

PERBANDINGAN PELARUT PADA EKSTRAKSI TOTAL KLOROFIL DAUN MANGKOKAN DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI

Anik Eko Novitasari^{*)}, Robiatul Adawiyah

^{*)}Akademi Analisis Kesehatan Delima Husada Gresik
email korespondensi: anikekonovitasari@gmail.com

ABSTRACT

Chlorophyll constitutes green color plant pigment one get as been consumed suplemen food because utilitarian amongst those as detoxification, antioxidant, antiaging, anticancer, antimutagenic, anticarsinogenic, downing cholesterol serum, downing trigliserida, and downs constipation. Plant gets exploited green pigment as plant of herb is mangkokan's leaf. This research intent to titrate full scale chlorophyll and knowing distinctive chlorophylls totaled rate on extracts mangkokan's leaf with dissolving different one. This research did by extracts 5 mangkokan's leaf gram in 100 ml dissolvings, which is hot water dissolving, acetone 85%, alcohol 85%, and mixed acetonic 85%: alcohol 85% by Spektrofotometri's methods. Statistical quiz that is utilized to know the difference rate total chlorophyll is Forshyte's Brownian Quiz Test. Result observationaling to point out that exists distinctive chlorophyll totaled content on mangkokan's leaf that at extraction by use of hot water dissolving, acetone 85%, alcohol 85%, and mixed acetonic 85%: alcohol 85% by yielding sig 0,000 by signifikasi < 0,005. Average result (mean) hot water dissolving = 11,039 mg / L, acetone 85% = 39,828 mg / L, alcohol 85% = 42,779 mg / L, and mixed acetonic 85%: alcohol 85% = 48,041 mg / L. Optimum dissolving to extract rate full scale chlorophyll on leaf mangkokan is dissolving mixed acetonic 85%: alcohol 85% by compares 3:7 acquired averages as big as 48,041 mg / L.

Key word: Mangkokan's leaf, Dissolving, Full scale Chlorophyll

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan hayati yang melimpah akan tanaman hijau, sehingga tanaman tersebut akan mudah dijumpai dimana-mana. Tanaman yang sering dikonsumsi masyarakat adalah jenis sayur-sayuran. Tanaman mudah diperoleh dan memiliki harga yang terjangkau, disamping itu tanaman yang berwarna hijau dikenal kaya manfaat karena tanaman tersebut merupakan sumber pigmen, mineral dan vitamin terbaik yang penting bagi kesehatan manusia (Iriyani dan Pangesti, 2014).

Pigmen pada tanaman berwarna hijau adalah klorofil. Klorofil merupakan pigmen yang berperan penting dalam proses fotosintesis. Pigmen tersebut

ditemukan pada tanaman tingkat tinggi, pakis, lumut, alga, dan organisme prokariota, terdiri dari klorofil a dan klorofil b sebagai pigmen pelengkap (Gross, 1987, Lichtenthaler, 1987, Gross, 1991, Scheer, 1991 dalam Costa *et al.*, 2009). Klorofil berfungsi sebagai pembantu terjadinya detoksifikasi, antioksidan, antipenuaan dan antikanker (Iriyani dan Pangesti, 2014). Penelitian Lanfer-Marquez dalam Angkasa (2011) menunjukkan manfaat klorofil dan turunannya memiliki fungsi sebagai antimutagenik, antikarsinogenik, menurunkan serum kolesterol, menurunkan trigliserida dan menurunkan sembelit. Klorofil juga berfungsi sebagai antioksidan (Prangdimurti, 2007; Endo *et al.*, dalam Angkasa, 2011). Oleh karena itu, klorofil kini telah diekstrak dan

dikonsumsi sebagai suplemen makanan (Kurniawan et al., 2010).

Tanaman yang memiliki pigmen klorofil yang umumnya dimanfaatkan sebagai tanaman herbal adalah daun mangkokan. Daun mangkokan (*Nothopanax scutellarium Merr.*) dimanfaatkan masyarakat sebagai tanaman hias atau pagar yang tumbuh liar. Tanaman tersebut belum digunakan secara maksimal karena masyarakat belum mengetahui manfaat dan kegunaannya sebagai tanaman obat.

Industri pengolahan obat dan makanan yang berkembang saat ini memacu produsen untuk memproduksi klorofil sebagai suplemen makanan yang bisa dikonsumsi. Salah satunya adalah *liquid chlorophyll* atau *chlorophyllin* yang berbahan dasar dari ekstrak klorofil daun alfalfa (*Medicago sativa L.*) (Setiari dan Yulita, 2009). Suplemen siap saji berbahan dasar klorofil juga sudah diproduksi dari alga contohnya *Spirulina* sejenis alga biru hijau, dan *Chlorella* sejenis alga hijau. Penggunaan ekstrak daun alfalfa sebagai suplemen makanan mengalami kendala pada daerah untuk budidaya. Hal ini disebabkan karena jenis tanaman tersebut merupakan anggota Leguminosae dari daerah subtropik, sehingga pembudidayaan di Indonesia memerlukan iklim yang sejuk (Setiari dan Yulita, 2009). Hal ini pula yang mendorong penelitian menggunakan daun mangkokan sebagai bahan untuk ekstraksi klorofil.

Disisi lain untuk mengekstrak klorofil menggunakan pelarut organik seperti aseton dan alkohol sulit dijangkau, memerlukan banyak biaya dan kurang praktis untuk dilakukan masyarakat. Hal inilah yang mendorong peneliti menggunakan pelarut alternatif untuk mengekstrak klorofil. Air panas merupakan salah satu pelarut alternatif yang dapat digunakan. Dengan air panas sebagai pelarut, maka masyarakat mudah melakukan ekstraksi klorofil secara mandiri tanpa perlu banyak biaya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur kadar total klorofil dalam daun mangkokan yang diekstrak dengan menggunakan pelarut air panas, aseton,

alkohol dan campuran aseton: alkohol dan untuk mengetahui perbedaan kadar total klorofil pada daun mangkokan yang diekstrak dengan menggunakan pelarut air panas, aseton, alkohol dan campuran aseton: alkohol, sehingga diharapkan dapat bermanfaat untuk menambah informasi kepada masyarakat tentang cara untuk mengekstrak kadar total klorofil pada daun mangkokan dengan menggunakan pelarut yang sesuai sehingga mendapatkan kadar klorofil yang optimal.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analis Kesehatan Delima Husada Gresik, Jalan Arief Rahman Hakim No. 2B Gresik pada bulan Maret-Agustus 2017. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangkokan yang sudah tua yang diambil dari 6 lokasi kebun yang berbeda, aquades, aseton 85%, alkohol 85%, dan CaCO_3 . Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-VIS 1600 0c. Versi 1.0.4, Vwr, kuvet, corong buchner, *sentrifuge*, neraca analitik ohaus 3 desimal, erlenmeyer, labu ukur 25 ml, 100 ml dan 250 ml, pipet volume 4 ml, 5 ml, 10 ml, dan 25 ml, *beacker glass*, pipet ukur, pipet tetes, push ball, mortar dan alu, gelas arloji, corong, batang pengaduk, cawan petri, kasa, kertas saring, karet, tissue.

Sampel daun mangkokan dibersihkan, ditumbuk dalam mortar sampai halus, kemudian sampel ditimbang 5 g. Sampel yang telah ditimbang kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut (air panas, aseton, alkohol) sebanyak 100 ml dan untuk campuran aseton 85% : alkohol 85% menggunakan perbandingan 3:7 (sampai sampel terendam semua), kemudian ditambahkan larutan penstabil CaCO_3 0,1 gram selama 3 x 24 jam dan tiap 24 jam. Selanjutnya filtrat dan rafinat dipisahkan dengan cara filtrasi vakum dengan menggunakan corong buchner. Filtrat yang diperoleh berupa campuran ekstrak dan pelarut dipisahkan dengan ditutup kasa

kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil pemisahan tersebut kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3.400 rpm selama 5 menit untuk memisahkan pekatan klorofil dari pelarut yang terbentuk dari ekstrak. Ekstrak klorofil diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 663 nm dan 645 nm (Metode Wintermans and De Mots) dan panjang gelombang 649 dan 665 nm (Metode Arnon). Pengukuran diulang dua kali dari 6 sampel tanaman. Perhitungan kandungan total klorofil (Mg/L) ditentukan dengan rumus :

Klorofil total (mg/L) = 20 (OD 649) + 6,1 (OD 665) x (pengenceran =6,25)

Klorofil total (mg/L) = 20,2 (OD 645) + 8,02 (OD 663) x (pengenceran =6,25)

Uji statistik yang digunakan untuk menganalisis kandungan total klorofil adalah uji brown forshyte test.

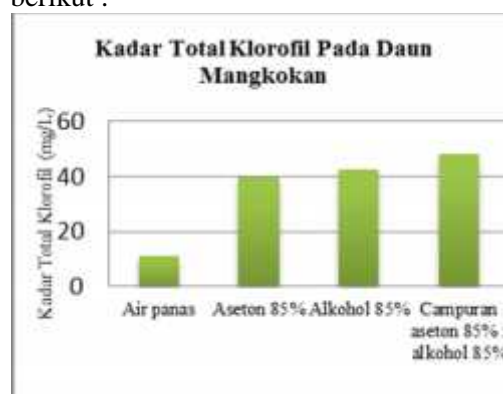
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis kadar total klorofil pada ekstraksi daun mangkoka dengan pelarut air panas, aseton 85%, alkohol 85%, dan campuran aseton 85% : alkohol 85% diperoleh hasil sebagaimana tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1 Data hasil analisis kadar total klorofil pada ekstraksi daun mangkoka.

Kode	Ulangan	Kadar Klorofil (mg/L)			
		Pelarut air panas	Pelarut aseton	Pelarut alkohol	Pelarut Campuran Aseton: alkohol
A	I	11,593	42,403	44,727	54,231
	II	11,179	39,026	45,271	55,887
B	I	16,486	46,509	52,381	58,156
	II	15,747	46,029	46,676	61,262
C	I	15,872	43,184	49,154	52,482
	II	15,584	45,680	44,055	55,711
D	I	13,523	36,480	37,783	45,165
	II	9,559	36,352	38,098	39,653
E	I	4,866	36,176	38,151	36,876
	II	5,241	35,899	38,516	56,405
F	I	4,540	36,452	39,511	28,762
	II	8,288	33,755	39,033	31,909

Dari analisis kadar total klorofil pada ekstraksi daun mangkoka dengan pelarut air panas, aseton 85%, alkohol 85%, dan campuran aseton 85% : alkohol 85% dengan menggunakan SPSS 16 *For Windows*, diperoleh hasil Mean (rerata) yaitu air panas = 11,0398 mg/L, aseton 85% = 39,8288 mg/L, alkohol 85% = 42,7797 mg/L, dan campuran aseton 85% : alkohol 85% = 48,0416 mg/L, dapat ditampilkan dalam diagram batang sebagai berikut :



Gambar 1 Diagram Kadar Total Klorofil

Berdasarkan diagram batang tersebut dapat disimpulkan bahwa pelarut yang optimum untuk mengekstrak kadar total klorofil pada daun mangkoka adalah pelarut campuran aseton 85% : alkohol 85% dengan perbandingan 3:7 diperoleh rerata sebesar 48,0416 mg/L.

Pelarut campuran aseton 85% : alkohol 85% dapat dikatakan sebagai pelarut optimum karena prosentase atau kadar total klorofil yang terekstrak pada daun mangkoka paling banyak dibandingkan dengan pelarut yang lain (pelarut air panas, pelarut aseton 85%, dan pelarut alkohol 85%).

Hasil diatas juga telah diuji dengan SPSS 16 *For Windows* dengan uji statistik Brown-Forshyte Test, uji tersebut menyatakan bahwa ada perbedaan kadar total klorofil pada ekstraksi daun mangkoka dengan pelarut air panas, aseton 85%, alkohol 85%, dan campuran aseton 85% : alkohol 85%. Perbedaan penggunaan pelarut dalam mengekstraksi kadar total klorofil pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pelarut yang optimum untuk mengekstrak kadar total

klorofil pada daun mangkogan. Jumlah ekstrak total klorofil semakin besar apabila menggunakan campuran pelarut aseton 85% : alkohol 85% sebagai larutan pengeksrak, sehingga pelarut tersebut merupakan pelarut yang optimum untuk mengekstrak total klorofil pada daun mangkogan. Pelarut aseton 85% dan alkohol 85% diduga memiliki tingkat kepolaran yang lebih mendekati tingkat kepolaran klorofil dibandingkan pelarut air panas sebagai larutan pengeksrak (Putri *et al.*, 2012).

Pelarut campuran aseton 85%: alkohol 85% lebih banyak melarutkan klorofil a dari pada klorofil b. Hal ini dapat dilihat berdasarkan struktur kimianya, klorofil a bersifat kurang polar atau bahkan sering digolongkan sebagai senyawa non polar, sedangkan klorofil b berifat polar. Sifat kimia dari klorofil dipengaruhi oleh karbon ketujuh yang mengandung residu propionat, dan teresterifikasi dengan fitol (Othmer dalam Andriani, 2014).

Berdasarkan hasil rerata (mean) ekstraksi total klorofil menggunakan pelarut aseton 85% sebesar 39,8288 mg/L, sedangkan hasil rerata alkohol 85% sebesar 42,7797 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa total klorofil yang dihasilkan alkohol 85% lebih tinggi dari pada pelarut aseton 85% dan air panas. Pelarut alkohol memiliki sifat semi polar larut dengan air yang bereaksi lebih cepat dalam memecah kloroplas dan menarik klorofil dari daun (Fadhilah, 2016).

Pelarut aseton menghasilkan ekstrak total klorofil yang lebih sedikit daripada alkohol. Hal ini dikarenakan pelarut aseton memiliki sifat sedikit larut dalam air dibandingkan dengan alkohol akibatnya pelarut tersebut lebih sedikit memecah kloroplas dan melakukan penarikan klorofil dari daun (Ferdian, dalam Fadhilah 2016). Sedangkan ekstrak total klorofil pada daun mangkogan dengan menggunakan pelarut air panas diperoleh hasil rerata ekstrak total klorofil yang tidak cukup banyak yaitu sebesar 11,0398 mg/L, yang merupakan kurang lebih sepertiga dari ketiga pelarut lainnya.

Penurunan kadar total klorofil menggunakan pelarut air panas dapat ditinjau dari struktur kimianya dimana klorofil a bersifat kurang polar atau bahkan sering digolongkan sebagai senyawa non polar, sedangkan klorofil b berifat polar. Menurut De Man dalam Putri *et al.*, (2012) klorofil yang masih memiliki gugus fitol memiliki daya larut yang rendah terhadap air.

Penelitian ekstraksi kadar total klorofil dengan menggunakan pelarut air panas ini, sampel daun mangkogan dimaserasi ke dalam air panas 95 °C -100 °C selama 1-2 menit sehingga enzim klorofilase tidak dalam keadaan aktif untuk mendegradasi klorofil. Menurut Fennema dalam Putri *et al.*, (2012), enzim klorofilase merupakan enzim yang mengkatalisa degradasi klorofil dengan aktivitas antara suhu 62,2 °C sampai 80 °C. Sedangkan hasil penelitian Prasetyo (2012) mengatakan bahwa *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. Meskipun demikian pelarut air panas bisa dijadikan sebagai pelarut alternatif untuk memudahkan masyarakat dalam mengekstrak klorofil secara mandiri apabila ingin mengkonsumsinya sebagai suplemen makanan tanpa harus mengeluarkan banyak biaya dan bisa dilakukan dalam waktu singkat.

Ketidakstabilan senyawa klorofil dalam daun mangkogan pada penelitian ini diatasi dengan ditambahkan zat penstabil klorofil yaitu kalsium karbonat (CaCO₃). 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 dalam Prasetyo *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian kadar total klorofil pada daun mangkokan dengan pelarut air panas diperoleh hasil rerata sebesar = 11,0398 mg/L, aseton 85% = 39,8288 mg/L, alkohol 85% = 42,7797 mg/L, dan campuran aseton 85% : alkohol 85% = 48,0416 mg/L. Hasil penelitian kadar total klorofil pada ekstraksi daun mangkokan dengan pelarut air panas, aseton 85%, alkohol 85%, dan campuran aseton 85% : alkohol 85% menunjukkan terdapat perbedaan dengan hasil sig 0,000 dimana signifikansi < 0,005. Pelarut yang optimum untuk mengekstrak kadar total klorofil pada daun mangkokan adalah dengan menggunakan pelarut campuran aseton 85% : alkohol 85% dengan perbandingan 3:7 diperoleh hasil rerata sebesar 48,041 mg/L.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang ekstraksi kadar total klorofil dengan pelarut yang belum diketahui metodenya. Perlu dilakukan penelitian lebih mendalam tentang sumber klorofil lain untuk mengkaji potensi tanaman dengan pelarut air panas sehingga bisa aplikatif untuk dikonsumsi sebagai suplemen makanan. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang perbandingan kadar ekstraksi total klorofil pada jenis tanaman tingkat tinggi dengan kadar ekstraksi total klorofil pada jenis alga.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, L.L. 2014. Pengaruh jenis pelarut dan uji stabilitas warna pada ekstraksi klorofil daun katuk (*Sauropus androgynus*). Palembang: Politeknik Negri Sriwijaya. [Skripsi].
- Angkasa, D. 2011. Pengembangan minuman fungsional sumber serat dan antioksidan dari daun hantap (*Sterculia oblongata* r. brown.). Bogor: IPB. [Skripsi].
- Fadhilah, R.R. 2016. Pengaruh perlakuan blanching dan jenis bahan pengekstrak terhadap karakteristik pewarna hijau alami daun mulberry (*Morus alba* L). Bandung: Universitas Pasundan. [Skripsi].
- Iriyani, D., dan Pangesti, N. 2014. Kandungan klorofil, karotenoid dan vitamin C beberapa jenis sayuran daun pertanian periurban di Kota Surabaya. *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*, XV (2): 84-90.
- Kurniawan, M., Izzati, M., Nurchayati, Y. 2010. Kandungan klorofil, karotenoid dan vitamin C pada beberapa spesies tumbuhan akuatik. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, XVIII (I): 28-40.
- Prangdimurti, E. 2007. Kapasitas antioksidan dan daya hipokolesterolemik ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia* N.E.Brown). Bogor: Institut Pertanian Bogor. [Disertasi].
- Prasetyo, S., Henny, S., dan Yohanes, Y.N. 2012. Pengaruh rasio massa daun suji atau pelarut, temperatur dan jenis pelarut pada ekstraksi klorofil daun suji secara batch dengan pengontakan dispersi. *Universitas Prahyanan*, II (1).
- Putri, W.D.R., Zubaidah, E., dan Sholahudin, N. 2012. Ekstraksi pewarna alami daun suji, kajian pengaruh blanching dan jenis bahan pengekstrak. *Fakultas Teknologi Pertanian, Unibraw* IV (1) : 13 – 24.
- Setiari, N., dan Yulita, N. 2009. Eksplorasi kandungan klorofil pada beberapa sayuran hijau sebagai alternatif bahan dasar makanan tambahan. *BIOMA*, XI (1): 6-10.