

**PENGARUH RASIO MASSA DAUN SUJI / PELARUT,
TEMPERATUR DAN JENIS PELARUT PADA EKSTRAKSI
KLOROFIL DAUN SUJI SECARA BATCH
DENGAN PENGONTAKAN DISPERSI**



**Disusun Oleh:
Susiana Prasetyo S., ST, MT
Henny Sunjaya
Yohanes Yanuar N.**

**Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Katolik Prahayangan
2012**

ABSTRAK

Baru-baru ini penggunaan zat warna alami tergusur seiring maraknya zat warna sintetis yang relatif lebih mudah diperoleh dengan beragam pilihan warna. Namun tidak dapat dipungkiri bahwa penggunaan zat warna sintetis secara berlebihan dan dalam jangka waktu yang panjang dapat bersifat karsinogenik dan bahkan mutagenik. Oleh karena itu penelitian yang berfokus pada pengembangan dan penggalakan kembali penggunaan zat warna alami sangat potensial untuk dikembangkan. Daun suji merupakan salah satu sumber terbesar zat warna alami hijau yang telah lama dikenal masyarakat. Zat warna hijau daun suji merupakan senyawa klorofil yang jugabermanfaat sebagai zat antioksidan, antiseptik, agen detoks, dan penyerap kolesterol. Kandungan klorofil daun suji lebih besar bila dibandingkan dengan daun jenis lain seperti daun katuk, poh-pohan, kangkung, bayam,caisin, dan daun ilir, sekitar 1% berat basis kering bermiripan dengan kandungan di daun singkong yang tercatat sebagai sumber klorofil terbesar.

Penelitian ini difokuskan pada isolasi klorofil daun suji menggunakan metode pemisahan non destruktif. Metode yang dipilih adalah ekstraksi padat cair secara *batch* dengan pengontakan secara dispersi menggunakan pelarut yang relatif aman untuk pangan, meliputi alkhohol, etanol dan air. Hasil isolasi yang didapat diharapkan memiliki intensitas warna yang baik, tidak terdegradasi dan memiliki kestabilan yang baik terhadap lemak, panas, cahaya, pH, dll. sehingga dapat diaplikasikan secara meluas pada bidang pangan, farmasi maupun bidang lainnya. Penelitian ini akan sangat bermanfaat untuk meningkatkan nilai tambah daun suji sebagai salah satu tanaman yang tumbuh baik dan tersebar di seluruh wilayah Indonesia yang berorientasi pada kebutuhan pasar yang semakin cenderung tertarik pada bahan – bahan alami, terutama terkait dengan kesehatan dan keamanan pangan.

Kondisi ekstraksi yang diamati pada penelitian ini yaitu rasio massa daun suji/pelarut aseton 80 % (1:5 - 1:20) dan temperatur ekstraksi (28 – 50 °C) menggunakan rancangan percobaan *pentagonal design response surface* untuk

optimasi kondisi ekstraksinya. Respon yang diamati berupa *yield* klorofil, kadar produk klorofil, dan nilai kLa ekstraksi, di mana analisis penentuan *yield*, kadar klorofil, dan nilai kLa didasarkan pada metode spektrofotometri pada panjang gelombang 663 nm. Kondisi optimum ekstraksi klorofil daun suji diperoleh pada temperatur 36,2°C dengan rasio pelarut/daun suji sebesar 1:17.1 menggunakan pelarut aseton teknis 80% dengan *yield* sebesar 90,78% dan kadar (kemurnian) klorofil sebesar 60,03% .

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
ABSTRAK	v
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Kajian Masalah	2
I.3 Tujuan	4
I.4 Urgensi Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Tanaman Suji	6
II.2 Klorofil	7
II.2.1 Manfaat Klorofil	10
II.2.2 Sifat-sifat Klorofil	12
II.3 Ekstraksi Padat – Cair	17
II.3.1 Definisi dan Prinsip Ekstraksi	17
II.3.2.1 Maserasi atau Dispersi	19
II.3.2.2 Perkolasi atau Imersi	20
II.3.2.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi	22
II.4 Isolasi Klorofil dari Daun Suji	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Metodologi Penelitian	28
III.2 Alat dan Bahan Penelitian	29
III.3 Prosedur Penelitian	29
III.3.1 Perlakuan Awal Daun Suji.....	33
III.3.2 Penentuan Kecepatan Pengadukan	34
III.3.3 Ekstraksi Klorofil	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Perlakuan Awal Daun Suji	37
IV.2 Analisis Kandungan Daun Suji	38
IV.3 Penentuan Kecepatan Pengadukan yang Sesuai	39
IV.4 Ekstraksi Klorofil Daun Suji	39

IV.4.1 <i>Yield</i> Klorofil Daun Suji	41
IV.4.2 Kadar Klorofil.....	44
IV.4.3 Optimasi Kondisi Ekstraksi	47
IV.4.4 Koefisien Perpindahan Massa Volumetrik	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	51
V.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	53

DAFTAR TABEL

Tabel I.1	Produksi Tanaman Suji di Indonesia	1
Tabel II.1	Berbagai Rasio Klorofil a dan b pada Berbagai Jenis Daun	8
Tabel II.2	Beberapa Senyawa Turunan Klorofil	17
Tabel III.1	Bagan Rencana Penelitian dan Capaiannya.....	30
Tabel IV.1	Analisis Kandungan Daun Suji	38
Tabel IV.2	Keberadaan Senyawa Organik dalam Daun Suji	38
Tabel IV.4	Hasil Optimasi Kecepatan Pengadukan	39
Tabel IV.5	<i>Yield</i> Klorofil Daun Suji	41
Tabel IV.6.	Kadar Klorofil Ekstrak Daun Suji	44
Tabel IV.7	Kondisi Optimum berdasar Respon <i>Yield</i> dan Kadar Klorofil Secara Simultan	48
Tabel IV.8	Hasil Ekstraksi Klorofil Pada Kondisi Optimum	48
Tabel IV.9	kLa Ekstraksi Klorofil Daun Suji	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Struktur Molekul Klorofil dan Hemoglobin	10
Gambar II.2 Reaksi Pembentukan Senyawa Turunan Klorofil	14
Gambar III.1 Diagram Alir Singkat Metode Penelitian	28
Gambar III.2 Ekstraktor <i>Batch</i>	29
Gambar IV.1 <i>Blanching</i>	37
Gambar IV.2 Perbandingan Warna Ekstrak berdasar Jenis Pelarut	40
Gambar IV.3 Ekstrak yang Diperoleh	41
Gambar IV.4 Kecenderungan <i>Yield</i> Klorofil pada Berbagai Temperatur	42
Gambar IV.5 Kecenderungan <i>Yield</i> Klorofil pada Berbagai Rasio Massa Umpan Terhadap Pelarut	43
Gambar IV.6 Kecenderungan Kadar Klorofil pada Berbagai Temperatur	45
Gambar IV.7 Kecenderungan Kadar Klorofil pada Berbagai Rasio Massa Umpan Terhadap Pelarut	46
Gambar IV.8 Kondisi Optimum berdasar Respon Kadar Klorofil	47

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tanaman suji merupakan tanaman yang relatif mudah ditemukan di berbagai Negara karena tanaman ini tidak terlalu membutuhkan perlakuan khusus dalam pertumbuhan dan perkembangbiakannya, yang terpenting pada daerah pertumbuhannya tersebut tersedia cukup pasokan air. Di Indonesia, suji tumbuh dengan sangat baik dan bahkan secara liar. Produksi tanaman suji di Indonesia sepanjang 8 tahun terakhir disajikan pada Tabel I.1. [Badan Pusat Statistik, 2011]

Tabel I.1 Produksi Tanaman Suji di Indonesia

Tahun	Produksi (ton)
2003	2.553.020
2004	1.778.582
2005	1.131.621
2006	905.039
2007	2.041.962
2008	1.845.490
2009	2.262.505

Produktivitas dan ketersediaan tanaman suji di Indonesia dari tahun ke tahun sangat besar, terutama di daerah Jawa Tengah. Hal ini mendorong ide untuk meningkatkan pemanfaatan suji sebagai salah satu potensi lokal Indonesia yang patut diperhitungkan. Konon kabarnya, keberadaan tanaman suji di Indonesia bahkan mencapai produktivitas tertinggi dibandingkan kawasan Asia Tenggara lainnya.

Daun suji dapat memberikan warna hijau serta aroma harum pada bahan pangan. Inilah yang menjadi salah satu kelebihan yang ditawarkan dari penggunaan tanaman suji sebagai bahan aditif makanan karena selain menyajikan tampilan fisik yang baik serta menciptakan aroma khas yang dapat meningkatkan selera konsumen untuk memakannya. Namun, pemanfaatan suji sebagai pewarna pangan masih terbatas pada skala rumah tangga saja. Pemanfaatan dan pengolahan daun suji menjadi produk yang lebih komersial masih belum berkembang, padahal

potensi pemanfaatan suji sebagai zat pewarna alami ini sangat besar, bahkan bila didukung dengan pengembangan teknologi yang tepat oleh tenaga-tenaga ahli, potensi Indonesia untuk menjadi negara pemasok isolat pewarna pangan dari daun suji terbuka lebar. Bila diteliti lebih lanjut, senyawa aktif klorofil yang menyebabkan warna hijau pada daun suji ini pun memiliki banyak khasiat kesehatan. Namun ketidakstabilan senyawa ini membutuhkan proses lebih lanjut untuk diubah menjadi berbagai senyawa turunan dan kemudian dapat dikonsumsi oleh manusia dan pemanfaatan klorofil sebagai suplemen kesehatan tersebut tidak menjadi fokus kajian penelitian ini, walaupun dengan keberhasilan isolasi klorofil secara tidak langsung dapat membuka lebar pangsa pasar produk-produk kesehatan.

Sudah saatnya, Indonesia kembali membudidayakan penggunaan zat warna alami terlebih untuk penambahan zat di makanan. Mengingat iklim Indonesia yang tergolong tropis, banyak sekali tanaman dan hewan yang dapat hidup dan beradaptasi dengan baik. Keanekaragaman hayati tersebut merupakan modal yang baik sebagai sumber bahan baku pembuatan berbagai zat warna alami.

I.2 Kajian Masalah

Perolehan zat warna alami yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah dengan metode ekstraksi padat-cair. Metode ini merupakan metode pemisahan yang berkembang dengan cukup baik dan memberikan hasil pemisahan yang memuaskan. Secara umum, terdapat empat situasi dalam menentukan tujuan ekstraksi: [Anonim, 2010]

1. Senyawa kimia telah diketahui identitasnya untuk diekstraksi dari bahan. Dengan kata lain telah dilakukan uji kualitatif pada bahan akan kadnungan senyawa kimia tertentu yang ingin dipisahkan. Prosedur ekstraksi umum dapat diikuti bahkan dapat dilakukan beberapa modifikasi yang sesuai untuk menyesuaikan dengan hasil yang diinginkan.
2. Bahan diperiksa untuk menemukan kelompok senyawa kimia tertentu, misalnya alkaloid, flavanoid atau saponin, meskipun struktur kimia dari organisme ini belum diketahui. Dalam situasi seperti ini, metode umum yang

dapat digunakan untuk senyawa kimia yang diminati dapat diperoleh dari pustaka. Hal ini diikuti dengan uji kimia atau kromatografi yang sesuai untuk kelompok senyawa kimia tertentu.

3. Bahan digunakan dalam pengobatan tradisional seringkali membutuhkan herba yang dididihkan dalam air dan sari dalam air untuk diberikan sebagai obat. Proses ini sangat bermanfaat terlebih jika ekstrak dibutuhkan untuk kajian ilmiah biologi atau kimia lebih lanjut, khususnya jika tujuannya untuk memvalidasi penggunaan obat tradisional.
4. Sifat senyawa yang akan diisolasi belum ditentukan sebelumnya dengan cara apapun. Situasi ini (utamanya dalam program skrining) dapat timbul jika tujuannya adalah untuk menguji organisme, baik yang dipilih secara acak atau didasarkan pada penggunaan tradisional untuk mengetahui adanya senyawa dengan aktivitas biologi khusus.

Dengan berdasar pada keempat situasi di atas, proses ekstraksi kemudian diupayakan untuk dapat memperoleh zat warna alami yang terkandung dalam daun suji dengan mengamati beberapa pengaruh variabel yang ada seperti jenis pelarut, temperatur operasi proses ekstraksi dan perbandingan umpan terhadap pelarutnya, serta kemudian mencari kondisi optimum dari rentang variabel operasi yang dilakukan. Dari hasil penelitian yang diperoleh diharapkan kemudian dapat menjadi acuan bagi ekstraksi zat warna dalam daun suji dan mendukung kemungkinan dilakukannya *scale-up*.

Ekstraksi dilangsungkan di dalam ekstraktor *batch* yang dilengkapi dengan *waterbath* dan pengontakan secara dispersi. pH ekstraksi dijaga di sekitar kondisi netral untuk menjaga kestabilan klorofil yang diperoleh. Selain itu, dalam penelitian dilakukan beberapa uji kualitatif akan keberadaan senyawa organik lain dalam daun suji untuk mengetahui kecenderungan ikut atau tidaknya senyawa-senyawa tersebut saat ekstraksi klorofil dilakukan. Dengan adanya penelitian ini diharapkan akan diperoleh gambaran kondisi optimum dari variabel F:S dan temperatur sehingga hasil ekstrak zat warna dapat lebih tinggi serta jenis pelarut yang paling sesuai digunakan untuk mengekstrak klorofil dan dapat menjadi pedoman dalam melakukan pengembangan baik di skala *pilot plant* atau bahkan di industri.

I.3 Tujuan

Tujuan utama dari penelitian ini adalah:

1. Mempelajari prinsip pemisahan campuran secara difusional dengan metode ekstraksi padat-cair (*leaching*).
2. Mempelajari prinsip perpindahan massa yang terjadi pada ekstraksi padat cair dan faktor pendukung terjadinya perpindahan massa tersebut.
3. Mempelajari pengaruh jenis pelarut, rasio massa umpan terhadap pelarut, kecepatan pengadukan, temperatur ekstraksi, ukuran partikel, dengan penetapan beberapa variabel yang di kisaran optimumnya terlebih dahulu sehingga pengaruh yang lebih dikaji khusus lebih condong pada jenis pelarut, temperatur, dan F:S.
4. Mempelajari interaksi variabel temperatur, dan F:S terhadap difusi massa, kuantitas, dan kualitas zat warna yang akan dihasilkan pada ekstraksi menggunakan pelarut teknis berupa aseton 80 %, etanol 95 %, serta air secara *batch* dan pengontakan dispersi dan menentukan kondisi optimum ekstraksi.

I.4 Urgensi Penelitian

Penemuan zat warna sintetis secara cepat menggantikan penggunaan zat warna alami di berbagai bidang. Akan tetapi penggunaan zat warna sintetis di bidang pewarnaan bahan pangan menimbulkan beberapa masalah yang belum ditemukan solusi pemecahannya. Zat warna sintetis bila dikonsumsi secara berlebihan dan dalam jangka waktu yang panjang akan bersifat karsinogenik dan bahkan mutagenik. Namun, kepraktisan dan kemudahan yang ditawarkan dalam penggunaannya zat warna sintetis menyebabkan terabaikannya aspek kesehatan dari bahan pangan tersebut. Dewasa ini sering ditemukan kasus di mana pewarna pakaian seperti Rhodamin B digunakan sebagai pewarna makanan bahkan hal ini sering ditemukan di jajanan anak sekolah. Hal ini tentu saja sangat berbahaya dan perlu mendapat perhatian dari pemerintah. Kecemasan akan dampak negatif dari penggunaan zat warna sintetis di bidang pangan ini harus segera ditindaklanjuti. Penelitian ini menawarkan salah satu solusi penggalakan kembali penggunaan zat warna alami hijau daun pandan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Suji

Tanaman suji, konon kabarnya berasal dari negara Zaire dan Kamerun, termasuk jenis famili *Liliaceae* dengan bentuk fisik yang persis bambu. Tanaman ini sangat mudah beradaptasi, dan tumbuh di berbagai jenis tanah dan tempat, bahkan dapat tumbuh dengan baik hanya dengan merendam di dalam air (mendapat pasokan air yang cukup). Pada umumnya, suji akan tumbuh di daerah dengan iklim tropis atau subtropis. Penyebaran tanaman ini meliputi kawasan India, Birma (Myanmar), Indo-Cina, Cina bagian selatan, Thailand, Jawa, Filipina, Sulawesi, Maluku, New Guinea dan Australia bagian utara. Suji akan tumbuh subur hingga ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut, dan menyukai daerah pegunungan atau dekat aliran air (sumur, sungai kecil). [Lemmens, R.H.M.J. , 2003 ; Anonim, 2011]

Klasifikasi lengkap tanaman suji sebagai berikut: [Lemmens, R.H.M.J. , 2003 ; Anonim, 2011]

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Infradivisi : *Radiatopses*
Class : *Monocotiledoneae*
Subclass : *Lilidae*
Superorder : *Lilianaes*
Order : *Liliales*
Family : *Liliaceae*
Genus : *Dracaena* atau *Pleomele*
Spesies : *Dracaena angustifolia* atau *Pleomele angustifolia* N.E.Br

Suji merupakan tanaman perdu tahunan dengan tinggi 6-8 meter dan bercabang cukup banyak dengan panjang cabang mencapai 75 cm. Tanaman ini tergolong tanaman liar yang sering ditemukan di daerah pinggir-pinggir pagar

atau pembatas tanah bahkan di sekitar sudut kuburan, merupakan tanaman pekarangan dengan bentuk yang indah sehingga sering digolongkan sebagai tanaman hias. Bagian akar dari tanaman suji ini tergolong akar serabut dan biji dari tanaman suji ini berkeping tunggal/monokotil. Bagian batang tumbuh dengan tegak, berkayu, beralur melintang, dan berwarna putih kotor. Tanaman ini sesekali berbunga dan bunganya berupa bunga majemuk yang tersusun melingkar dengan mahkota bunga berwarna putih kekuningan dan dapat menyebarkan aroma wangi, terutama pada sore hari., kadang-kadang dengan semburat ungu. Buah berbentuk bulat dengan 3 cuping, diameter 1,5-2,5 cm, berwarna jingga terang, dan masing-masing buah mengandung 1-3 biji. [Lemmens, R.H.M.J. , 2003 ; Anonim, 2011]

Bagian tanaman yang akan diamati adalah bagian daun. Daun suji berbentuk memanjang dan tersusun melingkar, memita dan kemudian menyempit di bawah dasar pelepah, sangat meruncing dengan panjang 16-20 cm, lebar 3-4 cm, pertulangan sejajar, dan berwarna hijau tua. Karena keindahan bentuk daunnya, tanaman ini seringkali digunakan sebagai tanaman hias. Daun suji memiliki rasa yang tidak pahit, berbau harum dan bersifat dingin. Daun suji yang paling banyak ditemukan di Pulau Jawa dapat dibedakan dalam 2 jenis yaitu jenis *Typica* dan *Minor*. Pada jenis *Typica* daun memiliki panjang sekitar 60 cm, mahkota bunga besar, hidup pada ketinggian kurang dari 500 m di atas permukaan laut. Jenis *Minor* memiliki daun yang pendek dan tidak besar, mahkota bunga kecil, tumbuh liar sampai ketinggian 1000 m di atas permukaan laut dan ditanam untuk pagar atau di sekitar sumur. [Lemmens, R.H.M.J. , 2003]

Tanaman suji dalam aplikasinya di kehidupan memiliki berbagai kegunaan. Secara tradisional, tanaman suji telah dimanfaatkan baik untuk bidang pangan, kosmetika maupun pengobatan. Di bidang pangan, ekstrak daun suji dalam medium air telah biasa digunakan sebagai pewarna berbagai makanan tradisional seperti pada cendol. Selain memberikan warna hijau pada makanan, daun suji juga memberikan aroma harum yang khas, meskipun tidak seharum daun pandan. Sedangkan pucuk-pucuk mudanya dapat dibuat sayur. [Lemmens, R.H.M.J. , 2003]

Selain sebagai pewarna pangan, daun suji dapat digunakan sebagai pewarna kertas, minyak jarak dan minyak kelapa. Di bidang kosmetika, ekstrak

daun suji digunakan sebagai penyubur rambut. Di bidang pengobatan, air rebusan akar tanaman suji digunakan sebagai campuran obat sakit gonorrhoe, mengobati penyakit beri-beri dengan cara menggosokkan kuat-kuat daun yang telah dipanaskan pada anggota tubuh penderita, nyeri lambung dan haid, bahkan sebagai penawar racun (anti disentri). Pengobatan tradisional Asia Timur mengenal rimpang dan akar suji sebagai sumber tonikum dan diduga berkhasiat mengobati leukemia. Buah suji dapat digunakan untuk penambah nafsu makan dan menurunkan tekanan darah tinggi. Penggunaannya dengan cara langsung memakan buah tersebut. [Anonim,2011]

II.2 Klorofil

Pada awal tahun 1782, seorang ilmuwan bernama Senebier menemukan suatu senyawa kimia berwarna hijau, yang kemudian pada tahun 1818 oleh Pelletier dan Caventou diberi nama pigmen hijau alami tumbuhan bernama klorofil. Penelitian lebih lanjut akan senyawa ini dilanjutkan oleh Berzellius dan Verdeil pada tahun 1839 dan 1851 yang berhasil mengisolasi pigmen klorofil dan menemukan kesamaan struktur molekul antara pigmen klorofil ini dengan pigmen merah yang terdapat pada darah mamalia yaitu haemoglobin.

Kontribusi fundamental lainnya dari para peneliti pendahulu yaitu keberhasilan Stokes menemukan klorofil sebagai pigmen hijau yang selalu ditemukan bersamaan dengan senyawa tumbuhan lainnya sebagai suatu campuran. Pada tahun 1906, Tswett merupakan peneliti yang pertama kali sukses memisahkan klorofil dengan cara kromatografi yang kemudian dikembangkan oleh Fischer dan Rothemund dalam pengembangan senyawa turunan klorofil dan penamaan dari gugus yang melekat di klorofil itu sendiri. [Othmer, 1993] Sumber klorofil yang paling nyata adalah sayuran hijau. Akan tetapi, kandungannya akan menurun bila dimasak. Proses pemanasan saat memasak dapat merusak hampir semua kandungan klorofilnya. [Anonim, 2011]

Setiap sel tumbuhan terdapat organel sel yang dinamakan kloroplas. Dalam kloroplas akan dihasilkan pigmen yang akan menyebabkan warna hijau pada tumbuhan (klorofil). Klorofil dapat ditemukan pada daun dan permukaan batang, yaitu di dalam lapisan sponge di bawah kutikula. Klorofil berikatan erat

dengan lipid, protein dan lipoprotein. Kloroplas kering mengandung sekitar 10 % klorofil dan 60 % protein. Klorofil sangat sensitif terhadap cahaya, terutama sinar dengan warna ungu atau biru dan jingga atau merah. Klorofil yang tersebar di berbagai jenis tumbuhan ada 5 macam yaitu a,b,c,d, dan e. Klorofil yang terdapat pada daun suji terdiri dari klorofil a dan b, sedangkan golongan klorofil c sampai e hanya ditemukan pada golongan alga. [Anonim, 2011]

Kandungan klorofil pada beberapa tanaman sekitar 1% basis kering dengan perbandingan umum jumlah klorofil a dan b sebesar 3:1. Namun besar perbandingan tersebut tidaklah pasti, masih dapat bervariasi dan dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan dan faktor lingkungan. [Anonim, 2011] Beberapa rasio klorofil a dan b pada berbagai jenis daun disajikan pada Tabel II.1.

Tabel II.1 Berbagai Rasio Klorofil a dan b pada Berbagai Jenis Daun

JENIS	KANDUNGAN KLOOROFIL ($\mu\text{g/g}$ bahan)			
	a	b	Total	Rasio a : b
Daun singkong	2853,2	1114,3	3967,5	2,6:1
Daun katuk	1688,1	513,9	2202,0	3,3:1
Daun poh-pohan	1495,4	587,1	2013,5	2,9:1
Daun kangkung	1493,6	519,9	2013,5	2,9:1
Daun bayam	1205,0	255,9	1460,9	4,7:1
Daun kemangi	842,9	479,8	1322,7	1,8:1
Caisin	815,0	393,1	1208,1	2,1:1
Selada	482,7	148,6	631,3	3,2:1
Alang-alang	1831,2	495,1	2326,3	3,7:1
Rumput gajah	2123,7	549,5	2673,2	3,9:1

[Sumber: Anonim, 2011]

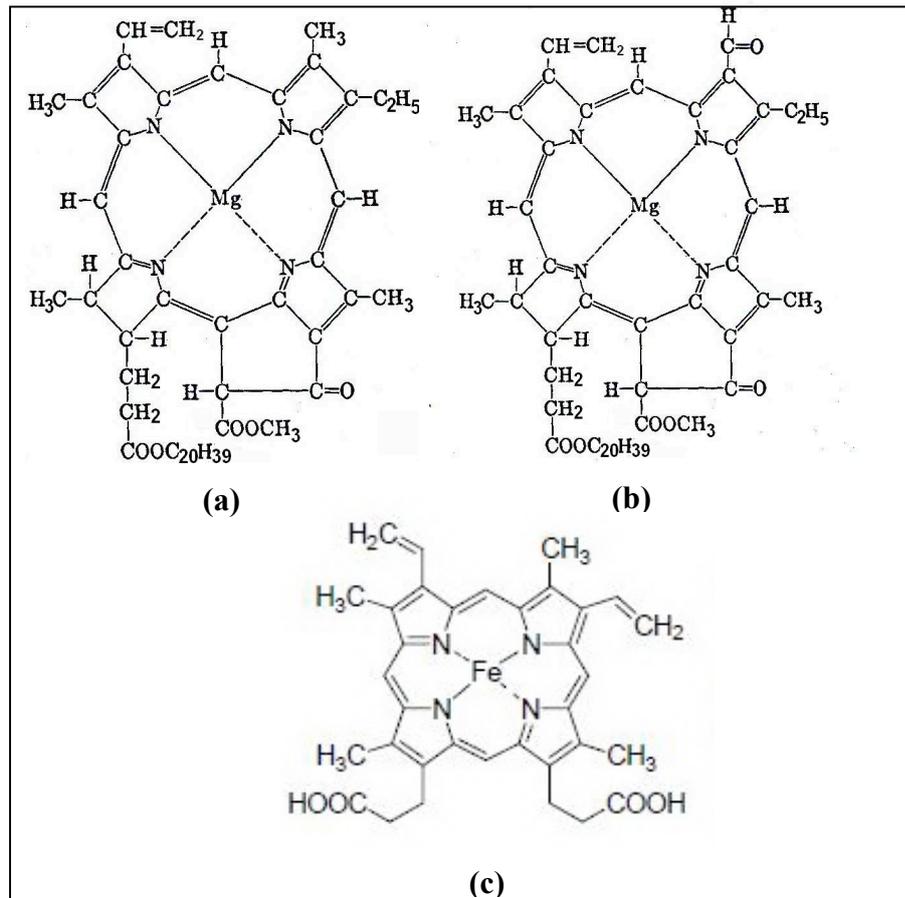
Berdasarkan penelitian Istichomah (2004) dalam Limantara (2008) kandungan klorofil dalam daun suji sekitar 2053,8 $\mu\text{g/g}$. Sedangkan berdasarkan Hakim kandungan klorofil dalam daun suji sekitar 3773 $\mu\text{g/g}$ dengan rasio klorofil a dan b sebesar 2:1. Kandungan klorofil a lebih besar dari kandungan klorofil b.

Pembentukan klorofil a dipengaruhi oleh adanya cahaya yang mereduksi protoklorofilida menjadi klorofil a, yang kemudian dioksidasi menjadi klorofil b. Terbentuknya klorofil b yang lebih banyak pada keadaan ternaungi diduga karena adanya ketidakseimbangan pembentukan klorofil akibat pengurangan intensitas radiasi. Sementara konversi menjadi klorofil b relatif tidak dipengaruhi oleh intensitas secara langsung. [Ruth Maduma D. Sianturi, 2011]

Molekul klorofil terdiri dari sebuah porfirin sebagai kepala, yang bersifat polar (larut dalam air), yang terbentuk dari cincin tetrapirrol dengan sebuah atom Mg dan sebuah fitol sebagai ekor. Klorofil a merupakan klorofil dengan warna hijau kebiruan dengan susunan kimia $C_{55}H_{72}MgN_4O_5$. Pada susunan klorofil a, atom logam Mg akan diikat dengan N dari 2 cincin pirol dengan ikatan kovalen biasa serta oleh 2 atom N dari cincin pirol lainnya dengan ikatan kovalen koordinat di mana N dari pirol yang akan menyumbangkan pasangan elektronnya untuk dipakai bersama dengan Mg. Pada klorofil jenis ini terjadi substitusi substitusi metil pada posisi 1, 3, 5 dan 8, vinil pada posisi 2, etil pada posisi 4, propionat yang diesterifikasi dengan fitil alkohol (fitol) pada posisi 7, keto pada posisi 9 dan karbometoksi pada posisi 10.

Hemoglobin termasuk ke dalam jenis pigmen yang serupa dengan klorofil a yaitu porfirin (di mana atom logam diapit oleh 4 atom N dari cincin pirol), bedanya atom logam yang ada pada hemoglobin bukanlah Mg melainkan Fe. Sedangkan klorofil b merupakan klorofil dengan warna hijau kekuningan dengan susunan kimia $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$. Klorofil jenis ini memiliki struktur yang sama dengan klorofil-a, kecuali pada posisi 3 terdapat gugus formil, bukan gugus metil yang dimiliki klorofil a.^{11,13} Struktur molekul dari klorofil a, klorofil b serta hemoglobin yang mana struktur molekulnya bermiripan dengan struktur molekul dari klorofil disajikan pada Gambar II.1.

Perbedaan dalam struktur dari dua klorofil tersebut kemudian menghasilkan perbedaan dalam penyerapan spektrum, hijau kebiruan untuk klorofil a dan hijau kekuningan untuk klorofil b. Posisi penyerapan maksimum bervariasi sesuai dengan pelarut yang digunakan. Klorofil merupakan ester dan larut pada pelarut organik.[Anonim, 2011]



Gambar II.1 Struktur Molekul Klorofil dan Hemoglobin

(a) Klorofil a (b) Klorofil b (c) Hemoglobin (Othmer, 1993)

II.2.1 Manfaat Klorofil

Klorofil dan senyawa turunannya dapat diaplikasikan dengan baik dalam berbagai industri. Sebagai contoh dalam pewarna serat, resin atau tinta tertentu. Karena sifatnya yang aman dalam mewarnai lemak dan minyak, klorofil sangat baik dan aman sebagai pewarna makanan yang mengandung lemak atau minyak. Karena kelarutannya dalam lemak dan minyak, serta sifatnya yang tidak mengiritasi, klorofil dipandang sebagai pewarna yang baik untuk kosmetik, parfum, lotion, bahkan krem muka. Klorofil juga telah dimanfaatkan dalam industri pembuatan sabun, baik sebagai pewarna maupun sebagai material pelapis karena kestabilannya pada suasana alkali serta kelarutannya dalam minyak dan silikat yang ditambahkan dalam pembuatan sabun. Klorofil dan beberapa senyawa turunannya juga ditemukan memiliki kecenderungan *antiknocking* ketika ditambahkan pada mesin gasoline. [Othmer, 1993]

Dalam kehidupan sehari-hari pemakaian klorofil telah berkembang dengan luas dalam dunia pengobatan. Beberapa manfaat klorofil yang telah diakui antara lain: [Othmer, 1993 ; Anonim, 2011]

1. Zat warna alami
2. Antioksidan/ penghancur radikal bebas.
Penelitian membuktikan kerusakan DNA akibat aflatoksin (senyawa karsinogen) berkurang 50% dengan konsumsi klorofil sebanyak 300 mg/hari.
3. Zat anti kanker
4. Zat antiseptik
5. Zat antigenotoksik
6. Zat yang berperan dalam regenerasi sel dan jaringan
Klorofil akan meningkatkan sistem kekebalan dalam tubuh, dengan segera mengganti keberadaan sel rusak sehingga virus tidak dapat menyerang kesehatan manusia.
7. Agen detoks dan penyerap kolesterol dalam tubuh manusia
Bagian ekor klorofil bersifat lipofilik (suka lemak) mampu menembus sel tubuh dengan sangat cepat tanpa halangan (*barrier*) mengikat dan menarik keluar semua senyawa hidrokarbon berbahaya seperti obat-obat yang tertimbun dalam tubuh, pengawet dan perasa makanan, nikotin, narkotika, logam berat dari air minum dan asap knalpot sekalipun. Keberadaan klorofil dapat membantu kinerja organ hati dalam tubuh manusia. Selain itu bagian ekor yang lipofilik pun dapat menyerap kolesterol yang mengkristal di peredaran darah.
8. Penyeimbang (regulator) asam, tekanan dan gula darah
Keberadaan asam dalam makanan yang dikonsumsi dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti asam urat, maag, lemahnya kardiovaskular, gangguan ginjal, dan keropos tulang. Klorofil menetralkan keberadaan asam karena bersifat basa kuat.
9. Memperkuat sistem peredaran darah, reproduksi, pencernaan dan pernapasan
Klorofil secara efisien melepaskan Mg dan membantu darah membawa O₂ yang dibutuhkan ke semua sel di jaringan tubuh. Distribusi O₂ yang baik dalam tubuh akan menunjang reproduksi, pencernaan, dan pernapasan.

II.2.2 Sifat-sifat Klorofil

Secara kimiawi, senyawa klorofil baik klorofil a maupun klorofil b mengandung senyawa turunan pirol dan dengan adanya kandungan magnesium di struktur pusatnya, serta adanya gugus ester pada fitol alkohol tidak jenuhnya, seperti $C_{20}H_{29}OH$, atau $(CH_3)_2CH(CH_2)_3CH(CH_3)(CH_2)_3-CH(CH_3)(CH_2)_3C(CH_3) : CHCH_2OH$, dimana senyawa ini memiliki titik didih $203 - 204 ^\circ C$. Klorofil a lebih mudah meleleh dibandingkan klorofil b karena titik lelehnya yang lebih rendah yaitu sebesar $117 - 120 ^\circ C$ sedangkan titik leleh klorofil b sebesar $120 - 130 ^\circ C$. [Othmer, 1993]

Senyawa klorofil merupakan senyawa yang cukup peka terhadap perubahan cahaya, temperatur, pH, dan oksigen. Senyawa klorofil akan bekerja stabil dalam menunjukkan warna hijau pada rentang temperatur kamar hingga $100 ^\circ C$ dan pada pH sekitar netral (7 - 8). Pada pH asam (3 - 5) dan pH basa (11 - 12) klorofil mengalami reaksi dan menghasilkan berbagai senyawa turunan klorofil. Pada suasana asam, atom Mg akan diganti dengan atom H sehingga terbentuk senyawa yang disebut feofitin yang berwarna kecoklatan. Namun dengan adanya perlakuan penambahan basa seperti kapur tohor, reaksi tersebut dapat dihindari sehingga klorofil tidak bereaksi membentuk feofitin. Dari struktur kimianya, dapat dilihat klorofil a bersifat kurang polar atau bahkan sering digolongkan sebagai senyawa non polar, sedangkan klorofil b bersifat polar. Sifat kimia dari klorofil dipengaruhi oleh karbon ketujuh yang mengandung residu propionat, dan teresterifikasi dengan fitol . [Othmer, 1993, Anonim, 2011]

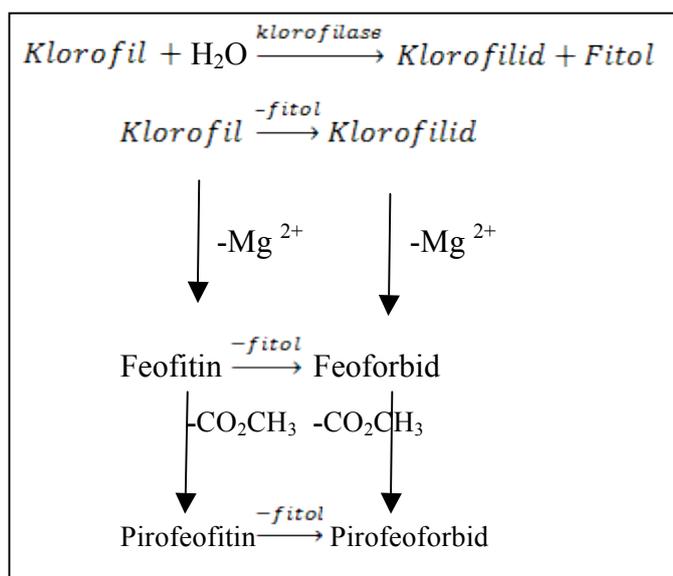
Ketidakstabilan senyawa klorofil dalam daun suji dapat menghambat dan mengganggu perolehan klorofil dalam proses ekstraksi padat-cair ini. Namun di lain pihak, ketidakstabilan klorofil dalam daun suji dapat diatasi dengan penambahan zat penstabil klorofil yang cocok seperti asam sitrat dan soda kue, magnesium karbonat 1%, kalsium karbonat, atau dengan dimetilanilina. Tujuan penambahan zat stabil adalah diperolehnya zat warna alami yang stabil pada jangka waktu penyimpanan tertentu sekaligus mencegah terbentuknya senyawa turunan klorofil saat ekstrak berada dengan banyak asam organik. [T. Robinson, 1995 ; R. Utami, 2011]

Proses lain seperti *blanching* juga perlu diterapkan dalam ekstraksi karena dengan adanya blanching akan menghambat kerja dari enzim klorofilase sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya degradasi warna atau bahkan penurunan kuantitas klorofil. *Blanching* dapat dilakukan dengan pencelupan bahan yang dalam hal ini daun suji ke dalam air panas 100°C selama kurang lebih 1 menit. Keberadaan pencelupan air mendidih ini selain dapat menghambat kerja enzim, dapat pula membunuh sel tumbuhan sehingga organel kloroplas kemudian hancur dan klorofil dapat keluar dengan mudah. Kadar total klorofil dan kapasitas antioksidan ekstrak suji menurun selama penyimpanan selama 1 bulan pada temperatur refrigerasi. [T. Robinson, 1995 ; R. Utami, 2011]

Berkaitan dengan kepekaannya terhadap cahaya, absorbansi pigmen klorofil akan menurun seiring semakin lamanya waktu penyinaran. Peristiwa ini dikenal sebagai fotooksidasi. Dengan penambahan kurkumin, senyawa klorofil baik klorofil a maupun b akan relatif lebih stabil terhadap fotooksidasi. Senyawa lain yang dipercaya dapat ditambahkan untuk meningkatkan kestabilan klorofil terhadap cahaya adalah asam askorbat. Namun penambahan asam askorbat ini akan dapat menurunkan intensitas dari warna hijau yang dihasilkan daun suji. Oleh karena ketidakstabilannya terhadap cahaya maka pengerjaan dapat dilakukan di ruangan gelap. [T. Robinson, 1995 ; R. Utami, 2011 ; J.B Harborne, 1996]

Senyawa klorofil alami akan bersifat lipofilik karena keberadaan gugus fitol yang menjadi bagian ekor dari susunan klorofil. Klorofil akan terhidrolisis dengan asam atau klorofilase yang kemudian akan mengubah gugus fitol menjadi berbagai turunan klorofil yang larut dalam air (hidrofilik). Contoh senyawa turunan klorofil yang bersifat hidrofilik adalah klorofilid dan klorofilin. Secara in vitro, penyerapan klorofilin 6 - 9 kali lebih besar dibanding klorofil alami. Bila ditinjau dari segi kelarutannya, klorofil mudah larut dalam pelarut organik seperti aseton dan metanol. Klorofil-a dan feofitin-a larut dalam alkohol, eter dan aseton. Dalam keadaan murni sedikit larut dalam petroleum eter dan tidak larut dalam air. Klorofilid dan feoforbida tidak larut dalam pelarut organik tetapi larut dalam air. [Anonim, 2011 ; R. Utami, 2011 ; F.Salisbury dan C.W. Ross, 1995]

Klorofil merupakan senyawa yang mudah terdegradasi dengan adanya perubahan pH, temperatur, oksigen, dan cahaya. Telah disinggung sepintas sebelumnya, adanya perubahan pH, dapat menyebabkan reaksi feofitinisasi, reaksi pembentukan klorofilid dan reaksi oksidasi. Beberapa reaksi pembentukan senyawa turunan klorofil disajikan pada Gambar II.2. [Anonim, 2011]



Gambar II.2 Reaksi Pembentukan Senyawa Turunan Klorofil

[Sumber: Anonim, 2011]

Reaksi feofitinisasi yang biasa terjadi dapat dilihat pada proses perebusan sayuran yang mengandung klorofil. Klorofil terdapat dalam bentuk terikat secara kompleks dengan molekul protein. Pada proses perebusan tersebut, protein dari senyawa kompleks tersebut akan mengalami denaturasi, sehingga klorofil akan dibebaskan. Klorofil yang bebas ini sangat tidak stabil, dan ion magnesium yang terdapat di dalamnya dapat dengan mudah digantikan oleh ion hidrogen. Akibatnya warna sayuran yang semula hijau berubah menjadi kecoklatan karena terbentuknya feofitin. Reaksi feofitinasasi pada klorofil a membutuhkan energi aktivasi sekitar 25,2 kkal/mol yang lebih besar bila dibandingkan energi aktivasi untuk klorofil b yang sebesar 22,5 kkal/mol. Namun hal itu tidak mempengaruhi kecepatan feofitinasasi klorofil a yang berlangsung lebih cepat 5-10 kali membentuk feofitin a dibanding pembentukan feofitin b. [Anonim, 2011]

Reaksi pembentukan klorofilid dapat terjadi melalui hidrolisis klorofil menjadi klorofilid dan fitol baik dalam kondisi asam maupun basa. Oleh karena itu, reaksi pembentukan klorofilid disebut juga dengan reaksi pelepasan fitol. Pembentukan klorofilid dikatalisis secara enzimatik oleh adanya enzim klorofilase. Enzim klorofilase biasa ditemukan dalam jaringan tanaman hijau. Enzim klorofilase dapat menghidrolisis gugus fitol dari klorofil sehingga terlepas membentuk klorofilid. Penghilangan gugus fitol dari klorofil akan menghasilkan molekul klorofilid yang bersifat polar dan larut dalam air. Klorofilid juga dapat kehilangan ion magnesium yang diganti dengan ion hidrogen membentuk feoforbid. [Anonim, 2011; R. Utami, 2011 ; F.Salisbury dan C.W. Ross, 1995]

Enzim klorofilase termasuk jenis enzim esterase. Enzim ini bersifat dapat mengkatalisis hidrolisis ikatan ester antara residu asam 7-propionat pada cincin IV makrosiklik dengan fitol, baik pada klorofil maupun feofitin. Pada temperatur kamar enzim ini hanya aktif jika ada pelarut-pelarut organik. Sedangkan dalam pelarut air, fungsi enzim akan optimum pada kisaran temperatur 65 - 75 °C. Diduga hal ini diakibatkan oleh keadaan enzim yang secara fisik terikat kuat pada lipoprotein lamela. Menurut laporan Mac Kinney dan Weast (1940) bahwa aktifitas maksimum dari enzim klorofilase adalah 75 °C. Jones *et al.* (1963) melaporkan bahwa blansir pada temperatur 100⁰C selama 4 detik secara nyata menginaktivasi enzim klorofilase. Hal ini ditandai dengan sedikitnya atau tidak ada perubahan ke arah pembentukan klorofilid atau feoforbid. [Anonim, 2011; F.Salisbury dan C.W. Ross, 1995]

Selain itu, klorofil termasuk senyawa yang relatif mudah mengalami reaksi redoks. Reaksi oksidasi klorofil terjadi pada grup fungsionalnya yaitu cincin isosiklik yang membentuk klorofil teralomerasi dan pecahnya cincin tetrapireol sehingga membentuk produk yang tidak berwarna). Menurut Gross (1991), proses ini dinamakan alomerisasi karena produk oksidasi tersebut mempunyai absorbs spektra yang identik dengan senyawa induknya. Klorofil dioksidasi secara spontan oleh oksigen atmosfer meskipun dalam kondisi gelap. Alomerisasi klorofil dapat diperoleh dengan melewatkan O₂ selama 72 jam pada larutan klorofil dalam metanol. Senyawa ini juga dapat terbentuk selama perebusan dedaunan. Proses fotoksidasi klorofil dapat dihambat dengan karotenoid. Reaksi oksidasi dapat

dibagi menjadi reaksi oksidasi non enzimatis dan reaksi oksidasi enzimatis [Anonim, 2011; Othmer, 1993; J.B.Harborne, 1996]

Reaksi oksidasi non enzimatis terjadi karena pemanasan dan selama penyimpanan. Menurut Eskin (1979), kecepatan degradasi oksidatif meningkat sejalan dengan lamanya pertambahan waktu blansir dan penyimpanan. Pengaruh blansir tampak dalam dua hal. Pertama, blansir menginaktivasi enzim-enzim yang membantu degradasi klorofil sehingga klorofil lebih stabil selama penyimpanan. Kedua, blansir dalam waktu yang lama, meskipun menginaktivasi enzim, tetapi merangsang reaksi oksidasi yang mengakibatkan kehilangan klorofil. Waktu blansir yang paling optimum adalah 45 detik sampai satu menit, dimana aktivitas enzim dan perangsang reaksi oksidasi dihambat. Reaksi oksidasi enzimatis terjadi dengan adanya enzim lipoksigenase (linoleat oksidoreduktase) yang terdapat di sebagian besar sayuran dan buah-buahan. Enzim lipoksigenase diidentifikasi sebagai enzim yang memberikan pengaruh pemucatan pada klorofil a dan klorofil b dengan kehadiran lemak dan oksigen. Enzim ini mengkatalisis reaksi oksidasi klorofil jika diinkubasi dengan asam linoleat atau linolenat. [Anonim, 2011; R. Utami, 2011; F.Salisbury dan C.W. Ross, 1995]

Pemanasan merupakan proses fisika yang dapat mengakibatkan kerusakan klorofil. Klorofil terdapat dalam bentuk ikatan kompleks dengan protein yang diduga menstabilkan molekul klorofil dengan cara memberikan ligan tambahan. Pemanasan dapat mengakibatkan denaturasi protein sehingga klorofil menjadi tidak terlindung lagi. Selama pemanasan, asam-asam organik dalam jaringan dibebaskan yang mengakibatkan pembentukan feofitin. Pemanasan juga memberi pengaruh terhadap aktivitas enzim klorofilase dan enzim lipoksigenase. Pengaruh blansir pada sayuran hijau terhadap pembentukan klorofilid dan feoforbid menunjukkan bahwa blansir pada temperatur 82,2 °C meningkatkan aktivitas enzim klorofilase, tetapi blansir pada temperatur 100 °C membuat klorofilase inaktif. Senyawa turunan yang dihasilkan klorofil disajikan pada Tabel II.2 ditunjukkan berbagai rumus molekul senyawa turunan klorofil dan komposisi unsur utama di dalamnya. [Anonim, 2011; Othmer, 1993; J.B.Harborne]

Tabel II.2 Beberapa Senyawa Turunan Klorofil

TURUNAN	KETERANGAN
Klorin	Dihidroporfirin
Rodin	Dihidroporfirin dengan karbonil berdampingan dengan cincin pirol
Forbin	Dihidroporfirin dengan cincin karboksilik tambahan
Forbida	Ester dari forbin
Feoforbida	Ester metil dari forbin
Fitin	Ester fitil dari forbin
Feofitin	Ester metil dan fitil dari forbin
Filin	Turunan magnesiumium dari salah satu senyawa diatas
Klorofilin	Turunan magnesiumium dari fitin
Klorofilid-a	Turunan magnesiumium dari feoforbida

[Sumber: Anonim, 2011 ; J.B.Harborne]

II.3 Ekstraksi Padat – Cair

II.3.1 Definisi dan Prinsip Ekstraksi

Terdapat berbagai metode pemisahan campuran baik yang berlaku secara fisika maupun kimia. Dalam suatu proses pemisahan, substansi yang akan dipisahkan dapat bergerak secara difusi di antara fase yang berbeda. Proses ekstraksi merupakan salah satu proses pemisahan secara difusional satu atau bahkan beberapa bahan yang berasal dari suatu padatan atau cairan menggunakan bantuan pelarut. Dengan adanya kontak dengan pelarut, zat terlarut (*solute*) yang terkandung dalam umpan akan terlarut di dalam pelarut. Dengan kata lain pemisahan dengan proses ekstraksi ini akan didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen-komponen yang dipisahkan. Pemisahan yang berlangsung dengan ekstraksi dapat digolongkan pemisahan fisik di mana komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi ke keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi. [Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011 ; Skoog.W.H. , 2002]

Biasanya proses ekstraksi komponen kimia dalam sel tanaman digunakan pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. [Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011]

Pada prinsipnya, ekstraksi padat-cair akan berlangsung dalam 2 tahap, yaitu :

- a. Kontak antara padatan dan pelarut untuk mendapatkan perpindahan *solute* ke dalam pelarut.
- b. Pemisahan larutan yang terbentuk dari padatan sisa. Pada pemisahan ini akan diperoleh aliran atas yaitu zat padat yang terlarut dalam pelarut (ekstrak) dan aliran bawah yaitu padatan, *solute* yang tidak terambil dan pelarut yang terbawa serta (rafinat).

Saat terjadi kontak antara padatan dengan pelarut, sebagian *solute* akan berpindah ke dalam *solvent* dan terbentuklah larutan. Perpindahan *solute* tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi *solute* dalam larutan dan dalam padatan. Perbedaan konsentrasi ini akan menjadi *driving force* terjadinya proses ekstraksi. Perpindahan *solute* ini akan terjadi hingga dicapai keadaan setimbang. Keseimbangan yang idealnya harus dicapai dalam ekstraksi padat-cair ini membutuhkan pelarut yang cukup untuk melarutkan semua zat terlarut pada padatan dan tidak ada adsorpsi pada zat terlarut oleh padatan. Keseimbangan kemudian didapatkan ketika zat terlarut sudah sepenuhnya larut dan konsentrasi larutan seragam. Namun struktur padatan dapat menyulitkan tercapainya kondisi ini. Faktor tersebut dipikirkan bila ingin mendapatkan tingkat efisiensi tertentu. Jika diasumsikan titik keseimbangan sudah ditemukan, maka konsentrasi cairan yang ditahan oleh padatan sama dengan cairan yang meluap pada tahap yang sama. [Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011]

Mekanisme difusi yang terjadi dalam ekstraksi padat-cair sendiri dapat dibedakan menjadi difusi internal dan difusi eksternal. *Solute* yang terkandung dalam padatan bisa berada pada pori-pori padatan maupun permukaan padatan. Perpindahan *solute* dari pori-pori padatan menuju permukaan padatan terjadi secara difusi internal, sedangkan perpindahan *solute* dari permukaan padatan menuju pelarut merupakan tahap difusi eksternal. Laju perpindahan difusional ini akan bergantung pada luas permukaan padatan di mana laju perpindahan ini akan berbanding lurus dengan luas permukaan partikel padatan. Dan bila padatan yang digunakan merupakan daun, luas permukaan yang besar akan diperoleh bila daun

yang dipergunakan cukup tipis. [Treyball, 1980 ; Anonim, 2011 ; Skoog.W.H. , 2002]

Bila padatan yang digunakan berukuran kecil maka dapat diambil asumsi bahwa konsentrasi *solute* dalam padatan selalu homogen atau serba sama. Dengan adanya asumsi ini maka tidak ada gradien konsentrasi dalam padatan. Dengan kata lain, difusivitas efektif dalam padatan (difusi internal) diabaikan. Dengan demikian, perpindahan massa dalam padatan dianggap tidak mengontrol perpindahan massa secara keseluruhan karena secara kinetika suatu perpindahan massa hanya akan bergantung pada perpindahan yang terjadi lebih lambat. Karena itu, perpindahan massa *overall* akan dikontrol oleh perpindahan massa antarfase yang dikenal dengan istilah difusi eksternal. [Treyball, 1980 ; Anonim, 2011 ; Skoog.W.H. , 2002]

Kondisi khusus pada ekstraksi padat-cair ditemukan saat zat terlarut memiliki keterbatasan kelarutan dan konsentrasi larutan mencapai kejenuhan. Untuk situasi seperti ini, input pelarut untuk tahap N harus konsisten dengan *overflow* jenuh tahap 1, dan semua cairan kecuali pengikut *underflow* dari tahap 1 harus tidak jenuh. Jika pelarut yang digunakan sedikit dan kejenuhan dicapai di luar tahap pertama, tahap penjenuhan tidak diperlukan, dan konsentrasi zat terlarut dalam *underflow* dari tahap N lebih banyak dari yang dibutuhkan. [Treyball, 1980; Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011]

Berdasarkan prinsip dan cara pelarutan *solute* atau cara pengontakan padatan dengan pelarut, ekstraksi dibedakan menjadi: [Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011 ; Skoog.W.H. , 2002 ; Nadia Soedhono, 2011]

- a) maserasi / dispersi dan
- b) perkolasi / imersi.

II.3.2.1 Maserasi atau Dispersi

Pada pengontakan secara maserasi/dispersi, zat aktif padatan yang ingin diekstrak dilarutkan dengan cara merendamnya dalam cairan pelarut yang sesuai pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut kemudian akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel sekaligus melarutkan isi sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel.

Larutan dengan konsentrasi *solute* tinggi akan terdesak keluar digantikan cairan pelarut yang konsentrasinya rendah dan tercapailah kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Selama perendaman padatan dengan pelarut, dilakukan pula pengadukan dan penggantian pelarut. Endapan yang kemudian diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Peralatan yang diperlukan relatif sederhana, namun untuk mendapatkan ekstrak diperlukan waktu yang cukup lama. Metode maserasi dapat dilakukan dengan modifikasi, seperti modifikasi maserasi melingkar, modifikasi maserasi digesti, modifikasi maserasi melingkar bertingkat, modifikasi remaserasi, dan modifikasi dengan mesin pengaduk.

II.3.2.2 Perkolasi atau Imersi

Pada metode perkolasi/imersi, pelarutan dilakukan dengan mengalirkan pelarut ke dalam padatan. Biasanya pelarut yang digunakan telah dipanaskan terlebih dahulu hingga temperatur mendekati titik didihnya. Penggunaan pelarut pada titik didihnya dikenal sebagai *decoction*. Ekstrak yang diperoleh telah terpisah dari sampel padatan sehingga tidak diperlukan langkah tambahan untuk pemisahan ekstrak dan rafinat. Namun dengan metode ini, kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen. Metode ini harus menggunakan pelarut murni atau campuran azeotropik. Campuran pelarut, pelarut yang diasamkan atau dibasakan tidak dapat digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi jenis ini karena uapnya akan mempunyai komposisi yang berbeda dalam pelarut cair di dalam wadah.

Ekstraksi padat-cair berprinsip perkolasi dapat menggunakan unggun tetap, dilakukan dalam suatu tangki berlubang di bagian bawah untuk menyangga padatan dan mengizinkan drainase dari pelarut. Tangki dapat terbuat dari kayu atau logam. Untuk partikel padatan yang halus, tangki yang terbuat dari kayu dapat dilengkapi dengan anyaman serabut kelapa. Padatan dimuat ke dalam tangki, disemprot dengan pelarut sampai kandungan zat terlarut direduksi menjadi minimum. Pelarut dapat dialirkan secara gravitasi atau secara paksa dengan pompa. Pada metode ini, pelarut segar dimasukkan ke dalam tangki yang berisi

padatan yang hampir terekstraksi, pelarut segar dilalui ke beberapa tangki yang terhubung secara seri dan akhirnya dikeluarkan dari tangki yang baru diisi. Rangkaian seri tangki tersebut disebut *extraction battery*. Sistem perpipaan diatur sehingga pelarut segar dapat dimasukkan ke dalam tangki manapun dan larutan dapat dikeluarkan dari setiap tangki, sehingga memungkinkan untuk mengisi dan mengosongkan tangki secara bersamaan.

Pada beberapa pencucian *solid-bed* pelarutnya mudah menguap, sehingga mengharuskan penggunaan tangki tertutup yang dioperasikan di bawah tekanan. Gaya pun dibutuhkan untuk menekan pelarut melalui unggun dari padatan yang kurang permeable. Rangkaian dari tekanan tangki yang dioperasikan dengan aliran pelarut yang berlawanan atau yang disebut dengan *diffusion battery*. Pemisahan dapat dilaksanakan di dalam tangki yang sama maupun dalam 1 unit yang terpisah dengan cara dekantasi atau filtrasi. Yang termasuk ekstraksi dengan prinsip perkolasi ini salah satunya adalah dengan ekstraksi *Soxhlet*. Beberapa keuntungan yang dapat dicapai dari penggunaan ekstraksi *Soxhlet* antara lain :

- a) dapat digunakan dalam skala besar;
- b) keamanan kerja dengan alat ini lebih tinggi;
- c) lebih efisien tenaga karena tinggal menunggu hasil dari proses sirkulasi;
- d) dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung;
- e) pelarut dapat diperoleh kembali setelah proses ekstraksi selesai, sehingga dapat digunakan kembali sehingga pelarut yang diperlukan tidak perlu terlampau banyak;
- f) kemurnian tinggi karena susunan alat menyebabkan proses berjalan efektif.

Namun demikian terdapat pula kerugian dari penggunaan metode *Soxhlet* yaitu:

- a) Karena pelarut didaur ulang, ekstrak yang terkumpul pada wadah di sebelah bawah terus-menerus dipanaskan sehingga dapat menyebabkan reaksi peruraian oleh panas. Sedangkan daerah tertentu tidak terolah dengan maksimal.
- b) Jumlah total senyawa-senyawa yang diekstraksi akan melampaui kelarutannya dalam pelarut tertentu sehingga dapat mengendap dalam wadah dan membutuhkan volume pelarut yang lebih banyak untuk melarutkannya.

- c) Bila dilakukan dalam skala besar, mungkin tidak cocok untuk menggunakan pelarut dengan titik didih yang terlalu tinggi, seperti metanol atau air, karena seluruh alat yang berada di bawah kondensor perlu berada pada temperatur ini untuk pergerakan uap pelarut yang efektif.

II.3.2.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi antara lain: [Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011 ; Skoog.W.H. , 2002 ; Nadia Soedhono, 2011]

- o Ukuran partikel padatan

Untuk meningkatkan kinerja proses ekstraksi baik dari waktu yang diperlukan yang lebih singkat dan hasil ekstrak yang diperoleh dapat lebih besar, diupayakan sampel padatan yang digunakan memiliki luas permukaan yang besar. Luas permukaan yang besar ini dapat dicapai dengan memperkecil ukuran bahan padatan. Ukuran kecil padatan ini kemudian akan memperpendek lintasan kapiler proses difusi dan tahanan proses difusi internal dapat diabaikan. Semakin luas permukaan padatan maka perpindahan massa ekstraksi akan berlangsung lebih cepat. Namun keberadaan padatan berukuran kecil pun harus dibatasi jumlahnya, karena jumlah padatan yang terlampaui banyak dapat menghalangi aliran pelarut untuk kontak dengan zat aktif dalam padatan itu sendiri. Pengecilan ukuran padatan ini dapat diusahakan dengan penggerusan atau penekanan pada padatan. Namun pengecilan ukuran padatan ini pun perlu diperhatikan agar tidak terlalu kecil yang dapat menghilangkan kemungkinan pelarut terserap ke dalam padatan.

- o Pelarut

Pelarut yang digunakan dapat murni atau dapat pula mengandung sedikit mengandung *solute* sejak awal. Selama proses ekstraksi berlangsung terjadi peningkatan konsentrasi *solute* dan kecepatan ekstraksi akan menurun karena kemampuan pelarut untuk terus melarutkan *solute* semakin berkurang. Pelarut yang biasa digunakan dapat berupa: [Anonim, 2011]

a. Air

Pelarut ini memiliki beberapa keuntungan di mana relatif murah, mudah diperoleh, tidak toksik, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan digunakan bila senyawa yang akan diekstrak larut air. Namun tidak dipungkiri pula dengan penggunaan pelarut air ini dapat dimungkinkan terjadinya reaksi hidrolisa, dapat ditumbuhi jamur dan mikroba, tidak selektif, titik didih 100°C (tidak cocok untuk senyawa yang terurai pada temperatur tinggi), dan untuk pengeringan dibutuhkan waktu yang lama.

b. Pelarut organik

Ekstraksi dapat dilangsungkan dengan berbagai jenis pelarut organik. Dengan pemakaian pelarut organik senyawa tidak terhidrolisis sebagaimana bila digunakan pelarut air. Keuntungan lainnya pemakaian pelarut organik adalah titik didihnya yang relatif rendah sehingga tidak perlu dilakukan pemanasan tinggi, dan tidak dapat ditumbuhi jamur.

Namun pemakaian pelarut organik ini pun memiliki beberapa kerugian seperti mahal, beberapa pelarut organik bersifat toksik (karsinogenik), dan berbahaya (bisa terbakar) seperti: etanol, metanol, CHCl_3 , eter, heksan dan lain-lain. Dalam penggunaannya ada beberapa jenis pelarut organik yang tidak dapat dicampur dengan air seperti benzene, toluene, heksana, xilen, diklorometan, tetraklorometan, kloroform, dietil eter, dan metal isobutil keton. Namun terdapat berbagai macam pelarut organik yang dapat dicampurkan dengan air seperti asam karboksilat, aldehide, keton, dimetil sulfoksida dan lain-lain.

Pelarut yang dipilih harus disesuaikan dengan beberapa kriteria berikut: [Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Anonim, 2011 ; Skoog.W.H. , 2002 ; Nadia Soedhono, 2011]

o Kepolaran dan kelarutan pelarut

Pelarut yang dipilih memiliki kepolaran yang sama dengan bahan yang akan diekstrak sehingga pelarut dapat melarutkan *solute* dengan baik. Dengan tingkat kelarutan yang tinggi, hanya sedikit pelarut yang diperlukan.

- Selektifitas

Pelarut diharapkan memiliki selektifitas yang tinggi sehingga hanya akan melarutkan senyawa-senyawa tertentu yang ingin diekstrak atau sesedikit mungkin melarutkan senyawa-senyawa pengotor, sehingga pemisahan dari campurannya pun dapat berlangsung lebih sempurna.

- Murah dan mudah diperoleh.

- Tidak korosif, tidak beracun, stabil secara termal dan tidak mudah terbakar.

- Tidak menyebabkan terbentuknya emulsi.

- Tidak reaktif.

Pelarut hanya berfungsi melarutkan dan diharapkan tidak mengubah susunan kimia dari bahan yang diekstrak (tidak terjadi reaksi antara pelarut dengan bahan yang diekstrak)

- Titik didih

Titik didih pelarut cukup rendah sehingga hanya membutuhkan pemanasan yang tidak terlalu besar. Bila pemanasan yang diperlukan membutuhkan energi yang sangat besar, dapat menimbulkan kerusakan pada bahan yang diekstrak dan hal seperti itu tentu saja dihindari. Namun titik didih pelarut pun tidak boleh terlalu rendah yang dapat menyebabkan kehilangan pelarut dalam jumlah yang besar akibat pemanasan. Titik didih pelarut pun harus seragam agar tidak menimbulkan residu di bahan pangan.

- Viskositas dan densitas

Viskositas dan densitas dari pelarut diharapkan cukup rendah agar pelarut lebih mudah mengalir dan kontak dengan padatan berlangsung lebih baik

- Sifatnya terhadap air

Pelarut yang digunakan sebaiknya bersifat hidrofilik terlebih bila bahan yang akan diekstrak masih mengandung sedikit air. Bila pelarut yang digunakan bersifat hidrofob, pelarut yang diharapkan dapat menembus dinding sel dan melarutkan isi sel (klorofil/bahan yang akan diekstrak) akan ditolak terlebih dahulu oleh keberadaan air.

- Kecepatan alir pelarut

Kecepatan alir pelarut, sedapat mungkin besar dibandingkan dengan laju alir bahan ekstraksi, agar ekstrak yang terlarut dapat segera diangkat keluar dari permukaan bahan padat. Tergantung pada jenis ekstraktor yang digunakan, hal tersebut dapat dicapai baik dengan pengadukan secara turbulen, atau dengan pemberian laju alir pelarut yang tinggi. Namun pengadukan yang dilakukan harus dilakukan dengan efisien, kecepatan yang terlampau tinggi dapat mengakibatkan terjadinya aliran tangensial yang dapat menghambat proses pengadukan.

3. Temperatur

Temperatur operasi yang tinggi akan berpengaruh positif terhadap ekstraksi karena adanya peningkatan kecepatan difusi, peningkatan kelarutan dari larutan, dan penurunan viskositas pelarut. Dengan viskositas pelarut yang rendah, kelarutan yang dapat dicapai lebih besar. Temperatur yang digunakan harus dapat disesuaikan dengan kelarutan pelarut, stabilitas pelarut, tekanan uap pelarut, dan selektifitas pelarut.

4. pH

Rentang pH yang digunakan harus disesuaikan dengan kestabilan bahan yang akan diekstrak. Misalnya untuk klorofil, suasana asam dan basa dapat membuat klorofil terhidrolisis menjadi klorofilid.

5. Porositas dan difusivitas

Perlu diperhatikan apakah struktur bahan padat yang diekstrak berpori atau tidak. Struktur yang berpori dari padatan berarti memungkinkan terjadinya difusi internal *solute* dari permukaan padatan ke pori-pori padatan tersebut. Difusivitas sendiri merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan *solute* berpindah secara difusional. Semakin besar difusivitas bahan padatan maka semakin cepat pula difusi internal yang terjadi dalam padatan tersebut.

6. Pengadukan

Pengadukan diperlukan untuk meningkatkan difusi *eddy* sehingga perpindahan massa dari permukaan padatan ke pelarut dapat meningkat pula. Pengadukan akan mencegah terbentuknya suspensi atau bahkan endapan serta efektif untuk

membentuk suatu lapisan *interphase*. Luas area interphase akan bervariasi bergantung diameter padatan. Penurunan luas area interphase ini kemudian akan menurunkan perpindahan massa yang terjadi sekaligus menurunkan efisiensi tahapan. Pengadukan yang tinggi akan meminimalkan tahanan perpindahan masa selama reaksi dan ekstraksi namun kemudian akan membentuk emulsi atau padatan yang sangat kecil dan sulit diendapkan.

7. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin lama waktu kontak antara pelarut dan *solute* sehingga perolehan ekstrak akan semakin besar. Namun bila waktu yang dibutuhkan terlalu lama maka secara ekonomis proses ekstraksi tersebut berlangsung dengan tidak efisien.

8. Rasio zat padat terhadap pelarut

Jumlah pelarut perlu disesuaikan dengan kebutuhan. Pelarut yang terlalu banyak dapat mengakibatkan pemborosan biaya dalam operasi ekstraksi.

9. Mode operasi

Pemilihan mode operasi dalam pelaksanaan ekstraksi padat-cair pun perlu dipertimbangkan karena menentukan keberhasilan pemisahan yang dapat berlangsung.

II.4 Isolasi Klorofil dari Daun Suji

Pada dasarnya isolasi klorofil yang pernah dilakukan terhadap daun suji dilakukan melalui mekanisme ekstraksi padat-cair. Pemilihan pelarut termasuk salah satu faktor penting dalam kesuksesan unjuk kerja proses ekstraksi padat cair. [Gamse,2002; Sayyar, 1999] Beberapa jenis pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi klorofil adalah aseton 80 %, etanol 95 %, dan air.

Perlakuan awal perlu dilakukan untuk menunjang keberhasilan ekstraksi. Berdasarkan penelitian sebelumnya perlakuan awal meliputi sortasi daun suji, pengeringan, *blanching*, dan penambahan senyawa penstabil. Pengeringan dapat dilakukan dengan berbagai cara namun menurut penelitian Kurniawati Wulan Sari, pengeringan yang dilakukan terhadap daun suji sebaiknya hanya dengan pengeringangan saja. Hal ini disebabkan ketidakstabilan senyawa klorofil terhadap temperatur tinggi sehingga hal tersebut perlu dicegah.

Perlakuan *blanching* pada daun suji dapat dilangsungkan dengan air panas pada temperatur dan waktu *blanching* berbeda-beda. Pada penelitian Lira Oktaviani *blanching* dilakukan dengan air pada suhu 100 °C selama 1 menit, sedangkan menurut Kurniawati Wulan Sari, *blanching* dapat dilakukan pada suhu 75°C selama 30 menit. Perbedaan temperatur dan lamanya waktu *blanching* ini sendiri didasarkan pada berbagai pertimbangan peneliti, namun yang jelas perlakuan *blanching* sangat perlu dilakukan dalam mengawali proses ekstraksi klorofil.

Setelah perlakuan awal tersebut proses ekstraksi klorofil daun suji dapat dilangsungkan baik dengan pelarut polar dan nonpolar karena kekompleksan senyawa klorofil yang memiliki gugus polar dan nonpolar sekaligus dan hampir semua penelitian terdahulu dilangsungkan dengan metode *batch* yang cenderung lebih fleksibel digunakan pada skala laboratorium dengan pengontakan dispersi. Temperatur operasi ekstraksi yang biasa dilangsungkan bermacam-macam namun dapat disimpulkan temperatur operasi pada semua penelitian yang diperoleh sebagai literatur, kurang dari 100 °C dimana warna hijau klorofil masih stabil.

Kemudian dalam tujuan isolasi klorofil dari hasil ekstrak, dilakukan filtrasi, pemekatan hasil ekstrak dengan evaporator dan dilanjutkan dengan sentrifugasi. Hal khusus yang diketemukan pada sebagian besar penelitian mengenai isolasi klorofil pada berbagai penelitian adalah evaporasi yang dilangsungkan terjadi secara vakum dengan suhu di bawah 40 °C. Proses filtrasi, evaporasi dan sentrifugasi yang dilangsungkan bertujuan untuk pemurnian klorofil dari hasil ekstrak yang masih mengandung pelarut dari proses ekstraksi.

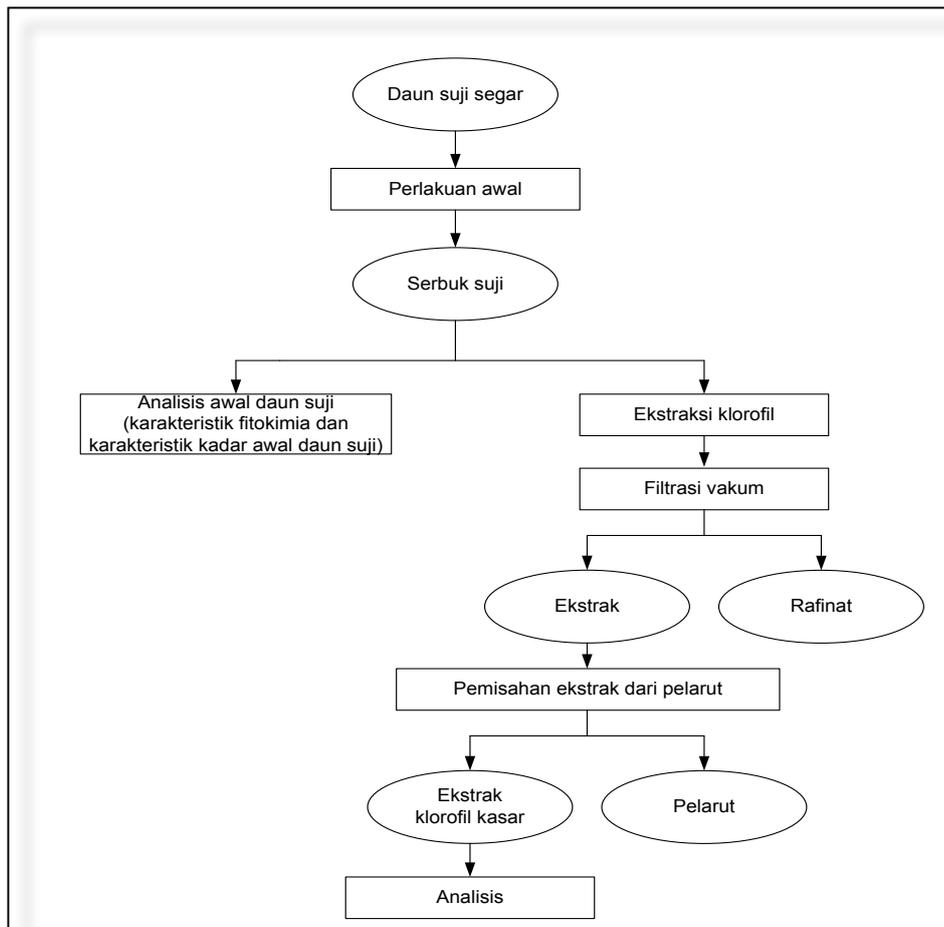
BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Metodologi Penelitian

Fokus kajian penelitian ini adalah proses ekstraksi padat-cair yang dilangsungkan secara *batch* dengan pengontakan secara dispersi untuk memperoleh klorofil dengan bahan baku berupa daun suji. Metode yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi tiga tahap utama yaitu:

1. perlakuan awal terhadap bahan baku daun suji serta dilakukan analisis baik pada karakteristik fitokimia maupun pada karakteristik awal daun suji,
2. ekstraksi pelarut untuk memperoleh klorofil,
3. pemurnian klorofil.

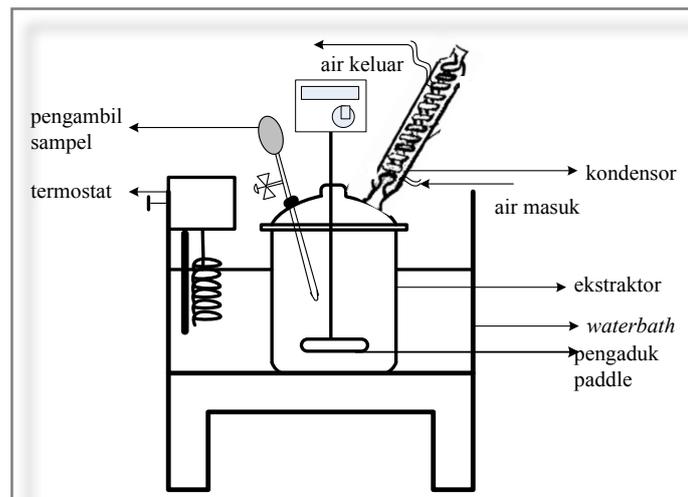
Diagram alir singkat metode penelitian disajikan pada gambar III.1



Gambar III.1 Diagram Alir Singkat Metode Penelitian

III.2 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan baku utama penelitian ini berupa daun suji segar yang diperoleh dari perkebunan di kawasan Lembang Asri, Bandung, Jawa Barat dan pelarut teknis berupa aseton 80%, etanol 95% , dan air. Alat utama yang diperlukan dalam rangkaian peralatan penelitian utama meliputi ekstraktor *batch* dengan kapasitas 1 L yang dilengkapi dengan *waterbath*, *thermostat*, kondensor berupa kondensor Allihin, motor pengaduk, *impeller*, dan termometer (disajikan pada Gambar III.2).



Gambar III.2 Ekstraktor *Batch*

III.3 Prosedur Penelitian

Secara garis besar, penelitian ini dapat dibagi menjadi 4, yaitu:

1. Perlakuan awal bahan baku daun suji,
2. Penentuan kecepatan pengadukan ekstraksi,
3. Ekstraksi klorofil, dan
4. Pemisahan ekstrak klorofil dari pelarutnya

Bagan penelitian secara lengkap dan utuh beserta indikator capaiannya disajikan pada Tabel III.1 sedangkan penjabaran lengkap prosedur penelitian disajikan pada sub bab berikut. Penelitian ini selain dilakukan penelitian lapangan terlebih dahulu di daerah Lembang, Subang, Cirebon, Puncak dan Bogor, terutama dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Produk Kimia serta di Laboratorium Pemisahan Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri.

Tabel III. 1 Bagan Rencana Penelitian dan Capaiannya

Kegiatan	Bulan ke-					
	I	II	III	IV	V	VI
<p>Proses 0 (survey lapangan serta identifikasi, determinasi dan sortasi tanaman pandan)</p> <p>Tujuan:</p> <ul style="list-style-type: none"> Mengetahui ketersediaan dan merencanakan mekanisme pemasokan daun pandan sehingga penelitian dapat berjalan dengan lancar dan mendapatkan pasokan bahan penelitian yang berkualitas baik (tidak rusak selama pengiriman) dan seragam Melakukan identifikasi dan determinasi tanaman/daun, sortasi dan analisis awal, jika data tidak tersedia, terhadap tanaman/daun pandan untuk menentukan <i>species</i>, umur, serta tingkat kematangan buah yang paling cocok untuk digunakan sebagai bahan penelitian <p>Luaran:</p> <ul style="list-style-type: none"> Prosedur pengemasan, pengiriman dan penyediaan bahan penelitian (daun suji) yang baik List <i>species</i>, umur, tingkat kematangan bahan penelitian yang paling tepat beserta prosedur identifikasinya 						
<p>Proses 1 (studi ekstraksi dalam ekstraktor <i>batch</i> dengan pengontakan dispersi)</p> <p>1.1. Perlakuan awal bahan baku</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> Menentukan bagian daun suji yang cocok sebagai sumber pigmen <ul style="list-style-type: none"> Variabel yang divariasikan bagian-bagian daun suji meliputi: bagian ujung, tengah, pangkal dan kombinasinya Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : uji intensitas warna (spektrofotometri) Merancang dan menentukan prosedur perlakuan awal bahan baku yang tepat sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung optimal <ul style="list-style-type: none"> Variabel yang divariasikan: metode pengurangan kadar air daun segar (segar/tanpa perlakuan panas, keringangin, oven, tray drier dengan variasi temperatur, waktu, kadar air produk akhir, kemungkinan penambahan senyawa penstabil); metode <i>size reduction</i> (cutting dengan pisau plastik/ logam, crushing/ penggerusan menggunakan logam/keramik) Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : kadar air, penampakan fisik (perubahan warna), 						

<p>Luaran</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fitokimia daun suji • Kondisi bahan baku yang tepat (segar/semi kering/kering) beserta prosedur standar proses penghilangan kadar airnya • Prosedur operasi standar (<i>standard operating procedure</i>) size reduction dan perlakuan mekaniknya (<i>cutting</i>, penggerusan, <i>milling</i>) 						
<p>Proses 2: (studi ekstraksi lanjutan: <i>screening</i> variabel dan optimasi kondisi ekstraksi)</p> <p>2.1 Screening variabel kondisi ekstraksi</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mempelajari pengaruh variabel ekstraksi serta interaksinya terhadap kuantitas dan kualitas ekstrak yang diperoleh - Variabel yang divariasikan: (rasio umpan/pelarut, temperatur, kecepatan pengadukan, dan ukuran partikel) Note: kecepatan pengadukan ditentukan pada penelitian pendahuluan - Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : uji intensitas warna (spektrofotometri), uji kestabilan warna <p>Keluaran</p> <ul style="list-style-type: none"> • Variabel yang berpengaruh dan prediksi level variasi yang tepat untuk optimasi • Rancangan percobaan (<i>experimental design</i>) yang akan diterapkan di penelitian utama. <p>2.2 Optimasi kondisi ekstraksi</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> • Menentukan kondisi optimum ekstraksi klorofil daun suji dan penurunan modelnya - Variabel yang divariasikan: idem (yang berpengaruh) - Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : uji intensitas warna (spektrofotometri), uji kestabilan warna <p>Keluaran</p> <p>Model matematik optimasi ekstraksi klorofil daun suji yang valid</p> <p>2.3 Kajian pemisahan (ekstrak dari pelarutnya serta klorofil dari ekstraknya)</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mempelajari, menganalisis dan menentukan metode pemisahan ekstrak dari pelarut yang tepat sehingga didapatkan ekstrak klorofil yang relatif bebas pelarut tanpa kerusakan berarti 						

<ul style="list-style-type: none"> - Variabel yang divariasikan: metode pemisahan (evaporasi: atmosferik, vakum – variasi temperatur, pengeringan: oven vakum/atmosferik/ke langkah berikutnya*) - Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : uji intensitas warna (spektrofotometri), uji kestabilan warna • Mempelajari, menganalisis dan menentukan metode pemisahan klorofil dari ekstrak kasar yang tepat - Variabel yang divariasikan: metode pemisahan *(ekstraksi cair-cair, pengendapan, rekristalisasi) - Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : uji keaktifan (DPPH), uji antimikroba (TPC), uji intensitas warna (spektrofotometri), uji kestabilan warna <p>Keluaran</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prosedur standar pemisahan ekstrak dari pelarutnya yang tepat • Rancangan proses dan alat untuk isolasi zat aktif (klorofil) 						
<p>Untuk penelitian mendatang:</p> <p>Proses 3 (isolasi/<i>fraction collector</i> komponen aktif pigmen (klorofil) menggunakan <i>Reversed-Phase</i> HPLC)</p> <p>3.1 Isolasi komponen aktif pigmen klorofil daun suji</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> • Melakukan purifikasi/isolasi klorofil sehingga diketahui senyawa aktifnya dan komposisinya secara kuantitatif dan kualitatif - Variabel yang divariasikan: jenis eluen dan rasionya - Analisa: <ul style="list-style-type: none"> Kuantitas: <i>yield</i> (gravimetri) Kualitas : uji intensitas warna (spektrofotometri), uji kestabilan warna, kromatogram <p>Keluaran</p> <ul style="list-style-type: none"> • List komponen-komponen aktif zat warna alami daun suji • Deteksi awal kemungkinan aplikasi ekstrak yang didapat <p>3.2 Pengujian aktivitas antioksidan dan antimikroba</p> <p>Tujuan</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mengetahui aktivitas antioksidan dan antimikroba sehingga aplikasi/pemanfaatan komponen-komponen antioksidan tersebut dapat ditentukan 						

<p>- Variabel yang divariasikan: jenis pangan yang akan diawetkan (variasi: bahan pangan kaya lemak, protein, karbohidrat, asam, netral, basa) dan diberi aditif warna ((variasi: bahan pangan kaya lemak, protein, karbohidrat, asam, netral, basa)</p> <p>- Analisa: Kualitas : daya tahan, visual (warna, tekstur, kekenyalan, dll) atau menggunakan texture analyzer, mikrobiologi (TPC)</p> <p>Keluaran</p> <p>Desain dan pemetaan pemanfaatan komponen-komponen aktif daun suji</p>						
---	--	--	--	--	--	--

III.3.1 Perlakuan Awal Daun Suji

Daun suji yang akan digunakan harus mendapat perlakuan khusus sebelum dilakukannya proses ekstraksi padat cair. Perlakuan awal yang harus dilakukan meliputi:

- a. Determinasi tanaman suji
- b. Sortasi basah

Sortasi dilakukan berdasarkan warna dan kesegaran daun suji yang akan digunakan. Daun yang terpilih dibilas dengan air untuk menghilangkan kotoran-kotoran, tanah atau bahan asing lainnya; dalam hal ini tidak dilakukan perendaman untuk mencegah hilangnya klorofil yang dapat sedikit terlarut di dalam air, kemudian dilanjutkan dengan *blanching* pada suhu 100 °C selama 1 menit.

- c. Pengecilan ukuran

Mula-mula daun suji dipotong kecil, kira-kira 1 cm, kemudian diblender agar diperoleh daun suji dengan ukuran yang cukup halus.

- d. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk membantu penghancuran dinding sel daun sehingga diharapkan proses ekstraksi dapat berlangsung lebih optimal. Selain itu juga untuk menjaga agar simplisia yang diperoleh tidak mudah rusak (busuk) sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Pengeringan dilakukan secara alamiah dengan cara diangin-anginkan tanpa mendapat sinar matahari langsung mengingat sifat klorofil yang tidak stabil pada sinar

matahari kemudian diiringi dengan pengeringan di dalam oven pada suhu 35°C hingga kadar airnya 8 – 10 %.

e. Sortasi kering

Tahap ini dilakukan dengan cara memisahkan pengotor yang masih tertinggal pada daun suji setelah proses pengeringan dilakukan. Untuk kotoran kering yang ringan, pemisahan kotoran dengan bahan baku dapat dilakukan dengan penampian namun bila kotoran seperti kerikil atau batu dipisahkan dengan tangan.

f. Pengecilan ukuran lanjutan dan penyeragaman ukuran

Daun suji mengalami pengecilan ukuran lebih lanjut dengan diblender agar diperoleh daun suji dengan ukuran yang cukup halus kemudian diayak dengan saringan mesh berukuran -10+50 mesh.

g. Analisis fitokimia dan karakteristik simplisia

Analisis fitokimia yang dilakukan berupa uji keberadaan saponin steroid, identifikasi steroid/triterpenoid, monoterpenoid, seskuiterpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, dan kuinon. Analisis karakteristik simplisia yang dilakukan meliputi penentuan susut pengeringan, kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu larut air, dan kadar abu tidak larut asam.

III.3.2 Penentuan Kecepatan Pengadukan

Kecepatan pengadukan perlu ditentukan untuk menciptakan kontak yang baik antara umpan padatan dan pelarut. Batasan kecepatan pengadukan yang sesuai adalah kecepatan pengadukan yang dapat menciptakan homogenitas campuran yang memuaskan dimana keadaan homogen ini dapat dideteksi dari keseragaman konsentrasi solut pada beberapa titik pengambilan sampel yang dilakukan secara acak. Indikator lainnya adalah pengadukan pada kecepatan tersebut tidak menimbulkan fenomena vorteks dan *dead zone* di dalam ekstraktor. Kecepatan pengadukan divariasikan sebesar 100, 175, dan 250 rpm pada rasio massa umpan daun suji terhadap pelarut sebesar 1:10, 1:15 dan 1:20.

Penentuan kecepatan pengadukan ekstraksi secara garis besar mengikuti tahapan sebagai berikut:

1. Serbuk daun suji diumpankan ke dalam ekstraktor sesuai dengan perbandingan F:S yang telah ditetapkan.
2. Pelarut air kemudian ditambahkan ke dalam ekstraktor sebanyak 500 mL.
3. Ekstraksi dilakukan pada temperatur kamar.
4. Kecepatan pengadukan divariasikan, fenomena yang terjadi (*deadzone*, vorteks) diamati.
5. Sampel ekstrak diambil selama selang waktu tertentu pada 3 titik yang berbeda.
6. Absorbansi sampel diukur untuk mengetahui pengaruh kecepatan pengadukan terhadap homogenitas campuran.

III.3.3 Ekstraksi Klorofil

Ekstraksi klorofil dilakukan di dalam sebuah reaktor *batch* berpengaduk. dengan tahapan seperti dijabarkan sebagai berikut:

1. Serbuk daun suji yang telah mengalami perlakuan awal dan 500 mL pelarut berupa aseton 80 % dimasukkan ke dalam ekstraktor *batch* sesuai dengan rasio massa umpan dan pelarut (F:S) sesuai variasi 1: 10,2 ; 1: 12,1 ; 1: 15,0 ; 1:17,9 ; dan 1: 19,8
2. Temperatur operasi ekstraksi diatur sesuai dengan variasi, yaitu : 28,3 ; 38; 41,7 ; dan 50°C
3. Ekstraksi dilangsungkan pada kecepatan pengadukan yang diperoleh pada penentuan kecepatan pengadukan
4. Sampel ekstrak diambil dan diukur absorbansinya setiap 15 menit untuk satu jam pertama, kemudian setiap 30 menit selama 4 jam dan kemudian setiap 15 menit kembali pada 1 jam terakhir hingga pelarut jenuh (ditandai dengan konstannya pembacaan absorbansi)
5. Setelah ekstraksi selesai, ekstrak dan rafinat dipisahkan dengan cara filtrasi vakum menggunakan corong *Buchner*
6. Klorofil dan pelarut kemudian dipisahkan dengan evaporator vakum pada temperatur 35 - 40 °C hingga volume hasil pemekatan mencapai kurang dari 50 mL

7. Ekstrak pekat disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 45 menit untuk memisahkan pekatan klorofil dari pelarutnya yang terbentuk dari ekstrak.
8. Ekstrak pekat klorofil yang diperoleh pada bagian supernatan hasil sentrifugasi kemudian didinginkan dengan cepat pada suhu 0-4°C selama 30 menit menggunakan *ice bath* hingga diperoleh kristal klorofil.
9. Pekatan klorofil yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 35°C selama 1 minggu hingga kadar airnya mendekati 0%, ditimbang dan dianalisis.

Setelah didapatkan kondisi (temperatur dan F:S) terbaik, akan dilakukan variasi jenis pelarut lainnya, yaitu: etanol 95% dan air.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Perlakuan Awal Daun Suji

Daun suji yang telah mengalami sortasi di-*blanching* menggunakan air panas pada 100 °C. Daun yang telah mengalami proses *blanching* akan mengalami perubahan secara fisik dimana daun yang semula segar dan cukup tegak berdiri, setelah proses *blanching* menjadi layu tapi warna daun ini tidak berubah menjadi cokelat seperti yang diperkirakan bila klorofil mengalami degradasi warna secara termal. Warna daun berubah menjadi hijau yang lebih pekat seperti disajikan pada Gambar IV.1.



Gambar IV.1 *Blanching*
(a) Daun Suji Saat *blanching* (b) Daun Suji Hasil *Blanching*

Proses pengeringan daun suji harus dilakukan dengan sangat hati-hati. Pada penelitian ini dilakukan beberapa kali prosedur penelitian untuk mendapatkan daun dengan kadar air rendah namun tidak mengubah warna hijau daun suji. Pengeringan harus dilakukan dalam keadaan gelap, tanpa terpapar sinar matahari. Pengeringan di bawah sinar matahari dapat mereduksi kadar air bahkan hingga <10,00 % dalam waktu yang cukup singkat (6 - 10 jam) namun selama pengeringan terjadi perubahan warna daun menjadi cokelat. Fenomena serupa terlihat pula pada saat dicoba menggunakan oven biasa pada suhu yang sama, yaitu 35°C; setelah pengeringan selama 1 malam terjadi perubahan warna daun menjadi cokelat, dengan kadar air yang masih tinggi (di atas 20%). Setelah dilakukan uji coba beberapa prosedur pengeringan kemudian dipilih metode

pengeringan bertahap. Metode pengeringan bertahap dilakukan dengan pengeringangan selama 2 malam dengan bantuan kipas angin pada kondisi atmosferik menggunakan udara pengering berupa udara ruang. Kemudian pengeringan dilanjutkan dengan bantuan oven vakum (pada tekanan -600 mmHg). Daun suji kering mengalami pengecilan dan penyeragaman ukuran menjadi serbuk -10+50 mesh dan daun suji siap diekstraksi.

IV.2 Analisis Kandungan Daun Suji

Kandungan senyawa-senyawa organik dan anorganik yang terdapat pada daun suji yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel IV.1. Untuk menunjang analisis senyawa-senyawa organik dalam daun suji yang mungkin ikut terekstrak dilakukan beberapa uji senyawa organik secara kualitatif. Hasil analisis disajikan pada Tabel IV.2, tanda positif (+) menunjukkan keberadaan senyawa organik sedangkan tanda negatif (-) menunjukkan tidak adanya senyawa organik tersebut dalam daun suji.

Tabel IV.1 Analisis Kandungan Daun Suji

Analisis	Kadar (%)
Kadar Susut Pengeringan	28,3780 (basis basah) 39,6219 (basis kering)
Kadar Air	30,50
Kadar Klorofil	4,6809
Kadar Sari Larut Air	11,0500
Kadar Sari Larut Etanol	16,8800
Kadar Abu Total	7,8400
Kadar Abu Tidak Larut Asam	1,3150
Kadar Abu Larut Air	4,4550

Tabel IV.2 Keberadaan Senyawa Organik dalam Daun Suji

SENYAWA ORGANIK	KEBERADAAN DALAM DAUN SUJI
Saponin (umum)	+
Saponin triterpenoid	-
Saponin steoroid	+
Minyak Atsiri	+
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Tanin	+

IV.3 Penentuan Kecepatan Pengadukan yang Sesuai

Penentuan kecepatan pengadukan optimum dilakukan untuk mengetahui kecepatan pengadukan yang akan digunakan pada penelitian utama, yaitu kecepatan pengadukan yang menghasilkan suspensi yang seragam, tidak ada fenomena vorteks dan *deadzone*. Optimasi dilakukan menggunakan *design expert* serti disajikan pada Tabel IV.4.

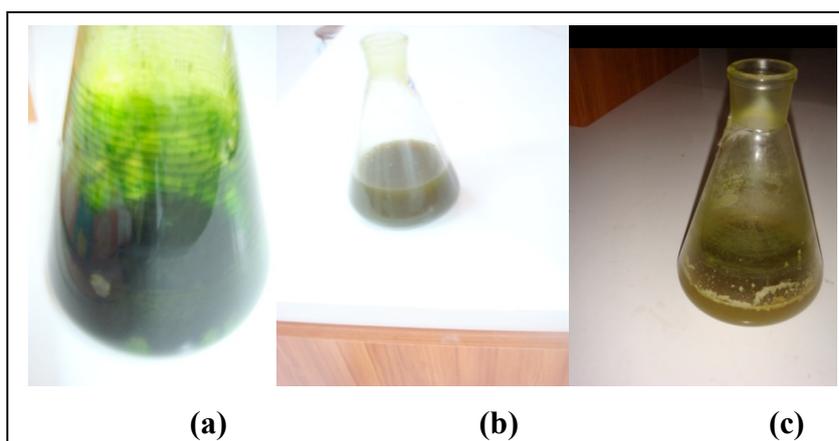
Tabel IV.4 Hasil Optimasi Kecepatan Pengadukan

Number	A	B	R1	R2	R3	Desirability	
1	20	175	0.00914409	-0.555556	-1	0.907	Selected
2	15	175	0.00914409	-0.555556	-1	0.907	
3	10	175	0.00914409	-0.555556	-1	0.907	
4	10	100	0.0113126	-0.555556	-1	0.897	
5	15	100	0.0113126	-0.555556	-1	0.897	
6	20	100	0.0113126	-0.555556	-1	0.897	

IV.4 Ekstraksi Klorofil Daun Suji

Pengambilan klorofil dari daun suji melalui proses ekstraksi *batch* dengan metode pengontakan secara dispersi. Pada dasarnya, ekstraksi padat cair tergolong sebagai pemisahan difusional di mana pemisahan di sini akan memanfaatkan perbedaan laju difusi suatu senyawa dalam medium, difusi berlangsung antar fasa menuju kesetimbangan. Pemisahan difusional ini digunakan terutama dalam pemisahan campuran homogen yang tidak mampu terpisahkan hanya dengan pemanfaatan gaya mekanik. Pemisahan difusional ekstraksi padat cair akan melibatkan satu atau bahkan beberapa komponen yang berasal dari suatu padatan atau cairan menggunakan bantuan pelarut dan gaya dorong berupa perbedaan kelarutan dan perbedaan konsentrasi pada kedua fasa.

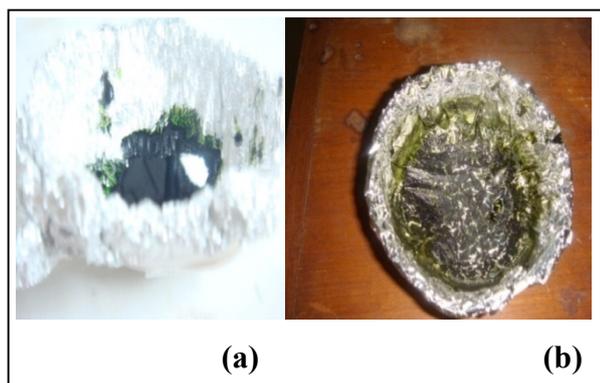
Variabel penelitian yang ingin diamati yaitu temperatur ekstraksi, rasio massa umpan terhadap pelarut, dan jenis pelarut. Ekstrak yang diperoleh pada variasi jenis pelarut disajikan pada Gambar IV.2.



Gambar IV.2 Perbandingan Warna Ekstrak berdasar Jenis Pelarut
(a) Aseton 80 % (b) Etanol 95 % (c) Air

Warna ekstrak yang diperoleh dengan pelarut aseton 80 % berwarna hijau kebiruan sedangkan untuk pelarut etanol 95 % dan air terlihat warna hijau ekstrak yang dihasilkan lebih cenderung hijau kekuningan (bahkan warna coklat ikut berperan dalam warna larutan ekstrak dengan pelarut air). Dari ketiga warna larutan ekstrak tersebut secara visual sudah dapat menunjukkan aseton 80 % lebih selektif dalam mengekstrak senyawa klorofil a, sedangkan etanol 95 % dan air dapat mengekstrak senyawa klorofil b dan senyawa polar lainnya. Terbentuknya busa pada larutan ekstrak etanol 95 % dan air pun menunjukkan larutan ekstrak mengandung pula senyawa polar lain yaitu saponin. Baik pada larutan ekstrak dengan pelarut aseton 80 % dan etanol 95 % tidak terjadi *browning*. Hal ini dapat disebabkan karena kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindar proses hidrolisis dan oksidasi.

Proses pemisahan *solute* dari pelarut kemudian dilakukan dengan evaporasi vakum Hasil pemekatan dengan evaporator vakum kemudian dilanjutkan dengan pengeringan dalam oven pada suhu 35°C selama 1 minggu agar kadar air yang diperoleh mendekati 0 %. Pengeringan yang dilakukan tidak menghasilkan butiran serbuk padat klorofil melainkan klorofil yang tampak dalam bentuk pasta sebagaimana tersaji pada Gambar IV.3.



Gambar IV.3 Ekstrak yang Diperoleh
(a) Hasil Pemekatan (b) Hasil Pengeringan

IV.4.1 *Yield* Klorofil Daun Suji

Yield menunjukkan persentase jumlah klorofil yang diperoleh dibandingkan terhadap kandungan klorofil di dalam bahan baku yang secara tidak langsung menunjukkan efektivitas ekstraksi. *Yield* klorofil yang diperoleh pada ekstraksi menggunakan pelarut aseton 80% sebesar 48,28-92,98%, dapat dilihat pada Tabel IV.5.

Tabel IV.5 *Yield* Klorofil Daun Suji

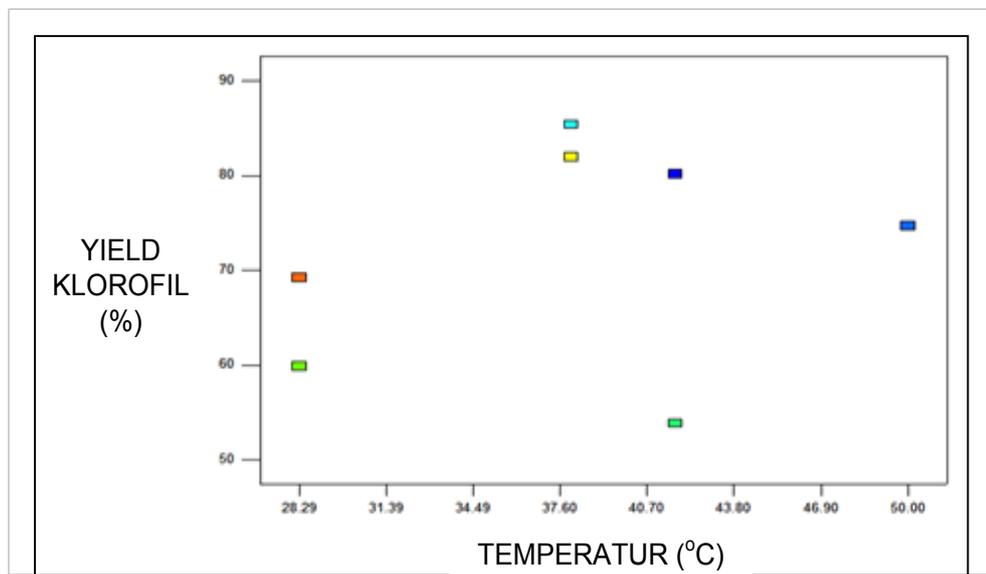
Pelarut	T(°C)	F:S	<i>Yield</i> (%)
Aseton 80 %	41,7	1:10,2	53,8421
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	85,3904
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	81,8988
Aseton 80 %	28,3	1:17,9	69,2476
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	81,9753
Aseton 80 %	28,3	1:12,1	59,8504
Aseton 80 %	50,0	1:15,0	74,6792
Aseton 80 %	41,7	1:19,8	80,1668
Aseton 80 %	36,2	1:17,1	88,5907
Aseton 80 %	36,2	1:17,1	92,9796
Etanol 95 %	36,2	1:17,1	73,5611
Etanol 95 %	36,2	1:17,1	76,3333
Air	36,2	1:17,1	48,2819
Air	36,2	1:17,1	48,4470

Berikut dijelaskan pengaruh variabel ekstraksi terhadap *yield* klorofil yang didapatkan:

1. Pengaruh Temperatur

Semakin tinggi temperatur, *yield* semakin besar karena peningkatan temperatur akan meningkatkan kelarutan *solute* dan difusivitas sehingga klorofil yang diperoleh juga meningkat. Hal ini berkaitan erat dengan kecenderungan partikel-partikel *solute* yang bergerak secara acak (Gerak *Brown*) semakin cepat dengan naiknya temperatur. [Fessenden, 1986] Selain itu, temperatur tinggi dapat menurunkan viskositas pelarut dan *solute* (klorofil) sehingga memudahkan pelarut berdifusi ke dalam matriks padatan dan *solute* berdifusi ke luar permukaan matriks padatan. [Mc Cabe dan Warren L, 2005]

Pada penelitian ini, *yield* pada suhu 38 °C bila dibandingkan dengan temperatur lain seperti 28,3, 41,7, dan 50°C menghasilkan *yield* relatif lebih besar (dapat dilihat pada Gambar IV.4). Hal ini membuktikan kinerja senyawa penstabil yang ditambahkan bersamaan dengan umpan cukup menjaga warna hijau yang dihasilkan sehingga pada temperatur 38 °C warna hijau cukup stabil. Namun penambahan senyawa penstabil tidak cukup berfungsi untuk mencegah degradasi klorofil pada temperatur lebih besar sama dengan 41,7°C.

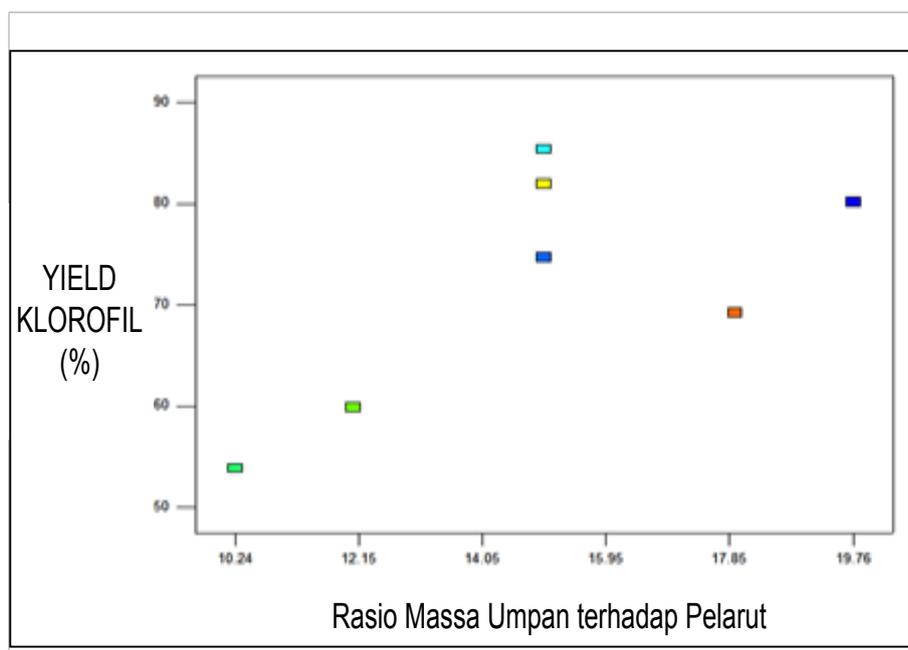


Gambar IV.4 Kecenderungan *Yield* Klorofil pada Berbagai Temperatur

2. Pengaruh Rasio Massa Umpan terhadap Pelarut (F:S)

Makin kecil F:S (massa umpan yang digunakan semakin kecil) menyebabkan *driving force*-nya besar karena semakin banyak molekul pelarut yang dapat

kontak dengan molekul *solute* sehingga *solute* yang terekstrak juga meningkat, selain itu derajat kejenuhan pelarut terhadap *solute* menjadi lebih tinggi yang akhirnya akan meningkatkan *yield*. Kecenderungan hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar IV.5.



Gambar IV5 Kecenderungan *Yield* Klorofil pada Berbagai Rasio Massa Umpan Terhadap Pelarut

Pada Gambar IV.5 terlihat dengan jelas *yield* klorofil cenderung mencapai nilai maksimal pada rentang tengah variabel rasio massa umpan terhadap pelarut. Pada rasio yang besar (level rendah dan menunjukkan massa umpan yang besar) *yield* klorofil cenderung rendah karena *driving force* berjalannya proses ekstraksi rendah serta kejenuhan pelarut lebih cepat tercapai, sedangkan pada rasio massa terhadap umpan yang kecil (level tinggi dengan massa umpan yang kecil) terlihat pula penurunan *yield* klorofil yang mana dimungkinkan karena kandungan *solute* dalam matriks padatan yang terlampaui kecil walau *driving force* besar namun waktu ekstraksi yang dibatasi hingga 6 jam kemungkinan belum cukup untuk menjenuhkan seluruh pelarut, sehingga *solute* yang terkandung (yang sebenarnya sangat sedikit karena massa umpan yang diekstraksi kecil) belum sepenuhnya terekstrak.

IV.4.2 Kadar Klorofil

Kadar klorofil secara tidak langsung menunjukkan kadar pengotor (senyawa organik lain selain klorofil) yang terbawa dalam ekstrak yang diperoleh. Pengotor ini tidak diinginkan dalam klorofil hasil isolasi karena dapat mempengaruhi kualitas klorofil, sehingga diharapkan kadar klorofil yang bernilai besar. Hasilnya disajikan pada Tabel IV.6.

Tabel IV.6. Kadar Klorofil Ekstrak Daun Suji

Pelarut	T(°C)	F:S	Kadar Klorofil (%)
Aseton 80 %	41,7	1:10,2	50,4660
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	52,2665
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	49,7821
Aseton 80 %	28,3	1:17,9	55,1392
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	52,6024
Aseton 80 %	28,3	1:12,1	55,1662
Aseton 80 %	50,0	1:15,0	33,3479
Aseton 80 %	41,7	1:19,8	50,5067

Berikut dijelaskan pengaruh variabel ekstraksi terhadap yield klorofil yang didapatkan:

1. Pengaruh Temperatur

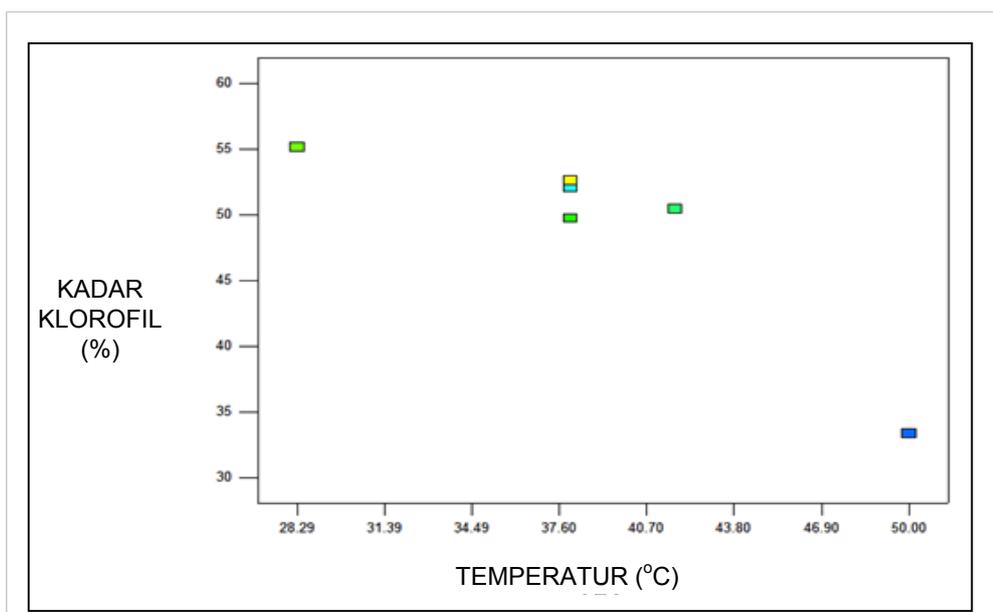
Secara teoritis, temperatur yang tinggi dapat menyebabkan :

- a) Dinding sel pecah dan pori-pori padatan yang mengembang lebih mudah memungkinkan komponen yang terkandung di dalam daun suji (termasuk pengotor) lebih mudah berdifusi keluar dan terdistribusi pada permukaan matriks padatan. Kelarutan komponen pengotor dalam akan semakin besar seiring semakin tinggi temperatur, kemungkinan komponen-komponen pengotor ikut terekstrak semakin besar, yang menyebabkan kadar klorofil menurun. Namun temperatur ekstraksi yang diteliti, tidak terlampaui tinggi sehingga kadar klorofil tidak benar-benar turun seiring peningkatan temperatur.
- b) Dapat menurunkan viskositas komponen (termasuk pengotor) yang berwujud cairan sehingga dengan mudah keluar menuju permukaan matriks padatan. Semakin tinggi temperatur, maka viskositas pelarut dan *solute* (berlaku untuk *solute* yang berfasa cair) semakin kecil. Semakin

kecil viskositas, maka *shear stress* akan semakin kecil, *shear rate* akan semakin besar sehingga molekul fluida semakin mudah bergerak dan laju difusi eksternal akan meningkat. [Mc Cabe dan Warren L, 2005]

- c) Dapat mengoptimalkan pemecahan koloidal sehingga pengotor akan terlepas dari ikatan minyak dan mengendap. Denaturasi protein karena tertariknya mantel air yang melingkupi molekul protein akibat pemanasan sehingga susunan ruang atau rantai polipeptida protein berubah dan kemudian timbullah gumpalan. [Fessenden, 1986]
- d) Meningkatkan energi kinetik molekul padat terutama senyawa organik bermolekul besar seperti pati sehingga semakin mudah dan cepat untuk berdifusi. [Fessenden, 1986]

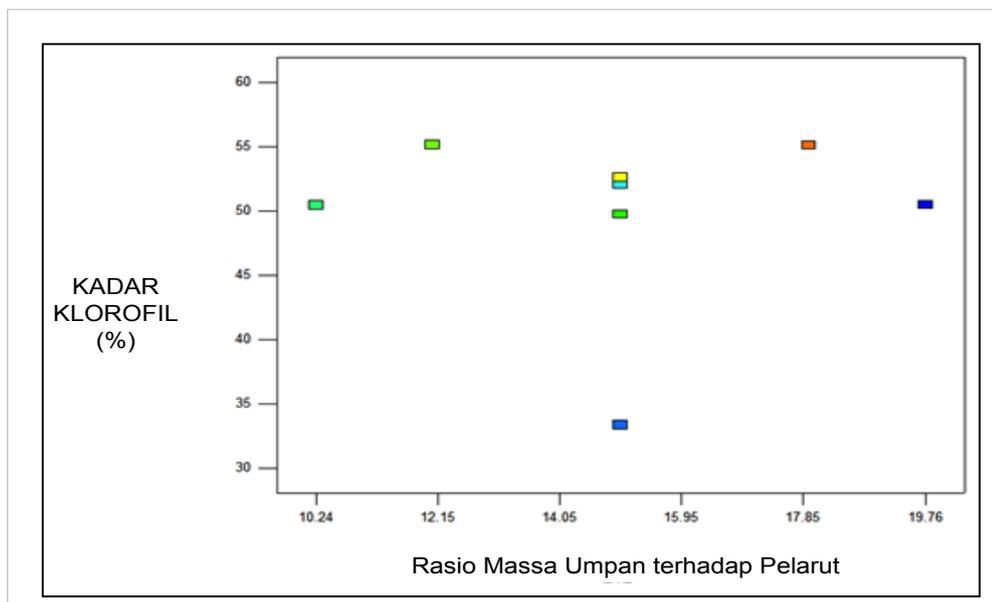
Hasil penelitian yang menunjukkan kecenderungan kadar klorofil pada berbagai temperatur dapat ditunjukkan secara grafis pada Gambar IV.6. Kadar klorofil cenderung mencapai nilai maksimal pada level rendah variabel temperatur ekstraksi. Pada temperatur kamar (level rendah) kadar klorofil cenderung tinggi karena pada temperatur rendah tidak banyak senyawa organik lain (pengotor) yang ikut terekstrak, seiring peningkatan temperatur terlihat penurunan kadar klorofil yang mana dimungkinkan karena semakin banyak senyawa organik lain (pengotor) yang ikut terekstrak dan kemungkinan terdegradasinya klorofil secara termal.



Gambar IV.6 Kecenderungan Kadar Klorofil pada Berbagai Temperatur

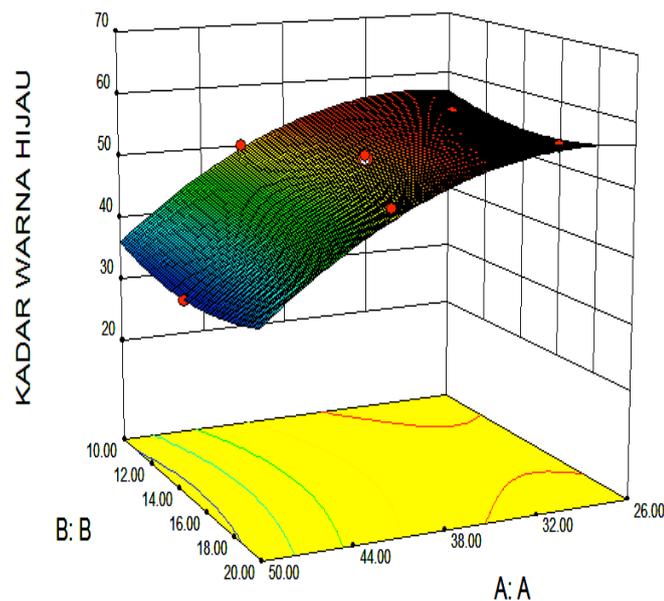
2. Pengaruh Rasio massa umpan terhadap pelarut (F:S)

Pada penelitian ini massa pelarut diset tetap sehingga massa umpan yang berubah. F:S besar (massa pelarut banyak dan massa umpan sedikit) dengan molekul pelarut banyak memungkinkan kontak antara pelarut dan pengotor menjadi meningkat. Umpan yang digunakan sedikit akan menyebabkan *driving force* antara komponen tertentu (termasuk pengotor) di fasa padat dan fasa cair akan meningkat. Namun untuk melihat respon kadar klorofil terhadap variabel penelitian rasio massa umpan terhadap pelarut ternyata kadar klorofil tidak terlalu dipengaruhi oleh perbedaan rasio massa umpan terhadap pelarut tersebut. Hal ini diduga disebabkan oleh rentang variasi rasio massa umpan terhadap pelarut yang tidak terlalu lebar dan berada dalam rentang rasio massa umpan terhadap pelarut untuk menghasilkan respon kadar klorofil yang optimum serta pengaruh variabel temperatur lebih dominan kadar klorofil dibanding dengan variabel rasio massa umpan terhadap pelarut (F:S). Hasil penelitian yang menunjukkan kecenderungan kadar klorofil pada berbagai rasio massa umpan terhadap pelarut dapat ditunjukkan secara grafis pada Gambar IV.7



Gambar IV.7 Kecenderungan Kadar Klorofil pada Berbagai Rasio Massa Umpan Terhadap Pelarut

Kadar klorofil kurang menunjukkan suatu kecenderungan respon terhadap variasi variabel rasio massa umpan terhadap pelarut. Tinggi rendahnya kadar klorofil yang ditunjukkan terlihat hanya akan berubah signifikan terhadap perubahan temperatur ekstraksinya. Kontur yang tampak pada Gambar IV.8 menunjukkan kondisi optimum dengan kadar klorofil maksimum dapat dicapai pada temperatur 26 - 35°C dan pada berbagai rasio massa umpan terhadap pelarut. Pada rasio massa umpan terhadap pelarut sebesar 1:15 memang terlihat kontur optimum memudar hal ini bukan berarti pada terdapat kecenderungan hanya pada rasio 1:15 kadar menurun, melainkan dikarenakan run utama yang dilakukan pada rasio 1:15, temperaturnya cukup tinggi yaitu 38 °C dan 50 °C, sehingga menurunkan kadar klorofil yang diperoleh akibat kemungkinan degradasi termal klorofil.



Gambar IV.8 Kondisi Optimum berdasar Respon Kadar Klorofil

IV.4.3 Optimasi Kondisi Ekstraksi

Dari respon *yield* dan kadar klorofil tersebut terdapat 2 kondisi optimum yang berbeda, namun karena diharapkan ekstraksi dapat berlangsung dengan baik, dari segi jumlah (*yield*) maupun kualitas (kadar) klorofil yang diperoleh dilakukan optimasi secara simultan baik pada respon *yield* dan kadar klorofil. Pada Tabel

IV.7 ditunjukkan bagaimana optimasi yang dilakukan memperoleh suatu solusi akan kondisi optimum ekstraksi yang baik digunakan dalam memperoleh klorofil baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif yaitu pada temperatur ekstraksi 36,2°C dan pada rasio massa umpan terhadap pelarut sebesar 1:17,1.

Tabel IV.7 Kondisi Optimum berdasar Respon *Yield* dan Kadar Klorofil Secara Simultan

Constraints						
Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A:A	is in range	26	50	1	1	3
B:B	is in range	10	20	1	1	3
YIELD KLOORI	maximize	53.8421	85.3904	1	1	3
KADAR WARM	maximize	33.3479	55.1662	1	1	3

Solutions						
Number	A	B	YIELD KLOORI	KADAR WARM	Desirability	
1	36.16	17.14	83.6571	53.3917	0.932	Selected

1 Solutions found

Untuk memvalidasi hasil optimasi yang diperoleh dari Design Expert dilakukan run tambahan, hasilnya disajikan pada Tabel IV.8. Berdasarkan analisis ANOVA dengan rancangan faktorial tunggal, hasil penelitian tersebut membuktikan variasi pelarut akan berpengaruh signifikan pada *yield*, kadar, dan nilai kLa. Pelarut aseton 80% terbukti merupakan pelarut terbaik untuk ekstraksi klorofil daun suji, bila dibandingkan dengan etanol 95 % dan air dan optimasi yang diperoleh dari design expert cukup memberikan keakuratan prediksi.

Tabel IV.8 Hasil Ekstraksi Klorofil Pada Kondisi Optimum

Pelarut	T (°C)	F:S	Yield (%)	Kadar Klorofil (%)	kLa (menit ⁻¹)
Aseton 80%	36,2	1:17,1	88,5907	60,8144	0,017
Aseton 80%	36,2	1:17,1	92,9796	59,2506	0,017
Etanol 95%	36,2	1:17,1	73,5611	56,0080	0,012
Etanol 95%	36,2	1:17,1	76,3333	55,8127	0,012
Air	36,2	1:17,1	48,2819	28,7443	0,015
Air	36,2	1:17,1	48,4470	28,5257	0,015

IV.4.4 Koefisien Perpindahan Massa Volumetrik

Koefisien perpindahan massa volumetrik, kLa merupakan salah satu parameter dalam proses difusi massa klorofil dari fasa padatan menuju fasa cair. Koefisien perpindahan massa volumetrik merupakan konstanta laju difusi yang berkaitan dengan laju perpindahan massa (fluks massa), luas permukaan perpindahan massa, dan gradien konsentrasi sebagai *driving force*. Laju perpindahan massa berbanding lurus dengan *driving force* yaitu perbedaan konsentrasi dan berbanding terbalik dengan tahanan yang setara dengan $1/kLa$. [Samun, 2008] Nilai kLa yang diperoleh selama penelitian dapat dilihat pada Tabel IV.9.

Tabel 4.9 kLa Ekstraksi Klorofil Daun Suji

Pelarut	T(°C)	F:S	kLa (menit ⁻¹)
Aseton 80 %	41,7	1:10,2	0,014
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	0,018
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	0,018
Aseton 80 %	28,3	1:17,9	0,015
Aseton 80 %	38,0	1:15,0	0,017
Aseton 80 %	28,3	1:12,1	0,013
Aseton 80 %	50,0	1:15,0	0,033
Aseton 80 %	41,7	1:19,8	0,018

Berdasarkan studi literatur yang dilakukan, masing-masing variabel penelitian tersebut akan memberikan pengaruh terhadap kLa seperti penjelasan di bawah ini :

1. Temperatur

Temperatur yang tinggi akan meningkatkan kelarutan *solute* di dalam pelarut, menurunkan viskositas *solute* dan pelarut, serta memperbesar pori-pori matriks padatan. Perpindahan massa yang terjadi akan semakin mudah karena pelarut semakin mudah untuk melarutkan *solute*, sehingga meningkatkan laju difusi eksternal. Penurunan viskositas dan porositas yang besar yang terjadi seiring kenaikan temperatur dapat mempermudah untuk *solute* berdifusi ke permukaan padatan atau pelarut berdifusi ke dalam matriks padatan yang akhirnya akan kontak. Hal-hal di atas menyebabkan

driving force-nya besar. *Driving force* yang besar akan meningkatkan laju difusi dan nilai $k_L a$ dapat dilihat pada persamaan IV.1. [Mc Cabe dan Warren L, 2005]

$$D_L = \frac{(117,3 \cdot 10^{-18}) (\varphi M_B)^{0,5} T}{\mu v_A^{0,5}} \quad (IV.1)$$

Dari persamaan IV.1 dapat dilihat temperatur berbanding lurus dengan difusivitas dan berbanding terbalik dengan viskositas pelarut sehingga temperatur tinggi menyebabkan viskositas *solute* dan pelarut rendah. Difusivitas tinggi dapat meningkatkan laju ekstraksi sehingga *solute* yang terekstrak lebih cepat. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa semakin besar temperatur, nilai $k_L a$ akan semakin besar terlihat pada perbandingan Run T = 38,0 °C dan F:S = 1:15,0 dibandingkan dengan Run T = 50,0°C dan F:S = 1:15,0.

2. Rasio massa umpan terhadap pelarut (F:S)

Perpindahan *solute* ke pelarut akan menyebabkan terjadi *driving force*, di mana adanya beda konsentrasi *solute* di fasa cair (ekstrak) dengan konsentrasi *solute* di permukaan matriks padatan dan beda kelarutan *solute-solute* penyusun umpan di dalam pelarut yang digunakan. Makin kecil F:S (massa umpan yang digunakan semakin kecil) menyebabkan *driving force*-nya besar. *Driving force* yang besar menyebabkan laju difusi dan $k_L a$ meningkat. Kecenderungan di mana semakin sedikit umpan maka dihasilkan $k_L a$ yang lebih besar telah sesuai dengan teori dapat dilihat pada saat T=28,3 °C dan F:S =12,1 dibandingkan dengan F:S =17,9 serta pada T = 41,7 °C dan F:S =10,2 dibandingkan dengan F:S =19,8.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ekstraksi zat warna hijau daun suji ini adalah:

1. Pemisahan non destruktif ekstraksi padat cair terbukti berhasil memisahkan klorofil yang terkandung dalam daun suji.
2. Senyawa-senyawa organik lain yang terkandung dalam daun suji adalah saponin steroid, minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan tanin.
3. Peningkatan temperatur menyebabkan *yield* dan kadar klorofil menurun namun nilai kLa meningkat. Peningkatan massa umpan menyebabkan *yield* klorofil dan nilai kLa menurun.
4. Variasi jenis pelarut memberikan pengaruh yang signifikan terhadap *yield* klorofil, kadar klorofil, dan nilai kLa. Interaksi variabel temperatur ekstraksi dan rasio massa umpan terhadap pelarut tidak berpengaruh signifikan terhadap respon *yield* dan kadar klorofil.
5. Senyawa organik yang diduga ikut terekstrak di antaranya adalah saponin steroid, minyak atsiri, karotenoid, alkaloid kolkisina, polifenol, flavonoid, tanin, dan pati fruktan.
6. Hasil penelitian ini memberikan *yield* klorofil daun suji dengan ukuran -10+50 mesh sebesar 48,2819 – 92,9796 %; kadar klorofil sebesar 28,525– 60,8144 %; dan nilai kLa 0,012-0,033 menit⁻¹.
7. Kondisi optimum ekstraksi klorofil diperoleh saat temperatur ekstraksi 36,2°C, F:S = 1:17,1 dengan pelarut aseton 80% dengan *yield* klorofil sebesar 90,7852 %, kadar klorofil sebesar 60,0325 % dan nilai kLa sebesar 0,017 menit⁻¹.

V.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ekstraksi zat warna hijau daun suji ini adalah:

1. perlu optimasi untuk memperoleh kadar klorofil yang besar, mengingat hasil kadar klorofil yang diperoleh kurang menunjukkan suatu kontur optimasi (menunjukkan titik puncak);
2. isolasi klorofil menggunakan teknik pemisahan sentrifugasi dan kristalisasi perlu dikaji lebih lanjut untuk memperoleh kualitas klorofil yang lebih tinggi;
3. isolasi klorofil menggunakan teknik pemisahan *precipitating agent* (contohnya eter minyak bumi) perlu dikaji lebih lanjut untuk memperoleh kualitas klorofil yang lebih tinggi; serta
4. untuk respon kadar klorofil, variasi rasio umpan terhadap pelarut perlu dikaji lebih lanjut untuk rentang variasi yang cukup lebar untuk melihat pengaruh variabel tersebut terhadap kadar klorofil.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, “*Tanaman Suji*”, <http://id.wikipedia.org/wiki/Suji> , di-*download* pada 24 Desember 2010 pukul 08.20 WIB
- Anonim, “*Daun Suji*”, <http://www.roasehat.com/Tanaman-Obat/Tanaman-Obat-C-D/Daun-Suji.html>, di-*download* pada 24 Desember 2010 pukul 08.25 WIB
- Anonim, http://dudahortikultura.com/tanaman_hias.php?halaman=3, di-*download* pada 3 Januari 2011 pukul 14.20 WIB.
- Anonim, <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/12608/2/F05kws.pdf> , di-*download* pada 3 Januari 2011 pukul 14.30 WIB.
- Anonim, <http://clearinghouse.bplhdjabar.go.id/> ,di-*download* pada 3 Januari 2011 pukul 14.32 WIB.
- Anonim, <http://www.herbal-obatalami.com/daun-suji.html> ,di-*download* pada 3 Januari 2011 pukul 14.32 WIB
- Anonim, “*Klorofil*”,http://www.lintasberita.com/Entertainment/Sains/Uji_Klorofil_Dari_Daun_Suji_Sebagai_Pewarna_Pakaian_Dasar_Teori, di-*download* pada 1 Januari 2011 pukul 08.35 WIB.
- Anonim,http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/kimia-industri/teknologi-proses/pelaksanaan-proses-ekstraksi/, di-*download* pada 3 Januari 2011 pukul 14.15 WIB
- Anonim,<http://www.scribd.com/doc/16766786/Pembuatan-Simplisia-dan-Ekstrak-Bahan-Alam>, di-*download* pada 5 Januari 2011 pukul 16.25WIB
- Badan Pusat Statistik, <http://regional.bps.go.id/~jabar> , di-*download* pada 15 Februari 2011 pukul 09.40 WIB di Jalan Pahlawan Bandung
- G. Mackinney, (1939), Criteria for Purity of Chlorophyll Preparations, *Division of Fruit Products*, pp. 91-108.
- Geankoplis, Christie J.,(1993), *Transport Process and Unit Operations*, 3rd ed. PrenticeHall, New Jersey
- Harborne.J.B, (1996), *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. ITB, Bandung ,hlm. 69-109, 127-158, 234-236, 259-269.

- Hiscox, J.D and G. F. Israelstam, (1979), *A Method for the Extraction of Chlorophyll from Leaf Tissue without Maceration*, didownload pada <http://rparticle.webp.cisti.nrc.ca/rparticle/AbstractTemplateServlet?calyLang=eng& journal=cjb&volume=57&year=1979&issue=12&msno=b79-163>, *Can. J. Bot.* **57**(12), pp. 1332–1334.
- Iriyama, K. Nagao Ogura, and Atusi Takamiya, (1974), *A Simple Method for Extraction and Partial Purification of Chlorophyll from Plant Material Using Dioxane*, didownload pada <http://jb.oxfordjournals.org/content/76/4/901.short>, *Journal of Biochemistry Volume 76*, pp. 901-904.
- Istichomah, K., (2004), Pengaruh lama penyimpanan daun terhadap komposisi dan kandungan klorofil daun suji (*Pleomele angustifolia* N. E. Brown), *Skripsi*, FSM-UKSW, Salatiga.
- Kirk, R.E and Donald F.Othmer,(1952), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Volume 1 The Interscience Encyclopedia, Inc., New York, pp. 503-504.
- Kirk, R.E and Donald F.Othmer,(1963), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Volume 3 The Interscience Encyclopedia, Inc., New York, pp.871-881
- Kirk, R.E and Donald F.Othmer,(1982), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Volume 11 The Interscience Encyclopedia, Inc., New York, pp. 411-423.
- Kirk, R.E and Donald F.Othmer,(1993), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Volume 12 The Interscience Encyclopedia, Inc., New York, pp. 917-921.
- Kirk, R.E and Donald F.Othmer,(1996), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Volume 14 The Interscience Encyclopedia, Inc., New York, pp.802-805 , 809-810.
- Lemmens, R.H.M.J. dan N.Bunyapraphatsara, (2003), “*Plant Resources of South-East Asia Medical and Poisonous Plants*”, Leiden: *Bachuys Publishers*.
- Limantara, L., P. Rahayu, (2008), Pigmen alami berbasis sumber daya lokal (dalam kualitas dan ketahanan pangan), *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Agroindustri Berbasis Sumberdaya Lokal Untuk Mendukung Ketahanan Nasional*, ISBN 978-979-1366-28-1, 37-49.

- Madalena, Heriyanto, Hastuti, S. and Limantara, L., (2007), The Effect of Heating Time to the Content of Pigments and Vitamin AA in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and Ceara-rubber (*Manihot glaziovii* Muell.Arg) Leaves, *Indo. J. Chem.*, 7, pp.105-110.
- McCabe, W.L., (2005), *Unit Operations of Chemical Engineering*, 5th ed. McGraw-Hill, New York.
- Minguez-Mosquera, M.I. and Garrido-Fernandez, J., (1989), Chlorophyll and Carotenoid Presence in Olive Fruit (*Olea europaea*), *American Chemical Society*, 37.
- Minguez-Mosquera, M.I., Garrido-Fernandez, J. and Gandul-Rojas, B., (1990), *J. Agric. Food Chem.*, 38, pp. 1662-1666.
- Nadjeeb, <http://nadjeeb.wordpress.com/2009/10/31/saponin/>, di-download pada 1 Januari 2011 pukul 08.55 WIB
- Nurlaela, E., Faiz Sutanto, dkk., (2008), *Uji Aktivitas Antioksidan dan Senyawa Klorofil Daun Katuk (Saoropus androgynous)*, didownload <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/13656/3/F07ysa1.pdf>, Institut Pertanian Bogor.
- Oktaviani, L. (1987), Perubahan – perubahan yang Terjadi pada Ekstrak Warna Hijau Daun Suji, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian.
- Parman, S. and Harnina, S., (2008), Pertumbuhan, Kandungan Klorofil dan Serat Kasar pada Defoliasi Pertama Alfalfa (*Medicago sativa* L) Akibat Pemupukan Mikrorisa, *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 16, pp. 2-6.
- Rianti, E., (2007), Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Zat Warna Alami Dari Daun Suji (*Pleomele Angustifolia (ROXB.) N.E.Br*), *Skripsi*, Institut Teknologi Bandung.
- Rozak, A.M. and Hartanto, U., (2008), Ekstraksi Klorofil dari Daun Pepaya dengan Solvent 1-Butanol, *Skripsi*, Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Salisbury, F. dan Cleon W Ross., (1995), *Fisiologi Tumbuhan*, Jilid Kedua. ITB, Bandung, hlm.143-154.
- Skoog, West Holler.,(2002), *Fundamental of Analytical Chemistry*, 8th ed .Thomas Brooks Cole, New York.

Treybal, R.E.,(1980), *Mass Transfer Operations*, 3rd Edition, McGraw-Hill Companies, Inc, New York, pp. 35-36.

Yafrida, Sesrita, L., Yuniartis, and Efdi, L., (2007), Kestabilan Pewarna Makanan Alami yang Berasal dari Daun Suji, *Skripsi*, Jurusan Kimia FMIPA Unand.