

STABILITY OF CASSAVA LEAF DYE EXTRACT (Manihot esculenta C.) AT INITIAL pH TREATMENT AND STORAGE TEMPERATURE

STABILITAS EKSTRAK PEWARNA DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta C.*) PADA PERLAKUAN pH AWAL DAN SUHU PENYIMPANAN

Sinta Anggraeni, Ni Made Wartini^{*}, Ni Putu Suwariani

Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801.

Diterima 15 Oktober 2022 / Disetujui 9 November 2022

ABSTRACT

Cassava leaves are leaves that can be used as a source of natural dye. Cassava leaves have a fairly high chlorophyll content and can be extracted into green dye extract. This study aimed to determine how the stability of the cassava leaf dye extract at the initial pH treatment and storage temperature and to determine the initial pH and temperature that provide the best stability to the cassava leaf dye extract during storage. This experiment used a completely randomized design with two factors. The first factor is the initial pH which consists of pH 9, pH 10 and pH 11. The second factor is the storage temperature consisting of cold temperature ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$) and room temperature ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$). The data were analyzed by analysis of variance to determine the effect of treatment on the observed variables. The results showed the initial pH and temperature treatment during storage and their interactions affected the total chlorophyll content, chlorophyll a content, chlorophyll b content, antioxidant capacity, brightness level value (L^), redness level value (a^*) and yellowness level value (b^*) cassava leaf coloring extract. Cassava leaf dye extract was most stable at initial pH 9 and cold temperature ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$) during storage. Storage of cassava leaf dye extract for 7 days caused a decrease in total chlorophyll content of 48.44%, chlorophyll a by 46.86%, chlorophyll b by 49.35%, antioxidant capacity by 30.87%, but caused an increase in the value of the redness level (a^*) of 62.91%, the value of the brightness level (L^*) of 29.28% and the value of the yellowness level (b^*) of 49.02% against the control.*

Keywords: *Cassava leaves extract, chlorophyll, pH, stability, temperature.*

ABSTRAK

Daun singkong merupakan daun yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber pewarna alami. Daun singkong memiliki kandungan klorofil yang cukup tinggi dan dapat di ekstrak menjadi ekstrak pewarna hijau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana stabilitas ekstrak pewarna daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan serta menentukan pH awal dan suhu yang memberikan stabilitas terbaik terhadap ekstrak pewarna daun singkong selama penyimpanan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor. Faktor pertama adalah pH awal yang terdiri atas pH 9, pH 10 dan pH 11. Faktor kedua adalah suhu penyimpanan yang terdiri

^{*} Korespondensi Penulis:
Email: md_wartini@unud.ac.id

atas suhu dingin ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$). Data dianalisis dengan *Analysis of variance* untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pH awal dan suhu selama penyimpanan serta interaksinya berpengaruh terhadap kadar klorofil total, kadar klorofil a, kadar klorofil b, kapasitas antioksidan, nilai tingkat kecerahan (L^*), nilai tingkat kemerahan (a^*) dan nilai tingkat kekuningan (b^*) ekstrak pewarna daun singkong. Ekstrak pewarna daun singkong paling stabil pada pH awal 9 dan suhu dingin ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama penyimpanan. Penyimpanan ekstrak pewarna daun singkong selama 7 hari menyebabkan penurunan kadar klorofil total sebesar 48,44%, klorofil a sebesar 46,86%, klorofil b sebesar 49,35%, kapasitas antioksidan sebesar 30,87%, namun menyebabkan peningkatan nilai tingkat kecerahan (L^*) sebesar 29,28%, nilai tingkat kemerahan (a^*) sebesar 62,91% dan nilai tingkat kekuningan (b^*) sebesar 49,02% terhadap kontrol.

Kata kunci : Ekstrak daun singkong, klorofil, pH, stabilitas, suhu

PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot esculenta* C.) merupakan salah satu tanaman yang tersebar luas di Indonesia yang sudah banyak dibudidayakan di berbagai negara di dunia dibandingkan dengan jenis singkong lainnya (Gardjito *et al.*, 2013). Kandungan klorofil daun singkong yang tinggi memiliki potensi sebagai pewarna hijau alami. Hasil penelitian Dharmadewi (2020) menunjukkan bahwa kandungan klorofil total daun singkong sebesar 18,142 mg/L dan merupakan tanaman dengan kandungan klorofil tertinggi dari 3 tanaman yang diteliti yaitu bayam, singkong dan selada. Klorofil murni digunakan sebagai pewarna makanan yang tercantum dalam Permenkes 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan (BTP) dan zat pewarna turunan klorofil telah terdaftar di *Codex Alimentarius Commission* di Uni Eropa sebagai zat pewarna alami dengan kode E140 (Kendrick, 2012).

Ekstrak pewarna dari daun singkong bisa didapatkan melalui proses ekstraksi, salah satunya dengan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruangan (Chairunnisa *et al.*, 2019). Metode maserasi dipilih karena metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Proses ekstraksi daun singkong menghasilkan ekstrak pewarna cair yang dapat diaplikasikan langsung pada makanan atau disimpan sebagai bahan pewarna. Namun, dibalik kelebihan yang dimiliki klorofil dalam fungsinya sebagai pewarna, ada kelemahan dalam pemanfaatan klorofil sebagai pewarna dikarenakan stabilitasnya yang lemah. Klorofil rentan mengalami degradasi mutu warnanya karena faktor lingkungan maupun faktor enzimatis (Hortensteiner dan Krautler, 2011). Proses penyimpanan dapat mempengaruhi kestabilan warna dari ekstrak. Kerusakan ekstrak pewarna selama penyimpanan biasanya disebabkan oleh beberapa faktor, dua diantaranya adalah pH awal dan suhu penyimpanan.

Beberapa penelitian mengenai stabilitas klorofil telah dilakukan, diantaranya penelitian dari Muazis *et al.* (2018) melaporkan bahwa ekstrak klorofil *Spirulina* sp. stabil pada kondisi gelap, suhu 0°C dan pH 10. Selanjutnya Mahfudh *et al.* (2021) melaporkan bahwa ekstrak rumput laut pada suhu 9°C konsentrasi klorofil mengalami penurunan lebih lambat dibandingkan pada suhu 29°C selama 7 hari penyimpanan.

Kondisi penyimpanan ekstrak pewarna memiliki pengaruh yang besar terhadap stabilitas warna dan kandungan klorofil dalam suatu bahan. Sehingga penelitian stabilitas ekstrak pewarna daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum yang dapat mempertahankan stabilitas ekstrak pewarna dari daun singkong.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana stabilitas ekstrak pewarna daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan, serta untuk menentukan pH awal dan suhu yang memberikan stabilitas terbaik terhadap ekstrak pewarna daun singkong selama penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan baku dan bahan kimia. Bahan baku yang digunakan yaitu daun singkong yang berumur 2,5-3 bulan yang diperoleh dari petani di Desa Petang, Kecamatan Petang, Kabupaten Tabanan. Warna daun singkong hijau tua dan daun yang digunakan adalah daun pada batang ke 6-15 dari pucuk daun. Bahan kimia yang digunakan yaitu bahan pelarut aseton *pro analysis* (pa) (*Emsure*), CaCO_3 (Merck), larutan buffer fosfat pH 9 (Merck), buffer fosfat pH 10 (Merck), buffer fosfat pH 11 (Merck), akuades (Bratachem), metanol (pa), asam galat (Sigma-aldrich) dan kristal DPPH (Himedia).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: *spektrofotometer* (Biochrome SN 133467), *color reader* (Accuprobe HH-06), sentrifus, timbangan analitik (Shimadzu ATY224), *rotary evaporator* (Buchi R-300 tipe V), *vortex mixer* (Barnstead Thermolyne Maxi Mix II), oven (Blue M OV-520C-2), kertas saring kasar, kertas saring Whatman No. 1, pipet tetes, tabung reaksi (Iwaki), *food dehydrator* (ST-02), pipet volume, pipet mikro (Socorex), labu pisah, labu takar, spatula, blender (Philips), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Herma, Iwaki), gelas beker (Pyrex), corong pisah kaca (Pyrex), termometer, pH meter, ayakan 80 mesh, aluminium foil, botol kaca gelap dan pisau.

Pelaksanaan Penelitian

Proses persiapan bahan mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan oleh Sekali *et al.* (2020) dan Hutabarat *et al.* (2021). Daun singkong dengan warna seragam dipotong dengan lebar kira-kira 2 cm, kemudian dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya daun singkong diblansir. Blansir dilakukan dalam air panas dengan suhu 100°C selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya daun singkong dikeringkan menggunakan *food dehydrator* pada suhu $50 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan indikator penghentian pengeringan adalah daun singkong kering mudah dihancurkan. Daun singkong yang telah kering dihancurkan dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh hingga menjadi bubuk daun singkong yang seragam.

Proses pembuatan ekstrak daun singkong mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan oleh Sekali *et al.* (2020) dan Hutabarat *et al.* (2021). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Bubuk daun singkong ditimbang sebanyak 50 g, kemudian ditambahkan pelarut aseton 85% sebanyak 250 mL (1:5) dan ditambahkan CaCO_3 0,1%. Proses ekstraksi pada suhu 55°C dilakukan selama 36 jam sambil diaduk secara manual setiap 6 jam selama 10 menit. Kemudian larutan disaring menggunakan kertas saring yang menghasilkan filtrat I dan ampas. Ampas kemudian ditambahkan aseton sebanyak 50 mL dan digojok secara manual selama 5 menit, lalu disaring menggunakan kertas saring yang menghasilkan filtrat II. Filtrat I dan II dicampur dan disaring dengan menggunakan kertas Whatman No.1. Filtrat kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan 100 mBar untuk menghilangkan pelarut yang terdapat dalam ekstrak sampai semua pelarut habis yang ditandai dengan pelarut tidak menetes. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak kental daun singkong.

Proses penyimpanan ekstrak pewarna dari daun singkong mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan oleh Sugiastawa *et al.* (2021) dengan modifikasi. Proses penyimpanan ekstrak dilakukan

dengan menimbang sebanyak 1 g ekstrak daun singkong untuk masing-masing perlakuan, kemudian dimasukkan dalam botol kaca gelap. Selanjutnya sampel ekstrak daun singkong diatur pH awalnya dengan cara ditambahkan larutan buffer fosfat sesuai perlakuan yaitu pH 9, 10 dan 11 hingga seluruh bagian ekstrak terendam larutan buffer fosfat (10 mL). Kemudian ekstrak disimpan pada suhu sesuai perlakuan yaitu suhu dingin ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$) yang disimpan dalam kulkas dan suhu ruang ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) disimpan di dalam ruangan. Pengujian stabilitas warna dari larutan ekstrak dilakukan selama 7 hari, karena nilai stabilitas pigmen dapat diketahui dengan cara penyimpanan selama 7 hari yang kemudian menyebabkan penurunan konsentrasi klorofil. Uji stabilitas meliputi pengukuran kadar klorofil, kapasitas antioksidan dan intensitas warna. Pengamatan dilakukan setiap hari ke-0, 1, 3, 5 dan 7.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain klorofil total (Nollet, 2004) dan kapasitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Blois, 1958). Analisis dilakukan terhadap ekstrak yang belum disimpan dan ekstrak yang telah mengalami penyimpanan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Klorofil Total

Ekstrak daun singkong pada hari ke-0 memiliki kadar klorofil sebanyak 15,03 ppm. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pH awal, suhu dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar klorofil total dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-7. Nilai rata-rata kadar klorofil total selama penyimpanan disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rata-rata kadar klorofil total (ppm) ekstrak daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan pada hari ke-1 sampai hari ke-7

Perlakuan	Rata-rata kadar klorofil total \pm SD			
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7
pH 9; ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$)	12,01 \pm 0,07 ^a	10,33 \pm 0,01 ^a	8,85 \pm 0,03 ^a	7,75 \pm 0,06 ^a
pH 10; ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$)	11,36 \pm 0,01 ^b	9,53 \pm 0,03 ^b	7,83 \pm 0,03 ^b	6,77 \pm 0,04 ^b
pH 11; ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$)	10,51 \pm 0,03 ^c	8,77 \pm 0,02 ^c	7,15 \pm 0,04 ^c	5,69 \pm 0,02 ^c
pH 9; ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$)	10,09 \pm 0,03 ^d	8,11 \pm 0,03 ^d	6,77 \pm 0,04 ^d	5,11 \pm 0,05 ^d
pH 10; ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$)	9,52 \pm 0,03 ^e	7,55 \pm 0,07 ^e	6,01 \pm 0,01 ^e	4,56 \pm 0,03 ^e
pH 11; ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$)	9,04 \pm 0,03 ^f	6,79 \pm 0,07 ^f	5,30 \pm 0,07 ^f	3,87 \pm 0,02 ^f

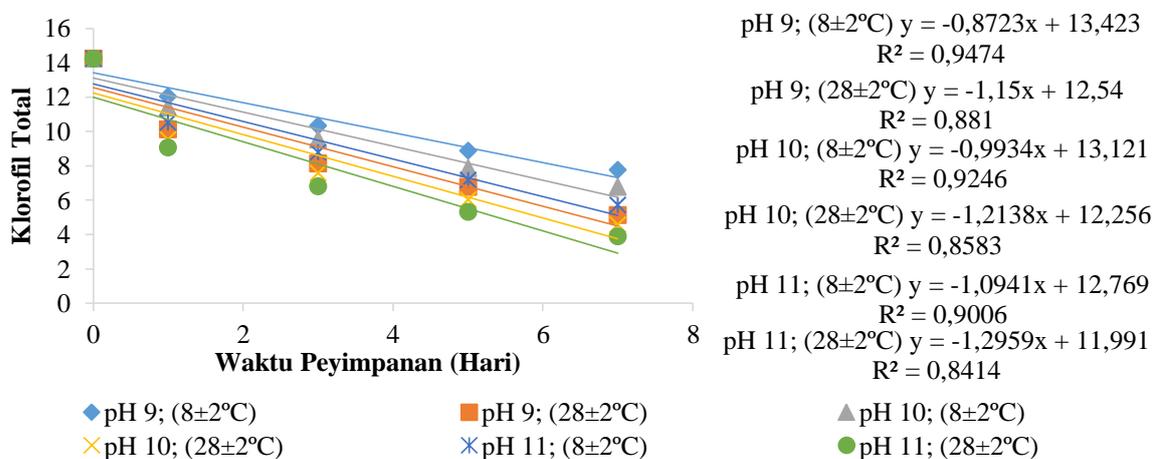
Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 1 menunjukkan perlakuan pH awal 9 dan suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ menghasilkan rata-rata kadar klorofil total tertinggi pada setiap hari penyimpanan dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini dikarenakan ekstrak pewarna daun singkong yang disimpan pada pH 9 dan suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ sedikit mengalami kerusakan struktur pigmen klorofil. Hal ini didukung oleh penelitian Prasetyo *et al.* (2012) dan Hermansyah *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa klorofil relatif stabil pada pH basa dibandingkan pada pH asam. Ketidakstabilan struktur klorofil mengakibatkan terjadinya reaksi feofitinisasi, dan hasil penelitian dari Fajar *et al.* (2014) tentang penyimpanan ekstrak rumput laut lebih stabil pada suhu di bawah $<10^{\circ}\text{C}$ dibandingkan pada suhu $25-32^{\circ}\text{C}$, hal ini karena struktur pigmen rusak yang menyebabkan konsentrasi pigmen menurun. Penurunan kadar klorofil total untuk masing-masing perlakuan pH dan suhu dari hari ke-0 hingga hari ke-7 berturut-turut adalah 48,44%, 54,96%, 62,14%, 66,00%, 69,66% dan 74,25%. Grafik penurunan kadar klorofil total dari

hari ke-0 hingga hari ke-7 disajikan dalam Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan hubungan antara waktu penyimpanan dengan kadar klorofil total. Perlakuan pH awal 9 dengan penyimpanan suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ menghasilkan kadar klorofil total tertinggi dengan koefisien determinasi (R^2) 0,9474, yang artinya 94,74% kadar klorofil total dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan 5,26% dipengaruhi factor lain, diantaranya zat kimia, oksigen dan cahaya. Hal ini menunjukkan bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kadar klorofil total pada ekstrak pewarna daun singkong.

Persamaan regresi pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ memiliki koefisien persamaan terendah dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar klorofil total terendah diperoleh pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$. Hal ini dikarenakan pada perlakuan pH awal 9 dengan suhu penyimpanan $8\pm 2^\circ\text{C}$ pigmen klorofil pada ekstrak pewarna dari daun singkong tidak mengalami perubahan atom Mg dan tidak membentuk senyawa turunan feofitin selama 7 hari penyimpanan, sedangkan pada perlakuan pH awal 11 dan suhu $28\pm 2^\circ\text{C}$ memiliki koefisien persamaan tertinggi dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar klorofil total tertinggi diperoleh pada perlakuan pH awal 11 dan suhu $28\pm 2^\circ\text{C}$. Hal ini dikarenakan pada perlakuan pH awal 11 dengan suhu penyimpanan $28\pm 2^\circ\text{C}$ pigmen klorofil pada ekstrak pewarna dari daun singkong mengalami degradasi pigmen klorofil menjadi senyawa turunanannya, sehingga pigmen klorofil tidak lagi berwarna hijau.



Gambar 1. Grafik penurunan kadar klorofil total ekstrak pewarna dari daun singkong selama penyimpanan pada perlakuan pH awal dan suhu.

Klorofil a

Ekstrak daun singkong pada hari ke-0 memiliki kadar klorofil a sebanyak 5,74 ppm. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pH awal, suhu dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar klorofil a ekstrak pewarna alami daun singkong pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-7. Nilai rata-rata klorofil a ekstrak pewarna alami daun singkong dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan pH awal 9 dan suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ menghasilkan rata-rata kadar klorofil a tertinggi pada setiap hari penyimpanan, hal ini dikarenakan ekstrak pewarna daun singkong yang disimpan pada pH 9 dan suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ sedikit mengalami kerusakan struktur pigmen klorofil a, penyimpanan pada suhu rendah dapat mengurangi aktifitas enzim klorofilase dibandingkan dengan penyimpanan suhu ruang Rohmat *et al.* (2014). Penurunan kadar klorofil a

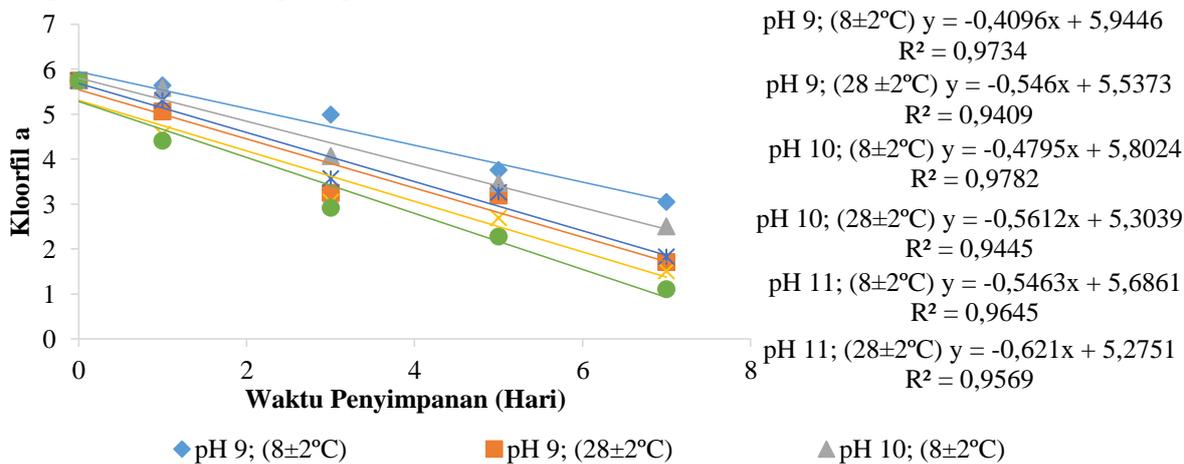
untuk masing-masing perlakuan pH dan suhu dari hari ke-0 hingga hari ke-7 berturut-turut adalah 46,86%, 56,45%, 68,12%, 70,21%, 72,65% dan 80,84%. Grafik penurunan kadar klorofil a dari hari ke-0 hingga hari ke-7 disajikan dalam Gambar 2.

Tabel 2. Nilai rata-rata kadar klorofil a (ppm) ekstrak daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan pada hari ke-1 sampai hari ke-7

Perlakuan	Rata-rata kadar klorofil a ± SD			
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7
pH 9; (8±2°C)	5,64±0,03 ^a	4,99±0,02 ^a	3,72±0,02 ^a	3,05±0,02 ^a
pH 10; (8±2°C)	5,58±0,04 ^a	4,06±0,02 ^b	3,46±0,02 ^b	2,50±0,03 ^b
pH 11; (8±2°C)	5,30±0,02 ^b	3,56±0,02 ^c	3,26±0,02 ^c	1,83±0,03 ^c
pH 9; (28±2°C)	5,06±0,06 ^c	3,25±0,02 ^d	3,19±0,02 ^d	1,71±0,02 ^d
pH 10; (28±2°C)	4,55±0,02 ^d	3,05±0,03 ^e	2,69±0,04 ^e	1,57±0,01 ^e
pH 11; (28±2°C)	4,41±0,02 ^e	2,91±0,02 ^f	2,28±0,02 ^f	1,10±0,03 ^f

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (p<0,05).

Gambar 2 menunjukkan hubungan antara waktu penyimpanan dengan kadar klorofil a. Perlakuan pH awal 10 dengan penyimpanan suhu 8±2°C menghasilkan kadar klorofil a tertinggi dengan nilai koefisien determinasi (R²) sebesar 0,9734, yang artinya 97,82% kadar klorofil a dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan 2,18% dipengaruhi factor lain, diantaranya zat kimia, oksigen dan cahaya. Hal ini menunjukkan bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kadar klorofil a pada ekstrak pewarna daun singkong.



Gambar 2. Grafik penurunan kadar klorofil a ekstrak pewarna dari daun singkong selama penyimpanan pada perlakuan pH awal dan suhu.

Persamaan regresi pada perlakuan pH awal 10 dan penyimpanan pada suhu 8±2°C memiliki koefisien persamaan terendah dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar klorofil a terendah diperoleh pada perlakuan pH awal 10 dan penyimpanan pada suhu 8±2°C, sedangkan pada perlakuan pH awal 11 dan suhu 28±2°C memiliki koefisien persamaan tertinggi dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar klorofil a tertinggi diperoleh pada perlakuan pH awal 11 dan suhu 28±2°C.

Klorofil b

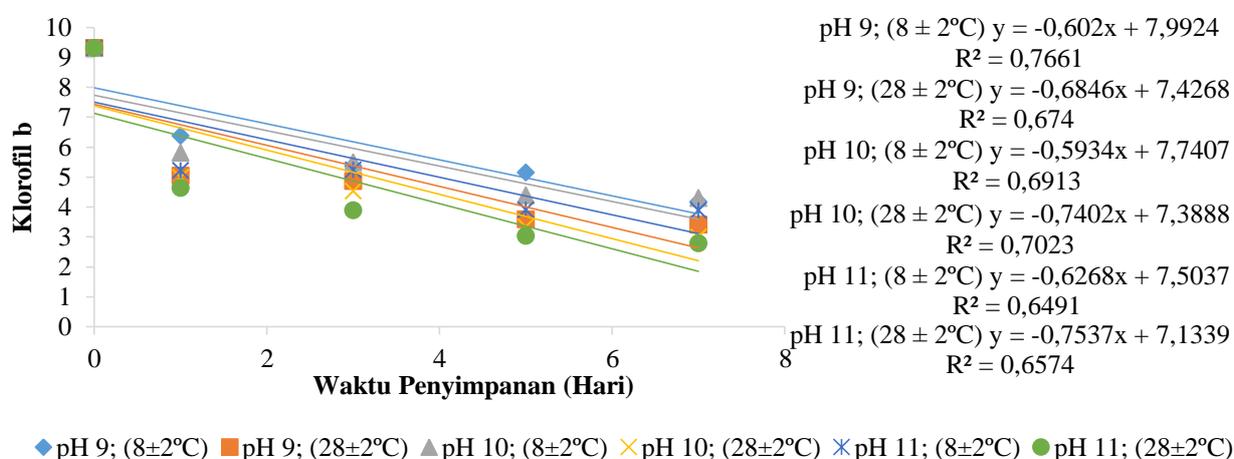
Ekstrak daun singkong pada hari ke-0 memiliki kadar klorofil b sebanyak 9,30 ppm. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pH awal, suhu dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar klorofil b ekstrak pewarna alami daun singkong pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-7. Nilai rata-rata klorofil b ekstrak pewarna alami daun singkong dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rata-rata kadar klorofil b (ppm) ekstrak daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan pada hari ke-1 sampai hari ke-7

Perlakuan	Rata-rata kadar klorofil b \pm SD			
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7
pH 9; ($8 \pm 2^\circ\text{C}$)	6,37 \pm 0,07 ^a	5,35 \pm 0,03 ^a	5,14 \pm 0,02 ^a	4,71 \pm 0,06 ^a
pH 10; ($8 \pm 2^\circ\text{C}$)	5,79 \pm 0,04 ^b	5,47 \pm 0,02 ^b	4,37 \pm 0,04 ^b	4,28 \pm 0,05 ^b
pH 11; ($8 \pm 2^\circ\text{C}$)	5,21 \pm 0,05 ^c	5,22 \pm 0,03 ^c	3,89 \pm 0,03 ^c	3,87 \pm 0,04 ^c
pH 9; ($28 \pm 2^\circ\text{C}$)	5,04 \pm 0,09 ^d	4,86 \pm 0,04 ^d	3,58 \pm 0,05 ^d	3,40 \pm 0,04 ^d
pH 10; ($28 \pm 2^\circ\text{C}$)	4,98 \pm 0,04 ^d	4,51 \pm 0,05 ^e	3,32 \pm 0,05 ^e	2,99 \pm 0,02 ^e
pH 11; ($28 \pm 2^\circ\text{C}$)	4,63 \pm 0,04 ^e	3,88 \pm 0,06 ^f	3,02 \pm 0,05 ^f	2,78 \pm 0,04 ^f

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan pH 9 dan suhu $8 \pm 2^\circ\text{C}$ menghasilkan rata-rata kadar klorofil b tertinggi pada hari ke-1, 5 dan 7. Hal ini dikarenakan ekstrak pewarna daun singkong yang disimpan pada pH 9 dan suhu $8 \pm 2^\circ\text{C}$ sedikit mengalami kerusakan struktur pigmen klorofil b, sedangkan perlakuan pH 11 dan suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ menghasilkan rata-rata kadar klorofil b terendah, tingginya penurunan kandungan klorofil b tersebut disebabkan karena klorofil b tidak tahan terhadap suhu tinggi Arrohmah (2007). Sesuai dengan sifat klorofil yang labil terhadap pengaruh suhu dan oksigen sehingga mudah terdegradasi menjadi molekul-molekul turunannya. Penurunan kadar klorofil b untuk masing-masing perlakuan pH dan suhu dari hari ke-0 hingga hari ke-7 berturut-turut adalah 49,35%, 53,98%, 58,39%, 63,44%, 67,85% dan 70,11%. Grafik penurunan kadar klorofil b dari hari ke-0 hingga hari ke-7 disajikan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Grafik penurunan kadar klorofil b ekstrak pewarna dari daun singkong selama penyimpanan pada perlakuan pH awal dan suhu.

Gambar 3 menunjukkan hubungan antara waktu penyimpanan dengan kadar klorofil b. Perlakuan pH awal 9 dengan penyimpanan suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ menghasilkan kadar klorofil b tertinggi dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,7661, yang artinya 76.61% kadar klorofil b dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan 23,39% dipengaruhi factor lain, diantaranya zat kimia, oksigen dan cahaya. Hal ini menunjukkan bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kadar klorofil b pada ekstrak pewarna daun singkong.

Persamaan regresi pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ memiliki koefisien persamaan lebih kecil dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan adanya penurunan kadar klorofil b terkecil pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$, sedangkan pada perlakuan pH awal 11 dan suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ memiliki koefisien persamaan lebih besar dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan kadar klorofil b tertinggi pada perlakuan pH awal 11 dan suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Kapasitas Antioksidan

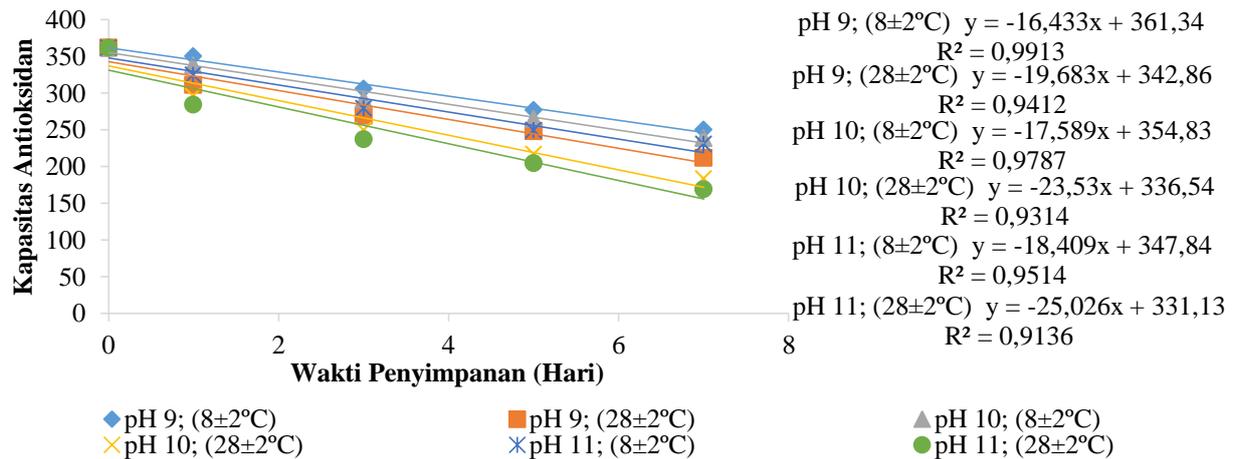
Kapasitas antioksidan ekstrak pewarna dari daun singkong pada hari ke-0 sebesar 361,56 mg GAEAC/g. Pengamatan uji stabilitas ekstrak pewarna daun singkong menunjukkan bahwa semua perlakuan pH awal dan suhu pada penyimpanan ekstrak pewarna dari daun singkong mengakibatkan penurunan pada kapasitas antioksidan selama 7 hari penyimpanan. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pH awal, suhu dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kapasitas antioksidan dari hari ke-1 hingga hari ke-7. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan selama penyimpanan disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Nilai rata-rata kapasitas antioksidan (mg GAEAC/g) ekstrak daun singkong pada perlakuan pH awal dan suhu penyimpanan pada hari ke-1 sampai hari ke-7

Perlakuan	Rata-rata Kapasitas antioksidan \pm SD (mg GAEAC/g)			
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5	Harike-7
pH 9; ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$)	349,53 \pm 0,67 ^a	305,86 \pm 0,39 ^a	276,89 \pm 0,39 ^a	249,93 \pm 0,67 ^a
pH 10; ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$)	337,72 \pm 0,77 ^b	290,71 \pm 0,67 ^b	264,64 \pm 0,67 ^b	238,12 \pm 0,77 ^b
pH 11; ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$)	324,80 \pm 0,67 ^c	278,68 \pm 0,67 ^c	249,49 \pm 0,39 ^c	230,10 \pm 0,39 ^c
pH 9; ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$)	310,54 \pm 0,39 ^d	268,43 \pm 0,77 ^d	247,70 \pm 0,77 ^d	211,16 \pm 0,67 ^d
pH 10; ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$)	295,83 \pm 0,77 ^e	249,266 \pm 0,67 ^e	216,29 \pm 0,39 ^e	183,31 \pm 0,39 ^e
pH 11; ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$)	283,80 \pm 0,39 ^f	237,01 \pm 0,39 ^f	204,48 \pm 0,67 ^f	168,38 \pm 0,67 ^f

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan pH awal 9 dan suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ menghasilkan rata-rata kapasitas antioksidan tertinggi pada setiap hari penyimpanan dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Hal ini membuktikan bahwa kapasitas antioksidan pada ekstrak daun singkong lebih stabil pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ dibanding dengan perlakuan lainnya, menurut Giuliana *et al.* (2015) menurunnya kapasitas antioksidan disebabkan karena senyawa metabolit sekundernya yang aktif sebagai antioksidan tidak stabil pada pH tinggi yang dapat merubah struktur dari senyawa aktif yang ada. Pada penelitian Wulansari *et al.* (2020) menyatakan bahwa penyimpanan dengan suhu dingin ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$) dapat mempertahankan kandungan antioksidan pada ekstrak daun asam selama empat minggu penyimpanan. Penurunan kapasitas antioksidan untuk masing-masing perlakuan pH dan suhu dari hari ke-0 hingga hari ke-7 berturut-turut adalah 30,87%, 34,14%, 36,36%, 41,60%, 49,30% dan 53,43%. Grafik penurunan kapasitas antioksidan dari hari ke-0 hingga hari ke-7 disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Grafik penurunan kapasitas antioksidan ekstrak pewarna dari daun singkong selama penyimpanan pada perlakuan pH awal dan suhu.

Gambar 4 menunjukkan hubungan antara waktu penyimpanan dengan kapasitas antioksidan. Perlakuan pH awal 9 dengan penyimpanan suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ menghasilkan kapasitas antioksidan tertinggi dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9913, yang artinya 99,13% kapasitas antioksidan dipengaruhi oleh waktu penyimpanan dan 0,87% dipengaruhi factor lain, diantaranya zat kimia, oksigen dan cahaya pada ekstrak daun singkong. Hal ini menunjukkan bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kapasitas antioksidan pada ekstrak daun singkong.

Persamaan regresi pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ memiliki koefisien persamaan lebih kecil dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan penurunan kapasitas antioksidan terkecil diperoleh pada perlakuan pH awal 9 dan penyimpanan pada suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$, sedangkan pada perlakuan pH awal 11 dan suhu $28\pm 2^\circ\text{C}$ memiliki koefisien persamaan lebih besar dibandingkan dengan persamaan pada perlakuan lainnya. Hal menunjukkan penurunan kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan pH awal 11 dan suhu $28\pm 2^\circ\text{C}$.

KESIMPULAN

Kesimpulan

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

1. Perlakuan pH awal dan suhu selama penyimpanan serta interaksinya berpengaruh terhadap kadar klorofil total, kadar klorofil a, kadar klorofil b, kapasitas antioksidan, nilai tingkat kecerahan (L^*), nilai tingkat kemerahan (a^*) dan nilai tingkat kekuningan (b^*) ekstrak pewarna daun singkong.
2. Perlakuan pH awal 9 dan suhu $8\pm 2^\circ\text{C}$ memberikan stabilitas terbaik terhadap ekstrak pewarna daun singkong selama penyimpanan. Penyimpanan ekstrak pewarna selama 7 hari menyebabkan penurunan kadar klorofil total sebesar 48,44%, klorofil a sebesar 46,86%, klorofil b sebesar 49,35%, kapasitas antioksidan sebesar 30,87%, namun menyebabkan nilai tingkat kecerahan (L^*) sebesar 29,28%, kenaikan nilai tingkat kemerahan (a^*) sebesar 62,91% dan nilai tingkat kekuningan (b^*) sebesar 49,02% terhadap kontrol.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Ekstrak pewarna dari daun singkong sebaiknya disimpan pada penyimpanan suhu 8°C dan sebaiknya diaplikasikan pada produk yang memiliki pH 9.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang dihasilkan dari proses degradasi ekstrak daun singkong selama penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arfandi, A., Ratnawulan, dan Darvina, Y. 2013. Proses pembentukan feofitin daun suji sebagai bahan aktif photosensitizer akibat pemberian variasi suhu. *Pillar of Physics*. 1(3): 68-75.
- Arrohmah. 2007. Studi kualitas klorofil pada daun sebagai material photodetector organik. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Surakarta.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200.
- Budiyanto, A.W., Notosudarmo, S., dan Limantar, L. 2008. Pengaruh pengasaman terhadap fotodegradasi klorofil a. *Jurnal matematika dan sains*, 13(3): 66-75.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., dan L. Suhendra. 2019. Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agoindustri*. 7(4): 551-560.
- Dharmadewi, A. A. I. M. 2020. Analisis kandungan klorofil pada beberapa jenis sayuran hijau sebagai alternatif bahan dasar *food suplement*. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*. 9(2): 171-176.
- Fajar, A., Ibrahim, R., dan Dewi, E. N. 2014. Stabilitas ekstrak kasar pigmen klorofil, beta karoten dan caulerpin alga hijau (*Caulerpa racemosa*) pada suhu penyimpanan yang berbeda. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(1): 1-10.
- Gardjito, M., Djwardi, A., dan Harmayani, E. 2013. Pangan Nusantara: Karakteristik dan Prospek untuk Percepatan Diversifikasi Pangan. Kencana Prenada Media Group. Jakarta.
- Hortensteiner, Stefan., and Krautler., B. 2011. *Biochimica et biophysica acta (BBA) bioenergetics*. 1807(8): 977-988.
- Hubarat, R. L. P., Wartini, N. M., dan Antara, N. S. 2021. Karakteristik ekstrak pewarna alami daun singkong (*Manihot esculenta* C.) pada perlakuan jenis pelarut dan suhu maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agoindustri*. 9(1): 53-6.
- Kendrick, A. 2012. *Natural food and Beverage Colourings in Natural Food Additives, Ingredients and Flavours*. Editor D. Baines and R. Seal, 1st ed. Cambridge: Woodhead Publishing.
- Mahfudh, I., Santosa, G. W., dan Pramesti, R. 2021. Stabilitas ekstrak klorofil *Caulerpa Racemosa (Forsskal)* J. Agardh 1873 pada suhu dan lama penyimpanan yang berbeda. *Journal of Marine Research*. 10(2): 184-89.
- Manurung, P. 2011. Pigmen klorofil daun katuk dan aplikasinya sebagai zat pewarna alami. CV Andi. Yogyakarta.
- Muazis, F. 2018. Karakterisasi dan uji stabilitas ekstrak pigmen klorofil dan karotenoid dari *Spirulina* sp. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Program Studi Kimia. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi pemisahan senyawa dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367.
- Nollet, L. M. L. 2004. *Handbook of Food Analysis. Physical Characterzati-ion and Nutrient*

Analysis. Marcel Dekker Incorporation. New York.

- Prasetyo, S., Sunjaya, H., dan Yanuar, Y. N. 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. Bandung.
- Puspita, D., Merdekawati, W., dan Mahendra., A. P. S. 2021. Penurunan konsentrasi klorofil krim sup *Caulerpa racemosa* yang dikeringkan dengan vacuum drying oven. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi. 20 (2): 94-101.
- Satriyanto, B., Widjanarko, S. B., dan Yunianta. 2012. Stabilitas warna ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus*) terhadap pemanasan sebagai sumber potensial pigmen alami. Jurnal Teknol Pertanian. 13 (3): 157-168.
- Sekali, E. E. K., Wartini, N. M., dan Suhendra., L. 2020. Karakteristik ekstrak aseton pewarna alami daun singkong (*Manihot esculenta C.*) pada perlakuan ukuran partikel bubuk daun singkong dan lama maserasi. Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno. 5(2): 49-58.
- Sugiastawa, I. M., Wartini, N. M., dan Arnata, I. W. 2021. Pengaruh pH awal dan suhu penyimpanan terhadap stabilitas betasianin ekstrak pewarna dari bunga kenop (*Gomphrena globosa L.*). Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 9(4): 439–455.
- Wulansari, I. D., Harsojuwono, B. A. dan Mulyani, S. 2020. Pengaruh penyimpanan terhadap kerusakan antioksidan ekstrak daun asam (*Tamarindus indica L.*). Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 8(4): 544-550.