
IDENTIFIKASI PIGMEN DAUN PANDAN WANGI
(Pandanus amaryllifolius)
DENGAN SPEKTROFOTOMETER SEDERHANA

Inti Aritni Palupi^{1,2}, Bertha Bale Ana Ndhaha¹, Suryasatriya Trihandaru¹

¹Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana
Jln. Diponegoro 52-60 Salatiga 50711 Jawa Tengah

²E-mail: inti.artini@yahoo.co.id

Abstrak. Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) merupakan tanaman asli Indonesia, tumbuh di daerah tropis dan sering digunakan sebagai rempah-rempah, bumbu, pewangi makanan, dan bahan baku pembuatan minyak wangi. Kelimpahan jumlah pandan wangi di Indonesia merupakan suatu kesempatan untuk lebih dapat mengembangkan potensi kekayaan alam negara kita, menghasilkan bahan-bahan yang bersifat alami. Salah satu potensi yang dapat dieksplor adalah pigmen alami yang ada pada tanaman pandan wangi.

Penggunaan alat spektrofotometer modern untuk menyelidiki sifat dari suatu bahan serta untuk mengetahui jumlah zat pada bahan tersebut dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu, merupakan hal yang telah lazim digunakan di laboratorium modern dewasa ini. Namun pengadaan alat spektrofotometer modern ini bukanlah hal yang mudah dan murah, mengingat alat ini merupakan alat yang relatif berharga sangat mahal. Dalam kondisi yang terbatas, misalnya keberadaan kita yang jauh dari laboratorium modern, kita tetap dapat menyelidiki sifat suatu bahan dengan menggunakan spektrofotometer sederhana yang dapat kita buat sendiri.

Kata kunci: pandan wangi, pigmen alami, spektrofotometer, absorbansi.

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Tanaman yang dikenal sebagai pandan jarang diteliti tetapi telah sering dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat Indonesia.



Pandan wangi (*P. amaryllifolius*) tumbuh di daerah tropis dan banyak ditanam di halaman atau di kebun. Pandan wangi kadang tumbuh liar di tepi sungai, tepi rawa, dan di tempat-tempat yang agak lembab, tumbuh subur dari daerah pantai sampai daerah dengan ketinggian 500 m

di atas permukaan laut. Perdu tahunan, tinggi 1-2 m. Pandan wangi selain sebagai rempah-rempah juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan minyak wangi. Daunnya harum kalau diremas atau diiris-iris, sering digunakan sebagai bahan penyedap, pewangi dan pemberi warna hijau pada masakan atau penganan. Di masyarakat, pandan wangi ini digunakan juga sebagai tanaman obat untuk mengobati lemah saraf, rematik dan pegal linu, gelisah, rambut rontok dan juga berkhasiat untuk menghitamkan rambut dan menghilangkan ketombe pada rambut.

Pewarna alami merupakan pigmen yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau sumber-sumber mineral, sedangkan pewarna sintetik pada umumnya terbuat dari bahan-bahan kimia. Pewarna sintetik memiliki keunggulan nyata dibandingkan pewarna alami, yaitu kekuatan mewarnai yang lebih kuat, lebih seragam, dan lebih stabil. Pewarna sintetik biasanya dijual dengan harga yang lebih murah dibandingkan dengan pewarna alami. Di Indonesia, faktor harga ini menjadi daya tarik penggunaan pewarna sintetik, mengingat daya beli masyarakat masih cukup rendah. Di sisi lain, penggunaan pewarna sintetik dapat menimbulkan masalah kesehatan, antara lain keracunan dan berbagai penyakit seperti tumor, kanker, lumpuh, keterbelakangan (retardasi), kebutaan, serta gangguan pada pencernaan, otak, limpa, ginjal, dan hati.

Kelimpahan jumlah dan jenis species pandan di Indonesia harus dilirik sebagai suatu kesempatan untuk dapat mengembangkan potensi yang ada pada tanaman pandan sehingga dapat dimanfaatkan secara lebih optimal, guna memanfaatkan potensi kekayaan alam negara kita, menghasilkan bahan-bahan yang bersifat alami. Salah satu potensi yang dapat dieksplor adalah pigmen alami yang ada pada tanaman pandan.

Terbatasnya penelitian tentang pandan wangi menjadi latar belakang penulis untuk memfokuskan penelitian pada potensi pigmen pandan wangi melalui identifikasi dan uji kandungan pigmen pada daun pandan wangi.

2. Spektroskopi

Cahaya merupakan sumber informasi yang sangat berharga. Hanya dari cahayalah astronom mencoba menyimpulkan arti fisis obyek yang diamatinya mulai dari jarak, massa, temperatur juga usia sebuah bintang. Spektroskop adalah alat untuk mengurai cahaya yang sangat erat kaitannya dengan sifat fisis sumber cahaya tersebut.

Radiasi elektromagnetik dapat digunakan untuk menyelidiki sifat dari suatu zat serta mengetahui jumlah zat pada sampel. Interaksi radiasi elektromagnetik dengan atom atau molekul, mengganggu elektron pada orbit dari atom atau molekul tersebut. Perhitungan secara kuantitatif dari perubahan radiasi elektromagnetik dengan menggunakan instrumentasi optik merupakan basis dari spektroskopi.

Seperti lazimnya metoda atau teknik pengukuran, proses perhitungan akan melibatkan serentetan kejadian terpadu. Pertama, zat yang akan diukur diidentifikasi (berupa atom atau molekul), kemudian dibuat interaksi antara radiasi elektromagnetik pada suatu panjang gelombang dengan jenis zat tersebut. Informasi dari zat kemudian ditransmisikan ke photodetektor yang bertindak sebagai transducer yang mengubah besaran tersebut menjadi besaran listrik agar mudah diidentifikasi. Dengan kata lain, secara kuantitatif energi yang diserap oleh zat akan identik dengan jumlah zat per kandungan zat tersebut, sedangkan secara kualitatif panjang gelombang dimana energi dapat diserap akan menunjukkan jenis zatnya.

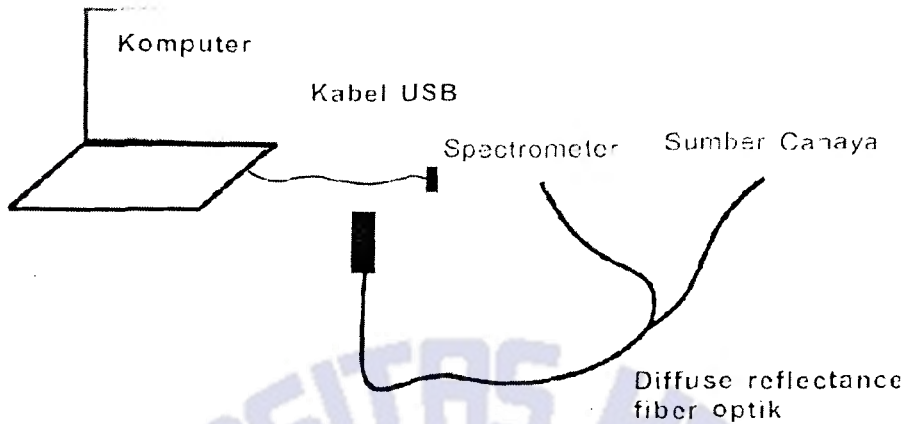
Semua jenis spektrofotometer merupakan alat ukur 'optoelektronik' yang fungsi kerjanya merupakan gabungan dari dua bidang ilmu yaitu optik dan elektronik. Pada dasarnya spektrofotometer tersusun dari beberapa bagian, yaitu

- Sumber cahaya
- Monokromator
- Tempat sampel
- Detektor/sensor cahaya
- Sistem pembacaan/komponen elektronik pemroses data

Dalam spektrometer modern, sinar yang datang pada sampel diubah penjang gelombangnya secara kontinyu. Hasil percobaan diungkapkan dalam spektrum yang absisnya menyatakan panjang gelombang atau frekuensi sinar datang dan ordinatnya menyatakan energi yang diserap oleh sampel.

Spektrum serapan komponen-komponen daun pandan wangi dapat diukur dalam larutan yang sangat encer dengan menggunakan spektrofotometer yang dapat merekam secara otomatis. Dasar analisis secara spektrofotometri adalah penyerapan cahaya sebagai suatu gelombang dengan panjang gelombang tertentu oleh molekul senyawa. Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan tampak tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Panjang gelombang senyawa tanpa warna biasanya diukur pada jangkauan 200 – 400 nm, sedangkan senyawa yang berwarna pada jangkauan 200 – 700 nm.

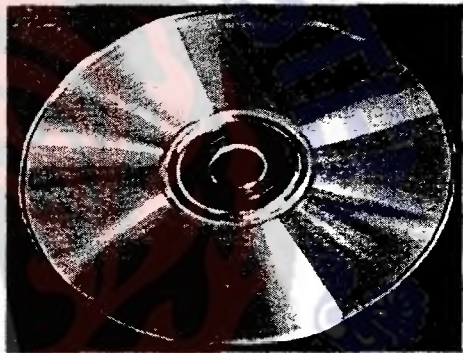
Umumnya spektroskopi dengan sinar UV dan sinar tampak (VIS) dibahas bersama karena sering kedua pengukuran dilakukan pada waktu yang sama. Karena spektroskopi UV-VIS berkaitan dengan proses berenergi tinggi yakni transisi elektron dalam molekul, informasi yang didapat cenderung untuk molekul keseluruhan bukan bagian-bagian molekulnya. Metode ini sangat sensitif dan dengan demikian sangat cocok untuk tujuan analitis. Lebih lanjut, spektroskopi UV-VIS sangat kuantitatif dan jumlah sinar yang diserap oleh sampel diberikan oleh Hukum Lambert-beer. Secara umum, pengukuran sampel menggunakan skema alat seperti dalam Gambar I.



Gambar 1: Skema alat pengukuran sampel.

3. Spektrofotometer Sederhana dengan Menggunakan *Compact Disk (CD)*

Kisi adalah celah yang sangat sempit, biasanya dibuat dengan cara menggoreskan sebuah lempengan kaca dengan intan. Sebuah kisi dapat dibuat 300 sampai 700 celah setiap mm. Pada kisi, setiap goresan merupakan celah. Sebuah kisi memiliki konstanta yang menyatakan banyaknya goresan tiap satu satuan panjang, yang difambangkan dengan d , yang juga sering disebut sebagai lebar celah. Kisi-kisi seringkali digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan untuk mengkaji struktur dan intensitas garis-garis spektrum. Kisi difraksi merupakan pilihan alat yang dapat digunakan untuk memisahkan warna dalam peristiwa pencahayaan, yaitu untuk memisahkan garis spektra yang berhubungan dengan transisi atomik dan bertindak sebagai prisma super. Pada sebuah kisi yang disinari cahaya yang sejajar dan tegak lurus kisi, dan di belakang kisi ditempatkan sebuah layar, maka pada layar akan terdapat garis terang dan garis gelap, jika cahaya yang dipakai adalah cahaya monokromatik, dan akan terbentuk deretan spektrum warna jika cahaya yang digunakan adalah sinar putih (polikromatik). Garis gelap terang atau pembentukan spektrum akan lebih jelas dan tajam jika lebar celahnya sempit atau konstanta kisinya semakin besar/banyak. Garis gelap terang atau spektrum yang dihasilkan tersebut merupakan hasil interferensi dari cahaya yang berasal dari kisi yang jatuh pada layar pada titik/tempat tertentu.





Gambar 2.

Misalkan semua cahaya yang melalui kisi dilenturkan/didifraksikan dengan sudut θ dan dikumpulkan pada suatu titik tertentu pada layar. Hasil interferensi cahaya di titik tertentu tersebut tergantung pada selisih lintasan yang ditempuh cahaya dari celah yang berdekatan yaitu $d \sin \theta$. Di titik tertentu pada layar tersebut akan terjadi garis terang atau spektrum jika $d \sin \theta$ sama dengan kelipatan bilangan bulat kali panjang gelombang.

The diagram shows a grating with slit spacing d . A ray is diffracted at an angle θ . The path difference between rays from adjacent slits is $d \sin \theta$. The condition for constructive interference is $d \sin \theta = m \lambda$.

$$d \sin \theta = m \lambda \quad m = 0, 1, 2, 3, \dots$$

Ide dasar dari spektrofotometer sederhana adalah meletakkan CD yang telah dipotong menjadi – bagian ke dalam sebuah kotak yang diberi lubang cahaya dan lubang intip. Pastikan lapisan dalam kotak berwarna hitam. Hal ini dimaksudkan untuk mengurangi atau menghilangkan efek cermin pada CD. Lubang cahaya atau slit dimaksudkan sebagai tempat masuknya sumber cahaya. Sedangkan lubang intip digunakan untuk melihat spektrum yang terjadi pada permukaan CD. *Track* dalam *compact disk* (CD) berperan sebagai kisi difraksi dengan resolusi 625 baris/mm atau memiliki lebar celah 1,6 mikrometer. Seperti fungsi kisi yang memecah cahaya, CD pun dipergunakan untuk memecah cahaya. Adanya kisi itulah yang membuat kita melihat warna pelangi pada CD. Masing-masing warna pelangi memiliki panjang gelombang tertentu yang telah diketahui sebelumnya. Kemiringan sudut peletakan CD sangat mempengaruhi letak pada panjang gelombang berapa spektrofotometer

sederhana ini bekerja. Oleh karena itu perlu dikalibrasi dengan LED sebagai acuannya.

4. Bahan dan Metode

4.1 Bahan

Sampel yang digunakan adalah daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius*) yang diperoleh dari halaman dan kebun di daerah Salatiga dan sekitarnya. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aseton, metanol, heksana, dietil eter, CaCO_3 , asam L-askorbat, Na_2SO_4 anhidrat, silika gel F254, silika gel 60, akuades, isopropil alkohol, toluena, DPPH

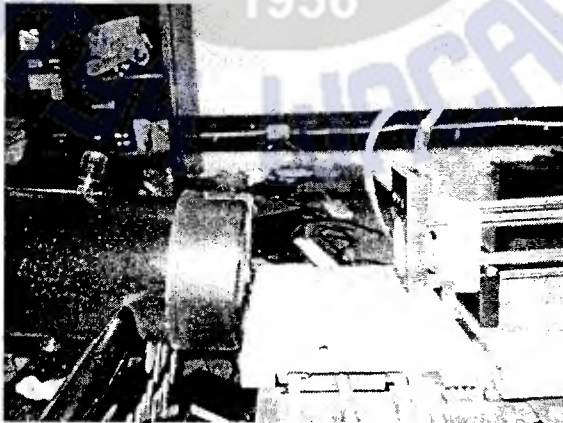
4.2 Metode

Ekstraksi

5 gram sampel diekstrak dengan aseton : methanol 3 : 7 (v/v) dengan perbandingan sampel : pelarut adalah 1 : 10 (w/v). Pada waktu ekstraksi ditambahkan CaCO_3 sebagai agen penetral dan asam L-askorbat sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi. Ekstrak pigmen yang diperoleh disaring dan residunya diekstrak kembali hingga semua pigmen terangkat. Ekstrak pigmen ditambah dengan Na_2SO_4 anhidrat, selanjutnya dipartisi dengan pelarut eter. Pigmen yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan gas N_2 . [1]

Identifikasi Pigmen

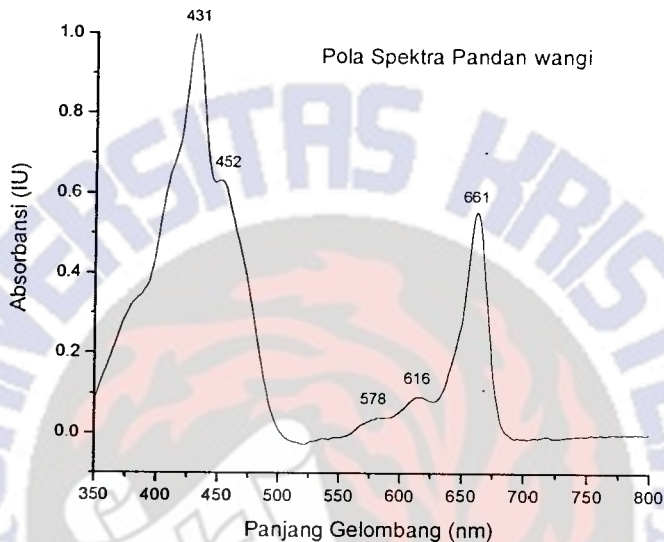
Pigmen dilarutkan dalam aseton 100 % kemudian pola spektranya dianalisa dengan spektrofotometer sederhana. Pola spektra pigmen ini dibandingkan dengan pola spektra pigmen yang didapatkan dari hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS VARIAN CARY 50 pada panjang gelombang 350-800 nm.



Gambar 3: Spektrofotometer sederhana.

5. Hasil dan Bahasan

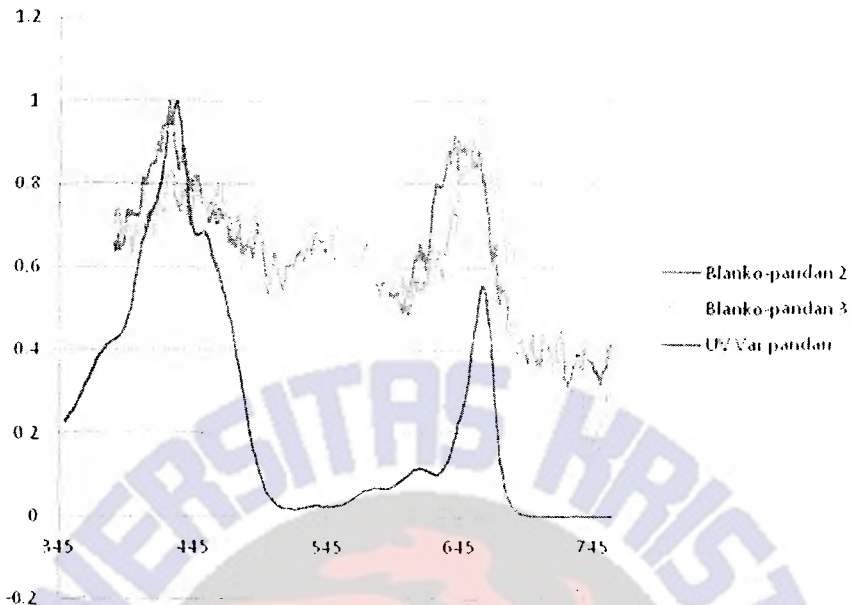
Identifikasi pigmen ditunjukkan dari hasil pengukuran spektra ekstrak kasar daun pandan wangi dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 dan dengan menggunakan spektrofotometer sederhana. Pola spektra yang dihasilkan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS Varian carry 50 disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4: Spektra ekstrak kasar daun pandan wangi pada pelarut aseton.

Gambar 4 menunjukkan dominasi spektrum klorofil yang ditandai dengan keberadaan puncak-puncak klorofil pada daerah Q_y 661 nm, Q_x yang lemah 578 nm dan 616 nm serta solet 431 nm dan 452 nm, sesuai dengan pendapat Jeffrey (1997) yang menyebutkan bahwa klorofil *a* mempunyai serapan pada panjang gelombang 430, 580 dan 662 nm serta klorofil *b* 457, 597 dan 645 nm. Gross, 1991 menyatakan bahwa klorofil *a* mempunyai serapan maksimum pada daerah biru solet 400-450 nm dan daerah merah Q_y pada 650-700 nm sedangkan klorofil *b* mempunyai serapan solet pada 450-455 nm dan Q_y pada 640-645 nm dari spektrum tampak.

Perbandingan pola spektra yang dihasilkan dengan menggunakan spektrofotometer sederhana dan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5: Spektrogram ekstrak kasar daun pandan wangi pada pelarut aseton dengan spektrofotometer sederhana dan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50.

Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa ada 2 puncak yang terlihat jelas yaitu pada panjang gelombang sekitar 430 nm dan pada panjang gelombang sekitar 660 nm. Dimungkinkan panjang gelombang 430 nm ini merupakan serapan maksimum pada daerah biru solet sedangkan pada daerah merah Qy pada panjang gelombang 660 nm dari pigmen klorofil.

Hasil ini adalah sesuai dengan pola spektra yang dihasilkan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 dan dibandingkan dengan literatur. Dibandingkan dengan pola spektra yang dihasilkan oleh pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS Varian cary 50, ketinggian puncak pada daerah Qy ada pada nilai yang berbeda dan pola spektra yang dihasilkan oleh spektrofotometer sederhana masih relatif kasar. Hal ini dimungkinkan disebabkan karena sampel terlalu encer / kurang pekat atau perbedaan dengan blanko sangat tipis sehingga absorbansinya kecil / sedikit. Juga dimungkinkan karena sensitivitas spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 dan Web cam pada spektrofotometer sederhana berbeda. Sensor optik pada spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 sensitif pada semua panjang gelombang sedangkan sensor optik pada web cam hanya sensitif pada panjang gelombang tertentu. Secara umum pola spektra yang dihasilkan dari spektrofotometer sederhana ini dapat dikatakan telah mendekati pola spektra yang dihasilkan dengan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 yang merupakan alat yang cukup canggih dengan tingkat ketelitian yang tinggi, yaitu

serapan maksimum dari pigmen klorofil di daerah biru solet dan daerah merah Q_y menunjukkan nilai yang sama.

Spektrofotometer sederhana yang dapat dibuat sendiri ini ternyata dapat mengidentifikasi adanya pigmen klorofil yang ada pada daun pandan wangi (*P. amaryllifolius*), yaitu dari pola spektra yang dihasilkannya, yang sama dengan pola spektra untuk pigmen klorofil dari studi literatur maupun dari pola spektra hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50.

6. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan bahasan pada bagian sebelumnya, diperoleh beberapa kesimpulan seperti berikut:

1. Daun Pandan wangi dominan mengandung pigmen klorofil a. Hal ini dapat dilihat dari pola spektra yang dihasilkan baik menggunakan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50 maupun dengan menggunakan spektrofotometer sederhana, sesuai dengan studi literatur bahwa klorofil a mempunyai serapan maksimum pada daerah biru solet 400-450 nm dan daerah merah Q_y pada 650-700 nm dari spektrum tampak.
2. Pola spektra yang dihasilkan oleh pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer sederhana relatif masih kasar dan ketinggian puncak pada daerah merah Q_y tidak sama jika dibandingkan dengan pola spektra yang dihasilkan oleh pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS Varian Cary 50. Hal ini dimungkinkan disebabkan karena sensitivitas yang berbeda dari kedua alat ini.
3. Identifikasi pigmen dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer sederhana yang dapat kita buat sendiri dengan ketelitian yang terbatas.
4. Perlu penelitian lebih lanjut untuk pengembangan pembuatan alat spektrofotometer sederhana dengan tingkat ketelitian yang lebih tinggi mengingat spektrofotometer UV-VIS atau HPLC merupakan alat yang relatif mahal, sehingga pada keadaan yang terbatas dapat diatasi dengan spektrofotometer sederhana yang dapat dibuat sendiri.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Biro Perencanaan dan Kerjasama Luar Negeri (BPKLN) Depdiknas yang telah memberikan Beasiswa Unggulan kepada Inti Artini Palupi dalam kerja samanya dengan Universitas Kristen Satya Wacana (UKSW) Salatiga.

Daftar Pustaka

- [1] Britton, G., S. L. Jensen, H. Pfander, 1995, *Carotenoids Volume IA : Isolation and Analysis*, Birkhauser Verlag, Switzerland.