

## IDENTIFIKASI PIGMEN PADA BERBAGAI JENIS DAUN MELALUI TEKNIK KROMATOGRAFI

Nur Ita Rahmawati<sup>1</sup>, Salma Auliya Yoviska<sup>2</sup>, Dede Nuraida<sup>3\*</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas PGRI Ronggolawe

\*Email: dede.nuraida@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pigmen yang terdapat pada daun tumbuhan Pucuk Merah (*Syzygium paniculatum*), Bakung (*Amarillis* sp.), Wali Songo (*Schefflera arboricola*) dan daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana*). Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimen dengan teknik kromatografi dan analisis kualitatif. Sebanyak 1 gram daun sampel dihaluskan dengan penambahan 25 mL alkohol 95% dan diendapkan. Selanjutnya ekstrak dipisah dengan ampasnya kemudian digunakan untuk mengetahui jenis pigmen daun dengan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian sesuai dengan tujuan awal penelitian yaitu terdapat perbedaan warna pigmen pada jenis daun dari tumbuhan yang berbeda. Pada daun Bakung (*Amarillis* sp.) dan daun Wali Songo (*Schefflera arboricola*) ditemukan pigmen warna antara lain hijau muda (klorofil b), hijau tua (klorofil a) dan kuning (xantofil). Pada daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana*) ditemukan pigmen hijau muda (klorofil b), hijau tua (klorofil a), kuning (xantofil) dan ungu (anthosianin). Pada daun pucuk merah (*Syzygium paniculatum*) ditemukan pigmen warna merah muda (fikoeritsin), merah tua (fikosianin) dan ungu anthosianin.

**Kata Kunci:** pigmen; kromatografi; klorofil; warna; daun

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi nomor dua di dunia yang tinggi, [1]. Hal ini ditunjukkan dengan banyaknya jenis hewan dan tumbuhan yang memiliki keragaman morfologi dan pola unik yang berbeda satu sama lain. Seperti perbedaan warna bulu dan jenis alat gerak pada hewan. Adanya perbedaan warna bunga, bentuk daun, warna daun dan sebagainya. Bagi setiap tumbuhan, daun adalah indikator penting yang berguna bagi kelangsungan hidupnya yaitu merupakan tempat berlangsungnya proses fotosintesis. Fotosintesis adalah proses penambatan zat karbon dari udara yang diubah menjadi menjadi senyawa organik dan menghasilkan energi yang digunakan untuk pertumbuhan [2]. Proses fotosintesis dapat terjadi karena adanya klorofil dalam daun. Klorofil mengandung kloroplas yang berwarna hijau yang disebabkan adanya pigmen. Selain berperan dalam fotosintesis, pigmen juga berfungsi sebagai penghasil warna, antioksidan, precursor vitamin A dan sebagainya [3]. Terdapat beragam macam pigmen pada daun, seperti pigmen klorofil, xantofil, karoten dan pigmen lainnya yang memberikan warna daun yang beragam [4][5][6].

Pigmen pada tumbuhan merupakan biokrom yaitu warna hidup [7], yang secara

alami dimiliki oleh tumbuhan maupun hewan [8][9]. Konsentrasi pigmen pada tumbuhan tergantung dari intensitas warna yang terdapat pada tumbuhan tersebut [10]. Beberapa pigmen yang banyak ditemukan pada tumbuhan antara lain klorofil, antosianin, karetenoid, tanin [11], caramel dan biskin. Pigmen klorofil menghasilkan warna hijau; antosianin menampilkan warna merah, orange, ungu, biru dan kuning; karotenoid menghasilkan warna jingga sampai merah; tannin menghasilkan warna coklat; dan karamel menghasilkan warna coklat gelap [12].

Klorofil dibedakan menjadi dua yaitu klorofil A memiliki warna hijau rumput dan klorofil B memiliki warna hijau kebiruan berfungsi untuk menyerap cahaya biru atau kejinggaan. Karatenoid yang memiliki pigmen jingga mampu menyerap menyerap warna biru kehijauan dan biru kekuningan. Sedangkan anthosianin memiliki beberapa fungsi antara lain: a) melindungi tumbuhan dari cekaman biotik maupun abiotik, b) menambah daya tarik serangga untuk dapat membantu proses penyerbukan [13].

Keberagaman warna daun pada tumbuhan, memperlihatkan adanya berbagai macam pigmen pada daun tersebut. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel berupa daun dari beberapa tumbuhan yang

banyak ditemukan di lingkungan Kampus Unirow Tuban, Teknik penelitian menggunakan teknik kromatografi (*chromatography*). Teknik kromatografi yaitu teknik pemisahan molekul yang didasarkan pada perbedaan pola pergerakan antara fase gerak dan diam untuk memisahkan komponen yang ada dalam larutan. Molekul yang terlarut dalam fase gerak akan melewati kolom yang merupakan fase diam. Dengan demikian, berbagai molekul dapat dipisahkan berdasarkan pergerakan pada kolom [4]. Terdapat beberapa macam teknik kromatografi, diantaranya kromatografi gas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kertas, dan kromatografi kolom. Semua bentuk kromatografi ini bekerja berdasarkan prinsip yang sama [4]. Teknik kromatografi dapat digunakan untuk menguji berbagai senyawa, salah satunya adalah pigmen [14]. Pada penelitian ini, teknik kromatografi yang digunakan untuk mengetahui pigmen yang terdapat pada sampel yang diteliti adalah kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan kertas saring. Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk mengetahui kandungan pigmen klorofil yang terdapat pada tumbuhan [15]. Prinsip kerja kromatografi lapis tipis adalah pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan antara fase stasioner dan fase gerak, fase geraknya adalah pelarut atau disebut eluen [14].

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas PGRI Ronggolawe dengan menggunakan metode eksperimen dan analisis kualitatif. Subyek penelitian terdiri dari 4 sampel: sampel 1 menggunakan ekstrak daun muda tumbuhan pucuk merah (*Syzygium paniculatum*), sampel 2 menggunakan ekstrak daun muda tumbuhan Bakung (*Amarillis sp.*), sampel 3 menggunakan ekstrak daun muda tumbuhan Wali Songo

(*Schefflera arboricola*), dan sampel 4 menggunakan ekstrak daun muda tumbuhan akalifa (*Acalypha wilkesiana*).

Alat yang digunakan antara lain: mortal, alu, pipet tetes, gelas beaker, alkohol, cawan petri, batang pengaduk, kertas saring, penggaris, kamera, dan alat tulis menulis. Langkah pertama yang dilakukan adalah membuat ekstrak dari beberapa sampel daun yang akan diteliti, dengan cara menimbang sampel sebanyak 1 gr lalu digerus dalam mortal sambil ditetesi alkohol 95 % sebanyak 25 ml. Biarkan di cawan petri selama beberapa menit sampai ampasnya mengendap. Setelah itu ekstrak dipisahkan dari ampasnya dengan menuangkan secara perlahan ke dalam cawan petri lain. Prosedur dilakukan secara berulang sehingga ekstrak daun benar-benar terpisah dari ampasnya. Bagian ujung kertas saring dengan ukuran 3x15 cm dicelupkan ke dalam ekstrak sedalam 1 cm, dibiarkan beberapa menit sampai pigmen bermigrasi pada kertas saring. Pengumpulan data dilakukan dengan mengamati warna pigmen yang muncul pada kertas kromatogram, analisis data dilakukan dengan mengukur tinggi migrasi pigmen, dan mengukur lebar area pigmen pada kertas kromatogram.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Berdasarkan hasil penelitian terlihat pergerakan pigmen daun tumbuhan yang telah dipisahkan dengan teknik kromatografi lapis tipis. Pada teknik kromatografi, fase diam yaitu kertas saring, sedangkan fase gerak yaitu pelarut. Pelarut akan bergerak melalui kertas saring oleh gaya kapiler dan menggerakkan komponen campuran dengan jarak yang berbeda pula. Identifikasi hasil penelitian dilakukan dengan faktor reterdasi atau retardation faktor (Rf). Nilai Rf didapatkan dari perbandingan jarak yang ditempuh pigmen dengan jarak tempuh pelarut [16]. Data hasil penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data pigmen yang muncul serta lebar dan panjang pigmen pada kertas saring

Tumbuhan	Warna Noda	Lebar Noda (cm)	Rf	Pigmen
Pucuk merah ( <i>Syzygium paniculatum</i> )	Merah muda	2	0,29	fikoeritsin
	Merah tua	0,3	0,33	fikosianin
	Ungu	1,3	0,37	anthosianin
Bakung ( <i>Amarillis sp.</i> )	Hijau muda	0,3	0,29	Klorofil b
	Hijau tua	1,1	0,33	Klorofil a
	Kuning	0,2	0,46	Xantofil
Wali Songo ( <i>Schefflera arboricola</i> )	Hijau muda	1	0,14	Klorofil b
	Hijau tua	0,5	0,16	Klorofil a
	Kuning	0,2	0,23	Xantofil
Akalifa ( <i>Acalypha wilkesiana</i> )	Hijau muda	0,9	0,14	Klorofil b
	Hijau tua	0,1	0,27	Klorofil a
	Kuning	0,2	0,29	Xantofil
	Ungu	0,6	0,31	Anthosianin

Berdasarkan Tabel 1. Dapat dilihat bahwa pemisahan pigmen daun yang berwarna dominan hijau pada daun Bakung (*Amarillis sp.*) menunjukkan warna noda kuning terserap lebih dahulu dan nilai Rf sebesar 0,46, hal ini menunjukkan adanya pigmen xantofil yang mempunyai berat molekul paling ringan dibanding pigmen hijau. Setelah warna kuning di bagian tengah selanjutnya warna hijau tua dengan Rf 0,33 dan bagian paling bawah yaitu warna hijau muda dengan Rf sebesar 0,29.

Pada daun dominan hijau lain yaitu daun Wali Songo (*Schefflera arboricola*) terdapat warna noda dari bawah hijau muda dengan nilai Rf 0,14, selanjutnya hijau tua memiliki nilai Rf 0,16 dan paling atas warna kuning dengan Rf 0,23. Dari kedua daun dominan hijau yaitu Bakung (*Amarillis sp.*) dan (*Schefflera arboricola*) memiliki warna noda yang sama dengan nilai Rf yang mendekati untuk setiap warna noda, maka kedua daun ini memiliki jenis dan karakteristik pigmen yang sama [17].

Jadi pada daun yang dominan warna hijau memiliki pigmen warna dengan berat molekul paling ringan yaitu warna kuning adalah pigmen xantofil, dan yang kedua hijau tua yaitu pigmen klorofil a dan pigmen warna yang memiliki berat molekul paling besar yaitu hijau muda yakni klorofil b [18].

Pada hasil lebar area pigmen diketahui bahwa setiap pigmen warna yang ditemukan dalam daun *Amarillis sp.*, dan daun walisongo (*Schefflera arboricola*) memiliki lebar area yang berbeda-beda. Lebar area pigmen daun *Amarillis sp.* untuk pigmen klorofil b yaitu 0,3 cm,

klorofil a yaitu 1,1 cm, dan pigmen kuning (xantofil) dengan lebar area pigmen 0,2 cm, dimana lebar area pigmen ini menunjukkan banyak sedikitnya pigmen dalam daun. Pada daun Bakung (*Amarillis sp.*) banyak ditemukan pigmen hijau tua (klorofil a) dengan lebar area pigmen 1,1 cm. Pada daun Wali Songo (*Schefflera arboricola*) warna pigmen klorofil b memiliki lebar area yakni 1 cm, klorofil a dengan lebar area 0,5 cm, dan pigmen kuning (xantofil) yaitu 0,2 cm, dari ketiga pigmen tersebut pigmen hijau muda (klorofil b) yang memiliki lebar area pigmen paling besar yang artinya pada daun Wali Songo terdapat banyak klorofil b dibandingkan dengan klorofil a dan xantofil [19].

Pemisahan pigmen daun yang berwarna dominan ungu yaitu daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana*), menunjukkan urutan warna noda dari bagian bawah kertas saring adalah hijau muda dengan nilai Rf 0,14, hijau tua dengan Rf sebesar 0,27, kuning dengan Rf 0,39 dan ungu 0,31. Warna noda ungu pada daun Akalifa ini merupakan anthosianin karena berdasarkan nilai Rf yang berada pada range 0,2-0,8 [20] menandakan bahwa sampel daun Akalifa positif mengandung anthosianin. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian dari Kondorik, dkk., (2016) [21].

Warna ungu terserap lebih dahulu dan warna kuning selanjutnya, artinya warna ungu mempunyai berat molekul lebih ringan dibandingkan warna kuning. Berat molekul warna ungu dan kuning lebih rendah bila dibandingkan dengan berat molekul warna hijau

tua dan hijau muda [21]. Hal tersebut menandakan adanya pigmen klorofil a dengan berat molekul 893 dan klorofil b dengan berat molekul 907 [22]. Pada daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana*) pigmen hijau muda (klorofil b) memiliki lebar area pigmen yang paling besar yaitu 1 cm di dibandingkan dengan pigmen lain yang di temukan pada daun Akalifa, yang mana hal ini menunjukkan bahwa pada daun Akalifa banyak di temukan pigmen hijau muda (klorofil b) dan pigmen yang paling sedikit ditemukan yaitu pigmen hijau tua (klorofil a) dengan lebar area pigmen yaitu 0,1 cm.

Pada daun dominan merah yaitu daun pucuk merah (*Syzygium paniculatum*) terlihat adanya urutan warna dari bawah kertas saring yaitu merah muda dengan Rf sebesar 0,29, merah tua dengan nilai Rf 0,33 dan ungu memiliki Rf 0,37. Hal ini menunjukkan adanya pigmen warna Fikoeritsin (warna merah cerah), yang terserap paling bawah karena memiliki berat molekul yang lebih berat dibandingkan pigmen Fikosianin (warna merah tua) dan pigmen ungu (anthosianin), dan warna yang paling atas adalah warna pigmen ungu (anthosianin) [23]. Pada daun pucuk merah (*Syzygium paniculatum*) pigmen yang paling banyak ditemukan yaitu merah muda (fikoeritsin) dengan lebar area pigmen 2 cm dan pigmen yang paling sedikit ditemukan yaitu merah tua (fikosianin) dengan lebar area pigmen 0,3 cm.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa berat molekul klorofil b (hijau muda) lebih besar dari pada klorofil a (hijau muda) dan klorofil a lebih besar dari xantofil (kuning), dan anthosianin (ungu) pigmen dengan berat molekul paling kecil diantara warna pigmen lain.

Jarak serapan oleh pigmen warna tergantung dari berat molekul pigmen tersebut. Semakin ringan molekulnya, maka pigmen akan terbawa pelarut kromatografi lebih jauh ke atas. Dan semakin berat molekul pigmen, maka pigmen akan terbawa pelarut lebih dekat (berada di bawah) [1]. Pergerakan pigmen warna pada kertas kromatografi terlihat berbeda karena pigmen warna tersebut memiliki massa molekul yang berbeda-beda. Massa molekul yang lebih ringan akan terserap lebih cepat dan pigmen yang mempunyai massa molekul yang lebih berat akan terserap lebih lambat pada kertas saring.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pigmen warna yang terdapat pada daun tumbuhan dapat dipisahkan menggunakan metode kromatografi lapis tipis, dengan prinsip perbedaan berat molekul pigmen warna. Hasil yang didapatkan yaitu warna noda yang terserap pada kertas saring. Pada daun Bakung (*Amarilis sp.*) dan daun Wali Songo (*Schefflera arboricola*) ditemukan pigmen warna hijau muda atau klorofil b, hijau tua atau klorofil a dan warna kuning yaitu pigmen xantofil. Pada daun Akalifa (*Acalypha wilkesiana*) ditemukan pigmen klorofil b (hijau muda), pigmen klorofil a (hijau tua), xantofil (kuning) dan ungu (anthosianin). Pada daun pucuk merah (*Syzygium paniculatum*) ditemukan pigmen warna merah muda (fikoeritsin), merah tua (fikosianin) dan ungu (anthosianin).

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Silvia, Y. (2017). "Etnobotani tumbuhan anggota arecaceae di kecamatan seulimum," *J. Ilm. Mhs. Pendidik. Biol.*, vol. 2, no. 2.
- [2] Handoko, P. & Fajariyanti, Y. (2013). "Pengaruh spektrum cahaya tampak terhadap laju fotosintesis tanaman air *Hydrilla verticillata*," *Semin. Nas. X Pendidik. Biol. FKIP UNS*, vol. 10, no. 2, pp. 1–9.
- [3] Maleta, H. S., Indrawati, R., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. H. P. (2018). "Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur)," *J. Rekayasa Kim. Lingkung.*, vol. 13, no. 1, pp. 40–50. doi: 10.23955/rkl.v13i1.10008.
- [4] Hernawati, D., Badriah, L., & Fitriani, R. (2012). "Variasi Pigmen Tumbuhan yang Terdapat pada Warna Daun yang Berbeda dengan Menggunakan Teknik Paper Chromatography," *Variasi Pigmen Tumbuh. yang Terdapat pada Warn. Daun yang Berbeda dengan Menggunakan Tek. Pap. Chromatogr.*, pp. 1–5.
- [5] Latifa, R. (2016). "Karakter morfologi daun beberapa jenis pohon penghijauan hutan kota di kota malang," *Res. Rep.*
- [6] Gogahu, Y., Nio, S. A., & Siahaan, P. (2016). "Konsentrasi klorofil pada beberapa varietas tanaman Puring (*Codiaeum varigatum* L.)," *J. MIPA*, vol. 5, no. 2, pp. 76–80.

- [7] Balaira, G., Kemer, K., & Mantiri, D. (2017). "Pemisahan pigmen pada mikroalga *Dunaliella salina* yang telah diberi senyawa timbal asetatAWA," *J. Pesisir dan Laut Trop.*, vol. 5, no. 1, pp. 41–49.
- [8] Sarofa, U., Anggrahini, D., & Winarti, S. (2012). "Ekstraksi dan stabilitas warna ubi jalar ungu sebagai pewarna alami," *J. Tek. Kim.*, vol. 3, no. 1, pp. 207–214.
- [9] Juniarti, M. F., and Hasnelly, D. S. (2016). "Kajian Konsentrasi Pelarut Aseton Dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Pigmen Karotenoid Buah Campolay (*Pouteria campechiana*) Sebagai Zat Warna Alami." Fakultas Teknik Unpas.
- [10] Setiawan, M. A. W., Nugroho, E. K., & Lestario, L. N. (2016). "Ekstraksi Betasianin dari Kulit Umbi Bit (*Beta vulgaris*) Sebagai Pewarna Alami," *Agric*, vol. 27, no. 1, p. 38. doi: 10.24246/agric.2015.v27.i1.p38-43.
- [11] Fauziah, N. A., & Saleh, C. (2016). "Ekstraksi dan Uji Stabilitas Zat Warna dari Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) dengan Metode Spektroskopi UV-VIS," *J. At.*, vol. 1, no. 1.
- [12] Purwanti, A., Putri, M. E. V. E., & Alviyati, N. (2019). "Optimasi Ekstraksi  $\beta$ -Karoten Ubi Jalar Kuning (*Ipomoea Batatas* L.) sebagai Sumber Potensial Pigmen Alami," *J. ITNY*, vol. 2019, no. November, p. 415.
- [13] Priska, M., Peni, N., Carvallo, L., & Y. Ngapa, D. (2018). "Antosianin dan pemanfaatannya," *Cakra Kim. (Indonesian E-Journal Appl. Chem.)*, vol. 6, no. 2, pp. 79–97.
- [14] Arvin, M. & Ulhaq, D. (2018). "Kromatografi Pigmen Mata *Drosophila melanogaster*". no. Modul 04, pp. 1–4.
- [15] Rosang, C. I. (2016). "Penentuan Kandungan Pigmen Klorofil pada Lamun Jenis *Halophila ovalis* di Perairan Malalayang," vol. 1, pp. 15–19, 2016.
- [16] Kondororik, F., Martanto, M., & Susanto, A. B. (2015). Identifikasi komposisi pigmen, isolasi, dan aktivitas antioksidan  $\beta$  karoten pada rumput laut merah *Gracilaria gigas* hasil budidaya. *Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana*.
- [17] Paransa, D. S., Kemer, K., Rumengan, A. P., & Mantiri, D. M. (2014). Analisis jenis pigmen dan uji aktivitas antibakteri ekstrak pigmen xantofil pada alga coklat *Sargassum polycystum* (c. agardh). *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 1(1), 90-96.
- [18] Maulid, R. R. (2015). Kadar total pigmen klorofil dan senyawa antosianin ekstrak kastuba (*Euphorbia pulcherrima*) berdasarkan umur daun. *Prosiding KPSDA*, 1(1).
- [19] Johnston, A., Scaggs, J., Mallory, C., Haskett, A., Warner, D., Brown, E., ... & McDougal, O. M. (2013). *A green approach to separate spinach pigments by column chromatography. Journal of Chemical Education*, 90(6), 796-798.
- [20] Syahmani, S., Leny, L., Rilia, I., & Noor, E. (2017). Penggunaan Kitin Sebagai Alternatif Fase Diam Kromatografi Lapis Tipis Dalam Praktikum Kimia Organik. *Jurnal Vidya Karya*, 32(1).
- [21] Iriani, R. (2017). Penggunaan Kitin Sebagai Alternatif Fase Diam Kromatografi Lapis Tipis dalam Praktikum Kimia Organik.
- [22] Nasution, A. U. (2021). Identifikasi Hasil Isolasi Pigmen Klorofil dari Daun Sibob (*Leea indica* F.) Menggunakan Spektrofotometer Ultraviolet Visible (UV-VIS).
- [23] SURIANTI, S., HUSAIN, H., & SULFIKAR, S. (2019). Uji Stabilitas Pigmen Merah Antosianin dari Daun Jati Muda (*Tectona grandis* Linn f) terhadap pH sebagai Pewarna Alami. *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 20(1), 94-101.