

ISOLASI DAN KARAKTERISASI LESITIN KELAPA DAN WIJEN

Isolation and Characterization of Plant Lecithin

Dwi Hudiyan¹, Tri Joko Raharjo², Narsito², Sri Noegrohati³

¹Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Sudharto, SH. Semarang;

²Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sekip Utara, Yogyakarta;

³Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Jl. Sekip Utara, Yogyakarta

Email: hudiadi@yahoo.com

ABSTRAK

Lesitin merupakan senyawa amfifil alam yang mempunyai struktur unik. Molekul-molekul lesitin dapat beragregasi membentuk suatu struktur sistem pembawa yang disebut liposom dan berguna pada penghantaran bahan-bahan aktif pada obat, makanan dan kosmetika. Lesitin yang selama ini digunakan pada umumnya berasal dari kedelai dan telur. Upaya penelitian telah dilakukan untuk mencari alternatif sumber lesitin baru yang berasal dari kelapa dan wijen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter lesitin tumbuhan yang berasal dari kelapa dan wijen. Isolasi lesitin dilakukan dengan cara ekstraksi solven menggunakan campuran kloroform-metanol (2:1). Sedangkan karakterisasi meliputi pengujian dengan TLC, FTIR dan GCMS. Hasil menunjukkan bahwa lesitin kelapa dan wijen adalah lesitin dari golongan sefalin dengan gugus hidrofilnya berupa etanolamin. Bagian lipofil untuk lesitin kelapa adalah C12 dan C8, dan untuk lesitin wijen bagian lipofilnya adalah C18:1 dan C18:0.

Kata kunci: Lesitin, kelapa, wijen, isolasi, karakterisasi

ABSTRACT

Lecithin is a natural amphiphilic substance which has unique structures. Lecithin molecules are able to aggregate to form a carrier structure known as liposom which is useful for carrying active substances in drug, food and cosmetics. Lecithin is generally derived from soybeans and eggs. Research efforts have been made to seek new sources of lecithin such as from coconut and sesame seeds. This study aimed to determine the character of plant lecithin derived from coconut and sesame seeds. Isolation of lecithin was done by solvent extraction using a mixture of chloroform-methanol (2:1) and characterization was conducted using TLC, FTIR and GCMS. The results indicated that lecithins from coconut and sesame seeds were from cephalin class with hydrophilic group consisted of ethanolamin. The lipophilic parts of coconut lecithin were C12 and C8 and those of sesame seeds lecithin were C18:1 and C18:0.

Keywords: Lecithins, coconut, sesame seeds, isolation, characterization

PENDAHULUAN

Lesitin merupakan senyawa amfifil alam yang mempunyai struktur unik karena mengandung satu bagian yang menarik air (hidrofilik/polar) dan dua bagian lain yang tertarik pada lemak (lipofilik/nonpolar). Bagian hidrofilik terdiri dari ester fosfat sedangkan bagian lipofiliknya terdiri atas dua rantai asam lemak. Pada gugus fosfat terikat alkohol amina yang sering disebut basa nitrogen berupa serine ($-\text{CH}_2\text{CHN}^+\text{H}_3\text{COOH}$), cholin ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$) atau etanolamin ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}_3$) (Belitz dkk., 2004).

Dalam medium akuos encer, molekul-molekul lesitin dapat beragregasi membentuk struktur self-assembly. Struktur self-assembly ini diantaranya adalah struktur bilayer sferis yang sering disebut juga sebagai vesicle atau liposom. Liposom merupakan sistem pembawa pada penghantaran obat, makanan dan kosmetika yang saat ini sedang aktif dikembangkan.

Kemampuan lesitin sebagai bahan dasar liposom dengan karakteristik tertentu sangat dipengaruhi oleh sifat fisiko-kimia molekul lesitin penyusunnya, diantaranya adalah spesies molekulernya. Spesies molekul lesitin berbeda

tergantung pada jenis gugus kepala serta jenis (jenuh atau tidak jenuh) dan panjang rantai hidrokarbon (Sud dkk., 2007). Perbedaan ini juga tergantung pada sumbernya. Lesitin hasil isolasi dari alam bervariasi pada jenis basa nitrogennya serta rantai asam lemaknya.

Terdapat perbedaan lesitin dari berbagai tissue biologi. Hal ini disebabkan karena tiap tissue biologi memiliki struktur, tekstur, sensitifitas dan komposisi senyawa yang tidak sama. Prosedur ekstraksi suatu lesitin tidak selalu dapat digunakan untuk lesitin yang lain. Lebih jauh lagi, sifat kimia dari lesitin yang akan diekstraksi harus juga menjadi bahan pertimbangan. Selain itu, lesitin harus juga dilindungi dari degradasi karena oksidasi dengan solven, oksigen, enzim yang berkombinasi dengan suhu dan cahaya. Informasi tentang isolasi dan karakterisasi lesitin pada umumnya hanya untuk lesitin kedelai dan telur (Belitz dkk., 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode isolasi dan mengetahui karakter lesitin tumbuhan yang berasal dari kelapa dan wijen.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Buah kelapa (*Cocos nucifera*) serta biji wijen (*Sesamum indicum L. syn.*) diperoleh supermarket. Semua dalam kondisi baik, tidak berjamur dan tidak berbau tengik. Bahan kimia yang digunakan adalah kloroform, metanol, kertas saring, natrium chlorida, etanol, hexana, indikator primulin, aseton, akuades, dan lesitin kedelai. Semua bahan yang digunakan dalam penelitian ini berderajat proanalisis dari E. Merck kecuali lesitin kedelai yang diperoleh dari SigmaAldrich. Reagen untuk isolasi diperoleh dengan cara partisi 87 % etanol akuos dengan heksan (1/1, v/v), setelah terjadi pencampuran diambil fasa atas (solven A) dan fasa bawah (solven B). Eluent untuk TLC diperoleh dengan mencampurkan Kloroform: Metanol: Aquadest (25:10:1 v/v). Primulin untuk penyemprotan diperoleh dengan cara 5 mg primulin dilarutkan dalam 100 ml aseton/aquadest, 80/20, v/v.

Alat yang digunakan antara lain seker untuk ekstraksi (IKA® KS 130 basic), Rotary evaporator Buchii (R-124), corong buchner, corong pisah dengan kran teflon, vortex, all-glass atomizer, GCMS, dan FTIR. Semua pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali.

Isolasi dan Pemurnian Lesitin Kelapa dan Wijen

Isolasi dan pemurnian lesitin kelapa dan wijen dilakukan berdasarkan metode yang diberikan oleh Folch dkk. (1957) yaitu dengan cara 100 g sampel daging buah kelapa kering dihomogenisasikan dengan campuran kloroform/metanol (2:1) dengan perbandingan berat 5:1. Filtrat diambil dan dicuci

dengan larutan garam NaCl 0,9 %. Fasa kloroform diambil dan dikeringkan dengan evaporator vakum. Residu yang diperoleh ditimbang. Setelah itu 10 g sampel/residu dilarutkan dalam 45 ml solven A dan ditambahkan 15 ml solven B dalam corong pisah pertama. Dikocok selama 2 menit dan dibiarkan terpisah. Fasa bawah (15 ml) dimasukkan ke dalam corong pisah kedua yang mengandung 45 ml solven A. Dikocok selama 2 menit dan disentrifuse. Fasa bawah dimasukkan ke dalam labu evaporasi. Solven B segar sebanyak 15 ml ditambahkan ke corong pertama, dikocok 2 menit. Lalu fasa bawah ditransfer ke corong ke dua yang berisi 45 ml solven A, dikocok dan disentrifus. Prosedur diulang 4 sampai 6 kali. Ekstrak yang diperoleh (4 atau 6 x 15 solven B) mengandung lesitin yang siap untuk dianalisis.

Karakterisasi Lesitin

Karakterisasi lesitin dengan menggunakan TLC dilakukan dengan cara plat TLC dibersihkan dengan mengeluskan dengan campuran chloroform/methanol (50/50, v/v) sampai atas untuk menghilangkan kontaminasi dari silika gelnya. Larutan pekat lesitin dalam campuran chloroform diaplikasikan (1 to 10 µl per spot) dalam sebuah barisan pada 2,5 cm dari bawah plat dan terpisah satu dengan lainnya sejauh 1 cm. Setelah evaporasi dengan aliran nitrogen atau udara (air dryer), plat segera diletakkan dalam tangki elusi (tinggi solven= 5 mm) dan solven dibiarkan naik sampai sekitar 2 cm dari sisi atas plat. Plat diambil dari tangki dan biarkan solven menguap pada almari asam. Larutan primuline disemprotkan dengan all-glass atomizer dan plat diamati dalam cahaya ultraviolet (340 nm). Lipida muncul sebagai spot kuning terang pada latar jernih.

Untuk menentukan komponen asam lemak dari lesitin digunakan GC-MS sedangkan FTIR digunakan untuk menentukan gugus-gugus fungsinya. Sebagai pembanding digunakan lesitin dari kedelai.

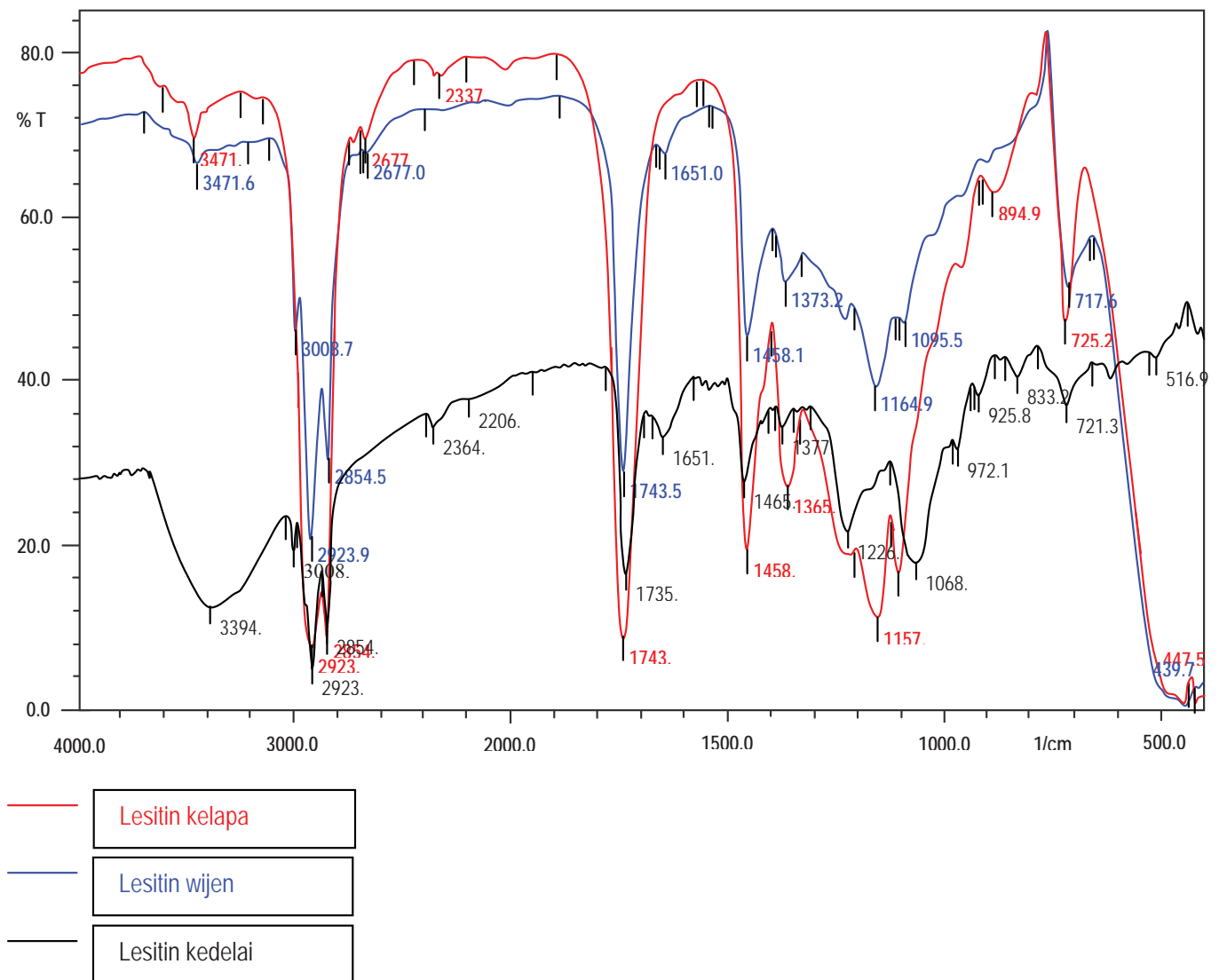
HASIL DAN PEMBAHASAN

Spektra FTIR ekstrak lesitin dari kelapa dan wijen diberikan dalam Gambar 2 dan sebagai pembanding digunakan lesitin kedelai yang diperoleh dari Sigma Aldrich. Ketiga lesitin memiliki penampakan seperti gel dengan warna putih kekuningan pada awalnya namun seiring dengan waktu warnanya menjadi semakin kecoklatan karena terjadinya reaksi oksidasi (Hua dan Aiyong, 2006). Analisis dengan TLC dilakukan untuk menentukan nilai Rf dari senyawa yang terdapat pada sampel. Nilai Rf adalah rasio jarak yang ditempuh oleh senyawa terhadap jarak yang ditempuh oleh solven (fasa gerak) pada plat TLC. Nilai ini spesifik untuk masing-masing senyawa. Analisis TLC menggunakan

reagen penanda primulin terhadap lesitin yang diperoleh dari hasil isolasi menunjukkan bahwa lesitin dari kelapa memiliki beberapa noda dengan Rf berturut-turut 0,30 dan 0,38 sedangkan lesitin wijen 0,31 dan 0,38. Lesitin kedelai memiliki Rf 0,60 yang merupakan nilai Rf dari fosfatidilkolin. Dari hasil ini diperkirakan bahwa lesitin kelapa dan wijen bukan dari golongan fosfatidilkolin ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

Hasil FTIR (Gambar 1) menunjukkan bahwa ketiganya memiliki pola absorbansi yang hampir sama pada daerah-daerah serapan yang spesifik untuk lesitin. IR spektra untuk lesitin dapat dibagi menjadi daerah-daerah spektra yang muncul dari vibrasi molekul ekor lipofil, daerah antarmuka

dan gugus kepala ((Osborne dan Fearn (1988); McClure dan Stanley, (2002); Suart (2004); Mahmoud, dkk. (2008)). Terlihat pita paling kuat untuk ketiganya adalah untuk vibrasi CH_2 , mode uluran simetri dan asimetri pada 2920 dan 2851 cm^{-1} . Bilangan gelombang-bilangan gelombang ini biasanya adalah 'sensitif konformasional' yaitu terpengaruh oleh perubahan rasio konformasi trans/gauche dalam rantai asilnya. Terdapat juga pita serapan untuk gugus CH_3 terminal pada daerah 2923,9 cm^{-1} . Vibrasi untuk gugus ester khususnya untuk uluran $\text{C}=\text{O}$ muncul pada daerah 1750-1700 cm^{-1} . Vibrasi untuk N-H pada 3471,6 cm^{-1} , dan PO_2^- pada 1100-1000 cm^{-1} .



Gambar 1. Spektra FTIR dari lesitin kelapa dan wijen dengan pembandingan spektra dari lesitin kedelai.

Dari hasil analisis TLC diperkirakan bahwa lesitin kelapa dan wijen termasuk dalam kelas sefalina yang memiliki gugus polar dari golongan serin (-CH₂CHNH₃⁺COOH) atau etanolamin (-CH₂CH₂NH₃⁺). Namun jika dilihat dari spektra FTIRnya dimana tidak terjadi pelebaran puncak pada daerah 3600 cm⁻¹ maka dapat diasumsikan bahwa tidak terdapat gugus OH⁻ sehingga diperkirakan sefalina tersebut adalah dari golongan etanolamin.

Analisis dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui struktur rantai asil dari lesitin (Tsamourisa dkk., 2002). Hasil analisis GC-MS disajikan pada tabel 1. Untuk lesitin kelapa diperoleh residu asam lemak berikatan tunggal yaitu C12 (asam dodekanoat, asam laurat) dan C8 (asam oktanoat, kaprilat). Hasil ini agak berbeda dari hasil penelitian sebelumnya oleh Hudiyanti dkk. (1999). Hal ini dimungkinkan terjadi karena untuk analisis dengan GC-MS ini harus dilakukan esterifikasi dari lesitin terlebih dulu. Esterifikasi ini menyebabkan terjadinya beberapa pemutusan rantai asam lemak menjadi rantai yang lebih pendek, sehingga tidak semua rantai asam lemak dapat terdeteksi dengan baik. Untuk lesitin wijen diperoleh residu asam lemak yaitu C18:1 (asam 9-oktadecanoat, asam oleat) dan C18:0 (asam oktadecanoat, asam stearat).

Tabel 1. Komponen asam lemak penyusun lesitin kelapa dan wijen

R _f	Senyawa ester	Komponen asam lemak	% kelimpahan
Lesitin Kelapa			
46,744	Gliseril	Asam dodekanoat (C12:0, asam laurat)	30,75
56,302	1-metiltridesil oktanoat	Asam oktanoat (C8:0, asam kaprilat)	18,15
Lesitin Wijen			
22,678	Methyl 9-oktadecanoat	Asam 9-oktadecanoat (C18:1, asam oleat)	83,22
20,855	Methyl oktadecanoat	Asam oktadecanoat (C18:0, asam stearat)	6,31

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah bahwa lesitin kelapa dan wijen adalah lesitin dari golongan sefalina dengan gugus hidrofilnya berupa etanolamin. Bagian lipofil untuk lesitin kelapa terdiri atas asam lemak C12 dan C8 dan untuk lesitin wijen terdiri atas C18:1 dan C18:0.

Penggunaan pembandingan fosfatidilkolin kedelai memungkinkan terjadinya perbedaan pada hasil yang diperoleh. Oleh karena itu perlu dilakukan analisis lebih jauh dengan menggunakan pembandingan lesitin standar.

UCAPAN TERIMA KASIH

DH mengucapkan terima kasih kepada Dikti-Diknas melalui Program Penelitian Fundamental th 2008 (No. Kontrak: 321/SP2H/PP/DP2M/III/2008) atas bantuan dana untuk perolehan beberapa data yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Belitz, H.D., Grosch, W. dan Scheberle, P. (2004). *Food Chemistry*. Springer-Verlag. Berlin, hal 560.
- Folch, J., Lees, M. dan Stanley, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* **226**: 497-509.
- Hua, H.Y. dan Aiyong, Y.Q. (2006). Mechanism of aggregation of soybean proteins induced by lipid oxidation. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association* 2006 -01.
- Hudiyanti, D., Mulyani, N.S. dan Fachriyah, E. (1999). Isolasi dan identifikasi zat pengemulsi pada emulsi santan kelapa, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* **2**: 84-89.
- Mahmoud, S. S., Gehman, J. D., Azzopardi, K., Robins-Browne, R. M. dan Separovic, F. (2008). Liposomal phospholipid preparations of chloramphenicol for ophthalmic applications. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **97**: 2691-2701.
- McClure, W.F. dan Stanley, D.L. (2002). *Near-infrared Spectroscopy of Biomaterials, in Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Vol. 1. Chalmers J.M. dan Griffiths P.R. (eds). Wiley, Chichester, UK, pp. 3663-3671.
- Osborne, B.G. dan Fearn, T. (1988). *Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis*. Wiley. New York.
- Suart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamental and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd., pp.138-141.
- Sud, M., Fahy, E., Cotter, D., Brown, A., Dennis, E. A., Glass, C. K., Merrill Jr, A. H., Murphy, R. C., Raetz, C. R. H., Russell, D. W. dan Subramaniam, S. (2007). LMSD: LIPID MAPS structure database. *Nucleic Acids Research* **35**: D527-D532.
- Tsamourisa, G., Hatziantoniou, S. dan Demetzos, C. (2002). Lipid analysis of greek walnut oil (*Juglans regia* L.). *Z. Naturforsch* **57**: 51-56.