

Kadar Total Pigmen Klorofil dan Senyawa Antosianin Ekstrak Kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) Berdasarkan Umur Daun

The Total Content of Chlorophyll Pigments and Anthocyanin Compounds of *Euphorbia pulcherrima* based on Age of Their Leaf

Rendy Rohmatul Maulid, Ainun Nikmati Laily

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Jl. Gajayana 50, Malang, Indonesia

maulid_rendy@yahoo.com; lailynun@gmail.com

Abstract: Studies on the content of the pigment chlorophyll and anthocyanin pigments in the leaves of plants kastuba at different levels of development has not been done. The leaves of this plant shows a very noticeable difference in color. At the level of developments in the oldest leaves (bottom) has a dark green color, while at the level of development of the youngest leaves (above) has a deep red color. This indicates that the difference in the color of the leaves with different levels of development shows the different types of pigments. The purpose of this study was to compare the content of the pigment chlorophyll and anthocyanin pigments in leaves kastuba (*Euphorbia pulcherrima*.) At different levels of development leaves. This research was conducted by the method of extraction and maceration using 70% ethanol. The extract obtained is used to test the color stability during storage for 2 days. After the leaves are extracted with 70% alcohol, chlorophyll content was measured using a spectrophotometer at λ 649 and 665 nm and anthocyanin content was measured using a spectrophotometer at λ 510 and 700 nm. The results showed that there are differences in chlorophyll and anthocyanin content in leaves of different levels of development. Between green leaves and red leaf, the highest levels of chlorophyll pigments in leaves of green, at the level of the first leaf (leaf oldest) and the lowest in the red leaves, at the level of the third leaf (leaves most young). Levels of anthocyanin compounds in the leaves of different age levels turned out to show different results. Between green leaves and red leaf, the highest levels of anthocyanin compounds in the leaves that are colored green, at the lowest level (the oldest) and the lowest in the leaves red, at the top level (the youngest)

Keywords: microalgae, Chlorophyta

1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan dipengaruhi oleh faktor eksternal dan internal. Faktor-faktor eksternal utama adalah tanah, kelembaban, cahaya dan air. Faktor-faktor internal dapat mencakup gen, hormon, struktur anatomi dan morfologi organ tumbuhan serta kandungan klorofil dan pigmen lainnya (Lakitan, 2001).

Klorofil adalah pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas. Pada tumbuhan tingkat tinggi, kloroplas terutama terdapat pada jaringan parenkim palisade dan parenkim spons daun. Dalam kloroplas, pigmen utama klorofil serta karotenoid dan xantofil terdapat pada membran tilakoid (Sumaenda, 2011).

Pada tumbuhan tingkat tinggi, klorofil a dan klorofil b merupakan pigmen utama fotosintetik, yang berperan menyerap cahaya violet, biru, merah dan memantulkan cahaya hijau. Molekul klorofil

adalah suatu derivat porfirin yang mempunyai struktur tetrapirrol siklis dengan satu cincin pirol yang sebagian tereduksi (Sumenda, 2011).

Antosianin adalah pigmen yang larut dalam air yang menyebabkan warna merah, ungu, dan biru serta banyak ditemukan pada buah dan bunga. Antosianin ini merupakan zat warna yang bersifat polar dan akan larut dengan baik pada pelarut polar. Faktor faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin non enzimatik adalah pengaruh dari pH, suhu, dan juga cahaya (Salisbury, 1991).

Antosianin termasuk golongan senyawa flavonoid, merupakan kelompok terbesar pigmen alami pada tumbuhan yang larut dalam air yang bertanggung jawab untuk memberikan warna pada bunga, buah dan sayuran. Antosianin dapat juga bermanfaat bagi kesehatan sebagai sumber antioksidan. Hal ini disebabkan senyawa polifenolik ini merupakan glikosida turunan polihidroksi dan

polimetoksi dari 2-phenilbenzopiriliumat atau garam flavilium (Salisbury, 1991).

Antosianin merupakan senyawa polar, sehingga dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar seperti air, ethanol dan methanol. Metode ekstraksi antosianin yang paling sering digunakan adalah dengan menggunakan etanol. Namun, yang paling efektif adalah dengan menggunakan methanol. Pigmen antosianin dapat larut dalam ethanol karena antosianin merupakan senyawa polar dan ethanol merupakan pelarut yang bersifat polar juga (Farida, 2014).

Tanaman Kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) menunjukkan perbedaan warna dalam pertumbuhan daunnya. Daun pada pucuk atau bagian atasnya yang muda berwarna merah tua, dan daun tua di bagian bawah berwarna hijau gelap. Perbedaan warna daun menunjukkan adanya perbedaan kandungan pigmen daun termasuk pigmen klorofil dan antosianin (Markham, 1988).

Kajian analisis kandungan klorofil dan antosianin ini masih terbatas. Penelitian ini dilakukan untuk memberikan informasi ilmiah tentang kandungan klorofil dan antosianin daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) pada tingkat perkembangan daun yang berbeda. Informasi ini merupakan data awal atau pembanding untuk penelitian yang berhubungan dengan kandungan klorofil dan antosianin pada suatu tumbuhan.

Kestabilan warna senyawa antosianin dipengaruhi oleh pH atau tingkat keasaman, dan akan lebih stabil apabila dalam suasana asam atau pH yang rendah. Kestabilan antosianin juga dipengaruhi oleh suhu. Laju kerusakan (degradasi) antosianin cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna pada antosianin yang akhirnya terjadi pencoklatan (Hayati, 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti melakukan penelitian tentang analisis kandungan total antosianin yang terdapat pada ekstrak daun kastuba. Penelitian ini terfokus pada pengaruh jenis pelarut dan umur daun terhadap total konsentrasi senyawa antosianin ekstrak daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima*).

2. METODE

2.1. Materi

2.1.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang tersusun atas 1 faktor perlakuan yaitu umur daun yang terdiri

atas 2 level (paling atas dan paling bawah). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 12 satuan percobaan.

2.1.2. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 di Laboratorium Genetika dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

2.1.3. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) pada tingkat paling atas dan paling bawah yang masih segar dan yang sudah dikeringkan (dioven) selama 24 jam. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70 %.

2.1.4. Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, seperangkat alat gelas, pisau atau alat pemotong, mortar dan penggerusnya, timbangan analitik, kertas saring, oven, tabung reaksi, rak tabung reaksi, corong, Spektrofotometer UV-Vis, dan tabung cuvet.

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1. Ekstraksi Pigmen Klorofil

- Daun kastuba dipetik dari pohon, sesuai tingkat perkembangan daun yaitu bagian ujung yang masih muda, dan daun yang sudah dewasa dibagian bawah.
- Helaian daun setiap sampel diambil sebanyak 2 gram, dihaluskan dan diekstraksi dengan alkohol 70% sebanyak 20 ml sampai semua klorofil terlarut.
- Ekstrak disaring dan supernatan ditampung dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan alkohol 70% sampai 100 ml.
- Kandungan klorofil diukur dengan spektrometer pada λ 649 dan 665 nm.

Kadar klorofil total dihitung dengan rumus Wintermans dan de Mots :

$$\text{Klorofil a (mg/L)} = (13,7 \times \text{OD } 665) - (5,76 \times \text{OD } 649)$$

$$\text{Klorofil b (mg/L)} = (25,8 \times \text{OD } 649) - (7,7 \times \text{OD } 665)$$

$$\text{Klorofil Total (mg/L)} = 20 (\text{OD } 649) + 6,1 (\text{OD } 665)$$

Keterangan : OD (optical density) atau nilai absorbansi klorofil.



2.2.2 Ekstraksi Pigmen Antosianin

2.2.2.1. Preparasi Sampel

Sampel daun kastuba yang akan dianalisis sebelumnya dilakukan sortasi atau pemilihan. Daun kastuba yang masih baik selanjutnya dicuci pada air yang mengalir hingga diperkirakan kotoran (tanah, debu dan sebagainya) sudah hilang. Selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam.

2.2.2.2. Ekstraksi Metode Maserasi

Sampel kering dihaluskan dengan menggunakan mortar dan ditimbang sebanyak 2 gram. Maserasi sampel dengan cara merendam 2 gram serbuk daun kastuba dengan 200 ml pelarut etanol 70 % pada temperatur 25 °C selama 24 jam, Kemudian disaring dan diambil filtratnya.

2.2.2.3. Penetapan Kadar Antosianin

Penentuan λ maksimum ekstrak daun kastuba dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sekitar 10 ml dari masing-masing ekstrak hasil maserasi dilarutkan dalam pelarut etanol sebanyak 10 ml. Selanjutnya absorbansi diukur pada panjang gelombang 510 dan 700 nm. Untuk menentukan total kadarnya dapat menggunakan persamaan berikut:

Total kadar antosianin :

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = \frac{\text{Absorbansi} \times \text{DF} \times 1000}{55,9 \times 1} \quad (1)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Uji Kadar Pigmen Klorofil

Rata rata kandungan klorofil total daun kastuba tertinggi terdapat pada daun kastuba yang berwarna hijau tua (yang terletak paling bawah) yaitu 5.55 mg/L, dan rata rata kandungan klorofil total terendah diperoleh pada daun kastuba yang berwarna merah muda (pucuk) yaitu 2.67 mg/L (Tabel 1).

Hasil ekstraksi uji klorofil pada daun Kastuba yang berwarna hijau dan pada daun kastuba yang berwarna merah dapat dilihat pada gambar 1 dan gambar 2.



Gambar 1. Ekstrak daun berwarna hijau



Gambar 2. Ekstrak daun berwarna merah

Dari hasil penetapan senyawa klorofil dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis, maka diperoleh data sebagaimana tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi senyawa klorofil berdasarkan umur daun yang berbeda

No	Letak	Absorbansi		Umur Daun	Klorofil a	Klorofil b	Klorofil total (mg/L)
		649 nm	665 nm				
1	Teratas (Daun Merah)	0.067	0.105	Tingkat 3	1.05	0.92	1.98
2		0.079	0.107	Tingkat 2	1.01	1.22	2.23
3		0.143	0.152	Tingkat 1	1.26	2.52	3.79
		Rata rata			1.11	1.13	2.67
4	Terbawah (Daun Hijau)	0.196	0.346	Tingkat 1	3.57	2.39	6.03
5		0.174	0.307	Tingkat 2	3.20	2.13	5.35
6		0.170	0.306	Tingkat 3	3.21	2.03	5.27
		Rata rata			3.33	2.18	5.55

Klorofil adalah kelompok pigmen fotosintesis yang terdapat dalam tumbuhan, menyerap cahaya merah, biru dan ungu, serta merefleksikan cahaya hijau yang menyebabkan tumbuhan memperoleh ciri warnanya. Semua jenis plastida termasuk klorofil

berasal dari protoplastida, yakni suatu organel tidak berwarna yang dijumpai pada sel tumbuhan yang tumbuh di tempat gelap dan terang.

Kandungan klorofil daun kastuba meningkat dengan bertambahnya umur daun (Tabel 1). Kandungan klorofil a rata rata pada daun bagian bawah yang berwarna hijau tua yaitu 3.33 mg/L, dan pada daun bagian atas yang berwarna merah yaitu 1.11 mg/L. Kandungan klorofil b rata rata pada daun bagian bawah yang berwarna hijau tua yaitu 2.18 mg/L, dan pada daun bagian atas yang berwarna merah yaitu 1.13 mg/L. Kandungan klorofil rata-rata total pada basal dengan warna daun hijau tua yaitu 5.55 mg/L, dan pada daun pucuk dengan warna daun merah yaitu 2.67 mg/L.

Kandungan klorofil pada daun bagian bawah yang berwarna hijau tua ada, dan jumlahnya cukup banyak, sedangkan pada daun bagian atas yang berwarna merah juga ada tetapi berjumlah lebih sedikit daripada didaun yang berwarna hijau. Daun bagian atas yang berwarna merah itu disebabkan karena pada daun tersebut banyak mengandung pigmen antosianin. Pigmen ini biasanya memberikan warna merah, ungu, dan biru.

Kandungan klorofil total pada daun yang berwarna hijau tua 50% lebih tinggi daripada daun yang berwarna merah tua. Hal ini dikarenakan pada daun yang berwarna hijau tua memiliki kandungan klorofil yang lebih dominan daripada daun yang berwarna merah. Pada tingkat perkembangan daun ini terjadi sintesis klorofil b dari klorofil a dengan jumlah yang besar, yang diikuti dengan berkembangnya daun tersebut. Sintesis klorofil b terus berlanjut bersamaan dengan perkembangan daun yang ditandai dengan berubahnya warna daun hijau muda menjadi hijau tua. Kandungan klorofil pada daun warna hijau tua 50% lebih besar daripada daun warna hijau muda.

Klorofil a dan b merupakan pigmen utama yang terdapat dalam membran tilakoid. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan klorofil antara lain gen, cahaya, dan unsur N, Mg, Fe sebagai pembentuk dan katalis dalam sintesis klorofil. Semua tanaman hijau mengandung klorofil a dan klorofil b. Klorofil a menyusun 75 % dari total klorofil. Kandungan klorofil pada tanaman adalah sekitar 1% berat kering. Kemampuan daun untuk berfotosintesis juga meningkat sampai daun berkembang penuh, dan kemudian mulai menurun secara perlahan. Daun tua yang hampir mati, menjadi kuning dan tidak mampu berfotosintesis karena rusaknya klorofil dan hilangnya fungsi kloroplas.

3.2. Uji Kadar Pigmen Antosianin

3.2.1. Preparasi Sampel

Daun tanaman kastuba yang masih segar disortasi dan dipisahkan dari bunga dan batangnya. Selanjutnya dicuci dengan sedikit air untuk menghilangkan kotoran dan ditiriskan. Sampel yang diinginkan dalam penelitian ini adalah daun kastuba yang kering. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan yaitu dioven selama kurang lebih 24 jam pada suhu 50°C untuk menghilangkan sebagian kadar air yang terkandung dan diharapkan tidak merusak kandungan senyawanya pada suhu tersebut.

Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak serta komposisi kimianya tidak mengalami perubahan. Kemudian dihaluskan menggunakan mortar.

3.2.2. Maserasi

Ekstraksi yang digunakan yaitu dengan maserasi, karena sampel yang digunakan tidak tahan panas dan pengerjaan yang cukup sederhana. Metode maserasi bertujuan untuk mengambil zat atau senyawa aktif yang terdapat pada suatu bahan menggunakan pelarut tertentu. Dalam mengekstrak zat warna diperlukan metode yang sesuai dengan sifat bahan (sumber pigmen), agar dihasilkan rendemen dan stabilitas pigmen yang tinggi. Metode ini (maserasi) digunakan dengan mempertimbangkan sifat senyawa (antosianin) yang relatif rentan terhadap panas sehingga dikhawatirkan akan merusak bahkan menghilangkan senyawa yang sedang dianalisa.

Perbandingan jumlah sampel dan pelarut pada proses maserasi sampel ini adalah 1 : 5, yaitu 2 g sampel dalam 200 mL pelarut ethanol 70%.

3.2.3 Hasil Pengamatan

Rata rata kandungan senyawa antosianin daun kastuba tertinggi terdapat pada daun kastuba yang berwarna hijau tua (yang terletak paling bawah) yaitu 59.87 mg/L, dan rata rata kandungan senyawa antosianin terendah diperoleh pada daun kastuba yang berwarna merah muda (pucuk) yaitu 1.97 mg/L (Tabel 1).

Hasil ekstraksi uji klorofil pada daun Kastuba yang berwarna hijau dan pada daun kastuba yang berwarna merah dapat dilihat pada gambar 3 dan gambar 4.





Gambar 3. Ekstraksi daun berwarna hijau



Gambar 4. Ekstraksi daun berwarna merah

Dari hasil penetapan senyawa antosianin dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis, maka diperoleh data sebagaimana tertera pada Tabel 2.

Tabel 2 Konsentrasi Senyawa Antosianin Berdasarkan Umur Daun yang Berbeda

No	Letak	λ	Absorbansi	Umur Daun	Konsentrasi (mg/L)
1	Paling Atas	510 nm	0.087	Tingkat 3	15.56
2	(Daun Merah)		0.127	Tingkat 2	22.72
3			0.130	Tingkat 1	23.26
Rata rata					20.51
4	Paling Bawah	510 nm	0.407	Tingkat 1	72.81
5	(Daun Hijau)		0.313	Tingkat 2	55.99
6			0.284	Tingkat 3	50.81
Rata rata					59.87
7	Paling Atas	700 nm	0.003	Tingkat 3	0.54
8	(Daun Merah)		0.011	Tingkat 2	1.97
9			0.019	Tingkat 1	3.40
Rata rata					1.97
10	Paling Bawah	700 nm	0.048	Tingkat 1	8.59
11	(Daun Hijau)		0.035	Tingkat 2	6.26
12			0.033	Tingkat 3	5.90
Rata rata					6.92

Kandungan antosianin daun kastuba meningkat dengan bertambahnya umur daun dan memiliki

kandungan yang berbeda pula pada panjang gelombang yang tidak sama (Tabel 2). Kandungan antosianin rata rata pada daun bagian bawah yang berwarna hijau tua dengan panjang gelombang 510 yaitu 20.51 mg/L, dan pada daun bagian atas yang berwarna merah dengan panjang gelombang 510 yaitu 59.87 mg/L. Kandungan antosianin rata rata pada daun bagian bawah yang berwarna hijau tua dengan panjang gelombang 700 yaitu 6.92 mg/L, dan pada daun bagian atas yang berwarna merah dengan panjang gelombang 700 yaitu 1.97 mg/L.

Ternyata kandungan pigmen antosianin yang diukur dengan panjang gelombang yang berbeda juga menghasilkan konsentrasi total antosianin yang berbeda pula. Pada panjang gelombang 510 nm menunjukkan kandungan antosianin yang lebih besar daripada panjang gelombang 700 nm, baik pada daun paling bawah yang berwarna hijau tua maupun daun paling atas yang berwarna merah.

Kandungan pigmen antosianin pada daun yang berwarna hijau tua ternyata lebih besar daripada kandungan pigmen antosianin pada daun yang berwarna merah. Hal ini dikarenakan daun hijau adalah daun yang paling dominan dan daun ini merupakan daun yang paling tua dan tumbuh diawal, sehingga kadar pigmen pigmen lain dan juga pigmen antosianin cukup besar pada daun yang berwarna hijau daripada daun yang berwarna merah.

Tetapi kandungan pigmen antosianin ini tidak lebih besar dari kandungan klorofil, termasuk pada daun yang berwarna merah. Baik pada daun yang berwarna hijau maupun pada daun yang berwarna merah, kandungan antosianinnya lebih rendah dan kandungan klorofilnya lebih tinggi. Hal ini dikarenakan klorofil merupakan pigmen utama yang ada pada seluruh tanaman, sehingga meskipun daunnya berwarna merah, tidak berarti bahwa daun tersebut memiliki pigmen antosianin yang dominan, tetapi pigmen yang dominan tetap klorofil.

Antosianin adalah pigmen yang larut dalam air yang menyebabkan warna merah, ungu, dan biru serta banyak ditemukan pada buah dan bunga. Antosianin ini merupakan zat warna yang bersifat polar dan akan larut dengan baik pada pelarut pelarut polar. Faktor faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin non enzimatik adalah pengaruh dari pH, suhu, dan juga cahaya (Salisbury, 1991).

4. KESIMPULAN

- Kadar pigmen klorofil a, klorofil b, dan klorofil total pada tingkat umur daun yang berbeda mengandung pigmen klorofil yang berbeda pula. Antara daun yang berwarna hijau dan daun yang berwarna merah, kadar pigmen klorofil paling tinggi pada daun yang berwarna hijau tua dan

yang paling rendah pada daun berwarna merah. Pada daun yang berwarna hijau maupun daun yang berwarna merah, kadar pigmen klorofil tertinggi berada pada tingkat daun pertama (daun yang paling tua) dan paling rendah berada pada tingkat daun ketiga (daun yang paling muda).

- b. Kadar senyawa antosianin pada tingkat umur daun yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda. Antara daun yang berwarna hijau dan daun yang berwarna merah, kadar senyawa antosianin paling tinggi pada daun yang berwarna hijau tua, pada tingkat paling bawah (paling tua) dan dengan panjang gelombang 510 nm dan paling rendah pada daun yang berwarna merah, pada tingkat paling atas (paling muda) dengan panjang gelombang 700 nm.

Sebaiknya penelitian terhadap kadar pigmen klorofil dan senyawa antosianin dilakukan pada suhu ruangan (25°C) dan dalam ruangan gelap dan tidak terkena sinar matahari langsung. Diperlukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh kadar pigmen klorofil dan senyawa antosianin berdasarkan umur daun yang berbeda dan pengaruhnya terhadap faktor lain, seperti suhu yang cocok untuk penyimpanan atau pengaruh cahaya terhadap kestabilan senyawa antosianin.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Farida, R. (2014). Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode *Microwave Assisted Extraction* (Lama Ekstraksi dan Rasio Bahan : Pelarut). *Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 62-373.
- Hayati, E. K. (2012). Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) : Pengaruh Temperatur dan pH. *Kimia*, 6(2), 138-147.
- Lakitan, B. (2001). *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Markham. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung, Indonesia: Penerbit ITB.
- Salisbury, Fb, Ross Wc. (1991). *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Bandung, Indonesia: ITB Press.
- Sumenda, L. (2011). Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Pada Tingkat Perkembangan Daun Yang Berbeda. *Bioslogos*, 1, (1).

