

**KONFIRMASI KOMPONEN PIGMEN DOMINAN PADA RUMPUT LAUT  
COKELAT *Padina australis* DENGAN *FOURIER TRANSFORM INFRARED*  
(FTIR)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:  
**DIAN NOVALITA**  
**NIM. 115080301111006**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**KONFIRMASI KOMPONEN PIGMEN DOMINAN PADA RUMPUT LAUT  
COKELAT *Padina australis* DENGAN *FOURIER TRANSFORM INFRARED*  
(FTIR)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

Oleh :

**DIAN NOVALITA  
NIM. 115080301111006**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

SKRIPSI  
KOMFIRMASI KOMPONEN PIGMEN DOMINAN PADA RUMPUT LAUT  
COKELAT *Padina australis* DENGAN *FOURIER TRANSFORM INFRARED*  
(FTIR)

Oleh:  
DIANNOVALITA  
NIM. 115080301111006

Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal 25 Februari 2016  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

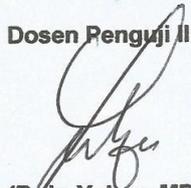
Dosen Penguji I



(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc, Ph.D)  
NIP. 19640919 098903 1 002

Tanggal : 23 MAR 2016

Dosen Penguji II



(Dr. Ir. Yahya, MP)  
NIP. 19630706 19903 1 005

Tanggal : 23 MAR 2016

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Kartini Zaelani, MS)  
NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal : 23 MAR 2016

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Hartati Kartikaingsih, MS)  
NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal : 23 MAR 2016

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Arping Wilyjeng E, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : 23 MAR 2016

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan ucapan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga dapat penelitian ini terselesaikan. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing kita sebagai umatnya menuju jalan yang penuh berkah dan diridhoi oleh Allah SWT.

Suatu kenikmatan tersendiri dapat menyelesaikan penyusunan laporan skripsi ini yang berjudul “Konfirmasi Komponen Pigmen Dominan pada Rumput Laut Coklat *Padina australis* dengan *Fourier transform Infrared* (FTIR)”. Syukur dan tak lupa ucapan terimakasih kepada pihak pihak yang membantu.

Penulis menyadari dalam penyusunan laporan skripsi ini tentunya ada kekurangan, maka diharapkan kritik dan saran sehingga dapat menjadi lebih sempurna. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya, dan bagi pembaca pada umumnya terutama para Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

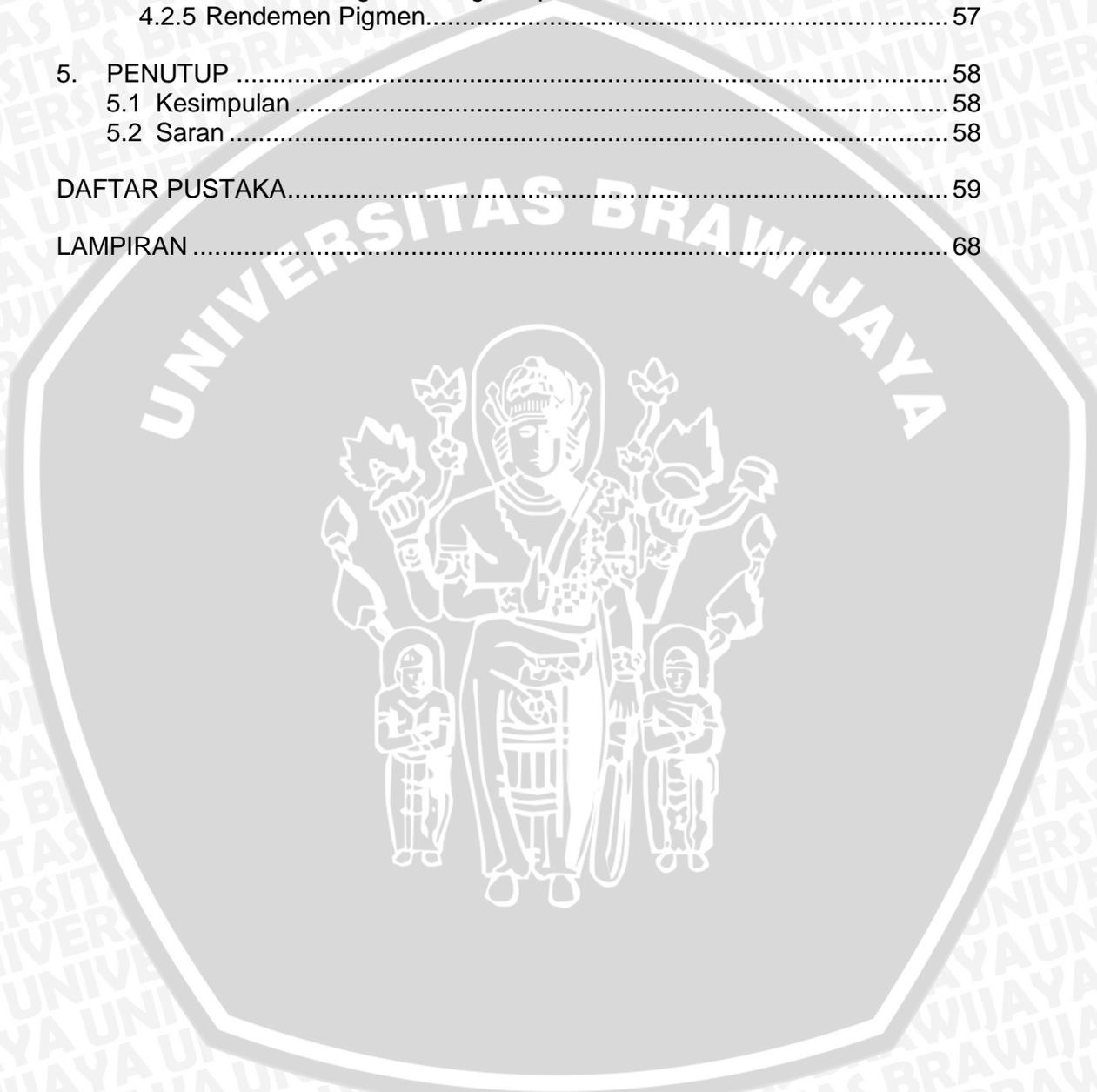
Malang, Februari 2016

Penyusun

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kegunaan Penelitian .....	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Rumput Laut Coklat .....	5
2.2.1 Pigmen $\beta$ -Karoten .....	8
2.2.2 Klorofil .....	10
2.2.3 Fukosantin .....	11
2.3 Pelarut .....	13
2.3.1 Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) .....	14
2.3.2 Aseton ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) .....	15
2.3.3 Dietil Eter ( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ ) .....	16
2.3.4 N-Heksan/Heksana ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ) .....	17
2.3.5 Etil Asetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ) .....	18
2.4 Silica Gel ( $\text{SiO}_2$ ) .....	19
2.5 Ekstraksi .....	20
2.6 Fraksinasi .....	20
2.7 Evaporasi .....	21
2.8 Kromatografi .....	22
2.8.1 Kromatografi Kolom .....	23
2.8.2 Kromatografi Lapis Tipis .....	24
2.9 Spektrofotometri UV-Vis .....	26
2.10 Fourier Transform Infra Red (FTIR) .....	28
3. METODE PENELITIAN .....	30
3.1 Bahan Penelitian .....	30
3.2 Alat Penelitian .....	30
3.3 Metode Penelitian .....	30
3.4 Prosedur Penelitian .....	31
3.4.1 Persiapan Sampel .....	31
3.4.2 Ekstraksi .....	32
3.4.4 Isolasi Pigmen .....	33
3.5 Identifikasi Komponen Pigmen .....	36
3.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	36
3.5.2 Spektrofotometri UV-Vis .....	38
3.5.3 Spektrofotometer FTIR ( <i>Fourier Transform Infrared</i> ) .....	40

4.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	41
4.1	Data Hasil Pengamatan .....	41
4.2	Pembahasan.....	43
4.2.1	Isolasi Pigmen.....	43
4.2.2	Identifikasi Pigmen Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	46
4.2.3	Identifikasi Pigmen dengan Spektrofotometri UV-Vis.....	49
4.2.4	Identifikasi Pigmen dengan Spektrofotometer FTIR.....	51
4.2.5	Rendemen Pigmen.....	57
5.	PENUTUP .....	58
5.1	Kesimpulan .....	58
5.2	Saran .....	58
	DAFTAR PUSTAKA.....	59
	LAMPIRAN .....	68



## DAFTAR TABEL

1. Komposisi kimia rumput laut coklat .....	6
2. Komposisi Proksimat <i>Padina australis</i> .....	7
3. Karakteristik Beta karoten .....	10
4. Sifat-sifat fukosantin.....	13
5. Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan dalam air beberapa jenis pelarut ..	14
6. Sifat sifat metanol .....	15
7. Tabel sifat-sifat Aseton .....	16
8. Sifat-sifat Dietil eter.....	17
9. Sifat-sifat N-Heksan .....	18
10. Sifat-sifat Etil Acetat.....	19
11. Sifat-sifat silika gel .....	20
12. Hasil Isolasi dan Identifikasi Komponen Pigmen Rumput Laut coklat <i>Padina australis</i> .....	41
13. Analisa gugus fungsional Pigmen pada <i>Padina australis</i> menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektrofotometer.....	53



## DAFTAR GAMBAR

1. Rumput laut coklat <i>Padina australis</i> .....	6
2. Struktur kimia $\beta$ -karoten.....	9
3. Struktur Klorofil a dan klorofil b .....	11
4. Struktur Fukosantin.....	12
5. Skema penyusunan kolom kromatografi.....	24
6. Skema proses kromatografi lapis tipis (KLT).....	25
7. Skema prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis.....	27
8. Alat Spektrofotometer UV-Vis .....	27
9. Skema kerja alat Spektroskopi FTIR.....	29
10. Alat Spektrofotometer FTIR .....	29
11. Prosedur ekstraksi dan fraksinasi alga coklat <i>Padina australis</i> .....	34
12. Prosedur isolasi pigmen dengan kromatografi kolom.....	37
13. Prosedur identifikasi Pigmen $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin dengan kromatografi lapis tipis .....	38
14. Prosedur Analisa Pigmen $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin dengan Spektrofotometer UV-Vis .....	39
15. Prosedur Analisa gugus fungsi dari Pigmen $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin dengan Spektrofotometer FTIR .....	40
16. Isolasi pigmen dengan kromatografi kolom.....	44
17. hasil isolasi ekstrak kasar <i>Padina australis</i> .....	45
18. Pola Pemisahan Pigmen Ekstrak Kasar <i>Padina australis</i> .....	47
19. Hasil KLT Pigmen <i>Padina australis</i> .....	48
20. pola Spektra Pigmen Hasil Isolasi Hasil Isolasi dalam Pelarut Aseton .....	50
21. hasil grafik identifikasi pigmen menggunakan FTIR .....	52



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Alga coklat adalah salah satu kelompok makroalga yang diketahui sebagai sumber yang kaya akan senyawa bioaktif dan potensial untuk diteliti dan dikembangkan. Salah satu jenis alga coklat yaitu *Padina australis* yang digunakan sebagai makanan oleh masyarakat di wilayah pesisir (Fitrya, 2010). Di perairan Indonesia terdapat sekitar 28 spesies rumput laut coklat yang berasal dari enam genus diantaranya yaitu *Dyctyota*, *Padina*, *Hormophysa*, *Sargassum*, *Turbinaria* dan *Hydroclathrus*. Spesies rumput laut yang telah diidentifikasi yaitu *Sargassum* sp. sebanyak 14 spesies, *Turbinaria* sebanyak 4 spesies, *Hormophysa* baru teridentifikasi 1 spesies, *Padina* 4 spesies, *Dyctyota* 5 spesies dan *Hydroclathrus* 1 spesies. Jenis-jenis rumput laut tersebut tersebar pada beberapa daerah di Indonesia (Maharani dan Widyayanti, 2009)

*Padina australis* merupakan salah satu spesies rumput laut coklat yang tersebar luas di perairan pantai Indonesia. Spesies rumput laut coklat ini biasa hidup pada substrat pasir, batu, patahan karang dan substrat campuran. *Padina australis* sering dianggap sebagai tanaman pengganggu dalam budidaya rumput laut *Euचेuma cottonii*, namun sebenarnya mempunyai nilai ekonomis karena dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak, makanan manusia, pupuk, anti bakteri dan anti mikroba (Hariyano *et al.*, 2010).

*Padina australis* memiliki komponen pigment yang beragam. Menurut Nurdiana dan limantara (2008), klorofil dan karetenoid merupakan pigmen yang melimpah pada alga coklat. Pada alga coklat, klorofil a berfungsi sebagai penangkap cahaya yang utama dalam proses fotosintesis. Keberadaan klorofil a pada alga coklat dilengkapi dengan pigmen pendukung yaitu klorofil c dan karetenoid yang berfungsi melindungi klorofil a dari foto-oksidasi serta menyerap

cahaya dan mentransfer energy kepusat reaksi fotosintesa. Jenis karotenoid yang banyak terkandung dan menjadi salah satu ciri khas pada alga coklat adalah fukoxantin, flavoxanthin, diatoxantin dan zeaxantin.

Limantara dan Heriyanto (2010) menyebutkan, Pigmen utama yang berperan dalam fotosintesis dari golongan klorofil dan karotenoid adalah pigmen pelengkap. Karotenoid sendiri memiliki 2 aktifitas utama yaitu, penangkap cahaya dan foto protector terhadap akses cahaya (Gross, 1991) ditambahkan oleh Nurcahyanti dan Limantara (2007), keberadaan karotenoid mampu melindungi klorofil dari degradasi. Limantara dan Heriyanto (2010) menyebutkan, jenis pigmen karotenoid salah satunya  $\beta$ - karoten yang terdapat pada rumput laut *Padina australis*.  $\beta$ -karoten termasuk golongan krotenoid yang berwarna kuning sampai merah, serta memiliki struktur alifatik atau alisiklik yang umumnya disusun oleh delapan unit isoprene (Erawati, 2006).

Klorofil berasal dari bahasa Yunani yaitu chloros artinya hijau dan phyllos artinya daun. Istilah ini diperkenalkan pada tahun 1818, dan pigmen tersebut diekstrak dari tanaman dengan menggunakan pelarut organik. Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau pada tumbuhan, alga dan bakteri fotosintetik. Pigmen ini berperan dalam proses fotosintesis tumbuhan dengan menyerap dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia. Klorofil mempunyai rantai fitil ( $C_{20}H_{39}O$ ) yang akan berubah menjadi fitol ( $C_{20}H_{39}OH$ ) jika terkena air dengan katalisator klorofilase. Fitol adalah alkohol primer jenuh yang mempunyai daya afinitas yang kuat terhadap  $O_2$  dalam proses reduksi klorofil (Ai dan Yunia, 2011).

Selain  $\beta$ -karoten, fukosantin merupakan salah satu jenis karotenoid yang memiliki rumus  $C_{42}H_{58}O_6$ . Fukosantin mampu mengabsorbsi energy warna hijau-biru dan melewatkan ke klorofil untuk proses fotosintesis, aktivitas tersebut ditunjukkan dengan sifat absorbs pada panjang gelombang 400-540 nm (Nurdiana dan limantara, 2008). Fukosantin merupakan jenis karotenoid utama yang

membantu proses fotosintesis dan telah banyak digunakan dalam dunia pengobatan seperti anti kanker dan anti obesitas (Maeda *et al.*, 2008).

Pigmen pada rumput laut *Padina australis* memiliki ciri khas gugus fungsi masing masing seperti yang dijelaskan diatas. Untuk mengetahui adanya gugus fungsi apa saja yang terdapat pada suatu senyawa di tiap tiap pigmen harus dilakukan identifikasi yang salah satunya dengan menggunakan Spektrofotometer FTIR. Anam *et al.*, (2007) mengatakan, spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk mengetahui pengujian kualitatif beberapa komponen pada campuran yang tidak diketahui. Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk analisa sampel yang berupa sampel padat dan cair. Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektrofotometer infrared yang dilengkapi transformasi *Fourier* untuk deteksi dan analisa hasil spektrumnya.

Dewasa ini sudah banyak penelitian tentang *Padina australis* dan mengidentifikasi komponen pigmen yang terkandung didalamnya. Adapun penelitian tentang identifikasi gugus fungsi yang terdapat pada crude komponen dan komponen hasil isolasi *Padina australis* masih jarang ditemukan. Karena itu, penelitian ini akan dilakukan guna melihat gugus fungsi crude dan hasil isolasi secara *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk menggali lagi manfaat apa yang bisa diambil dari *Padina australis* itu sendiri.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

- Apa saja pigmen dominan yang terkandung pada *Padina australis* dan berapakah kandungan rendemen masing-masing pigmen yang terkandung pada *Padina australis*?

- Gugus fungsi apa saja yang terdapat dalam komponen molekul pigmen dominan rumput laut coklat *Padina australis* berdasarkan uji Spektrofometer FTIR?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

- Untuk mengkonfirmasi pigmen dominan apa saja yang terkandung pada *Padina australis* dan berapakah kandungan rendemen masing-masing pigmen yang terkandung pada *Padina australis*
- Untuk mengetahui gugus fungsi apa saja yang terdapat dalam komponen molekul pigmen dominan rumput laut coklat *Padina australis* berdasarkan uji Spektrofometer FTIR

### 1.4 Kegunaan Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini bisa dimanfaatkan berbagai pihak yang membutuhkan hasil data terbaru dari berbagai gugus fungsi dalam komponen rumput laut coklat *Padina australis* dengan instrumen FTIR, dan mengetahui pemanfaatan *Padina australis* ditinjau dari kandungan pigmen yang ada didalamnya dan bisa menjadi pembanding dengan penelitian sebelumnya dan sebagai acuan penelitian lanjutan di masa mendatang.

### 1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2015 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium UV-Vis dan FTIR Universitas UIN Maliki Malang

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rumput Laut Coklat

Alga atau rumput laut merupakan tumbuhan tingkat rendah. Alga sendiri menurut Bahtiar (2007), dibagi kedalam tiga kelas yaitu, Alga hijau (*Chlorophyceae*), Alga merah (*Rodhophyceae*), Alga coklat (*Phaeophyceae*). Rumput laut coklat sendiri merupakan golongan makroalga dari kelas *phaeophyta* (dari bahasa Yunani *phaios* yang berarti “coklat”) yang disebut juga sebagai kelas *Ochrophyta* (Diaz-Pulido dan McCook, 2008). Beberapa speises dari alga coklat bereproduksi secara generatif serta ada beberapa spesies yang menunjukkan alih generasi yang isomorfik (Kordi, 2010).

Wehr (2002) mengatakan warna coklat pada rumput laut makroskopis berasal dari pigmen karotenoid, fukosantin dan beberapa spesies berasal dari berbagai macam tanin yang terdapat dalam rumput coklat (*phaecophycian tannin*). Rumput laut coklat dibandingkan dengan rumput laut merah dan hijau, mengandung antioksidan yang lebih tinggi dan mengandung beberapa senyawa yang tidak ditemukan pada sumber lain. Beberapa unsur utama yang terkandung dalam rumput laut coklat antara lain polisakarida, senyawa fenolik, terpenoid, sterol, protein, peptida, asam lemak tak jenuh, vitamin, dan pigmen (Balboa *et al.*, 2012).

Dinding sel rumput laut coklat mengandung senyawa polisakarida seperti laminaran dan fukoidan yang tergolong dalam serat larut. Laminaran merupakan bentuk polisakarida utama yang terkandung pada alga, sedangkan fukoidan mempunyai peran untuk melindungi rumput laut dari desikasi. Polisakarida pada rumput laut dilaporkan mempunyai aktifitas sebagai antioksidan, antibakteri, anti tumor, anti viral dan anti koagulan (Moroney *et al.*, 2013). Komposisi kimia rumput laut coklat dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Komposisi kimia rumput laut coklat

Komposisi Kimia	Jumlah (%)
Serat kasar	28,39
Karbohidrat	19,06
Air	11,71
Protein	5,53
Lemak	0,74
Abu	34,54

Sumber: Yunizal (1999).

### 2.1.1 *Padina australis*

Klasifikasi *Padina australis* menurut Zipcodezoo (2012), adalah sebagai berikut:

Domain	: <i>Eukaryota</i>
Kingdom	: <i>Chromista</i>
Subkingdom	: <i>Chromobiota</i>
Infrakingdom	: <i>Heterokonta</i>
Filum	: <i>Ochrophyta</i>
Subfilum	: <i>Phaeista</i>
Infraclass	: <i>Chrysisia</i>
Superkelas	: <i>Phaeistia</i>
Kelas	: <i>Phaeophyceae</i>
Ordo	: <i>Dictyotales</i>
Famili	: <i>Dictyotaceae</i>
Genus	: <i>Padina</i>
Deskriptor spesifik	: <i>australis</i> – Hauck
Nama ilmiah	: <i>Padina australis</i> Hauck



**Gambar 1.** Rumput laut coklat *Padina australis* (Dokumentasi penelitian, 2015).

Spesies rumput laut coklat yang termasuk genus *Padina* tersebar luas dan sangat mudah ditemukan di daerah tropis. *Padina australis* tumbuh pada daerah sublitoral, melekat pada pasir atau batu dan koral, dan terkadang menempel pada makroalga lain. Spesies yang memiliki tinggi 9,6-11 cm ini tumbuh subur pada perairan tropis dan sub tropis dan tidak ditemukan pada perairan beriklim sedang (Geraldino *et al.*, 2005).

*Padina australis* merupakan salah satu spesies rumput laut coklat yang tersebar luas di perairan pantai Indonesia. Spesies rumput laut coklat yang termasuk salah satu penghasil alginat ini biasa hidup pada substrat pasir, batu, patahan karang dan substrat campuran. *Padina australis* sering dianggap sebagai tanaman pengganggu dalam budidaya rumput laut *Euचेuma cottonii*, namun sebenarnya mempunyai nilai ekonomis karena dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak, makanan manusia, pupuk, anti bakteri dan anti mikroba (Hariyano *et al.*, 2010). Komposisi proksimat *Padina australis* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Komposisi Proksimat *Padina australis*

Komposisi	Jumlah (g/100 g)
Kadar air	90,56±0,16
Protein	1,02±0,04
Lemak	0,4±0,01
Abu	2,11±0,17
Karbohidrat ( <i>by difference</i> )	5,9±0,37

Sumber: Santoso *et al.*, (2013).

## 2.2 Komponen Pigmen

Pigmen merupakan molekul khusus yang dapat memunculkan warna dengan cara menyerap cahaya matahari dan memantulkannya pada panjang gelombang tertentu. Tiap molekul pigmen yang berbeda akan menimbulkan reaksi yang berbeda sehingga warna dan panjang gelombang yang dipantulkan juga berbeda. Pigmen alami dapat diperoleh dari tumbuhan atau hewan, baik secara langsung maupun dengan pemanasan, penyimpanan atau pemrosesan (Prangdimurti, 2007). Menurut struktur kimianya, pigmen tumbuhan dapat diklasifikasikan menjadi 5 famili yaitu tetrapirel misalnya klorofil, karotenoid misalnya  $\beta$ -karoten, flavonoid misalnya antosianin, senyawa fenolik misalnya teaflavin dan n-heterosiklik misalnya betalain (Schoefs, 2002). Ditambahkan Fretes (2012), salah satu ciri khas pigmen adalah ketidakstabilannya terhadap cahaya, pH, suhu, oksigen dan pelarut alkohol. Intensitas cahaya yang tinggi dan waktu iradiasi cahaya yang lama dapat menyebabkan degradasi klorofil (Gross, 1991).

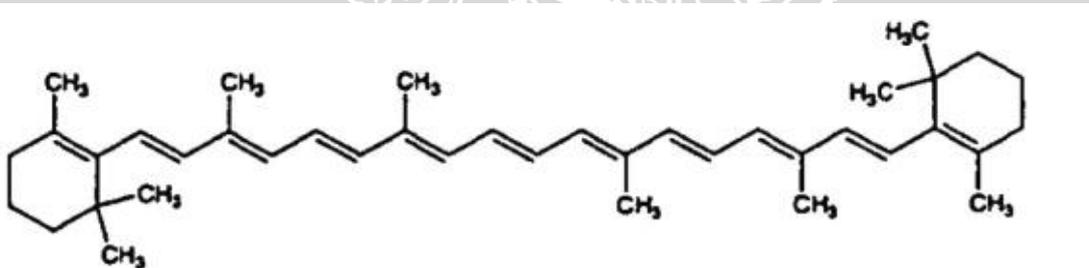
Pigmen yang paling banyak dari rumput laut cokelat adalah fukosantin, fukoxantol, flavoxantin, diatoxantin dan zeaxantin, sedangkan klorofil  $c_1$  dan klorofil  $c_2$  merupakan klorofil khas dari phaeophyta. Klorofil  $a$  merupakan golongan klorofil yang dominan pada rumput laut cokelat, Pigmen golongan karotenoid lain yang terkandung dalam *Padina australis* antara lain  $\beta$ -karoten, fukosantol, violasantin (Limantara dan Heriyanto, 2010).

### 2.2.1 Pigmen $\beta$ -Karoten

Golongan molekul karotenoid memiliki struktur kimia secara jelas menandakan bahwa karotenoid merupakan senyawa lipofilik, oleh karena itu karotenoid tidak larut dalam air, kecuali jika golongan yang memiliki sifat sangat polar seperti polisakarida mengesterifikasi rangka dasarnya (Schoefs, 2002). Zat warna  $\beta$ -karoten mempunyai rumus  $C_{40}H_{56}$  dimana mempunyai persenyawaan

yang simetris . bagian tengahnya adalh suatu rantai atom C yang panjang dengan ikatan-ikatan rangkap yang dapat ditukar dengan ikatan tunggal. Pada kedua ujung rantai ini terdapat cincin segienam (Akbar, 2012).

Beta-karoten  $\beta$ -karoten merupakan jenis karotenid yang paling banyak jumlahnya di alam dan hampir semua tanaman yang paling banyak jumlahnya di alam dan hampir semua tanaman mengandung  $\beta$ -karoten.  $\beta$ -karoten dapat diubah menjadi vitamin A di dalam tubuh (Fretes, 2012).  $\beta$ -karoten peka terhadap oksidasi karena adanya ikatan rangkap. Oksidasi  $\beta$ -karoten menjadi lebih cepat apabila adanya sinar dan katalis logam. Oksidasi akan terjadi secara acak pada rantai karbon yang mengandung ikatan rangkap. Selain proses oksidasi,  $\beta$ -karoten juga memiliki sifat tak stabil pada suhu tinggi dengan lama waktu yang panjang. Struktur kimia  $\beta$ -karoten pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur kimia  $\beta$ -karoten ( $C_{40}H_{56}$ ) (Fitriani, 2011)

Karetonoid khususnya  $\beta$ -karoten memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi sehingga mampu mengurangi resiko penyakit jantung, stroke, semua penyakit kardiovasuler.  $\beta$ -karoten juga melindungi tubuh dari resiko kanker paru-paru, payudara dan prostat.  $\beta$ -karoten dalam mendeaktivasi radikal bebas diawali dengan proses perokdasi lemak, karena  $\beta$ -karoten merupakan salah satu tipe antioksidan lemak. (Fretes *et al.*, 2012). Karakteristik Beta karoten terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik Beta karoten

Karakteristik	Fukosantin
<b>Nama lain</b>	- Betacarotenum (latin) - $\beta,\beta$ -Carotene [ACD/IUPAC Name] - Provitamin A
<b>Rumus Molekul</b>	$C_{40}H_{56}$
<b>Kepadatan</b>	$1.9 \pm 0.1 \text{ g / cm}^3$
<b>Titik didih</b>	$654.7 \pm 22.0 \text{ }^\circ\text{C}$ pada 760 mmHg
<b>Tekanan uap</b>	$0,0 \pm 5,9 \text{ mmHg}$ pada $25 \text{ }^\circ\text{C}$
<b>Entalpi penguapan</b>	$92,9 \pm 0,8 \text{ kJ / mol}$
<b>Titik Nyala</b>	$346.0 \pm 17.2 \text{ }^\circ\text{C}$
<b>Tegangan Permukaan</b>	$36.4 \pm 3.0 \text{ dyne/cm}$
<b>Volume molar</b>	$570.1 \pm 3.0 \text{ cm}^3$

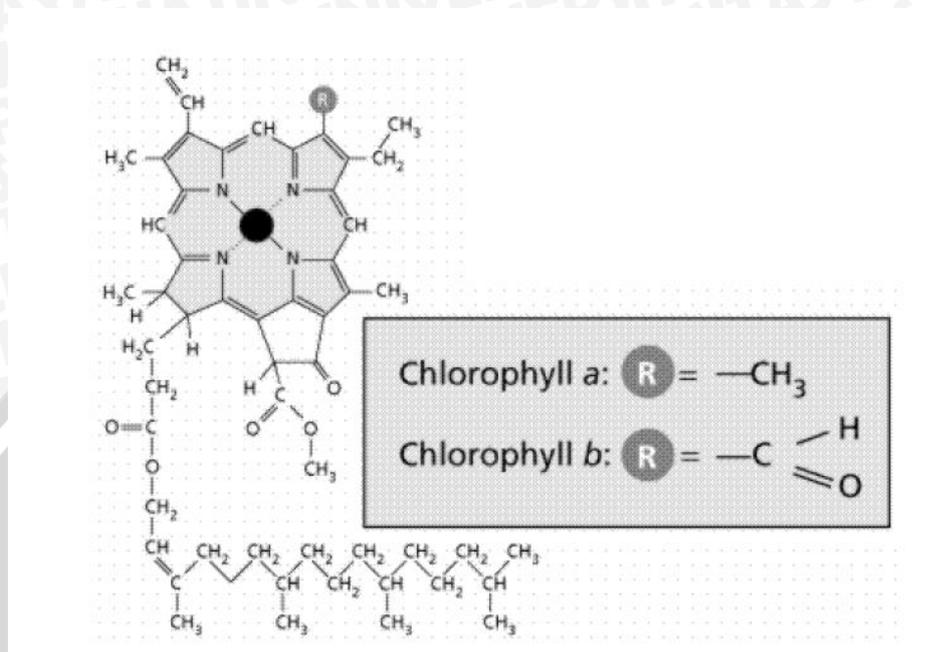
Sumber: Chempider, 2015

### 2.2.2 Klorofil

Terdapat dua jenis klorofil yang berbeda pada sebagian besar tanaman dan cyanobakteria, yaitu klorofil a dan klorofil b. Kemampuan klorofil a sebagai *photosensitizer* membuat molekul ini cenderung dipengaruhi oleh cahaya, dan suhu sehingga mudah mengalami degradasi. Klorofil b bersifat polar dan mempunyai warna kuning-hijau. Klorofil b lebih tahan panas dibandingkan dengan klorofil a. Selain suhu degradasi klorofil pada jaringan sayuran dipengaruhi oleh pH (Fajar *et al.*, 2014).

Hutajulu *et al.*, (2008) mengatakan klorofil merupakan molekul yang sangat besar dan terdiri dari 4 cincin pirol yang dihubungkan satu dengan yang lainnya oleh gugus metana (CH=) membentuk sebuah molekul yang pipih. Perbedaan antara klorofil a ( $C_{55}H_{72}MgN_4O_5$ ) dan klorofil b ( $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$ ) terletak pada atom c nomor tiga metil pada klorofil b diganti dengan aldehida pada klorofil a. Pada penelitiannya Hutajulu *et al.*, (2008), mengamati kemurnian klorofil a menggunakan analisa FTIR bahwa pola spektrum standart klorofil a dan b dapat dibedakan bahwa klorofil a terdapat serapan pada  $2940 \text{ cm}^{-1}$   $1455 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1380 \text{ cm}^{-1}$ . Menunjukkan adanya serapan gugs  $CH_3$  (gugs metil) sedangkan pada klorofil b terdapat serapan pada  $2750 \text{ cm}^{-1}$   $2680 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1650 \text{ cm}^{-1}$

menunjukkan adanya serapan gugus CHO (gugus aldehid). Struktur Klorofil a dan b terlihat pada gambar 3.



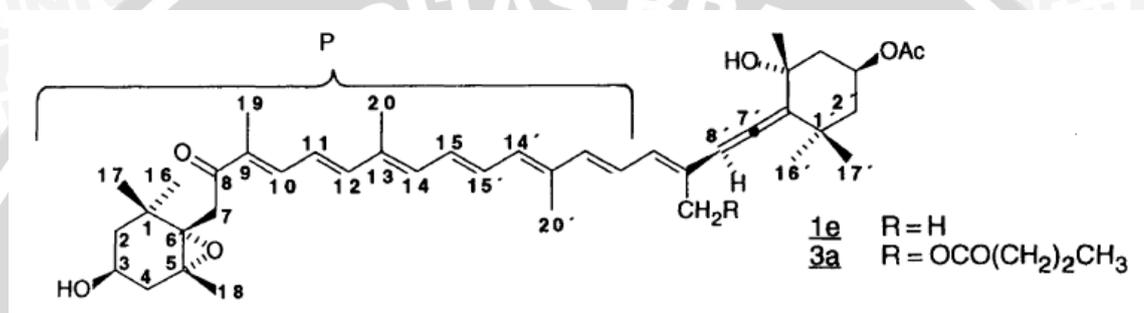
**Gambar 3.** Struktur Klorofil a dan klorofil b (Arifin, 2009)

Pada rumput laut coklat, klorofil a dan berfungsi sebagai penangkap cahaya yang utama sekitar 99% dalam proses fotosintesis. Konsentrasi klorofil a akan meningkat pada proses pematangan thallus sehingga dapat dianggap sebagai ukuran pertumbuhan rumput laut. Selain klorofil a pada rumput laut coklat, terdapat pigmn pendukung (aksesori) yaitu klorofil c dan karetenoid yang berfungsi melindungi klorofil a dari foto-oksidasi. Fungsi dari klorofil c secara alami memiliki kesamaan dengan klorofil a dan b yaitu sebagai penangkap cahaya pada proses fotosintesis. Klorofil c dapat terlihat pada spektrum absorsi, dengan puncak absorsi warna merah pada 630-638 (Nurdiana *et al.*, 2008).

### 2.2.3 Fukosantin

Fukosantin merupakan karotenoid utama yang ditemukan pada alga coklat *Padina australis*. Fukosantin memiliki rumus  $C_{42}H_{58}O_6$ . Fukosantin sendiri

memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida didalam molekulnya, serta memiliki 2 gugus hidroksil. Fukosantin memiliki aktifitas fungsional untuk mencegah obesitas dan diabetes, mencegah dan memerangi kanker, pencegahan oksidasi pada tubuh, mencegah penyumbatan pembuluh darah dan memerangi implamasi (Zaelani dan Kartikaningsih, 2010). Struktur dari fukosantin dapat dilihat pada gambar 4.



**Gambar 4.** Struktur Fukosantin ( $C_{42}H_{58}O_6$ )  
(Haugan, 1992)

Sifat-sifat fukosantin antara lain labil pada suasana basa, sehingga pada saat mengekstraksi pigmen tersebut, lingkungan basa harus dihindari (Nurchayanti dan Timotius, 2007). Diperkuat dengan pernyataan Suparmi *et al.*, (2009), faktor yang mempengaruhi stabilitas pigmen antara lain suhu, oksigen, pH, cahaya, pelarut, asam askorbat, ion logam dan keberadaan sulfur dioksida. Menurut Mufti *et al.* (2013), fukosantin merupakan karotenoid yang memiliki pigmen warna orange. Sifat-sifat fukosantin dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Sifat-sifat fukosantin

Karakteristik	Fukosantin
Nama lain	Fucoxanthin
Rumus Molekul	$C_{42}H_{58}O_6$
Kepadatan	$1.1 \pm 0.1 \text{ g / cm}^3$
Titik didih	$764,1 \pm 60,0 \text{ }^\circ\text{C}$ pada 760 mmHg
Tekanan uap	$0,0 \pm 5,9 \text{ mmHg}$ pada $25 \text{ }^\circ\text{C}$
Entalpi penguapan	$126,9 \pm 6,0 \text{ kJ / mol}$
Titik Nyala	$223,0 \pm 26,4 \text{ }^\circ\text{C}$
Tegangan Permukaan	$41,0 \pm 5,0 \text{ dyne / cm}$
Volume molar	$604,5 \pm 5.0 \text{ cm}^3$

Sumber: Chemspider (2015)

### 2.3 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi. Pemilihan pelarut didasarkan pada kemampuan dan kelarutannya dalam mengekstrak senyawa yang diinginkan (Guenther, 1987). Pelarut yang baik dalam proses ekstraksi adalah mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap senyawa yang diekstraksi. Daya melarutkan tersebut berhubungan dengan polaritas pelarut dan polaritas senyawa yang diekstraksi (Vogel, 1987). Beberapa sifat pelarut yang ideal memiliki selektifitas yang tinggi terhadap senyawa yang diekstraksi, memiliki perbedaan titik didih dan densitas yang cukup besar, bersifat inert, tidak beracun, memiliki viskositas yang kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah terbakar, tidak bersifat reaktif terhadap senyawa yang diekstraksi, murah dan mudah didapat (Yasita dan Rachamawati, 2013).

Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut dalam bahan pelarut yang memiliki polaritas yang sama. Secara fisika, tingkat polaritas pelarut ditunjukkan dengan nilai konstanta dielektrik. Pelarut semakin polar apabila semakin besar nilai konstanta dielektriknya (Sudarmadji *et al.*, 2007). Pelarut yang bersifat polar cenderung melarutkan senyawa bersifat polar, dan sebaliknya pelarut non polar cenderung melarutkan senyawa non polar (Vogel, 1987). Konstanta dielektrik

dan tingkat kelarutannya dalam air beberapa jenis pelarut yang umum digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan dalam air beberapa jenis pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik	Tingkat kelarutan dalam air
Metanol	33,60	Misibel*
Aseton	20,70	Misibel
Air	80,40	Misibel
Dietil eter	3,34	Sedikit
Etil asetat	6,02	Sedikit
N-heksan	1,89	Tidak larut
Petroleum eter	1,90	Tidak larut

Sumber: Sudarmadji *et al.*, (2007).

Keterangan: \*Misibel (*misible*) artinya dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi.

Jumlah pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi konsentrasi jenuh larutan. Semakin banyak pelarut yang digunakan, maka semakin banyak zat terlarut yang dapat terekstrak (Komara, 1991). Dalam jumlah tertentu, pelarut dapat bekerja secara optimal dalam proses ekstraksi, namun dalam jumlah yang berlebihan pelarut tidak akan mengekstrak lebih banyak senyawa (Susanto, 2009).

### 2.3.1 Metanol (CH<sub>3</sub>OH)

Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, wood alcohol atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH<sub>3</sub>OH. Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri (Hikmah dan Zuliyana, 2010)

Metanol atau metil alkohol (CH<sub>3</sub>OH) merupakan asam lemah turunan yang paling sederhana dari alkohol, berbentuk cairan yang tidak berwarna, mudah menguap dan mudah terbakar dan dapat diubah menjadi formaldehid

(Vogel, 1987). Dahulu metanol dibuat dari penyulingan kayu sehingga disebut juga sebagai alkohol kayu (*wood alcohol*). Saat ini, senyawa ini dibuat melalui oksidasi katalitik metana dari gas alam. Metanol sering digunakan sebagai pelarut dan dalam pembuatan formaldehid untuk industri plastik dan obat-obatan (Daintith, 2004). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada tabel. 6.

**Tabel 6.** Sifat sifat metanol

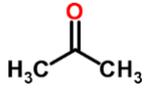
Karakteristik	Metanol
<b>Nama lain</b>	- Methyl Alkohol - Carbinol
<b>Rumus Molekul</b>	CH <sub>4</sub> O <b>H<sub>3</sub>C—OH</b>
<b>Kepadatan</b>	0,8 ± 0.1 g / cm <sup>3</sup>
<b>Titik didih</b>	48,1 ± 3,0 ° C pada 760 mmHg
<b>Entalpi penguapan</b>	35,2 ± 0,0 kJ / mol
<b>Tegangan Permukaan</b>	18.9±3.0 dyne/cm
<b>Volume molar</b>	42.5±3.0 cm <sup>3</sup>

Sumber: Chemspider (2015)

### 2.3.2 Aseton (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)

Aseton (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) merupakan pelarut organik yang sering digunakan sebagai kutub pelarut aprotik dalam berbagai reaksi organik. Aseton sering dipilih sebagai pelarut dalam proses ekstraksi karena kemampuannya dalam mengekstraksi senyawa-senyawa polar dan non polar (Day dan Underwood, 1986). Aseton yang mempunyai nama lain dimetil asetat, metil asetil, dimetil keton, propanon, ketopropanon, piroasetis spirit, dan piroasetat eter mempunyai sifat higroskopis, sangat mudah menguap, tidak beresidu dan mudah terbakar. Kegunaan lain dari aseton adalah sebagai pelarut senyawa asetilen, bahan campuran resin, campuran adesif, parfum, pembersih dan lain sebagainya (Schelfan *et al*, 1983). Sifat sifat Aseton dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Tabel sifat-sifat Aseton

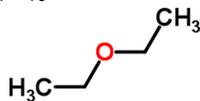
Karakteristik	Aseton
Nama lain	- b-Ketopropane - Dimethyl formaldehyde - Dimethylcetone
Rumus Molekul	$C_3H_6O$ 
Kepadatan	$0,8 \pm 0.1 \text{ g / cm}^3$
Titik didih	$46.5 \pm 3.0 \text{ }^\circ\text{C}$ at 760 mmHg
Tekanan uap	$348.4 \pm 0.1 \text{ mmHg}$ at $25^\circ\text{C}$
Entalpi penguapan	$29.1 \pm 0.0 \text{ kJ/mol}$
Titik Nyala	$-17.2 \pm 0.0 \text{ }^\circ\text{C}$
Tegangan Permukaan	$18.8 \pm 3.0 \text{ dyne/cm}$
Volume molar	$75.2 \pm 3.0 \text{ cm}^3$

Sumber : Chempider, 2015

### 2.3.3 Dietil Eter ( $C_4H_{10}O$ )

Dietil eter ( $C_4H_{10}O$ ) merupakan bahan kimia organik berbentuk cairan tidak berwarna, sedikit larut dalam air, dan biasa digunakan sebagai reagen dan pelarut. Nama lain dari dietil eter yaitu etil eter, etil oksida, atau etilik eter (Hill, 2003). Menurut Daintith (2004), dietil eter merupakan cairan volatil (mudah menguap) dan sangat mudah terbakar yang dikenal dengan bau khas dan sifat anestesik-nya. Terkadang dietil eter masih diaplikasikan sebagai bahan anestesik (obat bius) apabila tidak ada bahan-bahan modern yang sesuai. Pembuatan dietil eter merupakan hasil pengembangan dari sintesis di laboratorium. Dalam proses pembuatannya, etanol uap dilewatkan ke dalam campuran etanol jenuh dan asam sulfat pekat pada suhu  $140 \text{ }^\circ\text{C}$ . Sifat-sifat Dietil eter dapat dilihat di tabel 8.

Tabel 8. Sifat-sifat Dietil eter

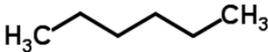
Karakteristik	Aseton
Nama lain	- Diaethylaether - diethylether - Dietil eter
Rumus Molekul	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O 
Kepadatan	0.7±0.1 g/cm <sup>3</sup>
Titik didih	33.2±3.0 °C at 760 mmHg
Tekanan uap	566.8±0.1 mmHg at 25°C
Entalpi penguapan	26.5±0.0 kJ/mol
Titik Nyala	-40.0±0.0 °C
Tegangan Permukaan	19.1±3.0 dyne/cm
Volume molar	100.9±3.0 cm <sup>3</sup>

Sumber: Chemspider (2015)

### 2.3.4 N-Heksan/Heksana (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>)

Heksana (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) merupakan senyawa hidrokarbon alkana yang memiliki rumus isomer utama CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>. Awalan *heks-* menunjukkan jumlah atom karbon yang terdapat di dalamnya dan akhiran *-ana* menunjukkan ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Heksana merupakan salah satu jenis pelarut non polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Heksana merupakan alkana cair yang diperoleh dari fraksi ringan dari minyak mentah. Penggunaan utama dari heksana adalah sebagai campuran bensin dan sebagai pelarut (Daintith, 2004). Menurut Arindah (2010), heksana merupakan hidrokarbon alifatik yang mudah menguap. Ikatan kovalen pada n-heksana menjadikan n-heksana tidak reaktif sehingga sering digunakan sebagai pelarut inert pada reaksi organik. Sifat-sifat N-Heksan dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Sifat-sifat N-Heksana

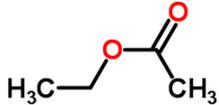
Karakteristik	Heksana
Nama lain	- Hexane [ACD/Index Name] [ACD/IUPAC Name] - n-hexane
Rumus Molekul	$C_6H_{14}$ 
Kepadatan	$0.7 \pm 0.1 \text{ g/cm}^3$
Titik didih	$68.5 \pm 3.0 \text{ }^\circ\text{C}$ at 760 mmHg
Tekanan uap	$150.9 \pm 0.1 \text{ mmHg}$ at $25^\circ\text{C}$
Entalpi penguapan	$28.9 \pm 0.0 \text{ kJ/mol}$
Titik Nyala	$-23.3 \pm 0.0 \text{ }^\circ\text{C}$
Tegangan Permukaan	$20.3 \pm 3.0 \text{ dyne/cm}$
Volume molar	$127.6 \pm 3.0 \text{ cm}^3$

Sumber: Chemspider (2015)

### 2.3.5 Etil Asetat ( $C_4H_8O_2$ )

Etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ) adalah pelarut organik yang bersifat semi polar, tidak berwarna dan memiliki bau tajam yang kurang enak. Beberapa keuntungan menggunakan etil asetat sebagai pelarut di antaranya yaitu sifatnya yang volatil, non toksik dan tidak higroskopis (Reapina, 2007). Etil asetat juga dikenal sebagai ester asetat, eter asetat dan asetidin dengan rumus isomer utama  $CH_3COOC_2H_5$  yang memiliki sifat dapat sedikit larut dalam air dan mendidih pada suhu  $77^\circ\text{C}$  (Hill, 2003). Etil asetat merupakan ester yang terbentuk dari etanol dan asam etanoat, berbentuk cairan berbau yang digunakan sebagai pelarut dalam industri plastik, parfum dan pemberi cita rasa (Daintith, 2004). Sifat-sifat Etil Asetat bisa dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Sifat-sifat Etil Asetat

Karakteristik	Etil Asetat
Nama lain	- Diaethylaether - diethylether - Dietil eter
Rumus Molekul	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> 
Kepadatan	0.9±0.1 g/cm <sup>3</sup>
Titik didih	73.9±3.0 °C at 760 mmHg
Tekanan uap	111.7±0.1 mmHg at 25°C
Entalpi penguapan	31.9±0.0 kJ/mol
Titik Nyala	-3.3±0.0 °C
Tegangan Permukaan	23.6±3.0 dyne/cm
Volume molar	98.0±3.0 cm <sup>3</sup>

Sumber: Chemspider (2015)

#### 2.4 Silica Gel (SiO<sub>2</sub>)

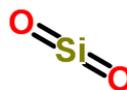
Silikon dioksida (SiO<sub>2</sub>) merupakan zat kimia anorganik berbentuk kristal transparan yang tidak berwarna, mudah larut dalam alkali cair dan asam hidrofiorat, dan melebur pada suhu 1710 °C. *Silica gel* umum digunakan dalam industri pembuatan gelas, produk keramik, amplas, dan cetakan dalam pengecoran logam dan beton (Hill, 2003).

*Silica gel* tidak berbentuk atau memiliki bentuk yang tidak beraturan, sangat porous, merupakan bentuk silika yang terhidrasi sebagian. SiO<sub>2</sub> merupakan sebuah substansi yang terbuat dari dua elemen yang paling banyak terdapat di bumi, yaitu silikon dan oksigen. Sekitar 55% dari luas permukaan bumi terdiri dari silika (silikon dioksida) atau silikat (silika yang terkombinasi dengan metal oksida). Secara alami, sebagian besar silika tidak terhidrasi secara signifikan dan dapat berbentuk kristal atau tidak berbentuk, merupakan material sederhana yang dapat dikarakterisasi secara fisik dan kimia, serta memiliki beberapa sifat khusus yang menjadikannya ideal sebagai material dasar. *Silica gel* dapat dibuat

dengan mudah, dengan biaya minimal, dan sifat yang seragam (Telepchak, 2004). Sifat-sifat silika gel dapat dilihat pada tabel 11.

**Tabel 11.** Sifat-sifat silika gel

Karakteristik	Silika gel
<b>Nama lain</b>	- Silicon dioxide - Cristobalite - Dioxosilan
<b>Rumus Molekul</b>	$O_2 Si$



Sumber: Chemspider (2015)

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan komponen cair dari campurannya menggunakan sejumlah massa solven (pelarut) sebagai tenaga pemisah. Proses ekstraksi meliputi tiga langkah utama yaitu proses pencampuran, proses pembentukan fase setimbang dan proses pemisahan fase setimbang. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi antara lain ukuran partikel, perbandingan pelarut, suhu, waktu kontak, dan pengadukan (Yasita dan Rachmawati, 2013). Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia atau zat-zat aktif yang terdapat dalam bahan (Harborne, 1987).

Ekstraksi adalah kegiatan menarik kandungan yang dapat larut sehingga terpisahkan dari bahan yang tidak bisa larut dengan pelarut cair. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antara muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarutan (Sari, 2012)

## 2.6 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan fraksi yang mempunyai karakteristik yang berbeda dalam suatu larutan atau suspensi (Yuliasih *et al.*,

2013). Istilah fraksinasi seringkali digunakan untuk menggambarkan pemisahan suatu senyawa di antara dua medium yang tidak saling melarutkan (Sudarmadji, 1997). Fraksinasi atau partisi disebut juga penyarian cair-cair, yaitu proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Komponen yang difraksinasi akan terdistribusi dalam dua pelarut berdasarkan perbedaan koefisien partisi. Umumnya proses fraksinasi dilakukan menggunakan corong pisah (Sholihah, 2010).

Prinsip pada fraksinasi sendiri adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur. Pelarut yang umumnya di pakai untuk fraksinasi adalah nheksan, etil aasetat dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa semipolar sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. dari proses fraksinasi ini diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar sedangkan senyawa senyawa yang polar akan larut dalam pelarut yang polar juga. Tiap-tiap fraksi disiapkan sampai kental dengan pengupana putar pada suhu kurang lebih  $50^{\circ}\text{C}$  (Sari, 2012).

## 2.7 Evaporasi

Evaporasi (penguapan) atau pemekatan merupakan proses yang melibatkan perpindahan panas dan massa secara simultan. Sebagian pelarut akan diuapkan sehingga diperoleh suatu produk yang kental (konsentrat). Kecepatan penguapan dipengaruhi oleh efektifitas pindah panas dan pindah massa. Penguapan terjadi apabila suhu suatu bahan sama atau lebih tinggi dari titik didih cairan. Pada produk yang sensitif terhadap suhu tinggi, titik didih cairan atau pelarut harus diturunkan sehingga lebih rendah dari titik didih pada kondisi normal. Menurunkan titik didih pelarut atau cairan dilakukan dengan cara menurunkan tekanan di atas permukaan cairan menjadi lebih rendah dari

tekanan atmosfer atau disebut vakum (Joharman, 2006). Pemekatan dengan *rotary vacuum evaporator* merupakan teknik pemekatan ekstrak tanpa merusak senyawa yang diisolasi dari ekstrak karena rangkaian alat ini menggunakan pompa vakum sehingga di dalam evaporator terjadi pengurangan tekanan yang menyebabkan pelarut dapat menguap di bawah titik didihnya (Siadi, 2012).

## 2.8 Kromatografi

Kromatografi berasal dari bahasa Yunani *kromatos* yang berarti warna dan *graphos* yang berarti menulis. Kromatografi mencakup berbagai proses yang didasarkan pada perbedaan distribusi dari penyusun cuplikan antara dua fase. Fase yang tinggal pada sistem disebut sebagai fase diam, sedangkan fase yang mengalir melalui celah-celah fase diam disebut dengan fase gerak. Aliran fase gerak menyebabkan perbedaan migrasi dari penyusun cuplikan sehingga dapat digunakan dalam pemisahan suatu bahan alam yang kompleks seperti klorofil dan karotenoid (Maslebu *et al.*, 2013).

Kromatografi merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk memisahkan atau menganalisa suatu campuran kompleks. Semua teknik yang berkaitan dengan kromatografi, di dalam prosesnya menggunakan dua fase, yaitu fase gerak (*mobile phase*) berupa cairan atau gas dan fase diam (*stationary phase*) berupa padatan atau cairan yang terikat dengan padatan. Sampel yang dipisahkan atau dianalisis dibawa oleh fase gerak melewati fase diam. Beragam komponen yang terdapat di dalam campuran akan terserap atau terlarut oleh fase diam dengan tingkatan yang berbeda-beda, dan secara konsekuen bergerak dengan kecepatan yang berbeda. Proses inilah yang menjadikan komponen-komponen tersebut dapat terpisah (Daintith, 2004).

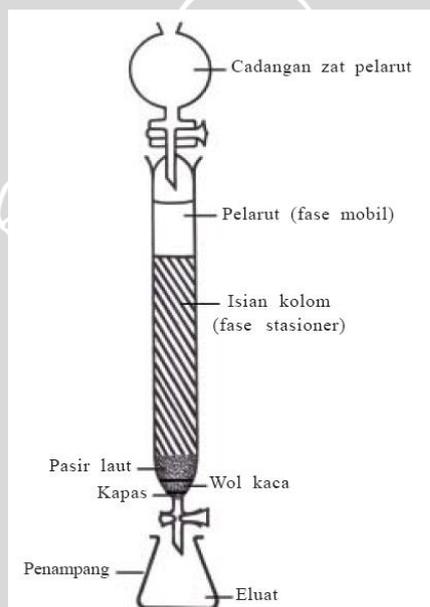
### 2.8.1 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah yang besar. Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom dapat berupa silica gel, selulosa atau poliamida. Sedangkan, untuk fase gerak dapat dimulai dengan pelarut non polar kemudian ditingkat kepolarannya secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal maupun kombinasi dua pelarut yang mempunyai kepolaran yang berbeda dengan perbandingan tertentu sesuai dengan tingkat kepolaran yang dibutuhkan (Sari, 2012)

Kromatografi juga merupakan salah satu teknik untuk memisahkan suatu komponen dari campuran komponen lainnya berdasarkan perbedaan interaksinya selama pergerakan melalui fase diam (*stationer*) oleh fase (*mobile*) yang dapat berupa gas atau zat cair (Santi, 2006). Salah satu contoh penggunaan kromatografi kolom adalah pada pemisahan campuran cair. Sebuah kolom vertikal diisi dengan material absorben seperti alumina (aluminium oksida) atau *silica gel*. Sampel dimasukkan melalui bagian atas kolom kemudian dialiri menggunakan suatu pelarut. Proses ini disebut sebagai elusi (*elution*), pelarut yang digunakan disebut dengan eluen (*eluent*) dan sampel yang dipisahkan disebut dengan eluat (*eluate*). Apabila komponen yang dipisahkan memiliki warna, akan terlihat pita-pita warna yang menandakan pemisahan sampel di dalam kolom. Komponen-komponen tersebut dipisahkan sesuai dengan keluarnya warna dari bagian bawah kolom (Daintith, 2004).

Kecepatan suatu komponen untuk bergerak di dalam kolom, tergantung pada seberapa besar komponen terhambat atau tertahan oleh penyerap atau fase diam. Senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat dibandingkan dengan senyawa yang diserap kuat oleh fase diam. Jika perbedaan serapan antar senyawa cukup besar, maka akan terjadi pemisahan yang sempurna (Sastrohamidjojo, 2007).

Menurut Hayani (2007), untuk pengisian kolom, pada bagian bawah kolom dimasukkan sedikit kapas, wol kaca dan pasir laut, kemudian dimasukkan bubuk *silica gel 70-230 mesh* sampai mencapai tiga perempat tinggi kolom sambil di aduk agar tidak terdapat rongga udara di tengah-tengah kolom. Untuk pemisahan komponen, mula-mula dialirkan ekstrak cair ke dalam kolom kromatografi, kemudian kran dibuka sehingga ekstrak akan meresap ke dalam *silica gel* sampai batas atas *silica gel* di dalam kolom. Setelah itu dimasukkan pereaksi terus-menerus sambil kran kolom dibuka. Fraksi yang terpisah ditampung dalam tabung reaksi sampai seluruh ekstrak terpisahkan. Skema penyusunan kolom kromatografi dapat dilihat pada Gambar 5.



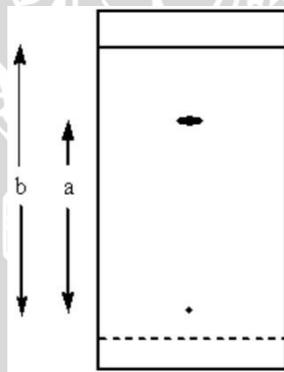
**Gambar 5.** Skema penyusunan kolom kromatografi (Hayani, 2007).

### 2.8.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) menurut Prawirodiharjo (2014), merupakan metode pemisahan senyawa secara fisikokimia. Dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata pada lempeng kaca. Lempeng tersebut dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan dapat didasarkan pada penyerapan, pembagian atau gabungan

antara keduanya, tergantung dari jenis zat penyerap dan jenis pelarut atau fase geraknya. Kelebihan dari kromatografi lapis tipis adalah dapat dihasilkan pemisahan yang lebih sempurna, kepekaan yang lebih tinggi dan dibutuhkan waktu yang singkat (Mukaromah dan Maharani, 2008).

Larutan campuran yang akan dipisahkan ditotolkan pada lempeng kromatografi berupa bercak. Setelah lempeng diletakkan dalam bejana yang berisi fase gerak yang cocok, maka akan terjadi pemisahan dengan perambatan fase gerak secara kapiler. Bercak yang terdeteksi kemudian ditandai dan dihitung nilai *retardation factor* (Rf)-nya. Nilai Rf yang menunjukkan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa kromatografi diperoleh dengan membandingkan jarak bercak dari titik awal penotolan dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak (Hidayati, 2013). Skema proses kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Skema proses kromatografi lapis tipis (KLT) (Anderson dan Shine, 2009).

Keterangan: a = jarak yang ditempuh senyawa; b = jarak yang ditempuh pelarut.

Menurut Striegel dan Hill (1996), nilai Rf adalah nilai yang menyatakan migrasi komponen dalam kromatogram sebagai rasio atau perbandingan jarak yang ditempuh oleh komponen dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak.

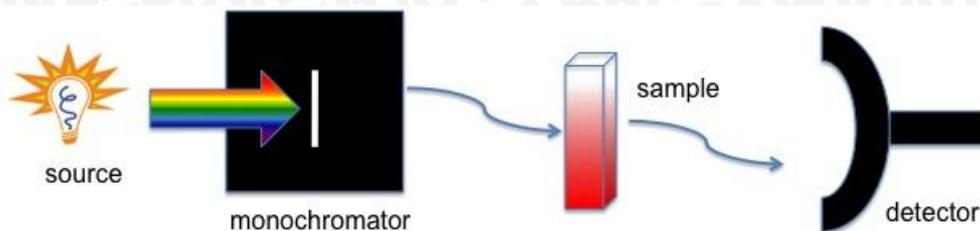
Rasio tersebut dapat dituliskan sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

## 2.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis menurut Triyati (1985), salah satu metode sederhana untuk menentukan zat organik dan anorganik. Merupakan metode pengukuran dalam suatu tahapan analisis kimia, baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Analisis secara kualitatif dilakukan berdasarkan panjang gelombang yang ditunjukkan oleh puncak spektrum (190-900 nm), sedangkan analisis secara kuantitatif dilakukan berdasarkan pada penurunan intensitas cahaya yang diserap oleh suatu media. Intensitas ini sangat tergantung pada tebal tipisnya media dan konsentrasi warna spesifik yang ada pada media tersebut (Fatimah *et al.*, 2009).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah berdasarkan penyerapan cahaya atau energi radiasi oleh suatu larutan yang diuji. Setiap kromofor (zat warna) mempunyai panjang gelombang maksimum yang berbeda. Dalam prosesnya, cahaya yang bersifat polikromatis (mempunyai banyak warna) dari sumber cahaya dipancarkan menuju monokromator yang akan menguraikan sinar tersebut menjadi cahaya monokromatis (tunggal) dengan pita-pita panjang gelombang yang dapat digunakan untuk pengukuran suatu zat tertentu. Cahaya atau energi radiasi dari monokromator dipancarkan pada suatu larutan sampel dengan konsentrasi tertentu di dalam kuvet, sehingga ada cahaya yang diserap dan ada pula yang diteruskan. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan sampel, sehingga akan diketahui konsentrasi zat di dalam sampel secara kuantitatif. Jumlah cahaya yang diserap oleh larutan akan menghasilkan sinyal elektrik pada detektor dan diterjemahkan ke dalam bentuk angka-angka oleh pencatat (*reader*) (Triyati, 1985). Skema prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Skema prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis (Oliva-Chatelain and Barron, 2010).

Menurut Markham (1988) analisis secara kuantitatif dengan memakai persamaan yang dikenal hukum Beer-Lambert:

$$A = \epsilon \times c \times d$$

Dalam persamaan ini:

A = daya serap atau keserapan (absorbansi)

$\epsilon$  = kesemerapan mol atau absorptivitas mol ( $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

c = konsentrasi komponen dinyatakan dalam mol (gram/bobot molekul) per liter

d = panjang kuvet (cm)

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) ultraviolet dekat (190-389 nm) dan sinar tampak (360-760 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mukti, 2013). Alat Spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8.** Alat Spektrofotometer UV-Vis

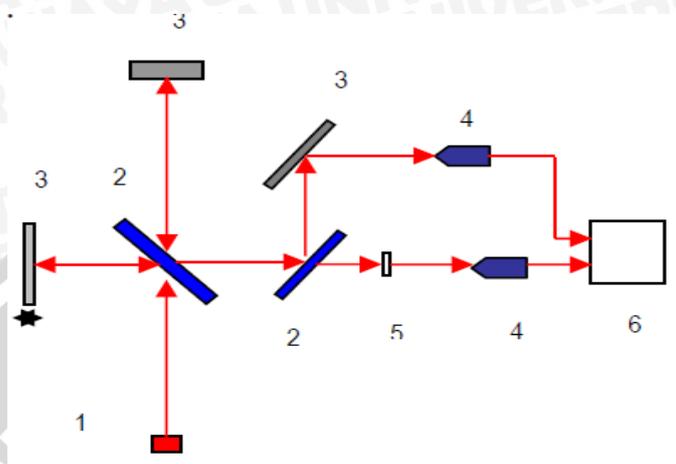
## 2.10 Fourier Transform Infra Red (FTIR)

Salah satu hasil kemajuan instrumentasi IR adalah pemrosesan data seperti Fourier transform Infra Red (FTIR). Teknik ini memberikan informasi dalam hal kimia, seperti struktur dan konformasional pada polimer dan polipaduan, perubahan induksi tekanan dan reaksi kimia. Dalam teknik ini padatan diuji dengan cara merefleksikan sinar infra merah yang melalui tempat kristal sehingga terjadi kontak dengan permukaan cuplikan. Degradasi atau induksi oleh oksidasi, panas, maupun cahaya, dapat diikuti dengan cepat melalui infra merah. Sensitivitas FTIR adalah 80-200 kali lebih tinggi dari instrumentasi dispersi standar karena resolusinya lebih tinggi (Gunawan dan Azhari, 2010).

Teknik pengoperasian FTIR berbeda dengan spektrofotometer infra merah. Pada FTIR digunakan suatu interferometer Michelson sebagai pengganti monokromator yang terletak di depan monokromator. Interferometer ini akan memberikan sinyal ke detektor sesuai dengan intensitas frekuensi vibrasi molekul yang berupa interferogram. Interferogram juga memberikan informasi yang berdasarkan pada intensitas spektrum dari setiap frekuensi. Informasi yang keluar dari detektor diubah secara digital dalam komputer dan ditransformasikan sebagai domain, tiap-tiap satuan frekuensi dipilih dari interferogram yang lengkap (fourier transform). Kemudian sinyal itu diubah menjadi spektrum IR sederhana. Spektroskopi FTIR digunakan untuk mendeteksi sinyal lemah, menganalisis sampel dengan konsentrasi rendah dan analisis getaran (Gunawan dan Azhari, 2010).

Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai

intensitas fungsi energi, panjang gelombang (mm) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Anam *et al.*, 2007). Skema kerja alat spektroskopi FTIR secara sederhana ditunjukkan pada gambar 9.



**Gambar 9.** Skema kerja alat Spektroskopi FTIR

Ket:(1). Sumber Inframerah (2) Pembagian berkas (Beam Splitter) (3) Kaca pemantul (4) Sensor Inframerah (5) sampel (6) Display (Anam *et al.*, 2007)

FT-IR merupakan salah satu instrumen yang menggunakan prinsip spektroskopi. Spektroskopi adalah spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Spektroskopi inframerah berguna untuk identifikasi senyawa organik karena spektrumnya yang sangat kompleks yang terdiri dari banyak puncak-puncak (Chusnul. 2011). Selain itu, masing-masing kelompok fungsional menyerap sinar inframerah pada frekuensi yang unik (Silviah *et al*, 2014). Alat Spektrofotometer FTIR dapat dilihat di gambar 10.



**Gambar 10.** Alat Spektrofotometer FTIR

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah rumput laut coklat *Padina australis* yang diambil dari pulau Madura, Jawa Timur. Adapun bahan kimia yang digunakan antara lain metanol PA (*pro analysis*), aseton PA, dietil eter PA, n-heksan PA, etil asetat PA, CaCO<sub>2</sub>, garam (NaCl), air, *silica gel* F-254, *aluminium foil*, *plastic wrap*, kertas saring kasar dan halus, kapas, pasir laut, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis) *silica gel* (SiO<sub>2</sub>) F-254, kertas label, kertas tisu dan gas nitrogen (N<sub>2</sub>).

#### 3.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi peralatan untuk ekstraksi dan isolasi, serta peralatan untuk analisa. Alat-alat yang digunakan untuk proses ekstraksi dan isolasi antara lain gunting, timbangan digital, *beakerglass* (ukuran 800 ml, 500 ml, 100 ml), gelas ukur 100 ml, spatula, corong kaca, labu erlenmeyer 250 ml, corong pisah, *rotary vacuum evaporator*, sendok bahan, pipet tetes, kolom kromatografi, statif, dan botol vial/botol sampel 15 ml. Adapun peralatan yang digunakan pada proses analisa antara lain penggaris, *cutter*, pensil, pipa kapiler, pinset, *beakerglass* 50 ml, pipet tetes, Spektrofotometer *UV-Vis* merk Shimadzu 1601, dan instrumen Spektrofotometer (FTIR) *Fourier Transform Infrared*

#### 3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif eksploratif. Analisis dalam penelitian deskriptif hanya dilakukan sampai taraf deskripsi, yaitu menganalisis atau menyajikan data secara sistemik

sehingga lebih mudah dipahami dan disimpulkan, sedangkan penelitian eksploratif bertujuan untuk menemukan sesuatu yang baru berupa pengelompokan suatu gejala atau fakta tertentu. Penelitian deskriptif eksploratif bertujuan untuk menggambarkan suatu variabel, gejala, dan keadaan atau fenomena apa adanya tanpa menguji suatu hipotesis tertentu (Arikunto, 2002). Penelitian eksploratif juga bertujuan untuk menggambarkan suatu keadaan atau fenomena tertentu secara sistematis, faktual dan akurat melalui berbagai sifat dan faktor yang mempengaruhinya (Chusairi, 2013).

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Persiapan Sampel**

Rumput laut coklat *Padina australis* yang baru dipanen dari laut langsung dicuci dengan air laut, lalu dimasukkan ke dalam plastik berwarna hitam kemudian diikat dan dimasukkan ke dalam cool box yang berisikan es batu. Rumput laut diberi perlakuan seperti itu dengan tujuan untuk mempertahankan kualitas rumput laut, agar tidak terkena cahaya matahari secara langsung yang dapat merusak pigmen dalam rumput laut. Setelah sampai di laboratorium, langsung diberi perlakuan kepada sampel.

Sebelum dilakukan proses ekstraksi, sampel rumput laut coklat *Padina australis* dibawa ke dalam ruang gelap dan dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan sampel dari kotoran, serta memilah sampel agar tidak tercampur dengan spesies rumput laut lain. Selanjutnya sampel dikering anginkan dengan cara diletakkan di atas kertas koran di dalam ruang gelap untuk mengurangi air pada permukaan sampel.

### 3.4.2 Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah salah satu cara ekstraksi atau penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut atau cairan penyari yang akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Pada saat perendaman, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan konsentrasi cairan di dalam dan di luar sel sehingga zat aktif yang ada di dalam sitoplasma yang konsentrasinya lebih pekat akan didesak keluar dan terlarut dalam cairan penyari. Salah satu keuntungan menggunakan metode maserasi yaitu lama perendamannya dapat diatur (Poersul, 2010).

Sampel rumput laut coklat *Padina australis* dipotong-potong dengan ukuran  $\pm 1 \text{ cm}^2$  untuk memperluas permukaannya, sehingga memaksimalkan proses ekstraksi, kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dihaluskan menggunakan mortar dan alu sambil ditambahkan  $\pm 0,5 \text{ g CaCO}_3$  sebagai agen penetral. Sampel yang telah halus dimasukkan ke dalam *beakerglass* 800 ml yang telah dibungkus dengan *aluminium foil* dan ditambahkan pelarut metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) dan aseton ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) dengan perbandingan 7:3 (v/v) sebanyak 300 ml kemudian ditutup rapat menggunakan *plastic wrap*, dan dilapisi dengan *aluminium foil*. Selanjutnya sampel didiamkan selama 24 jam di dalam ruang gelap, kemudian disaring menggunakan kertas saring kasar dan halus. Proses maserasi diulang sekali lagi dengan cara yang sama dengan lama waktu 12 jam untuk memaksimalkan ekstraksi pigmen.

### 3.4.3 Fraksinasi dan Evaporasi

Proses selanjutnya adalah fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan fraksi pigmen yang terkandung dalam filtrat. Fraksinasi dilakukan dengan penambahan dietil eter ( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ ), saturasi garam, dan air secara berurutan pada

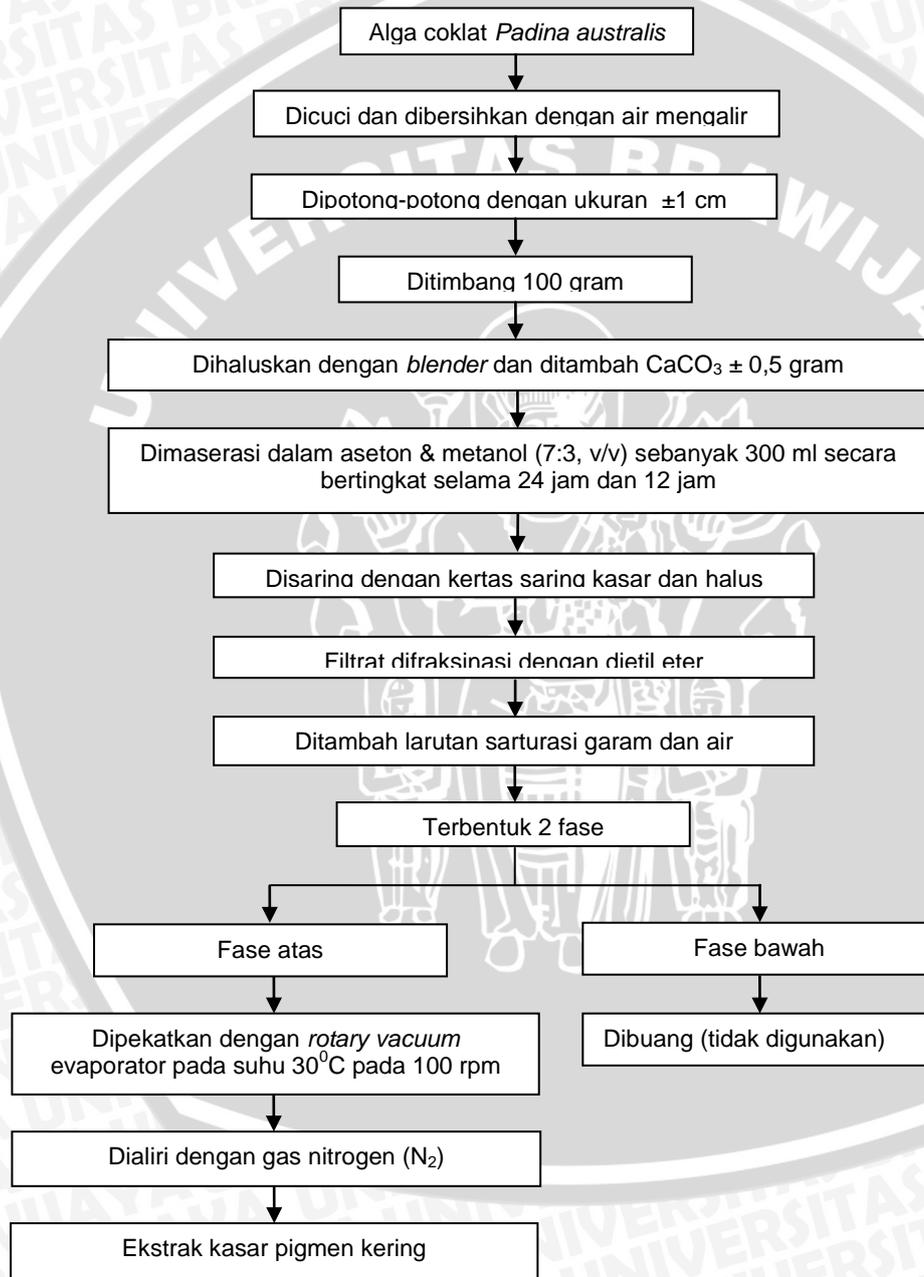
filtrat hasil ekstraksi di dalam corong pisah, sehingga ekstrak kasar pigmen terangkat ke atas oleh dietil eter dan terbentuk dua fase, yaitu fase atas dan fase bawah. Fase atas adalah fraksi yang mengandung ekstrak kasar pigmen yang terlarut dalam dietil eter, sedangkan fase bawah adalah fraksi yang terdiri dari campuran saturasi garam, air dan pelarut yang digunakan dalam proses maserasi yang dilakukan sebelumnya. Menurut Yuliasih *et al.*, (2013) proses fraksinasi dapat memisahkan fase atas dan fase bawah dengan prinsip *like dissolves like* yaitu pelarut polar akan melarutkan zat terlarut yang bersifat polar dan pelarut non polar akan melarutkan zat terlarut yang bersifat non polar.

Fase bawah dari proses fraksinasi tidak digunakan, sedangkan fase atas ditampung di dalam labu erlenmeyer, kemudian dievaporasi atau dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 30 °C dengan kecepatan 100 rpm selama 60 menit untuk menguapkan pelarut (dietil eter). Hasil pemekatan berupa ekstrak kasar (*crude*) ditampung di dalam botol sampel, kemudian dialiri dengan gas nitrogen (N<sub>2</sub>) untuk menguapkan sisa pelarut yang masih tertinggal dalam ekstrak kasar. Botol sampel ditutup dengan *plastic wrap* dan dibungkus dengan *aluminium foil* kemudian disimpan di dalam *freezer*. Prosedur ekstraksi dan fraksinasi alga merah dapat dilihat pada Gambar 11.

#### 3.4.4 Isolasi Pigmen

Isolasi pigmen rumput laut coklat *Padina australis* dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom. Kromatografi kolom adalah proses pemisahan fraksi berdasarkan perbedaan distribusi campuran komponen antara fase gerak dan fase diam. Fase diam adalah pengisi kolom di mana fase gerak akan mengalir. Setiap senyawa memiliki koefisien yang berbeda terhadap fase gerak dan fase diam. Senyawa yang berinteraksi lemah dengan fase diam akan bergerak lebih cepat melalui fase diam, sedangkan senyawa dengan interaksi

yang kuat dengan fase diam akan bergerak sangat lambat (Noviyanti, 2010). Dalam penelitian ini digunakan *normal phase*, yaitu penggunaan fase diam yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar dengan fase diam *silica gel* ( $\text{SiO}_2$ ) F-254 yang bersifat polar dan fase gerak campuran antara n-heksan ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ) dan etil asetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ) yang cenderung bersifat non polar.



**Gambar 11.** Prosedur ekstraksi dan fraksinasi alga coklat *Padina australis*. (Pangestuti *et al.*, 2007).

Tahap pertama dalam isolasi pigmen menggunakan metode kromatografi kolom adalah preparasi kolom kromatografi. *Silica gel* F-254 ditimbang sebanyak 40 gram kemudian dilarutkan dalam 200 ml fase gerak dari campuran n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 8:2 (v/v) di dalam *beakerglass* kemudian ditutup dengan *plastic wrap* untuk meminimalkan penguapan fase gerak. Selanjutnya *silica gel* dan fase gerak dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam dengan kecepatan 300 rpm agar tidak terbentuk gelembung udara di dalam kolom kromatografi yang dapat menyebabkan pecahnya *silica gel* (fase diam).

Sementara itu, kolom kromatografi dipasang pada statif dan diisi dengan gulungan kapas yang telah dibasahi dengan fase gerak kemudian dipadatkan di dasar kolom kromatografi dengan bantuan lidi. Pemberian kapas bertujuan untuk menahan fase diam agar tidak keluar melalui kran kolom kromatografi. Selanjutnya kolom kromatografi diisi dengan fase gerak n-heksan dan etil asetat (8:2, v/v) sampai setengah panjang kolom kromatografi untuk membasahi bagian dalam kolom kromatografi. Bubur *silica gel* dimasukkan ke dalam kolom kromatografi sedikit demi sedikit dengan bantuan sendok dalam posisi kran kromatografi terbuka, sambil terus diaduk agar tidak terdapat gelembung udara. Setelah seluruh bubuk *silica gel* dimasukkan, kran kromatografi ditutup kembali. Kolom diketuk-ketuk menggunakan bola hisap atau alat pemukul lainnya agar fase diam benar-benar padat dan permukaannya rata. Hal ini sesuai dengan pendapat Sudarmadji *et al.*, (2007) yang menyatakan bahwa pada pengisian kolom kromatografi dilakukan dengan menuangkan serbuk fase diam (bahan adsorben, resin atau gel) ke dalam kolom yang bagian dasarnya sudah ditutup sampai mencapai ketinggian yang dikehendaki, kemudian kolom diketuk-ketuk agar gelembung udara keluar dan isi kolom tersebar merata. Selanjutnya kolom kromatografi dibiarkan selama semalam ( $\pm 12$  jam) untuk memastikan *silica gel*

benar-benar padat. Pada saat didiamkan, mulut kolom dan ujung kran kolom kromatografi ditutup menggunakan *plastic wrap* untuk meminimalkan penguapan fase gerak. Batas atas fase diam ditandai untuk mengetahui padat atau tidaknya fase diam di dalam kolom. Fase diam yang belum padat diketahui dengan turunnya permukaan fase diam, terdapat gelembung udara, terbentuk retakan atau lapisan-lapisan dalam *silica gel*. Apabila fase diam belum padat, maka preparasi kolom kromatografi harus diulangi mulai dari awal.

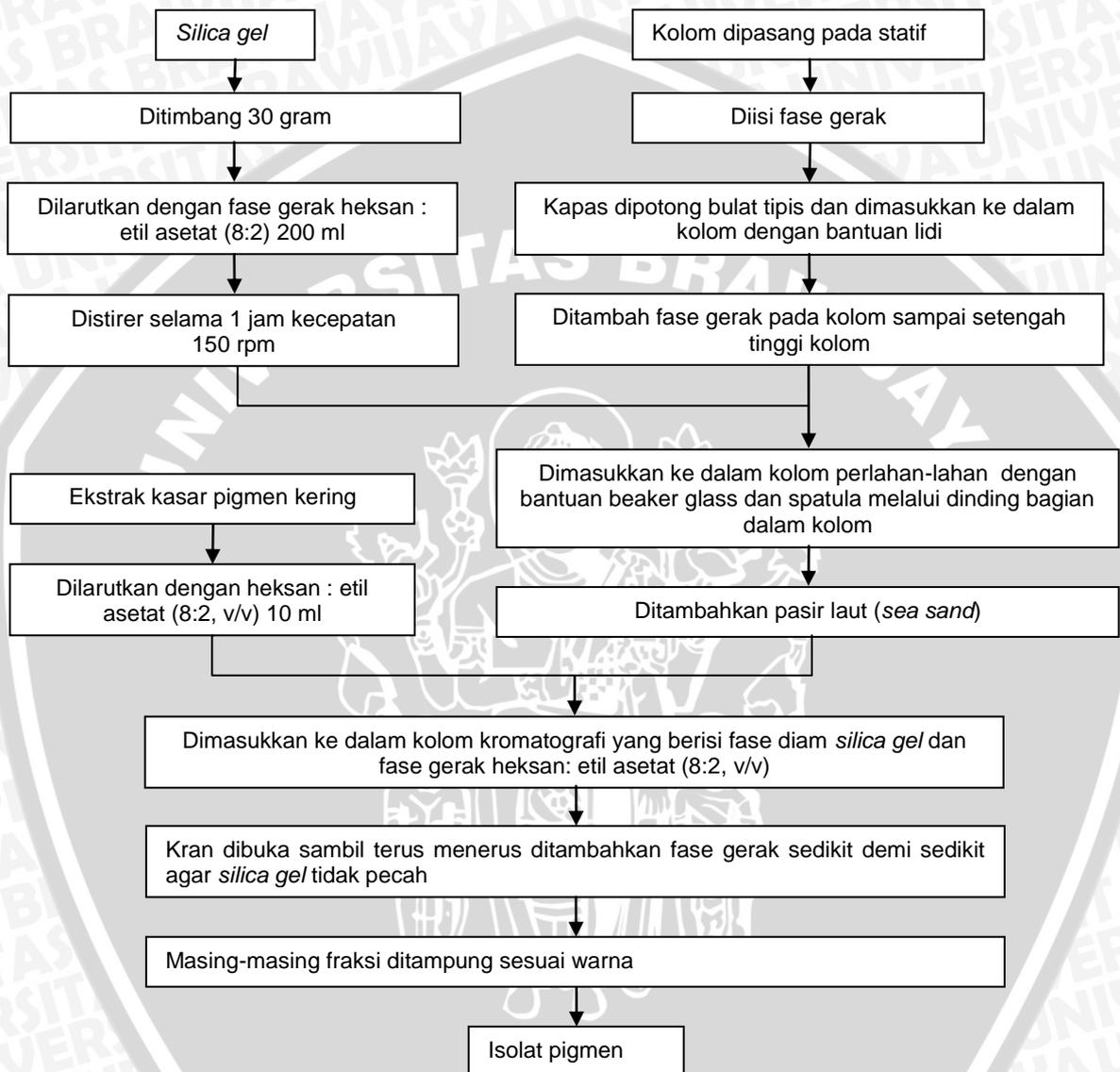
Setelah kolom kromatografi didiamkan selama semalam, dimasukkan pasir laut ke dalam kolom kromatografi sebanyak  $\pm 3$  gram, kemudian diketuk-ketuk untuk meratakan permukaannya. Selanjutnya fase gerak di dalam kolom dikurangi volumenya sampai permukaan fase gerak mendekati permukaan pasir laut. Ekstrak kasar sampel dilarutkan dengan 10 ml fase gerak n-heksan dan etil asetat (8:2, v/v) kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Setelah itu kran kolom dibuka dan ditambahkan fase gerak secara rutin dan berkesinambungan sampai terbentuk pita-pita warna di dalam fase diam. Fraksi-fraksi warna yang keluar ditampung dalam botol vial dan dikelompokkan sesuai dengan warnanya. Prosedur isolasi pigmen menggunakan kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 12.

### 3.5 Identifikasi Komponen Pigmen

#### 3.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu metode identifikasi Komponen pigmen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT dengan fase diam *silica gel* F-254, sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan dan aseton (7:3, v/v). Plat KLT dipotong dengan ukuran  $1 \times 5$  cm kemudian dibuat garis melintang di kedua ujung plat pada permukaan *silica gel*. Garis pertama dibuat pada jarak 1 cm dari tepi plat KLT untuk menunjukkan batas

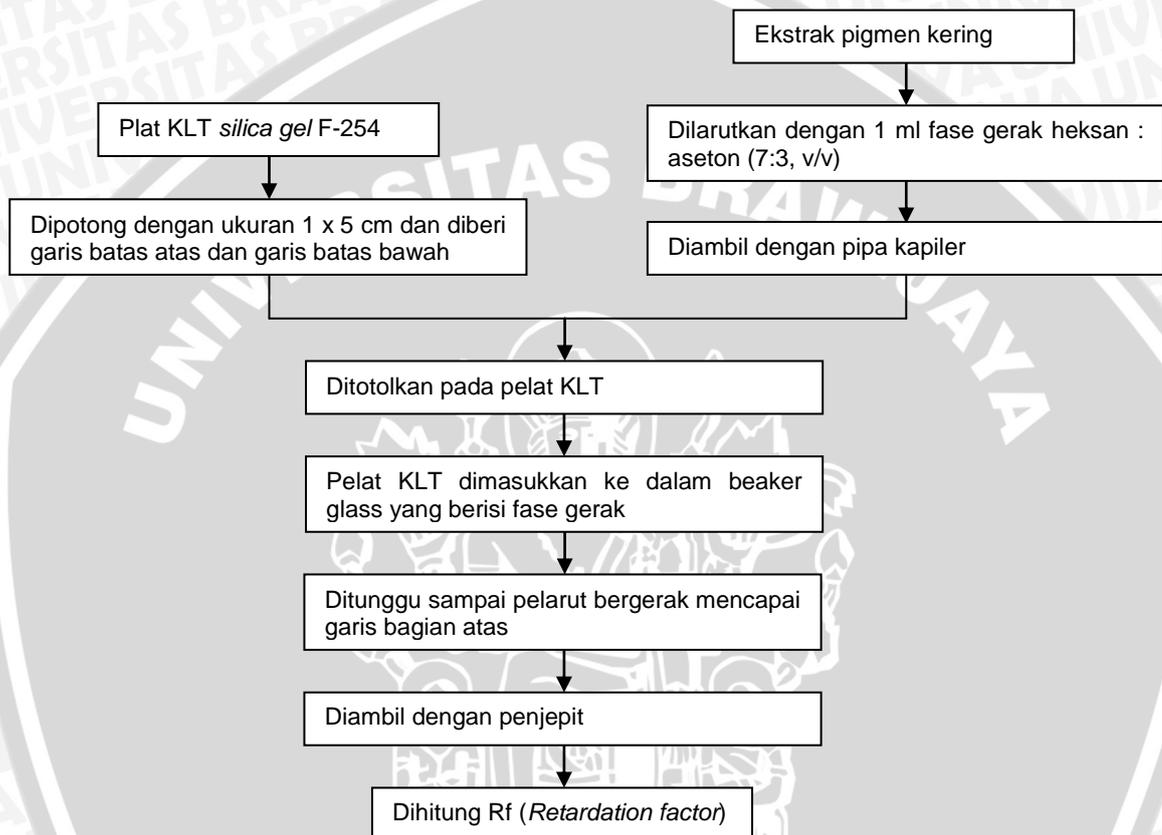
bawah atau posisi awal fraksi warna ketika ditotolkan, dan garis ke dua dibuat pada ujung lainnya dengan jarak 0,5 cm dari tepi plat KLT untuk menunjukkan batas atas atau batas jarak yang ditempuh oleh fase gerak.



**Gambar 12.**Prosedur isolasi pigmen dengan kromatografi kolom (Pangestuti *et al.*, 2007).

Isolat warna dari hasil kromatografi kolom yang diduga sebagai pigmen klorofil a misalnya diambil secukupnya menggunakan pipa kapiler kemudian ditotolkan tepat pada garis batas bawah pada plat KLT. Selanjutnya plat KLT dimasukkan ke dalam  $\pm 5$  ml fase gerak di dalam *beaker glass* dan ditunggu hingga fase gerak bergerak mencapai garis batas atas. Plat KLT diambil

menggunakan pinset, kemudian bercak warna yang muncul pada plat KLT diamati dan dihitung nilai Rf-nya. Dilanjutkan dengan prosedur yang sama untuk kesemua pigmen yang diamati yaitu Klorofil b, fukosantin dan  $\beta$ -karoten. Prosedur identifikasi komponen pigmen dengan kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 13.

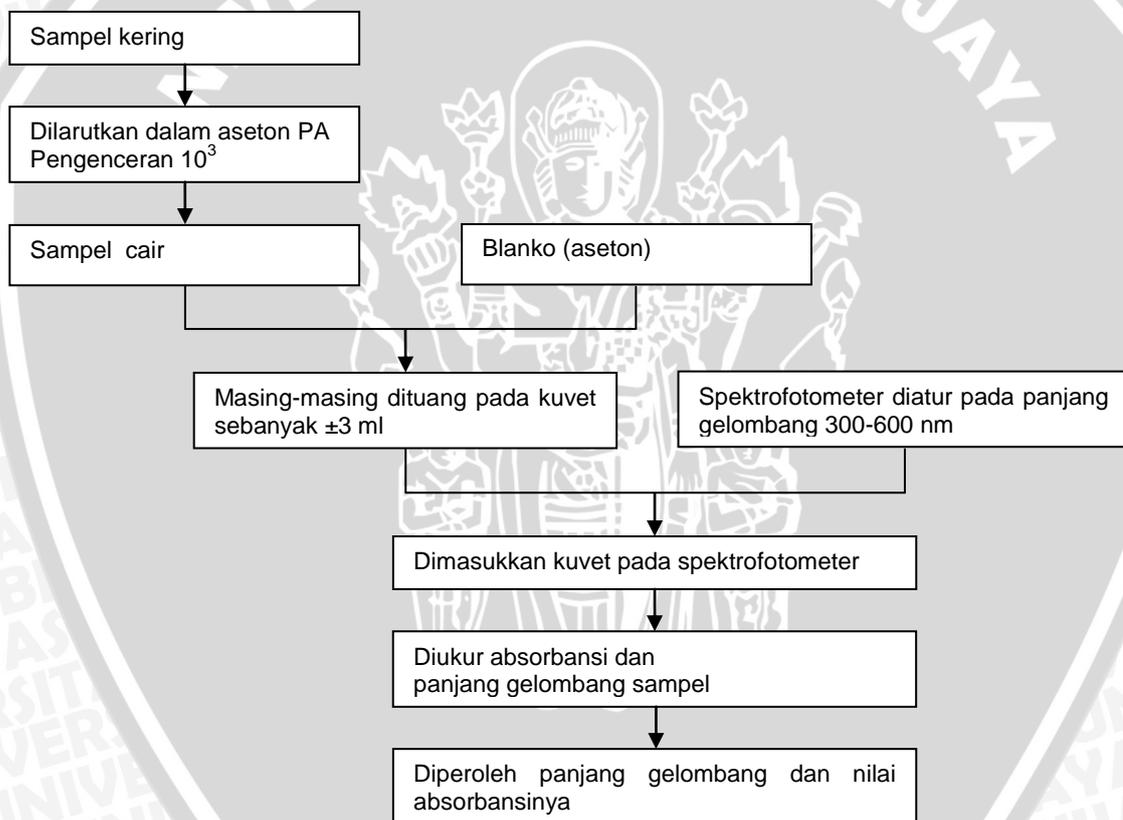


**Gambar 13.** Prosedur identifikasi Pigmen  $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin dengan kromatografi lapis tipis (Pangestuti *et al.*, (2007).

### 3.5.2 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengidentifikasi pigmen-pigmen berdasarkan panjang gelombang dan nilai absorbansinya. Isolat warna yang diketahui sebagai pigmen  $\beta$ -karoten, klorofil a dan b serta fukosantin berdasarkan warna dan nilai Rf yang dari proses KLT terlebih dahulu dikeringkan dengan dialiri menggunakan gas nitrogen ( $N_2$ ). Isolat warna yang telah kering diencerkan menggunakan aseton PA sampai pengenceran  $10^4$ , kemudian

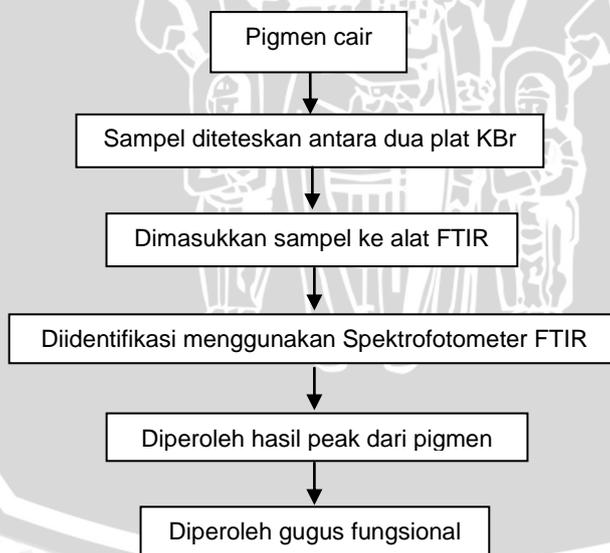
dimasukkan ke dalam instrumen spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1601 dan diuji pada kisaran panjang gelombang 300-600 nm, sehingga diketahui pola spektra dan nilai absorbansi maksimal dari isolat warna yang diuji. Pola spektra dan nilai absorbansi pada puncak-puncak yang tertinggi dibandingkan dengan pola spektra dan nilai absorbansi maksimal  $\beta$ -karoten dari penelitian Jeffrey *et al.*, (1997) untuk mengetahui apakah fraksi warna yang diuji tersebut merupakan pigmen  $\beta$ -karoten, klorofil a dan b serta fukosantin. Prosedur analisa panjang gelombang dan absorbansi pigmen pigmen tersebut dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 14.



**Gambar 14.** Prosedur Analisa Pigmen  $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin dengan Spektrofotometer UV-Vis (Jenie *et al.*, 1997).

### 3.5.3 Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Spektrofotometer FTIR ini digunakan untuk mengetahui gugus fungsi dari pigmen  $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin. Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk analisa sampel berupa padatan, cairan dan gas. Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transform Fourier untuk mendeteksi dan menganalisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FTIR adalah Interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisa frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari penransmisian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energy, panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ). Prosedur Spektroskopi FTIR dapat dilihat pada gambar 15.



**Gambar 15.** Prosedur Analisa gugus fungsi dari Pigmen  $\beta$ -karoten, Klorofil a dan b serta Fukosantin dengan Spektrofotometer FTIR

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Data Hasil Pengamatan

Data hasil identifikasi komponen pigmen dari isolat rumput laut coklat *Padina Australis* dengan Kromatografi kolom, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan Spektrofotometri UV-Vis dapat dilihat pada tabel 12.

**Tabel 12.** Hasil Isolasi dan Identifikasi Komponen Pigmen Rumput Laut coklat *Padina australis*

Uji identifikasi	Alat	Hasil	Literatur																								
Kromatografi kolom	Kromatografi Kolom	Hasil isolasi pada kromatograi kolom menghasilkan 33 botol vial dengan ukuran 30 ml																									
		Isolat dengan warna kuning pekat pada botol vial ke 4 sampai ke 6	Pigmen $\beta$ -karoten berwarna merah kekuningan. Yudiati <i>et, al</i> (2011)																								
		Isolat dengan warna biru pekat pada botol vial ke 14 sampai 16	Menurut Pramesti (2013) klorofil a berwarna hijau biru																								
		Isolat dengan warna hijau pekat pada botol vial ke 24 sampai 25	sedangkan untuk klorofil b berwarna hijau																								
		Isolat dengan warna orange pekat pada botol vial 30 dan 31	Fukosantin adalah salah satu pigmen yang berwarna orange (Mufti <i>et al.</i> , 2013)																								
Kromatografi Lapis Tipis	Plat KLT	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">B-karoten</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,91</td> <td>0,8</td> <td>0,97</td> </tr> <tr> <th colspan="3">Klorofil a</th> </tr> <tr> <td>0,6</td> <td>0,62</td> <td>0,57</td> </tr> <tr> <th colspan="3">Klorofil b</th> </tr> <tr> <td>0,51</td> <td>0,48</td> <td>0,54</td> </tr> <tr> <th colspan="3">fukosantin</th> </tr> <tr> <td>0,28</td> <td>0,26</td> <td>0,26</td> </tr> </tbody> </table>	B-karoten			0,91	0,8	0,97	Klorofil a			0,6	0,62	0,57	Klorofil b			0,51	0,48	0,54	fukosantin			0,28	0,26	0,26	Menurut Yudiati <i>et, al</i> (2011), nilai rf dari B-karoten adalah 0,8-1,0 Menurut Pramesti (2013) nilai rf dari Klorofil a adalah 0,57-0,64 Menurut Pramesti (2013) nilai rf dari Klorofil b adalah 0,42-0,56 Menurut Zaelani dan Hartati (2014) nilai rf dari fukosantin adalah
B-karoten																											
0,91	0,8	0,97																									
Klorofil a																											
0,6	0,62	0,57																									
Klorofil b																											
0,51	0,48	0,54																									
fukosantin																											
0,28	0,26	0,26																									

Spektrofotometer UV-Vis	Spektrofotometer UV-Vis Cary 50 conc	β-karoten (nm)			0,25-0,28 Khotimah <i>et al.</i> , (2013), - β-karoten memuncak pada kisaran 450-470 nm - klorofil a puncaknya sekitarnya 430 dan 660 nm - klorofil b puncaknya sekitar 450 nm dan 645 nm
		453.0	427.1	480.0	
		Klorofil a (nm)			
		416.0	669.0	407.1	
		Klorofil b (nm)			
		449.0	656,1	478.0	
		Fukosantin (nm)			Wijayanti (2010), fukosantin pada panjang gelombang 450 nm dan 465 nm.
		466.0	449.0	453.0	
Fourier Transform Infrared (FTIR)	FTIR 1000 Scimitar Series	Beta Karoten			Kushwaha et al, 2014 CH <sub>2</sub> → 1425, 1426, 1424 Cincin β-Ionone β Karoten → 1366-1367 Sidik jari → 701.53 dan 670.85 Hutajulu <i>et al.</i> , 2008 -CH <sub>3</sub> → 2940, 1455, 1380 Hutajulu <i>et al.</i> , 2008 -CHG → 2750, 2680, dan 1650 cm <sup>-1</sup> Haugan <i>et al.</i> , (1992) OH → 3483 CH → 3030-2856 allenik → 1930 CH <sub>2</sub> → 1607, 1576, 1530, 1471, 1456 C-O → 1335, 1261, 1245 C=C → 1201, 1175-1157, 1071, 1053, 958
		N-H → 3462.945			
		C-H → 2925.813			
		C=O, ester → 1741.424			
		CH <sub>2</sub> → 1464.358			
		C-H → 741.956			
		Klorofil a			
		N-H → 3443.984			
		-CH <sub>3</sub> → 2924.984, 1464.223, 1379.940			
		C-H (alkana) → 2853.347			
C=O, Ester → 1711.349					
C-O-H → 1048.626					
Klorofil b					
OH → 3748.987					
N-H → 3444.480					
C=O → 1731.689					
C-H-O → 2923.341, 2853.383 dan 1648.338					
Fukosantin					
OH → 3461.056					
CH → 2824.127					
allenik → 1929.730					
CH <sub>2</sub> → 1525.912, 1460.787 dan 1366.997					
C-O → 1262.671					
C=C → 1163.912, 965.961					
Nilai Rendemen		B-karoten 0,0001 % ± 0,00000000126 Klorofil a 0,000203 % ± 0,000000000401			

Klorofil b  
0,000296 % ±  
0,000000000163  
Fukosantin  
0,000128 % ±  
0,000000000071

---

## 4.2 Pembahasan

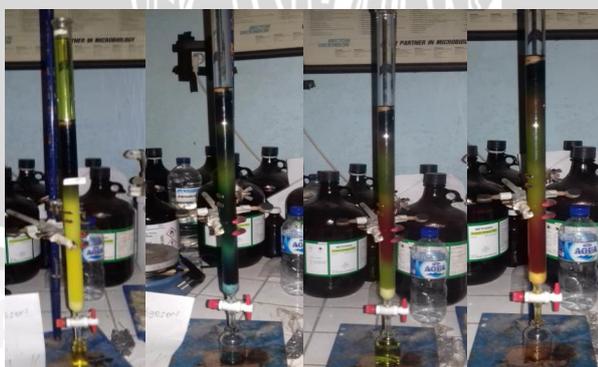
### 4.2.1 Isolasi Pigmen

Pada Isolasi pigmen yang ada di dalam rumput laut *Padina australis* menggunakan metode Kromatografi kolom. Pada metode kromatografi kolom sendiri berfungsi untuk memisahkan komponen senyawa pigmen-pigmen yang ada di dalam *Padina australis*. Kromatografi kolom ini menggunakan prinsip *normal phase*, yaitu fase diam yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar. fase diam yang digunakan adalah silika gel f-254 ( $\text{SiO}_3$ ) dengan ukuran silika 60 mesh. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ) dan etil asetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_6$ ) dan dengan perbandingan larutan berturut-turut 8:2 v/v; 7:3 v/v; 6:4 v/v; dan 5:5 v/v.

Pada fase diam menggunakan silika gel yang mempunyai sifat polar sehingga dijadikan sebagai fase diam. Menurut Susiana (2010), silika gel F-254, F sendiri melambangkan Fluorescence dan 254 adalah panjang gelombang dengan satuan nm. Silica gel dapat membentuk ikatan hidrogen, karena mempunyai permukaan terikat gugus hidroksil. Sedangkan pada Fase gerak yang digunakan adalah N-heksan mempunyai sifat non polar dan Etil asetat sendiri lebih polar karena mempunyai sifat semi polar. N-heksan dapat melarutkan senyawa pigmen yang bersifat non polar sedangkan etil asetat dapat melarutkan senyawa pigmen yang lebih polar. Gabungan antara keduanya menghasilkan fase gerak yang memiliki sifat yang bisa disesuaikan, semakin besar perbandingan konsentrasi N-heksan dibandingkan dengan etil asetat maka sifat fase gerak itu akan lebih non polar dan begitu pula sebaliknya bila etil

asetat semakin besar perbandingannya maka sifat fase gerak akan ke arah polar. Lenny dan Zuhra (2005), menyebutkan bahwa pemilihan fase gerak (eluen) sebaiknya dimulai dari pelarut yang tidak polar seperti N-heksan dan selanjutnya dilakukan peningkatan kepolarannya dengan etil asetat atau pelarut yang lebih polar lainnya.

Pada isolasi ekstrak kasar *Padina australis* dengan kromatografi kolom yang akan keluar terlebih dahulu adalah senyawa pigmen yang bersifat nonpolar karena senyawa ini memiliki keterkaitan lebih lemah dengan fase diamnya yang bersifat polar. Hal ini sesuai dengan penjabaran diatas, dan senyawa yang bersifat lebih polar akan berurutan keluarnya setelah polar, sesuai dengan fase gerak bersifat polar yang akan selalu ditingkatkan perbandingannya. Senyawa polar akan lebih lambat keluar dibandingkan non polar karena memiliki interaksi yang lebih kuat dengan fase diamnya dan sejalan dengan fase gerak yang lebih polar ditambahkan perbandingannya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Noviyanti (2010), bahwa senyawa yang berinteraksi lemah dengan dengan fase diam akan bergerak lebih cepat memalalui fase diam, sedangkan senyawa dengan interaksi yang kuat dengan fase diam akan bergerak sangat lambat. Proses isolasi senyawa pigmen dengan metode kromatografi kolom dapat dilihat pada gambar 16.



(1) (2) (3) (4)  
**Gambar 16.** Isolasi pigmen dengan kromatografi kolom  
(1)  $\beta$ -karoten; (2) Klorofil a; (3) Klorofil b; (4) Fukosantin

pada gambar 16 dapat dilihat fraksi atau pita-pita yang terbentuk memunculkan warna-warna sesuai dengan tingkat kepolaran masing-masing. Dimulai dari fraksi atau warna kuning yang muncul terlebih dahulu dengan perbandingan larutan fase gerak adalah 8:2 yang diduga adalah pigmen  $\beta$ -karoten. Hal ini didukung dengan pernyataan Yudiati (2011), pada fraksinasi terlihat bahwa  $\beta$ -karoten membentuk lapis tunggal berwarna merah kekuningan. Lalu setelah itu warna biru pekat yang keluar dengan perbandingan konsentrasi fase gerak adalah 7:3 yang diduga pigmen klorofil a. Setelah warna biru pekat, yang muncul adalah warna hijau pekat dan diduga sebagai pigmen klorofil b. Menurut Pramesti (2013), pada hasil identifikasinya menunjukkan warna hijau biru mengandung klorofil a dan warna hijau mengandung klorofil b. Warna yang keluar selanjutnya adalah warna orange pekat yang diduga sebagai pigmen fukosantin, hal ini didukung oleh Mufti *et al.*, (2013) Fukosantin merupakan salah satu jenis karotenoid yang berwarna orange. Menurut Limantara dan Heriyanto (2010) klorofil a, klorofil c, isomer trans fukosantin, isomer *cis* fukosantin,  $\beta$ -kriptoxantin, zeaxantin, violaxantin, fucoxantol, klorofil a, klorofil a', feofitin a, feofitin a', dan  $\beta$ -karoten merupakan pigmen yang ditemukan pada hampir semua rumput laut coklat.



(1) (2) (3) (4) (5)

**Gambar 17.** hasil isolasi ekstrak kasar *Padina australis*

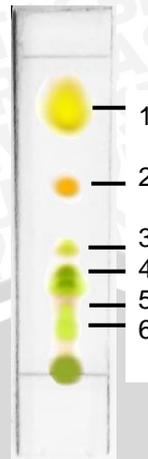
(1) fase antara; (2) beta karoten; (3) klorofil a; (4) klorofil b; dan (5) fukosantin

Berbagai warna-warna keluar ditampung di dalam botol vial dengan ukuran 30 ml. Botol-botol tersebut diisi sesuai dengan warna, setiap warna

berbeda ditampung di botol yang berbeda pula. Lalu semua botol diberi penomoran sesuai dengan urutan warna yang keluar. Dari hasil isolasi didapatkan 32 botol dengan sampel pigmen yang berwarna kuning ada 3 botol, warna biru hijau pekat 3 botol, isolat yang berwarna hijau pekat 2 botol dan isolat yang berwarna orange ada 2 buah. Hasil isolat yang tertampung botol dapat dilihat pada gambar 17.

#### 4.2.2 Identifikasi Pigmen Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

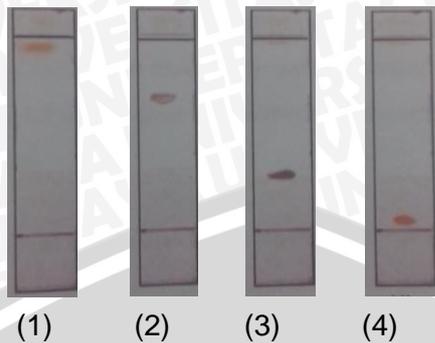
Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan analisa yang digunakan berdasarkan warna total, nilai  $R_f$  dan sifat-sifat kepolaran tiap-tiap pigmen. Uji total warna pada kromatografi lapis tipis (KLT) bertujuan untuk menentukan kemurnian dari masing-masing isolat pigmen pada *Padina australis* hasil dari kromatografi kolom. Pada penelitian ini fase diam yang digunakan yaitu plat KLT *silica gel* F-254. fase diam yang digunakan merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter 10-30 $\mu$ . Semakin kecil ukuran rata-rata dari partikel fase diam, maka semakin baik efisiensi dan resolusinya. dalam fase normal, fase diam yang digunakan yaitu *silica gel*, merupakan silika yang dibebaskan dari air dan memiliki sifat asam (Sari, 2010). Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan dan aseton 7:3 (v/v). Penggunaan fase gerak bertujuan untuk melarutkan senyawa polar, semi polar dan non polar sehingga senyawa yang teridentifikasi akan larut dan tertarik ke atas sesuai tingkat kepolarannya.



**Gambar 18.** Pola Pemisahan Pigmen Ekstrak Kasar *Padina australis* (1) warna kuning; (2) warna orange; (3) warna hijau; (4) warna hijau tua; (5) warna hijau pudar dan (6) warna hijau pudar

Gambar 18. Menunjukkan totolan hasil pemisahan pigmen dari ekstrak kasar menggunakan KLT. Jika dilihat dari warna dan jumlah totolan pigmen penyusun *Padina australis* ada 6 totolan dengan warna kuning terdiri dari 1 totolan sebagai betakaroten, warna orange 1 totolan sebagai klorofil a, hijau terdiri dari 2 totolan sebagai klorofil b, kuning-orange terdiri dari 1 totolan sebagai fukosantin, dan terakhir hijau pudar terdiri dari 1 totolan sebagai klorofil c. Warna-warna diatas digunakan untuk mengidentifikasi pigmen. Pada penelitian Resita *et al.* (2010), didapatkan hasil lima totolan. Urutan warna totolan dari totolan pertama hingga terakhir adalah kuning yang diidentifikasi sebagai karoten, abu-abu diidentifikasi sebagai feofitin a, hijau kebiruan diidentifikasi sebagai klorofil a, hijau kekuningan diidentifikasi sebagai klorofil c dan orange yang diidentifikasi sebagai fukosantin.

Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) pigmen ekstrak kasar selanjutnya dibandingkan dengan hasil KLT untuk masing-masing isolat pigmen hasil KLT dapat dilihat pada gambar 19.



**Gambar 19.** Hasil KLT Pigmen *Padina australis*  
(1)  $\beta$ -karoten; (2) klorofil a; (3) klorofil b; (4) Fukosantin

Jumlah total warna dari masing-masing plat KLT memberikan informasi mengenai kemurnian suatu ekstrak. Apabila pada plat Kromatografi lapis tipis (KLT) mengindikasikan lebih dari satu spot maka menandakan ekstrak yang dihasilkan belum murni dan begitu pula sebaliknya. Dari gambar diatas telah diketahui bahwa totalan warna yang terbentuk pada plat  $\beta$ -karoten hanya terdapat satu spot warna kuning kemudian dihitung dan didapatkan nilai Rf 0,91; 0,8; 0,97, hasil yang diperoleh bila dibandingkan dengan literatur menurut Yudiati *et al* (2011), bahwa hasil totalan tunggal berwarna kuning merah dan nilai Rf nya 0,8-1,0 yang didapat dari fase gerak non polar yaitu  $\beta$ -karoten

Pada plat KLT terdapat satu spot berwarna hijau biru yaitu klorofil a dan perhitungan nilai Rf diperoleh hasil 0,6; 0,62; 0,57. Pada plat KLT terdapat satu spot berwarna hijau pekat yaitu klorofil b dengan nilai Rf yang diperoleh 0,51; 0,48; 0,54. Menurut Pramesti (2013), jika dihasilkan spot berwarna hijau biru dengan nilai Rf 0,57-0,64 maka termasuk kedalam golongan klorofil a. Sedangkan spot dengan warna hijau dengan nilai Rf 0,42-0,56 maka termasuk ke dalam golongan klorofil b.

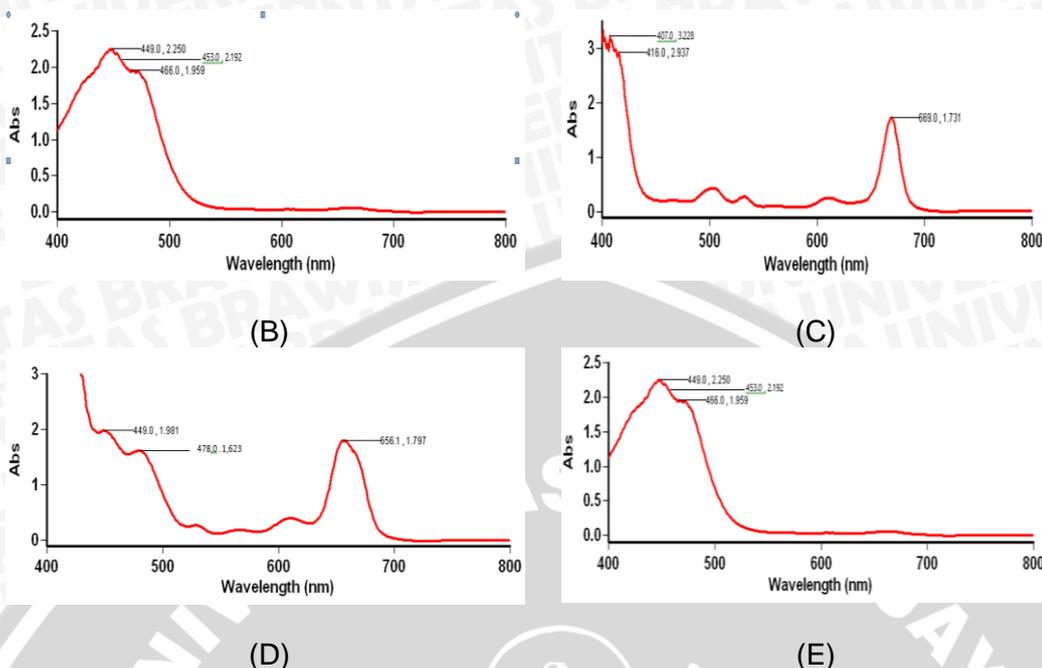
Menurut Zaelani dan Hartati (2014) pigmen fukosantin mempunyai totalan berwarna orange (kuning tua) dengan nilai Rf yaitu antara 0,25-0,28. Hal ini sama dengan 0,25-0,28. Pada plat KLT terakhir terdapat satu spot berwarna

kuning orange. Nilai Rf yang dihasilkan yaitu 0,28; 0,25; 0,26. Dari hasil KLT yang diperoleh membuktikan bahwa pigmen yang dihasilkan yaitu fukosantin murni.

#### 4.2.3 Identifikasi Pigmen dengan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menguatkan hasil identifikasi dengan plat KLT. Alat yang digunakan untuk identifikasi UV-Vis ini adalah Varian Cary 50-Con. Tujuan identifikasi ini untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dan nilai absorbansi masing-masing pigmen. Pelarut yang digunakan untuk identifikasi dengan UV-Vis adalah aseton ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ). Absorbansi adalah perbandingan intensitas cahaya yang diserap dengan intensitas cahaya yang datang. Nilai absorbansi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung didalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam suatu sampel (Neldawati *et al.*, 2013).

Hasil isolasi yang diduga sebagai pigmen betakaroten, fukosantin, klorofil a dan klorofil b diidentifikasi dengan uji spektrofotometer UV-Vis dengan hasil yang tersaji pada gambar 20.



**Gambar 20.** pola Spektra Pigmen Hasil Isolasi Hasil Isolasi dalam Pelarut Aseton (A) Crude kasar Pigmen; (B)  $\beta$ -Karoten; (c) Klorofil a; (D) Klorofil b; (E) Fukosantin

Pada gambar diatas serapan maksimum pada pigmen  $\beta$ -karoten berada pada panjang gelombang 453.0 nm; 427.1 nm dan 480.0 nm. Pada pigmen klorofil a serapan maksimum berada pada panjang gelombang 416,0 nm; 669.0 nm dan 407.0 nm. Serapan maksimum klorofil b berada pada panjang gelombang 656.1 nm; dan 478.0 nm; 449.0 nm. Dan serapan maksimum fukosantin berada ada panjang gelombang 453.0 nm; 449.0 dan 466.0 nm.

Hasil absorbansi panjang gelombang pada *Padina australis* ini memiliki nilai yang hampir sama dengan penelitian Wijayanti (2010), untuk  $\beta$ -karoten yaitu 426 nm, 451 nm dan 476 nm. Klorofil a pada panjang gelombang 414 nm, 432 nm dan 418 nm. Dan fukosantin pada panjang gelombang 450 nm dan 465 nm. Ditambahkan Khotimah *et al.*, (2013), nilai absorbansi  $\beta$ -karoten memuncak pada kisaran 450-470 nm, klorofil a puncaknya sekitar 430 dan 660 nm dan klorofil b puncaknya sekitarnya 450 dan 645 nm.

#### 4.2.4 Identifikasi Pigmen dengan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi pigmen metode FTIR (Fourier Transform Infrared) dengan menggunakan KBr pada sampel rumput laut coklat *Padina australis* yang diduga pigmen beta karoten, klorofil a, klorofil b dan fukosantin. Pada hasil isolasi yang diamati, terdapat perbedaan peak pada tiap tiap isolat yang diduga pigmen. Hasil pengamatan pola spektrum standar isolat crude kasar, pigmen beta karoten, klorofil a, klorofil b dan fukosantin dapat dilihat pada gambar 21.



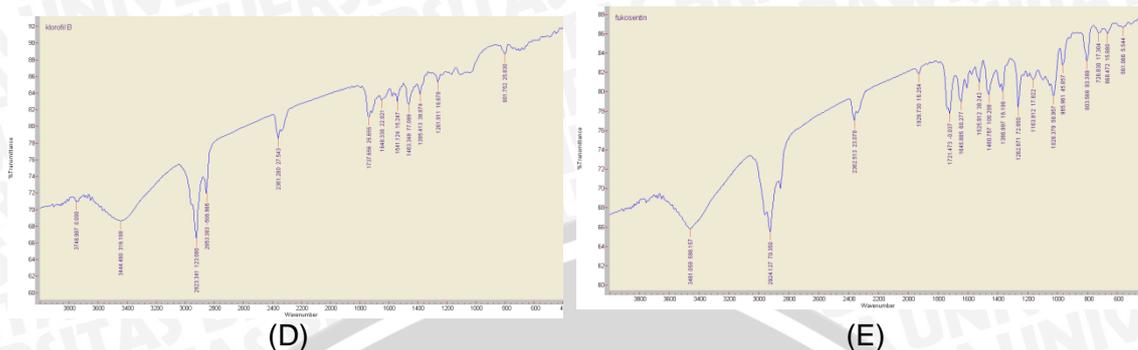
(A)



(B)



(C)



**Gambar 21.** hasil grafik identifikasi pigmen menggunakan FTIR (A) Hasil FTIR dari Crude kasar (B). Hasil FTIR dari isolasi Betakaroten; (C) hasil FTIR dari isolasi Klorofil a; (D) hasil FTIR dari isolasi Klorofil b; dan (E) hasil FTIR dari isolasi fukosantin.

Pada gambar diatas menunjukkan grafik spektrum Infra merah masing-masing pigmen memiliki serapan yang berbeda beda antara satu dengan yang lain. Metode spektrofotometri IR digunakan untuk mengkarakterisasi gugus fungsi yang terkandung didalam suatu sampel. Gugus fungsional memiliki serapan yang khas pada panjang gelombang atau bilangan gelombang (Pratiwi *et al.*, 2015). Sehingga bisa mengetahui isolat yang diduga pigmen pigmen beta karoten, klorofil , klorofil b dan fukosantin dengan melihat gugus fungsi apa yang terkandung didalamnya.

Grafik ekstrak FTIR *crude kasar Padina australis* didapatkan peak yang beragam. Di dalam *crude kasar Padina australis* menunjukkan adanya gugus NH pada panjang peak  $3427.27 \text{ cm}^{-1}$ . lalu Gugus fungsi CH (alkana) didapatkan pada panjang gelombang  $2923.88$  dan  $2854.45 \text{ cm}^{-1}$ , gugus fungsi C=O didapatkan pada panjang gelombang  $1737.74 \text{ cm}^{-1}$ . Lalu pada panjang gelombang  $1641.31$  dan  $1622.02 \text{ cm}^{-1}$  adalah gugus fungsi dari -CHO. Kemudian gugus fungsi N=O (Nitro, R-NO<sub>2</sub>) pada panjang gelombang  $1544.88$  dan  $1514.02 \text{ cm}^{-1}$ . Pada gugus fungsi CH<sub>3</sub> terdapat di panjang gelombang  $1384.79 \text{ cm}^{-1}$ . Gugus fungsi CH<sub>2</sub> dengan intensitas panjang gelombang  $1461.94 \text{ cm}^{-1}$ . Lalu gugus fungsi C-N terdapat di panjang gelombang  $1261.36$ ;  $1155.28$ ;

1095.49 dan 1070.42  $\text{cm}^{-1}$ . Kesemua peak-peak ini terdapat dalam crude karena memang belum dilakukan isoalasi pada crude kasar *Padina australis*. Analisa gugus fungsional crude kasar *Padina australis* tersaji pada tabel 13.

**Tabel 13.** Analisa gugus fungsional Pigmen pada *Padina australis* menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektrofotometer

No.	Gugus fungsi	$V_{\max} (\text{cm}^{-1})$ (A)	$V_{\max} (\text{cm}^{-1})$ (B)	$V_{\max} (\text{cm}^{-1})$ (C)	$V_{\max} (\text{cm}^{-1})$ (D)	$V_{\max} (\text{cm}^{-1})$ (E)
	O-H (alkohol)	-	-	-	3748.987	3461.056
1.	N-H (Stretch)	3427.27	3462.945	3443.948	3444.480	
2.	C-H (Alkana) (Stretch)	2923.88 2854.45	2925.813	2853.347		2824.127
	Allene					1929.730
3.	C=O, ester	1737.74	1741.424	1711.349	1731.659	1721.473
	C=C terkonjugasi					1645.885
	C-O	-	-	1260.820	1261.911	1262.671
4.	-CHO	1641.31, 1622.02	-	-	2923.341, 2853.383, 1648.338	-
5.	N=O (Nitro, R- NO <sub>2</sub> )	1544.88, 1514.02	-	-	1541.124	-
6.	-CH <sub>3</sub>	1384.79	-	2924.984, 1464.223, 1379.940	1463.349, 1385.413	-
7.	CH <sub>2</sub> (alkana)	1461.94	1464.358	-	-	1525.912, 1460.787, 1366.997
8.	C-N (Amina)	1261.36; 1155.28; 1095.49; 1070.42	1271.896,	-	-	-
	C-O-H	-	1122.690,	1048.626	-	-
	C-O-C	-	-	-	-	1028.379
9.	C=H (Alkena) Senyawa Aromatik	916.12; 829.33; 717.47; 655.75	741.956	958.410, 723.255	801.752	1163.912, 965.961
10.	Chloride	605.61; 514.96	-	-	-	-

Keterangan:  $V_{\max} (\text{cm}^{-1})$  tabel korelasi sederhana menurut Pavia *et al.*,(1996)

(A) =  $V_{\max} (\text{cm}^{-1})$  crude kasar *Padina australis* berdasarkan uji FTIR

(B) =  $V_{\max} (\text{cm}^{-1})$  pigmen Beta karoten *Padina australis* berdasarkan uji FTIR

(C) =  $V_{\max} (\text{cm}^{-1})$  pigmen Klorofil a *Padina australis* berdasarkan uji FTIR

- (D) =  $V_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) pigmen klorofil b *Padina australis* berdasarkan uji FTIR
- (E) =  $V_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) pigmen Fukosantin *Padina australis* berdasarkan uji FTIR

Pada gambar grafik FTIR isolat pigmen beta karoten didapatkan peak-peak yang menunjukkan gugus fungsi dari NH dengan panjang peaknya adalah  $3462.945 \text{ cm}^{-1}$ , gugus fungsi C-H dengan intensitas peak  $2925.813 \text{ cm}^{-1}$ , lalu gugus fungsi C=O termasuk gugus fungsi ester dengan intensitas peak  $1741.424 \text{ cm}^{-1}$ , muncul juga gugus fungsi  $\text{CH}_2$  (alkana) pada panjang peak  $1464.358 \text{ cm}^{-1}$ , pada daerah sidik jari muncul gugus fungsi C-H-O di intensitas peak  $1122.69 \text{ cm}^{-1}$  dan juga C=C (alkena) pada panjang peak  $741.956 \text{ cm}^{-1}$ . Hasil ini tidak jauh beda dengan hasil penelitian dari Kushwaha *et al.*, (2014) pigmen beta karoten yang puncak intens di daerah sidik jari berada di  $1654,01$  ,  $1425,17$  ,  $1157,85$  ,  $1107,72$  ,  $1021,09$  dan  $701,53 \text{ cm}^{-1}$ . Intensitas peak perwakilan berikutnya pada sekitar  $1425$ ,  $1426$  dan  $1424 \text{ cm}^{-1}$  muncul karena getaran lentur metilen  $-\text{CH}_2$ .

Dari hasil pembacaan FTIR hasil isolasi kolom diatas didapatkan sampel beta karoten dengan terlihat adanya gugus  $\text{CH}_2$  dan pada daerah sidik jari muncul intensitas peak yang tidak jauh berbeda dengan literatur. Untuk peak-peak lain yang muncul dapat diasumsikan merupakan pengotor yang terkandung dalam sampel yang dimungkinkan karena kemurnian pelarut yang digunakan pada saat isolasi dan ketepatan alat yang berbeda antara satu tempat dengan yang lainnya.

Pada grafik hasil Spektrofotometer Inframerah klorofil a didapatkan intensitas peak sebagai berikut, muncul gugus fungsi NH pada intensitas peak  $3443.948 \text{ cm}^{-1}$ , lalu ada gugus fungsi  $-\text{CH}_3$  pada intensitas peak  $2924.984$ ,  $1464.223$ , dan  $1379.940 \text{ cm}^{-1}$ , muncul gugus fungsi alkana pada panjang peak  $2853.347 \text{ cm}^{-1}$ , senyawa ester C=O pada panjang gelombang  $1711.349 \text{ cm}^{-1}$ , pada daerah sidik jari ada gugus fungsi COH pada panjang gelombang  $1048.626$

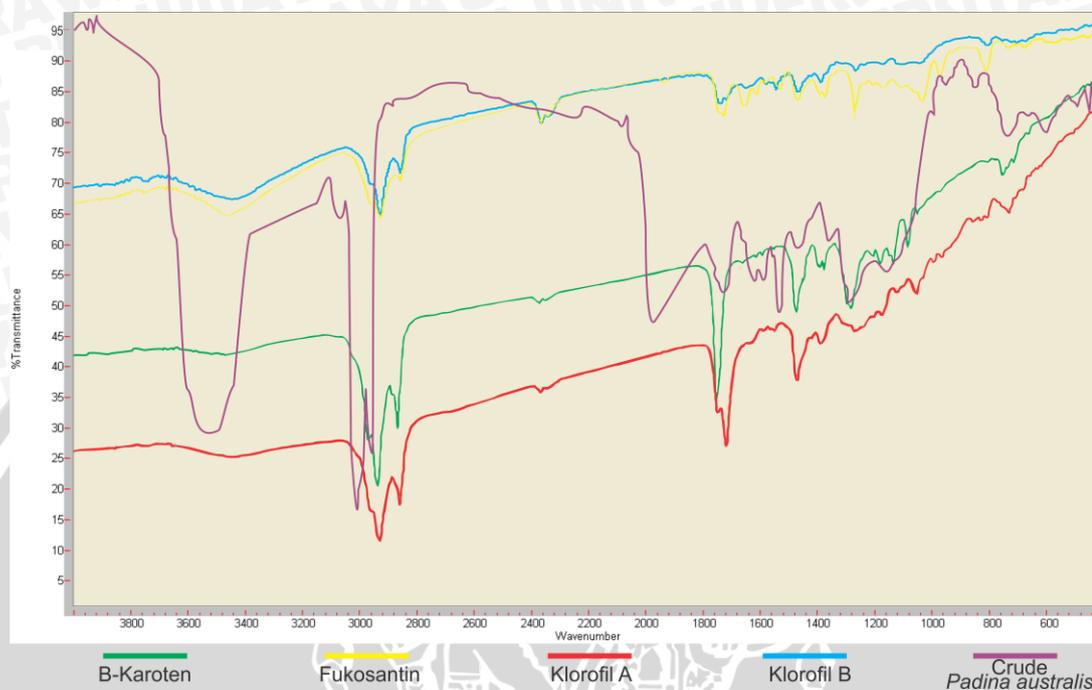
$\text{cm}^{-1}$  dan muncul juga senyawa aromatik di panjang gelombang 958.410, 723.255  $\text{cm}^{-1}$ . Menurut Hutajulu *et al.*, (2008) bahwa klorofil a terdapat serapan pada 2940  $\text{cm}^{-1}$ , 1455  $\text{cm}^{-1}$  dan 1380  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya serapan gugus  $\text{CH}_3$  (gugus metil). Pada klorofil a dibedakan dengan adanya gugus metil pada atom C ketiga. Klorofil adalah molekul yang sangat besar dan terdiri dari empat cincin pirol yang dihubungkan satu dengan lainnya oleh gugus metena ( $\text{CH}=\text{}$ ).

Isolat ini terbukti adalah pigmen klorofil a karena sesuai dengan literatur yang menyebutkan adanya gugus  $\text{CH}_3$  di intensitas peak yang dihasilkan FTIR. Adanya gugus fungsi lainnya yang tidak sesuai adalah pengotor yang muncul di hasil FTIR. Kemungkinan juga hasil isolasi yang terkontaminasi sehingga muncul peak-peak yang tidak sesuai dengan literatur.

Pada grafik hasil FTIR pigmen klorofil b didapat hasil sebagai berikut, muncul senyawa alkohol (OH) dengan intensitas peak 3748.987  $\text{cm}^{-1}$ , gugus fungsi N-H di panjang peak 3444.480  $\text{cm}^{-1}$ , senyawa ester ( $\text{C}=\text{O}$ ) di intensitas peak 1731.689  $\text{cm}^{-1}$ , lalu muncul gugus fungsi C-H-O pada panjang peak 2923.341, 2853.383 dan 1648.338  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini sesuai dengan yang diutarakan Hutajulu *et al.*, (2008), bahwa pada klorofil b terdapat serapan dengan panjang peak 2750, 2680, dan 1650  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya serapan gugus  $-\text{CHO}$ . Pada klorofil b atom C ketiga digantikan dengan gugus aldehyd pada hasilnya juga muncul gugus fungsi yang tidak seharusnya muncul seperti  $-\text{CH}_3$  di panjang peak 1463.349, 1385.413  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini bisa saja terjadi ketika mengisolasi masih tercampur dengan klorofil a belum mendapatkan isolasi murni klorofil b. Munculnya gugus C-O dan senyawa aromatik. Hal ini bisa saja terjadi karena isolat belum sepenuhnya murni atau pada saat pengujian wadah kotor. Bisa jadi alat yang berbeda-beda dari tempat satu dengan tempat lain karena perbedaan jenis alat sehingga mendapatkan hasil yang tidak sama persis.

Berdasarkan hasil spektrofotometer Inframerah untuk isolat pigmen fukosantin didapatkan gugus fungsi OH dengan panjang gelombang 3461.056  $\text{cm}^{-1}$ . Gugus fungsi CH terdapat di panjang peak 2824.127  $\text{cm}^{-1}$ . muncul juga gugus allenik di panjang gelombang 1929.730  $\text{cm}^{-1}$ , hal ini sesuai dengan sesuai dengan penelitian Scuwierter *et al.*, (1969) yang mendeteksi gugus allenik pada sinyal 1956  $\text{cm}^{-1}$  (pellet KBr). Muncul juga gugus C=O (ester) pada panjang gelombang 1721.473 tetapi gugus ini lemah. Gugus  $\text{CH}_2$  muncul pada panjang gelombang 1525.912, 1460.787 dan 1366.997  $\text{cm}^{-1}$ , dan gugus fungsi C-O pada panjang gelombang 1262.671  $\text{cm}^{-1}$ , serta gugus fungsi C=C yang muncul di panjang gelombang 1163.912, 965.961  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini tidak beda jauh pada penelitian Haugan *et al*, (1992) yang mengekstrak pigmen Fukosantin dari *Fucus serratus* muncul gugus fungsi  $\text{CH}_2$  dipanjang gelombang 1607, 1576, 1530, dan 1471, 1456  $\text{cm}^{-1}$ , gugus fungsi C-O pada panjang gelombang 1335, 1261 dan 1245  $\text{cm}^{-1}$  dan pada gugus fungsi C=C muncul di panjang gelombang 1201, 1175-1157, 1071, 1053, dan 958  $\text{cm}^{-1}$ . Ditambahkan oleh Scuwierter *et al.*, (1969) Spektroskopi Inframerah dapat mendeteksi struktur kimia tertentu, terutama untuk hidroksil, acetylenic, allenic dan kelompok keto tidak aktif, yang berada di fucoxanthin dan capsanthin.

Hasil pengujian FTIR pada crude kasar *Padina australis* dan hasil FTIR isolasi pigmen bila di jadikan dalam satu grafik terdapat beberapa peak yang berpotongan satu sama lain. Seperti pada gambar 22.

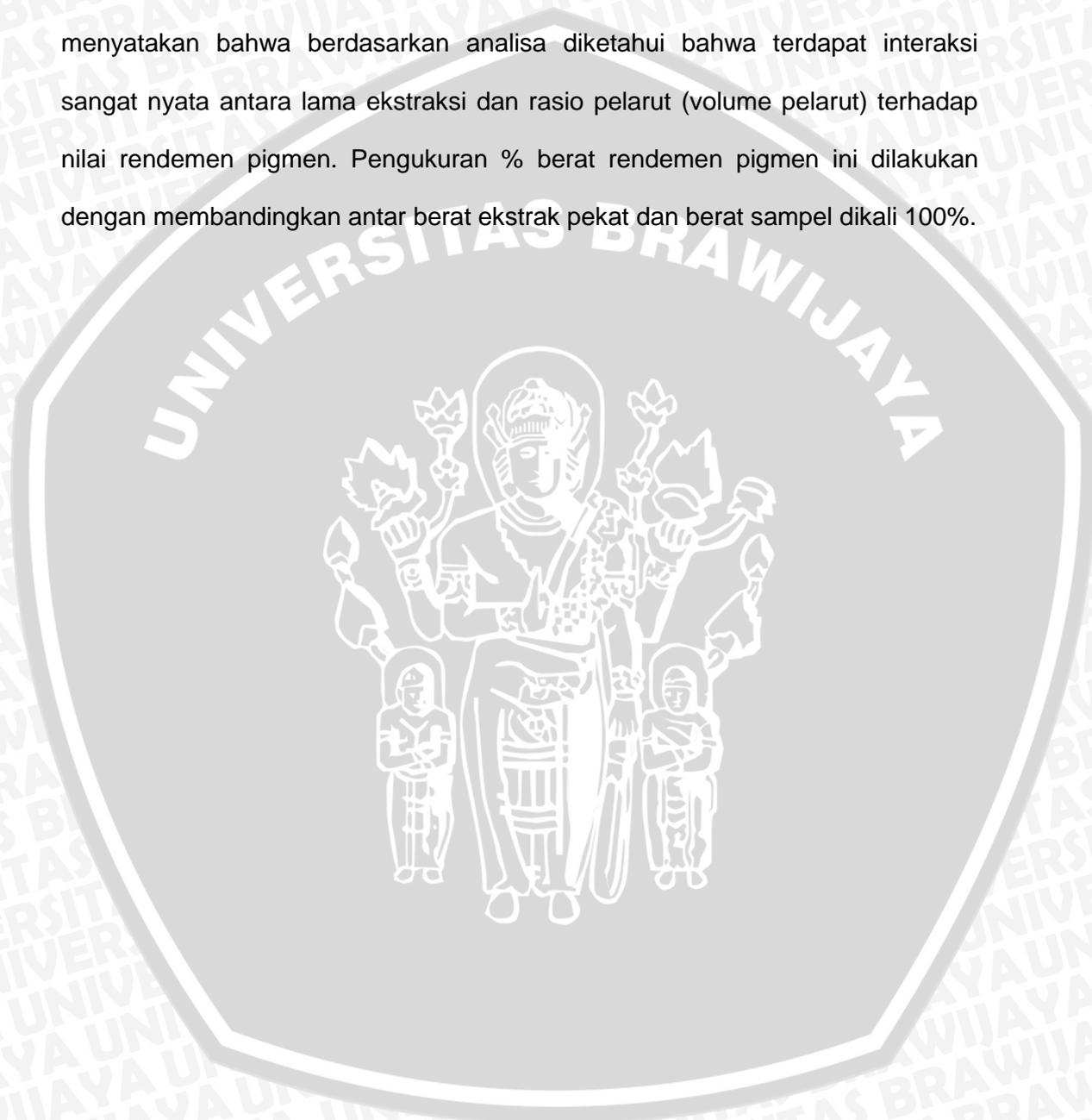


**Gambar 22.** Grafik Keseluruhan hasil FTIR crude kasar *Padina australis* dan isolasi pigmen betakaroten, klorofil a, klorofil b dan fukosantin

#### 4.2.5 Rendemen Pigmen

Perhitungan rendemen ini dilakukan untuk mengetahui berapa besar elektivitas dari penelitian yang dilakukan. Semakin tinggi rendemen yang dilakukan maka akan semakin efektif karena akan semakin banyak ekstrak yang akan didapatkan. Nilai rendemen  $\beta$ -karoten yang didapatkan yaitu  $0,0001 \% \pm 0,00000000126$ , nilai rendemen klorofil a sebesar  $0,000296 \% \pm 0,00000000163$ , nilai rendemen klorofil b sebesar  $0,000203 \% \pm 0,00000000401$ , dan untuk rendemen fukosantin sebesar  $0,000128 \% \pm 0,00000000071$ . Hasil rendemen masing-masing pigmen diperoleh sama. Nilai rendemen tertinggi terdapat pada klorofil a dan yang terendah yaitu  $\beta$ -karoten.

Dalam Khotimah, *et al.* (2013), rendemen mengalami pengurangan akibat dari proses atau prosedur yang dilakukan. Adanya perbedaan rendemen yang didapatkan karena adanya perbedaan kuantitas yang didapatkan pada saat kromatografi kolom. Ditambahkan dalam penelitian Simanjuntak *et al.* (2014), menyatakan bahwa berdasarkan analisa diketahui bahwa terdapat interaksi sangat nyata antara lama ekstraksi dan rasio pelarut (volume pelarut) terhadap nilai rendemen pigmen. Pengukuran % berat rendemen pigmen ini dilakukan dengan membandingkan antar berat ekstrak pekat dan berat sampel dikali 100%.



## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang Identifikasi Komponen Pigmen pada Rumput Laut Cokelat *Padina australis* dengan metode FTIR didapatkan hasil sebagai berikut :

- Hasil penelitian ini didapatkan komponen pigmen dominan yang terdapat pada *Padina australis* terdiri dari  $\beta$ -karoten, Klorofil a, Klorofil b, dan Fukosantin
- Hasil dari *Padina australis* menghasilkan rendemen pigmen untuk  $\beta$ -karoten sebesar 0,0001% , Klorofil a sebesar 0,000203%, Klorofil b sebesar 0,000296%, dan Fukosantin sebesar 0,000128%. Nilai rendemen tertinggi terdapat pada klorofil a dan yang terendah yaitu  $\beta$ -karoten.
- Hasil uji spektrofotometer FTIR diperoleh pada hasil crude kasar  $\text{CH}_2$ , COH dan C=H;  $-\text{CH}_3$ ;  $-\text{CHO}$ ; OH, CH, C=O, dan  $\text{CH}_2$ ; isolat beta karoten terdapat gugus fungsi  $\text{CH}_2$ , COH dan C=H; pada hasil klorofil a didapatkan gugus fungsi  $-\text{CH}_3$ ; pada hasil isolat klorofil b didapatkan gugus fungsi  $-\text{CHO}$ : dan pada hasil isolat fukosantin terdapat gugus fungsi OH, CH, senyawa alenik, C=O,  $\text{CH}_2$ .

### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang dilakukan ini perlu adanya penelitian, lebih dalam lagi membahas tentang seberapa banyak kandungan tiap-tiap pigmen pada *Padina australis* dan pemanfaatan dari tiap-tiap pigmen terutama pigmen klorofilnya agar rumput laut ini bisa dimanfaatkan sebagai penghasil klorofil

## DAFTAR PUSTAKA

- Ai, Nio Song dan Yunia Banyo. 2011. **Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman**. Program Studi Biologi. FMIPA. Universitas SamRatulangi: Manado
- Akbar, M. Andhika. 2012. **Optimasi Ekstraksi *Spent Bleaching Earth* dalam Recovery Minyak Kelapa Sawit**. Fakultas Teknik. Univeritas Indonesia: Depok. [Skripsi]
- Anam, C., Siroudindan K. S. Firdausi. 2007. **Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan spritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR**. Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro. Semarang. Jurnal Berkala Fisika 10 (1): 79-85
- Arifin, ridwan. 2009. **Distribusi Spasial Dan Temporal Biomassa Fitoplankton (Klorofil-A) dan Keterkaitannya Dengan Kesuburan Perairan Estuari Sungai Brantas, Jawa Timur**. Fakultas Perikanan dan ilmu kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor. [Skripsi].
- Arikunto, Suharsimi. 2002. **Metodologi Penelitian**. Penerbit PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Arindah, D. 2010. **Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Daging Buah Pepino (*Solanum muricatum* Aiton) yang Berpotensi sebagai Antioksidan**. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. [Skripsi].
- Balboa, E. M., E. Conde, A. Moure, E. Falque, and H. Dominguez. 2012. **In Vitro Antioxidant Properties of Crude Extacts and Compounds from Brown Algae**. Food Chemistry Review. (138): 1764-1785
- Chemspider. 2015. **Royal Society of Chemistry**. [www.chemspider.com](http://www.chemspider.com) diakses pada tanggal 16 November 2015 pukul 07.00
- Chew Y. L., Lim Y.Y., M. Omar, dan Khoo K. S. 2008. **Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas from two areas in south east Asia**. LWT 41; 1067-1072

- Chusairi, A. 2013. **Health Seeking Behavior Para Pasien Poli Perawatan Paliatif Studi Eksploratif terhadap Lima Pasien Poli Perawatan Paliatif RSUD Dr. Soetomo Surabaya.** Fakultas Psikologi Universitas Airlangga. Surabaya. [Skripsi].
- Daintith, J. 2004. **The fact on file Dictionary of Organic Chemistry. Fact On File, Inc.** New York: 247 pp.
- Day, R. A. dan A. L. Underwood. 1986. **Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Kelima.** Erlangga. Jakarta.
- Diaz-Pulido, G. And L.J. McCook. 2008. **Macroalgae (Seaweeds. The State of the Great Barrie Reef (On-line). Great Barrier Reef Marine Park Authority.** Townsville.
- Erawati, C. M. 2006. **Kendali Stabilitas Betakaroten selama Proses Produksi Tepung Ubi Jalar (Ipomoea Batatas L.)** Institut Pertanian Bogor. [Thesis].
- Fajar, Ahmad, Ratna Ibrahim, Eko Nurcahya Dewi. 2014. **Stabilitas ekstrak kasar pigmen klorofil, beta karoten, dan caulerpin alga hijau (*caulerpa racemosa*) pada suhu penyimpanan yang berbeda**
- Fatimah, S., I. Haryati, A. Jamaludin. 2009. **Pengaruh Uranium terhadap Analisis Thorium Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.** Seminar Nasional V SDM Teknologi Nuklir di Yogyakarta tanggal 5 November 2009: hlm. 573-578.
- Fitriani, Testi Kurnia. 2011. **Kajian Penambahan Ekstrak dan Tepung Wortel terhadap Karakteristik Fisik, Kimia, dan Sensoris Es Krim.** Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret: Surakarta
- Fitrya. 2010. **Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Alga Padina australis Hauck (Dictyotaceae) Jurnal Penelitian Sains Volume 13 Nomer 3(C) 13309.** Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

- Frete, H. D., B. Susanto, B. Prasetyo, dan L. Limantara. 2012. **Karotenoid dari Makroalgae dan Mikroalgae: Potensi Kesehatan, Aplikasi dan Bioteknologi**. J. Teknologi dan Industri Pangan. 23 (2): 221-228
- Geraldino, P. J. L., L. M. Liao and S. M. Boo. 2005. **Morphological Study of the Marine Algal Genus *Padina* (Dictyolales, Phaeophyceae) from Southern Philippines: 3 Species New to Philippines**. *Algae*. 20 (2): 99-112.
- Gross, J. 1991. **Pigments In Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids**. Springer Science+Business Media, LLC. New York: 351 pp.
- Guenther, E. Terjemahan oleh S. Ketaren. 1987. **Minyak Atsiri I**. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Gunawan, Budi dan Azhari, Citra Dewi. 2010. **Karakteristik Spektrofotometri IR dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer Poly Ethelyn Glycol (PEG)**. ISSN : 1979-6870
- Haugan, Jarle Andre, Gerhard Englert, Ernst Glinz, and Synove Liaaen-Jensen. 1992. **Algal Carotenoids. 48.\* Structural Assignments of Geometrical Isomers of Fucoxanthin**. Acta Chem. Scand. 46:389-395
- Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. Penerbit Institut. Teknologi Bandung.
- Hariyano, M. Tahalea, K. Samal dan T. Agam. 2010. **Koleksi Bibit Alga Coklat (*Padina australis*) dengan Metode Rentangan Net**. Balai Budidaya Laut Ambon 1 (1): 1-7.
- Hayani, E. 2007. **Pemisahan Komponen Rimpang Temu Kunci secara Kromatografi Kolom**. *Buletin Teknik Pertanian*. 12 (1):35-37.
- Hidayati, I. K. 2013. **Uji Toksisitas Sari Kulit Kayu Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dan Telaah Fitokimia**. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Malang. [Skripsi].

Hikmah, Maharani Nurul dan Zuliyana, 2010. **Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) dari Minyak Dedak dan Metanol dengan proses esterifikasi dan transesterifikasi.** Universitas Diponegoro: Semarang. 43.[Skripsi].

Hill, M. G. 2003. **Dictionary of Chemistry Second Edition.** McGraw-Hill Companies, Inc. United States of America: 431 pp.

Hutajulu, T. F., Subagia. 2008. **Proses Ekstraksi Zat Warna hijau Klorofil Alami untuk Pangan dan Karakteristiknya.** Balai Besar Industri Argo Bogor. Jurnal Riset Industri vol. 2 no. 1 hal 44-45

Jenie, B. S. L., K. D. Mitrajanty dan S. Fardiaz. 1997. **Produksi Konsentrat dan Bubuk Pigmen Angkak dari *Monascus purpureus* Serta Stabilitasnya Selama Penyimpanan.** *Buletin Teknologi dan Industri Pangan.* **8** (2): 39-46.

Joharman, T. 2006. **Studi Pengaruh Suhu dan Lama evaporasi pada Proses Pemekatan Gelatin.** Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. [Skripsi].

Kushwaha, Kirti, Jyoti Saxena, Brajesh Kumar Tripathi, and Mukesh Kumar Agarwal. 2014. **Detection of carotenoids in psychrotrophic bacteria by spectroscopic approach.** ISSN: 1314-6246. *J. BioSci. Biotech.* **2014**, 3(3): 253-260.

Khotimah, Khusnul, Darius, Bambang Budi Sasmito. 2013. **Uji Aktifitas Senyawa Aktif Alga Coklat (*Sargassum fillipendula*) Sebagai Antioksidan pada minyak ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*).** PS Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. THPi Student Journal, Vol. I No. 1 pp 10-20. Universitas Brawijaya

Komara, A. 1991. **Mempelajari Ekstraksi Oleoresin dan Karakteristik Mutu Oleoresin dari Bagian Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.).** Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. [Skripsi].

Kordi, M.J. 2010. **Forensic and clinical Applications of Solid Phase Extraction.** Humana Press, Inc. Totowa, NJ XII: 370 pp.

Lenny, Sovia dan Zuhra, Cut Fatimah. 2005. **Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah (*Graptophyllum pictum* L. Griff) dengan Metode Uji Brine Shrimp**. Jurnal Komunikasi Penelitian Volume 17 (5) 2005

Limantara, L., dan Heriyanto. 2010. **Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**. *Ilmu Kelautan*. 15 (1): 23-32.

Maeda, H, T. Tsukui, T. Sashima, M.Hosokawadan K. Miyashita. 2008. **Seaweed caretenoid, Fcoxanthin, as a multi-funcional nutrient**. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 17 Suppl (1) hal: 196-199

Maharani, Marita Agusta dan Rizki Widyayanti. 2009. **Pembuatan Alginat dari Rumput Laut untuk Menghasilkan Produk dengan Rendemen dan Viskositas Tinggi**. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro: Semarang

Markham, K.R. 1988. **Cara Identifikasi Flavonoid**. Penerbit ITB: Bandung

Maslebu, G., S. Trihandaru, N. A. Wibowo. 2013. **Kombinasi Teknik Kromatografi Kolom Gravitasi Spektrometer Sederhana sebagai Permodelan Kromatografi Cairan Kerja Tinggi (KCKT)**. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains VII di Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga: hlm. 88-94.

Maulida, D., dan N. Zulkarnaen. 2010. **Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran N-Heksana, Aseton dan Etanol**. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro Semarang. [Skripsi].

Moroney, N. C., M. N. O'Grady, J. V. O'Doherty, J. P. Kerry. 2013. **Effect of a Brown Seaweed (*Laminaria digitata*) Extract Containing Laminarin and Fucoidan on The Quality and Shelf-Life of Fresh and Cooked Minced Pork Patties**. *Meat Science*. (94): 304-311.

Mufti, eka Defiana, Kartini Zaelani, dan Hartati Kartikaningsih. 2013. **Stabilitas Fukosantin dari Alga Coklat (*Sargasum cristaefolium*) pada Berbagai pH**. THP Student Journal, Vol. 1 pp 41-55. Universitas Brawijaya: Malang

Mukaromah, A. H. dan E. T. Maharani. 2008. **Identifikasi Zat Warna Rhodamine B pada Lipstik Berwarna Merah**. Program Studi Analisis Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang. *J. Ilmu Kesehatan*. 1 (1): 34-40.

Mukti, kusananto. 2013. **Analisis Spektroskopi U-VIS enentuan Konsentrasi Permanganat (KMNO<sub>4</sub>)'**. Universitas Sebelas Maret Surakart. 18 hlm

Noviyanti, Lenia. 2010. **Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom Untuk Pemisahan Trigleserida dari Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk*)**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret: Surakarta. [Skripsi]

Nurchayanti, A. D. R dan K. H. Timotius. 2007. **Fucoxanthin sebagai Anti Obesitas**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol XVIII No. 2 Hal: 134-141

Nurchayanti, A. D. R. dan Limantara L. 2007. **Fotodegradasi Ekstrak Kasar, klorofil a dan Fucoxanthin *Padina australis* dan *Dictyota crenulata***. Prosidang Seminar Nasional Pigmen, Universitas Kristen SatyaWacana, Salatiga: 243-260

Nurdiana, D. R., L. Limantara, A. B. Susanto. 2008. **Komposisi dan Fotostabilitas Pigmen Rumput Laut *Padina australis* Hauck. dari Kedalaman yang Berbeda**. *Ilmu Kelautan*. 13 (4): 233-240.

Nurdiana, D.R. dan L. Limantara. 2008. **Ragam Pigmen Rumput Laut Coklat: Potensi dan Aplikasi**. Departemen Biologi, Universitas Airlangga. Surabaya

Nurdiana, D.R, Leenawaty. L, AB. Susanto 2008. **Komposisi dan Fotostabilitas Pigmen Rumput laut *Padina australis* Hauck. Dari Kedalaman yang Berbeda**. Universitas Machung Malang. Desember 2008. Vol 13 (4) : 233-240 ISSN 0853-7291

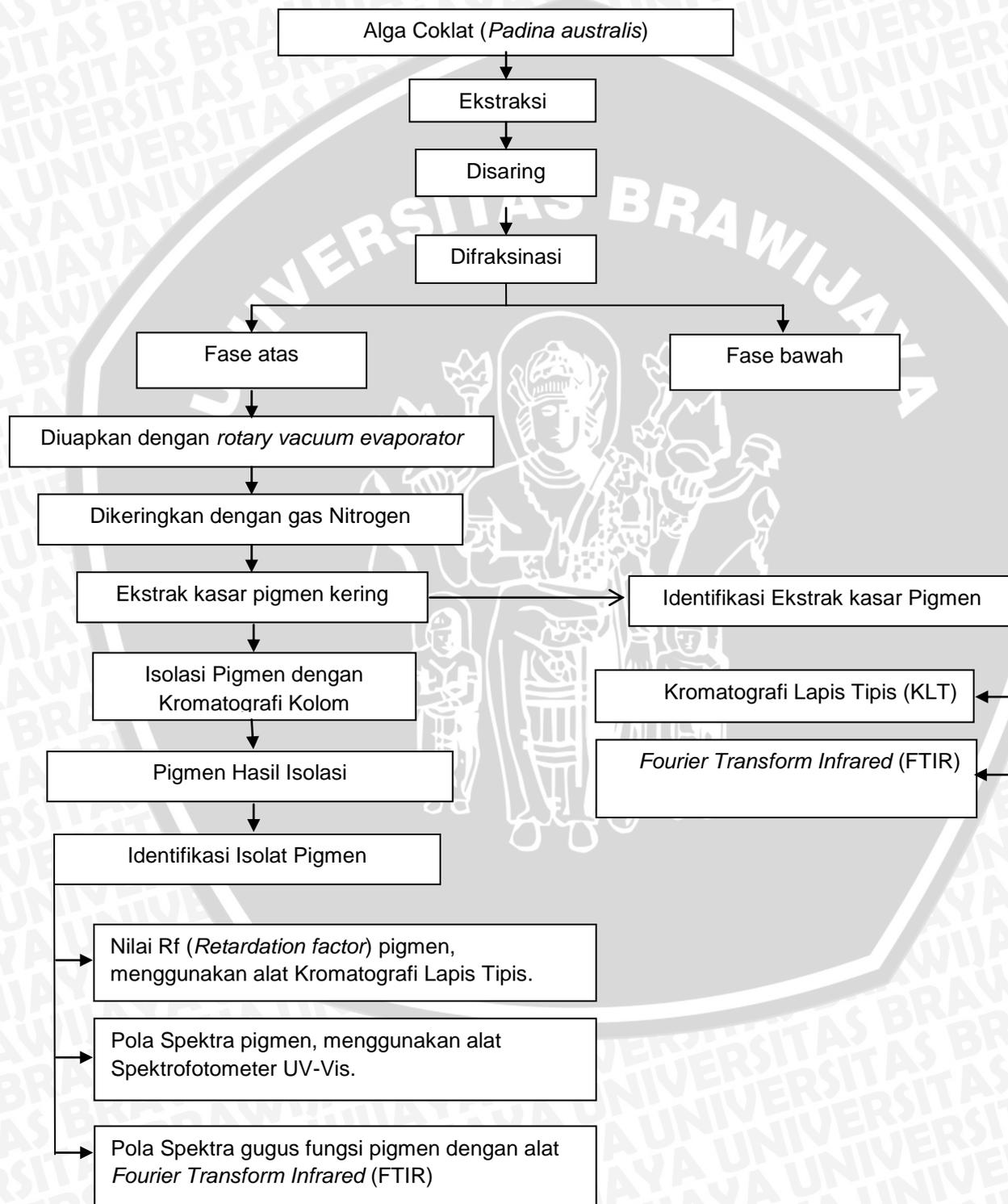
- Pangestuti, R., L. Limantara dan A. Susanto. 2007. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Fukosantin *Sargassum polycustum* C. A. Agardh.** Prosiding *Back to Nature* dengan Pigmen Alami di Salatiga: hlm. 201-209.
- Prangdimurti, E. 2007. **Pigmen Alami.** Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pavia, Donald L., Gary M. Lampman dan George S. Kriz. 1996. **Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry: Second Edition.** Harcourt Brace College Publishers: United States of America
- Reapina, E. M. 2007. **Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (*Cryptocaria massoia*) terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Pangan.** Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. [Skripsi].
- Resita, Dian, Windu Merdekawat, AB, Susanto, dan Leenawaty Limantara. 2010. **Kandungan dan komposisi Pigmen *Sargassum* sp. Pada Perairan Teluk Awur, Jepara dengan perlakuan Segar dan Kering.** Jurnal Perikanan (J. Fish Sci.) XII (1): 11-19, ISSN: 0853-6384
- Santi. 2006. **Onggok Sagu Termodifikasi sebagai Fase Diam dalam Kromatografi Kolom.** Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. [Skripsi].
- Santoso, J., F. Podungge and H. Sumaryanto. 2013. **Chemical Composition and Antioxidant Activity of Tropical Brown Algae *Padina australis* from Pramuka Island, District of Seribu Island, Indonesia.** *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis.* 5 (2): 287-297.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. **Spektroskopi.** Liberty. Yogyakarta.
- Schelfan, Leopold and M. B. Jacobs. 1983. **The Handbok of Solvent.** D. Van Nostrand Comp, Inc. New York.
- Schoefs, Benoît. 2002. **Chlorophyll and Carotenoid Analysis in Food Products. Properties of the Pigments and Methods of Analysis.** *Trends in Food Science & Technology Review.* (13): 361–371.

- Scuwieter, U, G. Englert, N. Rigassi, And W. Vetter. 1969. **Physical Organic Methods In Carotenoid Research**. Research Department, F. J-Ioffmann-La Roche & Co. Ltd., Basle, Switzerland. 365-420
- Sholihah, H. M. 2010. **Uji Afrodisiaka Fraksi Larut Air Ekstrak Etanol 70% Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L. Merr & Perry) terhadap Libido Tikus Jantan**. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. [Skripsi].
- Siadi, K. 2012. **Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl**. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang. *Jurnal MIPA*. 1 (35): 77-83.
- Silviyah, Siti, Widodo, Chomsin S., dan Masruroh. 2014. **Penggunaan Metode FT-IR (*Fourier Transform Infrared*) untuk Mengidentifikasi gugug Fungsi pada Proses Pembalran Penderita Mioma**. Universitas Brawijaya: Malang
- Striegel, M. F. and J. Hill. 1996. **Thin-Layer Chromatography for Binding Media Analysis. Scientific Tools for Conservation**. The Getty Conservation Institute. Los Angeles. United States of America: 174 pp.
- Sudarmadji, S. B. Haryono dan Suhardi. 2007. **Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty. Yogyakarta.
- Suparmi, Leenawaty Limantara, Budhi Prasetya. 2009. **Pengaruh Berbagai Faktor Eksternal terhadap Stabilitas Pigmen Bixin dari Selaput Biji Kesumba (*Bixa orellana* L.): Potensi sebagai Pewarna Alami Makanan**. *Sains Medika*, Vol. 1, No. 1, Januari–Juni 2009
- Susanto, A. B. 2009 **Penelitian Rumpuk Laut di Indonesia dan Potensi Pemanfaatan Klorofil**. Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami .hlm 43-50.
- Triyati, E. 1985. **Spektrofotometer Ultra-Violet dan Sinar Tampak serta Aplikasinya dalam Oseanologi**. *Oseana*. 10 (1): 39-47.

- Vogel, A. I. 1987. **Textbook of Practical Organic Chemistry**, Revised by Furnies, B. S. Fourth Edition. New York.
- Wehr, J.D. 2002. **Brown Algae, in Freshwater Algae of north America: Ecology and Classification**. Academic Press. San Diego. CA
- Yasita, D. dan I. D. Rachmawati. 2013. **Optimasi Proses Ekstraksi pada Pembuatan Karagainan dari Rumput Laut (*Euचेuma cottonii*) untuk mencapai *Food Grade***. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro Semarang. [Skripsi].
- Yuliasih, I., T. T. Irawadi, I. Sailah, H. Pranamuda, K. Setyowati dan T. C. Sunarti. 2013. **Pengaruh Proses Fraksinasi Pati Sagu terhadap Karakteristik Fraksi Amilosanya**. *J. Teknologi Industri Pertanian*. **17** (1): 29-36.
- Yunizal, 1999. **Teknologi pengolahan Alginat**. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Zaelani, Kartini dan Kartikaningsih, Hartatik. 2010. **Studi Identifikasi *Crude Fukosantin* dan *Fukosantin* hasil Isolasi Alga Coklat (*Padina australis*) dengan Pengujian Spektroskopi FTIR**. *Green Teknologi*. **2** (3): 30-45
- Zipcodezoo. 2012. *Padina australis*. **The Taxonomicon. Universal Taxonomic Services, Zwaag, The Netherlands**. Brands, S.J. (contributor). [http://zipcodezoo.com/Chromista/P/Padina\\_australis/](http://zipcodezoo.com/Chromista/P/Padina_australis/). Diakses tanggal 1 Agustus 2015.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian Identifikasi Komponen Pigmen pada Rumput Laut Coklat *Padina australis* dengan *Fourier Transform Infrared (FTIR)*.



**Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan larutan****➤ Pembuatan Larutan Ekstraksi****Metanol (CH<sub>3</sub>OH) : Aseton (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) 7:3 (v/v) 300 ml**

- Metanol =  $\frac{7}{10} \times 300 \text{ ml} = 210 \text{ ml}$

- Aseton =  $\frac{3}{10} \times 300 \text{ ml} = 90 \text{ ml}$

**➤ Pembuatan Fase Gerak Kromatografi Kolom****Heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) : Etil Asetat (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) 8:2 (v/v) 200 ml**

- Heksan =  $\frac{8}{10} \times 200 \text{ ml} = 160 \text{ ml}$

- Etil Asetat =  $\frac{2}{10} \times 200 \text{ ml} = 40 \text{ ml}$

**Heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) : Etil Asetat (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) 7:3 (v/v) 200 ml**

- Heksan =  $\frac{7}{10} \times 200 \text{ ml} = 140 \text{ ml}$

- Etil Asetat =  $\frac{3}{10} \times 200 \text{ ml} = 60 \text{ ml}$

**Heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) : Etil Asetat (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) 6:4 (v/v) 200 ml**

- Heksan =  $\frac{6}{10} \times 200 \text{ ml} = 120 \text{ ml}$

- Etil Asetat =  $\frac{4}{10} \times 200 \text{ ml} = 80 \text{ ml}$

**➤ Pembuatan Fase Gerak Kromatografi Lapis Tipis (KLT)****Heksan (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) : Aseton (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) 7:3 (v/v) 10 ml**

- Heksan =  $\frac{7}{10} \times 10 \text{ ml} = 7 \text{ ml}$

- Aseton =  $\frac{3}{10} \times 10 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$

**Lampiran 3. Dokumentasi Proses Penelitian**

**- Pembuatan larutan garam**



(a). Garam dan Air dimasukan ke dalam botol



(b). Dikocok dan didiamkan semalaman



(c). Proses Penyaringan 1



(d). Proses Penyaringan 2



(e). Hasil Penyaringan

**- Proses Ekstraksi Rumput laut**



(a). Alga dibersihkan dari segala kotoran



(b). Alga diangin-anginkan



(c). Dipotong-potong kecil



(d). Ditimbang



(e). Ditumbuk dan diberi  $\text{CaCo}_3$



(f). Ditambahkan pelarut

- Proses Maserasi



(g). Maserasi (perendaman)



(h). Filtrasi (penyaringan)



(j). Hasil Maserasi



(k) Penimbangan rumput laut hasil maserasi



(l) Kertas Whatman hasil penyaringan



(m) Pengukuran hasil maserasi

**- Proses Fraksinasi**



(a). Penuangan larutan hasil maserasi ke corong pisah



(b) penuangan larutan



(c) Terbentuk 2 Fase

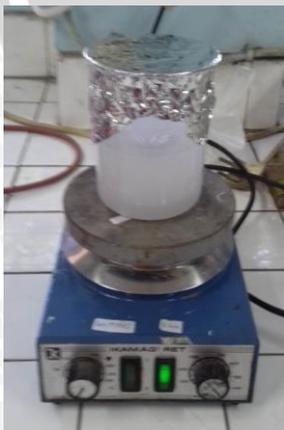


(d) Fase Bawah dibuang



(e) Fase atas ditampung

**- Kolom Kromatografi**



(a). Homogenisasi silica gel dengan fase gerak menggunakan magnetic stirrer



(b). Silica gel dimasukkan di dalam kolom



(c). Sea sand dimasukkan ke dalam kolom kromatografi



(d). Ekstrak dilarutkan dengan fase gerak (8:2)



(e). Ekstrak dimasukkan kedalam kolom



(f). Isolat yang keluar ditampung di dalam botol vial



(g). Terbentuknya pita warna (proses isolasi)

- Proses Identifikasi dengan plat KLT



a). hasil Kolom didapatkan isolat



(b). Penotolan isolat di plat klt



(c). Plat klt dimasukan ke dalam fase gerak (8:2) terjadi proses elusi

(d). Hasil uji KLT pada ekstrak kasar

(e) Hasil uji KLT pada isolat (Betakaroten, Klorofil a, Klorofil b, dan Fukosantin)



#### Lampiran 4. Hasil Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis

Panjang Kolom Kromatografi = 50 cm

Diameter Kolom kromatografi = 2 cm

No. Botol	Waktu	Warna	Konsentrasi fase gerak
1	04.00	Bening	8:2 (N-Heksan : Etil Asetat)
2	05.30	Bening	8:2
3	06.00	Kuning	8:2
4	09.00	Kuning Pekat ( $\beta$ Karoten)	8:2
5	10.55	Kuning Pekat ( $\beta$ Karoten)	8:2
6	12.00	Kuning Pekat ( $\beta$ Karoten)	8:2
7	14.30	Kuning	8:2
8	15.15	Kuning	8:2
9	16.55	Kuning bening	8:2
10	18.00	Kuning bening	7:3 (N-Heksan : Etil Asetat)
11	18.48	Kuning bening	7:3
12	19.20	Bening	7:3
13	22.00	Biru	7:3
14	00.01	Biru Pekat (Klorofil a)	7:3
15	02.00	Biru Pekat (Klorofil a)	7:3
16	03.45	Biru Pekat (Klorofil a)	7:3
17	05.20	Biru	6:4 (N-Heksan : Etil Asetat)
18	06.47	Biru	6:4
19	08.00	Biru bening	6:4
20	09.30	Bening	6:4
21	12.45	Hijau	6:4
22	14.04	Hijau	6:4
23	15.15	Hijau	6:4
24	16.21	Hijau Pekat (Klorofil B)	5:5 (N-Heksan : Etil Asetat)
25	19.20	Hijau Pekat (klorofil B)	5:5
26	20.20	Hijau bening	5:5
27	21.00	Bening	5:5
28	21.44	Kuning	5:5
29	22.45	Kuning	5:5
30	23.56	Kuning Orange Pekat (Fukosantin)	5:5
31	01.30	Kuning Orange Pekat (fukosantin)	5:5
32	02.12	Kuning	5:5
33	03.01	Kuning	5:5

**Lampiran 5. Perhitungan Nilai Rf pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

**Rumus Perhitungan Harga Rf (*Retardation Factor*)**

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh Pelarut dari titik asal}}$$

- $\beta$ -karoten

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 1} &= \frac{3.1}{3.5} \\ &= 0.91 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 2} &= \frac{2.8}{3.5} \\ &= 0.8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 3} &= \frac{3.4}{3.5} \\ &= 0.97 \end{aligned}$$

- Klorofil a

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 1} &= \frac{2.1}{3.5} \\ &= 0.6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 2} &= \frac{2.2}{3.5} \\ &= 0.62 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 3} &= \frac{2}{3.5} \\ &= 0.57 \end{aligned}$$

- Klorofil b

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 1} &= \frac{1.8}{3.5} \\ &= 0.51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 2} &= \frac{1.7}{3.5} \\ &= 0.48 \end{aligned}$$

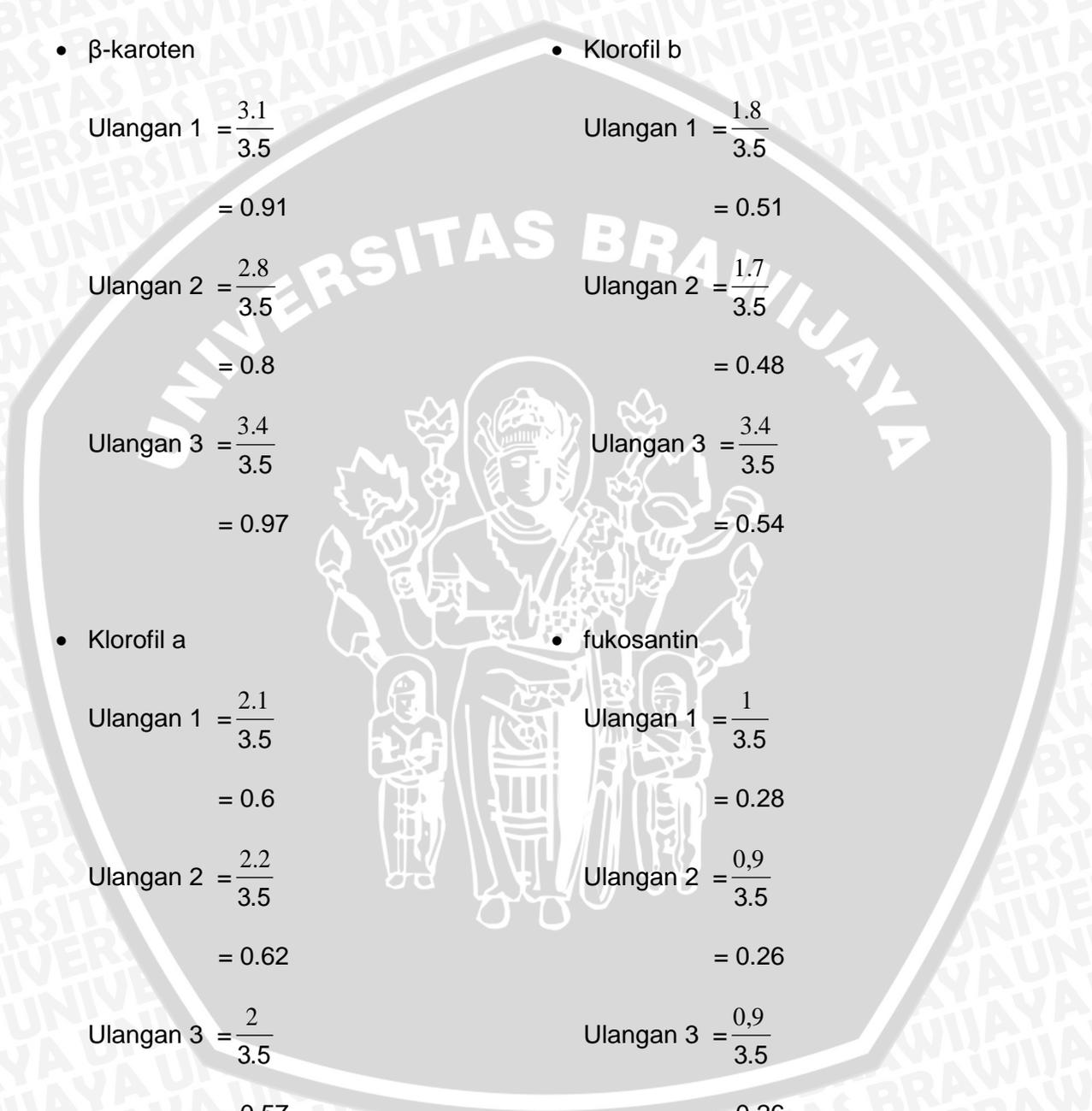
$$\begin{aligned} \text{Ulangan 3} &= \frac{3.4}{3.5} \\ &= 0.54 \end{aligned}$$

- fukosantin

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 1} &= \frac{1}{3.5} \\ &= 0.28 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 2} &= \frac{0.9}{3.5} \\ &= 0.26 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 3} &= \frac{0.9}{3.5} \\ &= 0.26 \end{aligned}$$



### Lampiran 6. Data Absorbansi, Data Kadar Pigmen, Data Rendemen

- Data Absorbansi

Jenis Pigmen	Ulangan	Absorbansi
β-Karoten	1	2,876
	2	2,278
	3	2,381
Klorofil b	1	1,797
	2	1,623
	3	1,981
Klorofil a	1	1,731
	2	2,937
	3	3,228
Fukosantin	1	1,959
	2	2,250
	3	2,192

- Data Kadar Pigmen

Jenis Pigmen	Ulangan	Kadar Pigmen
β-Karoten	1	0,000115 gram
	2	0,000091 gram
	3	0,000095 gram
Klorofil a	1	0,000203 gram
	2	0,000184 gram
	3	0,000224 gram
Klorofil b	1	0,000196 gram
	2	0,000333 gram
	3	0,000381 gram
Fukosantin	1	0,000118 gram
	2	0,000136 gram
	3	0,000132 gram

- Data Rendemen

Jenis Pigmen	Ulangan	Gram Sampel	Rendemen (%)	Standart deviasi Nilai Rendemen
β-Karoten	1	100 gram	0,115 gram	0,0001 % ± 0,00000000126
	2	100 gram	0,091 gram	
	3	100 gram	0,095 gram	
Klorofil b	1	100 gram	0,203 gram	0,000203 % ± 0,000000000401
	2	100 gram	0,184 gram	
	3	100 gram	0,224 gram	
Klorofil a	1	100 gram	0,196 gram	0,000296 % ± 0,000000000163
	2	100 gram	0,333 gram	
	3	100 gram	0,381 gram	
Fukosantin	1	100 gram	0,118 gram	0,000128 % ± 0,000000000071
	2	100 gram	0,136 gram	
	3	100 gram	0,132 gram	



**Lampiran 7. Perhitungan Kadar Pigmen**

Hukum Lambert-Beer, yaitu:

$$A = \epsilon bc$$

Ket: A = absorbansi

$\epsilon$  = absorptifitas molar (Molar extinction coefficient)

b = lebar bagian dalam kuvet

c = konsentrasi (molar)

**Kadar  $\beta$ -karoten**

Ulangan 1

$$A = \epsilon bc$$

$$2,876 = 134 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{2,876}{134 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,146 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$2,146 \times 10^{-5} = \frac{X}{536,87} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,146 \times 10^{-5} = \frac{100X}{536,87}$$

$$100 X = 536,87 \times 2,146 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,00011521 \text{ gram}$$

Ulangan 2

$$A = \epsilon bc$$

$$2,278 = 134 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{2,278}{134 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 1,7 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$1,7 \times 10^{-5} = \frac{X}{536,87} \times \frac{1000}{10}$$

$$1,7 \times 10^{-5} = \frac{X}{536,87}$$

$$100 X = 536,87 \times 1,7 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,0000912 \text{ gram}$$



Ulangan 3

$$A = \epsilon bc$$

$$2,381 = 134 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{2,381}{134 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 1,777 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$1,776 \times 10^{-5} = \frac{X}{536,87} \times \frac{1000}{10}$$

$$1,776 \times 10^{-5} = \frac{X}{536,87}$$

$$100X = 536,87 \times 1,776 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000095 \text{ gram}$$

Kadar Klorofil b

Ulangan 1

$$A = \epsilon bc$$

$$1,179 = 78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{1,1797}{78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,282 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$2,282 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,282 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5}$$

$$100 X = 8935 \times 2,282 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000203 \text{ gram}$$

Ulangan 2

$$A = \epsilon bc$$

$$1,623 = 78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{1,623}{78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,06 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$2,06 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,06 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5}$$

$$100 X = 893,5 \times 2,06 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000184 \text{ gram}$$

Ulangan 3

$$A = \epsilon bc$$

$$1,981 = 78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{1,981}{78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,515 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}_{\text{Klorofil-a}}} \times \frac{1000}{V(\text{ml})}$$

$$2,515 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,515 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5}$$

$$100 X = 893,5 \times 2,515 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000224 \text{ gram}$$

Mencari massa:  
**Kadar Klorofil a**

Ulangan 1

$$A = \epsilon bc$$

$$1,731 = 78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{1,731}{78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,198 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}_{\text{Klorofil-b}}} \times \frac{1000}{V(\text{ml})}$$

$$2,198 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,198 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5}$$

$$100 X = 893,5 \times 2,198 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000196 \text{ gram}$$

Mencari massa:  
Ulangan 2

$$A = \epsilon bc$$

$$2,937 = 78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{2,937}{78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 3,729 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{\text{Mr}_{\text{Klorofil-b}}} \times \frac{1000}{V(\text{ml})}$$

$$3,729 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5} \times \frac{1000}{10}$$

$$3,729 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5}$$

$$100 X = 893,5 \times 3,729 \times 10^{-6}$$

$$X = 0,000333 \text{ gram}$$

## Ulangan 3

$$A = \epsilon bc$$

$$3,228 = 78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{3,228}{78,75 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 4,257 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{M_r \text{ Klorofil-b}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$4,257 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5} \times \frac{1000}{10}$$

$$4,257 \times 10^{-5} = \frac{X}{893,5}$$

$$100 X = 893,5 \times 4,257 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000381 \text{ gram}$$

## Kadar Fukosantin

## Ulangan 1

$$A = \epsilon bc$$

$$1,959 = 109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{1,959}{109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 1,797 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{M_r \text{ Fukosantin}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$1,797 \times 10^{-5} = \frac{X}{658,92} \times \frac{1000}{10}$$

$$1,797 \times 10^{-5} = \frac{X}{658,92}$$

$$100 X = 658,92 \times 1,797 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000118 \text{ gram}$$

## Ulangan 2

$$A = \epsilon bc$$

$$2,250 = 109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{2,250}{109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,064 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{M_r \text{ Fukosantin}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$2,064 \times 10^{-5} = \frac{X}{658,92} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,064 \times 10^{-5} = \frac{X}{658,92}$$

$$100 X = 658,92 \times 2,064 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000136 \text{ gram}$$

Ulangan 3

$$A = \epsilon bc$$

$$2,192 = 109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times c$$

$$c = \frac{2,192}{109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$c = 2,011 \times 10^{-5} (1 \text{ mol}^{-1})$$

Mencari massa:

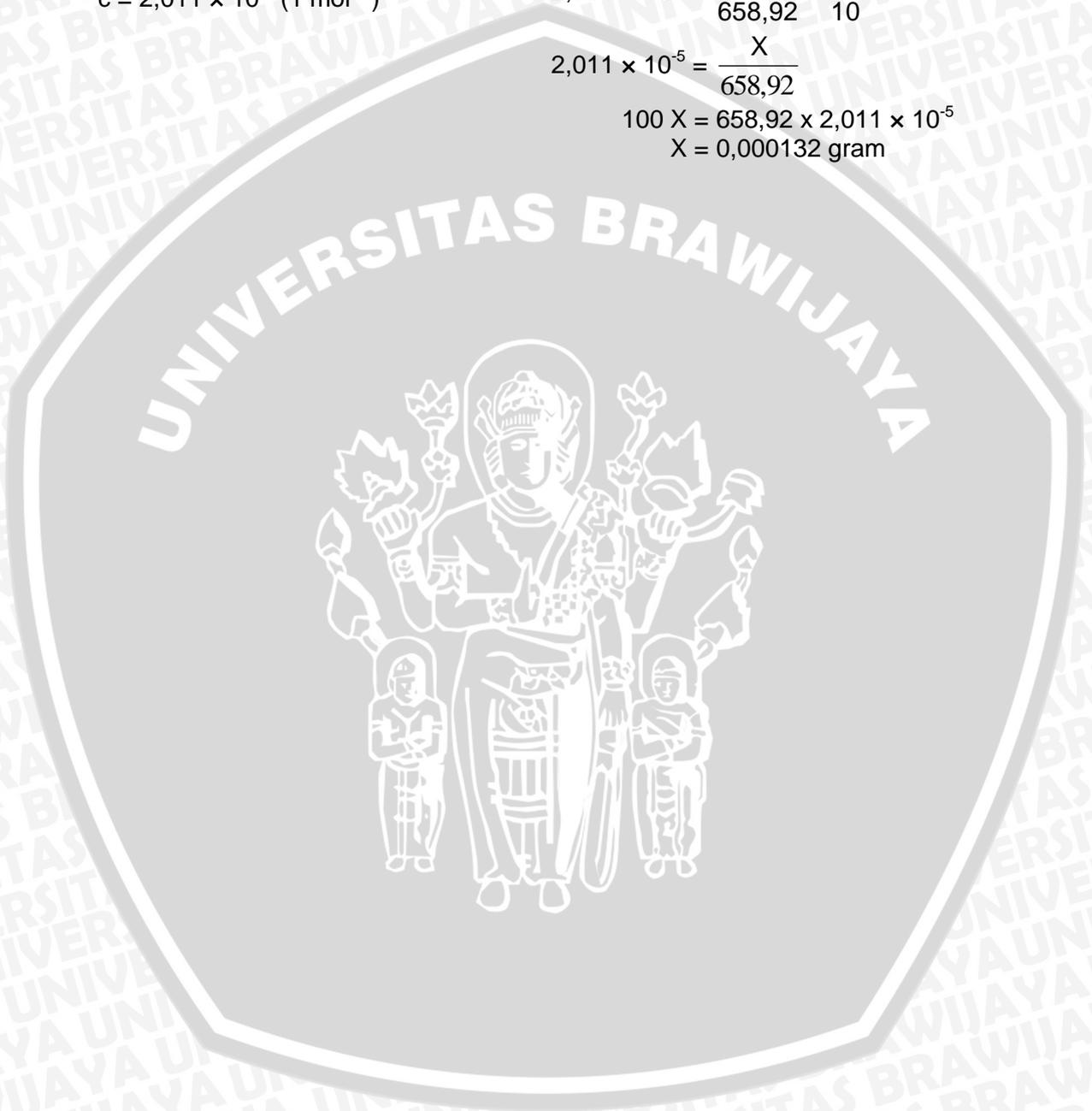
$$\text{Mol} = \frac{\text{gr}}{M_r \text{ Fukosantin}} \times \frac{1000}{V (\text{ml})}$$

$$2,011 \times 10^{-5} = \frac{X}{658,92} \times \frac{1000}{10}$$

$$2,011 \times 10^{-5} = \frac{X}{658,92}$$

$$100 X = 658,92 \times 2,011 \times 10^{-5}$$

$$X = 0,000132 \text{ gram}$$



### Lampiran 8. Perhitungan Kadar Rendemen Pigmen

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

- **B-Karoten**

Ulangan 1

$$= \frac{0,000115}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000115 \%$$

Ulangan 2

$$= \frac{0,0000912}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,0000912 \%$$

Ulangan 3

$$= \frac{0,0000953}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,0000953 \%$$

$$\text{Rata-rata Rendemen } (\bar{x}) = \frac{0,000115\% + 0,0000912\% + 0,0000953\%}{3}$$

$$= 0,0001 \%$$

Standar deviasi :

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$$= \frac{(0,000115 - 0,0001)^2 + (0,000091 - 0,0001)^2 + (0,000095 - 0,0001)^2}{2}$$

$$= \frac{2 \times 10^{-10} + 8,1 \times 10^{-10} + 2,5 \times 10^{-10}}{2}$$

$$S = 1,26 \times 10^{-9}$$

$$\text{Nilai rendemen } \beta\text{-karoten} = 0,0001 \% \pm 0,00000000126$$

- **Klorofil a**

Ulangan 1

$$= \frac{0,000203}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000203 \%$$

Ulangan 2

$$= \frac{0,000184}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000184 \%$$

Ulangan 3

$$= \frac{0,000224}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000224\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata Rendemen } (\bar{x}) &= \frac{0,000203\% + 0,000184\% + 0,000224\%}{3} \\ &= 0,000203\% \end{aligned}$$

Standar deviasi :

$$\begin{aligned} S^2 &= \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \\ &= \frac{(0,000203 - 0,000203)^2 + (0,000184 - 0,000203)^2 + (0,000224 - 0,000203)^2}{2} \\ &= \frac{3,61 \times 10^{-10} + 4,41 \times 10^{-10}}{2} \end{aligned}$$

$$S = 4,01 \times 10^{-10}$$

Nilai rendemen = 0,000203 % ± 0,000000000401

• **Klorofil b**

Ulangan 1

$$\begin{aligned} &= \frac{0,0000196}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 0,0000196\% \end{aligned}$$

Ulangan 2

$$\begin{aligned} &= \frac{0,000333}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 0,000333\% \end{aligned}$$

Ulangan 3

$$\begin{aligned} &= \frac{0,000381}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 0,000381\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata Rendemen } (\bar{x}) &= \frac{0,0000196\% + 0,000333\% + 0,000381\%}{3} \\ &= 0,000296\% \end{aligned}$$

standar deviasi :

$$\begin{aligned} S^2 &= \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \\ &= \frac{(0,0000196 - 0,000296)^2 + (0,000333 - 0,000296)^2 + (0,000382 - 0,000296)^2}{2} \\ &= \frac{7,6 \times 10^{-9} + 1,4 \times 10^{-9} + 7,3 \times 10^{-9}}{2} \end{aligned}$$

$$S = 1,63 \times 10^{-10}$$

Nilai rendemen Klorofil b = 0,000296 % ± 0,000000000163

- **Fukosantin**

Ulangan 1

$$= \frac{0,000118}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000118\%$$

Ulangan 2

$$= \frac{0,000136}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000136\%$$

Ulangan 3

$$= \frac{0,000132}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 0,000132\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata Rendemen } (\bar{x}) &= \frac{0,000118\% + 0,000136\% + 0,000132\%}{3} \\ &= 0,000128\% \end{aligned}$$

Standar deviasi :

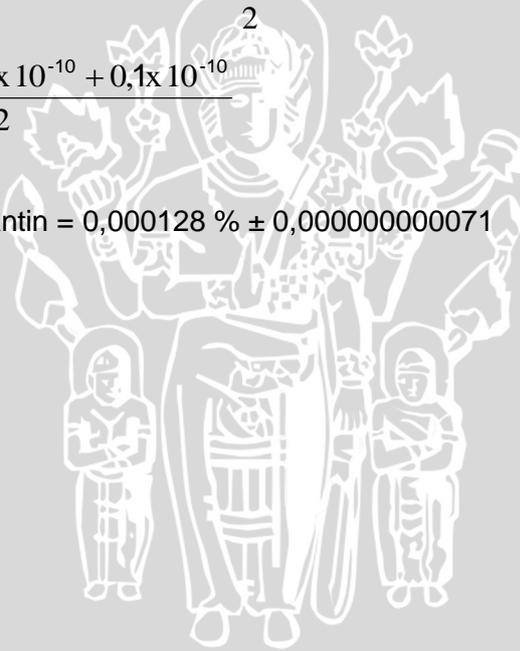
$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

$$= \frac{(0,000118 - 0,000128)^2 + (0,000136 - 0,000128)^2 + (0,000132 - 0,000128)^2}{2}$$

$$= \frac{0,01 \times 10^{-10} + 0,6 \times 10^{-10} + 0,1 \times 10^{-10}}{2}$$

$$S = 0,71 \times 10^{-10}$$

$$\text{Nilai rendemen Fukosantin} = 0,000128\% \pm 0,000000000071$$



**Lampiran 9.** Tabel pembacaan grafik korelasi FTIR yang disederhanakan menurut Pavia *et al*, (1996)

	Type of vibration	Frequency (cm <sup>-1</sup> )	Intensity
C-H	Alkanes (stretch)	3000-2850	S
	-CH <sub>3</sub> (bend)	1450 and 1375	M
	-CH <sub>2</sub> - (bend)	1465	M
	Alkenes (stretch)	3100-3000	M
	(out-of-plane bend)	1000-650	S
	Aromatics (stretch)	3150-3050	S
	(out-of-plane bend)	900-690	S
	Alkyne (stretch)	ca. 3300	S
	Aldehyde	2900-2800	W
			2800-2700
C-C	Alkane	Not interpretatively useful	
C=C	Akene	1680-1600	m-w
	Aromatics	1600 and 1475	m-w
C≡C	Alkyne	2250-2100	m-w
C=O	Aldehyde	1740-1720	S
	Ketone	1725-1705	S
	Carboxylic acid	1725-1700	S
	Ester	1750-1730	S
	Amide	1680-1630	S
	Anhydride	1810 and 1760	S
	Acid chloride	1800	S
	C-O	Alcohols, ethers, ester, carboxylic acids, anhydrides	1300-1000
O-H	Alcohols, phenols		
	Phenols	3650-3600	M
	H-bonded	3400-3200	M
N-H	Carboxylic acids	3400-2400	M
	Primary and secondary amines and amides (stretch)	3500-3100	M
	(bend)	1640-1550	M-s
C-N	Amines	1350-1000	M-s
C=N	Imines an oximes	1690-1640	w-s
	Nitries	2260-2240	M
X=C=Y	Allenes, etenes, isocanates, isothiocyanates	2270-1940	m-s
	N=O	Nitro	1550 and 1350

