

Artikel Penelitian

Ekstraksi dan Karakterisasi Klorofil dari Daun Suji (*Pleomele Angustifolia*) sebagai Pewarna Pangan Alami

Extraction and Characterization of Chlorophyll from Suji Leaves (Pleomele Angustifolia) as Natural Food Colorant

Nita Aryanti, Aininu Nafiunisa, Fathia Mutiara Willis

Fakultas Teknik, Jurusan Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang

Korespondensi dengan penulis (nita.aryanti@che.undip.ac.id)

Artikel ini dikirim pada tanggal 12 Mei 2016 dan dinyatakan diterima tanggal 1 Oktober 2016. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.jatp.ift.or.id. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2016

Abstrak

Pewarna pangan alami merupakan salah satu kontribusi untuk mewujudkan keamanan pangan di Indonesia sebagaimana telah dinyatakan dalam Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan. Klorofil adalah pigmen hijau yang dapat diperoleh dengan proses ekstraksi. Salah satu zat pewarna alami yang paling sering digunakan adalah klorofil dari daun suji. Dalam penelitian ini, klorofil dari daun suji diekstraksi menggunakan ekstraksi maserasi dengan penambahan zat penstabil NaHCO_3 . Ekstraksi klorofil umumnya menggunakan solvent berbasis alkohol, namun dalam penelitian ini digunakan solvent aquadest. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi, karakterisasi ekstrak, mikroenkapsulasi dan karakterisasi bubuk klorofil. Ekstrak klorofil dianalisa konsentrasi klorofilnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Karakterisasi bubuk klorofil meliputi kadar air, analisa nilai kelarutan pewarna klorofil, analisa intensitas warna dan uji gugus fungsional spesifik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi klorofil dengan penambahan zat penstabil NaHCO_3 sebesar 3% merupakan konsentrasi penambahan terbaik dan menghasilkan konsentrasi klorofil sebesar 41,939 mg/L. Sedangkan tanpa penambahan NaHCO_3 menghasilkan ekstrak klorofil cair dengan konsentrasi klorofil sebesar 30,327 mg/L. Bubuk klorofil daun suji yang dihasilkan mempunyai kelarutan 96,15%, kadar air 11,29% dan nilai intensitas warna L^* , a^* dan b^* sebesar 72,454, -12,222 dan 26,494. Analisa gugus fungsional dari bubuk klorofil menggambarkan adanya puncak-puncak spesifik dari karakteristik struktur klorofil.

Kata kunci: klorofil, ekstraksi, daun suji, mikroenkapsulasi, pewarna pangan

Abstract

Natural food colorant had a contribution for actualizing food safety in Indonesia as assigned in Regulation of Republic of Indonesia Number of 18 in Year of 2012. Chlorophyll was a natural green extract produced by extraction method. Pleomele angustifolia leaves had been frequently applied as traditional food colorant. This research studied maceration extraction to extract chlorophyll from Pleomele angustifolia leaves by using distilled water as a solvent and an addition of NaHCO_3 as stabilizer. Further, the chlorophyll extract was microencapsulated using Maltodextrin. Chlorophyll concentration of the extract was predicted by UV-Vis Spectrophotometry. Characterization of microencapsulated chlorophyll comprised water content, solubility, color intensity and specific functional group based on its FTIR spectrum. Research showed that concentration of NaHCO_3 of 3% resulted on the best chlorophyll concentration, 41,94 mg/L. In contrast, only 30,33 mg/L of chlorophyll concentration was obtained without stabilizer. Encapsulated chlorophyll of Pleomele angustifolia leaves had solubility of 96,15%, water content of 11,29% and colour intensity of L^ , a^* and b^* as 72,454, -12,222 and 26,494, respectively. Functional groups of FTIR Spectra confirmed specific peaks of chlorophyll chemical structure characteristic.*

Keywords : chlorophyll, extraction, suji leaves, microencapsulation food colorant

Pendahuluan

Penyediaan dan kebutuhan bahan tambahan pangan tidak terlepas dari usaha untuk memenuhi keinginan dan harapan konsumen terhadap karakteristik pangan tertentu. Hal tersebut ditetapkan berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2004 tentang keamanan, mutu dan gizi pangan. Zat pewarna pangan merupakan salah satu contoh bahan tambahan pangan (BTP) yang banyak digunakan dalam industri pangan. Sebagai bahan tambahan pangan, penggunaan pewarna sintesis merupakan salah satu hal yang diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 37 Tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna. BTP pewarna hijau

umumnya berupa senyawa *triarylmethane*, misalnya *Fast Green FCF* yang mempunyai batasan *Acceptable Daily Intake* (ADI) sebesar 0-25 mg/kg berat badan.

Klorofil dan pewarna turunan klorofil telah terdaftar dalam Codex Alimentarius Commission di Uni Eropa sebagai pewarna alami dengan kode E140 (Kendrick, 2012). Sedangkan sesuai dengan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 37 Tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna, klorofil dan senyawa turunannya termasuk sebagai BTP alami. Klorofil adalah pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama-sama dengan karoten dan xantofil pada semua makhluk hidup yang mampu melakukan fotosintesis. Pada

semua tanaman hijau, sebagian besar klorofil berada dalam dua bentuk yaitu klorofil *a* dan klorofil *b*. Klorofil *a* bersifat kurang polar dan berwarna biru hijau, sedangkan klorofil *b* bersifat polar dan berwarna kuning hijau (Młodzińska, 2009).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai pewarna alami adalah daun suji (*Pleomele angustifolia*). Daun suji segar yang memiliki kadar air basis basah sebesar 73,25%, mengandung 3773,9 ppm klorofil yang terdiri atas 2524,6 ppm klorofil *a* dan 1250,3 ppm klorofil *b* (Prangdimurti *et al.*, 2005). Klorofil yang berwarna hijau sangat mudah mengalami proses degradasi menjadi berwarna hijau muda sampai hijau kecoklatan (Comunian *et al.*, 2011). Selain itu sediaan pewarna yang dihasilkan dari proses ekstraksi berbentuk konsentrat cair yang memiliki kelemahan umur simpan yang pendek (Tama *et al.*, 2014). Ekstraksi klorofil umumnya menggunakan *solvent* berbasis alkohol seperti aseton (El-Mouhty and El-Nagar, 2014; Kong *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2013; Putri *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2002), metanol, etanol, DMF (Hosikian *et al.*, 2010) dan etanol (Yuniwati *et al.*, 2012). Penggunaan *solven* yang mengandung alkohol dapat menimbulkan keraguan bagi masyarakat muslim di Indonesia. Porrarud and Pranee (2010) telah mengekstraksi klorofil dengan aquades dan mengenkapsulasi dengan pengering semprot. Klorofil dari daun suji diekstraksi dengan *aquadest* yang disertai dengan proses *blanching*. Ekstrak klorofil yang diperoleh kemudian dienkapsulasi menjadi pewarna bubuk yang diharapkan bersifat lebih stabil.

Materi dan Metode

Materi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun suji, NaHCO₃ sebagai bahan penstabil, *aquadest*, maltodekstrin digunakan sebagai bahan pengisi serta bahan-bahan kimia lain yang digunakan dalam prosedur analisa. Sebagai bahan pembanding warna, digunakan bubuk teh hijau "Kabita" dan pewarna pangan sintesis hijau "AmeriColor". Peralatan yang digunakan adalah blender "Vienta Vlb-460", *centrifuge* "EBA 21-Hettich", spektrofotometer UV-Vis "UV Mini 1240 Shimadzu", *rotary vacuum evaporator* "IKA RV 10", *freeze drier* "Heto Powerdry LL 1500", chromameter "Minolta Color Reader CR-400/410", *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* "Shimadzu".

Metode

Penelitian dilaksanakan selama periode Januari–Mei 2016. Tahap penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi klorofil, analisa konsentrasi klorofil (Spektrofotometer), mikroenkapsulasi klorofil dan karakterisasi bubuk klorofil. Karakterisasi bubuk klorofil meliputi kadar air (metode oven), kelarutan (Metode Kainuma), intensitas warna (Chromameter) dan gugus fungsional spesifik (FTIR).

Ekstraksi Klorofil

Daun suji dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, dilanjutkan dengan proses

blanching. Proses *blanching* dilakukan dengan merendam daun suji pada *aquadest* dengan suhu 100°C selama 1 menit. Proses *blanching* bertujuan untuk menghambat kerja enzim klorofilase. Kemudian daun suji ditiriskan dan dipotong-potong dengan ukuran 5-10 mm dan diblender dengan kecepatan medium selama 1 menit. Pada proses ekstraksi klorofil, daun suji dan *aquadest* dengan rasio berat bahan dan *solven* 1:2 dan berbagai konsentrasi penstabil NaHCO₃ (0%, 3% dan 4%) diekstraksi dengan metode maserasi pada suhu ruangan (27°C) selama 3 jam. Kemudian ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan kain kasa.

Analisa Klorofil

Ekstrak klorofil yang didapat dari proses ekstraksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit, kemudian substansi supernatannya diambil. Ekstrak yang telah disentrifugasi kemudian diambil 1 ml untuk diencerkan ke dalam labu takar 10 ml. Konsentrasi klorofil diperoleh dari pengukuran absorbansi ekstrak pada panjang gelombang 663 µm dan 645 µm dengan spektrofotometer UV-Vis. Perhitungan konsentrasi klorofil dilakukan dengan menggunakan persamaan (Zhang *et al.*, 2009):

$$C(\text{mg/L}) = (20,31 \cdot A_{645,0 \text{ nm}} + 8,05 \cdot A_{663,0 \text{ nm}})$$

dimana C merupakan konsentrasi klorofil total (Klorofil *a* dan klorofil *b*) dan $A_{645,0 \text{ nm}}$ dan $A_{663,0 \text{ nm}}$ adalah nilai absorbansi ekstrak klorofil pada panjang gelombang 645,0 nm dan 663,0 nm.

Mikroenkapsulasi Klorofil

Ekstrak klorofil dievaporasi dalam *Rotary Vacuum Evaporator* pada tekanan 0,18 atm dan temperatur 50°C. Proses mikroenkapsulasi dilakukan dengan penambahan maltodekstrin 40% (w/w) Kemudian ekstrak dibekukan pada suhu -35°C selama 24 jam (King *et al.*, 2001). Selanjutnya, dilakukan pengeringan menggunakan *freeze dryer* pada temperatur -100°C tekanan *vacuum* selama ±48 jam (Pérez-Gregorio *et al.*, 2011). Untuk memperoleh klorofil dalam bentuk bubuk, produk hasil pengeringan dihancurkan dengan menggunakan mortar.

Analisa kadar air dengan metode oven

Cawan porselin dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam desikator selama 10 menit, kemudian ditimbang. Sebanyak 3 gram sampel dimasukkan ke dalam cawan dan dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C selama 6 jam. Cawan dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Cawan dimasukkan kembali dalam oven sampai diperoleh bobot yang konstan (AOAC, 1995). Perhitungan kadar air dan total padatan dapat dilihat pada persamaan:

$$\text{Kadar air (\%bb)} = \frac{a - (b - c)}{a} \times 100\%$$

dimana %bb adalah kadar air per bahan basah (%), a merupakan berat sampel sebelum dikeringkan (g), b

adalah berat sampel + cawan kosong setelah dikeringkan (g) dan c adalah berat cawan kosong kering (g).

Analisa kelarutan dengan metode Kainuma

Satu gram bubuk dilarutkan dalam 20 ml aquadest dan dimasukkan ke dalam kuvet. Selanjutnya dilakukan pemanasan hingga suhu 60°C selama 30 menit dan dilakukan pengocokan setiap 5 menit. Setelah pemanasan, kuvet yang berisi pewarna dan aquadest dimasukkan ke dalam *centrifuge* dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, untuk memisahkan *supernatant* dan pasta yang terbentuk. Selanjutnya larutan pewarna dioven sampai kering dengan menggunakan oven pada suhu 105°C (Daramola and Osanyinlusi, 2006). Kemudian, larutan yang telah kering ditimbang beratnya (dalam g) untuk dihitung kelarutannya dengan persamaan:

$$\%Solubility = \frac{m_{\text{cawan+larutan kering}} - m_{\text{cawan kosong}}}{m_{\text{pewarna}}} \times 100\%$$

Analisa Intensitas Warna

Analisa intensitas warna dengan Chromameter berdasarkan sistem warna *Hunter's Lab Colorimetric System*. Sistem notasi warna Hunter dicirikan dengan tiga nilai yaitu L (*Lightness*), a* (*Redness*), dan b* (*Yellowness*). Nilai warna *lightness*, putih = 100, hitam = 0, nilai a*, (+a* = merah, -a* = hijau). Sedangkan nilai b* (+b* = kuning, -b* = biru), C = $((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$ dan $h_o = (\tan^{-1}(b^*/a^*))$. Sebelum digunakan, alat kromameter perlu dikalibrasi menggunakan kalibrasi plat putih (*white calibration plate*). Sampel berupa bubuk sebanyak 25 gram ataupun larutan sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam wadah bening yang diusahakan rata dan tidak terlalu tebal. Kemudian mata cahaya kromameter ditempelkan sedekat mungkin dengan sampel dan disinari. Pembacaan *L, *a dan *b dilakukan sebanyak 5 kali untuk setiap sampelnya (Caliskan and Dirim, 2016).

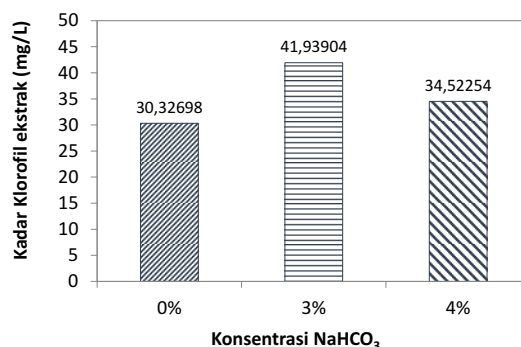
Hasil dan Pembahasan

Penambahan NaHCO₃ terhadap Konsentrasi Klorofil

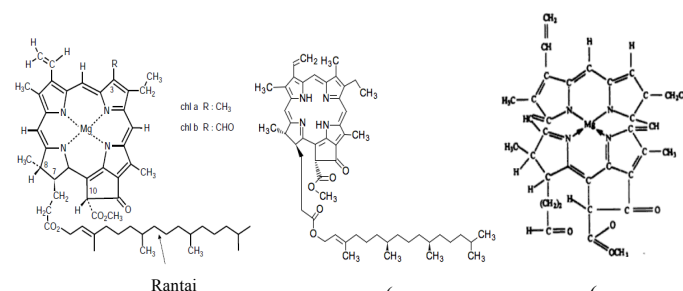
Zat warna klorofil memiliki beberapa faktor yang mempengaruhi kestabilan seperti pH, pengaruh solvent, intensitas cahaya, enzim, oksidator, dan suhu yang digunakan (Vila *et al.*, 2015). Degradasi kimia yang utama yang terjadi pada klorofil adalah feofinitasi, epimerisasi, dan pirolisis, serta dengan hidrosilasi, oksidasi atau fotooksidasi, jika ada pengaruh sinar (Koca *et al.*, 2006). Dalam penelitian ini digunakan NaHCO₃ sebagai bahan penstabil dan merupakan bahan yang umum digunakan sebagai bahan tambahan pada makanan. Figur 1 menunjukkan hasil uji konsentrasi klorofil pada berbagai penambahan zat penstabil NaHCO₃.

Hasil uji konsentrasi klorofil tersebut menunjukkan bahwa penambahan NaHCO₃ dapat meningkatkan konsentrasi klorofil yang dihasilkan. Larutan NaHCO₃ merupakan garam yang bersifat basa. Zat yang bersifat alkali seperti NaHCO₃ telah digunakan

dalam proses blanching pada sayuran hijau untuk meningkatkan pH dan mempertahankan klorofil setelah proses (Srilakshmi, 2003; Koca *et al.*, 2006). Reaksi feofinitasi menjadi feofitin (struktur pada Figur 2) menyebabkan perubahan warna hijau yang drastis. Reaksi ini merupakan penggantian ion Magnesium dengan 2 proton membentuk feofitin. Kecepatan reaksi feofinitasi mempunyai korelasi dengan keasaman dari lingkungannya dan tidak mudah terjadi pada pH lebih dari 7 (Galaffu *et al.*, 2015). Reaksi feofinitasi pada klorofil merupakan reaksi orde 1 dan perubahan warna akan dipercepat dengan penurunan pH (Gunawan and Barringer, 2000).



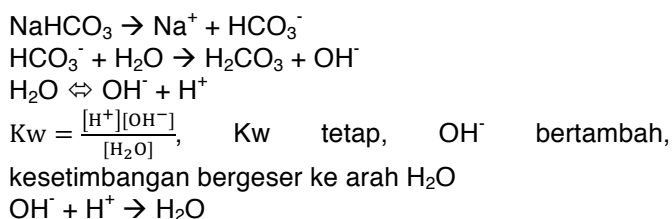
Figur 1. Pengaruh Penambahan NaHCO₃ terhadap Konsentrasi klorofil Ekstrak Daun Suji



Figur 2. Struktur: (a) Klorofil (b) Feofitin a dan (c) Klorofilin (Srilakshmi, 2003)

Menurut Srilakshmi (2003), NaHCO₃ akan bereaksi dengan klorofil dimana gugus phytol dan metil pada klorofil akan digantikan dan terbentuk klorofilin yang bersifat larut dalam air. Figur 2. Menunjukkan struktur klorofil dan struktur dari klorofilin. Selain itu NaHCO₃ akan terdisosiasi dalam air menghasilkan ion HCO₃⁻ yang merupakan asam lemah. Ion HCO₃⁻ ini akan terhidrolisa membentuk ion OH⁻. Adanya ion OH⁻ didalam larutan dapat menggeser keseimbangan kimia reaksi bolak-balik H₂O menjadi OH⁻ dan H⁺. Nilai tetapan kesetimbangan air (Kw) akan tetap, maka jika dalam larutan jumlah ion OH⁻ meningkat maka jumlah ion H⁺ akan semakin menurun karena keseimbangan telah bergeser ke arah H₂O. Pencegahan reaksi feofinitasi dalam ekstrak klorofil dapat dilakukan dengan pengurangan jumlah konsentrasi H⁺ dalam larutan. Larutan ekstrak dari jaringan tumbuhan secara alami bersifat asam walaupun hanya asam lemah sehingga mengandung ion-ion H⁺ yang bebas. Keasaman dari ekstrak ini akan terus bertambah seiring bertambahnya

waktu (Erniani *et al.*, 2012). Keseluruhan proses yang terjadi dapat digambarkan sebagai berikut:



Pada penelitian ini, penambahan NaHCO_3 sebanyak 3% merupakan titik optimum penambahan, karena pada semua variabel perbandingan *solvent*, penambahan sebanyak 3% menghasilkan konsentrasi klorofil terbesar dibandingkan penambahan 4% dan 5%.

Analisa Kestabilan Klorofil

Hasil pengujian stabilitas klorofil terhadap waktu penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1. Bertambahnya waktu penyimpanan akan menurunkan konsentrasi klorofil dalam ekstrak. Hal ini terjadi disebabkan karena klorofil merupakan senyawa yang sangat mudah berubah (terdegradasi) menjadi turunannya setelah adanya pemrosesan. Degradasi klorofil sebenarnya berjalan hingga produk menjadi tidak berwarna (Yilmaz and Gökmen, 2016) dan dimulai dengan berubahnya warna hijau menjadi warna kekuningan sedikit demi sedikit. Mekanisme reaksi degradasi klorofil pada tumbuhan terjadi karena adanya enzim *Magnesium dechelatase* dan enzim *chlorophyllase*, yang akan mengkatalisis hidrolisis ikatan ester antara residu asam propionat pada cincin makrosiklik dengan fitol pada klorofil, sehingga menyebabkan hilangnya ion Mg^{2+} . Secara umum reaksi degradasi klorofil berlangsung melalui dua jalur. Jalur reaksi yang pertama merupakan perubahan klorofil *a* menjadi Klorofilida *a* dengan adanya enzim *chlorophyllase*. Sedangkan jalur reaksi kedua terjadi karena adanya proses enzim *Magnesium dechelatase* yang mengubah klorofil *a* menjadi feofitin *a*. Kedua jalur

reaksi ini akan menghasilkan feoforbida *a*, yang terbentuk karena *chlorophyllase* feofitin *a* atau *Magnesium dechelatase* dari klorofida *a*. Selanjutnya feoforbida *a* akan mengalami reaksi dioksigenase menjadi senyawa fluoresen dan *Rusty Pigmen 14* yang tidak berwarna (Heaton and Marangoni, 1996).

Karakterisasi Pewarna Klorofil

Tabel 2 menunjukkan analisa intensitas warna produk klorofil (bubuk dan ekstrak) yang dihasilkan serta beberapa produk pembanding yang sering digunakan dalam industri pangan yaitu pewarna cair sintesis, bubuk teh hijau dan bubuk pewarna pangan sintesis.

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa pewarna klorofil bubuk mempunyai kecenderungan berwarna hijau yang lebih terang dibandingkan dengan pewarna bubuk sintesis dan bubuk teh hijau. Mikroenkapsulasi Zn-klorofil dari daun pandan dengan bahan pengisi Maltodekstrin menunjukkan nilai $L^* 66,71 \pm 4,84$, nilai a^* sebesar $-8,37 \pm 1,31$ dan nilai b^* sebesar $15,73 \pm 1,34$ (Porrarud and Pranee, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa nilai intensitas warna L^* produk klorofil dari daun suji mempunyai nilai yang hampir sama dengan mikroenkapsulasi Zn-klorofil dari daun pandan. Klorofil merupakan pigmen hijau yang cenderung gelap karenanya hasil pengukuran tingkat kecerahan akan berbanding terbalik dengan intensitas warna klorofil (Putri *et al.*, 2012). Tingkat *lightness* (L^*) dari *powder* klorofil menunjukkan nilai yang paling tinggi dibandingkan dengan larutan ekstrak, ataupun hasil pengencerannya dalam air. *Powder* klorofil yang merupakan hasil dari proses enkapsulasi dengan maltodekstrin dan proses pengeringan dengan *freeze drying* menunjukkan peningkatan nilai L^* . Hal ini dapat terjadi karena klorofil telah terenkapsulasi di dalam maltodekstrin, sementara maltodekstrin sendiri berwarna putih dengan nilai intensitas warna $L^*=98,18 \pm 0,15$; $a^* = -0,185 \pm 0,05$ dan $b^* = 2,91 \pm 0,15$ (Caliskan and Dirim, 2016). Proses enkapsulasi dapat melindungi material inti dengan melapisi bagian luarnya, sehingga akan mencegah paparan kondisi

Tabel 1. Uji Kestabilan Klorofil dengan dan Tanpa Penggunaan NaHCO_3

Hari ke	Konsentrasi Klorofil		
	Tanpa Penstabil (0% NaHCO_3)	3% NaHCO_3	4% NaHCO_3
0	30,33	41,94	34,52
7	5,51	15,39	12,11
14	3,23	13,03	7,43

Tabel 2. Analisa Intensitas Warna Berbagai Produk Klorofil dan Pewarna Sintesis

Jenis pewarna	Intensitas warna		
	L^*	a^*	b^*
Bubuk klorofil	72,454	-12,222	26,494
Enceran bubuk klorofil (10% w/v)	38,07	-11,41	24,012
Larutan ekstrak	31,002	-6,982	8,416
Pewarna Cair sintesis	24,217	0,170	0,193
Bubuk Teh hijau	61,780	-5,697	24,303
Bubuk pewarna pangan sintesis	53,34	-22,00	6,653
Enceran bubuk pewarna sintesis (10% w/v)	29,17	-8,94	6,65

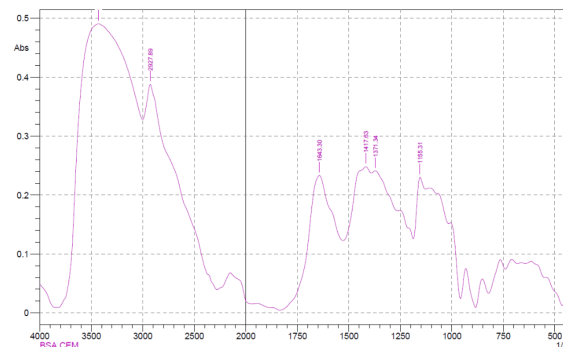
lingkungan yang kurang menguntungkan (Saikia *et al.*, 2015). Nilai L^* yang menandakan kecerahan bahan akan kembali turun dengan dilarutkannya kembali klorofil *powder* dalam air, pelarutan dengan presentase 10% w/v akan menurunkan nilai L^* hingga mendekati nilai L^* pada ekstrak klorofil cair. Maltodekstrin yang berperan sebagai *encapsulating agent* memiliki sifat larut dalam air, kelarutannya lebih besar dari 75% (Santiago-Adame *et al.*, 2015). Sehingga ketika *powder* klorofil dilarutkan dalam air klorofil akan keluar dari inti *powder* dan melarut kedalam air.

Pengujian warna yang kedua adalah berdasarkan intensitas kehijauan dan kekuningan Nilai a^* mengindikasikan warna hijau hingga merah, notasi negatif pada hasil analisa a^* menunjukkan bahwa, sampel yang diuji memiliki kecenderungan warna hijau. Klorofil dalam bentuk *powder* menunjukkan nilai a^* yang paling besar dibandingkan dengan bubuk teh hijau, klorofil dalam bentuk ekstrak ataupun enceran. Menurut Saikia *et al.* (2015) proses enkapsulasi dengan metode *freeze drying* akan memberikan hasil *powder* yang homogen, halus dan persebaran klorofil yang baik di seluruh bagian *encapsulating agent*.

Namun analisa intensitas warna berdasarkan nilai b^* menunjukkan hasil yang sebaliknya. Ketiga bentuk ekstrak klorofil memiliki nilai b^* yang positif dimana notasi ini dapat diartikan bahwa intensitas warna bahan cenderung berwarna kuning bukan biru. Klorofil dalam bentuk bubuk memiliki nilai b^* yang paling tinggi, yang artinya dalam bentuk ini warnanya paling kekuningan. Dalam proses pembuatan *powder* klorofil dengan *freeze drying* terlebih dahulu ekstrak di evaporasi dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu $50 \pm 5^\circ\text{C}$, selama 3 jam. Klorofil merupakan senyawa yang sangat sensitif, klorofil akan sangat mudah terdegradasi pada paparan suhu tinggi dan cahaya, sehingga akan mengubah warnanya menjadi kekuningan (Du *et al.*, 2014).

Karakteristik pewarna bubuk yang meliputi kadar air dan kelarutan dapat dilihat pada Tabel 3. Tabel 3 menunjukkan bahwa pewarna bubuk klorofil mempunyai kadar air yang masih cukup tinggi ($> 10\%$), sedangkan kadar air pewarna bubuk sintesis mempunyai kadar kurang dari 10%. Umumnya, *freeze drying* akan menghasilkan produk dengan kadar air yang lebih besar dibandingkan dengan produk dengan *spray drying* (Fang and Bhandari, 2012). Mikroenkapsulasi Zn-Klorofil dari daun pandan dengan *spray drying* menghasilkan kadar air 8,45-9,43% (Porrarud and Pranee, 2010). Namun demikian, beberapa produk dengan *freeze drying* mempunyai kadar air yang cukup rendah seperti bubuk antosianin dari beras ketan hitam mempunyai kadar air 3-8,73%

(Laokuldilok and Kanha, 2015) dan ekstrak antosianin dari saffron, 1,88-3,13% (Jafari *et al.*, 2016). Selain itu, bubuk kimchi dengan *freeze drying* menghasilkan produk dengan kadar air 7,86-8,77%, sementara dengan *hot spray drying* menghasilkan produk dengan kadar air 9,95-10,82% (Park *et al.*, 2016).



Figur 3. Spektrum FTIR Bubuk Klorofil Daun Suji

Analisa kelarutan merupakan salah satu parameter yang perlu dilakukan untuk mengetahui kualitas dari pewarna makanan. Semakin tinggi persen kelarutannya maka, semakin baik kemampuan pewarnaannya pada makanan. Produk bubuk klorofil dari daun suji mempunyai nilai kelarutan yang mendekati pewarna bubuk sintesis. Penambahan maltodekstrin akan memberikan kelarutan produk terhadap air yang semakin tinggi karena adanya peningkatan kadar air pada lapisan *monolayer* sehingga kelarutannya juga lebih tinggi (Canuto *et al.*, 2014). Selain itu, penambahan maltodekstrin akan menurunkan karakteristik higroskopis dari produk padatan yang dihasilkan sehingga produk yang dihasilkan akan lebih stabil (Mosquera *et al.*, 2010). Mikroenkapsulasi dengan *freeze drier* akan menghasilkan produk yang lebih mudah larut dalam air karena mempunyai luas permukaan spesifik yang tinggi (struktur porous) dan sangat beragam ukurannya (Fang and Bhandari, 2012).

Analisa Gugus Fungsional Spesifik

Figur 3 menunjukkan karakteristik spektrum FTIR dari bubuk klorofil daun suji. Berdasarkan Figur 3 dapat dilihat adanya puncak absorbansi pada beberapa panjang gelombang tertentu. Puncak absorbansi pada $2927,89\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi C-H, dimana vibrasi C-H akan muncul pada daerah puncak pada 2916 atau 2927 cm^{-1} (Ahmed *et al.*, 2015; Dikio and Isabirye, 2008). Pada puncak sekitar 1350 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C-N pada cincin tetrapirole, namun pada hasil ini munculnya puncak pada $1371,34\text{ cm}^{-1}$ sebagaimana penelitian dari Dikio and Isabirye (2008), yang muncul pada 1370 cm^{-1} . Sedangkan pada

Tabel 3. Karakteristik Pewarna Bubuk Klorofil

	Kelarutan (%)	Kadar Air (%)
Pewarna bubuk klorofil	96,15	11,29
Pewarna bubuk sintesis	97	7,33

1242 cm^{-1} muncul vibrasi C-O. Spesifikasi dari gugus klorofil ditandai dengan adanya cincin vibrasi oksigen ketone dimana hidrogen yang terikat dengan air berkoordinasi dengan atom pusat Magnesium dari klorofil. Kondisi ini akan memunculkan hidrogen terikat pada karbonil ester dengan puncak pada 3431,31 cm^{-1} (Konwar and Baruah, 2011). Agregat klorofil-air akan menghasilkan puncak pada 1643,30 cm^{-1} (Konwar and Baruah, 2011). Selain itu puncak 1643,30 cm^{-1} juga dapat sebagai indikasi adanya koordinasi Oksigen keton dengan Magnesium (Dikio and Isabirye, 2008). Deformasi gugus alkil C-H *anti-symmetric* dan *symetric* muncul pada 1417 cm^{-1} (Dikio and Isabirye, 2008). Sedangkan puncak pada 1155 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=N (Konwar and Baruah, 2011).

Kesimpulan

Ekstraksi klorofil dari daun suji telah dilakukan dengan ekstraksi maserasi dengan *solvent* aquadest serta penambahan bahan penstabil NaHCO_3 . Ekstrak cair klorofil yang dihasilkan mempunyai kadar klorofil sebesar 30,33 mg/L – 41,94 mg/L. Konsentrasi klorofil tertinggi diperoleh pada penggunaan penstabil 3%. Enkapsulasi klorofil dengan bahan pengisi maltodekstrin dan *freeze drier* menghasilkan klorofil bubuk dengan kelarutan 96,15%, kadar air 11,29% dan nilai intensitas warna L^* , a^* dan b^* sebesar 72,454, -12,222 dan 26,494. Analisa gugus fungsional spesifik dari bubuk klorofil yang diperoleh dari daun suji menggambarkan adanya puncak-puncak spesifik dari karakteristik struktur kimia klorofil. Penelitian ini menunjukkan bahwa klorofil dapat diekstraksi dengan menggunakan *solvent* non-alkohol. Namun demikian, klorofil mudah mengalami degradasi sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk meminimalisir degradasi klorofil.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Teknik Universitas Diponegoro yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Penelitian Dasar Tahun 2016.

Daftar Pustaka

Ahmed, Jaleel Kareem, Zuhair J. Abdul Amer, and Maha Jasim Mohammed Al-Bahate. 2015. Effect of Chlorophyll and Anthocyanin on The Secondary Bonds of Poly Vinyl Chloride (PVC), *International Journal of Materials Science and Applications*, 4(2-1), 21-29.

Caliskan, Gulsah, and S. Nur Dirim. 2016. The Effect of Different Drying Processes and the Amounts of Maltodextrin Addition on the Powder Properties of Sumac Extract Powders, *Journal of Powder Technology*, 287, 308-314.

Canuto, Canuto, Holivania Maria Pereira, Marcos Rodrigues Amorim Afonso, and José Maria Correia da Costa. 2014. Hygroscopic Behavior of Freeze-dried Papaya Pulp Powder with Maltodextrin, *Acta Scientiarum Technology Maringá*, 36(1), 179-185.

Comunian, Talita, A. Edneli. S. Monterrey-Quintero, Marcelo Thomazini, Julio C. C. Balieiro, Pierpaolo Piccone, Paola Pittia, and Carmen S. Favaro-Trindade. 2011. Assessment of Production Efficiency, Physicochemical Properties and Storage Stability of Spray-Dried Chlorophyllide, a Natural Food Colourant, using Gum Arabic, Maltodextrin and Soy Protein Isolate-Based Carrier Systems, *International Journal of Food Science Technology*, 46, 1259-1265.

Daramola, B., and S.A. Osanyinlusi. 2006. Investigation on Modification of Cassava Starch using Active Components of Ginger Roots (*Zingiber officinale Roscoe*), *African Journal of Biotechnology*, 5(10), 917-920.

Dikio, E. D., and D.A. Isabirye. 2008. Isolation of Chlorophyll a from Spinach Leaves, *Bulletin Chemical Society Ethiopia*, 22(2), 301-304.

Du, Lina, Xiaotang Yang, Jun Song, Zhuangzhuang Ma, Zhaoqi Zhang, and Xuequn 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.

El-Mouhty, Nadia, R. A., and Ashraf Yehia El-Naggar. 2014. Extraction of Chlorophyll and Carotene from Irradiated Parsley, *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 3(1), 8522-8527.

Erniani, Yaya, Agus Supriadi, dan Rinto. 2012. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Klorofil dan Senyawa Fitokimia Daun Kiambang (*Salvinia molesta Mitchel*) dari Perairan Rawa, *Journal of Fishtech*, 1(01), 1-13.

Fang, Z., and B. Bhandari. 2012. Spray drying, Freeze Drying and Related Processes for Food Ingredient and Nutraceutical Encapsulation in Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals, editor: N. Garti and D. J. McClements, Woodhead Publishing, Oxford, 73-109.

Galaffu, N., K. Bortlik, and M. Michel. 2015. An Industry Perspective on Natural Food Colour Stability in Colour Additives for Foods and Beverages, editor: M. Scotter, 1st ed., Wood Publishing, Cambridge, 91-130.

Gunawan, Maria I., and Sheryl A. Barringer. 2000. Green Colour Degradation of Blanched Broccoli (*Brassica oleracea*) due to Acid and Microbial Growth, *Journal of Food Processing and Preservation*, 24, 253-263.

Heaton, James W., and Alejandro G. Marangoni. 1996. Chlorophyll Degradation in Processed Foods and Senescent Plant Tissues, *Journal of Trends in Food Science and Technology*, VII, 8-15.

Hosikian, Aris, Su Lim, Ronald Halim, and Michael K. Danquah. 2010. Review Article Chlorophyll Extraction from Microalgae: A Review on the Process Engineering Aspects, *International Journal of Chemical Engineering*, 2010, 1-11.

- Hu, Xueyun, Ayumi Tanaka, and Ryouichi Tanaka. 2013. Simple Extraction Methods that Prevent the Artifactual Conversion of Chlorophyll to Chlorophyllide during Pigment Isolation from Leaf Samples, *Plant Methods*, 9, 19-31.
- Jafaria, Seid-Mahdi, Katayoun Mahdavi-Khazaei, and Abbas Hemmati-Kakhki. 2016. Microencapsulation of Saffron Petal Anthocyanins with Cress Seedgum Compared with Arabic Gum through Freeze Drying, *Carbohydrate Polymers* 140, 20–25.
- Kendrick, A. 2012. Natural food and Beverage Colourings in Natural Food Additives, Ingredients and Flavours, editor D. Baines and R. Seal, 1st ed., Woodhead Publishing, Cambridge, 25-40.
- King, V. An-Erl, Chia-Fang Liu, and Yi-Jing Liu. 2001. Chlorophyll Stability in Spinach Dehydrated by Freeze-Drying and Controlled Low-Temperature Vacuum Dehydration, *Food Research International*, 34, 167-175.
- Koca, Nuray, Feryal Karadeniz, and Hande Selen Burdurlu. 2006. Effect of pH on Chlorophyll Degradation and Colour Loss in Blanched Green Peas, *Food Chemistry*, 100, 609–615.
- Kong, Weibao, Na Liu, Ji Zhang, Qi Yang, Shaofeng Hua, Hao Song, and Chungu Xia. 2014. Optimization of Ultrasound-assisted Extraction Parameters of Chlorophyll from *Chlorella vulgaris* Residue after Lipid Separation using Response Surface Methodology, *Journal of Food Science Technology*, 51(9), 2006–2013.
- Konwar, Mitali, and G. D. Baruah. 2011. On The Nature of Vibrational Bands in the FTIR Spectra of Medicinal Plant Leaves, *Archives of Applied Science Research*, 3(1), 214-221.
- Laokuldilok, Thunnop, and Nattapong Kanha. 2015. Effects of Processing Conditions on Powder Properties of Black Glutinous Rice (*Oryza sativa* L.) Bran Anthocyanins Produced by Spray Drying and Freeze Drying, *LWT - Food Science and Technology*, 64, 405-411.
- Młodzińska, Ewa. 2009. Survey of Plant Pigments: Molecular and Environmental Determinants of Plant Colors, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 51(1), 7-16.
- Mosquera, L. H., G. Moraga, and N. Martínez-Navarrete. 2010. Effect of Maltodextrin on the Stability of Freeze-Dried Borojó (*Borojoa patinoi Cuatrec*) Powder, *Journal of Food Engineering*, 97, 72–78.
- Park, Hyeon-Jin, Yongjae Lee, and Jong-Bang Eun. 2016. Physicochemical Characteristics of Kimchi Powder Manufactured by Hot Air Drying and Freeze Drying, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 193–198.
- Pérez-Gregorio, M.R., J. Regueiro, C. González-Barreiro, R. Rial-Otero, and J. Simal-Gándara. 2011. Changes in Antioxidant Flavonoids During Freeze-Drying of Red Onions and Subsequent Storage, *Journal of Food Control*, 22(7), 1108–1113.
- Porrarud, S., and A. Pranee. 2010. Microencapsulation of Zn-chlorophyll Pigment from Pandan Leaf by Spray Drying and its Characteristic, *International Food Research Journal*, 17, 1031-1042.
- Prangdimurti, Endang, Deddy Muchtadi, Made Astawan, dan Fransiska R. Zakaria. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Suji (*Pleomele Angustifolia N.E. Brown*), *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 17(2), 79-86.
- Putri, Widya Dwi Rukmi, Elok Zubaidah, dan N. Sholahudin. 2012. Ekstraksi Pewarna Alami Daun Suji, Kajian Pengaruh Blanching dan Jenis Bahan Pengekstrak, *Jurnal Teknologi Pertanian*, 4(1), 13 - 24.
- Saikia, Sangeeta, Nikhil Kumar Mahnot, and Charu Lata Mahanta. 2015. Optimisation of Phenolic Extraction from *Averrhoa carambola Pomace* by Response Surface Methodology and Its Microencapsulation by Spray and Freeze Drying, *Journal of Food Chemistry*, 171, 144-152.
- Santiago-Adame, R., L Medina-Torres, J.A. Gallegos-Infante, F. Calderas, R.F. Gonzalez-Laredo, N.E Rocha-Guzman, L.A. Ochoa-Martinez, and M.J. Bernad-Bernad. 2015. Spray Drying-Microencapsulation of Cinnamon Infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with Maltodextrin. *LWT-Food Science and Technology*, 64, 571-577.
- Srilakshmi, B., (2003), *Food Science*, 3rd ed., New Age International, New Delhi, pp.171-211.
- Tama, Janur Bisma, Sri Kumalaningsih, dan Arie Febrianto Mulyadi. 2014. Studi Pembuatan Bubuk Pewarna Alami dari Daun Suji (*Pleomele Angustifolia N.E.BR.*) Kajian Konsentrasi Maltodekstrin dan MgCO₃, *Jurnal Industri*, 3(1), 73 - 82.
- Vila, Marta M.D.C., Marco V. Chaud, and Victor M. Balcão. 2015. Microencapsulation of Natural Anti-Oxidant Pigments in Microencapsulation and Microspheres for Food Applications, editor L. M. C. Sagis, Academic Press, London, 369-390.
- Yilmaz, C., and V. Gökmen. 2016. Chlorophyll in *Encyclopedia of Food and Health* Volume 2, editor B. Caballero, P. M. Finglas and F. Toldrá, 1st ed., Academic Press, Oxford, 37-41.
- Yuniwati, Murni, Ari Wijaya Kusuma, dan Fajar Yunanto. 2012. Optimasi Kondisi Proses Ekstraksi Zat Pewarna dalam Daun Suji dengan Pelarut Etanol, *Prosiding Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi (SNAST)*, ISSN : 1979-911X, A257-A263.
- Zhang, Jinheng, Chao Han, and Zhiheng Liu. 2009. Absorption Spectrum Estimating Rice Chlorophyll Concentration: Preliminary Investigations, *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(5), 223-229