

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gula memiliki fungsi sebagai pemanis dalam makanan atau minuman. Terdapat dua jenis pemanis dibedakan berdasarkan sumbernya. Pemanis alami adalah zat pemanis yang berasal dari bahan-bahan alami seperti gula dari tebu, aren, kelapa, dan bit. Sedangkan pemanis buatan merupakan zat yang dapat menimbulkan rasa manis tetapi tidak memiliki nilai gizi, diantaranya zat sakarin dan siklamat (Buchori, 2007). Jenis gula yang sering ditemukan pada makanan dan minuman antara lain glukosa, fruktosa, laktosa, dan sukrosa yang mengandung 3,94 kcal/g (Adari dkk., 2016; Zahro dkk., 2022). Gula juga merupakan salah satu sumber energi bagi tubuh. Sebagian dari molekul glukosa diangkut keseluruh tubuh melalui aliran darah, dan sebagian lainnya akan disimpan di organ hati dalam bentuk glikogen. Perkembangan tren dan teknologi menjadikan perilaku konsumsi makanan dan minuman tinggi gula berkembang dengan cepat (Putri, 2024).

Konsumsi gula berlebih dapat memicu berbagai gangguan kesehatan, seperti diabetes, gigi berlubang, dan obesitas. Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation* (IDF), jumlah penderita diabetes secara global mencapai 537 juta orang pada tahun 2021. Indonesia menempati posisi kelima di dunia dengan jumlah penderita diabetes 19,5 juta orang pada tahun 2021, yang diperkirakan akan bertambah menjadi 28,6 juta pada tahun 2045 (KEMENKES, 2024). Indonesia berada dalam status waspada diabetes, menempati peringkat kelima di antara 10 negara dengan jumlah penderita diabetes tertinggi. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada 2013 dan 2018, prevalensi diabetes di Indonesia meningkat dari 6,9% menjadi 8,5%. Sebagian besar kasus diabetes melitus (DM) di Indonesia adalah diabetes tipe 2, yang disebabkan oleh faktor genetik sebesar 5%, namun lebih dominan dipengaruhi oleh gaya hidup tidak sehat dan pola makan yang tidak seimbang (Santoso dkk., 2024).

Karena itu, diperlukan pemanis yang berpotensi menggantikan gula, salah satunya adalah tanaman stevia. Rasa manis pada stevia berasal dari senyawa kelompok steviol glikosida, seperti steviosida dan rebaudiosida A. kelebihan dari steviol glikosida memiliki tingkat kemanisan 200-300 kali lebih tinggi dibandingkan sukrosa, tidak menyebabkan gigi berlubang, dan stabil dalam berbagai kondisi lingkungan, bebas kalori, dan tidak dapat difermentasi oleh bakteri (Azkiyah, 2019; Brandle dkk., 1998). Ekstrak daun stevia berpotensi sebagai antioksidan, antidiabetik, serta pelindung ginjal bagi tubuh manusia (Shivanna dkk., 2013).

Koyama dkk (2003) membuktikan secara *in vitro* bahwa senyawa glikosida steviol resisten terhadap hidrolisis oleh enzim pencernaan manusia di usus halus. Pemecahan molekul baru terjadi di dalam kolon melalui aktivitas mikroflora usus yang memisahkan kerangka steviol dari molekul glukosa. Molekul glukosa yang terlepas tersebut tidak diserap oleh tubuh manusia, melainkan langsung difermentasi oleh bakteri kolon. Wheeler dkk (2008) lebih lanjut mengonfirmasi profil farmakokinetik ini secara klinis, di mana kerangka steviol yang tersisa diabsorpsi ke dalam sirkulasi portal, dikonjugasi menjadi steviol glukuronida di dalam hepatosit, dan diekskresikan melalui ginjal. Mekanisme biotransformasi yang tidak melepaskan glukosa ke dalam sirkulasi sistemik ini mendukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Maki dkk (2008), bahwa mengonsumsi Rebaudioside-A jangka panjang pada pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 tidak memberikan dampak signifikan terhadap homeostasis glukosa darah, sekresi insulin, maupun profil lipid.

Menurut Carakostas dkk (2008), steviosida dan rebaudiosida A merupakan glikosida steviol utama yang terdapat pada *Stevia rebaudiana*. Berdasarkan literatur, persentase kandungan rebaudiosida A murni yang berhasil diisolasi mencapai 2,34% terhadap berat kering daun apabila diekstraksi menggunakan gelombang mikro (MAE), dan dapat dimaksimalkan hingga menyumbang 35,61% dari total komposisi ekstrak pekat jika menggunakan bantuan gelombang ultrasonik (Gasmalla dkk., 2015; Hartini dkk., 2021). Rebaudiosida A memiliki empat molekul glukosa, dengan dua di antaranya membentuk rantai tambahan. Struktur

ini membuat rebaudiosida A memiliki rasa yang lebih manis dan lebih bersih dibandingkan dengan steviosida (Kochikyan dkk., 2006).

Rebaudiosida A memiliki tingkat kemanisan dengan profil rasa yang lebih baik dan minim *aftertaste* pahit. Selain keunggulan tersebut, rebaudiosida A juga merupakan pemanis non-nutritif yang aman bagi penderita diabetes dan obesitas, serta bersifat non-kariogenik karena tidak memicu pembentukan karies gigi. Stabilitasnya yang tinggi dalam berbagai matriks pangan dan potensinya sebagai antioksidan serta agen pengendali hiperglikemia menjadikan senyawa ini berpotensi menggantikan gula (Orellana, 2023). Disamping keunggulannya, daun stevia memiliki kekurangan yaitu munculnya rasa getir atau pahit yang dihasilkan karena adanya kandungan senyawa tanin. Senyawa tannin merupakan salah satu senyawa fenol dengan massa molekul besar yang dapat menghasilkan rasa pahit apabila langsung dikonsumsi (Goyal dkk., 2010). Kadar senyawa kandungan tannin dari daun stevia yaitu 0,0122% dan 0,0123% dengan menggunakan pelarut etanol 30% dan 70% (Setiawan dkk., 2020).

Pada setiap gram ekstrak daun stevia mengandung senyawa tannin, terpen, stigmasterol, dan delapan glikosida diterpenenik: stevioside, steviobioside, dulcoside, dan rebaudiosides A, B, C, D, dan E. Stevioside dan rebaudioside A ikut bertanggung jawab atas sisa rasa, meskipun kontribusi rebaudioside A jauh lebih kecil dibandingkan stevioside. Diantara senyawa tersebut, steviosida dan rebaudiosida A merupakan komponen yang paling melimpah. Rebaudiosida A memiliki profil sensoris paling unggul karena tingkat kemanisan dan stabilitasnya yang tinggi, serta rasa pahit (*aftertaste*) yang jauh lebih rendah dibandingkan steviosida (Crammer dkk., 1986; Goyal dkk., 2010; Samuel, dkk., 2018).

Ekstraksi senyawa metabolik sekunder reb-A dapat dilakukan dengan metode ekstraksi sederhana. Namun, proses ekstraksi tersebut membutuhkan waktu lama. Sehingga perlu adanya proses ekstraksi yang dapat mempercepat proses ekstraksi, yaitu dengan cara mengkombinasikan penambahan enzim dan dibantu dengan gelombang mikro (*microwave*), yang disebut dengan MAE (*Microwave Assisted Extraction*). Metode ini memiliki keuntungan yaitu waktu ekstraksi lebih cepat, lebih efisien, gelombang mikro yang terdapat di *microwave* dapat meningkatkan suhu pelarut pada bahan, yang dapat menyebabkan dinding sel pecah dan zat-zat

yang terkandung di dalam sel keluar menuju pelarut, sehingga rendemen yang dihasilkan meningkat (Yulianti dkk., 2014; Zhang dkk., 2018).

Dalam penelitian ini air dipilih sebagai pelarut karena dapat menghasilkan konsentrasi steviosida lebih tinggi, lebih aman, dan halal dibandingkan dengan pelarut lainnya (Chandra, 2015). Selain dipengaruhi oleh jenis pelarut dan metode ekstraksi, ekstraksi daun stevia juga dipengaruhi oleh jumlah bahan baku dan waktu ekstraksi (Wuryantoro dkk., 2014). Penggunaan Enzim dalam proses ekstraksi juga dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Pemanfaatan enzim selulase dalam metode ekstraksi memiliki keunggulan dibandingkan metode konvensional melalui mekanisme destruksi dinding sel tanaman. Enzim selulase dapat memecah selulosa pada dinding sel tumbuhan menjadi gula sederhana seperti glukosa, sehingga menurunkan hambatan transfer massa dan mempermudah difusi senyawa target seperti Rebaudiosida-A keluar dari sel. Hasilnya, metode berbantuan enzim ini terbukti lebih produktif, menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dengan durasi proses yang lebih singkat, sekaligus meminimalkan kebutuhan pelarut organik (Khadim dkk., 2021).

Untuk mengetahui pengaruh faktor tersebut dalam ekstraksi stevia, maka diperlukan penelitian untuk mengetahui persentase enzim selulase yang paling tepat untuk menghasilkan karakteristik ekstrak stevia paling baik. Penelitian sebelumnya tentang ekstraksi steviol glikosida dari daun *Stevia rebaudiana* sebagian besar hanya menggunakan satu metode, seperti ekstraksi enzimatis atau ekstraksi *microwave*, tanpa memanfaatkan kombinasi kedua metode tersebut untuk meningkatkan efisiensi dan selektivitas ekstraksi. Selain itu, sebagian besar penelitian hanya berfokus pada total kandungan *steviol glikosida*, tanpa memberikan perhatian khusus pada senyawa rebaudiosida-A (reb-A), yang memiliki kualitas rasa yang lebih baik dibandingkan senyawa lain seperti *Steviosida*.

Penggunaan metode *Microwave-Assisted Enzymatic Extraction* (MAEE) pada ekstraksi daun stevia belum banyak dikaji, khususnya dalam pengaruh enzim terhadap kualitas ekstrak yang mengandung rebaudiosida-A. Penelitian yang dilakukan oleh Jaitak dkk, (2009) sebelumnya berfokus pada efisiensi metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk mengekstrak senyawa steviosida dan

rebaudiosida A, sedangkan penelitian Görgüç dkk, (2019) menerapkan metode *Microwave-Assisted Enzymatic Extraction* (MAEE) namun menggunakan jenis enzim campuran (*cocktail enzyme*). Oleh karena itu, kebaruan dalam penelitian ini terletak pada penggunaan enzim yang lebih spesifik, yaitu enzim selulase tunggal, dengan penerapan variasi konsentrasi untuk menentukan persentase enzim yang paling efektif dalam meningkatkan kualitas ekstrak daun *Stevia rebaudiana* khususnya dalam mengekstraksi senyawa rebaudiosida A. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan metode ekstraksi yang efektif dan efisien sehingga mampu meningkatkan mutu ekstrak stevia.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa rebaudiosida A teridentifikasi dalam ekstrak daun *Stevia rebaudiana* yang diekstraksi menggunakan metode *Microwave-Assisted Enzymatic Extraction* (MAEE) dengan variasi konsentrasi enzim selulase?
2. Variasi konsentrasi enzim selulase manakah yang memberikan hasil ekstraksi paling baik berdasarkan karakteristik organoleptik?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi keberadaan senyawa rebaudiosida-A dalam ekstrak daun *Stevia rebaudiana* hasil ekstraksi metode MAEE pada berbagai variasi konsentrasi enzim selulase.
2. Menentukan variasi konsentrasi enzim selulase yang menghasilkan ekstrak terbaik ditinjau dari uji organoleptik.

1.4 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesa yang ingin diperoleh dari penelitian yang akan dilakukan adalah:

1. Senyawa rebaudiosida-A dapat teridentifikasi pada ekstrak daun *Stevia rebaudiana* hasil metode MAEE pada variasi konsentrasi enzim yang digunakan (ditunjukkan dengan nilai R_f yang sesuai standar).
2. Terdapat salah satu variasi konsentrasi enzim yang memberikan hasil terbaik, ditandai dengan nilai R_f yang sesuai dengan nilai R_f standar dan profil organoleptik yang paling optimal.

1.5 Manfaat Penelitian

- a. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu di bidang bioteknologi ekstraksi modern, khususnya mengenai penerapan *Microwave-Assisted Enzymatic Extraction* (MAEE) dalam peningkatan efisiensi ekstraksi senyawa rebaudiosida A dari daun *Stevia rebaudiana*.

b. Manfaat Praktis

1. Pengembangan metode ekstraksi yang lebih efisien dan ramah lingkungan untuk menghasilkan pemanis alami berkualitas tinggi dari stevia.
2. Penelitian ini dapat meningkatkan nilai ekonomi stevia, memberikan manfaat ekonomi bagi petani dan produsen, serta memperkuat posisi produk stevia di pasar pemanis alami.

