

Karakteristik Ekstrak Pewarna Alami Daun Singkong (*Manihot esculenta*) pada
Perlakuan Jenis Pelarut dan Suhu Maserasi
*Characteristics Of Cassava Leaves (Manihot Esculenta) Extracts As a Natural Dyes On Type
Solvent Type And Maserating Temperature*

Rian Lamhot Parasian Hutabarat, Ni Made Wartini*, Nyoman Semadi Antara
PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit
Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801

Diterima 16 Nopember 2020 / Disetujui 29 Desember 2020

ABSTRACT

*This study aims to determine the effect of type of solvent and maceration temperature on the characteristics of cassava leaves extracts as a natural dyes leaves and determine the type of solvent for cassava leaf powder and the best maceration temperature to obtain the extract of natural cassava leaves. This study used a factorial randomized block design with 2 factors, namely the type of solvent (85% ethanol, 85% acetone and mixture (85% ethanol: 85% acetone) and maceration temperature (35 ° C, 45 ° C and 55 ° C). The data obtained were analyzed with variance and if the treatment had a significant effect, then continued with the Tukey test. The results showed that the treatment interactions had a very significant effect on yield, chlorophyll b, brightness (L *), yellowish level (b *), total chlorophyll, chlorophyll a, redness (a *), but had no significant effect on the interaction at the level of redness (a *). The treatment of 85% acetone solvent and 55 ° C maceration temperature was the best treatment to produce acetone extract of natural dye of cassava leaves with yield characteristics of 14, 04%, total chlorophyll 12.10%, chlorophyll a 4.39%, chlorophyll b 7.71%, brightness (L *) 16.46, redness (a *) 9.77 yellowish (b *) of 5.70. brightness level (L*) of 11.03, redness level (a*) of 10.29, yellowish level (b*) of 2.83.*

Key words: *cassava leaves, dye extract, maceration temperature, natural dye, solvent type.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan suhu maserasi terhadap karakteristik ekstrak pewarna alami daun singkong dan menentukan jenis pelarut dan suhu maserasi terbaik untuk mendapatkan ekstrak pewarna alami daun singkong. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Pola Faktorial dengan 2 Faktor yaitu Jenis Pelarut (Etanol 85%, Aseton 85% dan Campuran (Etanol 85% : Aseton 85%) dan Suhu Maserasi (35°C, 45°C dan 55°C). Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan apabila perlakuan berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan interaksi perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen, klorofil b, tingkat kecerahan (L*), tingkat kekuningan (b*), klorofil total, klorofil a, kemerahan (a*), tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap interaksi pada tingkat kemerahan (a*). Perlakuan jenis pelarut aseton 85% dan suhu maserasi 55°C merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak aseton pewarna alami daun singkong dengan karakteristik rendemen sebesar 14,04%, klorofil total sebesar 12,10%, klorofil a sebesar 4,39%, klorofil b sebesar 7,71%, tingkat kecerahan (L*) sebesar 16,46, tingkat kemerahan (a*) sebesar 9,77, tingkat kekuningan (b*) sebesar 5,70.

*Korespondensi Penulis:

Email : md_wartini@unud.ac.id

Kata kunci: daun singkong, ekstraksi, suhu maserasi, pewarna alami, jenis pelarut.

PENDAHULUAN

Singkong merupakan tanaman pertanian yang sangat produktif. Pada tahun 2018, produksi singkong di Indonesia mencapai 20 juta ton (Departemen Pertanian, 2019). Singkong terdiri atas 45% bagian umbi, 35% bagian batang, 20% bagian daun. Tingginya tingkat produksi singkong membuat daun singkong menjadi bahan baku yang sangat mudah didapatkan. Selain mudah didapatkan daun singkong juga memiliki harga yang relatif murah sehingga mendukungnya sebagai bahan pewarna yang potensial. Sejauh ini zat warna alami yang telah banyak digunakan oleh masyarakat diantaranya adalah zat warna kuning dari kunyit, warna cokelat dari karamel, warna hijau dari klorofil, dan lain sebagainya. Senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna pada daun singkong adalah klorofil.

Klorofil yang juga disebut pigmen hijau, yang sebagian besar ditemukan dalam membran tilakoid kloroplas. Pigmen hijau pada daun berperan mengabsorpsi cahaya dalam fotosintesis fase I, yaitu reaksi fotolisis (Salisbury dan Ross, 1995). Klorofil tidak hanya berguna bagi tanaman dalam proses fotosintesis, namun berfungsi juga untuk membantu proses detoksifikasi dan sebagai antioksidan, antipenuaan dan anti kanker (Iriyani dan Pangesti, 2014). Selain itu klorofil dan pewarna turunan klorofil telah terdaftar dalam Codex Alimentarius Commission sebagai pigmen pewarna alami dengan kode E140 (Kendrick, 2012).

Cahyadi (2009) menyatakan bahwa berdasarkan sumbernya dikenal dua jenis zat pewarna, yaitu pewarna alami dan pewarna sintesis. Selain penggunaannya yang lebih aman dibandingkan dengan pewarna sintesis, pewarna alami juga memiliki keunggulan tidak memiliki efek samping dari

penggunaannya. Sejauh ini zat warna alami yang telah banyak digunakan oleh masyarakat diantaranya adalah zat warna kuning dari kunyit, warna cokelat dari karamel, warna hijau dari klorofil, dan lain sebagainya (Purba, 2010). Salah satu teknologi yang dapat digunakan secara universal untuk mendapatkan zat klorofil dari bahannya adalah dengan cara ekstraksi (Dewi et al., 2016).

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Dalam proses ekstraksi, terutama untuk bahan alami ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi yang diperoleh. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain jenis pelarut, suhu maserasi, rasio bahan dan pelarut, ukuran partikel dan lain-lain (Watson, 2005). Jenis pelarut yang digunakan merupakan faktor yang penting dalam ekstraksi. Senyawa memiliki tingkat kelarutan yang berbeda, pemilihan pelarut yang tepat dilakukan dengan memperhatikan nilai konstanta dielektrikum pelarut yang sebanding dengan tingkat kepolaran senyawa yang akan diekstrak (Watson, 2005). Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, kelarutan bahan yang diekstrak biasanya akan meningkat dengan peningkatan suhu sehingga diperoleh laju ekstraksi yang tinggi (Pramudono et al., 2008). Akan tetapi setiap senyawa memiliki kepekaan suhu yang berbeda agar senyawa yang terdapat pada bahan tidak rusak (Watson, 2005).

Senyawa klorofil dapat terekstrak dengan menggunakan larutan aseton, etanol, atau campurannya (Novitasari dan Adawiyah, 2018). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa campuran aseton (85%) dan etanol (85%) dengan perbandingan 3:7 merupakan larutan pengestrak terbaik untuk

mengekstrak secara maksimal klorofil dari daun mangkogan. Pelarut campuran aseton dan etanol memiliki tingkat kepolaran yang mendekati tingkat kepolaran dari klorofil (Putri et al., 2003). Selain itu penggunaan air sebagai pelarut memiliki pengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan (Novitasari dan Adawiyah, 2018). Dalam penelitian Dewi et al. (2016), suhu maserasi optimal pada ekstraksi klorofil selada air dengan pelarut etanol adalah 45° C. Penelitian Prasetyo et al. (2012) menyatakan bahwa suhu optimum untuk menghasilkan kadar klorofil daun suji terbesar yaitu pada suhu 36,2 °C.

Berdasarkan uraian di atas pengaruh jenis pelarut dan suhu maserasi mempunyai pengaruh dalam menentukan hasil ekstraksi klorofil pada daun singkong, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstraksi klorofil dari daun singkong pada perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi sebagai pewarna hijau alami untuk makanan. Selama ini belum diketahui pengaruh variasi pelarut dan suhu maserasi terhadap karakteristik ekstrak klorofil dari daun singkong. Tujuan penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan suhu maserasi terhadap karakteristik ekstrak pewarna alami daun singkong serta menentukan jenis pelarut dan suhu maserasi terbaik untuk mendapatkan ekstrak pewarna alami daun singkong.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ayakan 60 mesh (Retsch), blender (Philips), rotary evaporator (Buch R-300 tipe V), color reader (Accuprobe HH-06), timbangan analitik (Shimazu), oven (Blue M), spektrofotometer (Biochrome SN 133467), vortex (Barnstead Thermolyne Maxi Mix II), kertas saring kasar, kertas saring Whatman No.1, dan alat-alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan adalah daun singkong dari pasar Badung, dengan kriteria bewarna hijau tua dan memiliki ukuran yang seragam yaitu panjang daun utama ± 15 cm dan lebar daun sekitar 3-5 cm. Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah aquades (Bratachem), aseton teknis 96% (Bratachem), aseton pro analysis 95,5 % (Bratachem), etanol teknis 96% (Bratachem) dan CaCO₃ (Merck).

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan sampel

Daun singkong disortasi kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran dan benda asing yang menempel. Selanjutnya dilakukan blansir dalam air panas 100 oC selama kurang lebih 1 menit (Prasetyo, 2012), kemudian daun singkong ditiriskan dan didinginkan. Setelah itu daun singkong dipotong kecil, dengan panjang 1 cm, kemudian dilakukan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan oven pada suhu $50 \pm 1^\circ\text{C}$ sampai mudah dihancurkan, kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh (Antari et al., 2015). Sehingga dihasilkan bubuk daun singkong yang seragam.

Ekstraksi daun singkong

Proses ekstraksi daun singkong menggunakan cara yang dikembangkan oleh Antari et al. (2015) dengan modifikasi penambahan CaCO₃ 0,1%. Bubuk daun singkong yang sudah diayak ditimbang sebanyak 50 gram dan dimasukkan ke dalam botol ekstrasi, kemudian ditambahkan pelarut sesuai perlakuan (aseton 85%, etanol 85% dan campuran aseton : etanol yaitu 3:5) dengan rasio sampel : pelarut (1:5) dan ditambahkan CaCO₃ 0,1% dengan tujuan mempertahankan warna hijau pada proses maserasi dan mencegah terbentuknya senyawa turunan klorofil saat ekstrak berada dengan banyak asam organik (Prasetyo et al., 2015). Proses maserasi dilakukan selama 48

jam di dalam inkubator pada suhu sesuai perlakuan ($35 \pm 1^\circ\text{C}$, $45 \pm 1^\circ\text{C}$, dan $55 \pm 1^\circ\text{C}$) dan ditutup rapat kemudian dilakukan pengojogan secara manual setiap 6 jam selama 5 menit sehingga diperoleh ekstrak bercampur pelarut.

Penentuan Rendemen

Perhitungan rendemen pada ekstrak daun singkong menggunakan metode yang digunakan Sudarmadji et al. (1989). Hasil ekstrak daun singkong dibagi dengan berat bahan yang digunakan. Kemudian hasil tersebut dikalikan dengan 100%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kasar (gram)}}{\text{berat bahan kering (gram)}} \times 100\%$$

Penentuan Kadar Klorofil

Pada penentuan kadar klorofil pada ekstrak daun singkong menggunakan metode Nollet (2004). Sebanyak 0,5 g sampel ekstrak daun singkong diekstrak dengan aseton 80%, campuran disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Kadar total klorofil, klorofil a dan klorofil b dengan pengukuran langsung terhadap absorbansi supernatan pada 645 dan 663 nm. Perhitungan kadar klorofil dilakukan dengan rumus:

$$\text{Total Klorofil (ppm)} = 20,2 A_{645 \text{ nm}} + 8,02 A_{663 \text{ nm}}$$

$$\text{Klorofil a (ppm)} = 12,7 A_{663 \text{ nm}} - 2,69 A_{645 \text{ nm}}$$

$$\text{Klorofil b (ppm)} = 22,9 A_{645 \text{ nm}} - 4,68 A_{663 \text{ nm}}$$

$$\% = \frac{\text{Konsentrasi klorofil } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Faktor Pelarut (Fp)} \times 100\%}{\text{Konsentrasi sampel awal } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}$$

Tabel 1. Nilai rata-rata rendemen ekstrak pewarna alami daun singkong (%)

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi ($^\circ\text{C}$)			Rerata
	35±2	45±2	55±2	
Aseton 85%	16,32±0,21	17,04±0,23	14,04±0,07	15,80±1,57 ^a
Etanol 85% : Aseton 85%	14,13±1,23	14,10±0,34	12,45±0,63	13,56±0,96 ^b
Etanol 85%	11,99±1,48	11,80±0,43	10,63±0,91	11,47±0,74 ^c
Rerata	14,15±2,17 ^a	14,31±2,63 ^a	12,37±1,17 ^b	

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok

Penentuan Intensitas Warna sistem L*, a*, b*

Penentuan intensitas warna pada ekstrak daun singkong menggunakan metode Weaver (1996). Notasi L* memiliki nilai 0 (hitam) sampai dengan 100 (putih) yang menyatakan bahwa cahaya pantul menghasilkan warna akromatik putih, abu-abu dan hitam. Nilai a* yang positif (0 sampai 100) menunjukkan warna merah. Sedangkan nilai negatif dari a* (0 sampai -100) menunjukkan warna hijau. Untuk notasi b* merupakan notasi dari warna kromatik campuran dari warna biru hingga kuning. Diagram akan menyatakan warna kuning apabila nilai dari b* adalah positif (0 sampai 100) sedangkan diagram akan menunjukkan warna biru apabila nilai dari b* adalah negatif (0 sampai -100). Warna diukur dengan menempelkan ujung reseptor pada botol kaca yang berisi sampel kemudian tekan tombol target.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis pelarut dan suhu maserasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), dan interaksinya berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap rendemen ekstrak pewarna alami daun singkong. Nilai rata-rata rendemen ekstrak pewarna alami daun singkong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut aseton menghasilkan nilai rendemen tertinggi kemungkinan karena senyawa yang terdapat pada ekstrak daun singkong mempunyai kepolaran paling mirip dengan pelarut aseton, dibandingkan dengan pelarut etanol dan pelarut campuran (aseton : etanol). Pelarut aseton memiliki tingkat kepolaran yang terendah dan pelarut etanol mempunyai tingkat kepolaran yang tertinggi. Semakin rendah polaritas, makin besar rendemen yang dihasilkan. Penelitian ini didukung oleh penelitian Dewi et al. (2015) tentang pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen dan karakteristik ekstrak klorofil dari buah pandan menunjukkan bahwa aseton menghasilkan rendemen terbaik dibandingkan dengan pelarut etanol.

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rata-rata rendemen ekstrak pewarna alami daun singkong tertinggi diperoleh pada suhu 45°C

tetapi tidak berbeda dengan suhu 35°C kemudian menurun pada suhu 55°C. Hal ini karena protein dalam daun singkong mengalami denaturasi pada suhu tinggi dan menyebabkan protein kehilangan mantel air dan menggumpal dan mengakibatkan semakin sedikitnya senyawa yang terlarut dalam pelarut (Yazid dan Nursanti, 2006. Gohl (1981) menyatakan bahwa daun singkong mengandung protein kasar sebanyak 25,40%.

Total Klorofil

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi serta interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total klorofil ekstrak pewarna alami daun singkong. Nilai rata-rata total klorofil ekstrak pewarna alami daun singkong dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata total klorofil ekstrak pewarna alami daun singkong (%)

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi (°C)		
	35±2	45±2	55±2
Aseton 85%	9,46±0,12 ^{cd}	11,05±0,65 ^b	12,10±0,00 ^a
Etanol 85% : Aseton 85%	9,39±0,07 ^{cd}	9,69±0,14 ^{cd}	9,97±0,12 ^c
Etanol 85%	9,11±0,11 ^d	6,17±0,1 ^e	6,01±0,03 ^e

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok.

Tabel 2 menunjukkan bahwa jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C menghasilkan rata-rata total klorofil tertinggi yaitu sebesar 12,1±0,00% berbeda nyata dengan semua perlakuan, Jenis pelarut aseton menghasilkan nilai total klorofil tertinggi kemungkinan ini disebabkan bahwa senyawa klorofil pada ekstrak daun singkong mempunyai nilai kepolaran yang mendekati kepolaran pelarut aseton. Peningkatan nilai rata-rata total klorofil pada pelarut aseton dan kenaikan suhu pada jenis pelarut aseton dan pelarut campuran disebabkan oleh dinding sel yang pecah dan pori-pori yang merenggang lebih mudah memungkinkan komponen yang

terkandung didalam daun lebih mudah berdifusi keluar serta peningkatan suhu dapat menurunkan viskositas komponen yang berwujud cairan sehingga lebih mudah keluar menuju permukaan matriks padatan (Cabe dan Warren, 2005).

Klorofil a

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi serta interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap klorofil a ekstrak pewarna alami daun singkong. Nilai rata-rata klorofil a ekstrak pewarna alami daun singkong dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata klorofil a ekstrak pewarna alami daun singkong (%)

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi (°C)		
	35±2	45±2	55±2
Aseton 85%	5,01±0,01 ^a	3,94±0,25 ^b	4,39±0,00 ^e
Etanol 85% : Aseton 85%	3,49±0,05 ^d	3,58±0,02 ^{cd}	3,68±0,08 ^c
Etanol 85%	3,20±0,01 ^d	2,26±0,09 ^f	2,10±0,02 ^f

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok.

Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai rata-rata klorofil a tertinggi dihasilkan pada jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 35°C yaitu sebesar 5,01±0,01%, yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pelarut aseton menghasilkan klorofil dengan nilai tertinggi menandakan bahwa tingkat kepolaran dari pelarut mendekati nilai kepolaran dari klorofil a dan dapat diketahui bahwa klorofil a memiliki sifat semi polar karena pelarut aseton memiliki tingkat kepolaran terendah dibandingkan dengan jenis pelarut etanol 85% dan pelarut campuran (aseton 85% : etanol 85%). Hasil ini didukung oleh Kirk dan Othmer (1993) yang menyatakan dari struktur kimianya, dapat dilihat bahwa klorofil a memiliki sifat 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 propionate dan teresterifikasi dengan fitol. Akan tetapi peningkatan suhu maserasi menyebabkan nilai rata-rata klorofil a pelarut aseton dan pelarut etanol mengalami

penurunan. Hal ini disebabkan pemanasan dapat mengakibatkan denaturasi protein sehingga klorofil menjadi tidak terlindungi. Selama pemanasan, asam-asam organik dalam jaringan dibebaskan yang mengakibatkan pembentukan feofitin (Kirk dan Othmer, 1993). Namun adanya penstabil yang digunakan menyebabkan kadar klorofil tidak benar-benar turun seiring peningkatan suhu (Cabe dan Warren, 2005).

Klorofil b

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa faktor perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi serta interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap kadar klorofil b ekstrak pewarna alami daun singkong. Nilai rata-rata klorofil b ekstrak pewarna alami daun singkong dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan nilai rata-rata klorofil b ekstrak daun singkong tertinggi pada perlakuan jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C yaitu sebesar 7,71%.

Tabel 4. Nilai rata-rata klorofil b ekstrak pewarna alami daun singkong (%)

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi (°C)		
	35±2	45±2	55±2
Aseton 85%	4,45±0,11 ^d	7,11±0,40 ^b	7,71±0,00 ^a
Etanol 85% : Aseton 85%	5,90±0,03 ^c	6,12±0,12 ^c	6,30±0,07 ^c
Etanol 85%	5,91±0,11 ^c	3,92±0,01 ^e	3,92±0,04 ^e

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok.

Penggunaan jenis pelarut berbeda menyebabkan perbedaan nilai rata-rata

klorofil b ekstrak pewarna alami daun singkong, ini disebabkan pelarut aseton 85% pelarut campuran dan pelarut etanol 85% yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Pada suhu 45°C dan suhu 55°C, semakin rendah kepolaran pelarut yang digunakan maka semakin tinggi kadar klorofil b ekstrak, tetapi pada suhu 35°C menunjukkan adanya penurunan kadar klorofil b ekstrak dengan semakin tingginya keolaran pelarut. Hal ini dimungkinkan karena klorofil b lebih stabil pada suhu yang tinggi dan suhu optimum untuk mendapatkan kadar klorofil yang baik adalah 55°C dengan pelarut aseton. Menurut Gross (1991) klorofil b lebih stabil terhadap panas dibandingkan dengan klorofil a, hal tersebut dikarenakan pelepasan magnesium dari klorofil b lebih lambat Sembilan kali lipat dibandingkan klorofil a. Menurut Aronof (1958) perbedaan kecepatan ini disebabkan oleh pengaruh induktif dari gugus fungsi klorofil b yang menyebabkan ikatan ion magnesium menjadi lebih cepat. Pelepasan magnesium akan mengakibatkan terjadinya reaksi degradasi klorofil b menjadi feofitin b, dimana reaksi ini akan menghasilkan warna hijau kecoklatan pada klorofil b.

Tingkat Kecerahan (L*)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi serta interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap

tingkat kecerahan (L*) ekstrak pewarna alami daun singkong. Nilai L* menyatakan tingkat gelap sampai terang dengan kisaran 0-100. Rata-rata tingkat kecerahan (L*) ekstrak aseton pewarna alami dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan bahwa ekstrak pewarna alami daun singkong yang dihasilkan dengan pelarut etanol 85% dan suhu maserasi 45°C menghasilkan nilai rata-rata kecerahan yang paling rendah yaitu $16,24 \pm 0,67$ tidak berbeda nyata dengan jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C. Tingkat kecerahan yang paling tinggi adalah jenis pelarut etanol 85% dengan suhu sebesar 35°C. Semakin tinggi kandungan klorofil, maka semakin kecil nilai kecerahannya. Hasil total klorofil pada Tabel 2 menunjukkan nilai total klorofil tertinggi terdapat pada jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C. Hal ini diakibatkan semakin banyaknya senyawa terekstrak pada daun singkong yang menyebabkan tingkat kecerahan pada ekstrak menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian Manasika dan Widjanarko (2015) yang menunjukkan semakin banyak pigmen yang terekstrak menyebabkan warna ekstrak akan semakin gelap dan pekat, sehingga nilai kecerahan menurun. Nilai kecerahan yang rendah dari jenis pelarut etanol pada suhu 45°C diperkirakan disebabkan oleh banyaknya senyawa lain yang ikut larut dalam air diantaranya gula, vitamin atau fenol.

Tabel 5. Rata-rata kecerahan (L*) ekstrak aseton pewarna alami daun singkong

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi (°C)		
	35±2	45±2	55±2
Aseton 85%	21,04±0,22 ^a	17,62±0,28 ^{de}	16,46±0,05 ^{fg}
Etanol 85% : Aseton 85%	19,07±0,16 ^b	17,20±0,10 ^{ef}	17,97±0,14 ^{cd}
Etanol 85%	18,49±0,11 ^{bc}	16,24±0,67 ^g	16,46±0,01 ^g

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok.

Tingkat Kemerahan (a*)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan suhu

maserasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), serta interaksinya berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap tingkat kemerahan ekstrak

aseton pewarna alami daun singkong. Nilai a^* menyatakan tingkat warna hijau sampai merah dengan kisaran -100 sampai +100. Rata-rata tingkat kemerahan (a^*) ekstrak aseton pewarna alami dapat dilihat pada Tabel 6.

Nilai kemerahan yang terendah

diperoleh dari jenis pelarut aseton 85% dengan nilai rata-rata $9,98 \pm 1,35$ dan nilai rata-rata tertinggi diperoleh oleh jenis pelarut etanol 85%. Hal ini berhubungan dengan tingginya kandungan klorofil yang terdapat dalam ekstrak daun singkong yang diekstrak pada jenis pelarut aseton 85%.

Tabel 6. Rata-rata tingkat kemerahan (a^*) ekstrak pewarna alami daun singkong

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi ($^{\circ}\text{C}$)			Rerata
	35 \pm 2	45 \pm 2	55 \pm 2	
Aseton 85%	9,77 \pm 0,39	11,59 \pm 0,30	8,58 \pm 0,48	9,98 \pm 1,35 ^b
Etanol 85% : Aseton 85%	10,99 \pm 0,38	12,76 \pm 0,12	10,70 \pm 1,88	11,48 \pm 1,36 ^c
Etanol 85%	13,69 \pm 0,45	13,39 \pm 0,44	11,74 \pm 1,07	12,58 \pm 1,1 ^a
Rerata	11,48 \pm 1,76 ^b	12,57 \pm 0,83 ^a	10,34 \pm 1,78 ^c	

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok.

Tabel 2 menunjukkan bahwa jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C menghasilkan rata-rata total klorofil tertinggi yaitu sebesar $12,1 \pm 0,00\%$ berbeda nyata dengan semua perlakuan, sedangkan hasil total klorofil yang terendah dihasilkan oleh jenis pelarut etanol 85% dengan suhu 55°C dengan jumlah kandungan klorofil b dalam ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan dengan klorofil a. Semakin tinggi kandungan klorofil dalam ekstrak maka tingkat kemerahan semakin rendah. Hal tersebut didukung oleh penelitian Putri et al. (2012), menyatakan nilai rata-rata tingkat kemerahan tertinggi didapat pada perlakuan penggunaan bahan pengekstrak aseton 85% dibandingkan

dengan air dan etanol 85%. Nilai rata-rata kemerahan yang terendah dihasilkan oleh suhu maserasi 55°C dan nilai rata-rata kemerahan tertinggi dihasilkan pada suhu maserasi 45°C .

Tingkat Kekuningan (b^*)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi serta interaksinya berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap tingkat kekuningan (b^*) ekstrak pewarna alami daun singkong. Rata-rata tingkat kecerahan (b^*) ekstrak pewarna alami dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata kekuningan (b^*) ekstrak pewarna alami daun singkong

Jenis Pelarut	Suhu Maserasi ($^{\circ}\text{C}$)		
	35 \pm 2	45 \pm 2	55 \pm 2
Aseton 85%	5,70 \pm 0,08 ^b	4,00 \pm 0,13 ^d	6,74 \pm 0,13 ^a
Etanol 85% : Aseton 85%	4,64 \pm 0,11 ^c	3,24 \pm 0,40 ^{ef}	4,96 \pm 0,08 ^c
Etanol 85%	4,43 \pm 0,40 ^{cd}	2,65 \pm 0,08 ^f	3,31 \pm 0,17 ^e

Keterangan: Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga kelompok.

Nilai tingkat kekuningan tertinggi diperoleh pada perlakuan jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C yang menunjukkan

bahwa semakin tinggi nilai tingkat kekuningan maka semakin tinggi kadar klorofil b. Hal ini berkaitan dengan rata-rata

nilai klorofil b, yaitu nilai klorofil b tertinggi dihasilkan pada perlakuan jenis pelarut aseton 85% dengan suhu 55°C yaitu $7,71 \pm 0,00a$ %. Semakin tinggi nilai klorofil b maka tingkat kekuningan akan semakin tinggi. Nilai tingkat kekuningan tertinggi diperoleh pada perlakuan yang menghasilkan kadar klorofil b tertinggi pada perlakuan yang menghasilkan kadar klorofil b tertinggi.

Hasil penelitian Zendrato et al. (2014) menyatakan bahwa warna ekstrak pada lamun yang diperoleh dengan proses

ekstraksi pelarut aseton cenderung bewarna hijau kekuningan. klorofil akan sangat mudah terdegradasi pada paparan suhu tinggi dan cahaya, sehingga akan mengubah warnanya menjadi kekuningan yaitu akibat perubahan klorofil b menjadi feofitin b (Du et al., 2014). Warna hijau kekuningan menurut Gross (1991) berasal dari komponen klorofil b.

Hasil Uji Indeks Efektifitas

Hasil uji indeks efektifitas dapat dilihat pada Tabel 8.

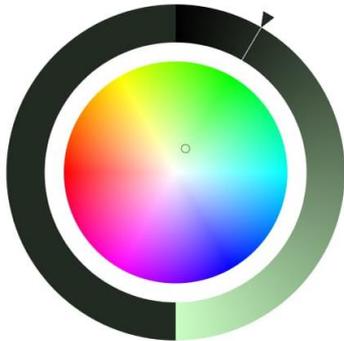
Tabel 8. Hasil uji indeks efektifitas untuk menentukan perlakuan terbaik ekstrak aseton pewarna alami daun singkong

Perlakuan	V	Rendemen	Klorofil Total	Klorofil a	Klorofil b	(L*)	(a*)	(b*)	Jumlah
Etanol 85%, 35°C	BV	0,69	1,00	0,89	0,86	0,66	0,60	0,63	5,31
	BN	0,13	0,19	0,17	0,16	0,12	0,11	0,12	1,00
	Ne	0,21	0,51	0,38	0,52	0,53	0,38	0,57	
	Nh	0,03	0,10	0,06	0,08	0,07	0,04	0,07	0,42
Etanol 85%, 45°C	Ne	0,18	0,03	0,06	0,00	1,00	0,06	1,00	
	Nh	0,02	0,01	0,01	0,00	0,12	0,01	0,12	0,26
Etanol 85%, 55°C	Ne	0,00	0,00	0,00	0,00	0,95	0,00	0,84	
	Nh	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,10	0,22
Aseton 85%, 35°C	Ne	0,89	0,57	1,00	0,14	0,00	0,77	0,00	
	Nh	0,11	0,11	0,17	0,02	0,00	0,09	0,00	0,50
Aseton 85%, 45°C	Ne	1,00	0,83	0,63	0,84	0,71	0,41	0,67	
	Nh	0,13	0,16	0,11	0,14	0,09	0,05	0,08	0,61
Aseton 85%, 55°C	Ne	0,53	1,00	0,79	1,00	0,95	1,00	0,26	
	Nh	0,07	0,19	0,13	0,16	0,12	0,11	0,03	0,81
Campuran, 35°C	Ne	0,55	0,55	0,48	0,52	0,41	0,59	0,51	
	Nh	0,07	0,10	0,08	0,08	0,05	0,07	0,06	0,45
Campuran, 45°C	Ne	0,54	0,60	0,51	0,58	0,80	0,18	0,86	
	Nh	0,07	0,11	0,09	0,09	0,10	0,02	0,10	0,51
Campuran, 55°C	Ne	0,28	0,65	0,54	0,63	0,64	0,53	0,44	
	Nh	0,04	0,12	0,09	0,10	0,08	0,06	0,05	0,50

Nilai variabel yang digunakan dalam uji indeks efektifitas yaitu rendemen, total klorofil, klorofil a, klorofil b, tingkat kecerahan (L*), tingkat kemerahan (a*), tingkat kekuningan (b*).Perlakuan terbaik

ditentukan dengan jumlah nilai hasil (Nh) tertinggi. Perlakuan jenis pelarut aseton 85% dan suhu maserasi 55°C mempunyai nilai tertinggi sebesar 0,81 sehingga perlakuan tersebut merupakan perlakuan terbaik untuk

menghasilkan ekstrak pewarna alami daun singkong. Warna yang dihasilkan pada perlakuan terbaik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram warna perlakuan jenis pelarut aseton 85% dan suhu maserasi 55°C dengan aplikasi adobe photoshop.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi sangat berpengaruh terhadap rendemen, klorofil total, klorofil a, klorofil b, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*), tingkat kekuningan (b^*). Interaksi perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi sangat berpengaruh terhadap rendemen, klorofil b, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kekuningan (b^*), klorofil total, klorofil a tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap kemerahan (a^*).
2. Perlakuan jenis pelarut aseton 85% dan suhu maserasi 55°C merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan ekstrak aseton pewarna alami daun singkong dengan karakteristik rendemen sebesar 14,04%, klorofil total sebesar 12,10%, klorofil a sebesar 4,39%, klorofil b sebesar 7,71%, tingkat kecerahan (L^*) sebesar 16,46, tingkat kemerahan (a^*) sebesar 9,77, tingkat kekuningan (b^*)

sebesar 5,70.

Saran

Berdasarkan penelitian disarankan menggunakan jenis pelarut aseton 85% dan suhu maserasi 55°C untuk menghasilkan ekstrak aseton pewarna alami daun singkong serta dilakukan penelitian lebih lanjut seperti uji stabilitas warna pada ekstraksi klorofil pada daun singkong dan enkapsulasi agar mendapat ekstrak pewarna yang lebih mudah diaplikasikan ke dalam bahan pangan dan lebih awet dalam penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Antari, N.M.R.O., N.M. Wartini, dan S. Mulyani. 2015. Pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak warna alami buah pandan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 3(4):1–4.
- Aryanti, N., A. Nafiunisa, dan F.M. Wilis. 2016. Ekstraksi dan karakteristik daun suji sebagai pewarna pangan alami. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5(4):129-135.
- Cabe, Mc dan L. Warren. 2005. *Unit Operations of Chemical Engineering* 5th ed. Mc Graw-Hill. New Work.
- Cahyadi. 2009. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Makanan*. Edisi kedua. Bumi Aksara, Jakarta.
- Du, L., X. Yang, J. Song, Z. ma, Z. Zhang, dan X. Pang. 2014. Characterization of the stage dependency of high temperature on green ripening reveals a distinct chlorophyll degradation regulation in banana fruit. *Journal of Scientia Horticulturae*. 180 : 139-146.
- Departemen Perindustrian Republik Indonesia. 2007. *Pohon Industri Ubi Kayu*. <http://www.depperin.go.id>. [23 Oktober 2019].
- Dewi, N.N.D.T., L.P. Wrasati, dan G.P.

- Ganda Putra. 2016. Pengaruh konsentrasi pelarut etanol dan suhu maserasi terhadap rendemen dan kadar klorofil produk enkapsulasi ekstrak selada laut (*Ulva lactuca* L.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 4(3) : 59-70.
- Du, L., X. Yang, J. Song, Z. ma, Z. Zhang, dan X. Pang. 2014. Characterization of the stage dependency of high temperature on green ripening reveals a distinct chlorophyll degradation regulation in banana fruit. *Journal of Scientia Horticulturae*. 180 : 139-146.
- Fessenden, R.J., dan J.S. Fessenden. 1997. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Erlangga. Jakarta.
- Gohl, B. 1981. *Tropical Feeds. Feeds Information Summaries and Nutritive Values. Foods and Agriculture Organization of The United Nation*, Rome.
- Gross, J. 1991. *Pigments in Vegetables, Chlorophyll and Carotenoids*. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Iriyani, D., dan N. Pangesti. 2014. Kandungan klorofil, karotenoid dan vitamin C beberapa jenis sayuran daun pertanian periurban di Kota Surabaya. *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*, 15(2); 84-90.
- Kendrick, A. 2012. *Natural Food and Beverage Colourings in Natural Food Additives, Ingredient and Flavourings*, editor D. Baines and R. Seal, 1st ed., Woodhead Publishing, Cambridge, 25-40.
- Kirk, R.E. dan D.F. Othmer. 1983. *Encyclopedia of Chemical Technology*. 3rd Edition. A Wiley Inter Science Publisher Inc., New York.
- Kirk, R.E. dan D.F. Othmer. 1993. *Encyclopedia of Chemical Technology*. 12th Edition. A Wiley Inter Science Publisher Inc., New York. 917-921.
- Manasika, A., dan S.B. Widjanarko. 2015. Ekstraksi pigmen karotenoid labu kabocha menggunakan metode ultrasonik (kajian rasio bahan : pelarut dan lama maserasi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (3):928-938.
- Nurvita, D.L., B. Cahyono, A. C. Kumoro. 2013. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi kurkuminoid dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Chem Info Journal*, 1 (1) : 101-107.
- Nollet, L.M.L. 2004. *Handbook of Food Analysis. Physical Characterization and Nutrient Analysis*. Marcel Dekker Incorporation, New York.
- Novitasari, A. E. dan R. Adawiyah. 2018. Perbandingan pelarut pada ekstraksi total klorofil daun mangkakan dengan metode spektrofotometri. *Jurnal Sains*, 8(15) : 16-20.
- Pramudono, B., S.A. Widioko, dan W. Rustawan. 2008. Ekstraksi kontinyu dengan simulasi batch tiga tahan aliran lawan arah: pengambilan minyak biji alpuket menggunakan pelarut n-hexane dan iso propil alcohol. *Reaktor*. 12(1):37-41.
- Prasetyo, S., H. Sunjaya, dan Y.N. Yanuar. 2012. Pengaruh Rasio Massa Daun Suji atau Pelarut, Temperatur dan Jenis Pelarut pada Ekstraksi Klorofil Daun Suji Secara Batch dengan Pengontakan Dispersi. *Laporan Penelitian*, Universitas Prahyanan.
- Purba, E. R. 2010. Analisis Zat Pewarna Pada Minuman Sirup Yang Dijual Di

- Sekolah Dasar Kelurahan Lubuk Pakam III Kecamatan Lubuk Pakam. Skripsi. Tidak Dipublikasi. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Putri, W. D. R., E. Zubaidah, dan N. Sholahudin. 2012. Ekstraksi pewarna alami daun suji, kajian pengaruh blanching dan jenis bahan pengestrak. *Jurnal Teknologi Pertanian*, IV (1) : 12-24.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 2. Terj. : Lukman, D. R. dan Sumaryono. ITB, Bandung.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta
- Setiari, N. dan Y. Nurchayati. 2009. Eksplorasi kandungan klorofil pada beberapa sayuran hijau sebagai alternatif bahan dasar food supplement. *Bioma*, 11 (1): 6-10.
- Voight, R. 1994. *Buku Pengantar Teknologi Farmasi*. Edisi V. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Watson, D.G. 2005. *Analisis Farmasi*. 2nd edition. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Weaver, C. 1996. *The Food Chemistry Laboratory*. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia, Jakarta.
- Yazid, E. dan L. Nursanti. 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia untuk Mahasiswa Analis*. ANDI. Yogyakarta.
- Zendrato, I.A., F. Swatawati, dan Romadhon. 2014. Ekstraksi klorofil dan karotenoid dengan konsentrasi pelarut yang berbeda pada lamun (*Enhalusacoroides*) di perairan Laut Jawa. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(1):30-39.