

- Penotolan pewarna :

2 - 5 mikroliter larutan pewarna dalam air ditotolkan pada jarak 2 cm dari tepi lempeng kaca. Dijaga jangan sampai totolan terlalu melebar (diameter cukup ± 0,3 cm). Ulangi pekerjaan ini setelah totolan pertama kering, sampai didapatkan noda yang jelas & kering. Sebagai pembanding ditotolkan dengan jarak 1,5 - 2 cm dari tempa totolan pertama pewarna coklat yang lain yaitu karamel (pewarna alam) dan CHOCOLATE BROWN (pewarna buatan).

- ELUASI PEWARNA :

Jauh sebelumnya disiapkan bak pengembang ("development chamber") yang telah dijenuhi uap eluen (cairan penyari). Caranya, kedalam bak pengembang dimasukkan cairan eluen ± 1 - 1,5 cm dari dasar bak, sehingga nanti tidak mengenai noda totolan pada lempeng kaca. Dinding bak pengembang dilapisi kertas saring basah eluen agar cepat jenuh, kemudian ditutup rapat.

Lempeng lapisan tipis dengan noda pewarna yang sudah kering dimasukkan kedalam bak pengembang yang telah jenuh uap eluen, dieluasi dengan teknik "Ascending" (menaik) sepanjang 6 - 7 cm.

Lapisan diambil dan dikering udarakan. Setelah ditetapkan lokasi noda yang terjadi, lalu dihitung Rf nya & dibandingkan Rf pembanding.

$$Rf = \frac{\text{Jarak perambatan zat yang dipisahkan}}{\text{Jarak perambatan zat penyari (eluen)}}$$

Sebagai

Sebagai eluen digunakan larutan-larutan dibawah ini :

1. NH_4OH : air = 1 : 1
2. Larutan NaCl 25 % dalam air.
3. " NaCl 25 % dalam alkohol 50 %
4. n Butanol : alkohol : air = 1 : 2 : 1
5. n Butanol : alkohol : Asam Asetat glasial = 20 : 12 : 5
6. n Butanol : alkohol : air = 4 : 1 : 1.
7. Phenol : alkohol : air = 40 : 25 : 40.

b. Dengan Metoda Kromatografi Kertas :

Digunakan kertas whatman no. 4, dipotong persegi empat memanjang.

Cara Kerja :

2 - 5 mikroliter larutan pewarna kluwak dalam air, ditotolkan pada jarak 2 cm dari tepi kertas. Setelah didapat noda yang cukup tebal dan kering, kertas dimasukkan kedalam bak pengembang yang telah dijenuhi uap cairan eluen. Dieluasi dengan teknik menaik ("Ascending") sepanjang 6 - 7 cm. Kertas diambil dan dikering udarakan.

Dengan cara yang sama, dikerjakan sebagai pembanding pewarna karamel dan chocolate brown.

Setelah ditetapkan lokasi noda yang terjadi lalu dihitung Rfnya.

Eluen yang dipakai sama seperti pada cara kromatografi Lapis Tipis.

III. 4. PERCOBAAN : UJI KADAR HCN.

Karena HCN merupakan racun yang sangat berbahaya dan terkandung dalam biji kluwak yang belum mengalami pengolahan, maka perlu diuji kandungan HCN pada sari kluwak yang telah mengalami pengolahan.

Cara Uji :

10 - 20 sari kluwak dimasukkan labu Kjeldahl + 100 ml air, didiamkan pada suhu kamar selama 2 jam. Ditambah 100 ml air, disuling uap. Destilat yang keluar ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 20 ml 0,02 N AgNO_3 yang diasamkan dengan 1 ml HNO_3 pekat (ujung pipa bengkok masuk kedalam larutan AgNO_3 dalam erlenmeyer).

Setelah

Setelah destilat keluar, 150 cc, disaring melalui penyaring Gooch, dicuci dengan sedikit air. Kelebihan AgNO_3 dititrasi dengan larutan 0,02 N KCNS menggunakan indikator Ferri Aluminium sulfat
1 mL AgNO_3 0,02 N setara dengan 0,54 mg HCN.

III.5. PERCOBAAN 5 : UJI KESTABILAN WARNA COKLAT :

Dalam percobaan ini dikerjakan dua tahap pengujian yaitu :

- a. Kelarutan sari kluwak dalam berbagai pelarut seperti : air; alkohol 95% 40% ; 15 %; Asam (HCl); basa (NaOH); aseton; piridin; benzen; toluen; xylene; eter; etil asetat; khloroform; n-heksan.
- b. Kestabilan warna dalam suasana asam, netral, basa dan dalam sirup, anggur serta minuman keras.

DISPERPUSIP JATIM

B A B IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. 1. PERCOBAAN 1.

Hasil ekstraksi daging biji buah kluwak dengan penyari air sebanyak 10 x 20 x dan 30x bobot bahan dengan pemanasan/pendidihan selama 5 menit, 10 menit dan 15 menit tertera dalam tabel berikut :

Tabel 1 : Hasil ekstraksi dengan penyari air 10 x bobot bahan(%)

WAKTU PENDIDIHAN	U L A N G A N			RATA-2	JUMLAH
	1	2	3		
5 menit	13,30	15,79	15,00	14,70	44,09
10 menit	15,56	15,00	16,90	16,82	47,46
15 menit	20,50	19,50	19,69	19,23	59,69
					151,24

Dari analisis keragaman hasil ekstraksi dengan penyari air sebanyak 10 kali bobot daging biji buah kluwak terlihat bahwa pengaruh lama pendidihan sangat nyata (F hitung > F tabel), dimana makin lama pendidihan makin besar hasil ekstraksinya.

Tabel 2 : Analisis keragaman hasil ekstraksi 10 x bobot bahan

SUMBER KERAGAMAN	DERAJAT BEBAS	JUMLAH KWADRAT	KWADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL 5%
Perlakuan	2	44,9211	22,4606	**	10,92
Kesalahan	6	5,7086	0,9514		
T o t a l	8	50,6297			

Berbeda sangat nyata

Tabel 3 : Hasil ekstraksi dengan penyari air 20 x bobot bahan (%)

WAKTU PENDIDIHAN	U L A N G A N			RATA-RATA	JUMLAH
	1	2	3		
5 menit	30,00	28,00	27,50	28,50	86,50
10 menit	35,70	34,75	33,72	34,72	104,17
15 menit	20,00	21,00	22,29	21,10	63,29
					253,96

Dari analisis keragaman hasil ekstraksi dengan penyari air sebanyak 20 x bobot daging biji buah kluwak (tabel 4), terlihat bahwa pengaruh lama pendidihan sangat nyata (F hitung > F tabel), dimana pada pendidihan selama 10 menit didapatkan hasil paling besar (34,72%), sedang pada pendidihan selama 15 menit hasilnya justru menurun menjadi 21,10 %/

Tabel 4 : Analisis keragaman hasil ekstraksi 20 x bobot bahan

SUMBER KERAGAMAN	DERAJAT BEBAS	JUMLAH KWADRAT	KWADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL 5 %
Perlakuan	2	280,2339	140,1170	**	10,92
Kesalahan	6	6,7644	1,1274	124,2883	
T o t a l	8	286,9983			

** Berbeda sangat nyata

Tabel 5 : Hasil ekstraksi dengan penyari air 30 x bobot bahan (%)

WAKTU PENDIDIHAN	U L A N G A N			RATA-RATA	JUMLAH
	1	2	3		
5 menit	25,80	26,00	25,70	25,83	77,50
10 menit	14,10	16,00	15,00	15,03	45,10
15 menit	14,29	15,80	13,30	14,46	43,39
					165,99

Dengan demikian pewarna ini dapat dipakai dalam minuman, tetapi harus diuji dahulu kestabilan warnanya dalam minuman tersebut seperti pada percobaan berikut.

- b. Hasil uji kestabilan warna coklat dalam suasana asam, netral, basa dalam, dalam minuman anggur dan minuman keras sebagai berikut :

Tabel 5 : Kestabilan warna coklat dalam berbagai media & suasana.

SUASANA / MEDIA	PENGAMATAN HARI KE :	PERUBAHAN WARNA	KETERANGAN
Asam (pH 2,5)	5	Coklat Coklat muda kekuningan	Berubah
Netral (pH 7)	60	Coklat Coklat	Tetap/stabil
Basa (pH 10)	8	Coklat Coklat kekuningan	Berubah
Minuman anggur (alkohol \pm 15 %)	22	Coklat Coklat kekuningan	Berubah
Minuman Whyski (alkohol \pm 40 %)	15	Coklat Coklat kekuningan	Berubah
Sirup (pH 2,5)	5	Coklat Coklat kekuningan.	Berubah

Ternyata warna coklat dari biji buah blewah hanya stabil dalam suasana netral. Dalam suasana asam, basa dan media minuman anggur, whyski maupun sirup beberapa waktu kemudian mengalami perubahan.

Dari analisis keragaman hasil ekstraksi dengan penyari air sebanyak 30 x bobot daging biji buah kluwak (tabel 6) terlihat bahwa pengaruh lama-lama pendidihan sangat nyata (F hitung > F tabel), dimana makin lama pemanasan hasil ekstraksi malah semakin turun.

Tabel 6 : Analisis keragaman hasil ekstraksi 30 x bobot bahan.

SUMBER KERAGAMAN	DERAJAT BEBAS	JUMLAH KWADRAT	KWADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL
Perlakuan	2	246,2419	123,1210	**	10,92
Kesalahan	6	5,0234	0,8372		
T o t a l	8	251,2653			

** Berbeda sangat nyata

** Berbeda sangat nyata.

IV.2. Percobaan 2 : Kristalisasi.

Percobaan kristalisasi hasil penyarian dengan pelarut air mengalami kesulitan sebab didalam hasil sari terkandung gula sehingga sukar dikeringkan karena bersifat higroskopis. Kadar kandungan gula dapat dilihat dalam tabel berikut :

Tabel 2 : Kadar gula dalam sari kluwak.

Waktu Pen didihan	P e n g e n c e r a n											
	10 x				20 x							
	Rata-2 (%)		Rata-2 (%)		Rata-2 (%)		Rata-2 (%)					
	Kadar gula (%)											
5 menit	8,17	6,28	8,20	7,55	11,37	11,01	10,80	11,06	24,60	24,68	24,97	24,73
10 menit	9,94	11,13	9,71	10,26	21,11	19,69	19,13	19,98	9,48	9,92	9,47	9,62
15 menit	7,43	8,06	7,98	7,82	5,71	5,07	6,39	5,72	6,86	7,33	7,73	7,31

Kadar

Kadar gula dalam sari kluwak yang berkisar antara 5,72 - 24,73 % cukup menyulitkan usaha mengubah sari kluwak yang berupa padatan coklat ke - hitaman agak lunak untuk dijadikan bentuk kristal/puder.

IV.3. Percobaan 3 : Identifikasi pewarna.

Warna coklat dari sari kluwak diidentifikasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kertas (K.K.). Oleh karena dalam sari kluwak terkandung gula, maka sebagai pembanding digunakan pewarna yang berasal dari gula yaitu karamel dan disamping - itu juga dibandingkan dengan pewarna coklat lain yang merupakan pewarna buatan yaitu Chocolate Brown. Rf pewarna kluwak karamel dan Chocolate Brown tertera dalam tabel berikut :

Tabel 3 : Rf Pewarna Kluwak, Karamel & Chocolate Brown.

Eluen No. :	Kluwak		Karamel		Chocolate Brown	
	K.K.	K.L.T.	K.K.	K.L.T.	K.K.	K.L.T.
1.	1	1	1	1	b = 1 m.c. = 0	b = 1 m.c. = 0
2.	1 (berekor)	1 (berekor)	0	0	b : berekor m.c. : 0	b : berekor m.c. : 0
3.	1 (berekor)	1 (berekor)	1 (berekor)	1 (berekor)	b = 1 m.c = 0	b = 1 m.c : 0
4.	0	0	0	0	b = 0,83 m.c = 0,52 (berekor)	b = 0,83 m.c = 0,52 (berekor)
5.	0	0	0	0	b = 0,44 m = 0,26 c = 0,20	b = 0,44 m = 0,26 c = 0,20
6.	0	0	0	0	b = 0,12 mc = 0,07	b = 0,12 m.c = 0,07
7.	0,64	0,64	0,64	0,64	b = 0,65 m.c = 0,91	b = 0,65 m.c = 0,91

Dari tabel 3.

Dari tabel 3 terlihat bahwa harga Rf pewarna kluwal dalam berbagai eluen ternyata sama dengan harga Rf pewarna karamel, baik dengan menggunakan Kromotografi kertas maupun dengan Kromotografi lapis tipis.

Kemungkinan besar ini disebabkan karena dari kedua pewarna tersebut Pewarna Karamel juga dibuat dari gula.

Pewarna buatan Chocolate Brown ternyata mempunyai Rf yang sama dengan diri dari Brilliant Blue B2 yang merupakan pewarna sintesis.

yang berwarna merah (a) dan (b) yang berwarna merah (c).

Dengan eluen umum (12 : 5) kromatografi lapis tipis

DISPERPUSIP JATIM

Dari tabel 3 terlihat bahwa harga Rf pewarna kluwak dalam berbagai eluen ternyata sama dengan harga Rf pewarna karamel, baik dengan menggunakan Kromotografi Kertas maupun dengan Kromotografi Lapis Tipis.

Kemungkinan besar ini disebabkan karena sari kluwak mengandung gula. Pewarna Karamel juga dibuat dari gula.

Pewarna buatan Chocolate Brown ternyata merupakan warna campuran, terdiri dari Brilliant Blue FCF yang berwarna biru (b), Chlorazal Pink Y yang berwarna merah (m) dan Chocolate Brown HT yang berwarna coklat (c).

Dengan eluen campuran n Butanol : Alkohol : Asam Asetat Glasial (20 : 12 : 5) ketiga-tiganya dapat dipisahkan. Tetapi dengan beberapa eluen lain warna merah dan coklat masih belum terpisahkan (periksa tabel 3).

IV.4. Percobaan 4 : Uji Kadar HCN.

Hasil pengujian kadar HCN terhadap sari kluwak yang telah mengalami perlakuan dipendam dalam abu selama $1\frac{1}{2}$ - 2 bulan dan dipanaskan tertera dalam tabel berikut ini :

Tabel 4. Kadar HCN.

Pengenceran	Kadar HCN		
	waktu : pendidihan		
	5 menit	10 menit	15 menit
10 x	negatif	negatif	negatif
20 x	negatif	negatif	negatif
30 x	negatif	negatif	negatif

Dari tabel

Dari tabel diatas terlihat bahwa isi/daging biji buah kluwak dari pasaran, setelah dididihkan selama 5 menit dengan air 10 x bobot isi/ - daging biji buah kluwak ternyata sudah tidak mengandung HCN. Hal ini sangat penting guna menjamin keamanan konsumen.

Sebagai perbandingan, uji terhadap isi biji buah kluwak yang belum mengalami perlakuan dipendam dalam abu selama 1½ - 2 bulan, biji kluwak masih berwarna putih, ternyata mengandung HCN sebesar 1469,25 ppm. Jelas ini sangat berbahaya bagi kesehatan manusia, karena HCN merupakan racun yang sangat kuat.

V.5. Percobaan 5 : Uji Kestabilan Warna Coklat.

a. Hasil uji kelarutan sari kluwak dalam berbagai pelarut adalah sbb :

Pelarut :	Dingin :	Panas :
Air	larut	larut
Alkohol 95%	tidak larut	tidak larut.
Alkohol 40 %	larut	larut
Alkohol 15 %	larut	larut
Asam (HCl)	larut	larut
Basa (NaOH)	larut	tidak larut
Pyridin	tidak larut	tidak larut
Bensena	tidak larut	tidak larut
Toluena	tidak larut	tidak larut
Vylene	tidak larut	tidak larut
Etil Asetat	tidak larut	tidak larut
Chloneform	tidak larut	tidak larut
n - Hexan	tidak larut	-
Eter	tidak larut	-

Dari hasil kelarutan diatas terlihat bahwa pewarna coklat dari biji kluwak tidak larut dalam pelarut organik, tetapi larut dalam air, campuran alkohol & air, asam & basa.

Dengan demikian

B A B V.

KESIMPULAN DAN SARAN

V. 1. KESIMPULAN.

Dari percobaan penelitian yang telah dikerjakan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstraksi dengan penyari air sebanyak 20 kali bobot daging biji buah kluwak dengan pendidihan selama 10 menit memberikan hasil optimum sebesar 34,72 %.
2. Isolasi zat warna coklat dari daging biji buah kluwak untuk dijadikan bentuk serbuk/puder mengalami kesulitan karena didalamnya mengandung gula antara 5,72 - 24,73 %, sehingga sukar dikeringkan.
3. Hasil identifikasi dengan kromatografi kertas dan Lapis Tipis menunjukkan bahwa zat warna coklat dalam biji kluwak identik dengan karamein.
4. Pewarna coklat dari biji buah kluwak dapat digunakan dalam industri makanan, karena setelah melalui proses pengolahan kandungan HCN dapat dieliminir.
5. Warna coklat dari biji kluwak stabil dalam suasana netral.

V. 2. S A R A N.

1. Penggunaan pewarna coklat dari biji kluwak untuk industri makanan.
2. Membudi dayakan tanaman kluwak (Pangium edule R)
3. Meneliti tentang manfaat lain dari biji buah kluwak, misalnya sebagai sumber minyak makan nabati dan pengawet daging.

B . B VI.

D A F T A R P U S T A K A

1. ANONYMOUS : Association of Official Agricultural Chemists, 10th Edition, A.O.A.C. Washington D.C. 1965.
 2. HEYNE K : De Nuttge Planten Van Indonesic, Deel I, 3^e druk, N.V. Uitgeverij W, Bandung, 1950.
 3. JACOBS M.E : The Chemistry and Technology of Food and Food Products, Vol I, 2nd Edition. Interscience Publisher Inc, New York, 1951.
 4. LEDERER E. & M. : Chromatography, 2nd Edition, Japan Publications Trading Co, Tokyo, 1961.
 5. NURKAMARI : Identifikasi Zat Warna Makanan dengan menggunakan K.L.T., B.P.K. Surabaya. Departemen Perindustrian, 1979.
 6. PEARSON D : The Chemical Analysis of Foods, 6th Ed, Chemical Publishing Co. Inc, New York, 1970.
 7. SOEWADJI Dkk : Inventarisasi Tanaman yang menghasilkan zat warna guna keperluan industri minuman dll, B.P.K. Semarang, Departemen Perindustrian, 1980.
-

Lampiran.

D A F T A R
PENETAPAN SAKAR MENURUT LUFF-SCHOORL.

ml tio	Glukose		Galaktose		Laktose		Maltose	
1	2,4	2,4	2,7	2,8	3,6	3,7	3,9	3,9
2	4,8	2,4	5,5	2,8	7,3	3,7	7,8	3,9
3	7,2	2,5	8,3	2,9	11,0	3,7	11,7	3,9
4	9,7	2,5	11,2	2,9	14,7	3,7	15,6	4,0
5	12,2	2,5	14,1	2,9	18,4	3,7	19,6	3,9
6	14,7	2,5	17,0	3,0	22,1	3,7	23,5	4,0
7	17,2	2,6	20,0	3,0	25,8	3,7	27,5	4,0
8	19,8	2,6	23,0	3,0	29,5	3,7	31,5	4,0
9	22,4	2,6	26,0	3,0	33,2	3,8	35,5	4,0
10	25,0	2,6	29,0	3,0	37,0	3,8	39,5	4,0
11	27,6	2,6	32,0	3,0	40,8	3,8	43,5	4,0
12	30,0	2,7	35,0	3,1	44,6	3,8	47,5	4,1
13	33,0	2,7	38,1	3,1	48,4	3,8	51,6	4,1
14	35,7	2,7	41,2	3,2	52,2	3,8	55,7	4,1
15	38,5	2,8	44,4	3,2	56,0	3,9	59,8	4,1
16	41,3	2,8	47,6	3,2	59,9	3,9	63,9	4,1
17	44,2	2,9	50,8	3,2	63,8	3,9	68,0	4,1
18	47,1	2,9	54,0	3,3	67,7	4,0	72,2	4,2
19	50,0	2,9	57,3	3,4	71,7	4,0	76,5	4,3
20	53,0		60,7		75,7	4,1	80,9	4,4

Lanjutan lampiran.

ml tio	Glukosa	Galaktosa	Laktosa	Maltosa
21	59,1 3,1	67,7 3,6	33,9 4,1	90,0 4,6
22	56,0 3,0	64,2 3,5	79,8 4,1	85,4 4,6
23	62,2	71,3	88,0	94,6

Mengenal Luff 25 g bereaksi, dilarutkan dalam lk 100 ml air. 50 g asam sitrat dilarutkan dalam 50 ml air 388 soda ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) dilarutkan dalam lk 400 ml air. Larutan asam sitrat ditambahkan sedikit demi sedikit pada larutan soda, lalu larutan itu dicampuri larutan terus dan diencerkan sampai 1000 ml.

Penetapan : 25 ml Luff = 25 ml larutan dipanaskan sampai mendidih dan lalu dididihkan terus 10 menit lamanya.