ISOLASI SENYAWA BIXIN DARI BIJI KESUMBA (*Bixa orellana* L)

oleh:

Yemirta *)

Isolation of Bixin from Kesumba Seed (*Bixa Orellana* L)

Abstract :

Bixa orellana L, generally known in Indonesia as Kesumba is an organic dye used in the food industry for colouring rice, candy, margarine, oils, butter, ice cream and bakery products. The seed of kesumba have been extracted with three different solvents for comparison of the yield. Acetone extract has been chromatography to obtain the known colouring matter, bixin which has identified by comparing the spectral data with the reported.

Intisari:

Bixa orellana L, di Indonesia secara umum dikenal dengan nama kesumba merupakan zat warna organik yang digunakan pada industri makanan sebagai pewarna nasi, permen, margarin, minyak goreng, butter, es krim dan produk-produk roti. Untuk membandingkan rendemen ekstraknya maka biji kesumba diekstraksi dengan tiga pelarut yang berbeda. Ekstrak dari aseton diisolasi, kemudian dianalisa dengan HPLC sehingga didapatkan jenis zat warna yang dikandung oleh biji kesumba, yaitu senyawa bixin.

PENDAHULUAN

Bixa orellana atau Annatto, di Indonesia secara umum dikenal dengan nama kesumba merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah sub tropik seperti Amerika Tengah, Amerika Selatan, India, sebelah selatan Asia Timur, Filipina, Malaysia dan Indonesia. Biji Kesumba menghasilkan zat pewarna alam, dimana dalam dunia perdagangan lebih dikenal dengan nama annatto. Zat pewarna annatto ini mengandung senyawa kimia bixin dengan rumus molekul $C_{25}H_{30}O_4$ yang merupakan senyawa karotenoid. Bixin bisa didapatkan dalam bentuk larutan, dalam bentuk kristal ataupun dalam bentuk serbuk. Pada penelitian ini

dilakukan isolasi terhadap biji annatto yang telah dikeringkan kemudian dianalisa dengan menggunakan HPLC

Tinjauan Umum

Kesumba (*Bixa orellana*) dikenal dengan nama annatto berasal dari Amerika Tengah dan Amerika Selatan wilayah tropika. Jenis ini ditanam di mana-mana dan meliar kembali ke wilayah-wilayah tropika, termasuk Asia Tenggara. Banyak manfaat yang diperoleh dari tanaman kesumba ini, diantaranya pewarna organik dari biji buahnya, yang di dunia perdagangan dikenal dengan nama annatto. Bahan ini digunakan secara luas dalam industri makanan untuk mewarnai nasi, permen, margarin, minyak, es krim, mentega dan juga digunakan pada pabrik

*) Staf Peneliti Balai Besar Kimia dan Kemasan

roti. Kesumba juga digunakan dalam industri kosmetik yaitu dalam pembuatan cat kuku, minyak rambut, pemerah bibir (lipstik) sabun dan produk perbaikan rumah tangga seperti pembersih lantai, semir sepatu, semir perkakas rumah tangga, minyak pengilap dan cat kayu. Kesumba ini juga telah digunakan untuk mewarnai kain katun, sutra dan wool. Untuk mewarnai tekstil kesumba digeser oleh pewarna sintetis sebab bukan merupakan pewarna yang cepat. Jika terkena cahaya, akan segera menjadi pudar. Walaupun demikian, pewarna ini tahan terhadap sabun basa dan asam. Pasaran utama kesumba adalah Amerika Serikat, dengan 1500 - 2000 ton/tahun diikuti oleh Eropa bagian barat, Rusia, Puerto Rico dan Jepang. Kira-kira 70 % produk ini digunakan di negara-negara pengimpor dalam pembuatan keju.

Sifat-sifat :

Bahan pewarna utama yang terdapat di dalam biji kesumba ialah bixin ($C_{25}H_{30}O_4$), suatu asam karboksilat karotenoid dan merupakan pewarna organik yang tidak berbahaya. Ester etil dari bixin, $C_{26}H_{32}O_4$ digunakan sebagai suspensi di dalam minyak nabati untuk mewarnai makanan. Zat ini memberikan warna kuning keemasan. Pewarna ini sensitif terhadap cahaya dan mengandung belerang dioksida, yang membatasi penggunaannya dalam produk makanan dan minuman. Bahan ini tidak mengandung daya provitamin A, karenanya tidak banyak digunakan untuk mewarnai margarin. Perbandingan bixin yang ada dalam kesumba sangat bervariasi, dan bergantung pada keadaan produk itu sendiri. Dari daunnya dapat diisolasi asam elegat dan sianidin.

Metodologi Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi, isolasi dan penentuan kadar terhadap biji kesumba (*Bixa orellana*) yang telah dikeringkan. Proses ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan 3 macam pelarut yaitu aseton, metanol dan EDC (etilendiklorida) sedangkan proses yang dilakukan ada dengan 2 cara yaitu sokhlet dan perendaman.

Proses ekstraksi :

- Cara Sokletasi :

25 Gram biji kesumba yang telah dikeringkan, dihancurkan jadi serbuk kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan sokhlet dan pelarut aseton

- Cara Perendaman :

Untuk proses perendaman dilakukan dengan memvariasikan 3 macam pelarut yaitu aseton, etilendiklorida dan metanol dengan cara sebagai berikut : 25 gram biji kesumba ditambahkan masing-masing 75 ml pelarut dan di-rendam semalam dan saring. Lakukan dengan cara yang sama 3 kali kemudian masing-masing filtrat digabung.

Semua pelarut dari hasil ekstrak diuapkan dengan rotari evaporator dan sisa air atau pelarut yang masih tertinggal diuapkan dengan pompa vacum sampai didapatkan ekstrak berupa serbuk.

Proses Thin Layer Chromatography (TLC)

Proses TLC dari keempat macam ekstrak dilakukan dengan menggunakan eluen campuran aseton : petroleum eter (30 : 70)

Proses Kromatografi Kolom

Proses kromatografi kolom dilakukan untuk memisahkan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam biji kesumba, dengan cara sebagai berikut :

0,69 gram ekstrak annatto dimasukkan kedalam kolom yang telah diisi dengan silika gel (100-200 mesh) kemuglasial (78:20:2), masing-masing fraksi yang dihasilkan ditampung dalam tabung reaksi. Dari hasil isolasi didapatkan 51 fraksi dan dari masing-masing fraksi dilakukan lagi proses TLC dengan menggunakan eluen yang sama. Analisa titik leleh dilakukan dengan alat melting point dan dibandingkan dengan standar bixin yang ada.

Analisa dengan HPLC

Untuk mengetahui kadar komponen yang telah dimurnikan dianalisa dengan menggunakan HPLC, dan untuk memperoleh prosentase hasil dibandingkan dengan standar bixin (didapatkan dari National Chemical Laboratorium di Pune India).

Hasil dan Pembahasan

Setelah dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan 3 macam pelarut yaitu aseton, metanol dan etilendiklorida, dengan proses perendaman dan sokletasi didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1 : Prosentase ekstrak zat warna yang terdapat dalam biji kesumba.

No	Jenis pelarut dan proses	% Ekstrak
1	Aseton, sokletasi	5,0
2	Aseton, perendaman	4,2
3	Metanol, perendaman	9,88
4	Etilendiklorida, perendaman	4,08

Berdasarkan tabel 1, dapat disimpulkan bahwa pelarut metanol menghasilkan rendemen yang terbesar karena metanol pelarut yang bersifat polar dibandingkan dengan ke dua pelarut lainnya. Disini pe-

pelarut metanol disamping malarutkan zat warna juga melarutkan senyawa-senyawa lain yang bersifat polar. Dilihat dari jenis proses ekstraksi yang dilakukan ternyata proses perendaman dan proses sokletasi menghasilkan rendemen yang tidak jauh berbeda (5,0% dan 4,2%) maka untuk proses ekstraksi selanjutnya dilakukan dengan cara perendaman. Setelah dilakukan proses TLC (Thin Layer Chromatorafi) terhadap ekstrak aseton (secara sokletasi) dengan menggunakan eluen Aseton : petreleum eter (30: 70) selama 20 menit dan disemprot dengan H_2SO_4 : HNO_3 (1:1) serta didiamkan dalam oven selama 10 menit didapatkan hasil TLC sebagai berikut :

Kemudian penelitian ini dilanjutkan dengan proses kromatogafi kolom (isolasi) dengan menggunakan eluen khloroform : metanol (98 : 2). Setiap isolat ditampung dan dipisahkan dengan fraksi yang sama sampai didapatkan 35 fraksi, karena fraksi 1 sampai 23 bukan merupakan komponen utama zat warna (zat minor) maka fraksi tersebut dibuang dan yang di analisa dengan TLC mulai dari fraksi ke 24, dengan menggunakan eluen kloroform didapatkan hasil TLC sebagai berikut :

Keterangan :

1. fraksi 24	7. fraksi 30
2. fraksi 25	8. fraksi 31
3. fraksi 26	9. fraksi 32
4. fraksi 27	10. fraksi 33
5. fraksi 28	11. fraksi 34
6. fraksi 29	12. fraksi 35

Dari hasil TLC diatas dapat dilihat bahwa pemisahan dengan menggunakan eluen kloroform tidak didapatkan pemisahan yang bagus maka untuk fraksi selanjutnya eluen diganti dengan campuran kloroform : metanol (95 :5) dan isolasi dilanjutkan sampai fraksi ke 51, dari hasil TLC didapatkan hasil sebagai berikut :

Keterangan :

1. fraksi 35	10. fraksi 44
2. fraksi 36	11. fraksi 45

3. fraksi 37	11. fraksi 45
4. fraksi 38	12. fraksi 46
5. fraksi 39	13. fraksi 47
6. fraksi 40	14. fraksi 48
7. fraksi 41	15. fraksi 49
8. fraksi 42	16. fraksi 50
9. fraksi 43	17. fraksi 51
10. fraksi 44	

Dari hasil TLC didapatkan bahwa fraksi 35-40 merupakan zat pewarna tunggal (kemungkinan senyawa bixin), sedangkan fraksi 41- 51 belum terpisah dengan baik yang diperkirakan senyawa kompleks. Dari hasil TLC diatas untuk fraksi-fraksi yang menghasilkan Rf yang sama digabung seperti berikut :

- fraksi 35 dan 36
- fraksi 39 dan 40
- fraksi 41 dan 42
- fraksi 43 dan 44
- fraksi 45 dan 46
- fraksi 47 dan 48
- fraksi 49, 50 dan 51

Fraksi yang menghasilkan warna yang mendekati warna bixin dilakukan analisa titik leleh, dan penentuan kadar dengan HPLC. Fraksi-fraksi tersebut adalah : fraksi 39 dan 40, fraksi 43 dan 44. Hasil dari analisa titik leleh untuk fraksi 39 dan 40 adalah 198 °C dan 197 °C ini sama dengan titik leleh yang ada pada literatur. Hasil analisa HPLC dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini.

Dari tabel 3, ternyata ekstrak aseton dengan cara perendaman menghasilkan persentase bixin tertinggi (1,47 %), ini berarti bixin merupakan zat warna alam yang larut baik dalam pelarut aseton (non polar).

Tabel 3: Hasil analisa bixin dengan HPLC

No	Jenis ekstrak	Luas area standar	Luas area sampel	Berat sampel	% Bixin
1	Aseton (soklet)	45916	50371	0,842mg	1,19
2	Aseton (perendaman)	45916	301590	3,44 mg	1,47
3	Metanol (perendaman)	45916	116387	2,332 mg	1,007
4	EDC (perendaman)	45916	25733	1,008 mg	0,81

Kesimpulan dan Saran.

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat ambil beberapa kesimpulan seperti di bawah ini :

1. Kandungan bixin dalam biji kesumba (*Bixa orellana* L) adalah sekitar 0,81% - 1,47% tergantung pada pelarut yang digunakan
2. Bixin merupakan zat warna organik yang bersifat non polar yang memberika warna oranye
3. Titik leleh dari bixin yang didapatkan adalah 197⁰C – 198⁰C.

Saran

1. Perlu dilanjutkan penelitian untuk mengetahui jenis senyawa kimia yang lain yang terkandung dalam biji kesumba selain senyawa bixin.
2. Karena tanaman kesumba ini banyak terdapat di Indonesia (terutama Jawa), maka penggunaan zat warna ini dapat ditingkatkan sebagai pengganti zat warna sintetis yang masih beresiko tinggi untuk dikonsumsi.

Daftar Pustaka

1. R.H.M.J. Lemmens and N. Wulijarni-Soetjipto, "Plant Resources of South-East Asia 3, Dye and Tannin-Producing Plants", hal.50 - 53, Prosea Bogor Indonesia 1992.
2. Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Menganalisis Tanaman. Terjemahan K. Padmawinata dan I.Sudiro. Penerbit ITB, Bandung.
3. Rita J. Adrosko, "Natural Dyes In The United States", Smithsonian Institution Press City of Washington 1968.
4. Kurt Nassau, "The Physics and Chemistry of Colour the Fifteen Causes of Colour, A.Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons New York/Chichester/Brisbane/Toronto/Singapore.
5. Egon Stahl, Werner Schild, "Isolierung und Charakterisierung von Naturstoffen", Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, New York.

6. Q.M. Humayun, "Compendium of Inter-Regional Workshop on Natural Dyes", National Handloom Development Corporation LTD. (A Govt.Of India Undertaking) Lucknow, India.
7. K. Heyne, " Tumbuhan Berguna Indonesia", Jilid IV, diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta.

-----ooooo00000ooooo-----