

## LAPORAN PENELITIAN

# ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR KAROTENOID DARI DAUN KANGKUNG ( IPOMOEA REPTANS. P )



MILIK PERPUSTAKAAN IKIP PADANG	
DITERIMA TGL :	17-12-1998
SUMBER / HEBER :	H /
KOLEKSI :	KI
NO. INVENTARIS :	1213/K/98-12/2
KLASIFIKASI :	574.19 Et 12

OLEH :

**Dra. Sri Benti Etika**  
( Ketua Tim Peneliti )

Penelitian ini dibiayai oleh :

Dana Rutin IKIP Padang  
Tahun Anggaran 1997 / 1998  
Surat Perjanjian Kerja No. 49/PT37.H8/N.1.4.2/1997  
Tanggal 23 Juni 1997

INSTITUT KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN PADANG  
1998

MILIK PERPUSTAKAAN  
IKIP PADANG

ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR KAROTENOID DAN DARI  
DAUN KANGKUNG ( IPOMCEA REPTANS.P)

TIM PENELITIAN :

KETUA : Dra. SRI BENTI ETIKA, M.Si

ANGGOTA : 1. Dra. BAYHARTI, M.Sc.

2. Drs. ISWENDI, M.S

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi karotenoid dari daun kangkung (*Ipomoea reptans* P) serta menentukan struktur karotenoid dari hasil isolasi tersebut. Karotenoid diekstrak dengan etanol dan kemudian diekstrak kembali dengan dietil eter. Karotenoid yang telah disaponifikasi dipisahkan dengan kolom kromatografi menggunakan adsorben alumina dan beberapa eluen. Masing-masing fraksi ini diuji kemurniannya dengan kromatografi lapisan tipis silikagel dengan berbagai eluen. Pemisahan karotenoid dengan kolom kromatografi menghasilkan kristal murni warna coklat kemerahan seberat 88,5 mg dengan titik leleh  $178^{\circ}\text{C}$  -  $179^{\circ}\text{C}$ .  $R_f$  senyawa hasil isolasi dengan kromatografi lapisan tipis silikagel dan eluen heksan : toluen (4:1) adalah 0,70, sedangkan dengan eluen heksan : etil asetat (2:1) memberikan  $R_f$  0,87. Identifikasi secara UV/Vis memberikan serapan maksimum pada 435, 462,4 dan 490,9 nm dalam pelarut kloroform dan 427, 448 dan 472 nm dalam pelarut petroleum eter. Spektrum infra merah senyawa isolasi memberikan serapan pada bilangan gelombang 3040, 2960, 1580, 1620, 1460, 1380 dan  $980\text{ cm}^{-1}$ . Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa daun kangkung (*Ipomoea reptans* P) mengandung senyawa beta-karoten.

## PENGANTAR

Kegiatan penelitian merupakan bagian dari darma perguruan tinggi, di samping pendidikan dan pengabdian kepada Masyarakat. Kegiatan penelitian ini harus dilaksanakan oleh IKIP Padang yang dikerjakan oleh staf akademiknya dalam rangka meningkatkan mutu pendidikan, melalui peningkatan mutu staf akademik, baik sebagai dosen maupun peneliti.

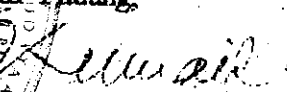
Kegiatan penelitian ini mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini Lembaga Penelitian IKIP Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian yang tidak terpisahkan dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana IKIP Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait. Oleh karena itu, peningkatan mutu tenaga akademik peneliti dan hasil penelitiannya dilakukan sesuai dengan tingkatan serta kewenangan akademik peneliti.


Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pendidikan, baik yang bersifat interaksi sebagai faktor yang mempengaruhi praktek kependidikan, penguasaan materi bidang studi, ataupun proses pengajaran dalam kelas yang salah satunya muncul dalam kajian ini. Hasil penelitian seperti ini jelas menambah wawasan dan pemahaman kita tentang proses pendidikan. Walaupun hasil penelitian ini mungkin masih menunjukkan beberapa kelemahan, namun saya yakin hasilnya dapat dipakai sebagai bagian dari upaya peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Kami mengharapkan di masa yang akan datang semakin banyak penelitian yang hasilnya dapat langsung diterapkan dalam peningkatan dan pengembangan teori dan praktek kependidikan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pereviu usul dan laporan penelitian Lembaga Penelitian IKIP Padang, yang dilakukan secara "blind reviewing". Kemudian diseminarkan yang melibatkan dosen fakultas IKIP Padang untuk tujuan diseminasi. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya dan peningkatan mutu staf akademik IKIP Padang.

Pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini, terutama kepada pimpinan lembaga terkait yang menjadi objek penelitian, responden yang menjadi sampel penelitian, tim pereviu Lembaga Penelitian dan dosen senior pada setiap fakultas di lingkungan IKIP Padang yang menjadi pembahas utama dalam seminar penelitian. Secara khusus kami menyampaikan terima kasih kepada Direktur Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah berkenan memberi bantuan pendanaan bagi penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan, kerjasama yang baik ini diharapkan akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terima kasih.

Padang, Maret 1998  
Ketua Lembaga Penelitian  
IKIP Padang,  
  
Drs. Kumaidi, MA., Ph.D.  
NIP 130605231



## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	i
PENGANTAR .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR GAMBAR .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
<b>BAB I        PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Pembatasan Masalah .....	2
C. Perumusan Masalah .....	2
D. Tujuan Penelitian .....	3
E. Manfaat Penelitian .....	3
F. Definisi Operasional .....	3
G. Pertanyaan Penelitian .....	4
<b>BAB II        KAJIAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Kajian Teori .....	5
1. Tanaman Kangkung .....	5
2. Klasifikasi Tanaman Kangkung .....	6
3. Kandungan dan Nilai Gizi Kangkung .....	7
4. Karotenoid .....	8
5. Sifat-sifat Fisika dan Kimia .....	12
6. Fungsi .....	12

	B. Kerangka Operasional .....	15
<b>BAB III</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>16</b>
	A. Variabel Yang Diteliti .....	16
	B. Populasi dan Sampel .....	16
	C. Desain Penelitian .....	16
	D. Instrumen Penelitian .....	17
	E. Metode dan Prosedur Kerja .....	17
	F. Metode/Teknik Pengumpulan Data .....	20
	G. Teknik Analisa Data .....	20
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
	A. Hasil Penelitian .....	21
	B. Pembahasan .....	22
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>25</b>
	A. Kesimpulan .....	25
	B. Saran .....	25
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>26</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Spektrum Tampak Dari Karoten .....	14
2. Kromatografi Lapisan Tipis Dari Senyawa Hasil Isolasi .....	21
3. Spektrum Sinar Tampak Senyawa Hasil Isolasi ..	22

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema isolasi karotenoid dari daun kangkung ..	27
2. Spektrum UV/Vis dari senyawa hasil isolasi dalam pelarut kloroform .....	28
3. Spektrum UV/Vis dari senyawa hasil isolasi dalam pelarut petroleum eter .....	29
4. Spektrum inframerah dari senyawa hasil isolasi	30
5. Spektrum inframerah senyawa $\beta$ -karoten standar.	31



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Indonesia dengan iklim tropisnya yang selalu hijau sepanjang tahun, banyak ditumbuhi oleh berbagai jenis sayuran hijau. Salah satunya adalah kangkung (*Ipomoea reptans Poir*). Sayuran kangkung merupakan sumber gizi yang murah harganya dan mudah didapat serta diperlukan untuk memperbaiki mutu menu karena kaya akan protein nabati, vitamin-vitamin dan mineral, yang diperlukan untuk membangun dan memelihara tubuh. Menyadari bahwa potensi sosial dan ekonomi tanaman kangkung mempunyai peran yang besar bagi keanekaragaman pangan bergizi dan sumber pendapatan bagi tatanan ekonomi rumah tangga petani maupun negara, maka Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura Departemen Pertanian pada tahun 1989/90 - 1993/94 memprioritaskan penelitian dan pengembangan tanaman kangkung sebagai komoditas potensial. Pada tahun 1991 tanaman kangkung telah dibudidayakan di 27 propinsi di Indonesia. (Rukmana, 1994 : 11-15).

Bagian yang paling penting dari tanaman kangkung adalah batang muda dan pucuk-pucuknya sebagai bahan sayur-mayur. Kegunaan kangkung selain sebagai sumber vitamin A juga berfungsi untuk menenangkan saraf atau sebagai obat tidur. Menurut F.G Winarno, "Semua jaringan hijau dari tanaman mengandung karoten, xantofil dan

klorofil" (Winarno, 1989: 178). Senyawa karotenoid memegang peranan bagi manusia karena dapat digunakan sebagai, pewarna makanan, sumber vitamin. A dan akhir-akhir ini dapat pula berperan sebagai anti kanker.

Mengingat kugunaan dari senyawa karotenoid sebagai sumber Vitamin A, dan banyaknya terdapat sayur kangkung dipasaran yang dapat dikonsumsi masyarakat, dan sampai saat ini belum ada laporan penelitian yang rinci tentang kandungan karotenoid dari sayur kangkung, maka timbul pertanyaan apakah struktur karotenoid yang terkandung di dalam daun kangkung termasuk struktur karotenoid yang dapat menahan pertumbuhan kanker? Untuk memperoleh jawaban tersebut, maka dilakukan penelitian dengan judul "Isolasi Karotenoid Dari Daun Kangkung (Ipomoea reptans Poir)"

#### B. Pembatasan Masalah

Penelitian ini terbatas pada isolasi dan meramalkan struktur karotenoid dari daun kangkung. Daun kangkung yang diteliti adalah daun kangkung darat.

#### C. Perumusan Masalah

Berdasarkan judul penelitian di atas maka perumusan masalah sebagai berikut :

"Apakah struktur karotenoid hasil isolasi dari daun kangkung termasuk struktur karotenoid yang dapat menahan pertumbuhan kanker"

#### D. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan di atas, maka penelitian bertujuan sebagai berikut :

1. Mengisolasi karotenoid dari daun kangkung
2. Meramalkan struktur karotenoid dari hasil isolasi tersebut.

#### E. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan akan memberikan informasi tentang jenis karotenoid yang dikandung daun kangkung, sehingga akan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu kimia bahan alam tentang jenis karotenoid dari daun kangkung dan diharapkan akan dapat digunakan sebagai senyawa dari anti kanker. Sehingga akan membantu pemerintah dalam pencegahan penyakit kanker.

#### F. Definisi Operasional

Untuk menghindari salah pengertian, maka disini akan dijelaskan definisi atau maksud yang terdapat pada judul penelitian ini :

1. Isolasi maksudnya perubahan suatu komponen dengan menggunakan pelarut organik tertentu.
2. Karotenoid adalah senyawa tetra terpenoid  $C_{40}$  yang merupakan pigmen berwarna kuning, orage atau merah yang terdapat pada sayur-sayuran sebagian besar pada buah-buahan.

3. Kangkung, maksudnya suatu jenis tumbuhan tingkat tinggi, dengan nama Spesies *Ipomoea reptans* Poir (Rukmana, 1994 : 18)

#### G. Pertanyaan Penelitian

Sesuai dengan permasalahan di atas, maka pertanyaan penelitian adalah: Apakah struktur karotenoid yang diperoleh dari hasil isolasi daun kangkung?

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### A. Kajian Teori

##### 1. Tanaman Kangkung

Tanaman kangkung berasal dari daerah tropis, terutama dikawasan Afrika dan Asia. Daerah penyebaran tanaman kangkung pada mulanya berpusat di beberapa Negara, seperti Malaysia dan Australia, kemudian meluas ke daerah Asia Tenggara. Pembudidayaan tanaman kangkung secara intensif dan komersial dirintis oleh negara Taiwan, Thailand, Philipina dan Indonesia. Pada tahun 1964 di Taiwan terdapat luas areal tanaman kangkung sekitar 2.342 hektar dengan produksi 20,815 ton, sedangkan daya hasil kangkung di Taiwan mencapai 40-90 ton per-hektar (Biro Pusat Statistik, 1991).

Kira-kira tahun 1985 luas tanaman kangkung Nasional mencapai 41.953 hektar, tetapi pada tahun 1988 cenderung menurun yaitu 32.448 ha dan tahun 1990 turun lagi menjadi 20.579 ha. Hasil rata-rata kangkung Nasional masih rendah. Hal ini disebabkan oleh pola pengembangan usaha tani yang masih bersifat sampingan.

Berdasarkan aspek sosial dan ekonomi kangkung menarik untuk dijadikan bahan komoditas usaha tani kearah agribisnis. Dewasa ini kebutuhan sayuran daun seperti kangkung cenderung terus meningkat sejalan dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya gizi dan

menaikkan pendapatan masyarakat perkapita. Hal ini menunjukkan bahwa selain meningkatkan produksi, sayuran kangkung menjadi tantangan dalam mengimbangi kebutuhan dan kualitas hasilnya yang baik menjadi tuntutan pasar.

Walaupun harga sayuran kangkung relatif murah dan tetapi apabila dibudidayakan secara intensif dan berorientasi kearah agribisnis akan memberikan keuntungan yang sangat cukup besar bagi para petani. Kelebihan dari tanaman kangkung adalah memiliki daya adaptasi yang luas terhadap berbagai keadaan lingkungan tumbuh, pemeliharaannya mudah dan relatif murah dalam menyediakan biaya. Panen dapat dilakukan secara rutin setiap 10-15 hari sekali.

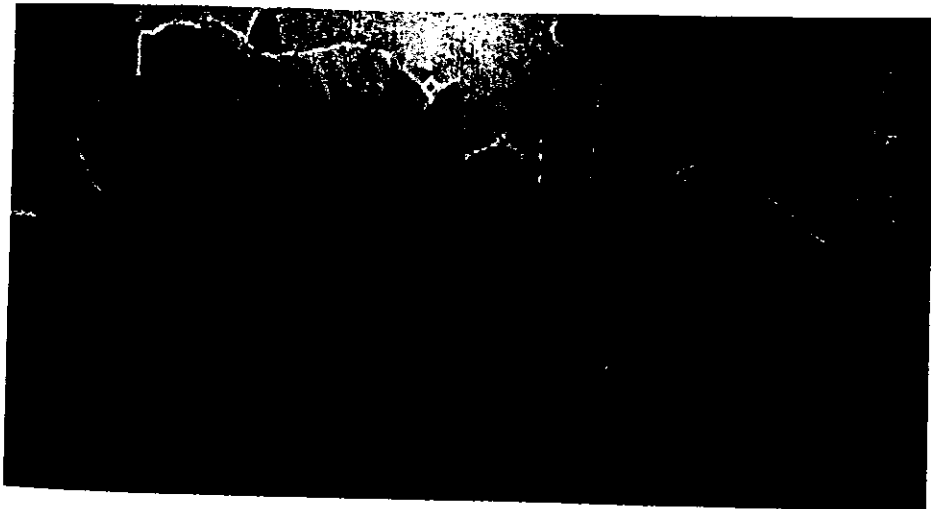
## 2. Klasifikasi Tanaman Kangkung

→ Kedudukan tanaman kangkung dalam sistimatik tumbuhan diklasifikasi sebagai berikut :

Devisio	: Spermatophyta
sub-devisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: Ipomoea
Spesies	: <i>Ipomoea aquatica forsk</i> <i>Ipomoea reptans Pair</i>

Jenis kangkung yang sudah dibudidayakan terdiri dari dua macam yaitu : jenis pertama adalah kangkung air (*I. aquatica*, Forsk) dengan ciri-ciri: bentuk daun panjang dengan ujung agak tumpul, berwarna hijau kelam

dan bunga berwarna putih kekuning-kuningan atau kemerah-merahan. Sedangkan jenis kedua adalah kangkung darat (*I. reptans* Poir) dengan ciri-ciri : bentuk daun panjang dengan ujung runcing, berwarna keputih-putihan dan bunganya berwarna putih (gambar 1) (Rukmana, 1994:16-18)



Gambar 1. Bunga Kangkung air (kiri) dan bunga kangkung darat (Rukmana, 1994, 16)

### 3. Kangkung dan nilai gizi Kangkung

Tanaman kangkung salah satu sumber untuk memenuhi kebutuhan akan karbohidrat, protein, lemak, vitamin serta mineral yang berguna untuk meningkatkan mutu makanan. Dari hasil penelitian yang dikeluarkan oleh Direktorat Gizi Departamen Kesehatan RI, tahun 1981, nilai Gizi dalam setiap 100 g sayuran kangkung segar adalah sebagai berikut ; kalori 29 kal; protein 3g; lemak 0,30 g; karbohidrat 5,40g; mineral-mineral kalsium 73,00 mg; fosfor 50 mg; Fe 2,50 mg; Vitamin A 6300 S.I; Vitamin B 0,07 mg; Vitamin C 32 mg dan air 89,70 g. (Sakija, 1989).

#### 4. Karotenoid

Nama karotenoid berasal dari karotene yang didapat dari hasil pengisolasian senyawa-senyawa dari umbi wortel (*Daucus carota*). Isolasi karotenoid dilakukan pertama kali oleh H.W.F. Wackenroder pada tahun 1813, yang mendeteksi adanya zat warna ini dalam sayuran hijau daun. Pemisahan komponen karotenoid dimulai Tsweet pada tahun 1906 yang berhasil memisahkan dan memurnikan likopen, lutein, fukosantin dan biksin.

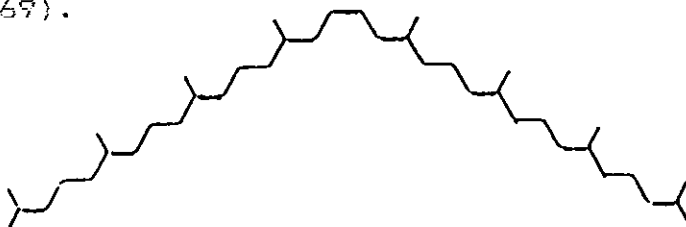
Karotenoid dapat dibedakan atas empat golongan yaitu:

##### a. Karoten asiklik

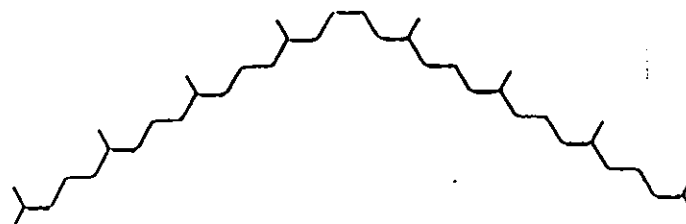
Contoh: likopen, fitoen, fitofluen, zeta-karoten dan neurosporen (gambar 2).

Senyawa likopen merupakan prototipe dari senyawa karotenoid, didapatkan dalam buah tomat dan semangka. Sedangkan karoten lainnya seperti fitoen, fitofluen dan zeta-karoten terdapat pada umbi ketela rambat dan jeruk "Washington Navel", "Valencia" dan "Shamouti" (Gross, 1971: 469).

##### 1) Fitoen



##### 2) Fitofluen



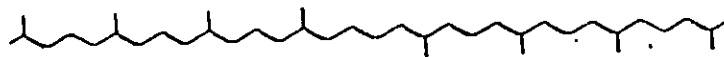


## 3) Zeta-karoten



## 4) Neurosporen

## 5) Likopen



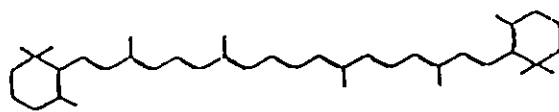
Gambar 2. Struktur beberapa karoten asiklik (Gross, 1987" 91).

## b. Karoten alisiklik

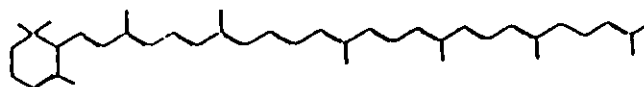
Contoh: beta-karoten, delta-karoten, alfa-karoten, gama karoten, dan lain-lain (Gambar 3).

Beta-karoten suatu senyawa karoten alisiklik yang paling banyak terdapat di alam, seringkali ditemukan di dalam wortel. Senyawa karoten alisiklik lainnya, seperti delta-karoten didapatkan di dalam "Mandarin Hybrid" (*Citrus cujata*), sedangkan alfa dan beta-zeakaroten tersedia pada jagung.

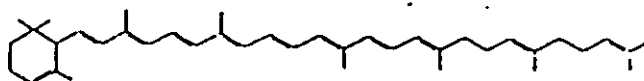
## 6) Beta-karoten



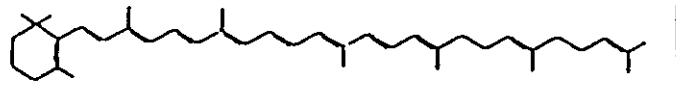
## 7) Delta-karoten



## 8) Alfa-karoten



## 9) Gama-karoten



Gambar 3. Struktur beberapa karoten alisiklik (Gross, 1987: 92).

## c. Xantofil asiklik

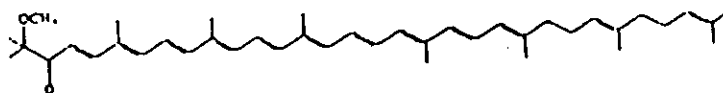
Contoh: Sferoiden, sferoidenon, spirilloosantin, dan lain-lain (Gambar 4).

Senyawa xantofil merupakan bentuk karoten yang telah teroksidasi, banyak ditemukan pada bakteri. Senyawa sferoiden adalah karotenoid utama yang terdapat pada *Rhodospseudomonas spheroides* yang tumbuh secara anaerobik, sedangkan sferoidenon akan dihasilkan bila *Rhodospseudomonas spheroides* tumbuh secara aerobik.

## 10) Sferoiden



## 11) Sferoidenon



## 12) Spirilloosantin



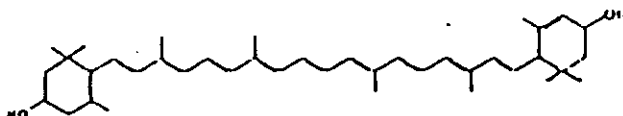
Gambar 4. Struktur beberapa xantofil asiklik (Gross, 1987: 93).

## d. Xantofil alisiklik

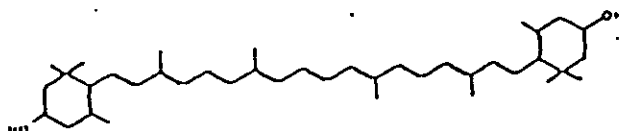
Contoh: Lutein, zea-santin, violasantin, neosantin, kantasantin dan lain-lain (Gambar 5).

Lutein dan zea-santin dapat dianggap sebagai tipe xantofil alisiklik dan merupakan karotenoid utama dari golongan ini. Beta-kriptosantin, suatu turunan monohidroksi dari beta-karoten umumnya didapatkan pada pigmen jamur.

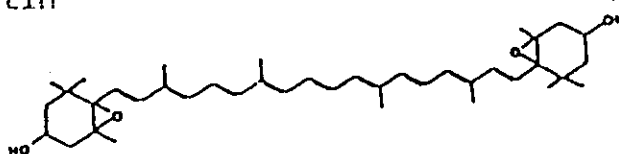
## 13) Lutein



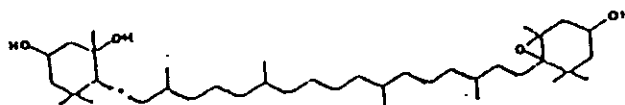
## 14) Zea-santin



## 15) Violasantin



## 16) Neosantin



## 17) Kantasantin

Gambar 5. Struktur beberapa xantofil alisiklik (Gross, 1987: 95).

Penelitian akhir-akhir ini menunjukkan bahwa pigmen karoten dapat mencegah ataupun menghambat perkembangan kanker kulit. Hal ini didasarkan kepada adanya hubungan yang erat antara resiko terhadap kanker dengan jumlah retinol dalam darah dan konsumsi terhadap senyawa Beta-karoten (Gross, 1987: 103). Di antara struktur-struktur

karotenoid di atas, hanya beta-karoten, fitoen dan kanta santin yang bersifat antikanker. Sifat antikanker ini ditunjukkan oleh mampunya karotenoid-karotenoid tersebut mencegah terjadinya oksidasi lemak oleh oksigen, di mana jika lemak sudah teroksidasi akan merusak jaringan dalam tubuh (penyebab kanker).

#### 5. Sifat-sifat Fisika dan Kimia

Karotenoid, adalah golongan pigmen yang tidak larut dalam air, tetapi larut baik dalam lemak dan pelarut organik seperti kloroform, benzen, karbon disulfida dan petroleum eter, akan tetapi sulit larut dalam alkohol. Karotenoid mudah teroksidasi dan mengalami auto-oksidasi serta sensitif terhadap cahaya karena merupakan senyawa yang tidak stabil. Disamping itu karotenoid mempunyai spektrum serapan yang karakteristik antara 400 dan 500 nm, dan puncak utama beragam, tergantung pada pigmennya, dan cukup berbeda sehingga merupakan cara untuk indentifikasi. Pergeseran spektrum dapat terjadi tergantung pada pelarut yang digunakan.

#### 6. Fungsi

Pada tumbuh-tumbuhan karotenoid mempunyai fungsi sebagai pigmen pembantu dalam proses fotosintesis. Karotenoid dapat menyerap sinar yang menghasilkan energi untuk fotosintesis. Umumnya klorofil tanpa adanya karotenoid akan mengakibatkan terjadinya foto-oksidasi, yaitu, klorofil akan terdegrasi dan tidak dapat melakukan proses fotosintesis. Proses oksidasi akan



## 7. Sifat Spektrum

Identifikasi karotenoid yang meyakinkan berdasarkan pada ko-kromatografi dengan pembandingan autentik paling sedikit memakai dua sistem pelarut, dan perbandingan spektrum sinar tampak paling sedikit dua pelarut. Spektrum sinar tampak karotenoid sangat khas 400 dan 500 nm, puncak utama disekitar 450 nm dan biasanya dua puncak tambahan pada kedua sisi puncak utama, letak ketiga puncak maksimum dapat bergeser, tergantung pada pigmen dan pelarut yang digunakan. Sehingga merupakan cara yang baik untuk identifikasi. Spektrum puncak maksimum, dari beberapa senyawa karotenoid dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1 : Spektrum sinar tampak senyawa karotenoid.

Pigmen	Spektrum								
	kloroform			Petroleum eter			asam asetat		
Alfa-karoten	433	457	484	422	444	473	424	448	476
Beta-Karoten	435	461	485	425	448	475	424	452	478
Gama-karoten	446	475	509	437	462	494	439	461	491
Teta-karoten	384	405	430	378	400	425	--	--	--
Neorosperena	242	451	518	414	439	467	--	--	--
Likopen	456	484	518	446	472	505	448	474	505

Sumber : Augustin & P. Islein, 1985

## B. Metoda Analisis

Isolasi karotenoid melibatkan tahap-tahap ekstraksi, saponifikasi, dan kromatografi. Ekstraksi dilakukan untuk memperoleh komponen-komponen yang terdapat dalam jaringan tumbuh-tumbuhan. Pemakaian pelarut yang cocok dan sesuai sangat menunjang untuk menarik komponen-komponen kimia yang diinginkan tertarik ke luar bersama

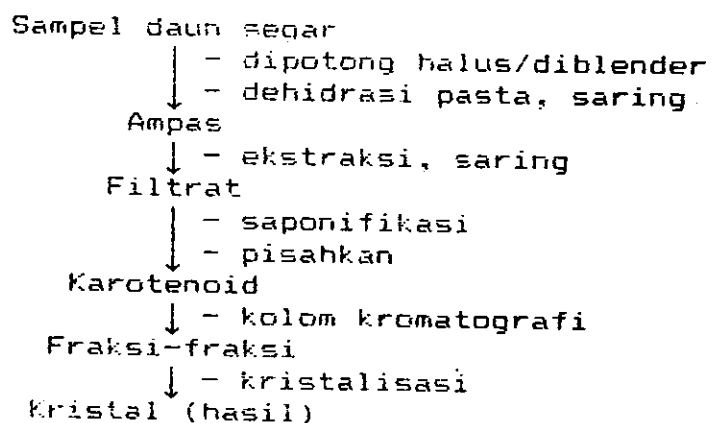
pelarut.

Karotenoid merupakan senyawa yang laurt dalam lemak, maka harus diekstraksi dengan menggunakan pelarut organik di mana pelarut yang digunakan harus murni, bebas senyawa pengoksidasi, asam atau halogen. Pelarut yang umum dipakai untuk sampel segar yang mengandung air dengan persentase yang tinggi digunakan aseton, metanol dan etanol ataupun campuran aseton-metanol.

## B. Kerangka Operasional

Pada penelitian ini karotenoid kasar diisolasi dari daun kangkung darat dengan metoda maserasi, pemurnian dan penentuan struktur. Banyak sampel yang digunakan adalah kurang lebih 2 kg berat segar, karotenoid kasar yang diperoleh dimurnikan dengan menggunakan khromatografi kolom dan kemudian fraksi yang didapatkan ditentukan strukturnya dengan spektrofotometer ultraviolet dan inframerah.

Secara ringkas pelaksanaan ini dapat dilihat pada diagram alir sebagai berikut:



## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Variabel Yang Diteliti

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel adalah pelarut organik (eluen) yang digunakan untuk memisahkan komponen karoten.

#### B. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman kangkung (*Ipomoea reptans* P). Sedangkan sampel diambil secara acak yaitu berupa daun kangkung yang segar. Jumlah sampel yang diambil sekitar 2 kg berat segar. Sampel diambil di desa Koto Tinggi, Kelurahan Pasar Ambacang, Kecamatan Pauh KurANJI, Padang. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juni 1997 sampai bulan November 1997 di laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA - Unand Padang

#### C. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, karotenoid diisolasi dari tanaman kangkung dengan menggunakan beberapa pelarut organik, sampai diperoleh hasil berupa kristal yang berwarna.

Secara ringkas rancangan penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 1.



1213/K/98-i2/2

574.19  
t.h  
i.2

17

#### D. Instrumen Penelitian

##### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, alat penentuan titik leleh Fisher - John, rotary evaporator, kolom kromatografi, spektrofotometer ultraviolet merk (Secomen S.1000) dan spektrofotometer inframerah merk (Perkin Elmer 735 B).

##### 2. Bahan

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, kloroform, dietil eter, metaheksana, etil asetat, semuanya pro-analisis, sedangkan adsorben yang digunakan adalah alumina dan silekagel.

#### E. Metode dan Prosedur Kerja

Metode yang digunakan dalam penelitian ini metode laboratorium, dengan prosedur kerja sebagai berikut :

##### 1. Identifikasi

Daun kangkung kira-kira 10 gr dihaluskan, kemudian dilakukan dehidrasi pasta dengan etanol dan diaduk sampai rata. Setelah itu saring dengan menggunakan corong yang diisi glass wol.

Ampas dan glass wol dimasukkan dalam beaker, kemudian ditambahkan kloroform diaduk sampai rata. Setelah itu saring dengan menggunakan corong yang diisi glass wol, filtrat ditampung ke dalam gelas piala.

Sebelum dikromatografi, larutan harus diuapkan hingga kering menggunakan penangas air, ditambah batu

MILIK PERPUSTAKAAN  
IKIP PADANG

dididih. Setelah itu tambahkan beberapa tetes kloroform dan diaduk hingga pigmen larut sempurna. Kemudian dilakukan analisa spektroskopi, yaitu dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Adanya karotenoid ditandai dengan adanya warna kuning, dan spektrum UV-Vis puncaknya berada di atas  $400 \text{ cm}^{-1}$ .

## 2. Ekstraksi

Sampel segar seberat 2 kg, dirajang dan dihaluskan dengan memakai blender, kemudian dimasukkan dalam beaker. Tambahkan 2,4 liter Etanol 95%, diaduk sampai rata, kemudian setelah dilakukan dehidrasi pasta, letakkan corong yang diisi glass wool. Saring pasta melalui corong ini ke dalam beaker. Apabila filtrat hampir habis, tekan ampas dengan spatel untuk mendapatkan cairan yang lebih banyak. Ampas dan glass wool masukkan kembali ke beaker glass lalu tambahkan kloroform 2 liter dan diaduk sampai rata. Kemudian disaring melalui corong seperti tadi, dan filtratnya ditampung ke dalam beaker glass. Sebelum dikromatografi, larutan harus dipekatkan sampai jadi gum menggunakan rotary evaporator. Tambahkan dietil eter dan diaduk, hingga pigmen larut sempurna.

## 3. Saponifikasi

Ekstrak larutan karotenoid dalam eter disaponifikasi dengan KOH 20% dalam metanol, yang jumlahnya sebanding. Dikocok dan dibiarkan semalam pada tempat yang gelap dan pada suhu kamar.

Hasil saponifikasi diekstrak kembali dengan dietil eter, dan ditambahkan aquadest sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas berwarna merah dan lapisan bawah berwarna hijau.

Lapisan atas dipisahkan dan dilakukan pencucian berulang kali dengan aquadest sampai diperoleh filtrat.

#### 4. Pemisahan Golongan Karotenoid

Pemisahan golongan karoten dengan xantofil, dikerjakan dengan kolom kromatografi. Sebagai adsorben digunakan alumina dan eluen heksan, etil asetat dan heksan dengan berbagai perbandingan. Urutan eluen yang digunakan sebagai berikut : n - heksan (300 ml), n-heksan : etil asetat (90:10) (300 ml) ; (85:15) (300 ml) (70:30) (300 ml) ; (60:40) (300 ml) ; 50:50 (300 ml) (30:70) (300 ml) ; (15:85) (300 ml) → Hasil kolom kromatografi ditampung setiap 10 ml dalam botol kolektor dan masing-masing dimonitor dengan KLT menggunakan berbagai eluen, Fraksi yang memberikan satu noda dan harga R<sub>f</sub> yang sama disatukan, dan diuapkan pelarut.

#### 5. Penentuan Struktur Molekul

Untuk mengetahui struktur molekul karotenoid hasil isolasi yaitu pertama diuji dalam beberapa sifat fisika meliputi : titik leleh, menggunakan alat melting point apparatus, sedangkan kelarutan dengan menggunakan pelarut organik murni atau campuran eluen murni berbagai variasi. Selanjutnya dilakukan analisa spektroskopi, yaitu meliputi : spektrofotometri UV - Vis dan IR.

#### F. Metode/Teknik Pengumpulan Data

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode laboratorium. Teknik pengumpulan data adalah karotenoid hasil pemurnian dengan kolom kromatografi dimonitor dengan KLT menggunakan berbagai variasi eluen. Harga Rf yang sama dan satu noda digabung menjadi satu fraksi, kemudian ditentukan strukturnya.

#### G. Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara non statistik, data yang diperoleh dibandingkan dengan data yang diperoleh dari literatur/standar.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Dari 2 kg sampel segar yang telah diekstraksi dengan etanol 95%, dan diekstrak lagi dengan kloroform dan dietil eter, diperoleh ekstrak dalam dietil eter sebanyak 385 ml. Hasil saponifikasi dari ekstrak dietil eter tersebut, setelah dipekatkan diperoleh ekstrak kasar 3,10 gr. Dari ekstrak kasar tersebut setelah dimurnikan dengan kolom kromatografi dan rekristalisasi, berhasil diisolasi kristal murni warna coklat kemerahan seberat 88,5 mg. Titik lelehnya didapatkan  $178^{\circ}$ - $179^{\circ}$  C. Pada pemeriksaan kromatografi lapisan tipis dengan menggunakan berbagai pengelusi, menghasilkan Rf seperti yang terlihat pada Tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Kromatografi lapisan tipis dari senyawa hasil isolasi

Pigmen	Eluen	Adsorben	Rf
Senyawa hsl isolasi	heksan	silikagel	0,00
Senyawa hsl isolasi	heksan:toluen 4 : 1	silikagel	0,70
Senyawa hsl isolasi	heksan:etil asetat 2 : 1	silikagel	0,80

Pemeriksaan spektrum sinar tampak dengan menggunakan 2 macam pelarut memberikan puncak maksimum seperti yang terlihat pada tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Spektrum sinar tampak senyawa hasil isolasi.

Pelarut	Spektrum (nm) senyawa hasil isolasi
Kloroform	435 ; 462,4 ; 490,9
Petroleum eter	427 ; 448 ; 472

Spektrum infra merah memberikan serapan pada bilangan gelombang 3040, 2960, 1580, 1620, 1460, 1380 dan  $980 \text{ cm}^{-1}$ .

#### B. Pembahasan

Dalam mengekstraksi senyawa karoten, sampel yang digunakan memang dalam keadaan segar dan terlindung cahaya, untuk mencegah terjadinya oksidasi dan degradasi enzimatis. Untuk menghilangkan lemak dan klorofil, dilakukan saponifikasi dengan menggunakan Koh/metanol. Pada reaksi saponifikasi ini seringkali terbentuk emulsi yang mengganggu pencucian klorofil. Untuk mencegah pembentukan emulsi ini, larutan jenuh garam dapur atau kcl dapat dipakai.

Pemeriksaan kromatografi lapisan tipis menggunakan berbagai macam eluen dengan kepolaran berbeda, selalu memberikan bercak tunggal. Ini menunjukkan senyawa hasil isolasi diduga telah murni. Harga Rf dari senyawa hasil isolasi sama dengan harga Rf dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Foppen (1971) dan Davies (1976) yaitu 0,70 dan 0,87 untuk beta-karoten dengan kondisi yang

sama. Gardini (1982) melaporkan bahwa beta-karoten memberikan Rf 0,71 dan Rf 0,90 pada kedua kondisi di atas.

Spektrum sinar tampak dari senyawa hasil isolasi memberikan serapan maksimum pada 435, 462, 4 dan 490, 9 nm dalam pelarut kloroform (lampiran 2), dalam literatur didapatkan bahwa  $\beta$ -karoten memberikan serapan maksimum pada 435, 461 dan 485 nm dalam kloroform (Augustin, 1985), sedangkan dalam pelarut petroleum eter memberikan serapan maksimum pada 427, 448 dan 472 nm (lampiran) dalam literatur terlihat bahwa  $\beta$ -karoten memberikan serapan maksimum pada 425, 448 dan 475 nm dalam petroleum eter (Augustin, 1985).

Spektrum infra merah senyawa isolasi memberikan serapan pada bilangan gelombang 3040, 2960, 1580, 1620, 1380 dan 980  $\text{cm}^{-1}$ . (Lampiran 4). Spektrum infra merah menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H<sub>3</sub> pada 3040  $\text{cm}^{-1}$  (Lemah), daerah 2960  $\text{cm}^{-1}$  (kuat) dirujuk sebagai vibrasi ulur C-H alifatik, daerah 1580  $\text{cm}^{-1}$  (lemah) dirujuk sebagai Vibrasi ulur C=C olefin. Pada daerah 1620-1660  $\text{cm}^{-1}$  muncul puncak lemah, menunjukkan adanya C=C simetris berkonjugasi. Daerah 1460<sup>-1</sup> (sedang) dirujuk sebagai lentur C-H daerah 1380 $\text{cm}^{-1}$  (sedang) dirujuk sebagai C-H<sub>3</sub> daerah 980  $\text{cm}^{-1}$  (tajam) dirujuk sebagai lentur keluar bidang C-H olefin dengan konfigurasi trans. Hasil spektrum inframerah senyawa isolasi ini sama dengan





## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Dari beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan, diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemisahan karoten dengan kolom kromatografi, didapatkan kristal murni warna cokelat kemerahan seberat 88,5 mg, dengan titik leleh  $178^{\circ}$ - $179^{\circ}$
2. Rf senyawa hasil isolasi dengan kromatografi lapisan tipis eilikagel dan eluen, helesan : toluen (4:1) Rf 0,70 : heksan : etil asetat (2:1) Rf 0,87.
3. Berdasarkan kepada sifat kromatografi, titik leleh, spektroskopi sinar tampak dan infra merah menunjukkan bahwa daun kangkung mengandung senyawa beta-karoten.

#### B. Saran

Agar lebih sempurna penelitian terhadap daun kangkung ini, maka disarankan:

1. Memakai adsorben yang lain dalam pemisahan karoten ini sehingga didapatkan biaya dan metode yang lebih murah untuk diaplikasikan.
2. Menguji bioktifitas senyawa hasil isolasi tersebut.
3. Untuk mengkonsumsi daun dalam kangkung kehidupan sehari-hari.

A. ...

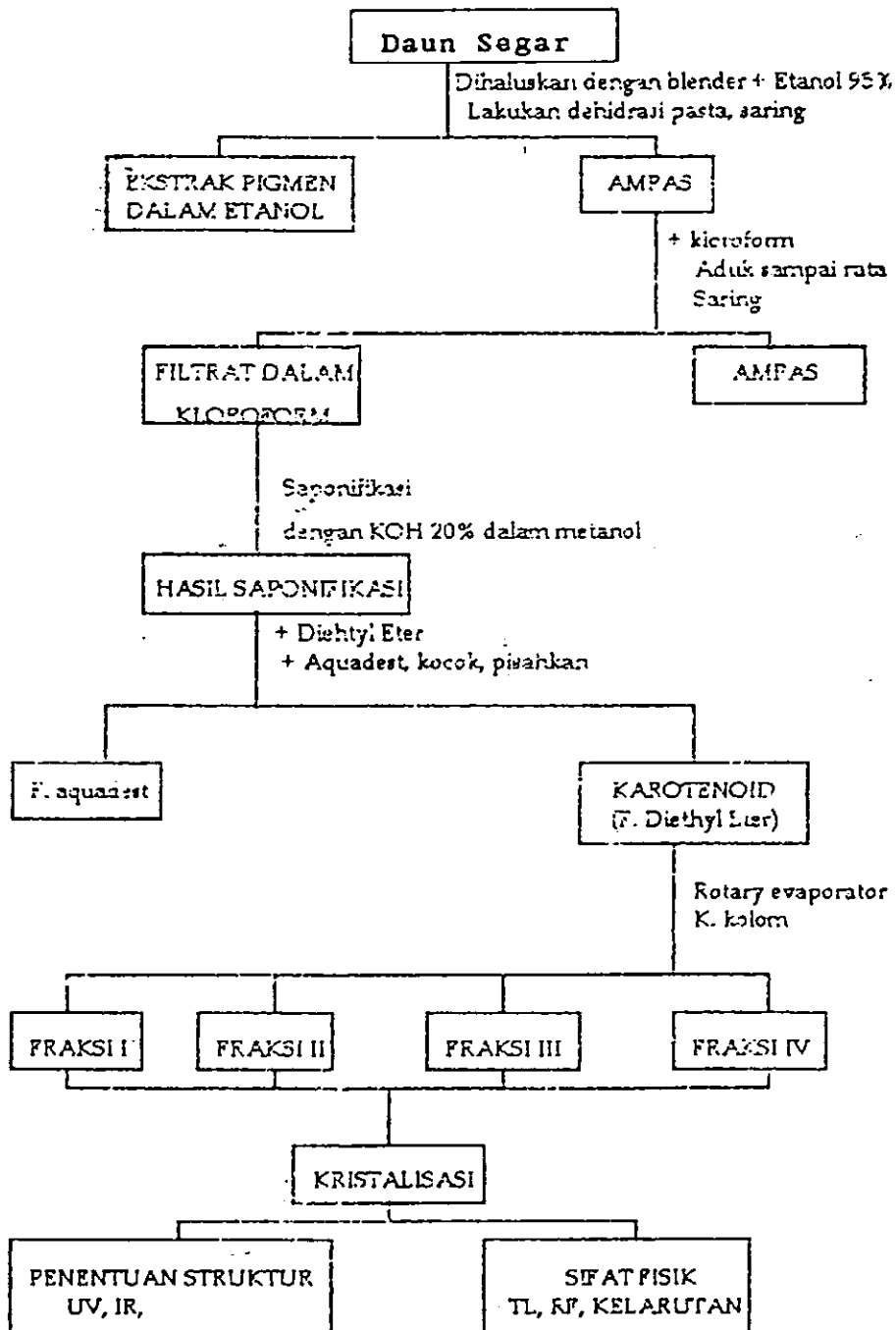
IK. ...

## DAFTAR PUSTAKA

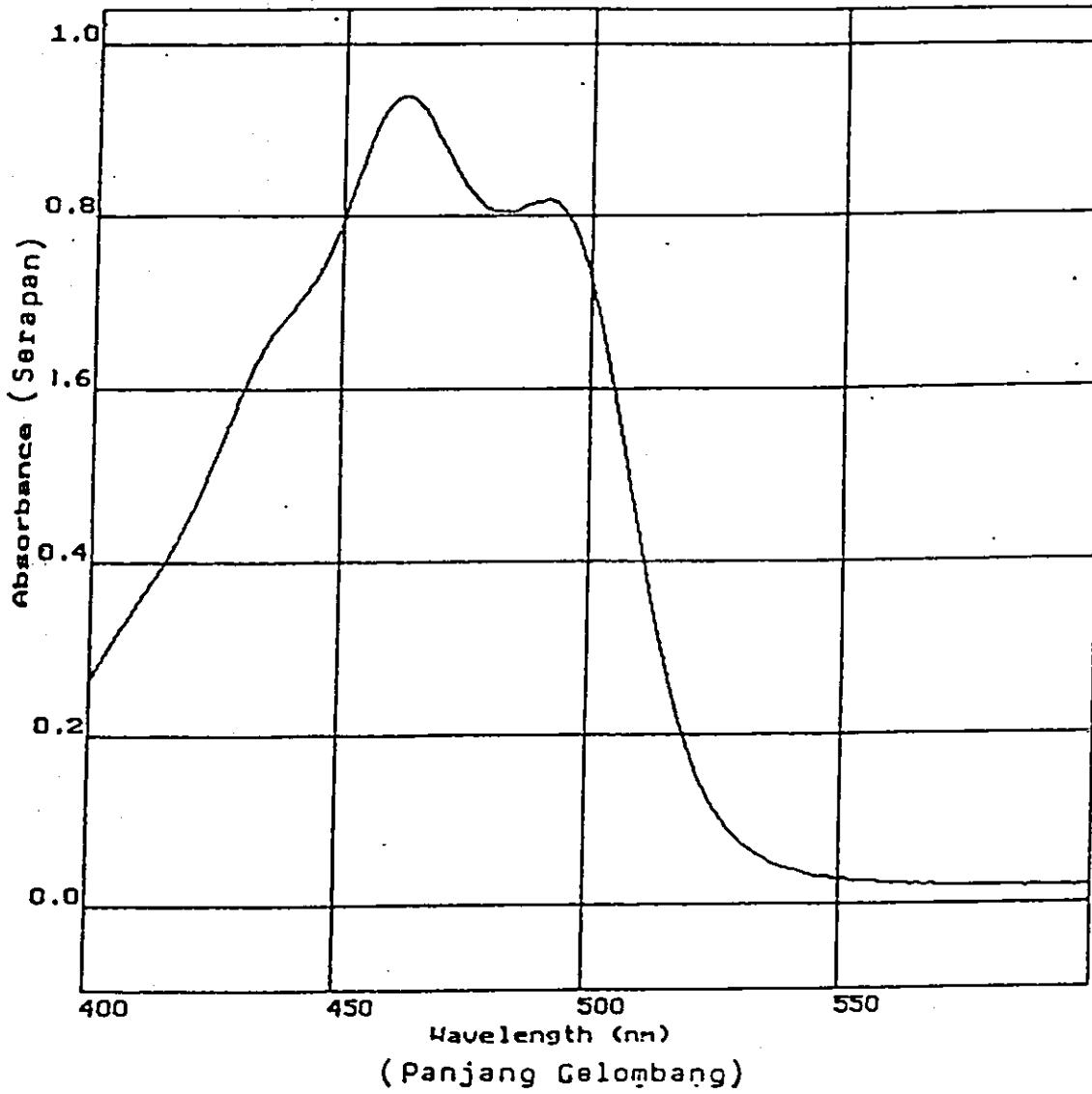
- Augustin, J; p. Islein, B. (1985), *Methods of Vitamin Assay 4 tahun* Ed. Jhon Willey & Sons Inc. New York 201-210.
- Biro Pusat Statistik, (1991) *Survey Pertanian Produksi Tanaman Sayuran di Indonesia*, dalam BPS, Jakarta, Indonesia.
- Chen, B.H Han, Y-Y, 1992. Determination of Carotenoids and Chlorophyl in Water Convolvulus (*Ipomoea aquatica*) by liquid Chromatography. *Food Chemistry*, 45 (2) : 129-134.
- Carl, A.L. 1953. Application of Countercurrent distribution to Valencia orange Juice Carotenoid *J. agric. food Chem.* 1, 456-460.
- Davies, E.H. 1976. *Carotenoids in Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. academic Press, london.
- Donen, H.F.A.C. 1984. *Si Hijau yang Cantik; Aneka sayuran daun hijau di Indonesia*. Gramedia Press, Jakarta.
- Gross, J.M. Gabri, Alifshitz, 1971, Carotenoids in Juice Shamouti orange, *Jurnal of Food Science*. 36, 468-473.
- Gross. J. 1987 : *Pigments in Fruits*, Academic Press Inc, London. 88-107.
- Rukmana, R. 1994. *Bertanam Kangkung*. Konisius, Yokyakarta. 11-20
- Sekija. 1989. *Kimia Pangan*. Dept. Pendidikan dan kebudayaan. Proyek Pengembangan tenaga Pendidikan Tinggi. Jakarta.
- Winarno, F. G. Laksmi, 1973. *Pigmen dalam Penvuluhan Pangan*. Dept. Teknologi Hasil pertanian, ITB Bogor.
- Winarno, f. G. 1989. *Kimia pangan dan Gizi*. Edisi ketiga. Gramedia Press. Jakarta.

## Lampiran 1

## Skema Isolasi Karoten Dari Daun Kangkung

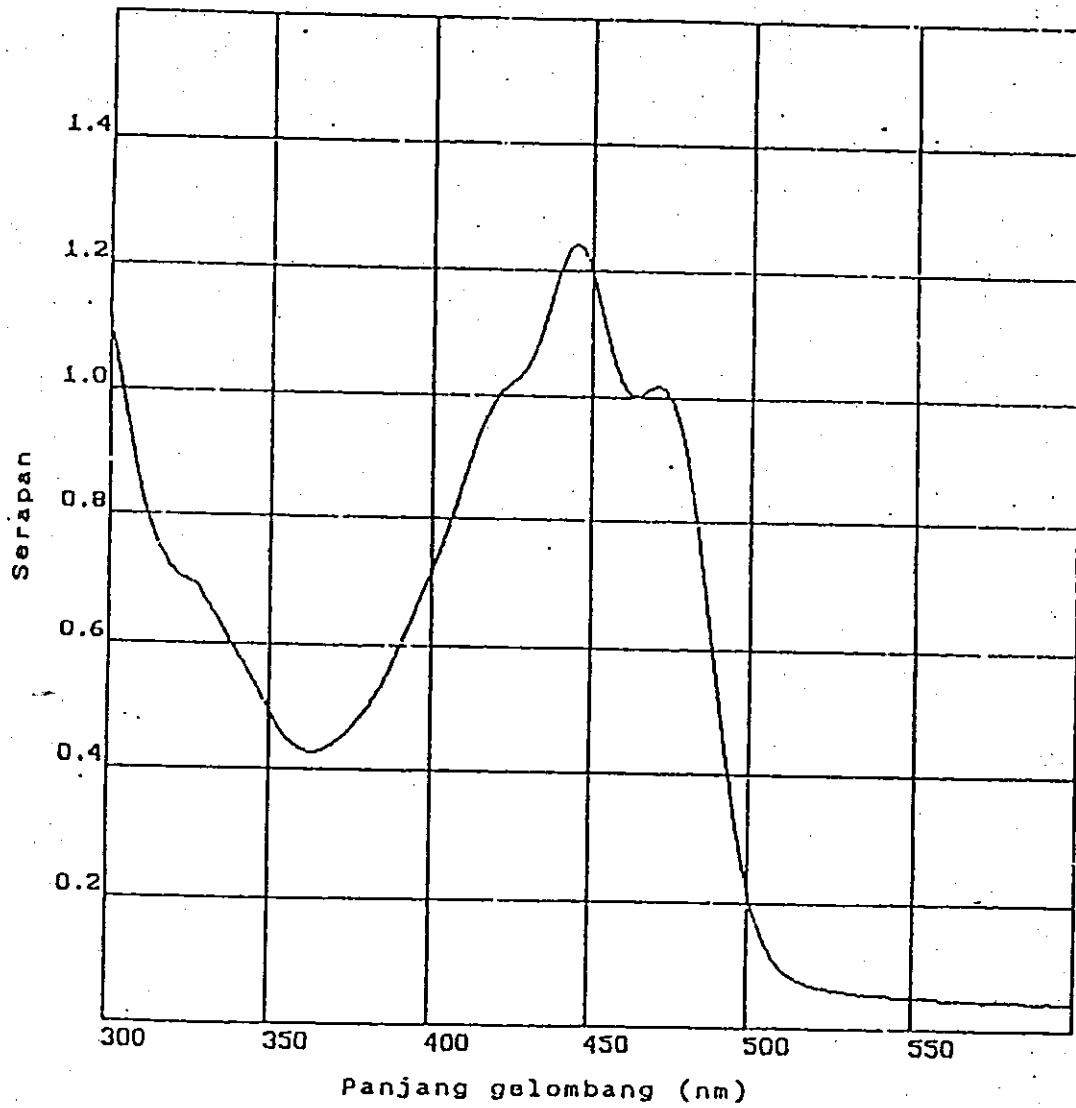


Lampiran 2. Spektrum Sinar Tampak Senyawa hasil isolasi dalam kloroform

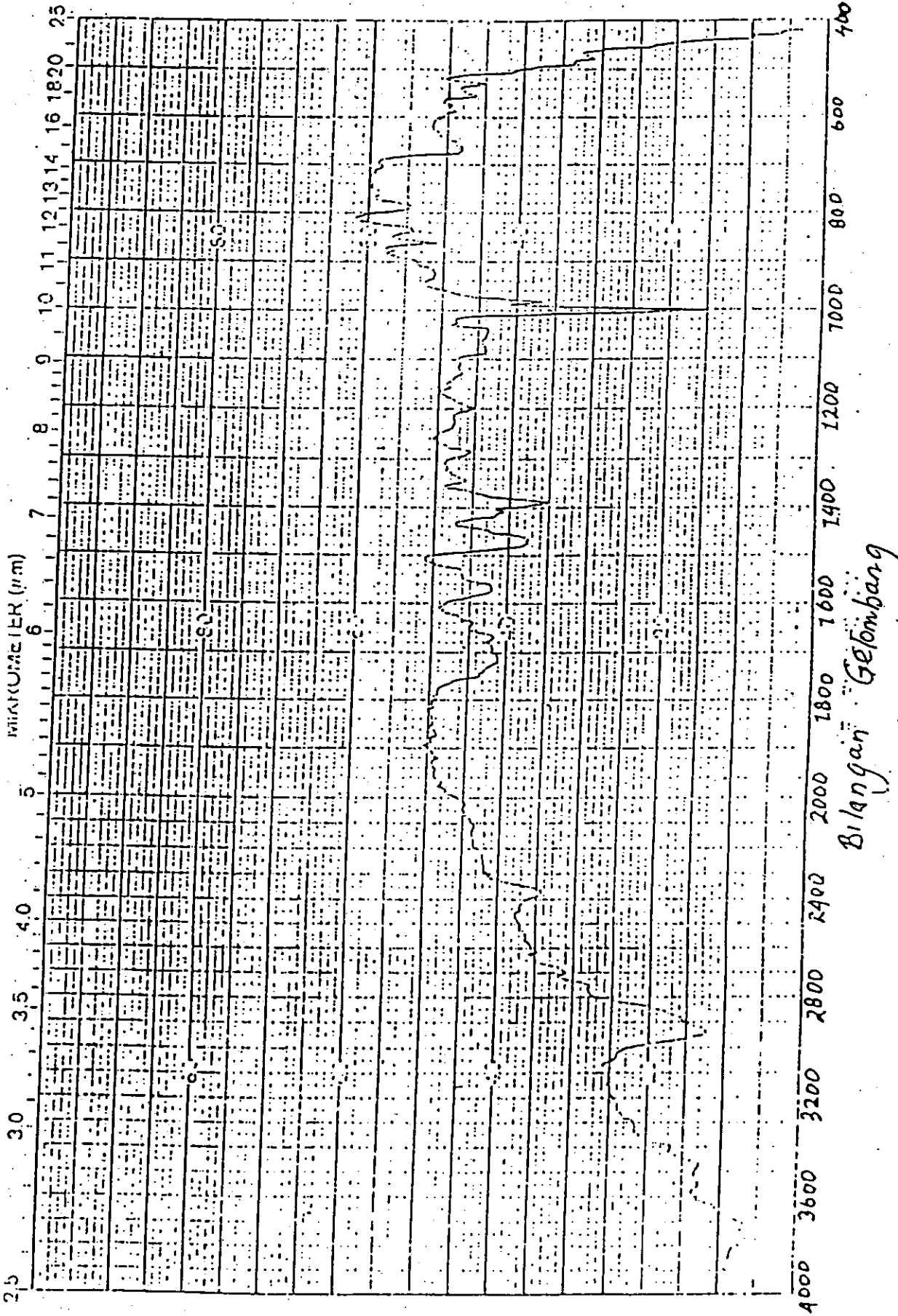


MERIK  
IKIP PALANG

Lampiran 3. Spektrum Sinar Tampak Senyawa hasil isolasi dalam petroleum eter

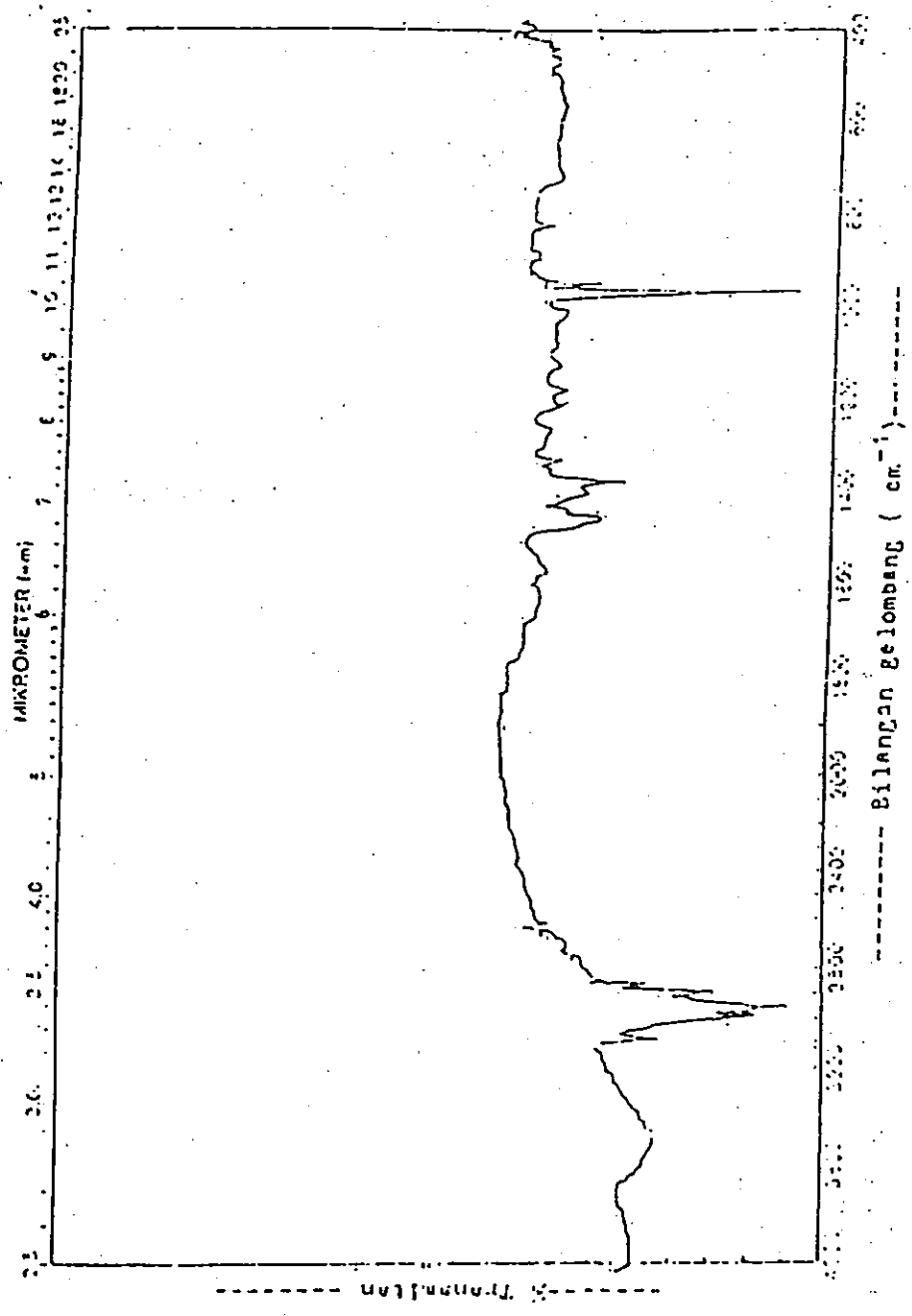


Lampiran 4. Spektrum Inframerah Senyawa hasil isolasi



Bilangan Gelombang

Lampiran 5. Spektrum Inframerah Senyawa Beta-Karoten Standar



MILIK PERPUSTAKAAN  
IKIP PADANG