

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ZAT WARNA *Capsicum frutescens*.*****(The Isolation and Characterization of Pigments from C. frutescens)*****Bimo Budi Santoso  
(Laboratorium Kimia FMIPA UNIPA)****ABSTRACT**

*Isolation and characterization of pigments from C. frutescens have been done. Three components (pigments) were eluted using column chromatography namely yellow pigment, orange pigment, and red pigment. Solvents used to separate the pigments were hexane/dichloroethane, dichloroethane, dichloroethane/methanol and chloroform/dichloroethane.*

*Isolated pigments were subjected to TLC to prove the purity and to get the R<sub>f</sub> value of the isolates. Then, the pure isolates were subjected to UV spectroscopy to get UV spectrum. Base on the data of polarity, pigment color, R<sub>f</sub> value, and UV spectrum, the isolated components of C. frutescens are probably  $\beta$ -carotene (yellow pigment), phenolic or flavonoid compound (orange pigment), and capsanthin (red pigment).*

**Key words:** *C. frutescens, pigment,  $\beta$ -carotene, phenolic, flavonoid and capsanthin.*

---

**PENDAHULUAN**

Cabai merupakan salah satu komoditas sayuran yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Cabai mempunyai arti penting, karena komoditi ini sangat digemari oleh berbagai lapisan masyarakat, sehingga dapat merambah dari kalangan tertinggi sampai terendah. Cabai mempunyai rasa pedas yang khas dan dapat dikonsumsi sebagai rempah-rempah, campuran obat tertentu, bahan pengawet, bahan pewarna dan campuran kosmetik (Pracaya, 1994).

Menurut Cahyadi (1991), dalam 100 cabai segar terdapat 1 protein, 0,3 lemak, 7,3 karbohidrat, 0,5 besi, 29 mg kalsium, 24 mg fosfor, 470 SI vitamin A, 0,05 mg vitamin B, 18 mg vitamin C dan 90 air.

Cabai disamping mempunyai efek yang kurang baik, misal menyebabkan pedih di lambung atau bahkan menyebabkan gejala diare, juga merupakan sumber vitamin A dan vitamin C di mana kedua vitamin tersebut merupakan zat antioksidan yang berfungsi untuk menjaga kebugaran tubuh.

*C. frutescens* merupakan salah satu jenis species dari cabai, yang di Indonesia dikenal dengan nama cabai rawit, mengandung beberapa zat warna, yang sangat terang. Species *Capsicum annum* yang di Indonesia dikenal dengan nama cabai merah telah diketahui mengandung zat

warna merah menyala yang dikenal dengan ester asam lemak dari capsanthin yang merupakan kandungan utama (1) dan juga mengandung zat warna merah dalam jumlah kecil yang dikenal dengan ester asam lemak dari capsorbin (2). Zat warna kuning ( $\beta$ -karoten) juga ditemukan dalam species ini (3) Gambar 1. (Elder et. al., 1976). Zat-zat warna tersebut dikenal dengan nama karotenoid.

Gambar 1. Zat-zat warna yang ditemukan dalam *Capsicus anuum*

Karotenoid yang mana termasuk C-40 tetraterpenoid, adalah golongan zat warna yang larut dalam lemak yang tersebar luas dalam tanaman, ia diketemukan dalam semua jenis tanaman dari bakteri yang sederhana sampai pada zat warna kuning bunga. Salah satu jenis karotenoid,  $\beta$ -caroten (C-20 isoprenoid alkohol), merupakan makanan utama yang diperlukan oleh hewan, karena merupakan sumber vitamin A, yang diperoleh melalui proses hidrasi dan pemecahan molekul. Dalam tanaman, karotenoid mempunyai dua fungsi penting: alat utama dalam proses fotosintesis dan sebagai zat warna dalam bunga dan buah.

Walapun sampai sekarang telah ditemukan lebih dari 300 jenis karotenoid (Isler, 1971), hanya sedikit yang umum diketemukan dalam tanaman tingkat tinggi. Karotenoid yang sudah umum diketahui sebagai hidrokarbon sederhana yang tidak jenuh berdasarkan lycopene atau turunannya yang mengandung oksigen, dikenal sebagai xanthophyl. Struktur kimia dari lycopene mengandung rantai panjang dari delapan unit isoprene yang terdapat antara kepala dan ekor dimana memberikan sistem konjugasi sempurna dari ikatan rangkap kromophore yang memberikan warnanya.

Bila mengisolasi sebuah karotenoid dari sumber tanaman tingkat tinggi, kemungkinan paling besar adalah mendapatkan  $\beta$ -caroten, karena merupakan zat warna yang paling umum terdapat dalam tanaman tingkat tinggi. Bila mempelajari zat warna buah-buahan, perlu diketahui bahwa karotenoid cenderung untuk berakumulasi dalam hal tertentu, contohnya tomat. Lebih spesifik senyawa-senyawa dapat disintesis oleh beberapa golongan tanaman khusus (capsanthin oleh *Capsicum*, rubixanthin oleh *Rosa*, *SP* dan lain-lain).

Identifikasi menyeluruh dari karotenoid berdasarkan kromatografi dengan contoh sampel pada dua unit dan pada spectra tampak sama, kembali didapatkan dua puncak. Spectra dari karotenoid sangat khas antara 400 dan 500 nm, puncak utama disekitar 450 nm dan biasanya dua puncak tambahan di kedua sisinya (Gambar 2).

Gambar 2. Visible Spectrum dari  $\beta$ -carotene

Ada kemungkinan (walaupun sangat jarang) untuk mengisolasi karotenoid tunggal dalam bentuk yang relatif murni dari sumber tanaman tertentu. Salah satu contoh adalah capsanthin dari buah cabe merah atau paprica, *C. annuum* (Harbone, 1973). Capsanthin mempunyai panjang gelombang maksimum 481 dan 511 nm dalam cloroform dan Rf 0,16 dalam dichloroethane-ethyl asetat (4:1) (Kost, 1988).

Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan zat-zat warna (pigmen) yang terkandung dalam cabai rawit (*C. frutescens*) dan menentukan jenis senyawa dari zat-zat warna tersebut dengan kromatografi lapis tipis dan UV spectrometer.

## METODE PENELITIAN

**Penyiapan kolom.** Buret biasa dengan kapasitas 25 ml digunakan sebagai kolom kromatografi. Glass wool ditempatkan pada bagian bawah buret dan buret diklem pada tegakan besi (iron stand). Bubur yang dibuat dari 15 silica gel dalam 100 ml hexana/dikloroethana (1:1) dibuat dengan cara mengaduk-aduk untuk menghilangkan udara. Kemudian bubur silica gel segera dimasukkan ke dalam kolom.

**Ekstraksi zat warna dari cabe rawit (*C. frutescens*).** Sebanyak 10 buah cabe yang telah dihilangkan bijinya dijemur anginkan selama semalam kemudian diekstrak dengan 200 ml dikloroethana. Ekstraktan disaring dan sisa padatan (residu) dibuang. Larutan NaCl jenuh 200 ml ditambahkan ke dalam ekstrak dikloroethane. Campuran dikocok beberapa kali tetapi jangan sampai timbul busa. Kemudian campuran dibiarkan untuk terpisah dengan sempurna dan fasa bagian bawah (fasa dikloroethane) diambil. Fasa dikloroethane ini dikeringkan dengan sodium sulfat anhidrat, dan diuapkan di bawah vacuum sampai tinggal 10 ml.

**Pemisahan zat-zat warna.** Ekstrak zat warna (5 ml) secara hati-hati diletakan pada bagian atas kolom dengan menggunakan pipet pasteur. Komponen-komponen kemudian dielusi dengan hexana/dikloroethane (1:1). Eluen yang tidak berwarna dibuang. Pelarut secara kontinyu ditambahkan sampai pita yang berwarna bergerak turun dari kolom dan eluen ditampung dalam wadah yang berbeda. Ketika eluen sudah tidak berwarna, pelarut diubah dengan dikloroethane dan band (pita) yang berwarna ditampung dalam wadah yang berbeda sampai eluen tidak berwarna lagi. Pelarut diubah dengan dikloroethane/methanol (1:1) dan eluen yang berwarna ditampung dalam wadah lainnya. Setiap pita yang berwarna (3 macam pita berwarna) dispotkan dalam TLC. Dua warna pertama, yang mana adalah eluen dari hexana/dikloroethane dan dikloroethane, masing-masing mempunyai satu titik (spot) pada TLC. Eluen dikloroethane/methanol (1:1) diketemukan mempunyai 3 spot pada TLC. Eluen ini kemudian dimasukan ke dalam kolom kromatografi lagi dengan eluen kloroform/ethanol (8:2) dan (7:3). Eluen pertama mempunyai 1 spot pada TLC, sedangkan eluen kedua mempunyai 2 spot dengan ekor panjang. Kemudian eluen pertama diukur serapannya di UV-VIS spectrophotometer DMS 100.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Terdapat tiga warna pita yang dapat ditampung dari penelitian ini yaitu warna kuning, oranye dan merah. Komponen zat warna yang paling tidak polar adalah warna kuning,

merupakan eluen pertama yang terelusi dari kolom. Eluen kedua (lebih polar) adalah komponen zat warna oranye. Eluen terakhir adalah zat warna merah yang paling polar dan diduga merupakan komponen utama, hal ini berdasarkan pada intensitas warna dan volume eluen yang didapat.

Dua komponen utama, yaitu warna kuning dan oranye, masing-masing menunjukkan hanya satu spot pada TLC. Hal tersebut mengindikasikan bahwa komponen-komponen itu adalah relatif murni. Rf dari eluen pertama (zat warna kuning) adalah 0,56 pada silica gel, hexana/dikloromethane (1:1). Menurut Davies (1965)  $\beta$ -karotene mempunyai Rf 0,49 pada MgO yang diaktifkan, petroleum ether (90-110 °C): benzena (1:1). Pada UV spektroskopi, ia mempunyai panjang gelombang maksimum pada spektra tampak adalah 427, 452 dan 658 nm dengan eluen hexana/dikloroethane (1:1) seperti ditunjukkan pada Gambar 3.

Gambar 3. UV spectrum dari komponen zat warna kuning

Spectra tampak ini hampir sama dengan data dari Davies (1965) yang menunjukkan  $\beta$ -karotene mempunyai panjang gelombang maksimum 425, 451 dan 482 nm dalam hexana. Elder et al. (1976) melaporkan bahwa species yang mempunyai kekerabatan dengan *C. annuum* mengandung warna kuning  $\beta$ -karotene. Maka berdasarkan pada referensi yang ada, warna zat, Rf dan UV spectrum merupakan komponen yang paling tidak polar, dimana dielusi pada pertama kali dapat disimpulkan sebagai  $\beta$ -karotene.

Eluen kedua (zat warna oranye) yang terelusi pada urutan kedua mempunyai Rf 0,89 dalam hexana/dikloroetana-acetone (3:1:1). Ia tidak

menyerap pada daerah sinar tampak, tetapi ia menyerap pada spektra maksimum pada 226 nm dalam kloroform seperti pada Gambar 4.

Gambar 4. UV spectrum dari komponen zat warna oranye.

Berdasarkan pada data yang ada, komponen oranye yang terelusi pada urutan kedua adalah bukan golongan karotenoid tetapi kemungkinan besar adalah golongan penolik atau flavonoid. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa cabai mengandung beberapa macam flavonoid (Lee., et. al., 1995). Juga dilaporkan bahwa golongan penolik menyerap pada daerah UV pendek (Harborne, 1973).

Eluen ketiga, yang adalah komponen zat warna merah, dielusi dengan dikloroethane-methanol (1:1), mempunyai 3 spot pada TLC. Kemudian ekstrak ini dimasukkan ke dalam kolom kromatografi kembali dan dielusi dengan kloroform-methanol (8:2 dan 7:3). Eluen warna merah pertama mempunyai satu spot pada TLC kemudian panjang gelombang maksimumnya diukur pada UV spektroskopi, sedangkan eluen kedua mempunyai dua spot dengan ekor yang panjang, sehingga eluen ini tidak diukur panjang gelombang maksimumnya. Komponen zat warna pertama mempunyai spektra tampak maksimum pada 480 nm dalam kloroform-methanol (8:2) seperti ditunjukkan pada Gambar 5.

Gambar 5. UV spectrum dari komponen zat warna merah

Penelitian sebelumnya mendapatkan bahwa spectra tampak untuk capsanthin dari *C. annuum* adalah 481 dan 511 nm dalam kloroform (Kost, 1988). Pada TLC, Rf dari komponen ini adalah 0,12 dalam dikloroethane-methanol (3:1). Menurut Kost (1988) capsanthin mempunyai Rf 0,16 dalam kloroform/methanol (4:1). Data penelitian ini menyerupai penelitian sebelumnya. Perbedaan yang kecil disebabkan oleh sedikit perbedaan pada pelarut yang digunakan baik pada TLC maupun pada UV spektroskopi. Maka dapat disimpulkan bahwa zat warna merah dari *C. frutescens* adalah karotenoid, yang kemungkinan besar adalah capsanthin. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Elder dkk (1976) bahwa pada *C. annuum* mempunyai kekerabatan jenis dengan *C. frutescens* mengandung zat warna merah dari ester asam lemak dari capsanthin.

## KESIMPULAN

Tiga komponen zat warna telah diisolasi dari *C. frutescens* dengan menggunakan kromatografi kolom. Pemisahan komponen-komponen dapat dijelaskan berdasarkan pada polaritas, absorbtivitas dan kelarutan. Tiga komponen tersebut berdasarkan pada data warna, Rf dan spectra UV kemungkinan besar adalah  $\beta$ -karotene (zat warna kuning), senyawa phenolic atau senyawa flavonoid (zat warna oranye) dan capsanthin (zat warna merah).

# **DAFTAR PUSTAKA**

- Davies, B.H.1965.Analysis of carotenoid pigments. *In The chemistry and biochemistry of plant pigments*. Ed Goodwind, T.W., 489-532, academic Press, London.
- Elder J.W., Abbruzzess, J., Murray, J. and Zerelski, M.J.,1996. *Chem. educ.*, 53 (1), 43.
- Espeso, E.I. Gelvero, S.G and Vilaraza C.M.1997. *Kimika* 13 (1): 35-36
- Harborne, J.B., *Phytochemical Methods*,. 1973 Chapman and Hall Ltd. London.
- Howard, I.R., Smith, R.T., Wagner, A.B., Villalon, B., and Burns, E.F., 1995. *J. Food Sci.* 59:562-565.
- Isler,O., 1971. *Carotenoids*. Birkhauser-Verlag, Basle.
- Kost, H.P, 1988. *Hand Book of Chromatography Plant Pigments*, Vol. 1 CRC Press, Florida.
- Lee, Y., Howard, L.R. and Villalon, B., *J. Food Sci.* 60 (3) 473-476 (1995)