



Ekstraksi Klorofilid dari Daun Suji dan Aplikasinya sebagai Fotosensitizer dalam Fotoreduksi Fe(III)

Mursalina Mulyasari ✉, Samuel Budi Wardhana Kusuma, dan Triastuti Sulistyaningsih

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima: Juni 2017

Disetujui: Juli 2017

Dipublikasikan: Agustus
2017

Keywords:

chlorophyllide
suji leafes
photoreductio
Fe(III)

Abstrak

Telah dilakukan penelitian ekstraksi klorofilid dari daun suji yang diaplikasikan sebagai fotosensitizer dalam fotoreduksi Fe(III). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktifitas fotosensitizer klorofilid terhadap fotoreduksi Fe(III). Ekstraksi klorofilid dilakukan menggunakan cara maserasi yaitu merendam daun suji dalam campuran pelarut aseton 80% dan polioksietilen sorbitan monoleat 1% pada temperatur 40°C selama 2 jam. Karakterisasi ekstrak klorofilid menggunakan spektrofotometer ultraviolet-visible (UV-Vis) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Uji aktivitas fotosensitizer klorofilid terhadap fotoreduksi Fe(III) dilakukan dengan mengkomplekskan sampel menjadi $[\text{Fe}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ yang berwarna jingga. Hasil penelitian diperoleh kadar klorofilid yang terbentuk dari ekstrak daun suji sebesar 60,86 ppm yang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil aktivitas fotoreduksi ion Fe(III) menunjukkan bahwa klorofilid bersifat reduktor dan mencapai maksimal pada pH 6 selama 10 menit dengan penambahan 0,2 mL klorofilid. Persentase ion Fe(III) tereduksi sebesar 57,56%.

Abstract

This research is the extraction chlorophyllide suji leaf applied as a photosensitizer in photoreduction Fe(III). The purpose of this study was to determine the activity of photosensitizers chlorophyllide against photoreduction Fe(III). Extraction chlorophyllide is using maceration suji leaves soak in a mixture of acetone 80% and polyoxyethylene sorbitan monoleat 1% at 40°C temperature for 2 hours. The characterization chlorophyllide extract using spectrophotometer ultraviolet-visible (UV-Vis) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Photosensitizer chlorophyllide activity test against photoreduction Fe(III) conducted with a sample formed to do with the complexed sample into $[\text{Fe}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ be orange. The results were obtained chlorophyllide levels are formed from suji leaf extract amounted to 60.86 ppm measured using UV-Vis spectrophotometry. The results of the activity of ion photoreduction Fe (III) show that chlorophyllide is a reductant and reaches a maximum at pH 6 for 10 minutes with the addition of 0.2 mL klorofilid. Percentage ion Fe (III) reduced by 57.56%.

© 2017 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: mursalinam@gmail.com

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

Pendahuluan

Indonesia mempunyai ketersediaan sumber-sumber klorofil yang sangat melimpah dan penyinaran matahari yang diterima oleh permukaan bumi yang lebih dari enam jam sehari atau sekitar 2.400 jam dalam setahun dengan intensitas mencapai 3.10^{24} joule (Arrohmah; 2007). Serta lebih dari 200.000 jenis tumbuhan yang tersebar di seluruh Indonesia. Daun suji merupakan salah satu tanaman yang tinggi kandungan klorofil yaitu 3773,9 ppm (Prangdimurti; 2006). Salah satu turunan klorofil adalah klorofilid. Klorofilid peka terhadap cahaya tampak dan bersifat reduktor yaitu mudah dalam melepas elektron sehingga dapat digunakan sebagai fotosensitizer. Fotosensitizer adalah suatu substansi yang dapat menyerap energi cahaya dan mentransfer kelebihan energinya ke oksigen triplet untuk membentuk oksigen singlet dan kemudian akan bereaksi secara langsung dengan senyawa yang kaya elektron (Suryanto; 2008).

Salah satu cemaran logam berat esensial adalah besi. Logam besi dalam konsentrasi lebih dari 1 ppm bersifat toksik. Limbah yang mengandung besi pada umumnya berasal dari limbah industri maupun limbah rumah tangga. Unsur besi adalah unsur hara mikro yang harus tersedia di tanah dan sangat esensial untuk tanaman. Senyawa organik dapat membentuk ikatan dengan senyawa logam yang disebut khelat (Macchia; 2006). Defisiensi besi akan menimbulkan gejala klorosis pada daun tanaman yaitu daun akan berwarna kuning terang dan terlihat pada daun muda serta berpengaruh pada urat daun. Tanaman mengambil besi dari alam dalam bentuk Fe(II). Tetapi ketersediaan besi di alam dalam bentuk ion Fe(III), karena itu ion Fe(III) harus direduksi terlebih dahulu menjadi Fe(II) agar dapat diserap oleh tanaman (Rorong; 2014). Oleh karena itu, peneliti mengangkat judul “Ekstraksi Klorofilid dari Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) dan Aplikasinya sebagai Fotoreduksi pada Ion Fe(III)”. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktifitas optimum klorofilid dari daun suji sebagai fotosensitizer dalam fotoreduksi ion Fe(III) menjadi Fe(II) secara spektrofotometri.

Metode

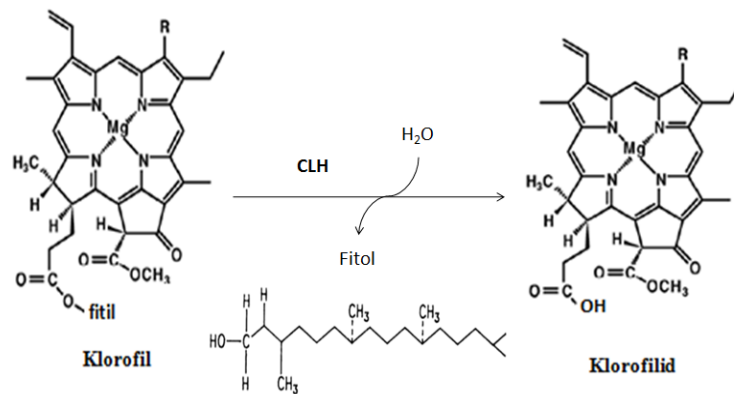
Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain daun suji diambil di sekitar kampus FMIPA Unnes, aseton, polioksietilen sorbitan monoleat, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2,2 bipiridin, KCNS, HNO_3 , HCL, NaOH, petroleum eter dengan *grade pro analyst* buatan Merck dan aqua demim. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator (*Memmert*), neraca analitik (*Denver instrument*), *aluminium foil*, *sentrifuge*, pH universal, dan peralatan analisis meliputi spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV mini 1240* di Laboratorium Kimia Fisik Unnes) dan HPLC (*Shimadzu*).

Cara kerja penelitian ini menggunakan metode dari Milenkovic (2012) yang telah dimodifikasi. Ekstraksi klorofilid dari daun suji dilakukan dengan mencuci 5 g daun suji sampai bersih. Daun suji digrinder sampai halus. Daun suji yang sudah halus dimasukkan dalam beaker dan ditambahkan 1 ml polioksietilen sorbitan monoleat 1% dan 50 ml aseton 80% (1:10 b/v, pH 8). Ekstraksi dilakukan dalam inkubator pada temperatur 40°C selama 2 jam. Campuran disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dipisahkan menggunakan sentrifuge pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Analisis kadar klorofilid dapat dilakukan mengikuti prinsip Gross (1991) dalam Prangdimurti (2006). Karakterisasi ekstrak klorofilid dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengatur absorbansi pada sinar tampak dan HPLC untuk pemisahan pigmen klorofil dan turunannya.

Aplikasi hasil penelitian ini digunakan sebagai fotosensitizer dalam fotoreduksi ion Fe(III). Dicari pH larutan, lama penyinaran, dan konsentrasi optimum fotosensitizer klorofilid yang dapat meningkatkan fotoreduksi Fe(III) menggunakan sinar matahari. Untuk penetapan Fe(III) tereduksi dilakukan menggunakan spektrometer UV-Vis. Sampel setelah mendapat perlakuan kemudian ditambahkan 0,5 ml 2,2 bipiridin 0,07% dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil dan Pembahasan

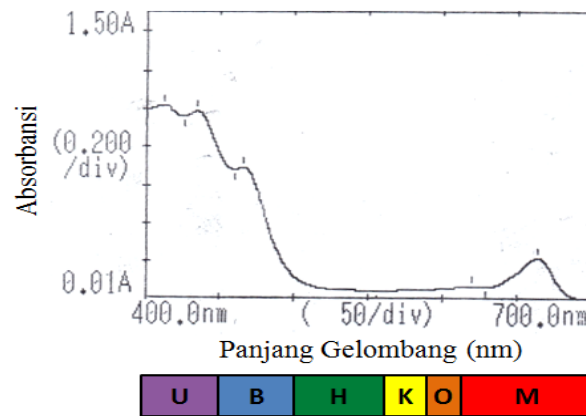
Dalam penelitian ini ekstraksi daun suji menggunakan metode maserasi. Sampel yang digunakan adalah daun suji yang terletak pada baris ke tujuh sampai ke sepuluh dari pucuk daun. Hal itu karena pada urutan itu daun mengandung klorofil yang tinggi. Kandungan klorofil yang tinggi pada daun dapat dilihat dari warna daun yang hijau tua. Sampel yang diperoleh dimaserasi dengan campuran pelarut aseton 80% dan Polioksietilen sorbitan monoleat 1%. Maserasi dilakukan di dalam inkubator pada temperatur 40°C selama 2 jam pada pH 8. Gross (1991) menyatakan pelarut tersebut digunakan karena pelarut murni yang tidak diencerkan dapat menghalangi aktifitas enzim klorofilase (CLH). Prangdimurti (2006) menyatakan bahwa Polioksietilen sorbitan monoleat 1% dapat membantu klorofil lipofil teremulsi di dalam air dan mempermudah kontak dengan CLH dan mencegah terbentuknya feofitin selama proses ekstraksi. Reaksi pembentukan klorofil dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi pembentukan klorofilid (Hu, 2013)

CLH dipengaruhi oleh temperatur dan konsentrasi dari pelarut yang digunakan. CLH bekerja menghidrolisis gugus fitil ($C_{20}H_{39}O$) menjadi fitol ($C_{20}H_{39}OH$) pada struktur klorofil sehingga mengubahnya menjadi klorofilid (Prangdimurti; 2006). Gugus fitil pada klorofil bersifat lipofil dan tidak larut dalam air. Terputusnya gugus fitil tersebut menyebabkan klorofil menjadi klorofilid yang bersifat hidrofil atau larut dalam air. Hal tersebut menyebabkan klorofilid lebih stabil dan tidak mudah terdegradasi menjadi feoforbid karena air dapat berfungsi sebagai lapisan pelindung senyawa pigmen dari proses degradasi dan mencegah dari efek fitokimia. Untuk memisahkan klorofilid dan klorofil dapat dilakukan dengan menggunakan petroleum eter dan aseton. Campuran setelah disentrifugasi yang akan menghasilkan dua lapisan. Lapisan atas bersifat polar yaitu lapisan Petroleum eter yang mengandung klorofil, sedangkan lapisan bawah adalah lapisan Aseton yang mengandung klorofilid. Lapisan Aseton diukur absorbansinya pada panjang gelombang 652 nm dan diperoleh kadar klorofilid sebesar 60,86 ppm.

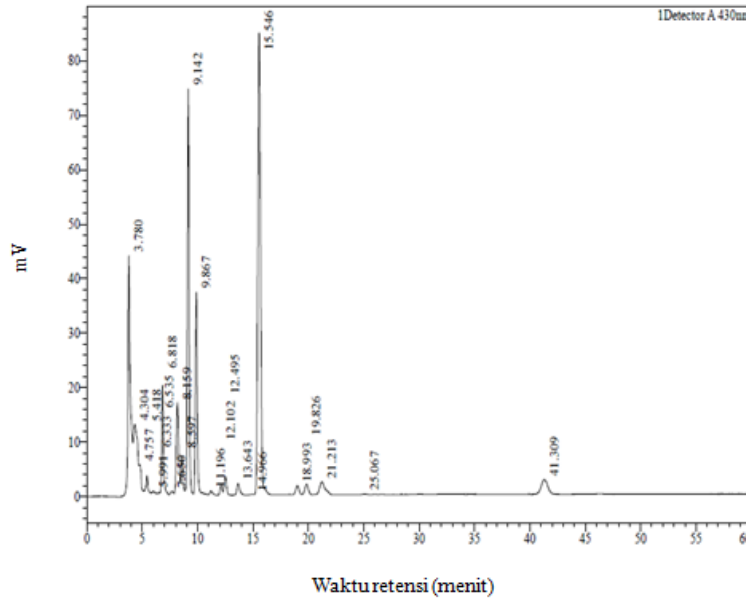
Setiap pigmen dari daun dapat dibedakan berdasarkan spektrum absorbansinya dari panjang gelombang yang diserapnya yang diukur menggunakan spektrofotometer. Gambar 2 menunjukkan absorbansi ekstrak daun suji yang diukur pada panjang gelombang dengan rentang 400-700 nm dalam pelarut aseton 80%.



Gambar 2. Spektrum absorbansi (UV-Vis) larutan klorofilid dari daun suji

Milenkovic (2012), mengungkapkan bahwa absorbansi klorofilid dari daun bayam (*Spinacia oleracea L*) mempunyai lima titik puncak yang terdapat pada panjang gelombang 412, 431, 460, 614 dan 662 nm. Puncak-puncak tersebut mempunyai kemiripan dengan lima puncak yang terdapat pada Gambar 2, namun puncak dalam hasil penelitian mengalami perpanjangan panjang gelombang yang lebih besar dibandingkan dengan penelitian Milenkovic yaitu 431 menjadi 434 nm, 460 menjadi 466 nm, 614 menjadi 619 nm, dan 662 menjadi 664 nm. Perlakuan untuk mengekstrak klorofilid daun suji dalam penelitian ini hampir mirip dengan Milenkovic (2012) yaitu menggunakan pelarut aseton 80%, sehingga dapat mengindikasikan bahwa ekstrak daun suji dalam penelitian ini merupakan salah satu jenis turunan klorofil yaitu klorofilid.

Pada identifikasi menggunakan HPLC ini tidak menggunakan larutan standar, namun mengacu pada hasil penelitian dari Milenkovic (2012). Jenis kolom yang digunakan memiliki kondisi yang sama yaitu Oktadesil silica atau kolom C-18.

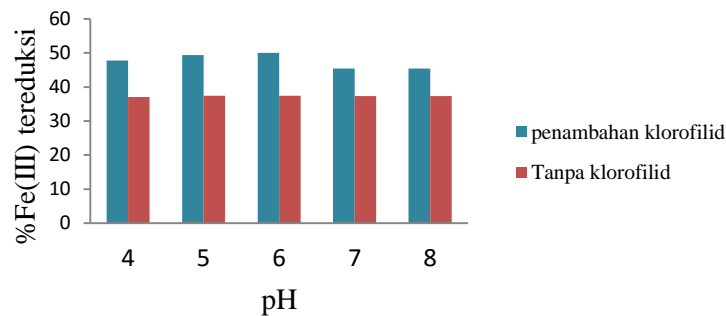


Gambar 3. Histogram HPLC-Vis dari ekstrak daun Suji

Tabel 1. Review spektrum absorpsi klorofilid data HPLC-Vis

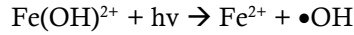
	Data penelitian			Milenkovic (2012)		
	$t_{ret}/menit$	Pita Soret	Pita Qy	$t_{ret}/menit$	Pita Soret	Pita Qy
Klorofilid a	3,78	434,5	664,5	2,70	431,0	663,5
Klorofilid b	-	-	-	-	-	-

Hasil HPLC pada Gambar 3 menunjukkan dua puncak yang diduga merupakan klorofilid. Puncak pertama merupakan dominan dari fraksi klorofilid, didapatkan pada waktu retensi 3,78 menit sebagai klorofilid a dan puncak kedua pada waktu retensi 4,3 menit sebagai klorofilid a'. Klorofilid a' merupakan (S)-epimer dari klorofilid a. Pada umumnya, urutan waktu retensi munculnya puncak klorofilid pada HPLC yaitu klorofilid a lebih dahulu muncul daripada klorofilid b. Sedangkan pada hasil HPLC tidak terdeteksi waktu retensi <3,78 menit yang merupakan waktu retensi dari klorofilid b. Tidak munculnya klorofilid b karena klorofilid b bersifat lebih polar daripada klorofilid dan jenis kolom yang digunakan adalah kolom non-polar (C18). Proses fotoreduksi dilakukan pada pH 4-8 menggunakan 10 mL larutan Fe^{2+} 25 ppm dengan penambahan fotosensitizer klorofilid 0,5 mL dan penyinaran sinar matahari selama 30 menit. hubungan antara pH terhadap peningkatan fotoreduksi Fe^{3+} dapat dilihat pada Gambar 4.

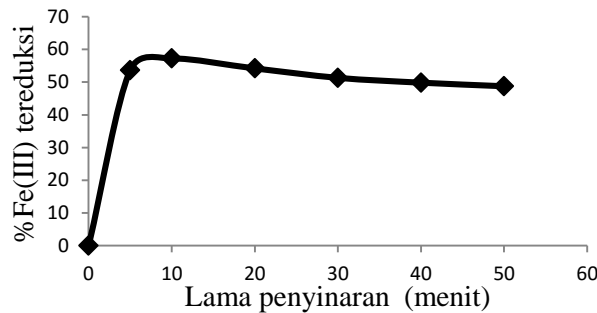


Gambar 4. Hubungan pH terhadap %Fe(III)

Dari Gambar 4 dapat dilihat bahwa pada pH 4 dan 5 memiliki kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} masing-masing sebesar 12,00 dan 12,39 ppm, serta terjadi penurunan konsentrasi Fe^{3+} sebesar 47,76 dan 49,37%. Pada pH 6 terjadi kenaikan kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sebesar 12,52 ppm dengan konsentrasi Fe^{3+} menurun hingga 50,02%. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada pH 6 ion Fe^{2+} dapat membentuk kompleks stabil dengan ligan $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$ dan jumlah molekul kompleks yang terbentuk lebih banyak daripada pada pH lainnya. Pada pH 6 juga diyakini terdapat spesies $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ dalam larutan. Ion $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ ini sensitif terhadap cahaya dan dapat menyerap cahaya ultraviolet menghasilkan produk Fe^{2+} , cahaya dan radikal hidroksida (Saragih; 2002 dalam Rorong; 2010). Reaksi yang terjadi sebagai berikut.

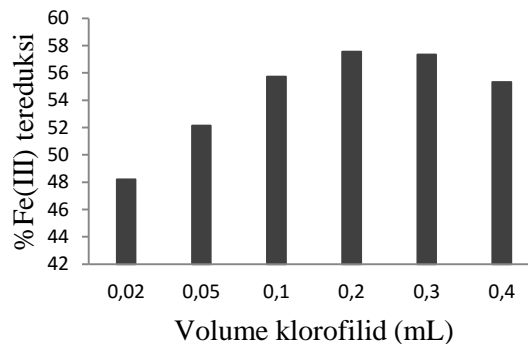


Pada pH 7 dan 8, kembali mengalami penurunan kemampuan dalam mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Penurunan pada pH 7 dan 8 disebabkan rendahnya efisiensi besi tereduksi pada larutan yang mengandung endapan $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Untuk penentuan lama penyinaran optimum dilakukan pada pH 6 pada rentang waktu 5-50 menit. Sumber sinar yang digunakan adalah sinar matahari. Hubungan antara lama peninaran terhadap peningkatan fotoreduksi Fe^{3+} dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan antara lama penyinaran terhadap %Fe(III) tereduksi

Berdasarkan hasil analisis dari Gambar 5 menunjukkan lama penyinaran optimum adalah 10 menit dan kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} masing-masing variasi lama penyinaran yaitu 13,43; 14,43; 13,57; 12,85; 12,48 dan 12,21 ppm. Dengan penurunan konsentrasi Fe^{3+} masing-masing sebesar 53,67; 57,27; 54,22; 51,34; 49,86 dan 48,77%. Hasil analisis menunjukkan bahwa semakin lama intensitas penyinaran, maka kemampuan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} semakin menurun. Penurunan aktivitas fotoreduksi Fe^{3+} ini berkaitan dengan berkurangnya konsentrasi fotosensitizer klorofilid dalam larutan. Hal ini disebabkan adanya kerusakan sebagian klorofilid atau bahkan terjadinya perubahan struktur menjadi struktur yang tidak menyerap pada panjang gelombang sinar tampak akibat panas (Sulaeman; 2007). Untuk penentuan konsentrasi optimum fotoreduksi Fe^{3+} dilakukan pada pH 6 selama 10 menit menggunakan sumber sinar cahaya matahari. Variasi konsentrasi fotosensitizer yang digunakan masing-masing adalah 0,02 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; dan 0,40 mL. Hubungan antara konsentasi klorofilid terhadap peningkatan fotoreduksi Fe^{3+} dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan konsentrasi klorofilid terhadap %Fe(III) tereduksi

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} masing-masing variasi konsentrasi fotosensitizer klorofilid yaitu 12,06; 13,05; 13,94; 14,41; 14,35; dan 13,85 ppm. Dengan penurunan konsentrasi Fe^{3+} masing-masing sebesar 48,20; 52,14; 55,72; 57,56; 57,34; dan 55,34%.

Simpulan

Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa klorofilid dari daun suji bersifat reduktor dan memiliki potensi sebagai fotosensitizer alami dalam fotoreduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dengan bantuan sinar matahari. Kadar Klorofilid dari daun suji dengan pelarut aseton 60,86 ppm. Hasil aktivitas fotoreduksi ion Fe(III) menunjukkan hasil maksimal pada pH 6 selama 10 menit dengan persentase ion Fe(III) tereduksi sebesar 57,56% yang diperoleh dengan penambahan 0,2 mL ekstrak daun suji.

Daftar Pustaka

- Arrohmah. 2007. *Studi Karakteristik Klorofil pada Daun sebagai Material Photodetector Organik*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Suryanto, E. 2008. Kimia Oksigen Singlet: Sensitiser, Cahaya dan Reaktivitasnya Terhadap Asam Lemak Tak Jenuh. *Chem. Prog.*, 1(2)
- Gross, J. 1991. *Pigments In Vegetables Chlorophylls and Carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold
- Hu, X. 2013. Simple Extraction Methods that Prevent the Artifactual Conversion of Chlorophyll to Chlorophyllide during Pigment Isolation from Leaf Samples. *Plant Methods*, 9: 1-9
- Macchia, A. 2006. The Treatment of Iron-Stained Marble: Toward A "Green" Solution. *International Journal of Conservation Science (IJCS)*, 7(1): 323-332
- Milenkovic, Sanja M.Z, Jelena Z.A., Tatjana, D. 2012. The Identification of Chlorophyll and Its Derivatives in the Pigment Mixtures: HPLC-Chromatography, Visible and Mass Spectroscopy Studies. *Advanced Technologies*, 1(1): 16-24
- Prangdimurti, E., D. Muchtadi, M. Astawan, F.R. Zakaria. 2006. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia N.E Brown*). *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*, XVII(2)
- Rorong, J.A. 2014. Potensi Daun Cengkeh sebagai Biosensitizer untuk Fotoreduksi Besi pada Lahan Pertanian Hortikultura. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*
- Sulaeman, U. 2007. Fotoreduksi Cd(II) Menggunakan Katalis TiO_2 dengan Sensitizer Klorofil yang Diaktivasi Sinar Matahari. *Molekul*, 2(1): 17-22