

**PEMANFAATAN EKSTRAK BUAH MURBEI (*Morus alba* L.) SEBAGAI INDIKATOR
ASAM-BASA ALTERNATIF PENGGANTI *PHENOLPHTHALEIN*
PADA ANALISIS KEASAMAN *CRUDE PALM OIL* (CPO)**

**Utilization of Mulberry Fruit (*Morus alba* L.) Extract as an Alternative Acid-Base Indicator
Replacing Phenolphthalein in Crude Palm Oil (CPO) Acidity Analysis**

Erwin*, Mursalin, Mursyid

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.
Email: erwin.halim.17@gmail.com

ABSTRAK

Buah murbei (*Morus alba* L.) mengandung antosianin yang berpotensi digunakan sebagai indikator asam-basa alternatif pengganti *phenolphthalein* pada analisis keasaman *Crude Palm Oil* (CPO). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak buah murbei sebagai indikator asam-basa alternatif dalam penentuan keasaman CPO. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan: indikator *phenolphthalein* 1% (kontrol) dan 4 variasi rasio bahan:pelarut (1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5) dengan pelarut HCl 0,1% (v/v) dalam metanol menggunakan metode sokletasi. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan independen, sehingga diperoleh 15 satuan percobaan. Parameter yang diamati meliputi kadar total antosianin, titrasi asam-basa, pH, dan warna. Data dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf 5%, jika berpengaruh nyata dilanjutkan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rasio bahan:pelarut berpengaruh terhadap volume akhir titrasi CPO. Ekstrak buah murbei rasio 1:2 merupakan perlakuan terbaik dengan kadar total antosianin sebesar 429,23 mg/L dan menunjukkan efektivitas yang tidak berbeda nyata dengan indikator *phenolphthalein* ($p > 0,05$), dengan perubahan warna dari kuning cerah menjadi kuning kehijauan dalam penentuan keasaman CPO.

Kata Kunci – Antosianin, Ekstrak Buah Murbei, Indikator Asam-Basa, Keasaman CPO

ABSTRACT

Mulberry (*Morus alba* L.) contains anthocyanins that have the potential to be used as an alternative acid-base indicator to replace phenolphthalein in the acidity analysis of Crude Palm Oil (CPO). This study aimed to evaluate the effectiveness of mulberry fruit extract as an alternative acid-base indicator in determining CPO acidity. This study employed a Completely Randomized Design (CRD) with five treatments: 1% phenolphthalein indicator (control) and four variations of material-to-solvent ratios (1:2, 1:3, 1:4, and 1:5) using 0.1% HCl (v/v) in methanol as the solvent through the Soxhlet extraction method. Each treatment was replicated three times independently, resulting in 15 experimental units. The parameters observed included total anthocyanin content, acid-base titration, pH, and color. Data were analyzed using ANOVA at a 5% significance level, followed by DMRT if significant. The results showed that the material-to-solvent ratio significantly affected the CPO titration volume. The mulberry fruit extract at a 1:2 ratio was the best treatment, with a total anthocyanin content of 429.23 mg/L, exhibiting effectiveness not significantly different from the phenolphthalein indicator ($p > 0.05$), with a color change from vivid yellow to yellowish-green in determining CPO acidity.

Keywords – Acid-Base Indicator, Anthocyanin, CPO Acidity, Mulberry Fruit Extract

PENDAHULUAN

Crude palm oil (CPO) atau minyak kelapa sawit mentah merupakan salah satu komoditas penting dalam industri pangan maupun non-pangan di Indonesia. Salah satu parameter penentu mutu CPO adalah kadar asam lemak bebas (ALB) atau keasaman (*acidity*). Analisis keasaman CPO umumnya dilakukan dengan metode titrasi asam-basa menggunakan indikator sintesis *phenolphthalein* atau dikenal sebagai indikator PP. Berdasarkan SNI 9331:2024, Pasal 5 (Pereaksi), Butir 5.6, Catatan 1, *phenolphthalein* diklasifikasikan sebagai zat karsinogenik, mutagenik, dan beracun untuk reproduksi (CMR) serta sebaiknya hanya digunakan ketika tidak ada alternatif lain yang tersedia. Alternatif

seperti *thymolphthalein* dan *alkali blue* 6B yang berisiko lebih rendah masih sulit ditemukan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif indikator asam-basa lain yang berasal dari senyawa alami, seperti antosianin yang aman dan ramah lingkungan (Rymbai, Sharma, & Srivastav, 2011; Riniati, Widyabudiningsih, & Sularasa, 2020).

Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid yang memberikan warna dan larut dalam air (polar). Senyawa ini banyak ditemukan pada buah, daun, akar, dan bagian tanaman lainnya (Mohammed & Khan, 2022). Penggunaan antosianin sebagai indikator asam-basa alami telah diteliti pada berbagai bahan alami, seperti buah murbei (*Morus alba* L.) (Ekowati, 2009) dengan kadar antosianin sebesar 1993 mg/100 g (Winata & Yunianta, 2015), bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) (Fitri & Fikroh, 2021) dengan kadar antosianin sebesar 143,49 mg/L (Pham *et al.*, 2019), kubis ungu (*Brassica oleracea*) (Riniati, Widyabudiningsih, & Sularasa, 2020) dengan kadar antosianin sebesar 62,94 mg/100 g (Demirdöven, Özdoğan, & Erdoğan-Tokatlı, 2015), dan kulit buah naga (*Hylocereus costaricensis*) (Meganingtyas & Alauhdin, 2021) dengan kadar antosianin sebesar 1,1 mg/100 g (Citramukti, 2008). Pada buah murbei, jenis antosianin utama yang terkandung adalah sianidin-3-O-glukosida, diikuti oleh sianidin-3-O-rutinosida (Chen *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa ini memengaruhi sensitivitas terhadap pH dan perubahan warna (Torskangerpoll & Andersen, 2005; Riniati, Widyabudiningsih, & Sularasa, 2020). Pada pH asam, antosianin buah murbei berwarna merah, sedangkan pada pH basa, warna antosianin berubah menjadi hijau tua (Mahmud, Ihwan, & Jannah, 2018).

Berdasarkan penelitian Ekowati (2009), ekstrak buah murbei memberikan hasil yang sebanding dengan indikator *phenolphthalein* pada titrasi asam lemah (CH_3COOH) dan basa kuat (NaOH), disertai perubahan warna dari merah muda menjadi hijau. Hal ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak buah murbei memberikan titik ekuivalen yang sama atau sangat dekat dengan indikator standar *phenolphthalein* berdasarkan volume titrasi pada berbagai jenis titrasi asam-basa (Pathade, Patil, Kondawar, Naikwade, & Magdum, 2009; Mahmud, Ihwan, & Jannah, 2018). Namun, penelitian mengenai penerapan ekstrak buah murbei sebagai indikator alami pada analisis kadar keasaman CPO secara langsung masih sangat terbatas. Oleh karena itu, ekstrak buah murbei berpotensi digunakan sebagai indikator asam-basa alternatif dalam penentuan keasaman CPO.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa antosianin dari ekstrak buah murbei sebagai indikator asam-basa alternatif pengganti *phenolphthalein* dalam analisis keasaman CPO. Parameter yang digunakan untuk membandingkan ekstrak buah murbei dengan *phenolphthalein* meliputi volume titrasi (titran), pH pada titik akhir titrasi, dan perubahan warna indikator. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak buah murbei sebagai indikator alami berbasis antosianin dalam penentuan keasaman CPO.

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah murbei, metanol teknis, etanol 95%, KOH (p.a.), *phenolphthalein* (p.a.), KCl (p.a.), HCl 37% (p.a.), HCl 0,1 N, *aquades*, natrium asetat (p.a.), asam oksalat (p.a.), dan CPO. Alat yang digunakan adalah timbangan analitik (RADWAG AS 220.R2 PLUS), tabung soklet, kondensor spiral, labu leher tiga, kertas saring, gelas ukur, *hot mantle*, buret, labu Erlenmeyer, labu volumetrik, corong, *magnetic stirrer*, gelas beaker, klem, pipet tetes, statif, kuvet, dan wadah sampel. Alat pendukung berupa termometer, pH meter (Martini Instruments Mi 150), mikropipet, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 20), *color box* (*light box*), dan *rotary evaporator* (Heidolph Hei-VAP Core).

B. Pelaksanaan Penelitian

1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu rasio bahan:pelarut (b/v) pada ekstrak buah murbei, dengan 5 perlakuan yang terdiri dari indikator *phenolphthalein* 1% sebagai kontrol dan 4 variasi rasio bahan:pelarut (buah murbei:HCl 0,1% (v/v) dalam metanol) pada pembuatan ekstrak buah murbei menggunakan metode sokletasi. Kelima perlakuan dianalisis menggunakan ANOVA dan uji DMRT untuk parameter titrasi asam-basa dan pH pada titik

akhir titrasi. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 15 satuan percobaan dengan perlakuan:

- P0 = Indikator *phenolphthalein* 1% (kontrol)
P1 = Buah murbei:HCl 0,1% dalam metanol (1:2)
P2 = Buah murbei:HCl 0,1% dalam metanol (1:3)
P3 = Buah murbei:HCl 0,1% dalam metanol (1:4)
P4 = Buah murbei:HCl 0,1% dalam metanol (1:5)

2. Pembuatan Indikator Alami Berbasis Antosianin

Ekstraksi dilakukan dengan metode sokletasi. Buah murbei dipotong-potong kecil dengan ukuran ± 1 cm, kemudian ditimbang sebanyak 50 gram untuk setiap perlakuan, yaitu rasio 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5. Selanjutnya, buah murbei dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat soklet, kemudian ditambahkan pelarut HCl 0,1% (v/v) dalam metanol sebagai volume awal sesuai perlakuan, yaitu untuk rasio 1:2 sebanyak 100 mL, rasio 1:3 sebanyak 150 mL, rasio 1:4 sebanyak 200 mL, dan rasio 1:5 sebanyak 250 mL. Setelah itu, proses ekstraksi dilakukan selama 2 jam (± 15 siklus) pada suhu 68°C yang diadaptasi dari metode penelitian Riniati, Sularasa, & Febrianto (2019) untuk ekstraksi senyawa antosianin pada metode sokletasi. Selanjutnya, pelarut dihilangkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak siap digunakan sebagai indikator alami (Riniati, Widyabudiningsih, & Sularasa, 2020).

C. Analisis Parameter Penelitian

1. Kadar Total Antosianin (Rista, Nurul, & Syaiful, 2017)

Pengujian kadar total antosianin dilakukan menggunakan metode *pH differential* yang diawali dengan pembuatan larutan *buffer*, yaitu *buffer* pH 1 dibuat dengan menimbang KCl sebanyak 1,49 gram yang dilarutkan dalam 100 mL *aquades*, kemudian diteteskan dengan HCl 37% hingga tercapai pH 1 yang diukur menggunakan pH meter. Selanjutnya, larutan *buffer* pH 4,5 dibuat dengan menimbang natrium asetat sebanyak 1,64 gram yang dilarutkan dalam 100 mL *aquades*, kemudian diteteskan dengan HCl 37% hingga tercapai pH 4,5.

Setelah itu, sampel ekstrak sesuai perlakuan dilarutkan dalam *buffer* pH 1 dan *buffer* pH 4,5 dengan perbandingan ekstrak terhadap *buffer* adalah 1:15 (v/v). Masing-masing larutan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm, yang merupakan panjang gelombang serapan maksimum ($\lambda_{\text{vis-max}}$) untuk sianidin-3-O-glukosida dalam *buffer* pH 1,0 (Jurd & Asen, 1966; Giusti & Wrolstad, 2001). Pemilihan panjang gelombang tersebut didasarkan pada jenis antosianin utama yang terkandung dalam buah murbei (*Morus alba* L.) yaitu sianidin-3-O-glukosida (Chen *et al.*, 2022) dan pada panjang gelombang 700 nm untuk koreksi (Giusti & Wrolstad, 2001). Nilai absorbansi dihitung dengan rumus:

$$A = (A_{510 \text{ nm pH } 1} - A_{700 \text{ nm pH } 1}) - (A_{510 \text{ nm pH } 4,5} - A_{700 \text{ nm pH } 4,5}) \dots\dots\dots (1)$$

Setelah diketahui nilai absorbansinya, nilai tersebut dimasukkan dalam perhitungan kadar total antosianin dengan rumus:

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000}{\epsilon \times l} \dots\dots\dots (2)$$

Kadar total antosianin dalam ekstrak dinyatakan dalam satuan mg/L (miligram per liter ekstrak).

Keterangan:

- A = Nilai absorbansi
BM = Berat molekul sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)
FP = Faktor pengenceran (16 kali)
 ϵ = Absorptivitas molar sianidin-3-O-glukosida (26.900 L/mol·cm)
l = Panjang jalur kuvet (1 cm).

2. Titrasi Asam-Basa (Erwin, Nur, & Panggabean, 2016 dimodifikasi)

HCl 0,1 N sebanyak 5 mL dimasukkan dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambah indikator *phenolphthalein* 1% sebanyak 0,15 mL dan dihomogenkan. Setelah itu, dititrasi dengan larutan standar KOH 0,1 N dan dicatat volume titran (KOH 0,1 N) sesuai titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi merah muda. Diulangi langkah titrasi tersebut menggunakan ekstrak buah murbei sebagai indikator sesuai perlakuan dengan titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi biru kehijauan (*cyan*) (Horbowicz, Kosson, Grzesiuk, & Dębski, 2008). Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter setelah titrasi untuk mengetahui pH pada titik akhir titrasi pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan hasil titrasi asam-basa keempat ekstrak buah murbei menggunakan sampel HCl 0,1 N, dilakukan analisis ANOVA taraf 5% pada parameter volume titrasi dan pH titik akhir titrasi. Jika analisis menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan indikator *phenolphthalein* ($p > 0,05$), maka dilanjutkan pengujian titrasi asam-basa menggunakan sampel CPO dalam menentukan kadar keasaman CPO (SNI 9331:2024).

Sampel CPO yang digunakan adalah CPO dengan kadar keasaman (ALB) tinggi ($> 5\%$) atau mutu rendah. Pemilihan sampel ini bertujuan untuk mengetahui seberapa jauh kemampuan ekstrak buah murbei dalam mendeteksi asam lemak bebas dalam CPO. Analisis keasaman CPO dilakukan dengan metode titrasi asam-basa mengacu pada SNI 9331:2024, pasal 9, butir 9.1 (9.1.1–9.1.4). CPO sebanyak 2,5 gram (berdasarkan SNI 2901:2006, Pasal 5, Butir 5.4.4 (b), Tabel 2; revisi SNI 2901:2021 untuk sampel dengan kadar ALB $> 5\%$) dimasukkan dalam labu Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 50 mL, lalu ditambahkan indikator *phenolphthalein* 1% sebanyak 0,15 mL dan dihomogenkan. Setelah itu, dititrasi dengan larutan standar KOH 0,1 N dan dicatat volume titran sesuai titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna merah bata. Diulangi langkah titrasi tersebut menggunakan ekstrak buah murbei sebagai indikator dengan titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna kuning kehijauan. Selanjutnya, volume titran (KOH 0,1 N) dimasukkan ke dalam perhitungan kadar keasaman CPO berdasarkan persen bobot (%) dengan rumus:

$$\text{Kadar Keasaman (\%)} = \frac{V \times N \times BM}{m \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

V = Volume titran (KOH 0,1 N) dalam satuan (mL)

N = Normalitas KOH (0,1 N)

BM = Berat molekul asam palmitat (256 g/mol)

m = Massa/bobot sampel CPO dalam satuan (gram).

Nilai simpangan (%) dihitung berdasarkan volume titran (KOH 0,1 N) untuk mengetahui seberapa besar penyimpangan antara ekstrak buah murbei dan indikator *phenolphthalein* dengan rumus:

$$\text{Simpangan (\%)} = \frac{V_b - V_a}{V_a} \times 100\% \dots\dots\dots (4)$$

Nilai *recovery* (%) berdasarkan volume titran (KOH 0,1 N) dihitung juga dengan rumus:

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{V_b}{V_a} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

Keterangan:

V_a = Volume titran (KOH 0,1 N) menggunakan indikator *phenolphthalein*

V_b = Volume titran (KOH 0,1 N) menggunakan ekstrak buah murbei

3. Warna (León, Mery, Pedreschi, & León, 2006)

Pengukuran warna dilakukan dengan metode konversi digital yang mengacu pada pendekatan penelitian León, Mery, Pedreschi, & León (2006) dalam mengonversi citra digital RGB menjadi nilai warna L*a*b*. Pengukuran warna dilakukan sebelum dan sesudah titrasi HCl 0,1 N maupun CPO untuk mengetahui perubahan warna pada masing-masing perlakuan. Sampel dimasukkan ke dalam *color box* (*light box*), kemudian dipotret menggunakan kamera untuk menghasilkan citra digital. Citra digital yang diperoleh dianalisis dengan *software* Adobe Photoshop CC 2017 (versi 18.0.0) untuk diambil kode

warna sampel menggunakan *eyedropper tool (color sampler tool)*. Kode warna RGB sampel yang diperoleh dari citra dikonversi ke ruang warna $L^*a^*b^*$ menggunakan situs ColorHexa (www.colorhexa.com), yang menyediakan fungsi konversi nilai RGB ke ruang warna CIE-LAB, untuk mengetahui nilai $L^*a^*b^*$ dan deskripsi warnanya.

Metode berbasis citra digital digunakan untuk mendeskripsikan perubahan warna secara relatif, bukan sebagai pengganti pengukuran menggunakan *colorimeter* (Afshari-Jouybari & Farahnaky, 2011). Pemilihan metode ini didasarkan pada keterbatasan instrumen yang tersedia di laboratorium, yaitu *color reader* yang hanya dapat digunakan untuk sampel padat, sedangkan sampel penelitian berbentuk cair. Pengambilan citra dilakukan dalam kondisi pencahayaan dan prosedur yang sama pada setiap pengukuran. Berdasarkan penelitian Romaniello, Leone, & Peri (2015) pendekatan berbasis citra digital untuk memperoleh parameter warna L^* , a^* , dan b^* telah dilaporkan memiliki korelasi yang kuat terhadap pengukuran menggunakan instrumen *colorimeter*, sehingga dapat digunakan untuk membandingkan perubahan warna secara relatif. Namun, nilai yang diperoleh dari citra digital tidak diperlakukan sebagai nilai yang identik dengan hasil pengukuran menggunakan *colorimeter* (Yam & Papadakis, 2004).

Tabel 1. Deskripsi Warna Berdasarkan Nilai L^* , a^* , dan b^*

Nilai	Deskripsi Warna
L	Dari 0 (hitam)–100 (putih)
+a (positif)	Dari 0–100 untuk warna merah
–a (negatif)	Dari 0–(–80) untuk warna hijau
+b (positif)	Dari 0–70 untuk warna kuning
–b (negatif)	Dari 0–(–70) warna biru

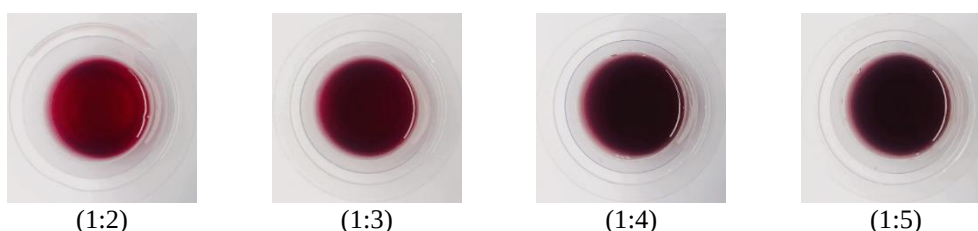
D. Analisis Data

Data titrasi asam-basa, yaitu volume titrasi dan pH titik akhir titrasi, dianalisis menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA)* pada taraf 5%. Jika perlakuan berpengaruh nyata, dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)*. *Phenolphthalein* tidak mengandung antosianin dan berwarna bening/tidak berwarna sebelum titrasi HCl 0,1 N. Hal tersebut menyebabkan parameter kadar total antosianin dan parameter warna tidak dapat dianalisis secara statistik pada kelima perlakuan. Oleh karena itu, data kadar total antosianin dan warna disajikan secara deskriptif dalam bentuk nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Produk

Indikator alami berbasis antosianin memanfaatkan sensitivitas senyawa antosianin terhadap pH, yaitu pada pH asam berwarna merah dan pada pH basa berubah menjadi biru kehijauan (Horbowicz, Kosson, Grzesiuk, & Dębski, 2008; Jiang *et al.*, 2019). Pada penelitian ini, ekstrak buah murbei sebagai indikator alami berbasis antosianin dengan variasi rasio bahan:pelarut (buah murbei:HCl 0,1% dalam metanol) yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi menghasilkan ekstrak cair berwarna merah keunguan dengan kadar total antosianin berkisar 312,89 – 429,23 mg/L. Hasil pengujian menunjukkan bahwa rasio bahan:pelarut pada pembuatan ekstrak buah murbei berpengaruh terhadap titik akhir titrasi dalam penentuan keasaman CPO. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 dapat digunakan sebagai indikator asam-basa alternatif pengganti *phenolphthalein* pada titrasi asam kuat-basa kuat (HCl dan KOH) dan penentuan keasaman CPO. Ekstrak buah murbei dengan berbagai rasio bahan:pelarut dapat dilihat pada Gambar 1.



(1:2) (1:3) (1:4) (1:5)
Gambar 1. Ekstrak Buah Murbei dengan Berbagai Rasio Bahan: Pelarut

B. Kadar Total Antosianin

Kadar total antosianin perlu diketahui karena menjadi salah satu faktor penting yang berkaitan dengan kemampuan ekstrak untuk menghasilkan warna yang lebih jelas, sehingga dapat mempermudah pengamatan titik akhir titrasi (Yulfriansyah & Novitriani, 2016; Fitri & Fikroh, 2021; Wijaya, Bintoro, Mulyani, Pratama, & Hidayati, 2021). Tabel 2 berikut memuat kadar total antosianin ekstrak buah murbei pada berbagai rasio bahan:pelarut yang diperoleh dengan metode sokletasi (Riniati, Widyabudiningsih, & Sularasa, 2020).

Tabel 2. Kadar Total Antosianin dengan Berbagai Rasio Bahan:Pelarut

Buah Murbei:HCl 0,1% dalam Metanol	Kadar Total Antosianin (mg/L)
<i>Phenolphthalein</i>	-
1:2	429,23 ± 0,84
1:3	392,44 ± 0,71
1:4	337,21 ± 0,83
1:5	312,89 ± 0,72

Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa nilai kadar total antosianin menunjukkan kecenderungan penurunan seiring bertambahnya volume pelarut yang digunakan (HCl 0,1% dalam metanol), yaitu berkisar 312,89 ± 0,72 – 429,23 ± 0,84 mg/L. Nilai kadar total antosianin tertinggi yang diperoleh sebesar 429,23 ± 0,84 mg/L pada ekstrak buah murbei dengan rasio bahan dan pelarut 1:2 yang diekstrak dengan metode sokletasi. Adapun nilai kadar total antosianin terendah yang diperoleh sebesar 312,89 ± 0,72 mg/L pada ekstrak buah murbei dengan rasio 1:5. Kadar total antosianin mengalami penurunan seiring dengan penambahan volume pelarut. Penurunan tersebut diduga terjadi karena lamanya waktu yang dibutuhkan untuk memisahkan sisa pelarut menggunakan *rotary evaporator* pada suhu *water bath* 58°C, sehingga memicu akumulasi paparan energi panas (*thermal exposure*) selama proses penguapan dan memperpanjang lama waktu penguapan yang dibutuhkan untuk memisahkan pelarut dalam ekstrak. Berdasarkan pengamatan, setiap 50 mL pelarut HCl 0,1% dalam metanol memerlukan waktu sekitar 10 menit untuk menguap pada *rotary evaporator*. Dengan demikian, perlakuan rasio 1:2 dengan volume pelarut 100 mL membutuhkan waktu penguapan (evaporasi) sekitar 10 menit, rasio 1:3 (150 mL) sekitar 20 menit, rasio 1:4 (200 mL) sekitar 30 menit, dan rasio 1:5 (250 mL) sekitar 40 menit. Proses pemisahan pelarut HCl 0,1% dalam metanol menggunakan *rotary evaporator* menghasilkan ekstrak sebanyak 50 mL pada masing-masing perlakuan. Paparan suhu 58°C dalam durasi yang lebih lama memberikan beban panas (*thermal load*) terhadap molekul antosianin yang bersifat tidak tahan panas (*thermolabile*) (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, & Kaur, 2011).

Pemanasan tersebut memicu kerusakan struktur cincin pada kation *flavylum* antosianin (sianidin-3-O-glukosida), yang kemudian mengalami hidrolisis menjadi bentuk kalkon (*chalcone*) yang tidak berwarna (Jiang *et al.*, 2019). Kerusakan pada struktur antosianin ini secara langsung menurunkan nilai absorbansi spesifik pada λ 510 nm, sehingga kadar total antosianin yang terukur secara spektrofotometri menjadi lebih rendah pada rasio dengan volume pelarut yang lebih besar (Maretniatin, 2008; Suzery, Nudin, Bima, & Cahyono, 2020).

C. Titrasi Asam-Basa

Uji pendahuluan dilakukan dengan menentukan volume akhir titrasi menggunakan sampel HCl 0,1 N untuk mengetahui potensi ekstrak buah murbei sebagai indikator asam-basa alami. Jika hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak buah murbei pada berbagai rasio bahan:pelarut memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan indikator *phenolphthalein* ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan uji lanjutan menggunakan sampel CPO dalam penentuan keasaman CPO.

Berdasarkan hasil analisis ragam terhadap volume akhir titrasi HCl 0,1 N pada Tabel 3, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($p > 0,05$) antara indikator *phenolphthalein* dengan ekstrak buah murbei pada semua rasio bahan:pelarut yang diuji (1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5). Volume akhir titrasi HCl 0,1 N berkisar antara 5,6 ± 0,10 – 5,7 ± 0,15 mL. Hasil ini menunjukkan bahwa indikator alami berbasis antosianin dari ekstrak buah murbei dapat digunakan sebagai alternatif pengganti indikator *phenolphthalein* pada titrasi asam-basa yang didukung oleh penelitian Ekowati (2009) yang menyatakan bahwa ekstrak buah murbei (*Morus alba* L.) dapat digunakan sebagai pengganti indikator *phenolphthalein* pada titrasi asam-basa. Tabel 3 berikut memuat nilai rata-rata volume akhir titrasi HCl 0,1 N pada berbagai rasio bahan:pelarut ekstrak buah murbei

Tabel 3. Nilai Rata-Rata Volume Akhir Titration HCl 0,1 N pada Berbagai Rasio Bahan: Pelarut Ekstrak Buah Murbei

Buah Murbei: HCl 0,1% dalam Metanol	Volume Titration (mL)	Simpangan (%)	pH
<i>Phenolphthalein</i>	5,6 ± 0,10	0,00	8,27 ± 0,02
1:2	5,7 ± 0,15	1,79	8,26 ± 0,01
1:3	5,6 ± 0,20	0,00	8,29 ± 0,03
1:4	5,7 ± 0,12	1,79	8,23 ± 0,03
1:5	5,7 ± 0,12	1,79	8,23 ± 0,02

Pada Tabel 3, dapat diketahui bahwa nilai simpangan yang diperoleh berkisar antara 0,00 - 1,79%. Nilai simpangan yang sangat kecil (0,00 - 1,79%) menunjukkan bahwa penyimpangan antara indikator *phenolphthalein* dan ekstrak buah murbei sangat rendah. Berdasarkan standar akurasi AOAC (2012) dalam Leba *et al.* (2022), nilai *recovery* dapat diterima jika nilainya berkisar antara 90% – 108%. Berdasarkan volume akhir titration HCl 0,1 N pada setiap perlakuan, diperoleh nilai *recovery* pada *phenolphthalein* sebesar 100%, sedangkan untuk masing-masing ekstrak buah murbei yaitu rasio 1:3 sebesar 100%, serta rasio 1:2, 1:4, dan 1:5 sebesar 101,79%. Oleh karena itu, ekstrak buah murbei dengan berbagai rasio bahan: pelarut dapat diterima sebagai indikator alami pada titration asam-basa.

Selain itu, penentuan pH pada titik akhir titration dilakukan bersamaan dengan pengujian titration HCl 0,1 N. Berdasarkan hasil analisis ragam terhadap nilai pH setelah titration HCl 0,1 N pada Tabel 3, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($p > 0,05$) antara indikator *phenolphthalein* dengan ekstrak buah murbei pada semua rasio bahan: pelarut yang diuji (1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5). pH setelah titration HCl 0,1 N berkisar antara 8,23 ± 0,02 – 8,29 ± 0,03 yang setara dengan rentang pH indikator *phenolphthalein* yang memiliki rentang pH (8,2 – 10) menurut Skoog, West, Holler, & Crouch (2004) dan Meganingtyas & Alauhdin (2021), sekaligus memperkuat hasil volume akhir titration sebelumnya bahwa ekstrak buah murbei berpotensi sebagai indikator alami pengganti *phenolphthalein*.

Menurut Meganingtyas & Alauhdin (2021), indikator alami berbasis antosianin dapat menjadi alternatif jika memiliki pH yang mendekati indikator *phenolphthalein*. Hasil uji pH ini sejalan dengan hasil titration asam-basa, sehingga ekstrak buah murbei pada berbagai rasio bahan: pelarut dapat diterima sebagai indikator asam-basa, khususnya pada titration asam kuat-basa kuat (HCl 0,1 N dan KOH 0,1 N). Menurut Ekowati (2009), ekstrak buah murbei dapat digunakan pada titration asam lemah-basa kuat (CH₃COOH dan NaOH). Dengan begitu, hasil dari pengujian ini juga menambah bukti ilmiah bahwa indikator ekstrak buah murbei dapat digunakan pada titration asam kuat-basa kuat. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilakukan uji lanjutan terhadap ekstrak buah murbei pada semua rasio bahan: pelarut (1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5). Tabel 4 berikut memuat nilai rata-rata volume akhir titration CPO pada berbagai rasio bahan: pelarut ekstrak buah murbei.

Tabel 4. Nilai Rata-Rata Volume Akhir Titration CPO pada Berbagai Rasio Bahan: Pelarut Ekstrak Buah Murbei

Buah Murbei: HCl 0,1% dalam Metanol	Volume Titration (mL)	Simpangan (%)	Keasaman (%)
<i>Phenolphthalein</i>	11,87 ± 0,21 ^a	0,00	12,01 ± 0,2
1:2	11,73 ± 0,15 ^a	1,18	11,88 ± 0,1
1:3	13,20 ± 0,17 ^b	11,21	13,25 ± 0,3
1:4	13,60 ± 0,20 ^c	14,57	13,68 ± 0,1
1:5	13,63 ± 0,12 ^c	14,83	13,77 ± 0,1

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT.

Berdasarkan hasil analisis ragam pada volume akhir titration CPO pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($p > 0,05$) antara indikator *phenolphthalein* dengan ekstrak buah murbei pada rasio 1:2, yang memiliki kadar total antosianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Namun, terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara indikator *phenolphthalein* dengan ekstrak buah murbei pada rasio 1:3, 1:4, dan 1:5. Kadar total antosianin mempengaruhi sensitivitas

terhadap pH dan responsivitas perubahan warna indikator asam-basa, dalam hal ini yaitu senyawa antosianin (Riniati, Widyabudiningsih, & Sularasa, 2020).

Pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa nilai simpangan (%) yang diperoleh pada rasio 1:2 sebesar 1,18%, adapun pada rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 berturut-turut sebesar 11,21%, 14,57%, dan 14,83%. Dengan demikian, rasio 1:2 memiliki penyimpangan yang sangat kecil (1,18%), sedangkan rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 menunjukkan penyimpangan yang besar ($>11\%$). Berdasarkan standar akurasi AOAC (2012) dalam Leba *et al.* (2022), nilai *recovery* dapat diterima jika nilainya berkisar antara 90% - 108%. Berdasarkan volume akhir titrasi CPO, nilai *recovery* yang diperoleh pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa hanya rasio 1:2 yang dapat diterima dengan nilai sebesar 98,8%. Adapun rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 tidak dapat diterima dengan nilai *recovery* berturut-turut sebesar 111,21%, 114,57%, dan 114,83%. Hal ini didukung pula dengan nilai kadar keasaman (ALB) CPO berdasarkan persen bobot (%) sesuai metode SNI 9331:2024, pasal 9, butir 9.1 (9.1.1–9.1.4), yaitu pada *phenolphthalein* kadar keasaman sebesar $12,01 \pm 0,2\%$ dan pada ekstrak buah murbei rasio 1:2 menghasilkan keasaman sebesar $11,88 \pm 0,1\%$ yang nilainya juga mendekati nilai keasaman (%) CPO menggunakan *phenolphthalein*, sedangkan rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 menghasilkan keasaman berkisar antara $13,25 \pm 0,3 - 13,77 \pm 0,1\%$.

Kadar antosianin yang lebih tinggi dapat meningkatkan sensitivitas terhadap pH sehingga perubahan warna yang dihasilkan menjadi lebih jelas (Lianyun, Huijuan, Huaqin, & Feng, 2015). Rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 memiliki kadar antosianin lebih rendah sehingga kurang sensitif terhadap perubahan pH. Akibatnya, perubahan warna pada titik akhir titrasi CPO menjadi kurang jelas sehingga titik akhir titrasi sulit ditentukan.

Berdasarkan Lianyun, Huijuan, Huaqin, & Feng (2015), konsentrasi indikator atau kadar antosianin yang tidak tepat (terlalu rendah atau terlalu tinggi) dapat mengganggu penentuan titik akhir titrasi. Hal ini menyebabkan rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 menjadi berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap indikator *phenolphthalein*. Hasil ini menunjukkan bahwa efektivitas indikator ekstrak buah murbei tidak hanya dipengaruhi oleh volume akhir titrasi, tetapi juga oleh kadar total antosianin yang optimal.

D. Warna

Pengujian warna dilakukan untuk mengetahui perubahan warna ekstrak buah murbei pada berbagai rasio bahan:pelarut saat uji pendahuluan dan uji lanjutan titrasi asam-basa. Tabel 5 berikut memuat nilai rata-rata warna sebelum dan setelah titrasi HCl 0,1 N pada berbagai rasio bahan:pelarut ekstrak buah murbei.

Tabel 5. Nilai Rata-Rata Warna Titrasi HCl 0,1 N pada Berbagai Rasio Bahan:Pelarut Ekstrak Buah Murbei

Buah Murbei: HCl 0,1% dalam Metanol	Titrasi HCl 0,1 N									
	Sebelum Titrasi		Setelah Titrasi			Warna		Deskripsi Warna		
	Nilai						Sebelum Titrasi	Setelah Titrasi	Sebelum Titrasi	Setelah Titrasi
	L*	a*	b*	L*	a*	b*				
<i>Phenolph thalein</i>	-	-	-	48,43 ±1,03	68,80 ±0,46	-11,27 ±0,41	Bening		<i>Clear</i>	<i>Strong pink</i>
1:2	46,92 ±0,52	44,00 ±0,60	37,62 ±0,90	28,97 ±0,76	-5,27 ±0,05	-4,49 ±0,42			<i>Moderate red</i>	<i>Very dark grayish cyan</i>
1:3	46,79 ±2,15	50,87 ±1,25	38,42 ±1,12	63,34 ±2,84	2,61 ±1,18	-2,63 ±0,62			<i>Strong red</i>	<i>Dark grayish violet</i>
1:4	44,59 ±1,44	53,14 ±0,64	47,28 ±1,98	56,05 ±2,53	2,67 ±0,64	-2,69 ±0,52			<i>Strong red</i>	<i>Dark grayish violet</i>
1:5	43,28 ±0,29	54,99 ±0,38	46,49 ±0,59	39,61 ±1,23	4,42 ±0,67	-0,98 ±0,43			<i>Strong red</i>	<i>Very dark grayish pink</i>

Berdasarkan Tabel 5, dapat diketahui bahwa *phenolphthalein* tidak memiliki nilai L^* , a^* , dan b^* sebelum titrasi HCl 0,1 N karena HCl 0,1 N bersifat asam (pH 1), sehingga indikator *phenolphthalein* tidak berwarna (bening). Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 memiliki nilai L^* berkisar $43,28 \pm 0,29 - 46,92 \pm 0,52$, nilai a^* berkisar $44,09 \pm 0,60 - 54,99 \pm 0,38$, dan nilai b^* berkisar $37,62 \pm 0,90 - 47,28 \pm 1,98$. Deskripsi warna pada rasio 1:2 adalah merah moderat (*moderate red*), sedangkan pada rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 adalah merah kuat (*strong red*). Nilai L^* (kecerahan) menurun

seiring bertambahnya volume pelarut akibat degradasi antosianin karena panas pada saat ekstraksi (Suzery *et al.*, 2020). Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 memiliki kecerahan lebih tinggi sehingga warna merahnya lebih cerah. Warna merah yang dihasilkan sejalan dengan pernyataan Jiang *et al.* (2019) bahwa antosianin akan berwarna merah jika dalam kondisi asam.

Senyawa antosianin akan berubah menjadi kation *flavylium* pada kondisi pH asam dan menghasilkan warna jingga-merah. Secara kualitatif, warna yang dihasilkan ekstrak buah murbei juga menunjukkan bahwa ekstrak buah murbei positif mengandung antosianin (Horbowicz, Kosson, Grzesiuk, & Dębski, 2008; Jiang *et al.*, 2019).

Berdasarkan Tabel 5, dapat diketahui bahwa *phenolphthalein* menghasilkan perubahan warna setelah titrasi dengan deskripsi warna merah muda kuat (*strong pink*) dengan nilai L^* $48,43 \pm 1,03$, a^* $68,80 \pm 0,46$, dan b^* $-11,27 \pm 0,41$, sesuai dengan pernyataan Safitri & Roosdiana (2021) bahwa *phenolphthalein* berwarna merah muda pada titik akhir titrasi. Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 menghasilkan warna keabu-abuan pada titik akhir titrasi HCl 0,1 N dengan nilai L^* berkisar $28,97 \pm 0,76 - 63,34 \pm 2,84$, a^* berkisar $-5,27 \pm 0,05 - 4,42 \pm 0,67$, dan b^* berkisar $-4,49 \pm 0,42$ hingga $-0,98 \pm 0,43$.

Hasil analisis menunjukkan bahwa, meskipun setiap perlakuan ekstrak memiliki warna keabu-abuan yang sama, setiap perlakuan memiliki rentang warna berbeda. Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 menghasilkan deskripsi warna *cyan* (biru kehijauan) keabu-abuan sangat gelap (*very dark grayish cyan*), rasio 1:3 dan 1:4 menghasilkan warna *violet* (ungu kebiruan) keabu-abuan gelap (*dark grayish violet*), serta rasio 1:5 menghasilkan warna merah muda keabu-abuan sangat gelap (*very dark grayish pink*). Menurut Horbowicz, Kosson, Grzesiuk, & Dębski (2008), antosianin pada titik akhir titrasi akan berwarna biru kehijauan (*cyan*), sehingga ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 dapat dijadikan indikator asam-basa alternatif karena menghasilkan warna yang sesuai. Warna biru kehijauan tersebut terbentuk akibat antosianin berubah menjadi basa kuinonoidal (Horbowicz, Kosson, Grzesiuk, & Dębski, 2008; Jiang *et al.*, 2019).

Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 menghasilkan warna yang kurang sesuai dengan karakteristik perubahan warna antosianin pada titik akhir titrasi (*violet* dan merah muda). Hasil ini menunjukkan bahwa meskipun volume akhir titrasi HCl 0,1 N tidak berbeda nyata, titik akhir titrasi dipengaruhi oleh kadar antosianin. Warna yang dihasilkan tidak konsisten, dan kurang responsif terhadap pH. Hal tersebut menunjukkan bahwa indikator harus memiliki kadar antosianin yang optimal agar perubahan warna berlangsung jelas dan konsisten (Lianyun, Huijuan, Huaqin, & Feng, 2015).

Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 dapat digunakan sebagai alternatif pengganti *phenolphthalein* dengan perubahan warna dari merah moderat menjadi biru kehijauan keabu-abuan sangat gelap pada titik akhir titrasi, dan dapat digunakan pada titrasi asam kuat-basa kuat (HCl dan KOH). Tabel 6 berikut memuat nilai rata-rata warna sebelum dan setelah titrasi CPO pada berbagai rasio bahan:pelarut ekstrak buah murbei.

Tabel 6. Nilai Rata-Rata Warna Titrasi CPO pada Berbagai Rasio Bahan: Pelarut Ekstrak Buah Murbei

Buah Murbei: HCl 0,1% dalam Metanol	Titrasi CPO									
	Sebelum Titrasi			Setelah Titrasi			Warna		Deskripsi Warna	
	Nilai						Sebelum Titrasi	Setelah Titrasi	Sebelum Titrasi	Setelah Titrasi
	L*	a*	b*	L*	a*	b*				
<i>Phenolph thalein</i>	58,62 ±0,64	4,10 ±0,24	63,10 ±0,82	51,39 ±0,98	43,79 ±0,55	45,99 ±0,84			<i>Dark yellow [olive tone]</i>	<i>Strong orange</i>
1:2	91,26 ±0,27	-10,16 ±0,40	87,49 ±0,81	69,21 ±1,16	-6,76 ±0,88	64,27 ±1,01			<i>Vivid yellow</i>	<i>Strong yellow</i>
1:3	90,91 ±0,05	-10,17 ±0,77	88,03 ±0,07	81,83 ±0,20	-9,42 ±0,44	59,59 ±1,08			<i>Vivid yellow</i>	<i>Soft yellow</i>
1:4	91,77 ±0,15	-11,13 ±0,30	87,73 ±1,01	86,70 ±0,97	-12,91 ±0,71	60,55 ±1,09			<i>Vivid yellow</i>	<i>Soft yellow</i>
1:5	91,76 ±0,20	-11,20 ±0,35	88,45 ±0,43	86,79 ±0,20	-14,11 ±0,51	69,87 ±1,01			<i>Vivid yellow</i>	<i>Soft yellow</i>

Berdasarkan Tabel 6, dapat diketahui bahwa warna *phenolphthalein* sebelum titrasi CPO menghasilkan deskripsi warna kuning tua (*dark yellow*) dengan nuansa zaitun (*olive tone*) dengan nilai $L^* 58,62 \pm 0,64$, $a^* 4,10 \pm 0,24$, dan $b^* 63,10 \pm 0,82$. Warna yang dihasilkan tersebut merupakan warna asli CPO yang telah dilarutkan dalam 50 mL etanol 95% karena *phenolphthalein* tidak berwarna (bening) dalam sampel CPO yang bersifat asam lemah (SNI 9331:2024).

Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2, 1:3, 1:4, dan 1:5 memiliki deskripsi warna yang sama yaitu kuning cerah (*vivid yellow*) dengan nilai L^* berkisar $90,91 \pm 0,05 - 91,77 \pm 0,15$, a^* berkisar $-11,20 \pm 0,35$ hingga $-10,16 \pm 0,40$, dan b^* berkisar $87,49 \pm 0,81 - 88,45 \pm 0,43$. Warna kuning cerah yang dihasilkan tersebut berbeda dengan warna ekstrak buah murbei sebelum dicampurkan dengan CPO, yang secara visual berwarna merah keunguan. Perbedaan tersebut dapat dijelaskan berdasarkan kondisi penggunaannya dalam matriks CPO. Pada penelitian ini, ekstrak murbei yang ditambahkan hanya sebanyak 0,15 mL ke dalam 2,5 g CPO yang telah dilarutkan dalam 50 mL etanol 95%. Dengan demikian, volume ekstrak buah murbei lebih kecil dibandingkan dengan medium sampel CPO, sehingga warna merah keunguan dari ekstrak mengalami pengenceran dan intensitasnya menjadi lebih rendah setelah pencampuran.

Selain itu, CPO memiliki warna dasar kuning tua yang cukup kuat sehingga turut berkontribusi terhadap warna campuran yang dihasilkan. Kondisi tersebut berbeda dengan ekstrak murbei murni. CPO juga memiliki matriks yang lebih kompleks dibandingkan dengan larutan HCl 0,1 N. Oleh karena itu, perubahan warna yang diamati setelah pencampuran diduga tidak hanya berkaitan dengan pengenceran ekstrak dan kontribusi warna dasar CPO, tetapi juga dapat dipengaruhi oleh perubahan lingkungan antosianin dalam matriks CPO. Adanya interaksi antara antosianin dan komponen dalam CPO diduga dapat berkontribusi terhadap perubahan warna tersebut.

Berdasarkan Tabel 6, dapat diketahui bahwa *phenolphthalein* setelah titrasi CPO menghasilkan warna jingga kuat (*strong orange*) dengan nilai $L^* 51,39 \pm 0,98$, $a^* 43,79 \pm 0,55$, dan $b^* 45,99 \pm 0,84$. Umumnya, warna titik akhir titrasi CPO dengan *phenolphthalein* menghasilkan warna merah bata atau dapat disebut juga warna merah-jingga. Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 menghasilkan warna kuning kuat (*strong yellow*) dengan nilai $L^* 69,21 \pm 1,16$, $a^* -6,76 \pm 0,88$, dan $b^* 64,27 \pm 1,01$, yang terlihat kehijauan sehingga memudahkan penentuan titik akhir titrasi CPO. Sementara itu, ekstrak buah murbei dengan rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 memiliki deskripsi warna kuning lembut (*soft yellow*) dengan nilai L^* berkisar $81,83 \pm 0,20 - 86,79 \pm 0,20$, a^* berkisar $-14,11 \pm 0,51$ hingga $-9,42 \pm 0,44$, dan b^* berkisar $59,59 \pm 1,08 - 69,87 \pm 1,01$, yang kurang jelas karena warna sebelum titrasi dan setelah titrasi tidak jauh berbeda.

Hal ini dipengaruhi oleh kadar antosianin, sehingga kadar antosianin yang lebih tinggi pada rasio 1:2 menghasilkan perubahan warna yang jelas (kuning kehijauan). Adapun kadar antosianin yang lebih rendah pada rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 menyebabkan perubahan warna menjadi tidak begitu jelas, yaitu kuning lembut yang terlihat pucat (Lianyun, Huijuan, Huaqin, & Feng, 2015). Hal tersebut disebabkan oleh perubahan antosianin menjadi tidak berwarna (*colorless*) akibat kondisi pH yang terlalu basa sehingga membentuk pseudo-basa kalkon (Horbowicz, Kosson, Grzesiuk, & Dębski, 2008; Jiang *et al.*, 2019). Dengan demikian, ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 dapat digunakan sebagai alternatif pengganti *phenolphthalein* dengan perubahan warna dari kuning cerah menjadi kuning kehijauan pada titik akhir titrasi CPO dalam penentuan keasaman.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa rasio bahan:pelarut (buah murbei:HCl 0,1% (v/v) dalam metanol) berpengaruh terhadap volume akhir titrasi CPO. Ekstrak buah murbei hasil ekstraksi metode sokletasi dengan rasio 1:2 merupakan perlakuan terbaik dengan kadar total antosianin sebesar 429,23 mg/L dan menunjukkan efektivitas yang tidak berbeda nyata dengan indikator *phenolphthalein* 1% ($p > 0,05$). Ekstrak buah murbei dengan rasio 1:2 dapat digunakan sebagai indikator asam-basa alternatif pengganti *phenolphthalein* pada titrasi asam kuat-basa kuat (HCl dan KOH) dengan perubahan warna dari merah moderat (*moderate red*) menjadi biru kehijauan keabu-abuan sangat gelap (*very dark grayish cyan*), serta dari kuning cerah (*vivid yellow*) menjadi kuning kuat (*strong yellow*) yang tampak kehijauan dalam penentuan keasaman CPO pada kondisi pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afshari-Jouybari, H., & Farahnaky, A. (2011). Evaluation of Photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.034>
- Badan Standardisasi Nasional. (2006). Minyak Kelapa Sawit Mentah (*Crude Palm Oil*). SNI 2901:2006. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. (2021). Minyak Kelapa Sawit Mentah (*Crude Palm Oil*). SNI 2901:2021. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. (2024). Lemak dan Minyak Hewani dan Nabati — Penentuan Bilangan Asam dan Keasaman (ISO 660:2020, MOD). SNI 9331:2024. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Chen, T., Shuang, F.-F., Fu, Q.-Y., Ju, Y.-X., Zong, C.-M., Zhao, W.-G., Zhang, D.-Y., Yao, X.-H., & Cao, F.-L. (2022). Evaluation of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Mulberry (*Morus alba* L.) Fruits from Different Varieties in China. *Molecules*, 27(9), 2688. <https://doi.org/10.3390/molecules27092688>
- Citramukti, I. (2008). Ekstraksi dan Uji Kualitas Pigmen Antosianin Pada Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*), (Kajian Masa Simpan Buah dan Penggunaan Jenis Pelarut). Skripsi Jurusan THP Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Demirdöven, A., Özdoğan, K., & Erdoğan-Tokatlı, K. (2015). Extraction of anthocyanins from red cabbage by ultrasonic and conventional methods: optimization and evaluation. *Journal of Food Biochemistry*, 39 (5), 491-500. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12153>
- Ekowati, D. (2009). Penggunaan Ekstrak Zat Warna Buah Murbei (*Morus alba* L.) sebagai Indikator Alami untuk Titrasi Asam-Basa. (*Doctoral dissertation*, Universitas Airlangga).
- Erwin, Nur, M. A., & Panggabean, A. S. (2016). Potensi Pemanfaatan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L.) sebagai Indikator Asam Basa Alami. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1).
- Fitri, C. B. S., & Fikroh, R. A. (2021). The potential of *Clitoria ternatea* L. extracts as an alternative indicator in acid-base titration. *JUPI (Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA)*, 5(4), 340-352. <https://doi.org/10.24815/jpsi.v5i4.23183>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Unit F1.2, pp. F1.2.1–F1.2.13). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., & Dębski, H. (2008). Anthocyanins of fruits and vegetables—their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 68(1), 5-22. <https://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8>
- Jiang, T., Mao, Y., Sui, L., Yang, N., Li, S., Zhu, Z., ... He, Y. (2019). Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. *Food Chemistry*, 274, 460-470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.141>
- Jurd, L., & Asen, S. (1966). The formation of metal and “co-pigment” complexes of cyanidin 3-glucoside. *Phytochemistry*, 5 (6), 1263–1271. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86122-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86122-1)
- Lianyun, L., Huijuan, Y., Huaqin, Y., & Feng, G. (2015). Influence of the Concentration of Indicator on Acid-base Titration. *University Chemistry*. 30. 79-82. <https://doi.org/10.3866/pku.DXHX20150679>
- Leba, M. A. U., Kopon, A. M., Lawung, Y. D., Jenimat, A. D., Komisia, F., Tukan, M. B., ... Baunsele, A. B. (2022). Application of Turmeric Rhizome Pigmen as Acid-Base Titration Indicator. *Sains Natural: Journal of Biology and Chemistry*, 12(4), 143-152. <https://doi.org/10.31938/jsn.v12i4.431>
- León, K., Mery, D., Pedreschi, F., & León, J. (2006). Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39(10), 1084-1091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006>
- Mahmud, N. R. A., Ihwan, & Jannah, N. (2018). Inventarisasi tanaman berpotensi sebagai indikator asam-basa alami di Kota Kupang. *Bionature*, 19 (1), 1–7.
- Maretniatin, C. D., (2008). Uji Potensi Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap *Candida albicans* secara in vitro, *Skripsi*, Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.

- Meganingtyas, W., & Alauhdin, M. (2021). Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) dan Pemanfaatannya sebagai Indikator Alami Titrasi Asam-Basa. *Agritech*, 41(3), 278-284. <https://doi.org/10.22146/agritech.52197>
- Mohammed, H. A., & Khan, R. A. (2022). Anthocyanins: traditional uses, structural and functional variations, approaches to increase yields and products' quality, hepatoprotection, liver longevity, and commercial products. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2149. <https://doi.org/10.3390/ijms23042149>
- Pathade, K. S., Patil, S. B., Kondawar, M. S., Naikwade, N. S., & Magdum, C. S. (2009). *Morus alba* fruit-herbal alternative to synthetic acid base indicators. *International Journal of ChemTech Research*, 1(3), 549–551.
- Pham, T. N., Lam, T. D., Nguyen, M. T., Le, X. T., Vo, D. V. N., Toan, T. Q., & Vo, T. S. (2019). Effect of various factors on extraction efficiency of total anthocyanins from Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L. Flowers) in Southern Vietnam. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 544, No. 1, p. 012013). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/544/1/012013>
- Ratnasari, S., Suhendar, D., & Amalia, V. (2016). Studi Potensi Ekstrak Daun Adam Hawa (*Rhoeo discolor*) sebagai Indikator Titrasi Asam-Basa. *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 39–46. <https://doi.org/10.24198/cna.v4.n1.10447>
- Riniati, R., Sularasa, A., & Febrianto, A. D. (2019). Ekstraksi kembang sepatu (*Hibiscus Rosa Sinensis* L) menggunakan pelarut metanol dengan metode sokletasi untuk indikator titrasi asam basa. *Indonesian Journal of Chemical Analysis (IJCA)*, *2*(1), 34–40. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol2.iss1.art5>
- Riniati, R., Widyabudiningsih, D., & Sularasa, A. (2020). Penggunaan Indikator Kubis Ungu Pada Analisis Asam Lemak Bebas dengan Metode Titrasi. *Indonesian Journal of Chemical Analysis (IJCA)*, 3 (2), 56–64. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol3.iss2.art3>
- Rista, A., Nurul, A., & Syaiful, A. (2017). Identifikasi Fitokimia dan karakteristik antosianin dari sabut kelapa hijau (*Cocos Nucifera* L. Var. *Viridis*). *Jurnal Teknologi Pertanian* vol 18. Hal 3 2017. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2017.018.03.16>
- Romaniello, R., Leone, A., & Peri, G. (2015). Measurement of food colour in $L^*a^*b^*$ units from RGB digital image using least squares support vector machine regression. *Journal of Agricultural Engineering*, 46(4), 138–143. <https://doi.org/10.4081/jae.2015.482>
- Rymbai, H., Sharma, R. R., & Srivastav, M. (2011). Biocolorants and its implications in health and food industry - a review. *International Journal of PharmTech Research*, 3(4), 2228–2244.
- Safitri, A., & Roosdiana, A. (2021). *Biokimia Bahan Alam: Analisis dan Fungsinya*. Media Nusa Creative (MNC Publishing).
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2004). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (8th ed.). Thomson Brooks/Cole.
- Suzery, M., Nudin, B., Bima, D. N., & Cahyono, B. (2020). Effects of temperature and heating time on degradation and antioxidant activity of anthocyanin from Roselle petals (*Hibiscus sabdariffa* L.). *International Journal of Science, Technology & Management*, 1(4), 288-238. <https://doi.org/10.46729/ijstm.v1i4.78>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). *Phytochemical Screening and Extraction: A Review*. *International Pharmaceutical Sciencia* Vol. 1: 98-106.
- Torskangerpoll, K., & Andersen, Ø. M. (2005). *Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values*. *Food Chemistry*, 89(3), 427-440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.002>
- Wijaya, M. W., Bintoro, V. P., Mulyani, S., Pratama, Y., & Hidayati, N. A. (2021). Ultrasonication treatment improves butterfly pea flower's (*Clitoria ternatea* L.) anthocyanin extraction as a natural pH indicator. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 11(5), 1928–1932. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.11.5.11010>
- Winata, E. W., & Yuniarta, Y. (2015). Ekstraksi antosianin buah murbei (*Morus alba* L.) Metode ultrasonic bath (kajian waktu dan rasio bahan: pelarut) [in press April 2015]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2).

- Yam, K. L., & Papadakis, S. E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61(1), 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00195-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00195-X)
- Yulfriansyah, A., & Novitriani, K. (2016). Pembuatan indikator bahan alami dari ekstrak kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai indikator alternatif asam basa berdasarkan variasi waktu perendaman. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 16(1), 153-160. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v16i1.178>