



**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI KLOOROFIL DAUN  
RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.)**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**Inggri Oktavia Wulandari**  
**NIM 191710301054**

Dosen Pembimbing :

**Dosen Pembimbing Utama      Andi Eko Wiyono, S.TP., M.P.**  
**Dosen Pembimbing Anggota    Andrew Setiawan Rusdianto, S.TP., M.Si.**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2023**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.)</b> .....	4
<b>2.2 Klorofil</b> .....	5
<b>2.3 Pewarna Alami</b> .....	7
<b>2.4 <i>Microwave Assisted Extraction</i> (MAE)</b> .....	7
<b>2.5 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)</b> .....	9
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	11
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	11
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	11
<b>3.3 Rancangan Penelitian</b> .....	11
<b>3.4 Tahapan Penelitian</b> .....	11
3.4.1 Penentuan kondisi ekstraksi dengan RSM.....	12
3.4.2 Persiapan Bahan Baku .....	13
3.4.3 Pembuatan Ekstrak klorofil Daun Rumput Teki .....	13
3.4.4 Analisis Respon dan Optimasi.....	14
3.4.5 Analisis Penunjang .....	14
<b>3.5 Analisis Data</b> .....	14
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	15
<b>4.1 Optimasi Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki</b> .....	15
4.1.1 Analisis Respon .....	15
4.1.2 Penentuan Hasil Optimasi Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	31
4.1.3 Verifikasi Data Optimasi Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	32
<b>4.2 Analisis Penunjang Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki</b> .....	33
4.2.1 Total Padatan Terlarut Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	33
4.2.2 Warna Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	34
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	35
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	35
<b>5.2 Saran</b> .....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	36

LAMPIRAN..... 43



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Variabel perlakuan ekstraksi daun rumput teki .....	12
3.2 Optimasi waktu ekstraksi dan volume pelarut daun rumput teki .....	13
4.1 Respon Kombinasi Perlakuan pada Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	15
4.2 <i>Sequential Model Sum of Squares</i> Total Klorofil Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	16
4.3 <i>Model Summary Statistic</i> Total Klorofil Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	17
4.4 <i>Lack of Fit</i> Total Klorofil Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki ....	18
4.5 ANOVA Total Klorofil Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	18
4.6 <i>Sequential Model Sum of Squares</i> Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	21
4.7 <i>Model Summary Statistic</i> Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	22
4.8 <i>Lack of Fit</i> Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	23
4.9 ANOVA Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	23
4.10 <i>Sequential Model Sum of Squares</i> pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	26
4.11 <i>Model Summary Statistic</i> pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki .....	27
4.12 <i>Lack of Fit</i> pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	28
4.13 ANOVA pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	28
4.14 Perlakuan Optimum Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	31
4.15 Verifikasi Data Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki.....	32

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Rumput Teki ( <i>Cyperus rotundus</i> L.) .....	4
3.1 Diagram alir tahapan penelitian.....	12
4.1 <i>Contour Plot</i> Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Total Klorofil Esktrak Daun Rumput Teki.....	20
4.2 <i>3D Surface</i> Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Total Klorofil Esktrak Daun Rumput Teki.....	21
4.3 <i>Contour Plot</i> Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Rendemen Esktrak Daun Rumput Teki.....	25
4.4 <i>3D Surface</i> Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Rendemen Esktrak Daun Rumput Teki.....	26
4.5 <i>Contour Plot</i> Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon pH Esktrak Daun Rumput Teki .....	30
4.6 <i>3D Surface</i> Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon pH Esktrak Daun Rumput Teki .....	31
4.7 Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki Optimum.....	34

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama dengan karoten dan xantofil pada makhluk hidup yang dapat berfotosintesis (Aryanti *et al.*, 2016). Klorofil dan senyawa turunannya memiliki manfaat kesehatan karena adanya aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang berperan dalam pencegahan penyakit kronis seperti kanker (Hung *et al.*, 2014). Kandungan klorofil telah banyak dieksplorasi dari berbagai tanaman, namun penggunaan sumber pewarna klorofil untuk produksi dalam jumlah besar dari berbagai jenis komoditas masih terbatas. Zat warna klorofil dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, tidak terkecuali tumbuhan yang dianggap sebagai gulma. Salah satu sumber bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami klorofil adalah daun rumput teki (*Cyperus rotundus* L.).

Rumput teki adalah sejenis gulma yang banyak dimanfaatkan sebagai makanan ternak, daun rumput teki juga dapat digunakan sebagai pewarna alami karena mengandung senyawa klorofil (Ernawati & Ngawit, 2015). Senyawa klorofil pada daun rumput teki dapat diperoleh dengan cara melakukan ekstraksi. Proses ekstraksi klorofil yang dilakukan pada saat ini sebagian besar masih dilakukan secara konvensional (Aryanti *et al.*, 2016). Metode ekstraksi konvensional membutuhkan waktu lama sehingga perlu dilakukan kebaruan penelitian dengan melakukan ekstraksi non konvensional yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat proses ekstraksi.

*Microwave assisted extraction* (MAE) merupakan metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dari berbagai tanaman dengan waktu ekstraksi yang cepat sehingga lebih efisien dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (Sari *et al.*, 2020). Energi gelombang mikro dari *microwave* dapat menembus ke dalam bahan melalui mekanisme polarisasi antarmuka yang merupakan kombinasi polarisasi dipolar dan konduksi ion sehingga menghasilkan pemanasan dan reaksi yang cepat pada bahan (Handayani

*et al.*, 2017). Kelebihan metode MAE yaitu memiliki tingkat pengeringan yang lebih tinggi, efisiensi energi lebih tinggi, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan waktu ekstraksi lebih cepat (Widyasanti *et al.*, 2018). Metode MAE juga cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang tidak tahan terhadap panas (Kristanti *et al.*, 2019).

Proses ekstraksi senyawa klorofil dengan metode MAE perlu memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi berupa waktu ekstraksi, jenis pelarut, rasio bahan : pelarut, daya *microwave*, dan suhu *microwave* (Wahyuni *et al.*, 2021). Menurut Amelinda *et al.* (2018) semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan senyawa terlarut dalam pelarut yang digunakan dapat terekstraksi secara optimal. Volume pelarut yang semakin banyak digunakan membuat senyawa yang terekstrak semakin banyak. Pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel berjalan lebih optimal saat pelarut yang digunakan semakin banyak sehingga senyawa yang terkandung akan semakin banyak yang terlarut dalam pelarut (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Dwipayana *et al.* (2019) menunjukkan bahwa semakin besar perbandingan bahan dengan pelarut dan semakin lama ekstraksi maka semakin banyak kadar klorofil yang dihasilkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi dapat dioptimasi untuk memperoleh hasil analisis yang optimal. Menurut Sari *et al.* (2020) *Response Surface Methodology* (RSM) merupakan metode yang efektif untuk mengoptimasi proses ekstraksi.

RSM digunakan untuk mengembangkan, meningkatkan dan mengoptimalkan proses ekstraksi, serta dapat mengevaluasi efek dari variabel serta interaksinya. Metode RSM akan menghasilkan variabel optimal dalam proses ekstraksi senyawa klorofil pada daun rumput teki sebagai bahan baku pewarna alami. Metode RSM diterapkan dalam penelitian Ratnawati *et al.* (2018) yang melakukan optimasi proses ekstraksi kalsium dari tulang lele dengan RSM untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi terhadap jumlah kalsium pada tepung tulang. Nilai optimum didapatkan pada ekstraksi dengan 5% NaOH selama 30 menit atau 11,64% HCl selama 58 menit.

Maliaentika *et al.* (2016) juga menerapkan metode RSM dalam optimasi proses penurunan kadar air madu yang ditinjau dari waktu dan rasio berat sampel: adsorben dengan hasil optimum waktu 14,37 jam dan rasio berat sampel : adsorben 1:4.85 (b/b) dengan prediksi respon kadar air  $20.24 \pm 0.46\%$  dan pH 3.48.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Berapa waktu ekstraksi dan volume pelarut optimum dalam pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki?
2. Bagaimana karakteristik ekstrak klorofil daun rumput teki pada kondisi optimum?

## 1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk memperoleh waktu ekstraksi dan volume pelarut optimum dalam pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki.
2. Untuk mengetahui karakteristik ekstrak klorofil daun rumput teki pada kondisi optimum.

## 1.4 Manfaat

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa:

1. Bagi peneliti  
Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai pengaruh variasi waktu dan volume pelarut optimum terhadap kadar klorofil daun rumput teki. Serta hasil penelitian dapat digunakan sebagai referensi dan informasi tambahan untuk penelitian selanjutnya.
2. Bagi masyarakat  
Hasil penelitian ini dapat menyediakan informasi mengenai cara pemanfaatan daun rumput teki yang masih dianggap sebagai gulma agar memiliki nilai ekonomis sebagai sumber pewarna alami.

**BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.)**

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan gulma yang tumbuh di daerah tropis maupun subtropis. Rumput teki dapat tumbuh liar di lahan pertanian, tanah lapang, kebun, dan tepi jalan (Muthoharoh & Nikmah, 2019a). Rumput teki memiliki batang sepanjang 25 cm berbentuk segitiga yang tumpang tindih dengan daun. Daun rumput teki memiliki panjang 5-20 cm, beralur, berwarna hijau tua, dan tumbuh dari dasar tumbuhan (Hana & Hifzul, 2018). Rumput teki memiliki bunga berkelompok di ujung batang yang terdiri dari tiga sampai sembilan tangkai dan berwarna merah kecokelatan hingga ungu pada bagian ujungnya (Tania *et al.*, 2021). Rumput teki memiliki rimpang menjalar yang membentuk umbi untuk menyimpan makanan dan membentuk rimpang baru (Tania *et al.*, 2021). Adapun klasifikasi rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) adalah sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*
- Subkingdom : *Viridiplantae*
- Divisi : *Tracheophyta*
- Sub Divisi : *Spermatophytina*
- Kelas : *Magnoliopsida*
- Ordo : *Poales*
- Famili : *Cyperaceae*
- Genus : *Cyperus* L.
- Spesies : *Cyperus rotundus* Linn



**Gambar 2.1** Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) (Kabbashi *et al.*, 2016)

Beberapa kandungan kimia pada rumput teki antara lain adalah flavonoid, terpenoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut dapat ditemukan pada bagian umbi dan daun rumput teki (Muthoharoh & Nikmah, 2019b). Ekstrak rumput teki memiliki kandungan flavonoid yang memberikan efek analgetik (Pandey *et al.*, 2013). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alami yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman termasuk dalam buah, biji, daun, batang, dan akar (Damar *et al.*, 2014). Rumput teki juga memiliki kandungan klorofil pada bagian daunnya, kandungan pigmen klorofil tersebut dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami.

## 2.2 Klorofil

Klorofil merupakan pigmen pada tanaman berwarna hijau yang berperan dalam proses fotosintesis (Sumiati, 2021). Pigmen klorofil terdapat dalam kloroplas bersama dengan karoten dan xantofil (Aryanti *et al.*, 2016). Klorofil mempunyai dua jenis yaitu klorofil a dan klorofil b (Rahayuningsih *et al.*, 2018). Klorofil a bersifat kurang polar, memiliki rentang warna biru hijau dan mempunyai gugus metil ( $\text{CH}_3$ ), sedangkan klorofil b bersifat polar, memiliki rentang warna kuning hijau dan mengikat gugus formil ( $\text{CHO}$ ) (Indrasti *et al.*, 2019). Klorofil merupakan senyawa siklik tetrapireol dengan inti Mg yang bersifat nonpolar (klorofil a) dan sedikit polar (klorofil b), hal tersebut membuat klorofil larut dalam metanol, alkohol, serta campuran aseton dan air (Lawendatu *et al.*, 2019). Menurut Ajiningrum (2018) klorofil dapat larut dalam eter, kloroform, bensol, metanol, etanol, dan aseton.

Klorofil berfungsi sebagai senyawa antioksidan karena dapat mencegah oksidasi yang berlebihan dalam tubuh. Antioksidan mempunyai kemampuan untuk mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas (Rosahdi *et al.*, 2015). Klorofil mengandung enzim yang berfungsi dalam menetralkan aktivitas radikal bebas (Iriyani & Nugrahani, 2014). Menurut penelitian Hsu *et al.* (2013) turunan klorofil yang mempunyai peran sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan DNA adalah *pheophytin*, *chlorophyllide*, dan *pheophorbide*.

### 2.2.1 Sifat Fisik dan Kimia Klorofil

Sifat fisik klorofil adalah menerima dan atau memantulkan cahaya dengan gelombang yang berlainan (berfluoresensi). Panjang gelombang yang diserap oleh klorofil antara 400-700 nm, terutama sinar merah dan biru (Sumiati, 2021). Sifat kimia klorofil adalah tidak larut dalam air tetapi larut pada pelarut yang lebih polar seperti metanol, etanol, dan kloroform. Rasio klorofil a dan b mempengaruhi kelarutannya pada pelarut air, rasio klorofil a dan b yang tidak jauh berbeda membuat klorofil lebih mudah larut pada pelarut air (Indrasti *et al.*, 2019).

### 2.2.2 Warna dan Stabilitas Klorofil

Proses pengolahan dan penyimpanan sangat mudah mengubah struktur klorofil menjadi senyawa *feofitin* yang kehilangan ion logam Mg (Riansyah *et al.*, 2021). *Feofitin* adalah struktur klorofil yang tidak lagi berwarna hijau karena telah kehilangan logam Mg dan digantikan oleh ion hidrogen (Pumilia *et al.*, 2014). Penyimpanan klorofil pada suhu tinggi akan mempercepat proses degradasi warna dibandingkan penyimpanan pada suhu rendah. Selama proses penyimpanan akan terjadi pelepasan asam-asam organik sehingga terjadi pembentukan *feofitin* yang dapat disebut reaksi feofitinasasi. Panas akan mempercepat reaksi feofitinasasi karena panas dapat mendenaturasi protein (Mahfudh *et al.*, 2021). Denaturasi protein adalah fenomena perubahan struktur protein yang berlipat menjadi terbuka sehingga bentuk dan sifat protein berubah.

Lama penyimpanan klorofil berpengaruh terhadap konsentrasi klorofil. Semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan konsentrasi klorofil akan terus berkurang karena aktivitas enzim klorofilase terus berjalan (Mahfudh *et al.*, 2021). Degradasi klorofil selama penyimpanan disebabkan karena terjadi reaksi pembentukan klorofilid. Reaksi pembentukan klorofilid adalah reaksi perubahan klorofil menjadi klorofilid oleh enzim klorofilase (Mahfudh *et al.*, 2021).

Klorofil rentan mengalami degradasi warna karena faktor lingkungan maupun faktor enzimatik (Riansyah *et al.*, 2021). Menurut Du *et al.* (2014) klorofil merupakan senyawa yang sangat sensitif dan sangat mudah terdegradasi oleh suhu tinggi dan cahaya sehingga warnanya berubah menjadi kekuningan. Stabilitas warna klorofil dipengaruhi oleh pH, suhu, dan cahaya (Riansyah *et al.*,

2021). Klorofil stabil pada pH tinggi dan suhu rendah. Kondisi asam dan suhu yang tinggi mempercepat proses degradasi klorofil menjadi feofitin (Singh *et al.*, 2015). Ekstrak klorofil pada suhu dibawah 10°C dapat menghambat penurunan konsentrasi klorofil, sedangkan ekstrak klorofil pada suhu (28-30°C) mengalami penurunan konsentrasi klorofil yang signifikan (Fajar *et al.*, 2014).

### 2.3 Pewarna Alami

Pewarna alami merupakan warna yang dihasilkan dari berbagai jenis tumbuhan penghasil warna alami yang dapat diperoleh dari daun, kulit batang, kulit buah, biji, akar dan bunga yang telah melalui beberapa proses (Berlin *et al.*, 2017). Visalakshi & Jawaharlal (2013) menyatakan bahwa pewarna alami dapat diperoleh dari tumbuhan, binatang atau mineral, dari berbagai sumber zat pewarna alami tersebut sebagian besar berasal dari tumbuhan. Isolasi pewarna alami dari tumbuhan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dengan pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama (Pujilestari, 2015). Berdasarkan prinsip *like dissolve like*, pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran sama (Wahyuni *et al.*, 2021).

Pewarna alami merupakan alternatif pewarna yang tidak toksik, dapat diperbaharui (*renewable*), mudah terdegradasi, dan ramah lingkungan (Yernisa *et al.*, 2013). Menurut Pujilestari (2015) pewarna alami digunakan untuk mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan zat pewarna sintetis yang dapat menimbulkan masalah bagi kesehatan dan lingkungan. Beberapa pewarna sintetis bersifat karsinogenik yang dapat menimbulkan masalah bagi lingkungan dan kesehatan manusia (Sa'diyah *et al.*, 2015). Kelompok penting senyawa kimia pewarna alami adalah karotenoid, flavonoid, tetrapyrroles, dan xantofil (Pujilestari, 2015).

### 2.4 *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

*Microwave Assisted Extraction* (MAE) merupakan ekstraksi non konvensional yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat proses ekstraksi melalui pemanasan pelarut (Wahyuni *et al.*, 2021). *Microwave*

*Assisted Extraction* merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dengan frekuensi 0,3 – 300 GHz (Kamaluddin *et al.*, 2014). Prinsip kerja MAE yaitu panas radiasi gelombang mikro akan memanaskan dan menguapkan air pada sel sampel sehingga tekanan pada dinding sel meningkat dan mengakibatkan sel membengkak, tekanan tersebut mendorong dinding sel dari dalam sehingga sel pecah (Wadli & Hasdar, 2021).

Proses ekstraksi terjadi karena adanya interaksi dipol antara molekul air dan pelarut yang menyebabkan suhu dan tekanan pelarut naik, sehingga akan terjadi difusi dari sampel ke pelarut (Sari *et al.*, 2020). Proses ekstraksi dengan radiasi gelombang mikro akan memperluas struktur sel tanaman dengan memecah dinding sel tanaman, akibatnya pigmen dalam sel dapat bermigrasi keluar dan menghasilkan ekstrak yang diinginkan (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). Radiasi gelombang mikro menyebabkan pergerakan molekuler yang sangat cepat dengan cara migrasi ion dan rotasi dipol, pergerakan ini menimbulkan gesekan yang menghasilkan energi panas dalam bahan sehingga dinding sel maupun jaringan bahan akan rusak dan solute dapat keluar (Kamaluddin *et al.*, 2014).

Keuntungan MAE yaitu aplikasinya yang luas dalam mengekstrak berbagai senyawa termasuk senyawa yang labil terhadap panas. Metode MAE membutuhkan waktu ekstraksi lebih singkat dan penggunaan pelarut lebih rendah dibandingkan metode ekstraksi konvensional, sehingga MAE memberikan proses ekstraksi yang efisien (Widyasanti *et al.*, 2018). Gelombang mikro akan mengurangi aktivitas enzimatis yang dapat merusak senyawa dari suatu bahan baku sehingga metode MAE dapat meningkatkan efisiensi dan efektifitas ekstraksi bahan aktif berbagai jenis rempah, tanaman herbal, dan buah-buahan (Hanif *et al.*, 2021). Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi dengan metode MAE adalah ukuran bahan, suhu, waktu, dan pelarut (Wadli & Hasdar, 2021). Menurut Wahyuni *et al.* (2021) keberhasilan proses ekstraksi dengan metode MAE dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, jenis pelarut, rasio bahan : pelarut, daya *microwave*, dan suhu *microwave*.

## 2.5 *Response Surface Methodology (RSM)*

RSM (*Response Surface Methodology*) atau metode respon permukaan merupakan gabungan teknik matematika dan statistika yang digunakan untuk membuat model dan menganalisa suatu respon  $y$  yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas atau faktor  $x$  guna mengoptimalkan respon tersebut (Octaviani *et al.*, 2017). Pada RSM, variabel bebas didefinisikan sebagai  $X_1, X_2, \dots, X_k$  dan diasumsikan sebagai variabel kontinu, sedangkan variabel tak bebas didefinisikan sebagai variabel respon  $Y$ . RSM memiliki keunggulan yaitu dapat mendefinisikan pengaruh variabel independen, mendapatkan model hubungan antara variabel bebas dan respon, dan mendapatkan kondisi penghasil respon terbaik. RSM juga tidak memerlukan data-data percobaan dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan waktu lama (Nurmiah *et al.*, 2013).

RSM dapat digunakan pada beberapa desain dasar seperti *Central Composite Design (CCD)* dan *Box Behnken Design (BBD)* Metode CCD biasa digunakan pada proses optimasi yang memiliki minimal dua variabel, sedangkan *Box Behnken Design* digunakan untuk optimasi dengan minimal tiga variabel (Perincek & Colak, 2013). Perbedaan *Central Composite Design* dengan *Box-Behnken Design* terdapat pada *axial/star runs*, dimana CCD memiliki *axial/star runs* sedangkan pada *Box-Behnken Design* tidak memiliki *axial/star runs* pada rancangannya (Pradana *et al.*, 2022). *Axial/star runs* merupakan nilai diluar batas minimum dan maksimum berdasarkan nilai  $\alpha$  yang diperoleh. Nilai  $\alpha$  ditentukan oleh jumlah variabel faktor dan jenis CCD yang digunakan. *Box-Behnken Design* memiliki lebih sedikit unit percobaan karena tidak terdapat *axial/star runs* sehingga lebih efisien dalam rancangannya (Pradana *et al.*, 2022). *Box-Behnken Design* dibentuk berdasarkan kombinasi rancangan  $2^k$  dengan *incomplete block design* ditambahkan *center run* pada rancangannya, sedangkan rancangan percobaan CCD terdiri dari rancangan  $2^k$  faktorial dengan ditambahkan beberapa *center runs* dan *axial run (star runs)*.

Metode CCD digunakan untuk menentukan jumlah percobaan yang kemudian dievaluasi untuk optimasi respon dan variabel. Metode CCD mempunyai tiga titik yaitu titik faktorial, titik axial (*star points*), dan titik pusat

(*central point*) (Dwiastuti & Dewi, 2022). Titik uji dalam CCD diambil berdasarkan nilai batas uji yang telah ditentukan, selanjutnya data respon yang diperoleh dimodelkan oleh model matematika yang sesuai (Hidayat *et al.*, 2021). Penentuan titik optimum pada CCD dilihat dari nilai fungsi tujuan optimasi (*desirability*) yang dihasilkan. *Desirability* menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir (Nurmiah *et al.*, 2013). Kisaran nilai *desirability* adalah dari 0 sampai 1,0, nilai *desirability* mendekati 1 adalah nilai yang diharapkan. Titik optimum yang baik memiliki *desirability* yang tinggi atau mendekati 1 (Hidayat *et al.*, 2021).

Optimasi suhu dan waktu pemanasan terhadap profil warna minuman sari tebu pada penelitian Akbar & Murtini (2018) merupakan penerapan dari metode CCD. Hasil optimasi diperoleh solusi optimal berupa suhu pemanasan 85°C dan waktu pemanasan 1 menit dengan %brix sebesar 12.87% dan *desirability* atau tingkat yang diinginkan sebesar 0.992. Pada penelitian Anwar *et al.* (2021) yang melakukan optimasi suhu dan waktu ekstraksi akar pasak bumi menggunakan metode CCD menghasilkan titik optimum pada suhu 51,8°C dan waktu 12,13 jam dengan nilai D (*desirability*) sebesar 0,92.

*Response Surface Methodology* (RSM) dengan desain *Central Composite Design* (CCD) memiliki beberapa model statistik untuk menganalisis data hasil penelitian. Model statistik yang digunakan diantaranya adalah model linier dengan bentuk persamaan  $y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2$ , model 2FI (*factor interaction*) dengan bentuk persamaan  $y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_1X_2$ , model *quadratic* dengan bentuk persamaan  $y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_1^2 + \beta_4X_2^2 + \beta_5X_1X_2$ , dan model *cubic*. Model tersebut dipilih berdasarkan hasil uji *sequential model sum of squares*, *model summary statistic*, dan *lack of fit*.

### **BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan April 2023 hingga bulan Juni 2023 di Laboratorium Teknologi dan Manajemen Agroindustri, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca digital, pisau, mortar dan alu, gelas ukur, *beaker glass*, spatula, erlenmeyer, loyang aluminium, oven *microwave* SHARP R-220MA, kertas saring *whatmann* 40, aluminium foil, botol vial, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis, pH meter, *color reader*, refraktometer, dan lemari pendingin.

Adapun bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun rumput teki. Kriteria daun rumput teki yang digunakan harus memiliki kondisi yang baik yaitu masih segar, muda, dan berwarna hijau. Bahan pendukung lainnya yaitu etanol 96%, aquades, larutan buffer pH 4, 7, dan 9.

#### **3.3 Rancangan Penelitian**

Percobaan menggunakan metode eksperimen dengan evaluasi dan optimasi kondisi ekstraksi ditentukan oleh aplikasi *Design Expert* 13 dengan metode RSM (*Response Surface Methodology*) dengan rancangan penelitian menggunakan CCD (*Central Composite Design*). Variabel ditentukan berdasarkan studi literasi dari hasil penelitian sejenis dan dijadikan sebagai dasar penentuan batas minimum dan maksimum nilai masing-masing level faktor. Variabel yang digunakan adalah waktu ekstraksi (menit) dan volume pelarut (ml).

#### **3.4 Tahapan Penelitian**

Penelitian dilakukan mulai dari proses identifikasi masalah, studi literatur, penentuan kondisi ekstraksi dengan metode RSM, persiapan bahan baku yaitu

daun rumput teki, pembuatan ekstrak, analisis respon dan optimasi, penentuan perlakuan optimum, analisis penunjang, analisis data, serta kesimpulan dan saran. Diagram alir tahap penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



**Gambar 3.1** Diagram alir tahapan penelitian

#### 3.4.1 Penentuan Kondisi Ekstraksi dengan *Response Surface Methodology*

Pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki dilakukan dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dengan jumlah perlakuan (*running*) ditentukan oleh aplikasi *Design Expert* 13. Variabel independen yang digunakan mengacu pada penelitian (Hanif *et al.*, 2021) berupa waktu ekstraksi (X1) dengan batas nilai minimum waktu ekstraksi selama 3 menit dan batas nilai maksimum 7 menit serta volume pelarut (X2) dengan batas nilai minimum sebesar 120 ml dan batas nilai maksimum 200 ml yang dapat dilihat pada **Tabel 3.1**. Jumlah unit percobaan yang diuji berdasarkan CCD dapat dilihat pada **Tabel 3.2**.

**Tabel 3.1.** Variabel perlakuan ekstraksi daun rumput teki

Variabel	Simbol	Level		
		-1	0	+1
Waktu Ekstraksi (Menit)	X1	3	5	7
Volume Pelarut (ml)	X2	120	160	200

**Tabel 3.2.** Optimasi waktu ekstraksi dan volume pelarut daun rumput teki

Perlakuan	Variabel Terkode		Waktu Ekstraksi	Volume Pelarut
	X1	X2		
1	0	1,41421	5 menit	216,5 ml
2	1	1	7 menit	200 ml
3	0	0	5 menit	160 ml
4	1,41421	0	7 menit 8 detik	160 ml
5	0	0	5 menit	160 ml
6	0	0	5 menit	160 ml
7	- 1,41421	0	2 menit 2 detik	160 ml
8	1	-1	7 menit	120 ml
9	0	- 1,41421	5 menit	103,5 ml
10	0	0	5 menit	160 ml
11	-1	-1	3 menit	120 ml
12	-1	1	3 menit	200 ml
13	0	0	5 menit	160 ml

#### 3.4.2 Persiapan Bahan Baku

Bahan baku utama adalah daun rumput teki dengan kriteria daun rumput teki yang digunakan yaitu masih segar dan berwarna hijau. Rumput teki yang telah memenuhi kriteria dilakukan sortasi untuk memisahkan daun rumput teki yang baik dan kurang baik. Rumput teki dengan kondisi baik kemudian dipisahkan antara daun dan akar serta dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil. Daun rumput teki dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun rumput teki dan ditiriskan. Adapun tahap persiapan bahan baku dapat dilihat pada **Lampiran 1.1.**

#### 3.4.3 Pembuatan Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Proses ekstraksi daun rumput teki mengacu pada penelitian Widyasanti *et al.* (2018) yang dimodifikasi. Sebanyak 3 gram daun rumput teki dihaluskan kemudian ditambah etanol 96% dengan penambahan volume pelarut sesuai parameter penelitian. Ekstraksi dilakukan dengan cara iradiasi menggunakan *microwave* dengan level daya 70% dan waktu sesuai parameter penelitian. Ekstrak klorofil yang diperoleh kemudian didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring *whatmann* 40. Ekstrak klorofil daun rumput teki kemudian dianalisis respon total klorofil, rendemen, dan pH. Diagram alir pembuatan ekstrak daun rumput teki dapat dilihat pada **Lampiran 1.2.**

#### 3.4.4 Analisis Respon dan Optimasi

Ekstrak klorofil daun rumput teki yang diperoleh dilakukan analisis respon dan optimasi. Analisis respon menggunakan 3 parameter yaitu total klorofil, rendemen, dan pH. Setelah analisis respon dan optimasi akan diperoleh kondisi proses optimum ekstrak klorofil daun rumput teki. Hasil kondisi proses optimum tersebut selanjutnya dilakukan verifikasi untuk membuktikan bahwa kondisi proses optimum yang diperoleh dapat memberikan hasil respon yang optimal.

#### 3.4.5 Analisis Penunjang

Hasil kondisi proses optimum dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik ekstrak klorofil daun rumput teki. Analisis yang dilakukan yaitu TPT (Total Padatan Terlarut) dan warna. Pengukuran total padatan terlarut bertujuan untuk mengetahui kandungan padatan terlarut dalam ekstrak klorofil daun rumput teki. Warna diukur menggunakan pengukuran sistem warna absolut  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$ , serta dilakukan perhitungan nilai  $^{\circ}$ Hue berdasarkan nilai  $a^*$  dan  $b^*$ .

### 3.5 Analisis Data

Analisis data menggunakan *Response Surface Methodology* untuk mengetahui kondisi optimal pada penelitian yang dilakukan. Analisis menggunakan bantuan aplikasi *Design Expert 13* dengan rancangan *Central Composite Design*. Nilai respon dari 13 perlakuan yang didapat dimasukkan ke dalam aplikasi *Design Expert 13* sehingga didapatkan *output* prediksi kondisi proses optimum. Penentuan titik optimum dilihat dari nilai *desirability* terbaik yang dihasilkan.

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Optimasi Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Faktor yang digunakan pada penelitian ini berupa waktu ekstraksi (menit) dan volume pelarut (ml) dan respon yang digunakan berupa total klorofil (mg/L), rendemen (%), dan pH. Data hasil kombinasi perlakuan selanjutnya dilakukan analisis lebih lanjut untuk menentukan kondisi proses optimum dalam pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki. Data hasil kombinasi perlakuan yang didapat dari *Software Design Expert* 13 dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

**Tabel 4.1** Respon Kombinasi Perlakuan pada Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Perlakuan	Faktor		Respon		
	Waktu Ekstraksi	Volume Pelarut	Total Klorofil (mg/L)	Rendemen (%)	pH
1	5 menit	216,5 ml	32,261	61,22	7,08
2	7 menit	200 ml	48,710	47,86	6,99
3	5 menit	160 ml	48,984	52,36	7,10
4	7 menit 8 detik	160 ml	69,476	34,35	6,98
5	5 menit	160 ml	46,016	60,56	7,15
6	5 menit	160 ml	45,332	54,05	7,11
7	2 menit 2 detik	160 ml	38,019	78,08	7,20
8	7 menit	120 ml	65,214	26,29	6,75
9	5 menit	103,5 ml	67,469	36,44	6,93
10	5 menit	160 ml	49,060	56,34	7,18
11	3 menit	120 ml	53,214	61,81	7,19
12	3 menit	200 ml	27,977	74,52	7,19
13	5 menit	160 ml	47,352	56,43	7,12

#### 4.1.1 Analisis Respon

Analisis respon dilakukan untuk mengetahui hubungan antar variabel yaitu waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap total klorofil, rendemen, dan pH pada ekstrak klorofil daun rumput teki. Dalam rancangan *central composite design*, hasil masing-masing respon dilakukan analisis untuk menentukan model statistik yang akan digunakan. Model statistik yang digunakan dalam program *Design Expert* 13 adalah model *linear*, *2 factor interaction* (2FI), *quadratic*, dan

*cubic*. Model statistik yang digunakan ditentukan dari hasil uji nilai *p-value* pada masing-masing model sehingga diperoleh model yang disarankan (*suggested*) atau model yang tidak disarankan (*aliased*). Evaluasi model statistik pada *Design Expert 13* yaitu uraian jumlah kuadrat (*Sequential Model Sum of Squares*), ringkasan model statistik (*Model Summary Statistic*), dan uji ketidaktepatan model (*Lack of Fit*). Model terpilih dianalisis menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) untuk mengetahui hubungan antara beberapa variabel yang menjadi dasar penelitian.

a. Analisis Total Klorofil Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Total klorofil pada ekstrak daun rumput teki dilakukan analisis *sequential model sum of squares*, *model summary statistic*, *lack of fit*, dan ANOVA yang dapat dilihat dari **Tabel 4.2** hingga **Tabel 4.5**.

**Tabel 4.2** *Sequential Model Sum of Squares* Total Klorofil Ekstrak Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Mean vs Total	31417,49	1	31417,49			
Linear vs Mean	1792,66	2	896,33	77,30	< 0,0001	<i>Suggested</i>
2FI vs Linear	19,07	1	19,07	1,77	0,2159	
Quadratic vs 2FI	41,74	2	20,87	2,65	0,1391	
Cubic vs Quadratic	25,37	2	12,68	2,13	0,2143	<i>Aliased</i>
Residual	29,78	5	5,96			
Total	33326,12	13	2563,55			

Syarat model yang diterima pada *sequential model sum of squares* adalah *p-value* bernilai kurang dari 5% (0,05) yang berarti bahwa model tersebut dapat menggambarkan pengaruh yang signifikan terhadap respon. Berdasarkan pemilihan model *sequential model sum of squares* pada total klorofil daun rumput teki didapatkan hasil bahwa model terpilih yaitu *linear vs mean* dengan nilai *p-value* yang diperoleh sebesar <0.0001 (<5%), nilai tersebut menunjukkan bahwa peluang ketidaksesuain model *linear* kurang dari 5% dan model *linear vs mean* dinyatakan signifikan atau berpengaruh nyata terhadap respon total klorofil.

Metode pemilihan selanjutnya adalah *model summary statistic*. Model terpilih adalah model yang memiliki standar deviasi terendah, *R-square* tertinggi, *adjusted R-square* tertinggi, *Predicted R-square* tertinggi, dan nilai PRESS terendah (Adiansyah *et al.*, 2018). Dapat dilihat pada **Tabel 4.3** merupakan pemilihan model statistik berdasarkan *model summary statistics*.

**Tabel 4.3** *Model Summary Statistic* Total Klorofil Ekstrak Daun Rumpuk Teki

Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	PRESS	
Linear	3,41	0,9392	0,9271	0,8810	227,17	<i>Suggested</i>
2FI	3,28	0,9492	0,9323	0,8795	229,91	
Quadratic	2,81	0,9711	0,9505	0,8278	328,66	
Cubic	2,44	0,9844	0,9626	0,3758	1191,28	<i>Aliased</i>

Berdasarkan **Tabel 4.3** model yang dipilih program adalah model *linear*. Model *linear* memiliki nilai standar deviasi sebesar 3,41 dan nilai R<sup>2</sup> model *linear* yaitu 0,9392. *R-square* adalah uji untuk menjelaskan proporsi variasi variabel independen yang mampu menjelaskan variasi variabel dependen. Apabila nilai *R-square* mendekati angka satu, maka dapat dikatakan bahwa variasi variabel independen yang diformulasikan mampu menjelaskan variasi variabel dependen dengan baik. Nilai R<sup>2</sup> sebesar 0,9392 mengidentifikasi bahwa kedua variabel bebas yaitu waktu ekstraksi dan volume pelarut memiliki pengaruh terhadap respon total klorofil sebesar 93,92%, sedangkan sisanya 6,08% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak termasuk dalam kajian penelitian. Nilai *adjusted R<sup>2</sup>* berfungsi untuk mengetahui besarnya variasi dari variabel dependen yang dapat dijelaskan oleh variasi variabel independen. Nilai *adjusted R<sup>2</sup>* adalah 0 sampai 1. Jika nilai *adjusted R<sup>2</sup>* mendekati 1, artinya variabel independen mampu memberikan hampir semua informasi yang dibutuhkan untuk memprediksi variabel dependen dan sebaliknya. Nilai *adjusted R<sup>2</sup>* model *linear* adalah 0,9271 yang berarti bahwa faktor waktu ekstraksi dan volume pelarut mampu menjelaskan respon total klorofil sebesar 92,71%, sedangkan sisanya 7,29% dijelaskan oleh respon lain. Nilai PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) model *linear* adalah 227,17. Nilai PRESS menunjukkan kesalahan jumlah kuadrat dari model, semakin rendah nilai PRESS maka prediksi kesalahan semakin

rendah. *Lack of fit test* atau uji ketidaktepatan dilakukan untuk mengetahui ketidaksesuaian model regresi. Hasil *lack of fit test* dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

**Tabel 4.4** *Lack of Fit* Total Klorofil Ekstrak Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear	104,51	6	17,42	6,09	0,0511	<i>Suggested</i>
2FI	85,44	5	17,09	5,97	0,0540	
Quadratic	43,70	3	14,57	5,09	0,0749	
Cubic	18,33	1	18,33	6,41	0,0646	<i>Aliased</i>
Pure Error	11,45	4	2,86			

Berdasarkan hasil perhitungan dari **Tabel 4.4** model dapat dikatakan signifikan jika *p-value* lebih besar dari 5% ( $p\text{-value} > 0,05$ ), hal tersebut mengindikasikan bahwa model tidak signifikan terhadap ketidaktepatan yang menunjukkan model tersebut sesuai terhadap respon total klorofil. Nilai *lack of fit* pada model *linear* menunjukkan nilai *p-value* sebesar 0,0511, dimana *p-value* lebih besar dari 0,05 nilai tersebut menunjukkan ketidaktepatan model bersifat tidak signifikan terhadap respon sebesar 5,11%.

Model terpilih dilakukan analisis ragam (ANOVA) untuk mengetahui ada atau tidaknya interaksi antara variabel bebas berupa waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap variabel terikatnya yaitu total klorofil. Hasil ANOVA akan menunjukkan bahwa model memiliki nilai yang signifikan atau tidak signifikan dalam menggambarkan hasil penelitian. Hasil analisis ragam (ANOVA) dapat dilihat pada **Tabel 4.5**.

**Tabel 4.5** ANOVA Total Klorofil Ekstrak Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	1792,66	2	896,33	77,30	< 0,0001	<i>Significant</i>
A- Waktu Ekstraksi	745,35	1	745,35	64,28	< 0,0001	
B- Volume Pelarut	1047,31	1	1047,31	90,32	< 0,0001	
Residual	115,96	10	11,60			
Lack of Fit	104,51	6	17,42	6,09	0,0511	<i>not significant</i>
Pure Error	11,45	4	2,86			

Berdasarkan hasil pengolahan data menggunakan *Design Expert 13*, model terpilih adalah model *linear*. Pada **Tabel 4.5** menunjukkan bahwa model *linear* menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai *p-value* sebesar  $<0,0001$ . Pada nilai *lack of fit* untuk respon total klorofil menunjukkan nilai *p-value* sebesar  $0,0511$  (*p-value* lebih besar dari 5%) dengan keterangan *not significant*, nilai tersebut menunjukkan bahwa model telah sesuai dengan plot dari model *linear*. Variabel A yaitu waktu ekstraksi menunjukkan hasil yang signifikan terhadap respon total klorofil karena mempunyai nilai *p-value* kurang dari 5% yaitu  $<0,0001$ . Total klorofil akan meningkat seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi. Peningkatan total total klorofil ekstrak daun rumput teki disebabkan karena semakin lama waktu ekstraksi maka semakin lama pula bahan terpapar radiasi gelombang mikro yang mengakibatkan pecahnya jaringan bahan sehingga mengeluarkan zat terlarut (*solute*) ke dalam pelarut (*solvent*) (Ingrath *et al.*, 2015). Waktu ekstraksi yang semakin lama menyebabkan kontak antara bahan dan pelarut menjadi semakin lama sehingga kemampuan pelarut untuk melarutkan senyawa dalam bahan semakin optimal (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Waktu ekstraksi yang terlalu lama perlu dihindari karena dapat meningkatkan degradasi klorofil menjadi senyawa feofitin sehingga menurunkan total klorofil (Wahyuni *et al.*, 2021).

Variabel B yaitu volume pelarut menunjukkan hasil yang signifikan karena nilai *p-value* lebih kecil dari 5% yaitu  $<0,0001$ . Volume pelarut yang semakin banyak menyebabkan ekstrak klorofil yang dihasilkan juga akan semakin meningkat. Menurut Aulia & Widjanarko (2018) semakin banyak jumlah rasio bahan pelarut yang digunakan, maka semakin banyak juga senyawa target yang terlarut. Jumlah pelarut yang berlebihan kurang efisien terhadap proses ekstraksi. Suatu pelarut memiliki kemampuan terbatas dalam mengekstrak senyawa pada suatu bahan. Pelarut tidak mampu lagi mengekstrak senyawa dari bahan pada kondisi maksimum sehingga jika ekstraksi dilanjutkan hasilnya akan konstan bahkan menurun (Hermiati *et al.*, 2013).

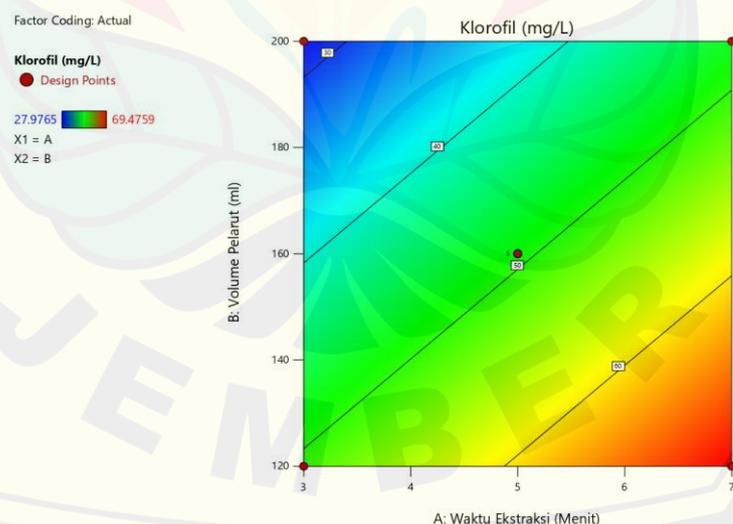
Hasil penelitian yang telah dilakukan volume pelarut sebanyak 160 ml sudah cukup untuk mengekstrak klorofil daun rumput teki secara optimum

menggunakan MAE, sehingga pelarut dapat larut dengan baik ke dalam bahan dan klorofil dapat dilarutkan oleh pelarut. Proses ekstraksi dengan volume 200 ml akan menurunkan total klorofil yang dihasilkan pada ekstrak klorofil daun rumput teki karena volume pelarut yang digunakan terlalu besar. Penelitian Dwipayana *et al.* (2019) menemukan bahwa pada ekstraksi daun pandan wangi, perbandingan bahan dengan pelarut (1:15) sudah mencapai titik jenuhnya sehingga pada perlakuan perbandingan bahan dengan pelarut (1:17) kadar klorofil mengalami penurunan disebabkan klorofil mengalami kerusakan dan teroksidasi.

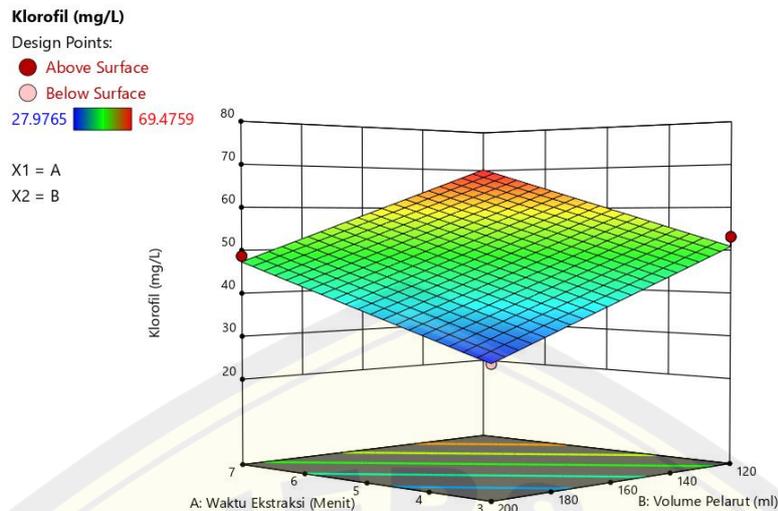
Persamaan aktual model *linear* dari respon Y1 (total klorofil) yang dipengaruhi waktu ekstraksi (A) dan volume pelarut (B) adalah sebagai berikut:

$$Y1 = 70,796 + 4,826A - 0,286B$$

Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual untuk mengetahui respon total klorofil yang akan didapatkan. Koefisien B bertanda negatif mengindikasikan adanya titik stasioner maksimum dari respon. Faktor waktu ekstraksi (A) merupakan variabel yang paling berpengaruh untuk respon total klorofil karena memiliki koefisien tertinggi sebesar 4,826. Grafik pengaruh waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap respon total klorofil ekstrak daun rumput teki dapat dilihat pada **Gambar 4.1** dan **Gambar 4.2**.



**Gambar 4.1** *Contour Plot* Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Total Klorofil Ekstrak Daun Rumput Teki



**Gambar 4.2** 3D *Surface* Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Total Klorofil Ekstrak Daun Rumput Teki

**Gambar 4.1** menunjukkan adanya hubungan antara waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap total klorofil. Total klorofil akan semakin tinggi pada daerah berwarna merah dan semakin rendah pada daerah berwarna biru. **Gambar 4.2** menunjukkan respon aktivitas total klorofil meningkat seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi. Waktu ekstraksi yang semakin lama akan menyebabkan semakin banyak senyawa target yang dapat terekstrak. Total klorofil akan menurun seiring dengan meningkatnya volume pelarut. Volume pelarut sebanyak 160 ml merupakan volume optimum untuk mengekstrak klorofil daun rumput teki. Jumlah rasio bahan pelarut yang berlebihan kurang efisien terhadap proses ekstraksi klorofil daun rumput teki. Peningkatan volume pelarut diatas titik respon optimal menyebabkan penurunan aktivitas total klorofil.

b. Analisis Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Hasil analisis pengaruh waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap rendemen ekstrak klorofil daun rumput teki berupa *sequential model sum of squares, model summary statistic, lack of fit*, dan ANOVA ditunjukkan pada **Tabel 4.6** hingga **Tabel 4.9**.

**Tabel 4.6** *Sequential Model Sum of Squares* Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value
Mean vs Total	37725,68	1	37725,68		

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear vs Mean	2523,48	2	1261,74	85,47	< 0,0001	
2FI vs Linear	19,63	1	19,63	1,38	0,2702	
Quadratic vs 2FI	89,71	2	44,86	8,20	0,0146	<i>Suggested</i>
Cubic vs Quadratic	0,0876	2	0,0438	0,0057	0,9943	<i>Aliased</i>
Residual	38,20	5	7,64			
Total	40396,79	13	3107,45			

Model terpilih berdasarkan *sequential model sum of squares* adalah model yang memiliki nilai *p-value* dibawah 5% (0.05). Nilai *p-value* dibawah 5% menunjukkan bahwa model memiliki pengaruh nyata terhadap respon, sedangkan jika nilai *p-value* lebih dari 5% menunjukkan model tersebut memiliki ketidaktepatan atau *error* lebih dari 5%, dan dianggap tidak akurat terhadap respon. Berdasarkan **Tabel 4.6** didapatkan hasil bahwa model terpilih yaitu *quadratic* vs 2FI karena memiliki nilai 0,0146 (<5%) yang menunjukkan bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5% sehingga berpengaruh nyata terhadap respon rendemen. Uji pemilihan model lainnya adalah berdasarkan hasil *model summary statistic* yang dapat dilihat pada **Tabel 4.7**.

**Tabel 4.7** Model Summary Statistic Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	PRESS	
Linear	3,84	0,9447	0,9337	0,9012	264,04	
2FI	3,77	0,9521	0,9361	0,9094	242,05	
Quadratic	2,34	0,9857	0,9754	0,9774	60,41	<i>Suggested</i>
Cubic	2,76	0,9857	0,9657	0,9772	60,84	<i>Aliased</i>

Model terbaik berdasarkan *model summary statistic* difokuskan pada nilai *adjusted R<sup>2</sup>* dan *predicted R<sup>2</sup>* yang maksimal atau mendekati 1. Selain itu parameter yang digunakan untuk memilih model yang terbaik adalah model yang memiliki standar deviasi dan PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) terendah. **Tabel 4.7** menunjukkan bahwa desain model yang terpilih sebagai model yang tepat adalah *quadratic*. Hal ini dikarenakan model *quadratic* yang memiliki nilai PRESS terendah yaitu 60,41. PRESS menunjukkan prediksi kesalahan jumlah

kuadrat, apabila nilai PRESS rendah maka prediksi kesalahan semakin rendah. Nilai standar deviasi pada model *quadratic* yaitu 2,34 dan merupakan nilai terendah dari semua model. Semakin rendah standar deviasi menunjukkan tingkat keragaman data yang rendah karena semakin rendah nilai standar deviasi menunjukkan data mendekati rata-rata, sedangkan jika nilai standar deviasi semakin tinggi maka semakin jauh atau lebar rentang variasi datanya. Model *quadratic* memiliki nilai *adjusted R<sup>2</sup>* dan *predicted R<sup>2</sup>* yang paling maksimal yaitu sebesar 0,9754 dan 0,9774. Parameter *adjusted R<sup>2</sup>* digunakan untuk mendapatkan nilai signifikansi variabel yang lebih tepat. Hal ini berarti faktor waktu ekstraksi dan volume pelarut berpengaruh terhadap respon rendemen sebesar 97,54%. Pemilihan model ketiga menggunakan *lack of fit test* yang dapat dilihat pada **Tabel 4.8**.

**Tabel 4.8** *Lack of Fit* Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear	109,45	6	18,24	1,91	0,2764	
2FI	89,82	5	17,96	1,88	0,2799	
Quadratic	0,1061	3	0,0354	0,0037	0,9996	<i>Suggested</i>
Cubic	0,0184	1	0,0184	0,0019	0,9671	<i>Aliased</i>
Pure Error	38,18	4	9,55			

Dari keempat model, yang terpilih sebagai model berstatus *suggested* yaitu model *quadratic*. Model *quadratic* memiliki nilai *p-value* sebesar 0,9996 (lebih dari 5%) nilai *lack of fit* yang lebih dari 5% menunjukkan bahwa model telah sesuai dengan rancangan. Dari nilai *lack of fit* yang didapat, menandakan bahwa kombinasi waktu ekstraksi dan volume pelarut yang digunakan berpengaruh nyata terhadap respon rendemen, sehingga dapat digunakan untuk proses optimasi pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki. Hasil uji ANOVA yang disajikan pada **Tabel 4.9**.

**Tabel 4.9** ANOVA Rendemen Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	2632,82	5	526,56	96,27	< 0,0001	<i>significant</i>
A-Waktu Ekstraksi	1922,94	1	1922,94	351,56	< 0,0001	
B-Volume	600,54	1	600,54	109,79	< 0,0001	

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Pelarut						
AB	19,63	1	19,63	3,59	0,1000	
A <sup>2</sup>	0,1704	1	0,1704	0,0312	0,8649	
B <sup>2</sup>	87,01	1	87,01	15,91	0,0053	
Residual	38,29	7	5,47			
Lack of Fit	0,1061	3	0,0354	0,0037	0,9996	<i>not significant</i>
Pure Error	38,18	4	9,55			
Cor Total	2671,11	12				

Hasil dari tiga proses pemilihan model yang telah dilakukan, model terbaik untuk respon rendemen adalah model *quadratic*. Hasil *p-value* model *quadratic* menunjukkan hasil yang *significant* dengan *lack of fit* yang *not significant*, hal tersebut telah memenuhi syarat dalam analisis ANOVA. *P-value* pada faktor waktu ekstraksi (A) sebesar  $<0,0001$  (kurang dari 5%) yang memiliki arti bahwa penggunaan waktu ekstraksi pada pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki memiliki pengaruh yang signifikan pada rendemen yang dihasilkan. Menurut (Yudharini *et al.*, 2016) lama ekstraksi akan memberikan waktu yang cukup bagi pelarut untuk menembus dinding sel dan menarik keluar senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan, sehingga menghasilkan rendemen tinggi. Namun apabila waktu ekstraksi terlalu lama maka rendemen yang dihasilkan semakin menurun, hal tersebut disebabkan karena pelarut yang digunakan berupa etanol yang bersifat mudah menguap pada suhu tinggi.

Nilai *p-value* pada faktor volume pelarut (B) yaitu sebesar  $<0,0001$  (lebih kecil dari 5%) yang memiliki arti bahwa jumlah pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi daun rumput teki memiliki pengaruh yang signifikan terhadap rendemen ekstrak rumput teki yang dihasilkan. Semakin banyak volume pelarut yang digunakan maka rendemen yang dihasilkan juga akan semakin meningkat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Yudharini *et al.*, 2016), dimana semakin banyak volume pelarut maka rendemen semakin besar. Hal ini disebabkan karena partikel terdistribusi lebih merata di dalam pelarut, sehingga permukaan kontak pelarut dan bahan semakin luas dan menghasilkan rendemen lebih banyak.

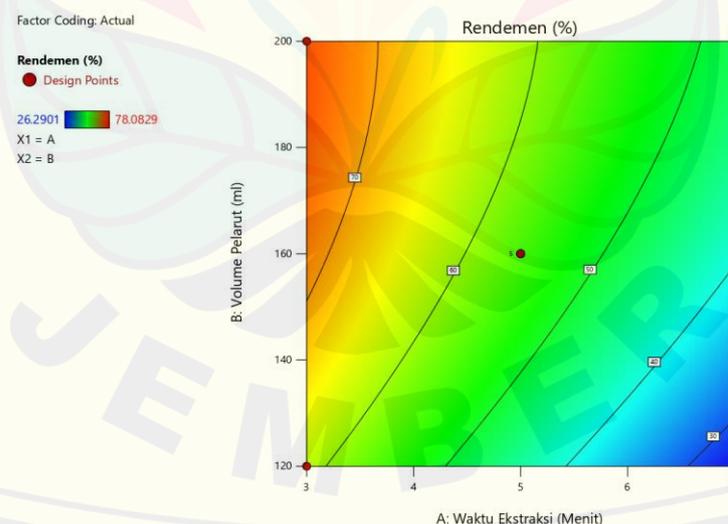
Interaksi antara faktor waktu ekstraksi dan volume pelarut (AB) menunjukkan nilai yang tidak signifikan yaitu 0,1000 ( $p\text{-value} > 0.05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara faktor waktu ekstraksi dan volume pelarut (AB) tidak berpengaruh secara nyata terhadap respon rendemen. Faktor waktu ekstraksi secara kuadrat ( $A^2$ ) menunjukkan nilai 0,8649 yang berarti nilai tersebut tidak signifikan ( $p\text{-value} > 0.05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa waktu ekstraksi secara kuadrat ( $A^2$ ) tidak berpengaruh nyata terhadap respon rendemen. Volume pelarut secara kuadrat ( $B^2$ ) memiliki  $p\text{-value}$  0,0053 yang berarti faktor volume pelarut secara kuadrat ( $B^2$ ) berpengaruh nyata terhadap respon rendemen.

Persamaan aktual model *quadratic* dari respon Y2 (rendemen) yang dipengaruhi waktu ekstraksi (A) dan volume pelarut (B) adalah sebagai berikut:

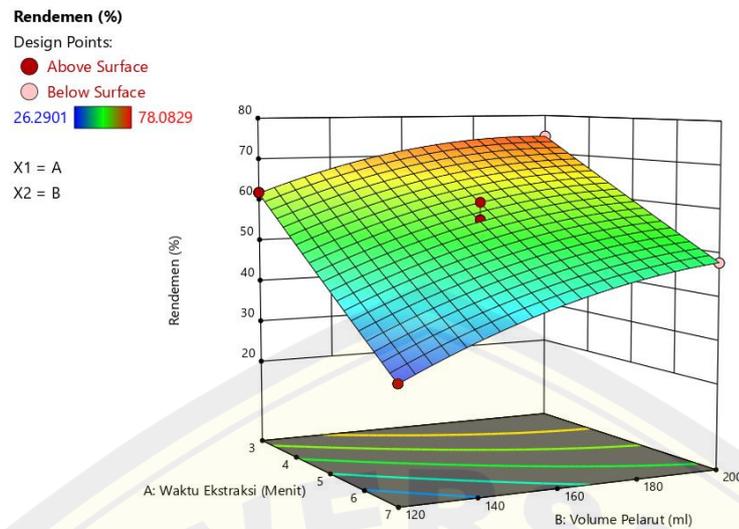
$$Y2 = 26,598 - 12,574A + 0,785B + 0,028AB + 0,039A^2 - 0,002B^2$$

Persamaan tersebut dapat digunakan untuk memprediksi titik optimum dari faktor waktu ekstraksi (A) dan volume pelarut (B) terhadap respon rendemen ekstrak klorofil daun rumput teki. Adapun grafik hubungan waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap respon rendemen klorofil daun rumput teki dapat dilihat pada

**Gambar 4.3** dan **Gambar 4.4**.



**Gambar 4.3** Contour Plot Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Rendemen Klorofil Daun Rumput Teki



**Gambar 4.4** 3D *Surface* Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon Rendemen Klorofil Daun Rumput Teki

Daerah berwarna oranye pada **Gambar 4.3** menunjukkan rendemen yang tinggi dan daerah berwarna biru tua menunjukkan rendemen yang rendah. Rendemen menurun seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi. Peningkatan waktu ekstraksi akan menyebabkan klorofil terdegradasi menjadi feofitin, waktu ekstraksi yang terlalu lama juga menyebabkan pelarut yang menguap semakin banyak sehingga rendemen menurun. **Gambar 4.4** juga menunjukkan bahwa semakin banyak volume pelarut maka rendemen semakin banyak. Volume pelarut yang tinggi akan menyebabkan proses penguapan pelarut semakin lama sehingga menyebabkan rendemen yang dihasilkan tinggi.

c. Analisis pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Analisis pengaruh waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap pH ekstrak klorofil daun rumput teki berupa *sequential model sum of squares*, *model summary statistic*, *lack of fit*, dan ANOVA ditunjukkan pada **Tabel 4.10** hingga **Tabel 4.13**.

**Tabel 4.10** *Sequential Model Sum of Squares* pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value
Mean vs Total	650,30	1	650,30		
Linear vs Mean	0,1372	2	0,0686	10,31	0,0037
2FI vs	0,0138	1	0,0138	2,36	0,1591

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear						
Quadratic vs 2FI	0,0344	2	0,0172	6,59	0,0246	<i>Suggested</i>
Cubic vs Quadratic	0,0133	2	0,0067	6,70	0,0385	<i>Aliased</i>
Residual	0,0050	5	0,0010			
Total	650,50	13	50,04			

Berdasarkan data pada **Tabel 4.10**, model yang disarankan untuk digunakan pada analisa respon rendemen adalah model *quadratic* vs 2FI. Model *quadratic* vs 2FI memberikan hasil yang nyata yang ditunjukkan dengan *p-value* sebesar 0,0246 (kurang dari 5%) yang memiliki arti bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5% pada selang kepercayaan 95%. Hasil *p-value* yang kurang dari 5% menunjukkan bahwa pengaruh model *quadratic* vs 2FI nyata (signifikan) terhadap respon pH.

**Tabel 4.11** Model Summary Statistic pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Std. Dev.	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	PRESS	
Linear	0,0816	0,6735	0,6082	0,3885	0,1246	
2FI	0,0765	0,7413	0,6550	0,2996	0,1427	
Quadratic	0,0511	0,9103	0,8462	0,4850	0,1049	<i>Suggested</i>
Cubic	0,0315	0,9756	0,9415	0,8240	0,0359	<i>Aliased</i>

Model terpilih didasarkan pada nilai standar deviasi dan PRESS (*Prediction Residuals Error Sum of Square*) terendah. Standar deviasi atau simpangan baku menunjukkan tingkat varians dari sekumpulan data. Semakin besar standar deviasi menunjukkan semakin bervariasi atau heterogen angka-angka pada data (Ananda & Fadhli, 2018). Sedangkan nilai PRESS yang semakin kecil menunjukkan kesalahan data semakin kecil pula. Penentuan model yang terbaik difokuskan pada nilai *adjusted R<sup>2</sup>* dan *predicted R<sup>2</sup>* yang maksimal. Hal ini dikarenakan semakin kecil nilai R<sup>2</sup> menunjukkan semakin lemahnya hubungan antara variabel dependen dan independen (Ananda & Fadhli, 2018). Nilai R<sup>2</sup> berkisar pada angka 0 sampai 1, semakin mendekati nilai 1 maka pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen semakin kuat. Berdasarkan tiga kriteria pemilihan model, maka model yang terpilih untuk menjelaskan hubungan

antara waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap respon pH ekstrak klorofil daun rumput teki adalah model *quadratic*. Berikutnya adalah pemilihan model berdasarkan *lack of fit* yang ditunjukkan pada **Tabel 4.12**.

**Tabel 4.12** *Lack of Fit* pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Linear	0,0620	6	0,0103	9,14	0,0253	
2FI	0,0482	5	0,0096	8,53	0,0295	
Quadratic	0,0138	3	0,0046	4,06	0,1047	<i>Suggested</i>
Cubic	0,0004	1	0,0004	0,3982	0,5623	<i>Aliased</i>
Pure Error	0,0045	4	0,0011			

Berdasarkan perhitungan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*), model *quadratic* dinyatakan sebagai *suggested* yaitu model yang terpilih dan memiliki nilai sebesar 0,1047 (nilai *p-value* > 5%) sehingga dapat diartikan model tersebut merupakan model yang tepat untuk respon pH. Model ini dianggap tepat apabila simpangan dari model bersifat tidak berbeda nyata secara statistic pada taraf  $\alpha$  tertentu, untuk kasus ini  $\alpha$  yang digunakan adalah 0,05. Suatu model dianggap tepat untuk menjelaskan suatu permasalahan dari sistem yang dikaji adalah jika ketidaktepatan model bersifat tidak nyata secara statistik. Model terpilih dilakukan analisis ANOVA yang ditunjukkan pada **Tabel 4.13**.

**Tabel 4.13** ANOVA pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,1854	5	0,0371	14,20	0,0015	<i>significant</i>
A-Waktu Ekstraksi	0,1119	1	0,1119	42,85	0,0003	
B-Volume Pelarut	0,0253	1	0,0253	9,70	0,0170	
AB	0,0138	1	0,0138	5,29	0,0551	
A <sup>2</sup>	0,0050	1	0,0050	1,91	0,2099	
B <sup>2</sup>	0,0322	1	0,0322	12,32	0,0099	
Residual	0,0183	7	0,0026			
Lack of Fit	0,0138	3	0,0046	4,06	0,1047	<i>not significant</i>
Pure Error	0,0045	4	0,0011			
Cor Total	0,2037	12				

Berdasarkan proses pemilihan model yang telah dilakukan, model terbaik untuk respon pH adalah model *quadratic*. Pada **Tabel 4.13** dapat dilihat bahwa

model menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai 0,0015 ( $p\text{-value} < 0,05$ ), serta *lack of Fit* menunjukkan hasil tidak signifikan ( $p\text{-value} > 0,05$ ) yaitu 0,1047. Menurut Suhimi (2012)  $p\text{-value}$  kurang dari 0,05 menunjukkan bahwa model bersifat signifikan dan terdapat pengaruh yang signifikan antara satu variabel independen terhadap variabel dependen.

$P\text{-value}$  faktor waktu ekstraksi (A) sebesar 0,0003 (kurang dari 5%) yang memiliki arti bahwa penggunaan waktu ekstraksi pada pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki memiliki pengaruh yang signifikan pada pH yang dihasilkan. Semakin lama waktu ekstraksi maka pH yang dihasilkan semakin menurun. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Ibrahim *et al.*, (2015) dalam pembuatan minuman jahe dimana semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu ekstraksi pembuatan minuman sari jahe maka nilai pH yang dihasilkan akan cenderung menurun. Selama proses ekstraksi terjadi transfer panas dari pelarut (etanol) pada bahan. Lama waktu ekstraksi menyebabkan naiknya energi panas yang terdapat pada pelarut sehingga pelarut akan semakin banyak melarutkan komponen kimia pada bahan. Secara alami larutan ekstrak dari jaringan tumbuhan bersifat asam lemah sehingga mengandung ion-ion  $H^+$  yang bebas. Keasaman dari ekstrak ini akan terus bertambah seiring bertambahnya waktu ekstraksi (Aryanti *et al.*, 2016).

Nilai  $p\text{-value}$  faktor volume pelarut (B) sebesar 0,0170 (lebih kecil dari 5%) yang memiliki arti bahwa jumlah pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi daun rumput teki memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pH ekstrak rumput teki yang dihasilkan. Semakin banyak volume pelarut yang digunakan maka pH yang dihasilkan juga akan semakin meningkat. Pelarut etanol bersifat basa lemah, sehingga dengan adanya basa lemah yang digunakan pada proses ekstraksi akan mengakibatkan pH ekstrak semakin tinggi (Wicaksono *et al.*, 2019).

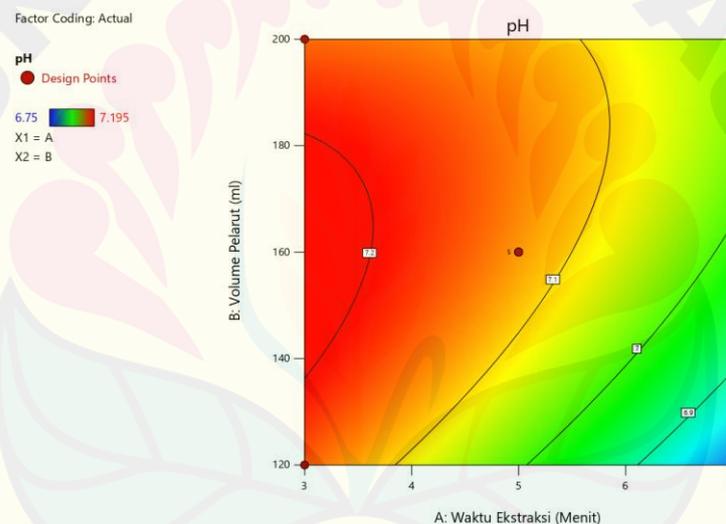
Pada interaksi antara faktor waktu ekstraksi dan volume pelarut (AB), menunjukkan nilai yang tidak signifikan yaitu 0,0551 ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara faktor waktu ekstraksi dan volume pelarut (AB) tidak berpengaruh secara nyata terhadap respon pH. Faktor waktu ekstraksi secara kuadratik ( $A^2$ ) menunjukkan nilai 0.2099 yang berarti nilai tersebut tidak

signifikan ( $p\text{-value} > 0.05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa waktu ekstraksi secara kuadrat ( $A^2$ ) tidak berpengaruh nyata terhadap respon pH. Volume pelarut secara kuadrat ( $B^2$ ) memiliki  $p\text{-value}$  0,0099 yang berarti faktor volume pelarut secara kuadrat ( $B^2$ ) berpengaruh nyata terhadap respon pH.

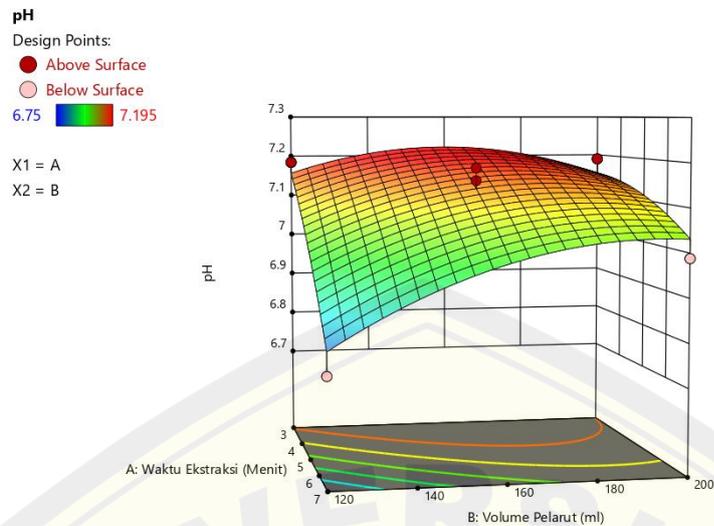
Persamaan aktual model *quadratic* dari respon Y3 (pH) yang dipengaruhi waktu ekstraksi (A) dan volume pelarut (B) adalah sebagai berikut:

$$Y3 = 6,534 - 0,110A + 0,011B + 0,0007AB - 0,007A^2 - 4,250B^2$$

Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui titik optimum pada respon pH. Persamaan tersebut juga dapat digunakan untuk memprediksi respon yang mungkin diperoleh dengan berbagai taraf proporsi. Pengaruh waktu ekstraksi dan volume pelarut terhadap respon pH ekstrak klorofil daun rumput teki digambarkan oleh grafik pada **Gambar 4.5** dan **Gambar 4.6**.



**Gambar 4.5** Contour Plot Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki



**Gambar 4.6** 3D *Surface* Interaksi Variabel Waktu Ekstraksi dan Volume Pelarut Terhadap Respon pH Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Warna merah pada **Gambar 4.5** menunjukkan pH optimum sedangkan warna biru muda menunjukkan pH minimum. **Gambar 4.6** menunjukkan bahwa respon pH menurun seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi. Respon pH meningkat seiring dengan meningkatnya volume pelarut dan akan menurun setelah mencapai titik optimum. Pelarut etanol bersifat basa sehingga semakin banyak volume pelarut yang digunakan menyebabkan peningkatan pH ekstrak klorofil.

#### 4.1.2 Penentuan Hasil Optimasi Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Program *Design Expert* 13 memberikan solusi optimum dari tahap optimasi yang dilakukan berdasarkan nilai *desirability* yang dipilih, nilai *desirability* berkisar antara 0–1. Nilai *desirability* yang tertinggi menunjukkan respon yang paling optimal. Perlakuan optimum dengan nilai *desirability* tertinggi disajikan pada **Tabel 4.14**.

**Tabel 4.14** Perlakuan Optimum Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

No	Waktu Ekstraksi	Volume Pelarut	Klorofil	Rendemen	pH	<i>Desirability</i>	
1	3	120	50,950	61,625	7,157	0,672	<i>Selected</i>

**Tabel 4.14** menunjukkan komponen hasil optimasi menggunakan fungsi *desirability*. Respon optimum yang diharapkan adalah nilai maksimum untuk klorofil, rendemen, dan pH. Tujuan optimasi untuk mencari kondisi terbaik yang mempertemukan semua fungsi tujuan (Agustina *et al.*, 2020). Perlakuan 11 dipilih

sebagai kondisi proses optimum karena memiliki nilai klorofil, rendemen, dan pH yang optimum dari 13 perlakuan. Hasil respon optimum diperoleh pada perlakuan ekstraksi selama 3 menit dengan volume pelarut sebanyak 120 ml dengan nilai *desirability* sebesar 0,672. Nilai *desirability* sebesar 0,672 menunjukkan bahwa proses ekstraksi dengan waktu ekstraksi selama 3 menit dengan volume pelarut sebanyak 120 ml dapat mencapai respon sesuai dengan kriteria yang diharapkan sebesar 67,2%.

#### 4.1.3 Verifikasi Data Optimasi Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Setelah RSM memberikan saran titik optimum pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki maka dilakukan verifikasi data. Verifikasi hasil optimum dilakukan sebagai pembuktian bahwa solusi titik optimum variabel bebas yang diberikan oleh program *Design Expert* benar-benar dapat memberikan hasil respon sesuai dengan respon optimum yang telah ditentukan oleh program dan benar-benar optimal. Verifikasi dilakukan dengan cara membandingkan nilai analisa respon pada penelitian dengan nilai respon hasil perhitungan program *Design Expert*. Tahapan verifikasi dilakukan dengan dua kali ulangan dengan waktu selama 3 menit dan volume pelarut sebanyak 120 ml. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan nilai variabel respon yang diprediksi oleh RSM sehingga dapat dilihat kesesuaiannya. **Tabel 4.15** merupakan hasil perhitungan hasil validasi data optimasi pembuatan ekstrak klorofil daun rumput teki.

**Tabel 4.15** Verifikasi Data Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

<i>Solution</i>	<i>Predicted Mean</i>	<i>Predicted Median</i>	95% PI low	Data Mean	95% PI high
Klorofil	50,9496	50,9496	44,0499	52,1498	57,8493
Rendemen	61,6249	61,6249	55,7592	62,1936	67,4906
pH	7,15701	7,15701	7,02884	7,2	7,28518

Berdasarkan **Tabel 4.15**, perhitungan analisa penelitian didapatkan nilai respon sehingga diperoleh hasil total klorofil sebanyak 52,8337 mg/L dan 51,4659 mg/L, rendemen sebesar 60,4381 % dan 63,9491 %, serta pH 7,21 dan 7,19. Sedangkan perhitungan program *Design Expert* hasil respon total klorofil, rendemen, dan pH berturut-turut sebesar 50.9496 mg/L, 61.6249 %, dan 7.15701. Perbedaan nilai respon prediksi dengan verifikasi lebih kecil dari 5% yang berarti nilai verifikasi sudah sesuai dengan nilai prediksi program. Hal ini diperkuat oleh

pernyataan Hiovenaguna & Widjanarko (2017) bahwa perbedaan nilai prediksi dan nilai penelitian tidak lebih dari 5% mengindikasikan bahwa model tersebut cukup tepat untuk proses dengan demikian selisih nilai tidak terlalu signifikan dan solusi variabel bebas yang diberikan program *Design Expert* dapat diterima.

**Tabel 4.15** menunjukkan bahwa data mean respon total klorofil, rendemen, dan pH berada pada rentang batas atas dan batas bawah sehingga dapat disimpulkan data verifikasi telah sesuai. Nilai PI (*Prediction Interval*) adalah rentang yang menunjukkan ekspektasi hasil pengukuran respon berikutnya dengan perlakuan yang sama. Hasil nilai aktual menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh masuk dalam rentang 95% PI *low* dan 95% PI *high*, hal tersebut membuktikan bahwa kondisi proses optimum yaitu ekstraksi dengan waktu 3 menit dan volume pelarut 120 ml memiliki hasil pengujian yang sesuai dengan prediksi yang direkomendasikan oleh program. 95% *prediction interval* menunjukkan bahwa 95% data respon sampel yang terukur berada pada selang tersebut, sedangkan 5% merupakan error yang berada diluar batas selang tersebut.

## 4.2 Analisis Penunjang Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

### 4.2.1 Total Padatan Terlarut Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan menggunakan alat refraktometer. Total padatan terlarut menunjukkan persen bahan terlarut dalam suatu larutan yang dinyatakan dalam satuan %gula atau °Brix. Sebagian besar komponen yang terkandung terdiri atas komponen-komponen yang larut air seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, dan protein (Ratna *et al.*, 2021). Dalam pembuatan ekstrak klorofil diharapkan memiliki total padatan terlarut dalam jumlah kecil agar menurunkan risiko terjadinya *browning non enzimatik* yang dapat menyebabkan intensitas warna hijau pada klorofil berkurang. *Browning non enzimatik* disebabkan karena reaksi *maillard*, yaitu reaksi yang terjadi antara gula pereduksi (melalui sisi keton dan aldehid yang reaktif) dengan asam-amino (melalui gugus amina).

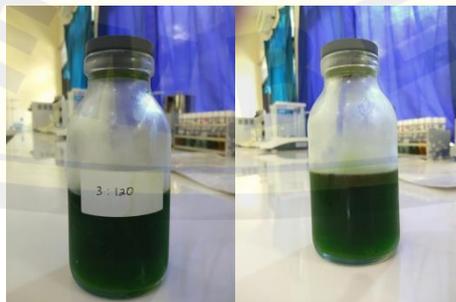
Hasil pengukuran pada ekstrak daun rumput teki optimum diperoleh hasil total padatan terlarut sebesar 1,015 °Brix. Total padatan terlarut yang didapatkan

pada ekstrak daun rumput teki cukup rendah sehingga resiko terjadinya *browning non enzimatik* juga akan semakin rendah. Penelitian Widyasanti *et al.* (2022) ekstraksi daun stevia menggunakan metode MAE dengan rasio bahan baku: pelarut sebesar 1:40 (g/ml) dan waktu ekstraksi 4 menit menghasilkan nilai padatan terlarut sebesar 1,10 °Brix. Total padatan terlarut ekstrak daun stevia yang dihasilkan memiliki nilai yang tidak jauh berbeda dengan total padatan terlarut pada ekstrak daun rumput teki.

#### 4.2.2 Warna Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki

Warna ekstrak klorofil daun rumput teki optimum diukur dengan menggunakan *color reader* dan diperoleh hasil pengukuran nilai L\*, a\*, b\*, berturut-turut adalah 66,1, -2,1, dan 1,9. Nilai L\* sebesar 66,1 menunjukkan bahwa ekstrak klorofil daun rumput teki yang dihasilkan memiliki tingkat kecerahan yang relatif gelap karena konsentrasi klorofil yang tinggi. Kandungan pigmen yang tinggi pada bahan yang diekstrak mempengaruhi tingkat kecerahan. Menurut Manasika & Widjanarko (2015) semakin tinggi konsentrasi pigmen menyebabkan tingkat kecerahan menurun dan warna akan menjadi lebih gelap.

Nilai a\*, b\* digunakan untuk melakukan perhitungan °Hue (sudut rona atau warna). Nilai °Hue menunjukkan derajat visual warna yang terlihat. °Hue ekstrak klorofil daun rumput teki yang diperoleh bernilai 222,145, nilai tersebut masuk dalam rentang 198°-234° dengan kisaran warna kromatisitas *blue green*. Total klorofil berpengaruh terhadap warna °Hue, dimana °Hue secara signifikan berkorelasi linear dengan kandungan klorofil (Adip *et al.*, 2014). Pada penelitian Widyasanti *et al.* (2022) ekstraksi daun stevia menggunakan metode MAE didapatkan nilai °Hue berkisar antara 72,72-76,37.



**Gambar 4.7** Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki Optimum

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari berbagai tahapan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil kondisi proses optimum diperoleh pada perlakuan ke 11 dengan kombinasi waktu ekstraksi selama 3 menit dengan volume pelarut sebanyak 120 ml dan diperoleh karakteristik respon berupa total klorofil sebesar 53,214 mg/L, rendemen sebanyak 61,81 %, dan pH 7,19. Hasil tersebut didasarkan pada nilai *desirability* tertinggi yaitu sebesar 0,672. Hasil verifikasi kondisi proses optimum diperoleh rata-rata total klorofil, rendemen, dan pH berturut-turut sebesar 52.1498 mg/L, 62.1936 %, dan 7.2. Nilai rata-rata tersebut berada pada rentang batas atas dan batas bawah sehingga dapat disimpulkan bahwa kondisi proses optimum telah sesuai.
2. Hasil uji total padatan terlarut diperoleh hasil sebesar 1,015 °Brix. Pada uji warna dilakukan dengan menggunakan tiga parameter yaitu L (*lightness*), a (*redness*), dan b (*yellowness*). Diperoleh hasil pengukuran nilai L\*, a\*, b\* berturut-turut adalah 66,1, -2,1, dan 1,9. Perhitungan nilai °Hue diperoleh hasil sebesar 222,145 yang menunjukkan bahwa ekstrak klorofil daun rumput teki termasuk dalam warna kromatisitas *blue green*.

### 5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai stabilitas warna yang dihasilkan dari ekstrak klorofil daun rumput teki karena pewarna alami bersifat sensitif terhadap beberapa faktor seperti lama penyimpanan, suhu, pH, cahaya, udara, dan kelembaban. Diperlukan juga adanya penelitian tentang aplikasi pewarna alami dari ekstrak klorofil daun rumput teki sebagai pewarna makanan maupun tekstil dalam skala besar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiansyah, M., Hendrawan, Y., & Sumarian, S. H. 2018. Pemodelan dan Optimasi Proses Biofiksasi Karbondioksida pada Biogas Menggunakan Java Moss (*Taxiphyllum Barbieri*) dengan *Response Surface Methodology*. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 6(1), 1–8.
- Adip, M. S., Hendrarto, B., Purwanti, F., Studi, P., Sumberdaya, M., Perikanan, J., & Diponegoro, U. 2014. Nilai Hue Daun Rhizophora: Hubungannya dengan Faktor Lingkungan dan Klorofil Daun di Pantai Ringgung, Desa Sidodadi, Kecamatan Padang Cermin, Lampung. *Diponegoro Journal of Maquares*, 3(2), 20–26. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/maquares>
- Agustina, W., Dzakia, N. F., Cahyadi, W., Nanang, D., Iwansyah, A. C., Studi, P., Pangan, T., Teknik, F., & Pasundan, U. 2020. Optimasi Formula dan Karakterisasi Produk Cookies Berbahan Dasar Pasta Kacang Mete (*Anacardium Occidentale* L). *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 14(2), 176–187.
- Ajiningrum, P. S. 2018. Kadar Total Pigmen Klorofil Tanaman *Avicennia marina* pada Tingkat Perkembangan Daun yang Berbeda. *STIGMA: Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 11(2), 52–59. <https://doi.org/10.36456/stigma.vol11.no02.a1734>
- Akbar, R., & Murtini, E. S. 2018. Optimasi Suhu dan Waktu Pemanasan Terhadap Profil Warna Minuman Sari Tebu. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 6(3), 48–57. <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2018.006.03.6>
- Amelinda, E., Widarta, I. W. R., & Darmayanti, L. P. T. 2018. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 165–174. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p03>
- Ananda, R., & Fadhli, M. 2018. *Skatistik Pendidikan*. Medan: CV. Widya Puspita.
- Anwar, K., Istiqamah, F., & Hadi, S. 2021. Optimasi Suhu dan Waktu Ekstraksi Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* jack.) Menggunakan Metode RSM (*Response Surface Methodology*) dengan Pelarut Etanol 70%. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 53–64. <https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9085>
- Aryanti, N., Nafiunisa, A., & Willis, F. M. 2016. Ekstraksi dan Karakterisasi Klorofil dari Daun Suji (*Pleomele Angustifolia*) sebagai Pewarna Pangan Alami. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(4), 129–135. <https://doi.org/10.17728/jatp.196>

- Aulia, L. P., & Widjanarko, S. B. 2018. Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dengan Respon Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol. *Jurnal Agroindustri Halal*, 4(1), 79–87.
- Berlin, S. W., Linda, R., & Mukarlina. 2017. Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Bahan Pewarna Alami oleh Suku Dayak Bidayuh di Desa Kenaman Kecamatan Sekayam Kabupaten Sanggau. *Jurnal Protobiont*, 6(3), 303–309.
- Damar, A. C., Runtuwene, M. R. J., & Wewekang, D. S. 2014. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch f). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(4), 11–21.
- Du, L., Yang, X., Song, J., Ma, Z., Zhang, Z., & Pang, X. 2014. Characterization of the Stage Dependency of High Temperature on Green Ripening Reveals a Distinct Chlorophyll Degradation Regulation in Banana Fruit. *Scientia Horticulturae*, 180, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.026>
- Dwiastuti, R., & Dewi, N. K. D. P. K. 2022. Aplikasi Metode Optimasi *Central Composite Design* dalam Formulasi Sediaan Gel Nanopartikel Lipid dengan Bahan Aktif 4-n-Butilresorcinol. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(1), 71–81.
- Dwipayana, I. M., Wartini, N. M., & Wrsiati, L. P. 2019. Pengaruh Perbandingan Bahan Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Karakteristik Ekstrak Pewarna Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 571–580. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p09>
- Ernawati, N. M. L., & Ngawit, I. K. 2015. Eksplorasi dan Identifikasi Gulma, Hijauan Pakan dan Limbah Pertanian yang Dimanfaatkan sebagai Pakan Ternak di Wilayah Lahan Kering Lombok Utara. *Buletin Peternakan*, 39(2), 92–102. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v39i2.6713>
- Fajar, A., Ibrahim, R., & Dewi, E. 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.
- Hana, A., & Hifzul, K. 2018. Unani Perspective and New Researches of Sa'ad ku'fi (*Cyperus rotundus*): A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(6), 378–381. <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i6.2059>
- Handayani, P. A., Abdullah, A., & Hadiyanto, H. 2017. Biodiesel Production from Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) Oil using Ionic Liquid as a Catalyst and Microwave Heating System. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering*

& *Catalysis*, 12(2), 293–298. <https://doi.org/10.9767/bcrec.12.2.807.293-298>

Hanif, A., Widyasanti, A., & Putri, S. H. 2021. Optimization of Microwave Assisted Extraction Process on Oleoresin of Kuweni Mango Peels Extracts Using Surface Response Methodology. *Agrointek : Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(4), 1084–1098. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i4.10175>

Hermiati, Naomi Yemima Manalu, & Mersi Suriani Sinaga. 2013. Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Merah sebagai Antioksidan pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(1), 37–43. <https://doi.org/10.32734/jtk.v2i1.1425>

Hidayat, I. R., Zuhrotun, A., & Sopyan, I. 2021. *Design-expert Software* sebagai Alat Optimasi Formulasi Sediaan Farmasi. *Majalah Farmasetika*, 6(1), 99–120.

Hiovenaguna, M. B., & Widjanarko, B. S. 2017. Optimasi Proses Pembuatan Brem Padat dengan Penambahan Sari Buah Jeruk. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 5(3), 6–14.

Hsu, C.-Y., Chao, P.-Y., Hu, S.-P., & Yang, C.-M. 2013. The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 1–8. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.48a001>

Hung, S. M., Hsu, B. D., & Lee, S. 2014. Modelling of Isothermal Chlorophyll Extraction from Herbaceous Plants. *Journal of Food Engineering*, 128, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.12.005>

Ibrahim, A. M., Sriherfyna, F. H., & Yunianta. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Sifat Kimia dan Fisik pada Pembuatan Minuman Sari JAhe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dengan Kombinasi Penambahan Madu sebagai Pemanis. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 530–541.

Indrasti, D., Andarwulan, N., Purnomo, E. H., & Wulandari, N. 2019. Suji Leaf Chlorophyll: Potential and Challenges as Natural Colorant. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 24(2), 109–116. <https://doi.org/10.18343/jipi.24.2.109>

Ingrath, W., Nugroho, W. A., & Yulianingsih, R. 2015. Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarna Alami Makanan dengan Menggunakan *Microwave* (Kajian Waktu Pemanasan dengan *Microwave* dan Penambahan Rasio Pelarut Aquades dan Asam Sitrat). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3(3), 1–8.

Iriyani, D., & Nugrahani, P. 2014. Kandungan Klorofil, Karotenoid, dan Vitamin C Beberapa Jenis Sayuran Daun pada Pertanian Periurban di Kota Surabaya.

*Jurnal Matematika Sains Dan Teknologi*, 15(2), 84–90.

Kabbashi, A. S., Almagboul, A. Z., Koko, W. S., Noor, M. O., Abuzeid, N. M., Garbi, M. I., Osman, E. E., & Dahab, M. M. 2016. Antigiardial and Cytotoxicity of Ethanolic Extract of *Cyperus rotundus* L. *LRJ of Medicine and Medical Science*, 3(1).

Kamaluddin, M. H., Lutfi, M., & Hendrawan, Y. 2014. Analisa Pengaruh *Microwave Assisted Extraction* (MAE) Terhadap Ekstraksi Senyawa Antioksidan Catechin pada Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) (Kajian Waktu Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 2(2), 147–155.

Kristanti, Y., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. 2019). Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 94–103. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p11>

Lawendatu, O. P. G., Pontoh, J., & Kamu, V. S. 2019. Analisis Kandungan Klorofil pada Berbagai Posisi Daun dan Anak Daun Aren (*Arrenga pinnata*). *Chemistry Progress*, 12(2), 67–72. <https://doi.org/10.35799/cp.12.2.2019.27925>

Mahfudh, I., Santosa, G. W., & Pramesti, R. 2021. Stabilitas Ekstrak Kasar Klorofil-a dan b Rumput Laut *Caulerpa racemosa* (*Forsskal*) J. Agardh 1873 pada Suhu dan Lama Penyimpanan yang Berbeda. *Journal of Marine Research*, 10(2), 184–189. <https://doi.org/10.14710/jmr.v10i2.29685>

Maliaentika, S., Yuwono, S. S., & Wijayanti, N. 2016. Optimasi Penurunan Kadar Air Madu Metode *Adsorption Drying* dengan *Response Surface Methodology* (RSM). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(2), 505–514. <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/358>

Manasika, A., & Widjanarko, S. B. 2015. Ekstraksi Pigmen Karotenoid Labu Kabocha Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi) . *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 928–938. <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/215>

Muthoharoh, H., & Nikmah, K. 2019a. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus Rotundus* L.). *J-HESTECH (Journal Of Health Educational Science And Technology)*, 2(2), 127–132. <https://doi.org/10.25139/htc.v2i2.2075>

Muthoharoh, H., & Nikmah, K. 2019b. Skrining Fitokimia Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) sebagai Obat Tetes untuk Sakit Gigi. *Prosiding*

*SNasPPM*, 1(2), 90–93.  
<https://snasppm.unirow.ac.id/prosiding/index.php/SNasPPM/article/view/276>

Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. 2017. Natural Colorants: Pigment Stability and Extraction Yield Enhancement via Utilization of Appropriate Pretreatment and Extraction Methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243–3259.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498>

Nurmiah, S., Syarief, R., Sukarno, S., Peranganing, R., & Nurmata, B. 2013. Aplikasi *Response Surface Methodology* pada Optimalisasi Kondisi Proses Pengolahan Alkali Treated Cottonii (ATC). *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 8(1), 9–22.  
<https://doi.org/10.15578/jpbkp.v8i1.49>

Octaviani, M. A., Dewi, D. R. S., & Asrini, L. J. 2017. Optimasi Faktor yang Berpengaruh pada Kualitas Lilin di Ud.X dengan Metode *Response Surface*. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, 16(1), 29–38.

Pandey, P. V., Bodhi, W., & Yudistira, A. 2013. Uji Efek Analgetik Ekstrak Rumpuk Teki (*Cyperus Rotundus L.*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Novergicus*). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 44–48.

Perincek, O., & Colak, M. 2013. Use of Experimental Box-Behnken Design for the Estimation of Interactions Between Harmonic Currents Produced by Single Phase Loads. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 3(2), 158–165.

Pradana, N. D., Saraswati, R., & Deviyanti, I. G. . S. 2022. Optimasi Output Produksi Kakao Bubuk pada Bagian Mixing dengan Menggunakan *Response Surface Methodology – Box Behnken Design* di PT. X. *Jurnal Riset Teknik*, 1(3), 1–12. <https://doi.org/10.54980/jer.v1i3.177>

Pujilestari, T. 2015. Review: Sumber dan Pemanfaatan Zat Warna Alam untuk Keperluan Industri. *Dinamika Kerajinan Dan Batik: Majalah Ilmiah*, 32(2), 93–106. <https://doi.org/10.22322/dkb.v32i2.1365>

Pumilia, G., Cichon, M. J., Cooperstone, J. L., Giuffrida, D., Dugo, G., & Schwartz, S. J. 2014. Changes in Chlorophylls, Chlorophyll Degradation Products and Lutein in Pistachio Kernels (*Pistacia vera L.*) during Roasting. *Food Research International*, 65, 193–198.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.047>

Rahayuningsih, E., Pamungkas, M. S., Olvianas, M., & Putera, A. D. P. 2018. Chlorophyll Extraction from Suji Leaf (*Pleomele angustifolia* Roxb.) with ZnCl<sub>2</sub> Stabilizer. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 1028–

1036. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-3016-7>

Ratna, N. K. A. N., Puspawati, G. A. K. D., & Permana, I. D. G. M. 2021. Pengaruh Konsentrasi Maltodekstrin dan Tween 80 Terhadap Karakteristik Bubuk Minuman Instan Bunga Gumitir (*Tagetes erecta* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(4), 761–777. <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i04.p21>

Ratnawati, S. E., Ekantari, N., Pradipta, R. W., & Paramita, B. L. 2018. Aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM) pada Optimasi Ekstraksi Kalsium Tulang Lele. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 20(1), 41–48.

Riansyah, H., Maharani, D. M., & Nugroho, A. 2021. Intensitas dan Stabilitas Warna Ekstrak Daun Pandan, Suji, Katuk, dan Kelor Sebagai Sumber Pewarna Hijau Alami. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 15(1), 103–112. <https://doi.org/10.26578/jrti.v15i1.6549>

Rosahdi, T. D., Susanti, Y., & Suhendar, D. 2015. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen pada Fraksi Aseton dari Mikroalga *Chlorella Vulgaris*. *Jurnal ISTEK*, 9(1), 1–16.

Sa'diyah, R. A., Budiono, J. D., & Suparno, G. 2015. Penggunaan Filtrat Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai Pewarna Alternatif Jaringan Tumbuhan pada Tanaman Melinjo (*Gnetum gnemon*). *Bioedu*, 4(1), 765–769.

Sari, B. L., Triastinurmiatiningsih, & Haryani, T. S. 2020. Optimasi Metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk Menentukan Kadar Flavonoid Total Alga Coklat Padina australis. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 38–49. <https://doi.org/10.20961/alchemy.16.1.34186.38-49>

Singh, A., Singh, A. P., & Ramaswamy, H. S. 2015. Effect of Processing Conditions on Quality of Green Beans Subjected to Reciprocating Agitation Thermal Processing. *Food Research International*, 78, 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.040>

Sumiati. 2021. Penggunaan Pelarut Etanol dan Aseton pada Prosedur Kerja Ekstraksi Total Klorofil Daun Jati (*Tectona grandis*) dengan Metode Spektrofotometri. *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 30–35. <https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65418>

Tania, A. D., Suoth, E. J., Fatimawali, & Tallei, T. E. 2021. Identifikasi Komponen Senyawa dalam Ekstrak N-Heksana Umbi Rumpun Teki (*Cyperus rotundus* L.) dengan Analisis GC-MS. *Jurnal Pharmacon*, 10(3), 975–984.

Visalakshi, M., & Jawaharlal, M. 2013. Healthy Hues – Status and Implication in Industries – Brief Review. *Journal of Agriculture and Allied Sciences*, 2(3),

42–51. <http://www.rroij.com/open-access/healthy-hues--status-and-implication-in-industries--brief-review.php?aid=33810>

Wadli, & Hasdar, M. 2021. Ekstraksi Beras Hitam Sirampog Berbantu Gelombang Mikro (*Microwave Assisted Extraction* (Mae)). *Jurnal Pengolahan Pangan*, 6(2), 49–53. <https://doi.org/10.31970/pangan.v6i2.49>

Wahyuni, Y. A. T., Puspawati, G. A. K. D., & Putra, I. N. K. 2021. Pengaruh Jenis Pelarut pada Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(4), 566–578. <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i04.p03>

Wicaksono, L. A., Winarti, S., & Amalusholikha, D. 2019. The Influence of Various Proportions of Solvent on Extraction and Stability of Natural Colorant From Mangsi Fruit (*Phyllanthus reticulatus*). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 4(1), 27–35.

Widyasanti, A., Aryadi, H., & Rohdiana, D. 2018. Pengaruh Perbedaan Lama Ekstraksi Teh Putih dengan Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*, 22(2), 165–174. <https://doi.org/10.25077/jtpa.22.2.165-174.2018>

Widyasanti, A., Klarasitadewi, A., & Nurjanah, S. 2022. Pengaruh Rasio Bahan-Pelarut dan Lama terhadap Karakteristik Fisikokimia Ekstrak Cair Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Jurnal Agroindustri*, 12(2), 86–95. <https://doi.org/10.31186/j.agroind.12.2.86-95>

Yernisa, Gumbira-Sa'id, E., & Syamsu, K. 2013. Aplikasi Pewarna Bubuk Alami dari Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) pada Pewarnaan Sabun Transparan. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 23(3), 190–198.

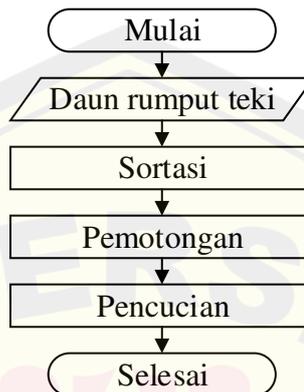
Yudharini, G. A. K. F., Suryawan, A. A. P. A., & Wartini, N. M. 2016. Pengaruh Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Karakteristik Ekstrak Pewarna dari Buah Pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 4(3), 36–46. <http://www.tjyybjb.ac.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=9987>

Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. 2016. Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.). *Teknik Kimia*, 10(2), 58–64.

LAMPIRAN

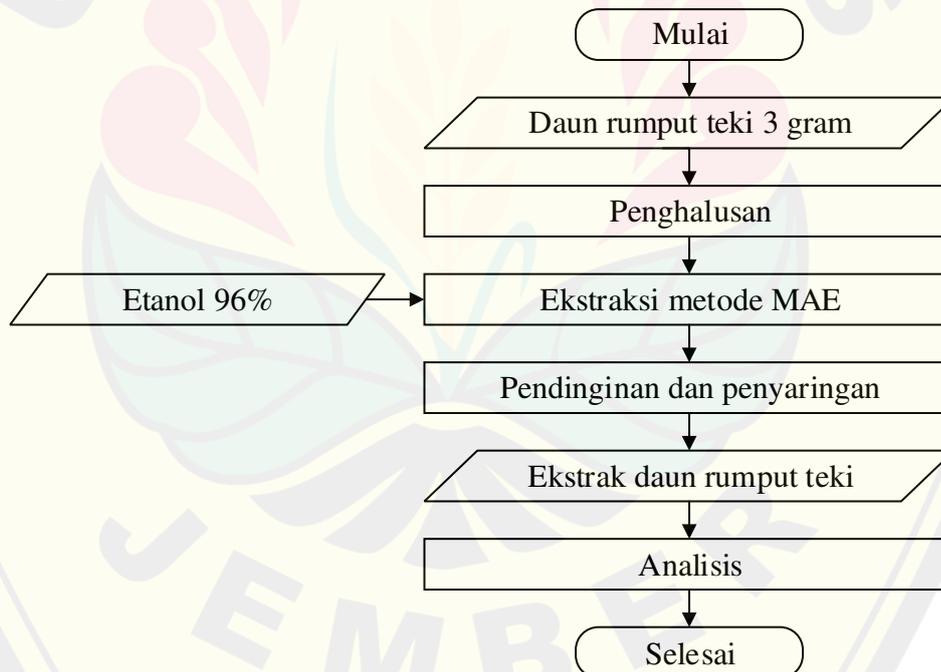
Lampiran 1. Diagram Alir

1.1 Persiapan Bahan Baku



Gambar 1.1 Diagram Alir Persiapan Bahan Baku

1.2 Pembuatan Ekstrak klorofil Daun Rumput Teki



Gambar 1.2 Diagram Alir Pembuatan Ekstrak klorofil Daun Rumput Teki

**Lampiran 2. Perhitungan Analisis Ekstrak Klorofil Daun Rumput Teki**

## 2.1. Total Klorofil Ekstrak Daun Rumput Teki Run 1

Diketahui : Abs 649 Percobaan 1 = 0,936

Abs 665 Percobaan 1 = 2,187

Abs 649 Percobaan 2 = 0,967

Abs 665 Percobaan 2 = 2,151

Ditanya : Rata-rata total klorofil ?

Jawab :

$$\begin{aligned}
 \text{Total klorofil percobaan 1} &= 20,0 \text{ D-649} + 6,10 \text{ D-665} \\
 &= (20,0 \times 0,936) + (6,10 \times 2,187) \\
 &= 18,720 + 13,341 \\
 &= 32,061 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Total klorofil percobaan 2} &= 20,0 \text{ D-649} + 6,10 \text{ D-665} \\
 &= (20,0 \times 0,967) + (6,10 \times 2,151) \\
 &= 19,340 + 13,121 \\
 &= 32,461 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata total klorofil} &= \frac{\text{total klorofil percobaan 1} + \text{total klorofil percobaan 2}}{2} \\
 &= \frac{32,061 \text{ mg/L} + 32,461 \text{ mg/L}}{2} \\
 &= 32,261 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

## 2.2. Rendemen Ekstrak Daun Rumput Teki Run 1

Diketahui : Berat awal sampel percobaan 1 = 166,83 gr

Berat ekstrak percobaan 1 = 102,12 gr

Berat awal sampel percobaan 2 = 165,85 gr

Berat ekstrak percobaan 2 = 101,54 gr

Ditanya : Rendemen ?

$$\begin{aligned}
 \text{Jawab : Rendemen percobaan 1} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{102,12 \text{ gr}}{166,83 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 0,6121 \times 100\% \\
 &= 61,21\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen percobaan 2} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{101,54 \text{ gr}}{165,85 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 0,6122 \times 100\% \\
 &= 61,22\%
 \end{aligned}$$

Rata-rata rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{rendemen percobaan 1} + \text{rendemen percobaan 2}}{2} \\
 &= \frac{61,21\% + 61,22\%}{2} \\
 &= 61,22\%
 \end{aligned}$$

2.3. °Hue Ekstrak Daun Rumput Teki Optimum

Diketahui :  $a^* = -2,1$   
 $b^* = 1,9$

Ditanya : °Hue ?

$$\begin{aligned}
 \text{Jawab : } \text{°Hue} &= \text{Tan}^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \\
 &= \text{Tan}^{-1}\left(\frac{1,9}{-2,1}\right) \\
 &= 222,145
 \end{aligned}$$

**Lampiran 3. Hasil Analisis Ekstrak Klorofil Daun Rumpuk Teki**

## 3.1 Hasil Uji Total Klorofil

**Tabel 3.1** Hasil Uji Total Klorofil

Run	Penelitian 1			Penelitian 2			Rata-rata
	Gel 649	Gel 665	Total Klorofil	Gel 649	Gel 665	Total Klorofil	Total Klorofil
1	0.936	2.187	32.061	0.967	2.151	32.461	32.261
2	1.599	2.736	48.670	1.571	2.841	48.750	48.710
3	1.590	2.097	44.600	1.663	2.099	46.064	45.332
4	2.629	2.795	69.630	2.617	2.784	69.322	69.476
5	1.525	2.743	47.240	1.464	2.981	47.464	47.352
6	1.635	2.101	45.524	1.493	2.729	46.507	46.016
7	1.278	2.072	38.199	1.253	2.095	37.840	38.019
8	2.469	2.527	64.787	2.504	2.551	65.641	65.214
9	2.728	2.113	67.455	2.705	2.194	67.483	67.469
10	1.595	2.735	48.578	1.621	2.782	49.390	48.984
11	1.854	2.776	54.010	1.806	2.672	52.419	53.214
12	0.866	1.806	28.331	0.837	1.784	27.622	27.977
13	1.611	2.741	48.940	1.601	2.813	49.179	49.060

## 3.2 Hasil Uji Rendemen

**Tabel 3.2** Hasil Uji Rendemen

Run	Penelitian 1			Penelitian 2			Rata-rata
	Larutan	Ekstrak	Rendemen	Larutan	Ekstrak	Rendemen	Rendemen
1	166.83	102.12	61.21	165.85	101.54	61.22	61.22
2	156.25	73.16	46.82	154.10	75.34	48.89	47.86
3	123.58	69.38	56.14	122.87	63.84	51.96	54.05
4	124.14	42.67	34.37	123.07	42.24	34.32	34.35
5	122.61	69.20	56.44	121.43	68.52	56.43	56.43
6	123.31	74.74	60.61	122.36	74.05	60.52	60.56
7	124.11	96.89	78.07	125.24	97.81	78.10	78.08
8	94.15	21.73	23.08	93.22	27.50	29.50	26.29
9	81.90	29.81	36.40	82.81	30.21	36.48	36.44
10	122.17	63.83	52.25	123.30	64.70	52.47	52.36
11	91.95	58.23	63.33	93.71	56.50	60.29	61.81
12	154.05	116.29	75.49	153.60	112.96	73.54	74.52
13	123.74	69.74	56.36	123.09	69.33	56.32	56.34

## 3.3 Hasil Uji pH

**Tabel 3.3** Hasil Uji pH

Run	pH Penelitian 1	pH Penelitian 2	Rata-rata pH
1	7.06	7.09	7.08
2	6.96	7.02	6.99
3	7.08	7.13	7.11
4	6.94	7.01	6.98
5	7.12	7.12	7.12
6	7.15	7.15	7.15
7	7.18	7.21	7.20
8	6.74	6.76	6.75
9	6.89	6.97	6.93
10	7.09	7.11	7.10
11	7.18	7.19	7.19
12	7.17	7.21	7.19
13	7.17	7.19	7.18

**Lampiran 4. Dokumentasi**



Gambar 1. Daun rumput teki



Gambar 2. Penghalusan daun rumput teki



Gambar 3. Penambahan pelarut etanol



Gambar 4. Penimbangan larutan sebelum ekstraksi



Gambar 5. Ekstraksi metode MAE



Gambar 6. Penyaringan ekstrak daun rumput teki



Gambar 7. Penimbangan larutan setelah ekstraksi



Gambar 8. Penyimpanan ekstrak daun rumput teki



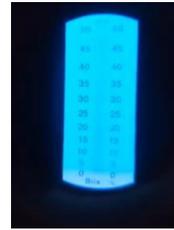
Gambar 9. Uji total klorofil ekstrak daun rumput teki



Gambar 10. Uji pH ekstrak daun rumput teki



Gambar 11. Uji total padatan terlarut ekstrak daun rumput teki



Gambar 12. Uji warna ekstrak daun rumput teki

