



AKTIVITAS TERMOPROTEKSI DAN FOTOPROTEKSI EKSTRAK KASAR KAROTENOID MESOKARP KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.) TERHADAP KESTABILAN KLOOROFIL-A)

*THERMOPROTECTION AND PHOTOPROTECTION ACTIVITIES OF CAROTENOIDS IN CRUDE EXTRACT OF OIL PALM (*Elaeis guineensis* Jacq.) MESOCARPS ON STABILITY OF CHLOROPHYLL-A*

Dece Elisabeth Sahertian^{1*}, Indriatmoko², Leenawaty Limantara²,
Tatas Hardo Panintingjati Brotosudarmo²

¹Universitas Pattimura Ambon, Jl. Ir. M. Putuhena Kampus Poka Unpatti Ambon

²Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung, Malan

*Corresponding author: dece.elisa@gmail.com

Naskah Diterima: 23 September 2018; Direvisi: 14 Januari 2019; Disetujui: 23 Januari 2019

Abstrak

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman yang mengandung karotenoid tinggi pada mesokarp yang merupakan bagian dari buah. Cahaya dan suhu dalam proses fotosintesis memberi pengaruh bagi kestabilan dan ketidakstabilan karotenoid dan klorofil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fotostabilitas dan termostabilitas ekstrak karotenoid mesokarp terhadap klorofil-a yang diiradiasi dengan lampu volpi (intralux 4100) *daylight* pada intensitas cahaya 31960 lux, 47040 lux dan 76640 lux dalam seri waktu penyinaran 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 menit serta dipanaskan pada suhu 25, 50, 65, dan 90 °C dengan seri waktu pemanasan 0, 1, 2, 3, 6, 9, dan 24 jam. Pengukuran spektrum serapan tiap perlakuan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Tampak pada panjang gelombang 300–800 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karotenoid tidak melakukan fungsi proteksi dengan baik pada perlakuan pemanasan 65 °C dan 90 °C selama 24 jam, serta perlakuan iradiasi hingga 30 menit pada ketiga intensitas cahaya. Kesimpulan dari penelitian ini adalah klorofil-a murni lebih stabil pada perlakuan pemanasan dan iradiasi. Kemampuan proteksi karotenoid terhadap kestabilan klorofil-a yaitu pada suhu di bawah 50 °C dan pada intensitas cahaya di bawah 31960 lux.

Kata kunci: *Elaeis guineensis*; Fotoproteksi; Karotenoid; Klorofil-a; Stabilitas; Termoproteksi

Abstract

*Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is a plant that contains high carotenoids in its mesocarp which is part of the fruit. Light and temperature in photosynthesis may affect the stability and instability of carotenoid and chlorophyll. The aim of this research was to examine the thermostability and photostability activities of the carotenoids in mesocarp extract on chlorophyll which were irradiated by Volpi lamp (4100 intralux) daylight at light intensity of 31960 lux, 47040 lux and 76640 lux in series of time radiation 0, 5, 10, 15, 20, 25, and 30 minutes and heated at 25, 50, 65, and 90 °C with series of heating time 0, 1, 2, 3, 6, 9, and 24 hours. Measurement of the absorption spectrum of each treatment was measured using a UV-Vis Spectrophotometer at a wavelength range of 300–800 nm. The results showed the protective function of carotenoids did not perform well at the heating treatments of 65 °C and 90 °C in 24 hours and at the irradiation for 30 minutes in all the light intensities. In conclusion, pure chlorophyll-a is more stable in heating and irradiation treatments. Carotenoid protection ability against chlorophyll-a is at temperatures below 50 °C and at a light intensity below 31960 lux.*

Keywords: Carotenoids; Chlorophyll-a; *Elaeis guineensis*; Photoprotection; Stability; Termoprotection

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v12i1.9145>

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman yang berasal dari Guinea di pesisir Afrika Barat, tergolong ordo *Arecales* dan famili *Arecaceae* atau *Palmae*. Kelapa sawit tumbuh baik pada daerah iklim tropis, dengan suhu antara 24–32°C dengan kelembapan yang tinggi dan curah hujan di atas 2000 mm/tahun. Buah kelapa sawit menghasilkan dua jenis minyak, yaitu minyak yang berasal dari mesokarp berwarna merah dan minyak yang berasal dari inti kelapa sawit yang tidak berwarna (Tambun, 2008).

Mesokarp buah kelapa sawit mengandung karotenoid tinggi yang tersusun dari provitamin E (tokoferol dan tokotrienol), asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh, juga mengandung β -karoten atau provitamin A yang sangat diperlukan dalam proses metabolisme tubuh manusia dan sebagai antioksidan. Minyak sawit yang berasal dari mesokarp buah mengandung β -karoten yang berkisar antara 500–700 ppm yang terdiri atas 36% α -karoten dan 54% β -karoten (Sambanthamurthi *et al.*, 2000; Mustafa *et al.*, 2011). Karoten bermanfaat untuk mengatasi penyakit degeneratif dan sebagai pembentuk vitamin A dalam tubuh manusia.

Karotenoid berfungsi sebagai pemanen energi dalam proses fotosintesis pada pusat reaksi. Kelebihan energi yang ditangkap oleh klorofil dapat diatasi oleh karotenoid dengan melepaskan energi tersebut kembali ke alam dalam bentuk *cis*. Proses isomerisasi *trans*-karoten menjadi *cis*-karoten terjadi sebagai bentuk pertahanan kestabilan alami terhadap faktor-faktor yang dapat menyebabkan kerusakan karotenoid (Gross, 1991), sehingga menjadikan *cis*-karoten sebagai pigmen yang cenderung stabil. Karotenoid juga berfungsi sebagai pigmen fotoproteksi, yaitu menyerap cahaya yang berlebihan dan mengubahnya dalam bentuk triplet. Klorofil dalam bentuk triplet sangat berbahaya, karena memicu timbulnya oksigen singlet yang merupakan radikal bebas yang dapat merusak sel. Karotenoid menangkap triplet klorofil dan mengubah singlet oksigen menjadi oksigen normal (Britton *et al.*, 1995). Berbeda dengan pigmen lainnya, klorofil-a merupakan bagian terpenting dalam pusat reaksi untuk menyalurkan elektron yang berenergi tinggi

dari kompleks antena ke akseptor utama elektron.

Faktor yang memengaruhi kestabilan pigmen adalah cahaya dan suhu. Klorofil-a sangat peka terhadap cahaya, namun dengan adanya proteksi karotenoid dan membran tilakoid dapat melindungi klorofil sehingga mengurangi kepekaannya (Gross, 1991). Faktor suhu juga mampu memengaruhi kestabilan klorofil-a menjadi turunannya, tergantung suhu yang digunakan dan lama pemanasan. Ketersediaan klorofil yang tinggi di alam serta khasiat biologis yang dimilikinya, menjadi peluang untuk dikembangkan sebagai bahan suplemen pangan atau pangan fungsional. Sementara itu, suplemen pangan berbasis klorofil yang beredar di Indonesia hampir semuanya merupakan produk impor dan memiliki harga jual yang cukup tinggi (Nurdin *et al.*, 2009). Namun, banyak produk yang diberi label klorofil merupakan turunan klorofil (feofitin, pirofeofitin, klorofilid, feoforbid) (Gross, 1991), keadaan ini disebabkan oleh kestabilan produk berbasis klorofil yang rentan terhadap asam dan basa, oksidasi, cahaya serta suhu (Kusmita & Limantara, 2008). Oleh sebab itu, klorofil harus diperlakukan sesuai sifatnya pada pencahayaan dan pemanasan tertentu untuk mengatasi kepekaannya, salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan karotenoid sebagai penstabil alami klorofil.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fotoproteksi dan termoproteksi ekstrak kasar karotenoid buah kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq.) terhadap kestabilan klorofil-a yang diiradiasi pada intensitas cahaya 31960 lux, 47040 lux, dan 76640 lux selama 30 menit serta dipanaskan suhu 50, 65, dan 90 °C selama 24 jam yang ditampilkan menggunakan spektrofotometer.

MATERIAL DAN METODE

Material

Material yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain mesokarp buah kelapa sawit (*E. guineensis* Jacq.) segar dan mesokarp buah kelapa sawit rebus yang diperoleh dari Kota Salatiga Jawa Tengah. Sumber pigmen klorofil-a diambil dari daun suji (*Pleomele angustifolia*). Bahan kimia yang digunakan adalah aseton, dietil eter, metanol,

larutan garam jenuh, akuades, kalsium karbonat (CaCO_3), *silica gel* 60, sodium L-askorbat, gas argon (UHP).

Metode

Ekstraksi Pigmen

Mesokarp buah kelapa sawit sebanyak 30 g dihaluskan dengan mortar dan ditambahkan CaCO_3 dan sodium L-askorbat. Buah kelapa sawit yang telah dihaluskan kemudian dimaserasi dalam 100% aseton dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (w/v) sampai residu berwarna putih. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*, lalu dikeringkan dengan gas argon (Gross, 1991; Britton *et al.*, 1995).

Daun suji sebanyak 3 g dihaluskan dengan mortar, setelah itu ditambahkan CaCO_3 dan sodium L-askorbat. Sampel dimaserasi menggunakan pelarut aseton: metanol dengan perbandingan 3:7 (v/v) diulangi sebanyak tiga kali (hingga residu berwarna putih). Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan cara disaring. Filtrat ekstrak daun suji dipartisi menggunakan dietil eter dengan perbandingan 1:1 (v/v), kemudian ditambahkan dengan larutan garam jenuh dan air untuk meningkatkan kepolaran lapisan *aqueous*, sehingga terjadi pemisahan. Lapisan atas (dietil eter) yang mengandung pigmen ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*, lalu dikeringkan dengan gas argon.

Isolasi Klorofil-a

Isolasi klorofil-a dari daun suji menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam *silica gel* 60 dan fase gerak untuk isolasi adalah heksana:dietil eter:aseton (60:30:20 v/v). Masing-masing ekstrak kasar pigmen kering dilarutkan dengan fase geraknya. Pita hijau biru (klorofil-a) diisolasi dari kolom ekstrak kasar pigmen daun suji kemudian diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Tampak pada panjang gelombang 300–800 nm, karena klorofil-a terdeteksi pada panjang gelombang tersebut. Klorofil-a hasil isolasi dikeringkan dengan gas argon.

Penentuan Molaritas

β -karoten dan klorofil-a dilarutkan dalam aseton secara terpisah, kemudian penentuan konsentrasi pigmen murni dapat dihitung menggunakan hukum Lambert-Beer ($A =$

$C \times l \times \epsilon$), konsentrasi pigmen (C) diperoleh berdasarkan data absorbansi pada panjang gelombang serapan maksimum (A), lebar kuvet (l), dan koefisien ekstinsi molar atau spesifik dalam pelarut aseton (ϵ) dimana koefisien ekstinsi molar atau spesifik β -karoten ($\epsilon_{\beta\text{-karoten}}$) = $134 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, sedangkan klorofil-a ($\epsilon_{\text{klorofil-a}}$) adalah $78,75 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Mol β -karoten dan klorofil-a ditentukan dengan rumusan $n = C \times V$ dimana mol (n) dihitung berdasarkan konsentrasi pigmen (C) dan volume pelarut (V).

Ekstrak kasar karotenoid mesokarp buah kelapa sawit dan klorofil-a masing-masing dilarutkan dalam aseton, kemudian keduanya dicampurkan dengan perbandingan mol 1:1; 1:3; dan 3:1 dalam 100% aseton. Ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, serta klorofil-a disetarakan menjadi ≈ 1 absorbansi pada serapan maksimumnya (450 nm pada β -karoten dan 430 nm pada klorofil-a).

Beberapa sampel murni dan campuran antara ekstrak karotenoid mesokarp buah dan klorofil-a yang dihasilkan antara lain: ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1), ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus (R.1), ekstrak klorofil-a (K.1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol) (SK.1:1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol) (RK.1:1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol) (SK.1:3), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol) (RK.1:3), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol) (SK.3:1), dan campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol) (RK.3:1). Sebelum dan setelah perlakuan, spektrum serapan tiap larutan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Tampak yang terdeteksi pada panjang gelombang 300–800 nm.

Perlakuan Suhu

Ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1), ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus (R.1),

ekstrak klorofil-a (K.1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol) (SK.1:1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol) (RK.1:1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol) (SK.1:3), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol) (RK.1:3), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol) (SK.3:1), dan campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol) (RK.3:1) masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup. Ekstrak tersebut diuji stabilitas klorofil-a terhadap suhu menggunakan Spektrofotometer UV-Tampak pada panjang gelombang 300–800 nm dengan dimasukkan dalam *waterbath* pada suhu 50 °C, 65 °C dan 90 °C menggunakan seri waktu pemanasan 0, 1, 2, 3, 6, 9, dan 24 jam.

Perlakuan Cahaya

Masing-masing ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1), ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus (R.1), ekstrak klorofil-a (K.1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol) (SK.1:1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol) (RK.1:1), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol) (SK.1:3), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol) (RK.1:3), campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol) (SK.3:1), dan campuran ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol) (RK.3:1) sebanyak 3.5 ml diisikan ke dalam kuvet, kemudian masing-masing diiradiasi dengan lampu volpi (intralux 4100) *daylight* 31960 lux, 47040 lux dan 76640 lux dalam seri waktu penyinaran 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 menit, pola spektra masing-masing perlakuan dideteksi pada panjang gelombang 300–800 nm yang diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Tampak.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari Spektrofotometer UV-Tampak dianalisis

dengan program plots 32 untuk memperoleh grafik dan melihat bentuk masing-masing spektra puncak. Analisa produk degradasi menggunakan *Spina version 3.0* (Y. Katsumoto, Hiroshima University).

HASIL

Termostabilitas Klorofil-a

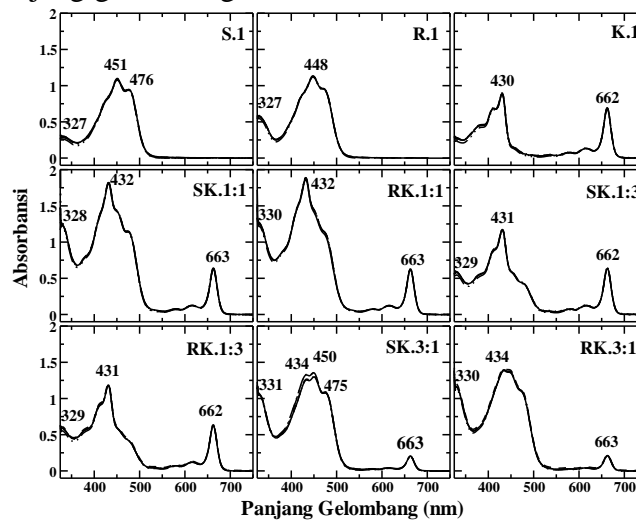
Ekstrak kasar karotenoid mesokarp buah kelapasawit segar maupun mesokarp buah yang direbus serta campurannya dengan klorofil-a pada suhu kamar (25 °C) sebagai kontrol, pada suhu 50, 65, dan 90 °C dengan seri waktu pemanasan 0, 1, 2, 3, 6, 9, dan 24 jam, menghasilkan pola spektra yang ditunjukkan pada Gambar 1, 2, 3 dan 4.

Gambar 1 menunjukkan pola spektra sampel yang stabil selama diberi perlakuan pada suhu kamar (25 °C) di ruang gelap dan tertutup aluminium foil sebagai kontrol suhu. Namun, apabila grafik ekstrak mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1) dan grafik ekstrak mesokarp buah kelapa sawit rebus (R.1) dibandingkan, pola spektra karotenoid telah mengalami pergeseran dari 451 nm ke 448 nm. Pola spektra klorofil-a (K.1) terlihat stabil dengan mempunyai 2 puncak 430 nm dan 662 nm. Selain itu, pola spektra untuk campuran ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a dengan rasio berbeda memperlihatkan puncak-puncak spektra yang stabil.

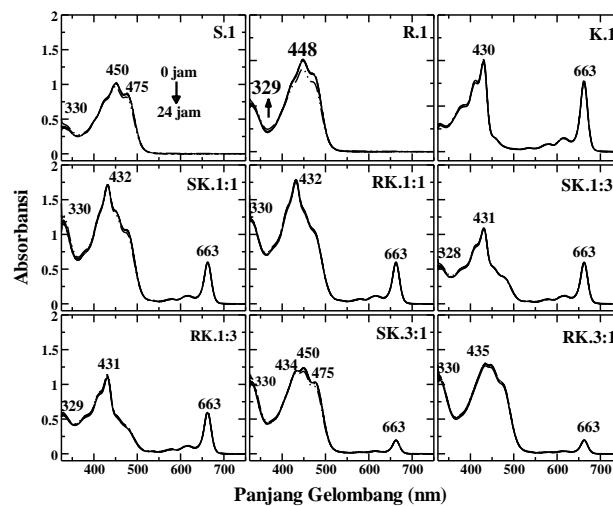
Gambar 2 menunjukkan pergeseran panjang gelombang dan penurunan absorbansi yang kurang berarti dibandingkan dengan kontrol (25 °C), dilihat dari nilai absorbansi yang kecil pada sampel ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1) terjadi pergeseran panjang gelombang dari 450→451 nm dan 475→476 nm serta penurunan absorbansi senilai $\pm 0,005$ dan $\pm 0,013$. Sedangkan sampel ekstrak buah yang direbus (R.1) mengalami pergeseran batokromik dari 327→329 nm. Sampel SK.1:1 terjadi pergeseran panjang gelombang, yaitu dari 328→330 nm. Penurunan absorbansi dialami juga oleh sampel SK.1:1 dan RK.1:1 pada 432 nm yaitu secara berturut-turut senilai $\pm 0,023$ dan $\pm 0,012$. Kondisi yang sama terjadi pada sampel SK.1:3 dan RK.1:3 terjadi penurunan absorbansi pada panjang gelombang 431 nm (secara berturut-turut senilai $\pm 0,015$ dan $\pm 0,039$) dan panjang gelombang 662 nm

bersama senilai $\pm 0,010$. Sampel SK.3:1 dan RK.3:1 juga mengalami penurunan absorbansi yang ditunjukkan pada panjang gelombang 450

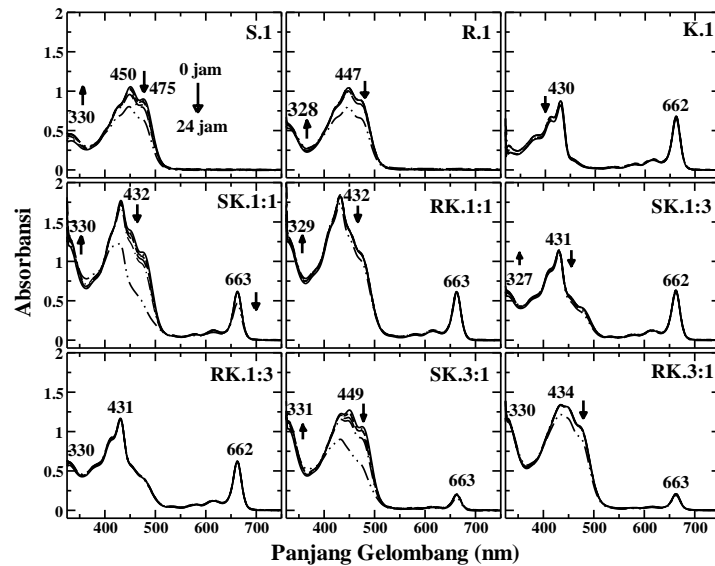
nm dan 663 nm dengan nilai yang kecil antara 0,005–0,015.



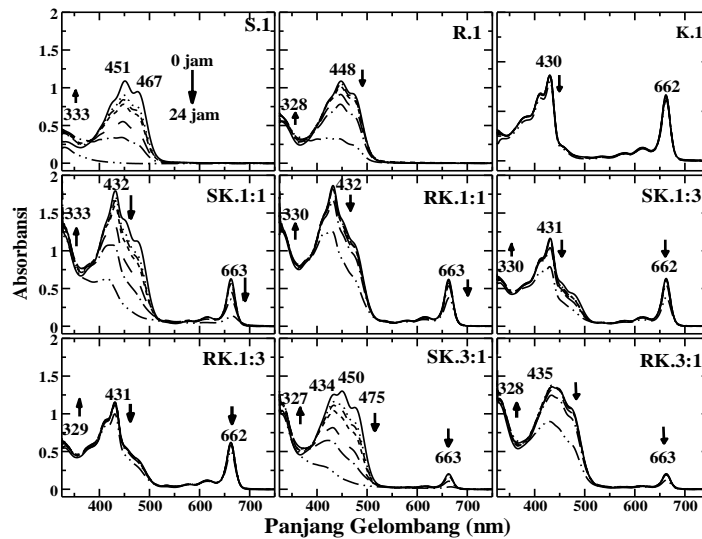
Gambar 1. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a pada suhu 25 °C. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar, (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus), (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)



Gambar 2. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a pada suhu 50 °C selama 24 jam. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar, (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)



Gambar 3. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a pada suhu 65 °C selama 24 jam. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar), (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)



Gambar 4. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a pada suhu 90 °C selama 24 jam. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar, (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)

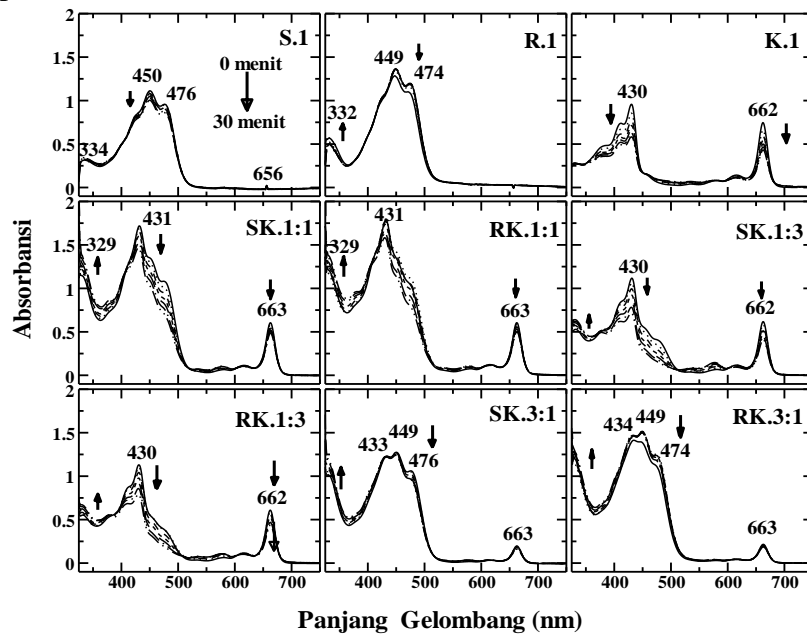
Gambar 3 menunjukkan adanya ketidakstabilan karotenoid dan mulai hilangnya proteksi karotenoid terhadap klorofil-a selama pemanasan pada suhu 65 °C. Kondisi ketidakstabilan ini terjadi pada semua sampel yang ditandai dengan pergeseran dan penurunan absorbansi maksimum 24 jam pemanasan yang agak lambat tapi terlihat jelas pada sampel SK.1:1 serapan maksimumnya bergeser sekitar 3 nm (432→429 nm) dan sampel SK.3:1 serapan maksimumnya bergeser 4 nm, 2 nm, dan 3 nm (331→328 nm, 434→432 nm, dan 449→446 nm).

Gambar 4 menunjukkan pola spektra semua sampel mengalami ketidakstabilan ditunjukkan dengan pergeseran dan penurunan absorbansi yang cepat dan jelas selama 24 jam proses pemanasan 90 °C. Sampel S.1 mengalami pergeseran hipsokromik yang bergeser dari 333→328 nm dan 451→444 nm. Penurunan absorbansi sampel S.1 menandakan kehilangan puncak maksimum berangsur-angsur hingga pemanasan jam ke-24. Sampel R.1 mengalami hipokromik dari 328→326 nm

dan 448→441 nm. Pada sampel SK.1:1, terjadi pergeseran batokromik (ke arah λ yang lebih besar), yaitu bergeser dari 663→666 nm dan pada daerah sorot selama 9–24 jam puncak maksimumnya menghilang. Pola spektra sampel SK.3:1 juga mengalami pergeseran batokromik dari 663→668 nm sedangkan sampel RK 3:1 mengalami pergeseran hipsokromik dari 435→429.

Fotostabilitas Klorofil-a

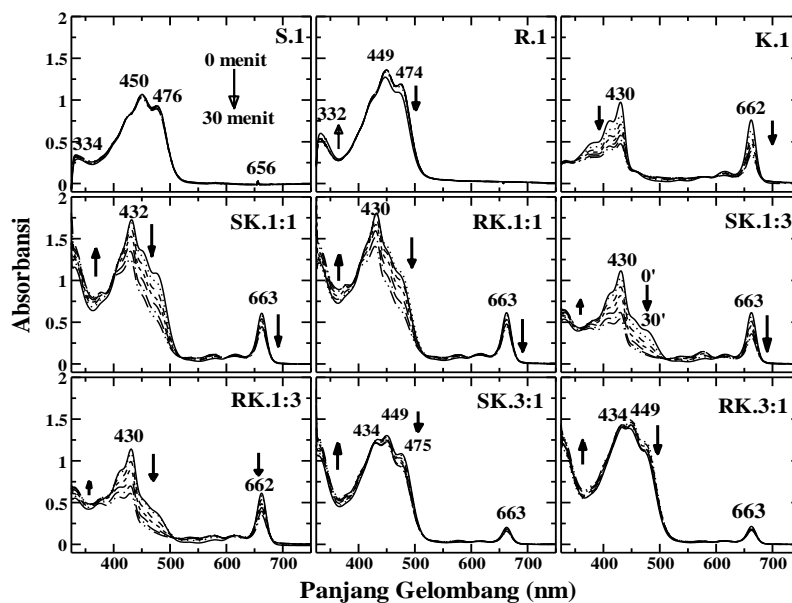
Indikasi pola spektra yang diukur dengan spektrofotometer merupakan salah satu cara mengetahui stabilitas suatu pigmen sebelum dan sesudah perlakuan. Karotenoid dari ekstrak kasar buah kelapa sawit segar maupun buah kelapa sawit yang direbus serta campurannya dengan klorofil-a diiradiasi selama 30 menit pada intensitas cahaya masing-masing 31960 lux, 47040 lux, dan 76640 lux *daylight* sehingga menghasilkan pola spektra yang ditunjukkan pada Gambar 5, 6, dan 7.



Gambar 5. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a yang diiradiasi selama 30 menit pada intensitas cahaya 31960 lux *daylight*. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar, (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)

Gambar 5 menunjukkan pola spektra semua sampel ekstrak mengalami penurunan dan pergeseran selama 30 menit diiradiasi dengan intensitas cahaya 31.960 lux *daylight*. Pada ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1) sedikit mengalami penurunan pola spektra pada panjang gelombang 450 nm, sedangkan pada ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus (R.1) panjang gelombang 332 nm mengalami kenaikan pola spektra dan pada panjang gelombang 474 nm polanya menurun dan bergeser absorbansinya. Ekstrak klorofil-a (K.1) selama diiradiasi, terjadi penurunan pola spektra pada panjang gelombang 430 nm dan 662 nm. Pada sampel

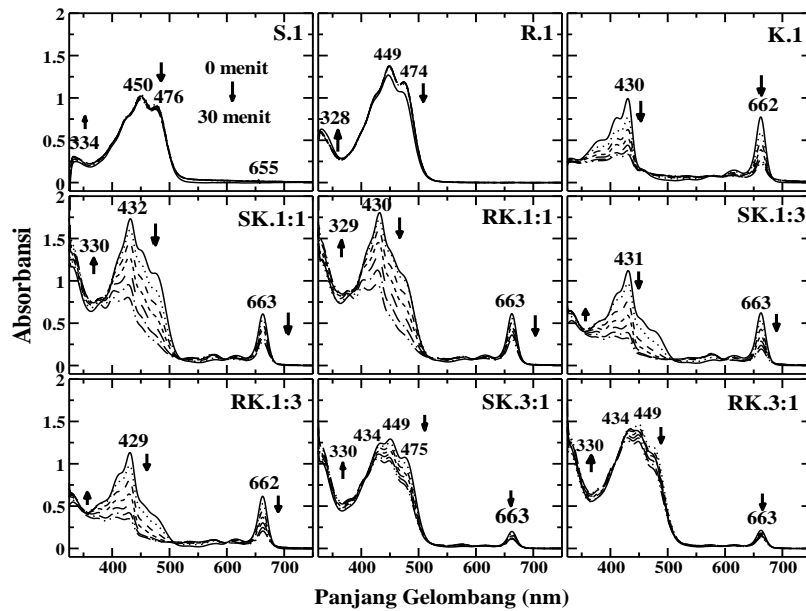
ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a dengan rasio 1:1 terjadi penurunan absorbansi yang tidak berarti. Pada sampel campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar atau buah rebus dengan rasio 3:1 terhadap klorofil-a (mol/mol) terlihat kecenderungan yang stabil pada pola spektra hanya terjadi pergeseran absorbansi maksimum pada puncak solet yang bergeser sekitar 2 nm yakni antara 434→432 nm (RK 3:1), sedangkan campuran ekstrak karotenoid mesokarp dengan rasio 1:3 terhadap klorofil-a terjadi penurunan pola spektra pada panjang gelombang 430 nm dan 662 nm.



Gambar 6. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a yang diiradiasi selama 30 menit pada intensitas cahaya 47040 lux *daylight*. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar, (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)

Gambar 6 menunjukkan kestabilan pola spektra pada grafik S.1, sedangkan pada ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit yang direbus (R.1) seperti pada grafik intensitas cahaya 31960 lux *daylight* (Gambar 5), pola spektra mengalami penurunan panjang gelombang 474 nm dan kenaikan puncak pada panjang gelombang 332 nm. Ekstrak klorofil-a (K.1) selama diiradiasi, terjadi penurunan pola

spektra pada panjang gelombang 430 nm dan 662 nm. Sampel SK.1:1 pola spektra bergeser absorbansinya sekitar 3 nm. Sampel SK.1:3 dan RK.1:3, pola spektranya mengalami penurunan secara drastis. Sedangkan sampel SK.3:1 dan RK.3:1 sedikit mengalami penurunan dan pergeseran absorbansi sekitar 4 nm dari 434→430 nm (RK.3:1).



Gambar 7. Pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp dan klorofil-a yang diiradiasi selama 30 menit pada intensitas cahaya 76640 lux *daylight*. (S.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar, (R.1) ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus, (K.1) ekstrak klorofil-a, (SK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (RK.1:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:1 (mol/mol), (SK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (RK.1:3) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 1:3 (mol/mol), (SK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan klorofil-a 3:1 (mol/mol), (RK.3:1) campuran ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit rebus dan klorofil-a 3:1 (mol/mol)

Pada Gambar 7, pola spektra ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1) dan ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit yang direbus (R.1) tidak ditemukan puncak pada 656 nm yang kemudian bergeser ke 655 nm. Sampel R.1 selama iradiasi tidak terjadi penurunan pola spektra yang berarti, namun terbentuk isomer *cis* dengan naiknya absorbansi yaitu secara berurutan dari 0,25→0,575, 0,25→0,6 dan 0,25→0,625. Sebagian besar sampel, puncak soretnya bergeser sekitar 3–6nm. Selain itu, sampel RK.3:1 mengalami kehilangan puncak pada 476 nm selama diiradiasi pada intensitas cahaya 76640 lux.

Degradasi Ekstrak pada Perlakuan Suhu dan Cahaya

Kestabilan dan ketidakstabilan klorofil-a pada perlakuan suhu dan cahaya dapat ditentukan dengan presentasi degradasi. Tabel 1 menunjukkan presentasi degradasi klorofil-a dengan penambahan ekstrak karotenoid pada perlakuan suhu.

Tabel 1 menunjukkan sampel S.1 dan R.1 mengalami ketidakstabilan karotenoid pada 450 nm yang penurunannya meningkat pada suhu 90 °C, yaitu masing-masing 99,90% dan 71,16%, dibandingkan dengan sampel R.1. Sampel S.1 cenderung mengalami degradasi lebih cepat. Kondisi ini menunjukkan bahwa sampel R.1 lebih stabil dari sampel S.1. Kandungan isomer *cis* karoten di dalam sampel R.1 adalah salah satu faktor kestabilan sampel R.1 untuk pertahanan dan menghindarkan pigmen dari kerusakan. Sampel klorofil-a (K.1) tidak mengalami penurunan yang berarti untuk semua suhu dan panjang gelombang dibandingkan dengan sampel-sampel lainnya. Ekstrak campuran SK.1:1, SK.1:3, SK.3:1, RK.1:1, RK.1:3, dan RK.3:1 pada suhu 50, 65, 90 °C mengalami ketidakstabilan pada 450 nm dan 663 nm yang penurunannya meningkat sampai 88,93%, misalnya SK 3:1 dan RK.3:1 pada 450 nm penurunannya meningkat di suhu 90 °C, yaitu masing-masing 88,93% dan 39,96%. Hal ini menunjukkan bahwa karotenoid tidak dapat memproteksi klorofil-a.

Tabel 1. Persentase degradasi ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit pada perlakuan pemanasan suhu 50 °C, 65 °C, dan 90 °C selama 24 jam dengan absorbansi maksimum A₄₅₀ dan A₆₆₃

Ekstrak	Degradasi %					
	50 °C		65 °C		90 °C	
	450	663	450	663	450	663
S.1	-4,52	-	-24,17	-	-99,90	-
R.1	-8,98	-	-23,91	-	-71,16	-
K.1	+43,84	+44,19	+14,38	+5,11	+21,84	+22,35
SK.1:1	-3,06	+1,17	-49,10	-24,83	-80,58	-78,85
SK.1:3	-0,18	+2,70	-9,42	-3,04	-40,73	-38,92
SK.3:1	-4,27	+1,02	-40,29	-20,00	-88,93	-84,80
RK.1:1	+2,11	+1,69	-6,11	-4,44	-37,20	-39,29
RK.1:3	+5,35	+3,38	-0,34	0,0	-19,19	-18,06
RK.3:1	+2,27	+3,62	-11,02	-9,95	-39,96	-41,26

Keterangan: (-) = degradasi; (+) = stabil

Tabel 2. Persentase degradasi ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit pada perlakuan iradiasi dengan intensitas 31960 lux, 47040 lux, dan 76640 lux *daylight* selama 30 menit pada absorbansi maksimum A₄₅₀ dan A₆₆₃

Ekstrak	Degradasi %					
	31960 lux		47040 lux		76640 lux	
	450	663	450	663	450	663
S.1	-9,71	-	-3,45	-	-3,70	-
R.1	+6,47	-	+7,23	-	+8,86	-
K.1	-6,21	-41,91	-13,55	-54,16	-22,22	-70,07
SK.1:1	-23,68	-19,83	-38,95	-31,41	-65,93	-53,27
SK.1:3	-49,46	-33,38	-64,23	-47,71	-76,14	-68,59
SK.3:1	-2,82	-17,76	-6,75	-25,98	-20,04	-44,77
RK.1:1	-15,65	-17,02	-29,23	-27,19	-57,04	-48,69
RK.1:3	-40,43	-28,28	-56,39	-42,55	-73,63	-66,55
RK.3:1	+8,38	-13,88	+3,41	-21,86	-8,62	-39,25

Keterangan: (-)= degradasi; (+) = stabil

Berdasarkan Tabel 2, ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit yang direbus (R.1) mengalami penurunan yang tidak berarti, dibandingkan dengan ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar (S.1). Sampel S.1 telah mengalami degradasi pada intensitas cahaya 31960 lux senilai 9,71%, sedangkan sampel R.1 cenderung stabil. Ekstrak campuran juga telah mengalami degradasi pada intensitas cahaya 31960 lux, kecuali sampel RK.3:1, namun sampel RK.3:1 mengalami degradasi pada intensitas cahaya 76640 lux. Sampel SK.3:1 dan RK.3:1 menunjukkan degradasi klorofil-a pada 663 nm sebanyak 44,77% dan 39,25%, sedangkan pada sampel SK. 1:1, SK.1:3, RK.1:1, dan RK.1:3

yang memiliki konsentrasi karotenoid sedikit menyebabkan degradasi klorofil-a sangat tinggi, yaitu masing-masing mencapai 53,27%, 68,59%, 48,69% dan 66,55% pada intensitas 76640 lux. Dengan demikian karotenoid tidak stabil dalam memproteksi klorofil-a pada ke-3 intensitas cahaya.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit segar dan ekstrak karotenoid mesokarp buah kelapa sawit yang direbus mengalami degradasi atau terjadi isomerasi pada perlakuan pemanasan sehingga karotenoid tidak stabil. Ketidakstabilan karotenoid diakibatkan

pemanasan, sehingga terjadi perubahan struktur isomeris dari bentuk isomer *trans* menjadi bentuk isomer *cis*. Hal ini memberi gambaran yang sama dengan hasil penelitian Kusumaningtyas dan Limantara (2009), bahwa terjadi isomerisasi pada α - dan β -karoten mesokarp buah kelapa sawit yang ditandai oleh perubahan struktur isomeris dari *trans* menjadi *cis* dan pergeseran puncak utama secara hipsokromik ± 3 nm. Selain itu, ekstrak campuran mengalami degradasi pada perlakuan pemanasan suhu 65 °C dan 90 °C, keadaan ini berarti karotenoid tidak mampu melindungi klorofil-a dari faktor pemanasan.

Terjadi pergeseran panjang gelombang semua sampel menandakan terjadi isomerisasi dan oksidasi akibat suhu dan tekanan yang tinggi, serta waktu pemanasan yang singkat (Bonnie & Choo, 1999). Semua sampel mengalami kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 327–333 nm yang menandakan ketidakstabilan karotenoid dan lemahnya proteksi karotenoid terhadap kestabilan klorofil-a sehingga klorofil-a juga mengalami ketidakstabilan sebagai pigmen yang ditandai dengan penurunan absorbansi pada daerah solet (430 nm).

Pada perlakuan iradiasi, daerah Qy (663 nm) mengalami penurunan yang sangat drastis terlebih pada pencahayaan 76640 lux. Hal ini membuktikan bahwa pada campuran pigmen daerah Qy (663 nm) berperan sebagai indikator peka yang perubahannya lebih ditentukan oleh klorofil dan bukan karotenoid (Zvezdanović & Marković, 2008). Selain itu, sampel dengan konsentrasi ekstrak karotenoid yang lebih banyak dari klorofil-a, dan sampel lainnya merupakan salah satu faktor kestabilan klorofil-a dalam arti fotoproteksi karotenoid selama iradiasi berlangsung (Tugiman *et al.*, 2008). Kehilangan puncak maksimum yaitu 476 nm pada sampel ekstrak karotenoid mesokarp buah sawit yang direbus menandakan telah terputusnya ikatan rangkap suatu kromofor yang mengakibatkan kehilangan warna pada sampel (Rodriguez-Amaya, 2001).

Kestabilan klorofil-a dengan penambahan ekstrak karotenoid terhadap pemanasan dapat ditentukan dengan persentase degradasi. Sampel klorofil-a tidak mengalami penurunan yang berarti untuk semua suhu dan

panjang gelombang dibandingkan dengan sampel-sampel lainnya. Menurut Nursyam *et al.* (2010), klorofil-a murni pada perlakuan suhu yang tinggi lebih stabil dari pigmen uji lainnya yang mengandung klorofil-a.

Berdasarkan Tabel 1, klorofil-a murni atau klorofil-a dengan penambahan ekstrak karotenoid mesokarp pada semua perbandingan cenderung tidak stabil yang ditunjukkan dengan tanda negatif (-). Tanda negatif (-) menandakan klorofil-a telah terdegradasi pada 450 nm dan 663 nm selama pemanasan 65 °C dan 90 °C. Hasil penelitian Nursyam *et al.* (2010), menunjukkan bahwa karotenoid terkandung dalam campuran klorofil mengurangi stabilitas klorofil terhadap perlakuan pemanasan dapat diamati pada daerah Qy (663 nm) yang menunjukkan penurunan absorbansi.

Hasil pola spektra menunjukkan penurunan absorbansi ekstrak karotenoid serta campurannya dengan klorofil-a terhadap waktu. Semakin rendah nilai absorbansi dan semakin lama waktu iradiasi, maka semakin terdegradasi suatu pigmen. Persentase degradasi karotenoid terhadap kestabilan klorofil-a merupakan jawaban bahwa sampel telah terdegradasi secara kontinu yang ditandai dengan besarnya persentase degradasi pada daerah solet dan Qy ditunjukkan pada Tabel 2.

SIMPULAN

Karotenoid tidak mampu memproteksi klorofil-a pada perlakuan pemanasan suhu 65 °C, dan 90 °C selama 24 jam, serta pada perlakuan iradiasi intensitas cahaya 31960 lux, 47040 lux, dan 76640 lux selama 30 menit. Klorofil-a murni lebih stabil pada perlakuan pemanasan dan iradiasi.

REFERENSI

- Bonnie, T. Y. P., & Choo, Y. M. (1999). Oxidation and thermal degradation of carotenoids. *Journal of Oil Palm Research*, II(1), 62-78.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (1995). *Carotenoids volume 1A: isolation and analysis*. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag.
- Gross, J. (1991). *Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold.

- Kusmita, L., & Limantara, L. (2008). Pusat logam klorofil. *Eksplanasi*, 3(1), 28-38.
- Kusumaningtyas, R. S., & Limantara, L. (2009). Isomerisasi dan oksidasi senyawa karotenoid dalam buah kelapa sawit selama pengolahan CPO. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(1), 48-53.
- Mustafa, H. M., Abdullah, N., & Noor, Z. Md. (2011). Total phenolic content and antioxidant activities of palm puree prepared from various Tenera varieties. In (Ed.), . Proceeding 2nd International Conference on Biotechnology and Food Science (pp. 23-26). Singapore.
- Nurdin., Kusharto, C. M., Tanziha, I., & Januwati, M. (2009). Kandungan klorofil berbagai jenis daun tanaman dan Caturunan klorofil serta karakteristik fisiko-kimianya. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 4(1), 13-19.
- Nursyam, H., Zaelanie, K., Muammar, H. A., Heriyanto., & Limantara, L. (2010). Thermal-stability of fucoxanthin, chlorophyll-a, fucoxanthin-chlorophyll-a mixture and crude pigment extracts from brown algae. In (Ed.), Proceeding of Natural Pigment Conference for South East Asia (pp. 308-313). Ma Chung University, Malang, Indonesia.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington. D.C: International Life Sciences Institute Press.
- Sambanthamurthi, R., Sundram, K., & Tan, Y. (2000). Chemistry and Biochemistry of Palm Oil. *Progress in Lipid Research*, 39(6), 507-558.
- Tambun, R. (2008). Proses pembuatan asam lemak secara langsung dari buah kelapa sawit (Pascasarjana Tesis). Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Tugiman., Kusmita, L., Rondonuwu, F. S., & Limantara L. (2008). Kandungan dan fotostabilitas pigmen utama ekstrak kasar sayuran lokal. In (Ed.), . Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami (pp. 99-108).
- ZvezdanoviC, J., & MarkoviC, D. (2008). Bleaching of chlorophylls by UV irradiation *in vitro*: the effects on chlorophyll organization in acetone and *n*-hexane. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73(3), 271-282.