

EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA LUTEIN DARI DUA JENIS BUNGA KENIKIR LOKAL

Kusmiati¹, Ni Wayan Sri Agustini²

^{1,2} Pusat Penelitian Bioteknologi- LIPI

Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong Bogor 16911 Telp.021-8754587 Fax.021-8754588

Email: novifebri@yahoo.com

ABSTRAK

Senyawa lutein merupakan zat warna alam yang dikelompokkan sebagai karotenoid yang banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa ini terkandung dalam bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.), hasil ekstraksi bunga kenikir dapat memperoleh 700-900 gram pigmen per kg konsentrat yang mengandung 90-95% lutein dan 5-10% zeaxantin. Bunga kenikir sudah dikenal penduduk lokal sebagai tanaman obat yang berkhasiat terhadap berbagai penyakit. Warna bunganya bervariasi kuning, jingga, merah hati hingga hitam kecoklatan. Penelitian ini bertujuan membandingkan karakter lutein dari dua jenis bunga kenikir berwarna kuning dan jingga. Serbuk bunga kenikir (*T. erecta* L.) kering dimaserasi dengan *n*-heksan, kemudian dilakukan digesti menggunakan isopropanol dan disaponifikasi dengan larutan NaOH 50%. Ekstrak lutein dimurnikan dengan kromatografi kolom dan dilakukan Kromatografi lapis tipis. Hasil isolasi senyawa dibandingkan terhadap lutein baku pembanding berdasarkan jarak bercak Rf. Senyawa diidentifikasi dengan spektrofotometri cahaya tampak, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan FTIR. Hasil menunjukkan bahwa Rf lutein dari bunga kenikir kuning dan jingga sama dengan Rf lutein baku pembanding yaitu 0,57 cm. Hasil KCKT menunjukkan bahwa lutein bunga kenikir kuning muncul pada waktu retensi 3,10 menit, bunga jingga 3,11 menit dan lutein baku pembanding 3,12 menit. Hasil karakterisasi gugus fungsi dengan spektrometer FTIR pada ekstrak lutein bunga kenikir kuning dan jingga terdapat gugus Alkenil, Alkil, Alkena Aromatik, dan hidroksil sesuai dengan lutein baku pembanding.

Kata kunci: Lutein, Bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.), spektrofotometer, KCKT, FTIR

PENDAHULUAN

Tanaman kenikir (*T. erecta* L.) merupakan tanaman hias dengan mahkota bunga berwarna kuning, tumbuh liar dan lebih banyak berbunga di area yang terpapar sinar matahari langsung. Masyarakat desa sudah mengenal tanaman ini sebagai obat lemah lambung, penguat tulang, dan penambah nafsu makan (Dalimarttha, 2003). Manfaat lain dari kenikir mengandung senyawa-senyawa bersifat antioksidan untuk menangkal radikal bebas sehingga disebut agen kemopreventif. Radikal bebas dapat memicu berbagai macam penyakit degeneratif seperti kanker dan jantung koroner.

Tanaman kenikir banyak diteliti di luar negeri karena bunganya merupakan sumber pigmen karotenoid berwarna kuning seperti karoten yaitu alfa dan beta karoten dan xantofil yaitu lutein dan zeaxantin (Handelman, 2001). Dalam literatur dilaporkan bahwa resiko penyakit kronis seperti jantung, kanker dan penyakit mata yang berkaitan dengan usia secara signifikan dapat direduksi melalui diet makanan yang kaya lutein (Khachik, 1995).

Tanaman kenikir di Indonesia beragam jenisnya, di setiap daerah memiliki perbedaan contohnya di daerah Jawa Barat mahkota bunga berwarna kuning dan di daerah Jawa Tengah mahkota bunga berwarna jingga. Variasi jenis kenikir mempengaruhi kualitas dan kuantitas pigmen lutein pada bunganya. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi dan mengkarakterisasi senyawa lutein yang terkandung dalam bunga kenikir berwarna kuning dan jingga.

METODE PENELITIAN

Persiapan bunga kenikir (*T. erecta* L.).

Bahan yang digunakan adalah bunga kenikir termasuk famili Asteraceae dan genus *Tagetes* berasal dari dua daerah berbeda, yaitu dari Bogor (Jawa Barat) berwarna kuning dan Pemalang (Jawa Tengah) berwarna jingga. Bunga dikeringkan dan dibuat menjadi serbuk.

Uji Fitokimia.

Uji fitokimia bunga kenikir dilakukan meliputi pemeriksaan minyak atsiri, lemak, alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid dan tanin (Harbone, 1996).

Ekstraksi lutein dari bunga kenikir (*T. erecta* L.).

Ditimbang kurang lebih 10 g sampel serbuk kering bunga kenikir, dimaserasi dengan 100 ml *n*-heksan selama 24 jam. Kemudian *n*-heksan diuapkan dipenangas air hingga diperoleh ekstrak heksan. Selanjutnya didigesti dengan isopropanol dan dipanaskan pada suhu 50 °C sambil diaduk homogen dengan pengaduk magnet selama 1 jam. Pada suhu yang sama ditambah dengan larutan NaOH 50% diaduk homogen selama 1 jam sampai terbentuk semisolid, dan didinginkan pada suhu ruang. Larutan semisolid



ditambahkan sejumlah air, diaduk homogen dengan pengaduk magnet pada suhu ruang. Pencucian dengan air terus dilanjutkan sampai lutein dan karotenoid lainnya terpisah ditandai dengan adanya endapan kristal yang halus, disentrifus. Endapan dikumpulkan dan dicuci dengan campuran isopropanol-air (1:14), diulangi 2-3 kali sampai supernatan hampir tidak berwarna lagi. Kemudian Sisa larutan pencuci yang tertinggal diuapkan di penangas air pada suhu 40 °C sehingga terbentuk ekstrak lutein *crude* (Madhavi, *et. al*, 2002).

Analisis dengan kromatografi lapis tipis.

Analisis dengan KLT dilakukan untuk identifikasi senyawa lutein.

Hasil ekstrak lutein *crude* yang diperoleh ditotolkan 20 µl pada lempeng silika gel 60 GF₂₅₄, kemudian dieluasi dengan fase gerak *n*-heksan-kloroform-aseton (6:2:2)

Setelah eluasi sudah mencapai batas, dilanjutkan dengan pengamatan dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm.

Fraksinasi dengan kromatografi kolom.

Fraksinasi dilakukan pada kolom yang diisi silika gel 60 (70-230 mesh), Ekstrak lutein *crude* sebanyak 4 mg dalam pelarut 4 ml *n*-heksan yang dihomogenkan dengan cellite 545 sampai mengental kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Larutan eluasi yang digunakan *n*-heksan-kloroform-aseton (6:2:2) dituang sedikit demi sedikit ke dalam kolom. Eluat yang keluar dari kolom ditampung dalam vial masing-masing 4 ml. Tiap fraksi diukur serapannya dengan spektrofotometer (Kusmiati dkk, 2010).

Identifikasi senyawa lutein

Spektrofotometri cahaya tampak

Lutein dilarutkan dengan *n*-heksan dan diukur serapan maksimum menggunakan spektrofotometri cahaya tampak pada panjang gelombang 560-625 nm.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Alat kromatografi yang digunakan merek HPLC Alliance 2695 (waters) dengan Photodiode Array Detector 2996 (waters), kolom Symmetry C18 5 µm (4,6 mm x 150 mm), panjang gelombang 450 nm, fase gerak Asetonitril: metanol (9:1): Etilasetat, suhu ruangan, laju aliran 1,0 ml per menit, volume injeksi 30 µl untuk sampel dan 5 µl untuk baku standar. Pada analisis ini, yang diinjeksikan antara lain Lutein baku pembanding sebagai baku pembanding, lutein *crude* kenikir kuning beserta fraksinya, dan lutein *crude* kenikir jingga beserta fraksinya.

Sampel merupakan fraksi dari kolom, disaring dengan filter membran 0,2 µm dengan bantuan spuit dan disonikasi terlebih dahulu untuk menghilangkan gelembung yang terdapat dalam sampel dan untuk menambah daya melarut sampel agar tidak mengganggu proses analisis dengan KCKT.

Analisis dengan alat KCKT secara kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi baku pembanding lutein dengan waktu retensi sampel, sedangkan untuk analisis secara kuantitatif dihitung dengan cara membandingkan luas area baku lutein dengan luas area sampel (Gritter & Bobbit, 1991; Mulja & Suharman, 1995). Kromatogram senyawa lutein yang diperoleh diidentifikasi berdasarkan waktu retensinya dan dibandingkan dengan baku pembanding lutein.

Spektrofotometer inframerah *Fourier Transform* (FTIR)

Identifikasi gugus fungsi senyawa yang terdapat didalam ekstrak lutein *crude* dari bunga kenikir kuning dan jingga digunakan alat FTIR. Sampel digerus, kemudian di campurkan dengan pembawa yaitu KBr, lalu dimasukkan ke dalam wadah dan dianalisa menggunakan alat FTIR.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap serbuk bunga *Tagetes erecta* L. diperoleh kandungan senyawa seperti tercantum pada tabel 1 berikut :



Tabel 1. Hasil Uji fitokimia Bunga Kenikir (*T. Erecta* L)

No.	Pemeriksaan golongan	Pereaksi	Bunga Kenikir		Keterangan
			kuning	jingga	
1.	Minyak atsiri	Alkohol	+	+	Bau aromatis
2.	Lemak	Alkohol	+	+	Noda pada kertas perkamen
3.	Alkaloid	Meyer Dragendorf	-	-	
4.	Steroid dan Triterpenoid	As. Act anhidrat + H ₂ SO ₄ + Kloroform	+	+	Cincin merah
5.	Flavanoid	HCl p + logam Mg	+	+	Endapan merah kehitaman
6.	Tanin	Besi (III) klorida	+	+	Hijau tua

Keterangan: + : menunjukkan adanya senyawa yang diuji

- : menunjukkan tidak ada senyawa yang diuji

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa bunga kenikir kuning dan jingga keduanya memiliki kandungan metabolit sekunder yang sama.

Ekstraksi Lutein dari Bunga Kenikir

Hasil ekstraksi 10 gram bunga kenikir kuning memperoleh lutein *crude* sebanyak 274,5 mg dan bunga kenikir jingga memperoleh lutein *crude* sebanyak 341,6 mg.

Identifikasi Senyawa Lutein *crude*

Organoleptis

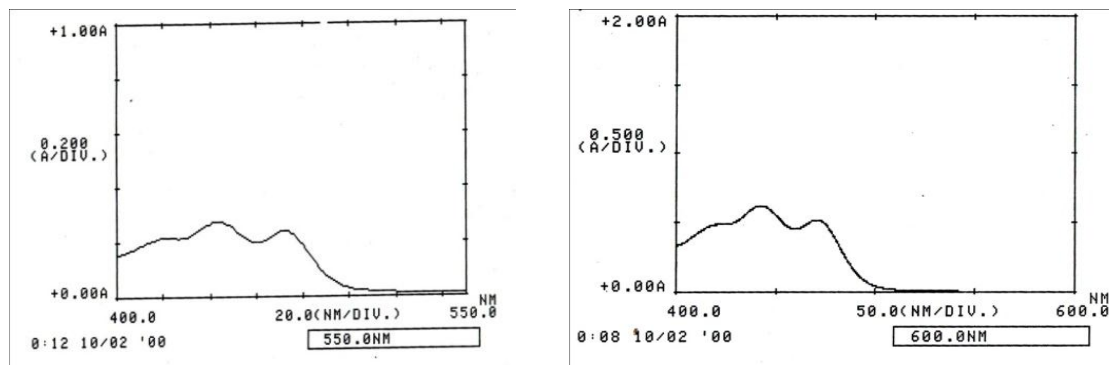
Lutein hasil ekstraksi dari bunga kenikir kuning berbentuk serbuk *crude* berwarna kuning muda tidak berbau dan rasa pahit, sedangkan Lutein hasil ekstraksi dari bunga jingga berbentuk gumpalan berwarna jingga sedikit lembab tidak berbau dan rasa pahit.

Kromatografi Lapis Tipis

Analisis KLT menggunakan fase gerak campuran n-heksan: metanol: aseton, masing - masing dengan perbandingan 6 : 2 : 2. Hasil KLT menunjukkan Rf lutein *crude* dari bunga kenikir kuning dan jingga sama dengan Rf baku pembanding yaitu 0,57 cm.

Pengukuran Serapan Maksimum Lutein *crude* pada Spektrofotometer.

Sampel ekstrak bunga kenikir kuning dan jingga dibuat 1000 ppm diukur dengan spektrofotometer pada kisaran λ 550nm-600nm.



Gambar 1. Spektrum lutein *crude* bunga kenikir kuning (kiri) jingga (kanan) dianalisis pada kisaran λ 400nm-600nm.

Spektrum senyawa lutein *crude* hasil ekstraksi dari bunga kenikir kuning dan jingga menghasilkan 3 puncak seperti tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Serapan lutein bunga kenikir kuning dan bunga kenikir jingga

Lutein <i>crude</i> kenikir kuning		Lutein <i>crude</i> kenikir jingga	
λ	Absorban	λ	Absorban
472,0	0,241	470,6	0,520
443,0	0,277	442,0	0,623
461,0	0,198	459,8	0,452



Lutein bunga kenikir kuning menunjukkan serapan tertinggi pada panjang gelombang 443 nm dengan nilai serapan 0,277 dan lutein bunga kenikir jingga pada panjang gelombang 442 nm nilai serapannya adalah 0,623. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan serapan maksimum dari kedua jenis bunga kenikir ini.

Fraksinasi ekstrak lutein dengan Kromatografi Kolom

Lutein *crude* hasil ekstraksi dari bunga kenikir kuning dan jingga, masing-masing difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan matrik silica gel 60 (70-230 mesh) dengan fase gerak campuran pelarut n-heksan: metanol: aseton (6: 2 : 2). Fraksi-fraksi diukur serapannya, fraksi dengan nilai absorban paling tinggi untuk dianalisis lebih lanjut. Berikut data spektrofotometri cahaya tampak pada panjang gelombang maksimum 443 nm untuk sampel lutein kenikir kuning dan λ 442 untuk lutein kenikir jingga berdasarkan hasil serapan maksimum pada tabel 2.

Tabel 3. Hasil pengukuran serapan fraksi lutein bunga kenikir kuning dan jingga

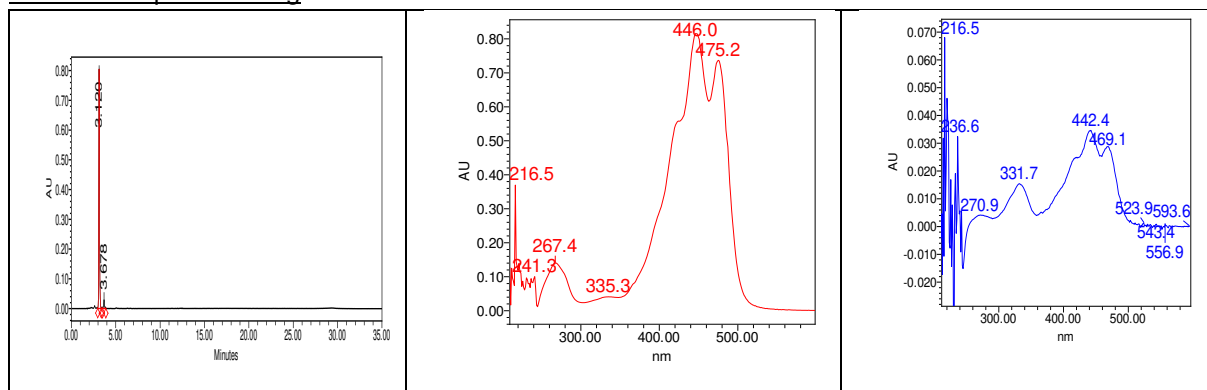
No. Fraksi	Serapan Lutein bunga kenikir kuning	Serapan Lutein bunga kenikir jingga
1.	0,010	0,040
2.	0,016	0,180
3.	0,034	0,109
4.	0,046	0,073
5.	0,041	0,026
6.	0,019	0,034
7.	0,009	0,009
8.	0,005	0,009
9.	0,008	0,024

Hasil fraksinasi lutein kenikir kuning pada fraksi-4 menunjukkan nilai serapan tertinggi sebesar 0,046 dan pada lutein kenikir jingga fraksi-2 menunjukkan nilai serapan tertinggi sebesar 0,180, fraksi tersebut selanjutnya dianalisa pada KCKT (Tabel 3).

Analisis Lutein dengan KCKT

Analisis senyawa lutein baku pembanding dan lutein *crude* dari bunga kenikir kuning dan jingga menunjukkan hasil kromatogram KCKT seperti pada gambar 2, 3 dan 4.

Lutein baku pembanding



Gambar 2. Kromatogram lutein baku pembanding dengan menggunakan KCKT

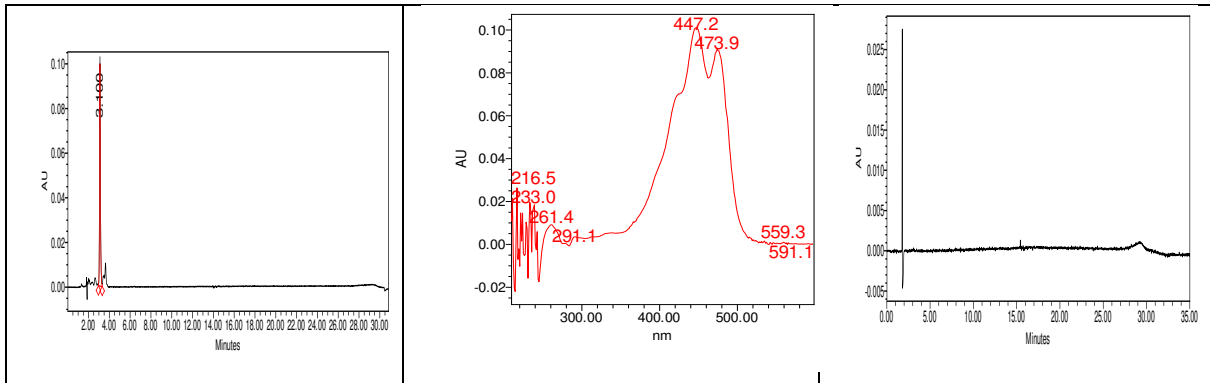
Hasil injek lutein baku pembanding pada alat KCKT menghasilkan kromatogram dengan dua puncak yaitu pada waktu retensi 3,12 dan 3,68 dengan persentase area berturut-turut 95,12% dan 4,81 % (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil KCKT lutein baku pembanding waktu retensi dan luas area.

No.	Waktu Retensi	Luas area	% Area	Tinggi
1.	3,12	4559432	95,1165	797050,5
2.	3,68	230307,3	4,808347	29572,74

Lutein bunga kenikir kuning.

Hasil analisis sampel lutein bunga kenikir kuning tercantum Gambar 3 dan Tabel 5 yang menunjukkan adanya puncak area pada waktu retensi 3,10 menit dengan persentase area 100% (tabel 5), hal ini mendekati senyawa lutein baku pembanding yang memiliki puncak area pada waktu retensi 3,12.



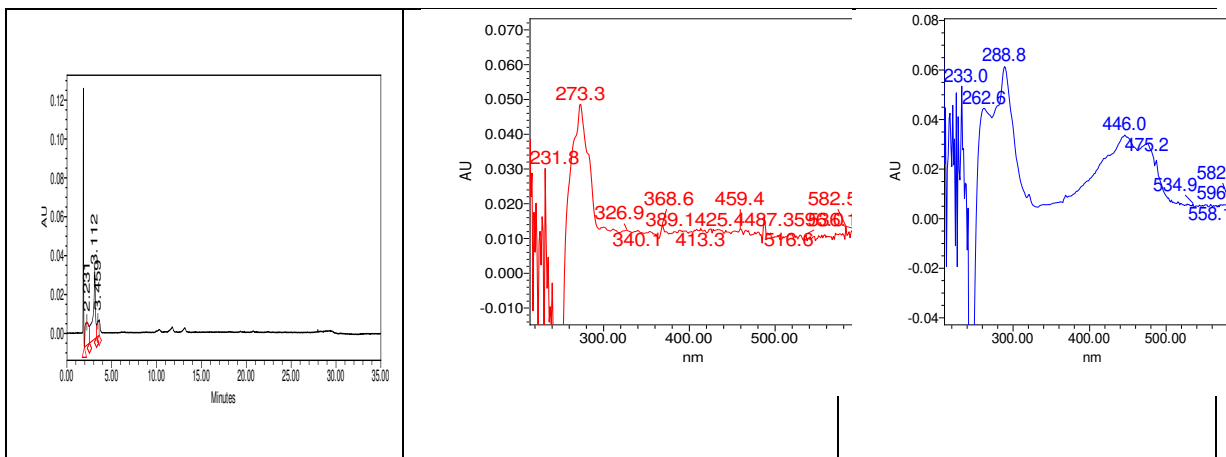
Gambar 3. Kromatogram lutein bunga kenikir kuning dengan menggunakan KCKT

Tabel 5. Hasil KCKT lutein bunga kenikir kuning waktu retensi dan luas area.

No.	Waktu Retensi	Luas Area	% Area	Tinggi
1.	3,10	626593,5	100	98499,80

Lutein bunga kenikir jingga

Hasil analisis sampel lutein dari bunga kenikir jingga dengan KCKT, menunjukkan bahwa sampel masih mengandung senyawa lain sebagaimana di tunjukkan pada kromatogram (Gambar 4).



Gambar 4. Kromatogram lutein bunga kenikir jingga dengan menggunakan KCKT.

Waktu retensi dari sampel lutein *crude* bunga kenikir jingga sangat mendekati waktu retensi dari baku pembanding lutein. Pada sampel bunga jingga waktu retensinya adalah 3,11 menit (Tabel 6) dan pada baku pembanding 3,12 menit (Tabel 4). Hal ini membuktikan bahwa terdapat senyawa lutein didalam sampel bunga kenikir jingga.

Tabel 6. Hasil KCKT lutein bunga kenikir jingga waktu retensi dan luas area

No.	Waktu Retensi	Luas area	% Area	Tinggi
1.	2,23	333280,8	29,76403	11781,26
2.	3,11	661721,5	59,09581	32966,09

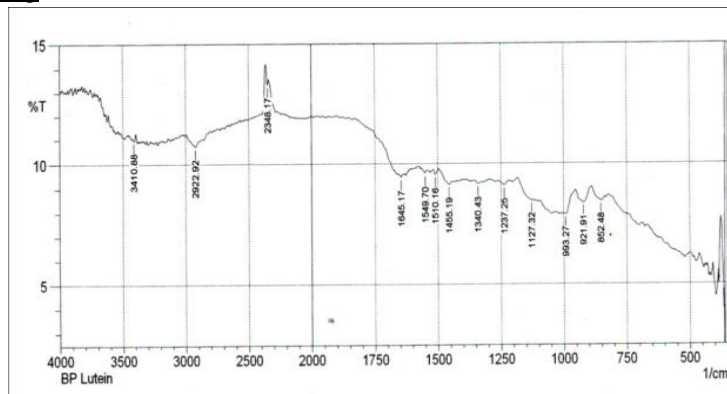
Pada kromatogram terlihat terdapat dua puncak pada sampel lutein baku pembanding dan lutein bunga kenikir jingga, hal ini dikarenakan sampel tersebut tidak murni sehingga menghasilkan peak lebih dari satu. Sedangkan pada sampel hasil fraksi baik dari bunga kuning maupun bunga jingga, hasilnya tidak dapat terbaca. Hal ini disebabkan karena senyawa yang terkandung pada sampel tersebut sangat sedikit, dan ketika akan diinjeksi pada alat KCKT untuk diidentifikasi sampel tersebut sudah menguap.



Analisis gugus fungsi dengan Spektrofotometer FTIR

Hasil analisis senyawa baku pembanding lutein dan ekstrak lutein dari bunga kenikir kuning dan jingga dengan spektrofotometer inframerah *fourier transform* (FTIR) menunjukkan spektrum inframerah yang dapat dilihat pada gambar 5, 6 dan 7, sedangkan hasil analisis yang menunjukkan puncak serapan pada bilangan gelombang dapat dilihat pada tabel 7, 8 dan 9.

Lutein baku pembanding

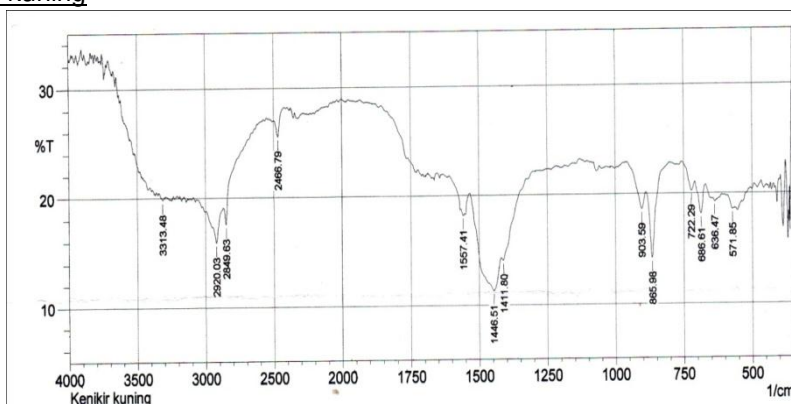


Gambar 5. Spektrum FTIR Lutein baku pembanding.

Tabel 7. Hasil analisis Spektrum FTIR Lutein baku pembanding.

Bilangan Gelombang	Rentang Bilangan Gelombang (cm-1)	Ikatan yang menyebabkan absorpsi
872.73		C = C
921.91	675 - 995	H
993.27		Alkenil
1464.83	1340 - 1470	C - H
		Alkil
1642.27	1600 - 1680	C = C
1662.52		Aromatik
2916.17	2853 - 2962	C - H
		Alkil
3489.95	3300 - 3600	-OH
		Hidroksida

Lutein bunga kenikir kuning

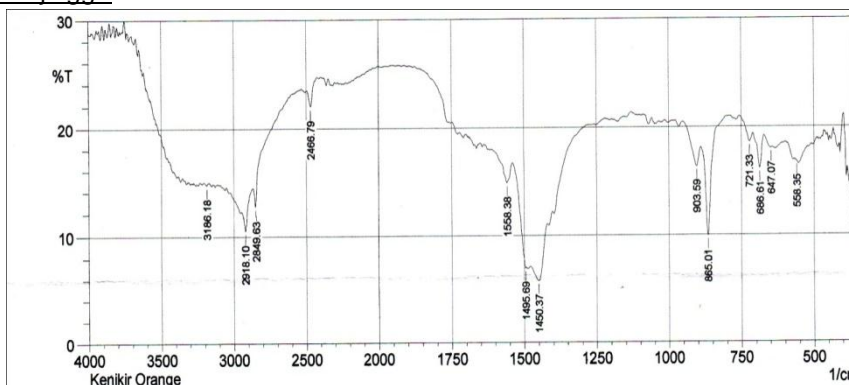


Gambar 6. Spektrum FTIR Lutein hasil ekstraksi bunga kenikir kuning

Tabel 8. Hasil analisis Spektrum FTIR Lutein bunga kenikir kuning.

Bilangan Gelombang	Rentang Bilangan Gelombang (cm-1)	Ikatan yang menyebabkan absorpsi
686.61 722.29 865.98 903.59 1411.8 1446.51 1557.41	675 - 995 1375 - 1450 1475 - 1600	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagup \\ \text{Alkenil} \end{array}$ C - H Alkil C = C Aromatik
2466.79 2849.63 2920.03 3313.48	2400 - 3400	O - H Hidroksida

Lutein bunga kenikir jingga



Gambar 7. Spektrum FTIR Lutein hasil ekstraksi bunga kenikir jingga.

Tabel 9. Hasil analisis Spektrum FTIR Lutein bunga kenikir jingga.

Bilangan Gelombang	Rentang Bilangan Gelombang (cm-1)	Ikatan yang menyebabkan absorpsi
686.61 721.33 865.01 903.59 1450.37	675 - 995 1340 - 1470	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C} = \text{C} \\ \diagup \\ \text{Alkenil} \end{array}$ C - H Alkil C = C Aromatik
1495.69 1558.38 2466.79 2849.63 2918.10 3186.18	1475 - 1600 2400 - 3400	O - H Hidroksida

Bilangan gelombang yang dihasilkan menunjukkan gugus fungsi dari senyawa ekstrak yang diidentifikasi. Bilangan gelombang yang melebar dari 2466.79 cm^{-1} - 3313.48 cm^{-1} pada bunga kuning dan 2466.79 cm^{-1} sampai 3186.18 cm^{-1} pada bunga jingga menunjukkan adanya gugus OH yang terlihat jelas pada spektra. Begitu pula dengan gugus alkenil yang terlihat jelas pada bilangan gelombang yang melebar dari 686.61 cm^{-1} sampai 903.59 cm^{-1} pada bunga kuning dan jingga.

Pada Baku Standar Lutein menunjukkan adanya gugus Alkenil, Alkil, Alkena Aromatik, dan hidroksil yang menunjukkan kesesuaian dengan rumus bangun senyawa lutein.

SIMPULAN

Hasil analisis terhadap ekstrak lutein dari bunga kenikir berwarna kuning dan jingga secara fisika dan kimia menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan spektrometer



FTIR dapat disimpulkan bahwa senyawa lutein yang terkandung dalam kedua jenis bunga kenikir tersebut berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dan menunjukkan kemiripan terhadap senyawa lutein baku pembanding.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Fitriana H.S yang telah membantu selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. (2007). *Teknologi Bahan Alam*. 21, 38 – 39. Bandung: ITB Press.
- Dalimartha, S. (2003). *Tumbuhan Obat Indonesia jilid 3*. Jakarta: Puspa Swara.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M. (1991). *Pengantar Kromatografi. Diterjemahkan oleh Kosasih P dan Soedito I*. Bandung: Penerbit ITB. Bandung
- Handelman, G.J. (2001). The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* (17):818–822.
- Harbone, J. B., (1996). *Metode Fitokimia. Diterjemahkan oleh K. Radmawinata dan I. Soediro*. Bandung: ITB Press.
- Khachik F. (1995). *Process for isolation, purification, and recrystallization of lutein from saponified marigold oleoresin and uses thereof*. United States Patent 382:14.
- Kusmiati, Agustini, N.W.S, Tamat, S.R, Irawati, M. (2010). Ekstraksi dan Purifikasi Senyawa Lutein dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* Galur Lokal Ink. *Jurnal Kimia Indonesia* 5 (1) : 30-34.
- Madhavi. D.L., dan Kagan D.I., (2002). Process For The Isolation Of Mixed Carotenoids From Plants. *United States Patent Documents, United States*. 6,380,442
- Mulja M dan Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*, Surabaya: Airlangga University Press.

DISKUSI

