

**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN β -KAROTEN DARI ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium SEGAR DAN "TEH" RUMPUT LAUT**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

Oleh :
RANI PERMATASARI
NIM. 0910830061



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**



**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN β -KAROTEN DARI ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium SEGAR DAN "TEH" RUMPUT LAUT**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

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

Oleh :
RANI PERMATASARI
NIM. 0910830061



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN β -KAROTEN DARI ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium SEGAR DAN "TEH" RUMPUT LAUT**

Oleh :

RANI PERMATA SARI

NIM. 0910830061

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal : 23 Desember 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D

NIP. 19640919 198903 1 002

Tanggal :

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS

NIP. 1960726 198903 2 004

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Dr.Ir. Hardoko, MS

NIP. 19620108 198802 1 001

Tanggal :

Ir. Yahya, MP

NIP. 19630706 199003 1 003

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, 23 Desember 2013

Mahasiswa

Rani Permatasari

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penyelesaian skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, oleh karena itu dalam kesempatan yang baik ini perkenankan penulis untuk mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I dan Bapak Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing II atas segala arahan dan bimbingannya.
2. Bapak Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D selaku dosen penguji I dan Bapak Dr. Ir. Hardoko, MS selaku dosen penguji II yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
3. Papa Sjaiful Bahri dan Mama Wiwiek, Abang-abangku, serta keluarga atas doa, motivasi dan segala dukungan moril maupun materil selama penulis menimba ilmu di FPIK UB.
4. Teman Tim Pigmen Via Swann dan Ghanies yang telah menjadi teman seperjuangan selama 6 bulan penelitian.
5. Sahabat-sahabatku THP 2009 FPIK Ub terutama Umik Elaa, Vina, Dita, ILa, Sendy, Tante Rina.
6. Untuk seseorang biasa dipanggil "Antut" yang selalu memberikan semangat, dorongan, doa berikut motivasi padaku.
7. Seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya Laporan Skripsi, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, saya ucapkan banyak terimakasih.

Penulis panjatkan doa semoga Allah SWT memberikan imbalan yang setimpal dan berlipat ganda atas segala bantuan semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi ini. Amin.

Malang, 23 Desember 2013

Penulis

RINGKASAN

RANI PERMATASARI. EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN β -KAROTEN DARI ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium* SEGAR DAN “TEH” RUMPUT LAUT (Dibawah bimbingan Dr. Ir. HARTATI KARTIKANINGSIH, MS dan Ir. YAHYA, MP).

Beta karoten termasuk pigmen karotenoid yang berwarna kuning sampai merah, serta memiliki struktur alifatik atau alisiklik yang umumnya disusun oleh delapan unit isoprena (Erawati, 2006). Rumus molekul dari beta karoten yaitu $C_{40}H_{56}$ dan terdeteksi pada panjang gelombang 452 dan 478 nm (Limantara dan Heriyanto, 2010). Ikatan rangkap terkonjugasi yang dimiliki beta karoten memberikan karakter pro-oksidan, akibatnya akan sangat mudah mengalami oksidasi (Noviyanti, Lenia., 2010). Ditambahkan oleh Madhavi *et al*, (1996) menyatakan bahwa betakaroten sensitif terhadap udara, cahaya, dan suhu tinggi. Sehingga apabila mengekstraksi pigmen ini, harus diperhatikan kondisi lingkungannya.

Pada umumnya, teh dibuat dari pucuk (daun muda) yang melalui proses pengolahan tertentu. Saat ini dimunculkan teh yang dibuat bukan dari daun teh melainkan dari alga coklat jenis *Sargassum sp*. Pembuatan teh *Sargassum sp*. terdiri dari 3 tahap, yakni perendaman dengan larutan kapur sirih, pengeringan, dan penyeduhan. Proses pengolahan teh tersebut, menyebabkan terjadinya perubahan terhadap kandungan pigmen pada alga coklat.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2012 sampai dengan April 2013 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Fakultas MIPA dan Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksploratif untuk membandingkan hasil ekstraksi dan isolasi pigmen β -karoten dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan “teh” rumput laut. Metode eksploratif bertujuan untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan. Penelitian eksploratif pengetahuan tentang gejala yang hendak diteliti masih sangat terbatas dan merupakan langkah pertama bagi penelitian yang lebih mendalam.

Hasil uji spektrofotometer UV-Vis beta karoten sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar diperoleh panjang gelombang 452 nm; perolehan nilai warna L yakni 31,8, warna a^* yakni -2,3, warna b^* yakni 12,9. Pada sampel “teh” diperoleh panjang gelombang 451 nm; perolehan nilai warna L yakni 32,9, warna a^* yakni 5,4, warna b^* yakni 25,4. Nilai 0 hue dari sampel segar dan “teh” masing-masing 79,89 dan 77,99. Sedangkan pada teh seduh tidak terdeteksi pigmen beta karoten. Hasil uji spektroskopi FTIR pada sampel segar dan “teh” yakni memiliki gugus fungsi CH^3 simetrik, gugus $C=C-C$, gugus CH^3 deformasi, $cisCH=CH$ diluar bidang, $trans CH=CH$, dan gugus β -ionon.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kestabilan pigmen β -karoten terhadap degradasi pigmen pada “teh” rumput laut. Perlu berhati-hati dalam proses penanganan sampel dan saat melakukan penelitian untuk menjaga kualitas pigmen β -karoten agar terhindar dari oksidasi.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warrahmatullahi Wabarokatuh,

Segala puji bagi Allah SWT Tuhan semesta alam atas segala berkat, rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Ekstraksi dan Isolasi Pigmen β -karoten dari Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Segar dan "Teh" Rumput Laut". Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS dosen pembimbing I dan Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, serta kedua orang tua, keluarga besar penulis, dan rekan-rekan mahasiswa THP '09 Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya yang selalu berdoa dan memberikan motivasi kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca nantinya kami harapkan dapat menambah kesempurnaan laporan ini. Akhir kata penulis berharap laporan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan perikanan khususnya bagi penulis pribadi dan pembaca

Malang, 23 Desember 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
LEMBAR UCAPAN TERIMAKASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Kegunaan Penelitian	4
1.5. Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Pigmen	5
2.2. Pigmen Beta Karoten	5
2.2.1 Manfaat Beta Karoten	7
2.3. <i>Sargassum cristaefolium</i>	8
2.4. Teh	10
2.4.1 "Teh" Rumput Laut	11
2.4.2 Kandungan "Teh" Rumput Laut	12
2.4.3 Manfaat "Teh" Rumput Laut	13
2.5. Proses Pembuatan "Teh" Rumput Laut	13
2.4.1. Perendaman Air Kapur	13
2.4.2. Pengeringan	14
2.6 Ekstraksi	15
2.7 Fraksinasi	16
2.8 Pelarut	17
2.8.1. Metanol	19
2.8.2. Aseton	19
2.8.3. Dietil Eter	20
2.8.4. Etil Asetat	21
2.8.5. Heksan	22
2.9 Kromatografi Kolom	23
2.10 Kromatografi Lapis Tipis	24
2.11 Analisa Kuantitatif Beta Karoten	25
2.11.1 Spektrofotometri UV-Vis	25
2.11.2 Spektrofotometri FTIR	26
2.11.3 Analisa Warna	28

3. METODE PENELITIAN	30
3.1. Materi Penelitian	30
3.1.1 Bahan Penelitian	30
3.1.2. Alat Penelitian	30
3.2. Metode Penelitian	32
3.3. Prosedur Penelitian	33
3.3.1. Persiapan Sampel	33
3.3.2. Ekstraksi Pigmen Alga Coklat	35
3.3.3. Fraksinasi Pigmen Alga Coklat	36
3.3.4. Isolasi Beta Karoten	40
3.3.5. Identifikasi Pigmen Beta Karoten	43
3.3.5.1. Kromatografi Kolom Lapis Tipis	43
3.3.5.2. Pemurnian Pigmen Beta Karoten	43
3.3.6. Analisa Spektrofotometer UV Vis	45
3.3.7. Analisa Spektrofotometer FT-IR	47
3.3.8. Pengukuran Warna (L, a, b)	48
3.3.9. Perhitungan Kadar Beta Karoten	48
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Data Hasil Penelitian	49
4.2 Pembahasan.....	50
4.2.1 Hasil Isolasi β -Karoten	50
4.2.2 Identifikasi β -karoten dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	52
4.2.3 Identifikasi β -karoten dengan Pola Spektra dan Panjang Gelombang Maksimum (λ max)	54
4.2.4 Analisis Pigmen β -karoten	55
4.2.4.1 Perubahan Pola Spektra dan Pergeseran Panjang Gelombang.....	55
4.2.4.2 Analisa Warna (L), (a), (b).....	59
4.2.4.3 Perubahan Spektra Serapan IR dan Pergeseran Gugus Fungsi β -karoten	62
5. KESIMPULAN DAN SARAN	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	79

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Komposisi Kimia <i>Sargassum sp.</i>	9
2	Komposisi Kimia Daun Teh Segar dan Teh Kering dalam Teh	11
3	Sifat Umum Pelarut	18
4	Sifat – sifat Metanol.....	19
5	Sifat Fisiko Kimia Pelarut Aseton.....	20
6	Sifat Fisik Dietil Eter	21
7	Konstanta dielektrik etil asetat	22
8	Sifat Fisiko Kimia Pelarut Heksana	22
9	Beberapa Frekuensi Gugus Inframerah.....	27
10	Keterangan Warna ⁰ Hue	29
11	Data Hasil Isolasi Beta Karoten.....	49
12	Rerata Panjang Gelombang β -Karoten Pada Sampel Segar, “Teh”, dan Teh Seduh	57
13	Hasil Pengukuran Warna (L), (a), (b).....	59
14	Gugus Fungsional Serapan IR Sampel Segar, “teh”, dan Literatur β -karoten.....	68



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Struktur Kimia Beta Karoten.....	6
2	<i>Sargassum cristaefolium</i>	9
3	Struktur Aseton.....	20
4	Proses Kromatografi Kolom.....	23
5	Pemisahan Sampel.....	24
6	Spektrofotometer FTIR.....	27
7	Persiapan Awal Sampel dan Pembuatan “Teh” Rumput Laut	38
8	Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat dan “Teh” Alga Coklat.....	39
9	Pemurnian Pigmen dengan Kromatografi Kolom	42
10	Kromatografi Lapis Tipis	44
11	Pemurnian Pigmen Beta Karoten	45
12	Analisa dengan Spektrofotometer UV-Vis 1601	46
13	Prosedur Analisis Gugus Fungsional Beta Karoten dengan Spektrofotometer FTIR	47
14	Isolasi Pigmen β -Karoten	51
15	Hasil Isolasi β -karoten.....	52
16	Hasil KLT β -karoten	52
17	(a). Pola spektra β -karoten dalam pelarut aseton	54
	(b). Pola spektra pigmen β -karoten sampel segar	54
18	(a). Pola Spektra Sampel Segar.....	56
	(b). Pola Spektra Sampel “Teh”.....	56
	(c). Pola Spektra Sampel Teh Seduh	56
19	Spektrum IR Pigmen β -Karoten pada <i>Sargassum cristaefolium</i> Segar	63
20	Spektrum IR Pigmen β -Karoten pada “Teh” Rumput Laut	63
21	Spektrum FTIR β -karoten (Segar) (Marshall, 1998).....	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Diagram Alir Penelitian.....	79
2	Prosedur Persiapan Sampel dan Pembuatan “Teh” Alga Coklat	80
3	Prosedur Ekstraksi dan Fraksinasi	82
4	Prosedur Kolom Kromatografi.....	84
5	Prosedur Kromatografi Lapis Tipis dan Pemurnian Pigmen Beta Karoten.....	86
6	Prosedur Analisis Spektrofotometer UV-Vis	87
7	Prosedur Analisis FTIR	87
8	Pembuatan Larutan KLT.....	89
9	Perhitungan Kadar β -karoten dan Kadar Rendemen.....	89
10	Data Stabilitas β -karoten.....	90
11	Foto Proses Pembuatan “Teh”	90
12	Foto Proses Ekstraksi	91
13	Foto Proses Partisi	92
14	Foto Proses Komatografi Kolom	92
15	Proses Identifikasi Pigmen	93
16	Spektrum IR β -karoten Sampel Segar.....	94
17	Spektrum IR β -karoten “Teh” Rumput Laut	95
18	Data Kromatografi Kolom Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i> Segar	96
19	Data Kromatografi Kolom “Teh” Rumput Laut	98



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pigmen merupakan senyawa kimia yang menyerap cahaya dan memunculkan warna dengan memantulkannya pada rentang panjang gelombang tertentu (Vargas *et al.*, 2000). Pigmen alami terdapat secara alami dan diproduksi baik secara langsung maupun tidak langsung oleh tumbuhan, hewan, dan beberapa organisme seperti bakteri, alga, dan khamir. Salah satu kelompok pigmen alami yang sangat penting adalah karotenoid. Karotenoid merupakan pigmen alami tumbuhan yang menghasilkan warna merah, kuning, orange, dan hijau tua pada buah dan sayuran (Tungriani *et al.*, 2012).

Beta karoten termasuk karotenoid yang berwarna kuning sampai merah, serta memiliki struktur alifatik atau alisiklik yang umumnya disusun oleh delapan unit isoprena (Erawati, 2006). Kelompok dari pigmen karotenoid yang berkontribusi terhadap warna kuning, oranye, dan merah pada buah dan sayuran (Rachmawaty dan Wahono, 2013). Pigmen ini merupakan senyawa organik yang berantai karbon panjang dan bersifat non polar dan salah satu jenis senyawa hidrokarbon karotenoid yang merupakan senyawa golongan tetraterpenoid (Winarni, 2007). Pigmen beta karoten yang sangat berperan dalam menunjang kesehatan dan kelangsungan hidup manusia. Beta karoten memberikan kontribusi yang besar bagi berbagai sektor kehidupan terutama sebagai sumber vitamin A yang bermanfaat bagi organ visual, pewarna makanan, bahan aditif pada makanan, dan penambah sel darah merah (Fretes *et al.*, 2012). Pigmen beta karoten ini juga secara umum ditemukan dalam alga coklat.

Teh merupakan minuman yang mengandung kafein, sebuah infusi yang dibuat dengan cara menyeduh daun, pucuk daun, atau tangkai daun yang dikeringkan dari tanaman. Umumnya, teh dibuat dari pucuk (daun muda) *Camelia*

sinensis yang melalui proses pengolahan tertentu. Saat ini dimunculkan “teh” terbuat dari rumput laut jenis *Sargassum sp.* Menurut Kustina (2006), kandungan mineral yang kaya pada *Sargassum sp.* memungkinkan untuk dijadikan sebagai minuman kesehatan seperti “teh” *Sargassum sp.* Produk “teh” *Sargassum sp.* merupakan kombinasi antara manfaat dari teh dan *Sargassum sp.* Kandungan senyawa aktif pada “teh” *Sargassum sp.* seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid dapat berperan sebagai antiobesitas serta kandungan lainnya yang dapat membuang zat sisa dalam tubuh dan sel-sel mati akibat radikal bebas.

Pembuatan “teh” *Sargassum sp.* tidak jauh berbeda dengan pembuatan teh pada umumnya yakni perendaman dengan larutan kapur sirih, pengeringan, dan penyeduhan. Menurut Tranggono dan Sutardi (1990), sebagian besar pigmen dalam jaringan tanaman mengalami perubahan selama penyimpanan dan pengolahan. Proses pengolahan “teh” rumput laut tersebut, menyebabkan terjadinya perubahan terhadap kandungan pigmen pada alga coklat. Salah satunya adalah kandungan pigmen beta karoten pada rumput laut tersebut. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang ekstraksi dan isolasi pigmen beta karoten dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan “teh” rumput laut mengingat pentingnya fungsi β -karoten.

1.2 Rumusan Masalah

Salah satu kelompok pigmen alami yang sangat penting adalah karotenoid. Beta karoten termasuk karotenoid yang berwarna kuning sampai merah. Pigmen ini terdapat dalam kloroplas dan kromoplas pada alga coklat. Menurut Amstrong (1996), karotenoid merupakan pigmen organik yang terdapat secara alami pada khromoplast dari tanaman, organisme fotosintesis seperti alga. Beta karoten juga berperan dalam proses fotosintesis yaitu menyerap cahaya serta melindungi senyawa dari auto-oksidasi. Salah satu fungsi fisiologis

utama dari beta karoten yaitu sebagai prekursor vitamin A, selain itu juga sebagai perlindungan terhadap kanker dan antioksidan yang potensial. Beta-karoten secara langsung melindungi sel dari oksidasi dan meningkatkan limfosit proliferasi, fungsi sel T, produksi sitokin dan toksik sel mediated, contohnya sitotoksik sel Natural Killer (NK) (Wahlqvist, 2002). Penelitian menunjukkan bahwa makanan yang mengandung antioksidan seperti β -karoten dapat mencegah penyakit diabetes mellitus dan asupan makanan yang mengandung β -karoten dapat mencegah penyakit rabun senja, berbagai penyakit kanker terutama kanker paru-paru (Tungriani *et al.*, 2012). Saat ini sudah banyak dilakukan pemanfaatan terhadap rumput laut coklat, salah satunya adalah pembuatan minuman "teh".

Rumput laut coklat jenis *Sargassum cristaefolium* dapat dijadikan sebagai minuman kesehatan seperti "teh", seperti yang dilakukan masyarakat desa Cabiya Pulau Talango Madura. Proses pembuatan teh dimulai dari perendaman dengan larutan kapur sirih, pengeringan dan penyeduhan. Hal ini menyebabkan terjadinya beberapa kandungan penting mengalami perubahan, salah satunya adalah pigmen pada alga coklat tersebut. Salah satu cara untuk mengetahui kandungan beta karoten pada alga coklat yaitu melalui ekstraksi dan isolasi.

Ekstraksi dan isolasi pigmen beta karoten sudah banyak dilakukan diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Merdekawati *et al.* (2009), Limantara *et al.* (2009), Biranti *et al.* (2009), dan Erawati (2006). Berdasarkan informasi tersebut, dilakukan penelitian mengenai ekstraksi dan isolasi pigmen β -karoten alga coklat jenis *Sargassum cristaefolium* segar dan "teh" rumput laut dengan permasalahan:

- Bagaimanakah perbandingan hasil ekstraksi dan isolasi pigmen β -karoten dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan "teh" rumput laut ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan hasil ekstraksi dan isolasi pigmen β -karoten dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan “teh” rumput laut.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk meningkatkan nilai guna pigmen β -karoten yang terkandung dalam *Sargassum cristaefolium* sebagai salah satu komoditi perikanan, serta memberikan informasi mengenai pigmen β -karoten hasil ekstraksi dan isolasi dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan “teh” rumput laut sehingga dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut. Seperti karakterisasi pigmen β -karoten pada “teh” rumput laut untuk mengetahui kestabilan β -karoten.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Kimia Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2012 - April 2013.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pigmen

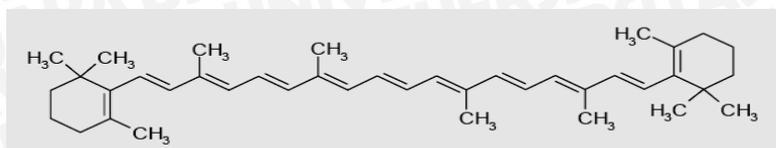
Pigmen merupakan senyawa kimia yang menyerap cahaya dan memunculkan warna dengan memantulkannya pada rentang panjang gelombang tertentu (Vargas *et al.*, 2000). Zat warna atau pigmen terdapat secara alami dalam sel makhluk hidup terutama tumbuhan. Pigmen biasanya terdapat dalam vakuola atau organel tertentu dalam sel tumbuhan (Prangdimurti, 2007). Pigmen juga sangat sensitif terhadap pengaruh kimia dan fisik selama pengolahan. Terutama panas sangat berpengaruh terhadap pigmen bahan pangan, juga benturan mekanik dan penggilingan biasanya menyebabkan perubahan warna bahan pangan (Tamujaya, 2011).

2.2 Pigmen Beta Karoten

Karotenoid adalah salah satu kelompok pigmen alami yang sangat penting, warnanya mulai dari kuning sampai merah (Asni, 2000). Karotenoid berasal dari kelas terpenoid, berupa rantai poliena dengan 40 karbon yang dibentuk dari delapan unit isoprena C_5 , yang memberikan struktur molekul karotenoid yang khas (Fretes *et al.*, 2012). Karotenoid dikelompokkan menjadi 2 kelompok : (1) karoten, yang merupakan kelompok hidrokarbon ($C_{40}H_{56}$) dan (2) xantofil, yang merupakan turunan karoten teroksigenasi (Gross, 1991; Fretes *et al.*, 2012).

Beta karoten merupakan senyawa organik yang berantai karbon panjang dan bersifat non polar. Beta karoten mempunyai dua struktur cincin yang sama pada kedua sisi rantai karbon alifatik, yaitu berupa cincin beta-ionon (β 5-1, 1,5-trimetil-siklo-heksan). Oleh karena itu, molekul ini disebut pula β , β -karoten

(Ismiyati, 2008). Struktur kimia beta karoten Winarni (2007) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Beta Karoten (Winarni, 2007)

Beta-karoten mempunyai rumus molekul $C_{40}H_{56}$ dengan berat molekul 536.873 g/mol, berat jenis 0.941 ± 0.06 g/cm³, titik didih 180 -182 dan larut dalam kloroform (Susilowati, 2008). Zat warna beta karoten mempunyai persenyawaan yang simetris, bagian tengahnya merupakan rantai atom C yang panjang dengan ikatan-ikatan rangkap yang dapat diukur dengan ikatan tunggal. Pada kedua ujung rantai ini terdapat cincin segi enam (Akbar, 2012).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Limantara dan Heriyanto (2010), beta karoten dapat terdeteksi pada panjang gelombang 452 dan 478 nm. Gross (1991), menambahkan bahwa panjang gelombang serapan maksimum beta karoten yaitu 425, 451, dan 478 nm. Nilai serapan beta karoten menurut SCOR WG 78 dalam Jeffrey *et al.* (1997), adalah 449 nm dan 477 nm. Pada penelitian Britton *et al.* (1995) nilai R_f beta karoten adalah 0,8 – 1,0. Ditambahkan oleh Merdekawati *et al.* (2009), nilai R_f beta karoten pada penelitian yang telah dilakukannya adalah 0,84 dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 448 nm dan 474 nm.

Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa bahan yang dikeringkan mudah kehilangan pigmen karotenoid khususnya β -karoten, karena cenderung mengalami oksidasi. Turunnya aktivitas air akibat pengeringan juga menyebabkan terjadinya degradasi β -karoten. Hasil degradasi β -karoten antara lain β -karoten 5,6 epoksida, mutakrom-5,8, epoksida (Wulan, 2001).

Menurut Mudambi dan Rajagopal (1977), penurunan intensitas warna karena kerusakan β -karoten yang besar terjadi pada pemanasan lebih dari 100°C. Karotenoid relatif stabil terhadap pemanasan. Namun terjadi juga stereomutasi secara lambat sehingga intensitas tetap turun. Stereomutasi merubah ikatan trans menjadi cis yang berakibat pada pengurangan intensitas warna. Kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa. Namun ada beberapa perkecualian untuk astaxanthin, aktinoeritrin, peridinin dan fukosantin yang tidak stabil terhadap basa walaupun dalam keadaan anaerobik (Fardiaz *et al.*, 1995).

2.2.1 Manfaat Beta Karoten

Salah satu fungsi fisiologis utama dari karotenoid adalah sebagai prekursor vitamin A. Sebagai prekursor vitamin A, karotenoid merupakan nutrisi penting yang akan diubah menjadi vitamin A (Merdekawati dan Susanto, 2009). Cincin β dari beta karoten didalam tubuh akan diubah menjadi vitamin A oleh enzim 15, 14' dioksigenase menjadi 2 molekul retinal, kemudian molekul retinal akan direduksi menjadi retinol yang merupakan vitamin A (Fretes *et al.*, 2012).

Sebagai antioksidan, karotenoid mampu melindungi sel dan organisme dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Perlindungan tersebut terjadi karena karotenoid mempunyai kemampuan dalam meniadakan aktivitas spesies radikal bebas. Penghambatan radikal bebas oleh karotenoid terutama dilakukan oleh β -karoten (Merdekawati dan Susanto, 2009).

Karotenoid memberikan kontribusi yang besar bagi berbagai sektor kehidupan terutama sebagai sumber vitamin A yang bermanfaat bagi organ visual, pewarna makanan, bahan aditif pada makanan, penambah sel darah merah, antioksidan, antibakteria, meningkatkan imunitas, serta pengganti sel-sel yang rusak (Fretes *et al.*, 2012). Beta karoten selain mampu melawan radikal bebas juga berfungsi sebagai anti penuaan dan anti kanker, serta dapat

membantu meningkatkan kekebalan tubuh. Oleh karena itu beta karoten telah banyak digunakan sebagai bagian dari pengobatan maupun terapi (Hariyani, 2012).

2.3 *Sargassum cristaefolium*

Rumput laut disebut juga dengan *seaweed* merupakan tanaman fotosintetik tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun. Wujudnya tampak seperti ada perbedaan, tetapi sesungguhnya merupakan bentuk thallus saja (Supirman *et al.*, 2013). Rumput laut coklat dari genus *Sargassum* salah satunya *Sargassum Cristaefolium* struktur organnya menyerupai akar, batang dan daun sebagaimana halnya tumbuhan tingkat tinggi (Ghazali, 2007). *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu marga *Sargassum* termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. Klasifikasi *Sargassum cristaefolium* menurut C. Agardh (1820) dalam Guiry (2013) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Ochrophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: Sargassum
Spesies	: <i>Sargassum cristaefolium</i> C. Argadh

Alga coklat *Sargassum cristaefolium* biasa dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin. Habitat alga ini tumbuh diperairan pada kedalaman 0,5 – 10 m, ada arus dan ombak. Pertumbuhannya sebagai makro alga benthik melekat pada substrat dasar perairan (Fahri, 2010).

Sargassum cristaefolium dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Sargassum cristaefolium*
(Sumber : Dokumentasi Peneliti)

Ciri-ciri dari *Sargassum cristaefolium* adalah thalli bulat pada batang utama dan agak gepeng pada percabangan, permukaan halus atau licin, percabangan dichotomous dengan daun bulat lonjong, pinggir bergerigi, tebal dan duplikasi (*double edged*), serta vesicle melekat pada batang daun, bulat telur atau elips (Hidayat, 2012). Warna thallus rumput laut cokelat berasal dari campuran pigmen golongan klorofil dan pigmen golongan karotenoid. Variasi warna thallus setiap spesies rumput laut cokelat sangat dipengaruhi oleh komposisi serta kandungan pigmen penyusunnya (Limantara dan Heriyanto, 2010). Menurut Kustina (2006), *Sargassum* lebih dikenal dengan nama *kelp* merupakan sumber yang kaya dengan kandungan soda, kalium karbonat, iodium, dan asam alginat. Komposisi kimia *Sargassum sp* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum*

Komposisi Kimia	Jumlah dalam %
Air	11,71
Protein	5,53
Karbohidrat	19,06
Tepung	-
Lemak	0,74
Serat-serat	28,39
Serat kasar	34,57
Abu	-
Iodium	-

Sumber: Kustina (2006)

2.4 Teh

Teh adalah minuman yang mengandung kafein yang dibuat dengan cara menyeduh daun, pucuk daun, atau tangkai daun yang dikeringkan dari tanaman *Camelia chinensis* dengan air panas (Rosita *et al.*, 2012). Teh yang berasal dari tanaman teh dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu teh putih, teh hijau, teh oolong, dan teh hitam atau teh merah. Berdasarkan proses pembuatannya teh dibagi menjadi 4 kategori, yaitu teh putih adalah teh yang tidak mengalami proses apapun selain hanya dikeringkan; teh hijau adalah teh yang tidak mengalami fermentasi; teh oolong adalah teh yang mengalami fermentasi sebentar; dan teh hitam atau teh merah adalah teh yang mengalami fermentasi penuh (Panuju, 2008).

Teh merupakan minuman non alkoholik yang terpopuler di dunia, termasuk didalamnya adalah jenis teh hijau dan teh hitam yang memiliki banyak manfaat meningkatkan kesehatan manusia (Mila, 2012). Teh mengandung mineral seng, besi dan tembaga yang mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan. Beberapa kandungan mineral yang terkandung dalam teh adalah flour, kalium, mangan, magnesium, tembaga, besi, seng, dan selenium (Utami dan Yunahara, 2014).

Kandungan kimia dalam daun teh menurut Roni (2008) dapat digolongkan menjadi empat kelompok besar, yaitu substansi fenol, substansi non fenol, substansi aromatis, dan enzim. Substansi fenol terdiri atas katekin dan flavanol; substansi non fenol terdiri atas karbohidrat, pektin, alkaloid, protein, klorofil, asam organik, resin, vitamin, dan mineral; serta enzim terdiri atas enzim invertase, amilase, β -glukosidase, oksimetilase, protease, dan peroksidase.

Senyawa utama yang dikandung teh adalah katekin, yaitu suatu turunan tannin terkondensasi yang juga dikenal sebagai senyawa polifenol karena banyaknya gugus fungsional hidroksil yang dimilikinya. Beberapa vitamin

yang dikandung teh di antaranya vitamin C, vitamin B, dan vitamin A yang diduga akan menurun kadarnya akibat pengolahan, namun masih dapat dimanfaatkan oleh peminumnya (Kustamiyati, 2006). Komposisi kimia daun teh segar dan teh kering dalam teh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Daun Teh Segar dan Teh Kering dalam Teh

Komponen	Teh Segar (%)	Teh Kering (%)
Air	9,51	3
Asam Amino	25,5	25,5
Kafein	3,58	3,58
Minyak esteris	0,58	0,68
Lemak, hijau daun, lilin	6,39	6,39
Dekstrin	6,44	6,44
Tanin	15,65	8,65
Tanin teroksidasi	0	10,51
Pektin dll	16,02	16,02
Serat	11,58	11,58
Abu	5,65	5,65

Sumber: Panuju (2008)

2.4.1 Teh Rumput Laut

Istilah “teh” digunakan untuk minuman yang dibuat dari buah, rempah-rempah atau tanaman obat lain yang diseduh sedangkan teh yang tidak mengandung daun teh disebut teh herbal (Rosita *et al.*, 2012). Menurut Firdhayani (2010), minuman dari *Sargassum sp* salah satunya yaitu teh rumput laut coklat (*Sargassum sp*), merupakan produk herbal efisien dan bernilai ekonomis. Karena teh rumput laut coklat (*Sargassum sp*) dengan kandungan bahan alginat, iodine dan guluronat yang dapat membuang zat-zat sisa dalam tubuh, seperti lemak dan sel-sel mati akibat radikal bebas.

Pemanfaatan teh *Sargassum* oleh masyarakat Vietnam ini telah dilakukan sejak lama. Di Vietnam bagian selatan hingga tengah seperti Khanh Hoa, Quang Nam, Quang Ngai, Binh Dinh, dan lain-lain orang telah memanfaatkan *Sargassum* dan *Porphyra* sebagai minuman teh yang berkhasiat

medis. Olahan rumput laut coklat berupa teh bisa disajikan dengan dicelup (seperti teh celup), serbuk (*powder*), instan dalam kemasan gelas (Putri, 2011).

2.4.2 Kandungan “Teh” Rumput Laut

“Teh” rumput laut coklat *Sargassum sp* memiliki kandungan bahan alginat, iodine dan guluronat yang dapat membuang zat-zat sisa dalam tubuh, seperti lemak dan sel-sel mati akibat radikal bebas (Firdhayani, 2010). Menurut Putri (2011), didalam *Sargassum sp* terkandung senyawa-senyawa aktif seperti steroida, alkaloida, fenol, dan triterpenoid yang dapat menjadikan *Sargassum sp* sebagai minuman sejenis *slimming tea*.

Komposisi “teh” rumput laut berdasarkan penelitian yang dilakukan Kustina (2006), kandungan rata-rata iodium teh rumput laut kering matahari sebesar 3,24 µg/g bk dan kering sangrai sebesar 2,89 µg/g bk. Kadar sari “teh” rumput laut sebesar 2.43,45 dan 221,13 mg/g, kadar air sebesar 4,78% dan kadar abu sebesar 21,2%.

Sedangkan menurut penelitian Putri (2011), komposisi kimia *Sargassum sp.* yang digunakan sebagai *slimming tea* dikeringkan dengan oven 60°C yaitu kadar air sebesar 14,85%, kadar lemak sebesar 0,26%, kadar protein sebesar 6,48%, dan kadar karbohidrat sebesar 60,02%. Ekstrak kasar *Sargassum sp.* yang digunakan sebagai *slimming tea* mengandung komponen bioaktif yaitu alkaloid, steroid/terpenoid, flavonoid, saponin, fenol, hidrokuinon, dan tanin. Berdasarkan komposisi kimianya antara teh dengan “teh” rumput laut *Sargassum sp.* memiliki persamaan yaitu adanya kandungan air, lemak, serat, karbohidrat, mineral dan senyawa bioaktif (seperti fenol dan turunannya). Sedangkan perbedaan antara teh dengan “teh”, kandungan yang dimiliki teh tidak dimiliki “teh” rumput laut yaitu enzim, asam amino, dan kafein.

2.4.3 Manfaat “Teh” Rumput Laut

Teh dikenal sebagai minuman penyegar karena dengan meminumnya baik dengan teknik penyajian panas maupun dingin, orang akan merasa lebih segar. Disebut sebagai penyegar karena daun teh mengandung zat alkaloid yang dapat memberikan efek segar bagi peminumnya (Asni, 2000).

Teh *Sargassum sp* merupakan produk herbal efisien dan bernilai ekonomis. Karena teh *Sargassum sp* dapat membuang zat - zat sisa dalam tubuh, seperti lemak dan sel - sel mati akibat radikal bebas (Firdhayani, 2010). *Sargassum sp* mengandung senyawa – senyawa aktif yang dapat dijadikan sebagai minuman sejenis *slimming tea* atau sebagai bahan baku obat pelangsing tubuh. Oleh karena itu minuman pelangsing tubuh berkhasiat untuk mengatasi kegemukan (Putri, 2011).

2.5 Proses Pembuatan “Teh” Rumput Laut

Proses pembuatan “teh” rumput laut berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kustina (2006), terdapat empat tahap yaitu pemilihan, pencucian, perendaman, dan proses pengeringan. Sedangkan proses penyeduhan dan perebusan teh rumput laut menggunakan suhu 89^oC dengan waktu perendaman 5 menit, volum air yang digunakan 200 ml.

2.5.1 Perendaman Air Kapur

Pengkondisian rumput laut yaitu berupa perendaman dan atau pemucatan. Perendaman yang dilakukan bertujuan untuk melanjutkan pembersihan rumput laut dari kotoran-kotoran yang mungkin masih melekat (Hudaya, 2008).

Kapur berasal dari kulit kerang laut atau cangkang dari kerang yang telah dibakar. Kapur sirih biasa ditemukan berwarna putih baik dalam bentuk kering

atau basah. Saat kering kapur sirih berumus molekul CaO , sedangkan saat basah/larutan berumus molekul Ca(OH)_2 . Kapur sirih (Ca(OH)_2) yang dilarutkan dalam air akan terionisasi membentuk ion OH^- yang bersifat basa dan dapat menetralkan suasana asam (Paembong, 2012). Kelarutan kapur sirih (Ca(OH)_2) di dalam air pada suhu 0°C sebanyak 0,185 gram/ 100 gram bahan; berat molekul sebesar 74.08; dan kristal berbentuk heksagonal (Siallagan, 2009).

2.5.2 Pengeringan

Pengeringan adalah proses pengeluaran air dari suatu bahan pertanian menuju kadar air keseimbangan dengan udara sekeliling atau pada tingkat kadar air, dimana mutu suatu bahan pertanian dapat dijaga dari serangan jamur, aktivitas serangga dan enzim (Wadli, 2005).

Dasar pengeringan adalah terjadinya penguapan air dari bahan ke udara karena perbedaan kandungan uap air antara udara dengan bahan yang dikeringkan. Dalam hal ini udara mengandung uap air atau kelembapan nisbi yang lebih rendah sehingga terjadi penguapan (Siallagan 2009).

Keuntungan pengeringan adalah bahan menjadi tahan lama disimpan dan volume bahan menjadi lebih kecil sehingga mempermudah dan menghemat ruang pengangkutan dan pengepakan (Putri, 2011). Sedangkan kerugian proses pengeringan adalah hilangnya flavor yang mudah menguap, pemucatan pigmen, perubahan struktur, dan timbulnya bau gosong bila kondisi pengeringan tidak terkendali (Buckle *et al.*, 1985).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan dari bahan padat ataupun cair senyawa organik dari campurannya dengan yang memanfaatkan perbedaan sifat kelarutan dari masing-masing komponen dengan bantuan pelarut tertentu (Reskika, 2011). Ekstraksi didefinisikan sebagai salah satu proses penarikan

keluar atau proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, biasanya menggunakan pelarut (Wijayanti, 2010).

Prinsip dari ekstraksi adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu (Septiana dan Ari, 2012). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut dan tipe pelarut (Harborne, 1987)).

Metode ekstraksi dikelompokkan menjadi dua, yaitu ekstraksi sederhana dan ekstraksi khusus. Ekstraksi sederhana yaitu maserasi, perlokasi, reperlokasi, evakolasi, dan dialokasi. Sedangkan ekstraksi khusus yaitu sokletasi, arus balik, dan ultrasonik (Maulida, 2007). Maserasi merupakan proses penyaringan dengan cara serbuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Reskika, 2011). Sedangkan menurut Dewi (2010), maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (*simplisia*) dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan.

Pada proses maserasi selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang diinginkan (Nurdiansyah, 2011). Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugian dari metode ini adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Siska *et al.*, 2011).

2.7 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen dalam suatu ekstrak menjadi kelompok-kelompok senyawa yang memiliki kemiripan karakteristik secara kimia (Hartika, 2009). Fraksinasi merupakan proses penurunan suhu suatu campuran (umumnya minyak) yang mengakibatkan hilangnya panas serta melambatnya gerakan molekul, sehingga jarak antar molekul menjadi lebih dekat (Erawati, 2006).

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama kandungan yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawanya menjadi fraksi yang berbeda tergantung pada jenis tumbuhan maupun simplisianya. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa yang bersifat non-polar akan masuk ke pelarut non-polar (Harborne 1987).

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedang fraksi yang lebih ringan akan berada diatas (Lestari, 2011).

Metode pemisahan atau yang umum dikenal sebagai fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen suatu ekstrak menjadi kelompok-kelompok senyawa yang memiliki kemiripan karakteristik secara kimia. Fraksinasi akan berjalan dengan tepat apabila menggunakan pelarut yang paling baik dan sesuai dalam pemisahan senyawa-senyawa yang difraksinasi (Yani, 2011).

2.8 Pelarut

Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Septiana dan Ari, 2012). Menurut Al-Ash'ary *et al.* (2010), perolehan senyawa kimia ini didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut yang digunakan. Pelarut polar akan melarutkan solut yang non polar atau disebut dengan like dissolve like.

Senyawa polar adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsurnya. Hal ini terjadi karena unsur yang berikatan tersebut mempunyai nilai keelektronegatifitas yang berbeda atau senyawa yang dapat larut dalam air atau pelarut polar lain, seperti n-heksana dan metanol. Sedangkan senyawa non-polar adalah senyawa yang tidak dapat larut dalam air seperti etil asetat (Reskika, 2011). Polaritas sering diartikan sebagai adanya pemisahan kutub muatan positif dan negatif dari suatu molekul sebagai akibat terbentuknya konfigurasi tertentu dari atom-atom penyusunnya. Keadaan ini menyebabkan molekul tersebut dapat tertarik oleh molekul lain yang juga mempunyai polaritas yang kurang lebih sama. Besarnya polaritas dari suatu zat pelarut mempunyai hubungan tegak lurus dengan besarnya konstanta dielektriknya (Adnan 1997).

Konstanta dielektrik (ϵ) merupakan salah satu ukuran kepolaran pelarut yang mengukur kemampuan pelarut untuk menyaring daya tarik elektrostatis antara isi yang berbeda. Salah satu ciri penting pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat atau senyawa adalah ketetapan dielektriknya (Purba, 2011). Suatu pelarut ideal adalah yang memiliki selektivitas tinggi, yakni untuk memisahkan senyawa dengan bobot molekul rendah, seperti alkaloid, saponin, dan terpenin. Pelarut yang paling baik digunakan adalah alkohol alifatik

dengan maksimum tiga atom karbon atau campuran dari pelarut itu dengan air (Supriyadi, 2009). Beberapa sifat-sifat umum pelarut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat Umum Pelarut

Solvent	Rumus Kimia	Titik didih	Konstanta Dielektrik	Massa jenis
Pelarut Non-Polar				
Heksana	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	69 °C	2.0	0.655 g/ml
Benzena	C ₆ H ₆	80 °C	2.3	0.879 g/ml
Toluena	C ₆ H ₅ -CH ₃	111 °C	2.4	0.867 g/ml
Dietil eter	CH ₃ CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃	35 °C	4.3	0.713 g/ml
Kloroform	CHCl ₃	61 °C	4.8	1.498 g/ml
Etil asetat	CH ₃ -C(=O)-O-CH ₂ -CH ₃	77 °C	6.0	0.894 g/ml
Pelarut Polar Aprotic				
1,4-Dioksana	/-CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₂ -O-\	101 °C	2.3	1.033 g/ml
Tetrahidrofuran (THF)	/-CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₂ -\	66 °C	7.5	0.886 g/ml
Diklorometana (DCM)	CH ₂ Cl ₂	40 °C	9.1	1.326 g/ml
Asetona	CH ₃ -C(=O)-CH ₃	56 °C	21	0.786 g/ml
Asetonitril (MeCN)	CH ₃ -C≡N	82 °C	37	0.786 g/ml
Dimetilformamida (DMF)	H-C(=O)N(CH ₃) ₂	153 °C	38	0.944 g/ml
Dimetil sulfoksida (DMSO)	CH ₃ -S(=O)-CH ₃	189 °C	47	1.092 g/ml

Sumber : Hamijaya (2010)

2.8.1 Metanol

Metanol merupakan salah satu pelarut organik yang dapat bercampur dengan air dan secara umum digunakan dalam proses ekstraksi karotenoid serta klorofil dari sampel biologis (Schiedt dan Liaaen-Jensen, 1995; Limantara dan Heriyanto, 2011).

Metanol adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH₃OH. 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) (Hikmah dan Zuliyana, 2010). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sifat-sifat Metanol

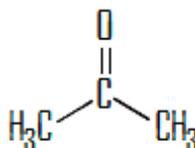
No.	Karakteristik	Metanol
1.	Nama lain	Hidroksi metana, metil alkohol, metil hidrat, alkohol kayu, dan karbinol
2.	Rumus molekul	CH ₃ OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$
3.	Sifat	Mudah terbakar, tidak berwarna
4.	Titik leleh	-97 ^o C
5.	Titik didih	64.7 ^o C
6.	Massa molar	32.04 g/mol
7.	Densitas	0,7918 g/cm ³ , cair
8.	Titik nyala	11 ^o C
9.	Konstanta dielektrik	33

Sumber: Hamijaya (2010)

2.8.2 Aseton

Aseton, juga dikenal sebagai propanon, dimetil keton, 2-propanon, propan-2-on, dimetilformaldehida, dan β-ketopropana, adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar (Maulidia dan Naufal, 2010). Aseton merupakan keton yang paling sederhana. Aseton larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter, dan lain-lain. Aseton merupakan pelarut yang penting. Dalam laboratorium aseton digunakan sebagai pelarut polar dalam kebanyakan reaksi organik, seperti SN₂ (Putri, 2010).

Struktur aseton dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Aseton
(Sumber: Putri, 2010)

Ditambahkan oleh Gunawan (2009), aseton merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidroksil (alkohol) dan karbonil (keton) yang termasuk pelarut

polar. Aseton berfungsi sebagai pelarut karotenoid dalam keadaan terikat dengan senyawa lain yang bersifat polar. Sifat fisiko kimia pelarut aseton dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Sifat Fisiko Kimia Pelarut Aseton

Sifat Fisiko-Kimia	Aseton
Nama lain	Acetone, propan-2-one, dimethyl ketone
Berat molekul (g/mol)	58
Rumus empiris	C ₃ H ₆ O atau CH ₃ COCH ₃
Titik uap (°C)	56
Titik beku (°C)	-95
Polaritas (air 100)	35.5
Densitas (g/ml)	0.790

Sumber: Smallwood (1996)

2.8.3 Dietil eter

Dietil eter atau biasa disebut eter, merupakan cairan tak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar dengan titik didih 34,5°C. Eter ini biasa digunakan sebagai pelarut organik dan sebagai obat bius (Sukir, 2012). Dietil eter banyak digunakan sebagai bahan pelarut untuk reaksi organik dan pemisahan senyawa organik dari sumber alamnya. Dietil eter umumnya diproduksi dengan proses dehidrasi etanol dengan katalis asam sulfat pada suhu 125°C – 140°C (proses barbet) (Widayat dan Hantoro, 2008). Sifat fisik dietil eter dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Sifat Fisik Dietil Eter

Jenis Pelarut	Dietil eter
Titik Didih (°C)	35
Titik Beku (°C)	-116
Konstanta dielektrik	4,3

Sumber: Yanti (2008)

Eter adalah senyawa tak berwarna dengan bau enak yang khas. Titik didihnya rendah dibanding alkohol dengan jumlah atom karbon yang sama, dan

kenyataannya mempunyai titik didih sama dengan hidrokarbon, dimana pada eter gugus $-CH_2-$ digantikan oleh oksigen. Dietil eter mempunyai rumus bangun sebagai berikut $CH_3CH_2-O-CH_2CH_3$ (Fessenden and Fessenden, 1997).

2.8.4 Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut polar menengah sehingga golongan senyawa yang bersifat polar menengah akan larut pada pelarut ini (Hikmah *et al.*, 2009). Etil asetat adalah pelarut polar menengah (semi-polar) bersifat volatil. Pelarut etil asetat memiliki indeks polaritas sebesar 4,4. Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena dapat menyaring senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri, seperti senyawa flavonoid, pilohidroksi dan fenol (Reskika, 2011).

Etil asetat adalah cairan jernih, tak berwarna, berbau khas, yang bagian terbesarnya terdiri dari etil asetat dengan rumus $CH_3COOC_2H_6$ dan terutama digunakan sebagai pelarut tinta, perekat, resin (SNI, 2008). Konstanta dielektrik pelarut etil asetat, dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Konstanta dielektrik etil asetat

Zat pelarut	Konstanta Dielektrik (ϵ)
Aseton	20,70
n-heksan	1,89
Eter	4,34
Etil asetat	6,02

Sumber : Adnan (1997)

2.8.5 Heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$. Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. N-heksana merupakan jenis pelarut non polar (Maulidia dan Naufal, 2010).

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana. Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan Prima, 2010). Sifat fisiko kimia pelarut heksan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Sifat Fisiko Kimia Pelarut Heksana

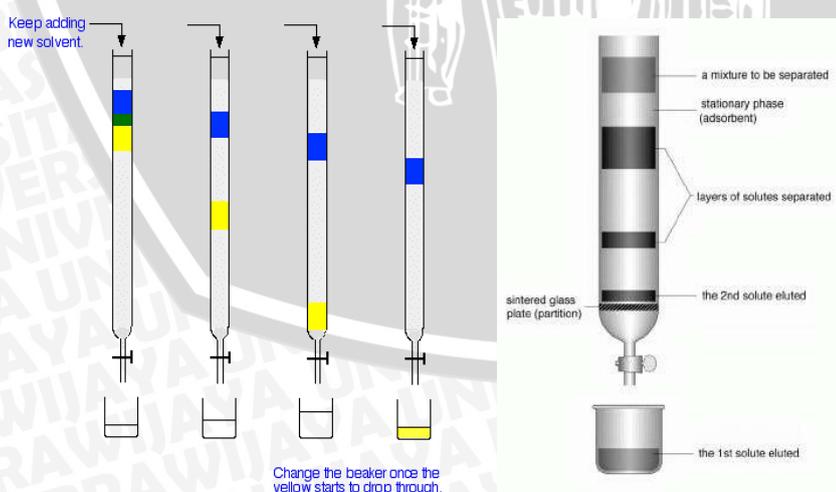
Sifat Fisiko-Kimia	Heksana
Nama lain	n-hexane
Berat molekul (g/mol)	86
Rumus empiris	C_6H_{14}
Titik uap ($^{\circ}C$)	69
Titik beku ($^{\circ}C$)	-95
Polaritas (air 100)	0.9
Densitas (g/ml)	0.659

Sumber: Smallwood (1996)

2.9 Kromatografi Kolom

Kromatografi adalah suatu istilah umum yang digunakan untuk bermacam-macam teknik pemisahan yang didasarkan atas partisi sampel diantara suatu fasa gerak yang bisa berupa gas ataupun cair dan fasa diam yang juga bisa berupa cairan ataupun suatu padatan (Subani, 2008). Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal. Sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat (Haqiqi, 2008).

Kolom kromatografi dapat berupa pipa gelas yang dilengkapi dengan kran dan gelas penyaring didalamnya, kadang buret pun dapat digunakan. Ukuran kolom tergantung pada banyaknya zat yang akan dipisahkan (Sastrohamidjojo, 2007). Dalam pemisahan kromatografi kolom ini, suatu pelarut pengelusi dialirkan secara kontinu melalui kolom dan komponen demi komponen dari campuran yang pada akhirnya keluar dari kolom dapat dikumpulkan dan difraksinasi (Hartika, 2009). Perubahan yang mungkin terjadi sejalan dengan perubahan waktu ditunjukkan pada Gambar 4.

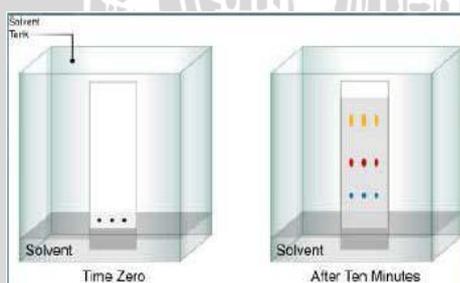


Gambar 4. Proses Kromatografi Kolom (Aprilia, 2012)

2.10 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan tipis yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal), kemudian pelat dimasukkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembang) dan selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Susilowati, 2008).

Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi adsorpsi tergantung pada kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang teradsorb pada permukaan dari fase diam padatan dan pelarut dalam fase cair. Tingkat adsorpsi komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak cair. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorb lebih kuat pada permukaan fase padatan. Aktivitas adsorben tergantung komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Noviyanti, 2010). Proses pemisahan sampel pada kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pemisahan Sampel
(Sumber: Abidin, 2011)

Pada tahap identifikasi atau penampakan noda, jika noda sudah berwarna dapat langsung diperiksa dan ditentukan harga R_f -nya. Besaran R_f ini menyatakan derajat retensi suatu komponen dalam fasa diam. R_f juga disebut faktor retardasi atau faktor retensi. Harga R_f dihitung sebagai jarak yang

ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak yang ditempuh eluen (fasa gerak) (Soebagio *et al.*, 2005).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Beberapa keuntungan kromatografi lapis tipis menurut Abidin (2011), antara lain : 1) Kromatografi lapisan tipis banyak digunakan untuk tujuan analisis. 2) Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, flourosensi atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet. 3) Metode pemisahan senyawa yang cepat, mudah dan menggunakan peralatan sederhana dalam menentukan kadar. 3) Dapat menggunakan sampel yang sangat kecil (mikro).

2.11 Analisa Kuantitatif Beta Karoten

2.11.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 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 (Fernandez, 2011).

Spektroskopi UV-Vis merupakan suatu metode identifikasi gugus fungsi dari sampel. Spektrum yang diabsorpsi oleh suatu senyawa adalah sejumlah sinar yang diserap oleh satu senyawa pada panjang gelombang tertentu. Untuk senyawa berwarna akan memiliki satu atau lebih penyerapan spektrum yang tertinggi di daerah spektrum tampak (400-700 nm). Biasanya cahaya tampak merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang, dari 400-700 nm. Transisi yang penting pada daerah ultraviolet dan

tampak yaitu transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$, sedangkan transisi $n \rightarrow \sigma^*$ jarang terjadi (Ningsih dan Erna, 2012).

Umumnya spektroskopi dengan sinar ultraviolet (UV) dan sinar tampak (VIS) dibahas bersama karena sering kedua pengukuran dilakukan pada waktu yang sama. Spektroskopi UV-VIS bersifat sangat kuantitatif dan jumlah sinar yang diserap oleh sampel disebut juga dengan hukum Lambert-Beer (Takeuchi, 2006).

2.11.2 Spektrofotometer *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

FTIR merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menganalisa komposisi kimia dari senyawa-senyawa organik, polimer, coating atau pelapisan, material semikonduktor, sampel biologi, senyawa-senyawa anorganik, dan mineral (Fernandez, 2011). Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum inframerah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui) (Anam *et al.*, 2007).

Daerah pada spektrum infra merah diatas 1500 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum atau gugus-gugus fungsi dalam molekul kimia, sedangkan daerah dibawah 1500 cm^{-1} menunjukkan daerah sidik jari (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip FTIR adalah ketika sampel berinteraksi dengan sinar (radiasi elektromagnetik), maka ikatan kimia pada panjang gelombang tertentu akan menyerap sinar ini dan akan bervibrasi. Vibrasi ini dapat berupa vibrasi tekuk atau vibrasi ulur. Absorbans atau vibrasi ini dihubungkan dengan ikatan tunggal atau gugus fungsi dari molekul untuk identifikasi senyawa yang tidak diketahui (Firmansyah, 2011). Spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektrofotometer FTIR
(Sumber: Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya)

Gugus fungsional (istilah dalam kimia organik) adalah kelompok gugus khusus pada atom dalam molekul, yang berperan dalam memberi karakteristik reaksi kimia pada molekul tersebut. Senyawa yang bergugus fungsional sama memiliki reaksi kimia yang sama atau mirip (Wati, 2010). Beberapa daftar frekuensi gugus inframerah menurut Day dan Underwood (2002), dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Beberapa Frekuensi Gugus Inframerah

Gugus	Frekuensi, cm^{-1}	Panjang gelombang, μ
OH Alkohol	3580 – 3650	2,74 – 2,79
H yang terikat	3210 – 3550	2,82 – 3,12
Asam	2500 – 2700	3,70 – 4,00
NH Amin	3300 – 3700	2,70 – 3,03
CH Alkan	2850 – 2960	3,37 – 3,50
Alken	3010 – 3085	3,23 – 3,32
Alkin	3300	3,03
Aromatik	~ 3030	~ 3,30
$\text{C} \equiv \text{C}$ Alkin	2140 – 2260	4,42 – 4,76
$\text{C} = \text{C}$ Alken	1620 – 1680	5,95 – 6,16
Aromatik	~ 1600	~ 6,25
$\text{C} = \text{O}$ Aldehida	1720 – 1740	5,75 – 5,81
Keton	1675 – 1725	5,79 – 5,97
Asam	1700 – 1725	5,79 - 5,87
Ester	1720 – 1750	5,71 – 5,86
$\text{C} \equiv \text{N}$ Nitril	2000 – 2300	4,35 – 5,00
NO_2 Nitro	1500 - 1650	6,06 – 6,67

Sumber : Day dan Underwood, 2002

Sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik, sehingga sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Radiasi inframerah menyebabkan terjadinya vibrasi dari gugus fungsi suatu molekul. Vibrasi terjadi pada panjang gelombang 2,5-15

μm (4000 cm⁻¹ –650 cm⁻¹) yang merupakan panjang gelombang umum dalam alat spektrofotometer inframerah. Ikatan-ikatan yang berbeda (C-C, C=C, C≡C, C-O, C=O, O-H, N-H, dst.) mempunyai frekuensi vibrasi yang berbeda dan kita dapat mendeteksi adanya ikatan-ikatan tersebut dalam molekul organik menyebabkan senyawa-senyawa organik dapat diidentifikasi melalui frekuensi yang karakteristik sebagai pita serapan dalam spektrum inframerah (Sastrohamidjojo, 1992).

2.11.3 Analisa Warna

Analisa warna L, a, b dilakukan untuk bahan cairan yang tidak tembus cahaya atau padatan, warna bahan dapat diukur dengan membandingkannya terhadap suatu warna standar yang dinyatakan dalam angka-angka (Setyaningtyas dan Teti, 2013). Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pengukuran warna adalah satuan warna L a* b* dimana L menandakan *lightness*, a* menunjukkan warna merah (+a) dan hijau (-a), sedangkan b* menunjukkan warna kuning (+b) dan biru (-b) (Tamujaya, 2011).

Menurut Rita (2011), berdasarkan nilai a dan b maka dapat dinyatakan nilai ⁰Hue dengan persamaan :

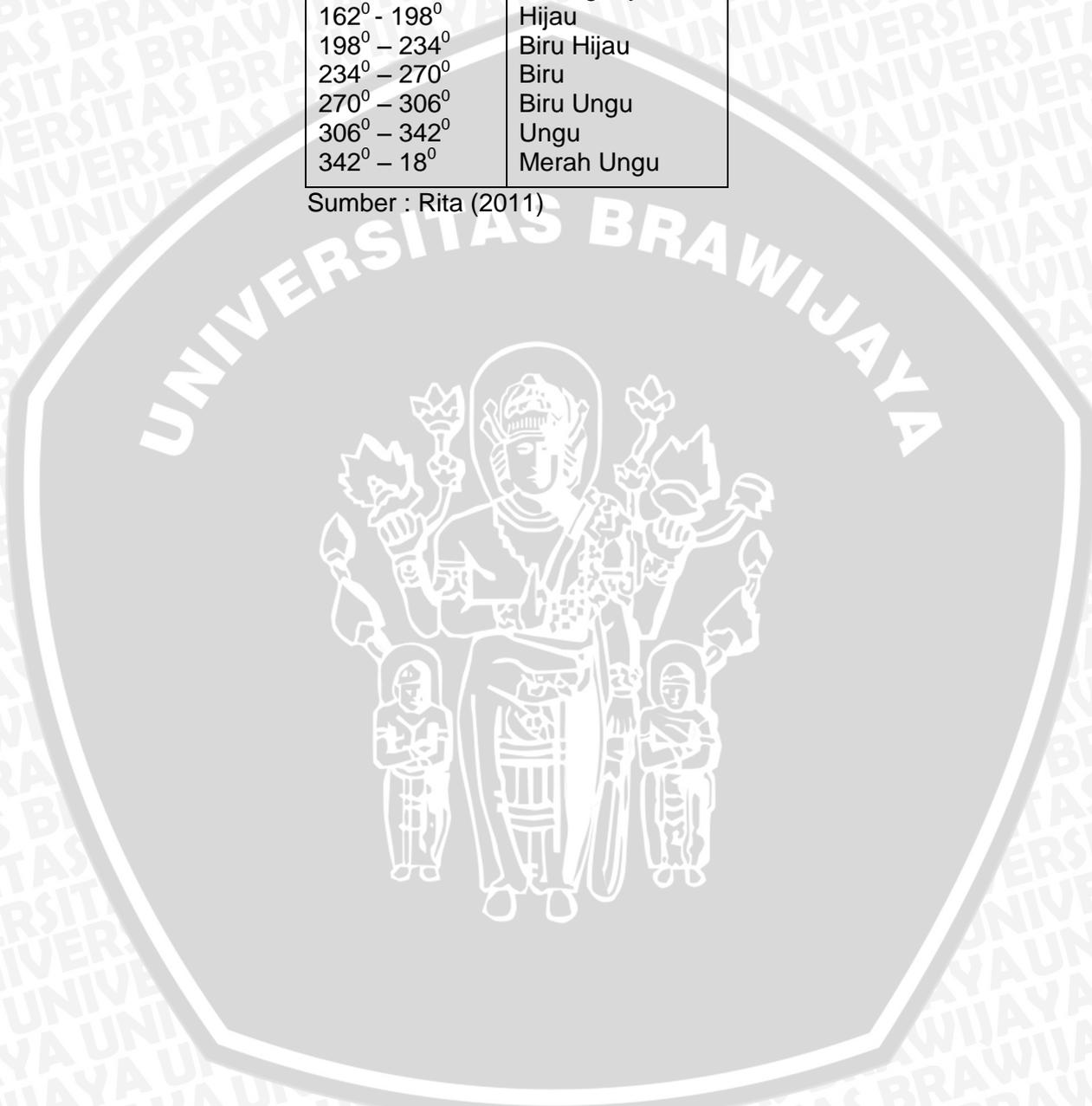
$$^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1} (b/a)$$

Nilai yang dihasilkan menyatakan warna pada sampel. Nilai ⁰Hue dan keterangan warna dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Keterangan Warna °Hue

°Hue	Keterangan
18° - 54°	Merah
54° - 90°	Kuning Merah
90° - 126°	Kuning
126° - 162°	Kuning Hijau
162° - 198°	Hijau
198° - 234°	Biru Hijau
234° - 270°	Biru
270° - 306°	Biru Ungu
306° - 342°	Ungu
342° - 18°	Merah Ungu

Sumber : Rita (2011)



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari bahan utama, bahan kimia, dan bahan penunjang. Bahan utama yang digunakan adalah alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari perairan Desa Cabiya, Pulau Talango, Kabupaten Sumenep, Madura. Bahan utama untuk proses perendaman teh alga coklat yaitu kapur sirih (Ca(OH)_2) dan air ledeng.

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini meliputi bahan untuk ekstraksi, fraksinasi, isolasi beta karoten, dan identifikasi pigmen beta karoten. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah aseton, metanol, dan dietil eter. Bahan kimia yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi pigmen beta karoten adalah heksan, etil asetat, *silica gel* F-254, dan aseton. Bahan kimia yang digunakan memiliki grade pro analisis (p.a) dengan merk Merck yang diperoleh dari Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Panadia Malang. Sedangkan bahan penunjang lain yang digunakan yaitu CaCO_3 , garam grosok, pasir laut (*sea sand*), aquades, air ledeng, alumunium foil, *cling wrap*, kertas saring kasar, kertas saling halus, *whatman* no. 42, gas nitrogen HP (*high pure*), tisu, kapas, kertas koran, dan kertas label.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi peralatan untuk pembuatan "teh" rumput laut, ekstraksi, fraksinasi, isolasi dan identifikasi pigmen beta karoten, serta peralatan untuk analisa. Peralatan yang digunakan untuk

pembuatan “teh” rumput laut terdiri dari *microwave*, *coolbox*, sikat, *beaker glass* 1000 ml, gunting, nampan, spatula, baskom, timbangan digital, dan blender. Peralatan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Nutrisi, Biokimia, dan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Peralatan yang digunakan untuk proses ekstraksi dan fraksinasi adalah timbangan digital, gunting, mortar, beaker glass 1000 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 100 ml, corong kaca, *rotary evaporator vaccum* merk Janke and Kunkel, spatula, botol sampel, pipet tetes, statif, corong pisah. Peralatan yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi pigmen beta karoten adalah kolom kromatografi dengan panjang 28 cm dan berdiameter 2 cm, statif, tabung reaksi, rak tabung reaksi, KLT (Kromatografi Lapis Tipis) merk Macherey-Nagel dengan lebar pelat 1 cm dan panjang 5 cm, mikropipet merk Socorex, penggaris, beaker glass 100 ml dan 50 ml, cawan petri, *hot plate* merk Favorit, *magnetic stirrer*, pipet volume 1 ml dan 10 ml, pipet tetes, gelas ukur 100 ml dan 10 ml. Peralatan yang digunakan untuk analisis adalah spektrofotometri UV-Vis merk Shimadzu 1601 dan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) merk Shimadzu yang diperoleh dari Laboratorium Kimia, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang dan alat uji mengukur warna dengan kromameter yang diperoleh dari Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Metode Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode eksploratif. Penelitian eksploratif adalah penelitian yang dilakukan untuk mencari sebab atau hal-hal yang mempengaruhi terjadinya sesuatu (Sedarmayanti dan Syarifudin, 2002). Tujuannya untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga,

setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan (Salim, 2007).

Penelitian eksploratif menurut Masyhuri dan Zainuddin (2008) dimasukkan ke dalam jenis penelitian terapan yang sifatnya sangat longgar, fleksibel, dan tidak terstruktur. Jumlah sampel tidak perlu terlalu banyak dan jika analisis dari data primer lebih bersifat kualitatif. Jadi penelitian ini berguna apabila peneliti tidak banyak mengetahui atau sedikit sekali mengetahui informasi mengenai masalah.

Metode eksploratif pada penelitian ini yaitu mengumpulkan data dengan melakukan penelitian. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan hasil ekstraksi dan isolasi pigmen β -karoten dari *Sargassum cristaefolium* segar dan "teh" rumput laut, serta teh seduh. Penelitian dilakukan dalam 2 kali ulangan untuk mendapatkan hasil terbaik, dan hasil yang terbaik digunakan sebagai data analisis. Data yang didapat dari penelitian meliputi kolom kromatografi, pola spektra UV-vis, spektra FTIR, serta pengukuran warna L,a,b dan $^{\circ}$ hue. Ada beberapa tahap yang dilakukan dalam penelitian ini, tahap pertama dimulai dengan pengambilan sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* dari perairan di desa Cabiya, Pulau Talango, Kecamatan Sumenep, Madura. Tahap kedua dilakukan penyiapan sampel yaitu *Sargassum cristaefolium* segar, "teh", dan teh seduh. Tahap ketiga dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi bertingkat. Tahap keempat dilakukan fraksinasi. Tahap kelima dilakukan isolasi pigmen menggunakan kromatografi kolom. Tahap keenam yaitu dilakukan identifikasi pigmen beta karoten dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, kemudian diketahui nilai Rf beta karoten dan dilakukan pemurnian pigmen beta karoten dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Analisis pigmen beta karoten dengan pengukuran panjang gelombang dan absorbansi menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis 1601 merk Shimadzu. Analisis gugus fungsi dilakukan

dengan menggunakan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) 8400s merk Shimadzu, serta pengukuran warna L, a, b dengan kromameter. Parameter uji penelitian ini yaitu perubahan pola spektra UV-vis, gugus fungsi β -karoten, dan pengukuran warna L, a, b, dan $^{\circ}$ hue. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel dan Pembuatan “Teh” Rumput Laut (Hernawan *et al.*, (2013) yang dimodifikasi)

Sargassum cristaefolium adalah bahan utama untuk pembuatan teh yang didapat dari perairan di Desa Cabiya, Pulau Talango, Madura. Bahan baku diambil secara langsung dari dalam laut dan langsung dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan lendir yang menempel, kemudian dibilas dengan air sampai bersih dengan menggunakan air tawar. Alga coklat *Sargassum cristaefolium* selanjutnya dimasukkan ke dalam kantong *polybag* hitam dan disimpan ke dalam *coolbox* yang ditambahkan es batu. Tujuannya untuk mempertahankan kesegaran bahan utama hingga sampai di Malang, dan penyimpanan selanjutnya dilakukan di dalam *freezer*.

Bahan utama digunakan untuk pembuatan “teh” rumput laut dengan perlakuan segar dan “teh”. Persiapan sampel untuk perlakuan segar yaitu *Sargassum cristaefolium* diambil dari *freezer*, kemudian dicuci kembali dengan air tawar yang mengalir dan disikat bagian daunnya. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan kotoran seperti pasir dan lendir yang masih menempel pada alga coklat. Alga coklat yang telah bersih ditiriskan menggunakan keranjang, bertujuan untuk mengurangi resapan air yang terdapat pada bahan. Alga coklat yang sudah ditiriskan, dipilih dan diambil pada bagian thalus dengan menggunakan gunting. Hal ini dilakukan karena kandungan pigmen paling

banyak terdapat pada thalus. Alga coklat dikeringkan dengan cara dibeberkan diatas lembaran koran untuk mengurangi kandungan air pada bahan, dan dilanjutkan ke tahap proses ekstraksi.

Persiapan sampel untuk perlakuan “teh”. *Sargassum cristaefolium* diambil dari freezer, kemudian dicuci kembali dengan air tawar yang mengalir dan disikat bagian daunnya. Alga coklat yang sudah bersih dilakukan perendaman dengan air kapur selama $\pm 4,5$ jam. Kapur yang digunakan adalah kapur sirih ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) sebanyak 20 gram dengan pH 11. Perendaman dalam air kapur bertujuan untuk menghilangkan bau amis yang terdapat pada alga coklat.

Alga coklat dicuci hingga bersih setelah dilakukan perendaman. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan bau kapur yang menempel pada alga coklat serta mencegah pengaruh adanya kapur terhadap analisa selanjutnya. Alga coklat yang sudah bersih ditiriskan menggunakan keranjang kemudian dikeringkan diatas lembaran koran. Penirisan bertujuan untuk mengurangi resapan air yang terdapat pada bahan. Alga coklat dipilih dan diambil pada bagian daun dengan menggunakan gunting.

Alga coklat kemudian dikeringkan menggunakan *microwave* dengan suhu 80°C selama 30 menit atau sampai kadar airnya 5%. Alga coklat yang sudah kering selanjutnya digiling dengan blender sampai menjadi serbuk teh, kemudian dikemas dengan plastik klip dan dilapisi aluminium foil untuk menjaga kualitas pigmen “teh” rumput laut. Pada perlakuan teh seduh, penyeduhan dilakukan menggunakan air panas dengan perbandingan 1:10 yaitu dengan volume air 100 ml dan “teh” rumput laut sebanyak 10 gram selama 7 menit. Prosedur persiapan sampel dan pembuatan “teh” rumput laut, serta teh seduh dapat dilihat pada Lampiran 2. Skema proses persiapan awal sampel dapat dilihat pada Gambar 7.

3.3.2 Ekstraksi Pigmen Alga Coklat (Pangestuti *et al.* (2007) dimodifikasi oleh Muamar (2009))

Sampel yang digunakan untuk ekstraksi pigmen yaitu alga coklat segar dan “teh”, sedangkan untuk teh seduh hanya dilakukan pengukuran absorbansi. Prosedur proses ekstraksi dapat dilihat pada Lampiran 3.

Langkah pertama proses ekstraksi pada penelitian ini yaitu alga coklat segar yang sudah bersih dipotong dengan ukuran ± 1 cm untuk memperluas permukaan bidang sehingga pigmen terekstraksi dengan maksimal. Alga coklat kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dihaluskan dengan mortar yang diberi CaCO_3 10 gram. Penambahan CaCO_3 pada saat penghalusan sampel bertujuan untuk menetralkan alga coklat yang bersifat basa. “Teh” rumput laut yang sudah berupa serbuk ditimbang sebanyak 100 gram.

Alga coklat segar dan “teh” selanjutnya diekstraksi dengan cara maserasi. Maserasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan cara maserasi bertingkat, yaitu perendaman sampel dengan menggunakan pelarut metanol (CH_3OH) dan aseton (CH_3COCH_3) dengan perbandingan (7:3 v/v) sebanyak 300 mL yang dilakukan 3 tahap. Pada tahap pertama maserasi dilakukan selama 24 jam, tahap kedua selama 12 jam, dan tahap ketiga selama 6 jam. Pemilihan pelarut metanol dan aseton sebagai pelarut ekstraksi karena campuran pelarut tersebut dapat melarutkan karotenoid secara umum termasuk beta karoten. Penyaringan dilakukan setelah proses ekstraksi dengan menggunakan kertas saring halus hingga diperoleh filtrat. Proses penyaringan dilakukan untuk mengambil zat-zat pigmen dan membuang sisa-sisa rumput laut.

3.3.3 Fraksinasi Pigmen Alga Coklat (Pangestuti *et al.*, (2007) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009))

Filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan kemudian dilakukan fraksinasi (partisi) dengan menggunakan corong pisah. Prosedur proses

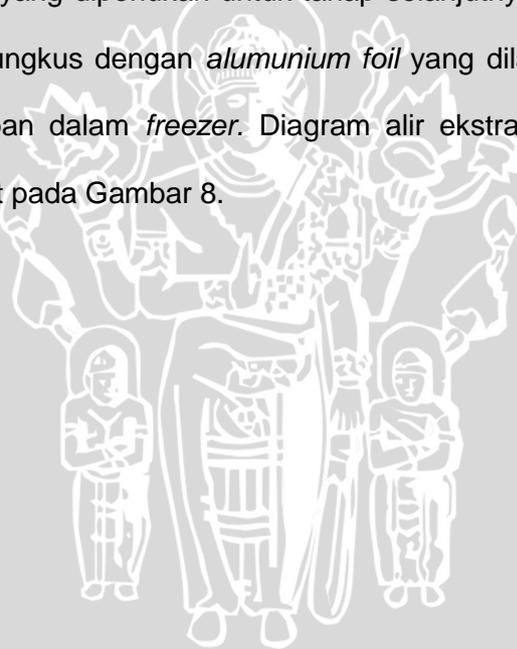
fraksinasi dapat dilihat pada Lampiran 3. Proses fraksinasi ini dilakukan dengan menggunakan dietil eter ($C_2H_5OC_2H_5$) yang ditambahkan saturasi garam serta air ledeng. Perbandingan yang digunakan dalam fraksinasi ini antara filtrat : dietil eter : saturasi garam : air ledeng adalah 50 ml : 25 ml : 60 ml : 5 ml. Tujuan dilakukannya partisi ini adalah agar terbentuk dua lapisan berdasarkan berat jenis (berat jenis yang tinggi berada dibawah dan berat jenis yang rendah berada diatas).

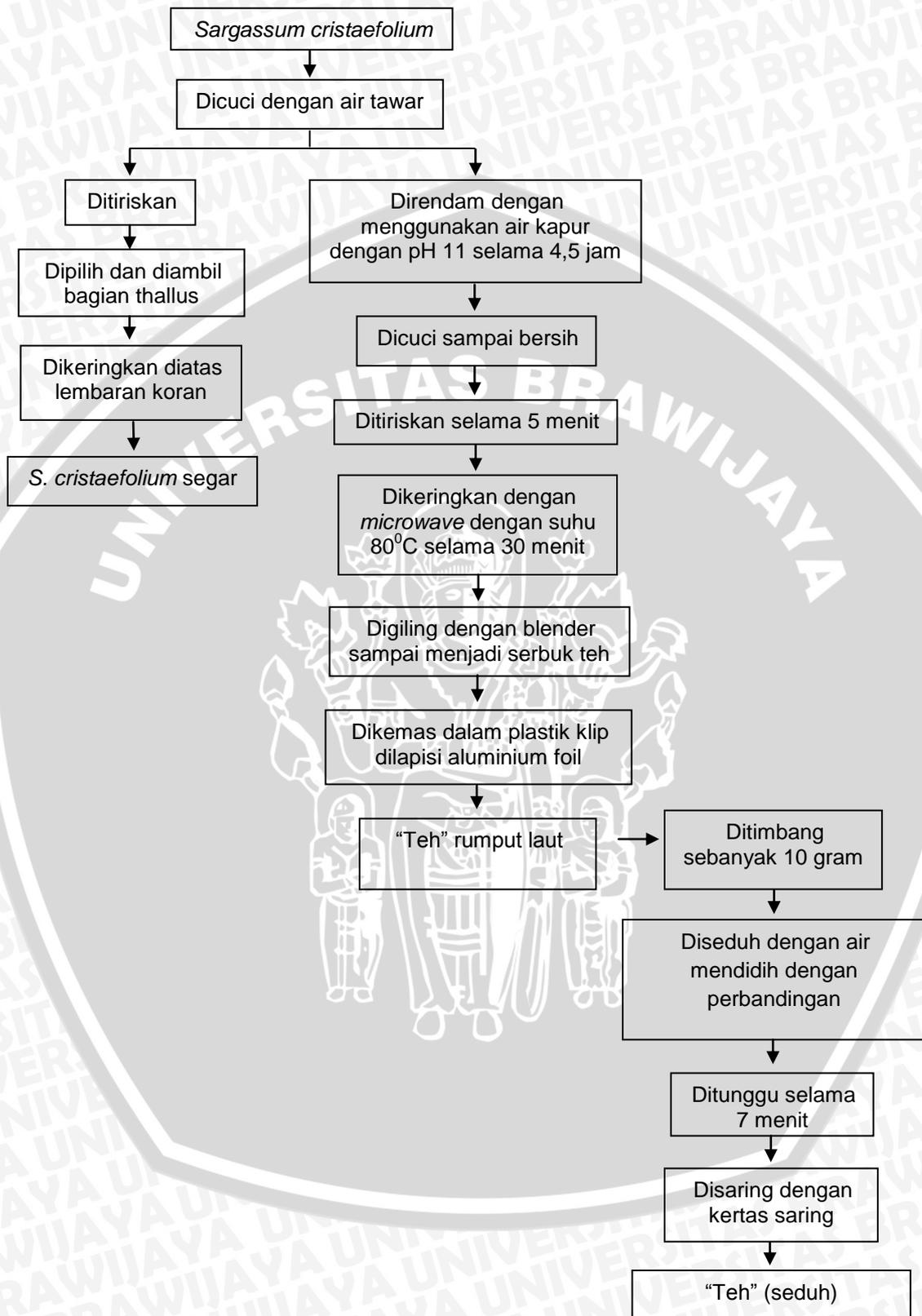
Pada proses fraksinasi, penambahan pelarut dilakukan secara berurutan dengan memasukkan terlebih dahulu filtrat yang akan dipartisi, kemudian dimasukkan pelarut dietil eter. Dietil eter adalah salah satu pelarut yang baik untuk karotenoid pada umumnya. Pada proses ini dietil eter berperan dalam mengikat senyawa yang bersifat semi polar (sifat senyawa karoten), sehingga senyawa tersebut tertarik dengan pelarut dietil eter dan berada pada fase atas. Filtrat selanjutnya dimasukkan saturasi garam untuk mengikat pelarut metanol dan aseton yang berada pada fase bawah. Saturasi garam dapat mengikat pelarut metanol dan aseton dikarenakan memiliki elektropositif dan elektronegatif yang lebih tinggi daripada senyawa target sehingga pelarut metanol dan aseton terikat dan ikut terbang.

Air ledeng ditambahkan setelah saturasi garam dimasukkan, namun penambahan dilakukan apabila pemisahan antara kedua fase masih tidak sempurna (terjadi saturasi/ gelembung udara). Penambahan air ledeng pada proses fraksinasi memiliki peran yang hampir sama dengan penambahan saturasi garam yaitu meningkatkan elektropositif dan elektronegatif yang lebih tinggi daripada senyawa target sehingga pelarut metanol dan aseton terikat pada saturasi garam dan ikut terbang. Larutan yang diambil adalah larutan yang berada pada lapisan atas karena hampir seluruh pigmen berada pada fase atas.

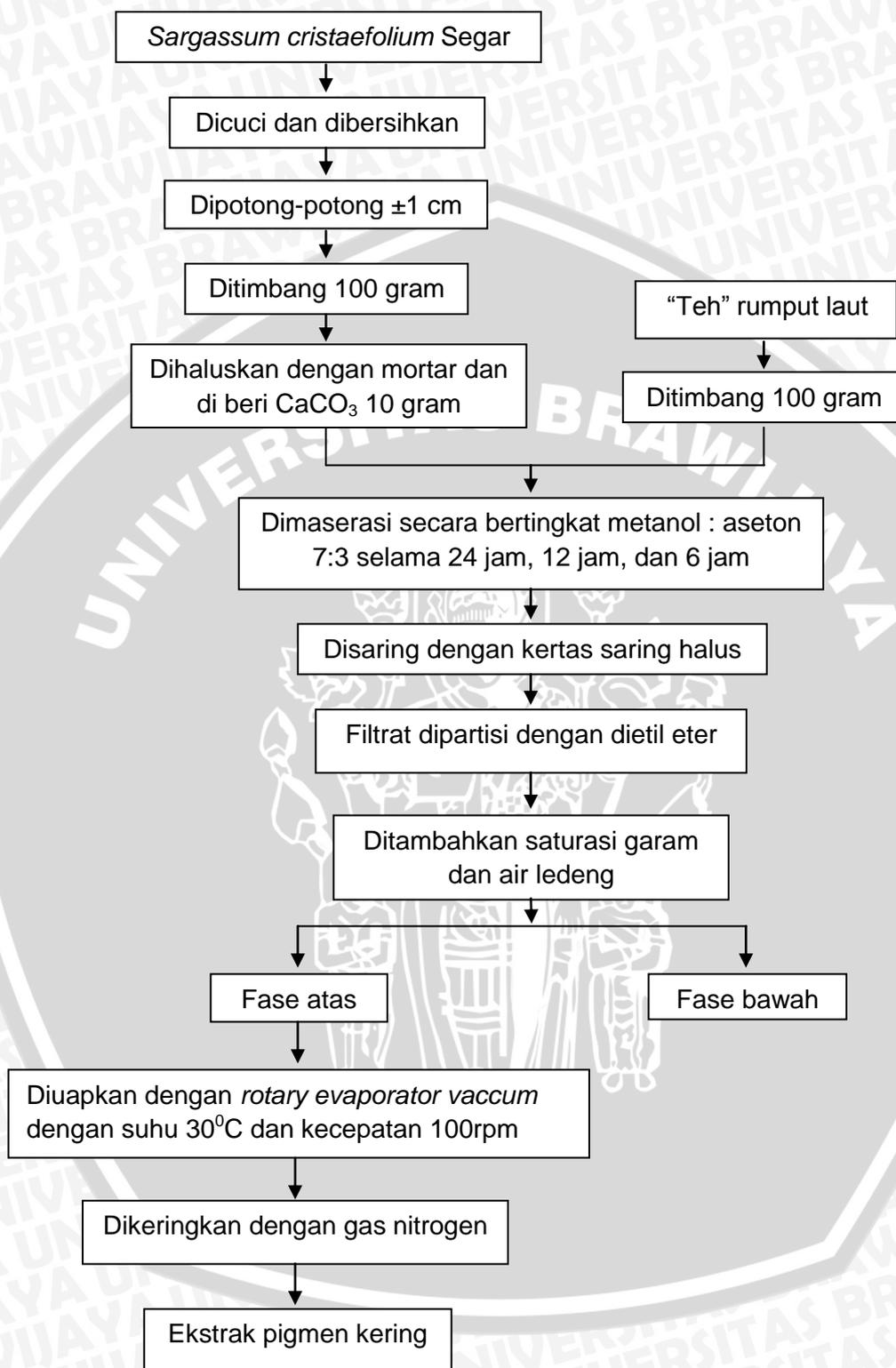
Sedangkan larutan pada fase bawah tidak digunakan karena merupakan campuran dari metanol dan aseton.

Filtrat hasil dari fase atas ditampung kedalam erlenmeyer kemudian di *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 30°C dan kecepatan 100 rpm untuk menguapkan pelarut sampai volume berkurang dan terbentuk kerak. Filtrat kemudian dipindahkan ke dalam botol sampel dengan cara ditetesi dengan pelarut dietil eter \pm 4ml. Sampel selanjutnya dikeringkan dengan gas nitrogen sampai kering sempurna. Pengeringan menggunakan gas nitrogen bertujuan untuk menguapkan pelarut dengan tidak merusak struktur pigmen. Sehingga didapat pigmen kering yang diperlukan untuk tahap selanjutnya. Ekstrak pigmen kering ditutup dan dibungkus dengan *aluminium foil* yang dilapisi dengan *cling wrap* kemudian disimpan dalam *freezer*. Diagram alir ekstraksi dan fraksinasi alga coklat dapat dilihat pada Gambar 8.





Gambar 7. Persiapan Awal Sampel dan Pembuatan “Teh” Rumput Laut
Hernawan *et al.*,(2013) yang dimodifikasi



Gambar 8. Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat dan “Teh” Rumput Laut Pangestuti *et al.*,(2007) yang dimodifikasi oleh Mu’amar (2009)

3.3.4 Isolasi Beta Karoten (Pangestuti *et al.*, (2007) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009))

Proses isolasi beta karoten dilakukan dengan menggunakan kolom kromatografi. Kolom kromatografi menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak berupa heksan : etil asetat (8:2, v/v) ± 250 ml.

Langkah pertama dibuat fase diam silika gel, silika gel ditimbang sebanyak 40 gram dan dilarutkan dengan fase gerak heksan dan etil asetat kemudian di stirer dengan bertahap selama total 1 jam. Pada 45 menit pertama menggunakan kecepatan 1300 rpm, 1100 rpm, dan 900 rpm perubahan setiap 15 menit sekali. Pada 15 menit terakhir menggunakan kecepatan 700 rpm, 500 rpm, 300 rpm dan 150 rpm, kecepatannya diubah setiap 5 menit sekali. Kecepatan dan waktu diatur demikian agar tidak terdapat gelembung udara dan ketika silika gel dimasukkan ke dalam kolom tidak mengalami keretakan. Fase diam yaitu silika gel berfungsi sebagai fase penyerap yang akan menahan komponen senyawa, sedangkan fase gerak akan melarutkan komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat.

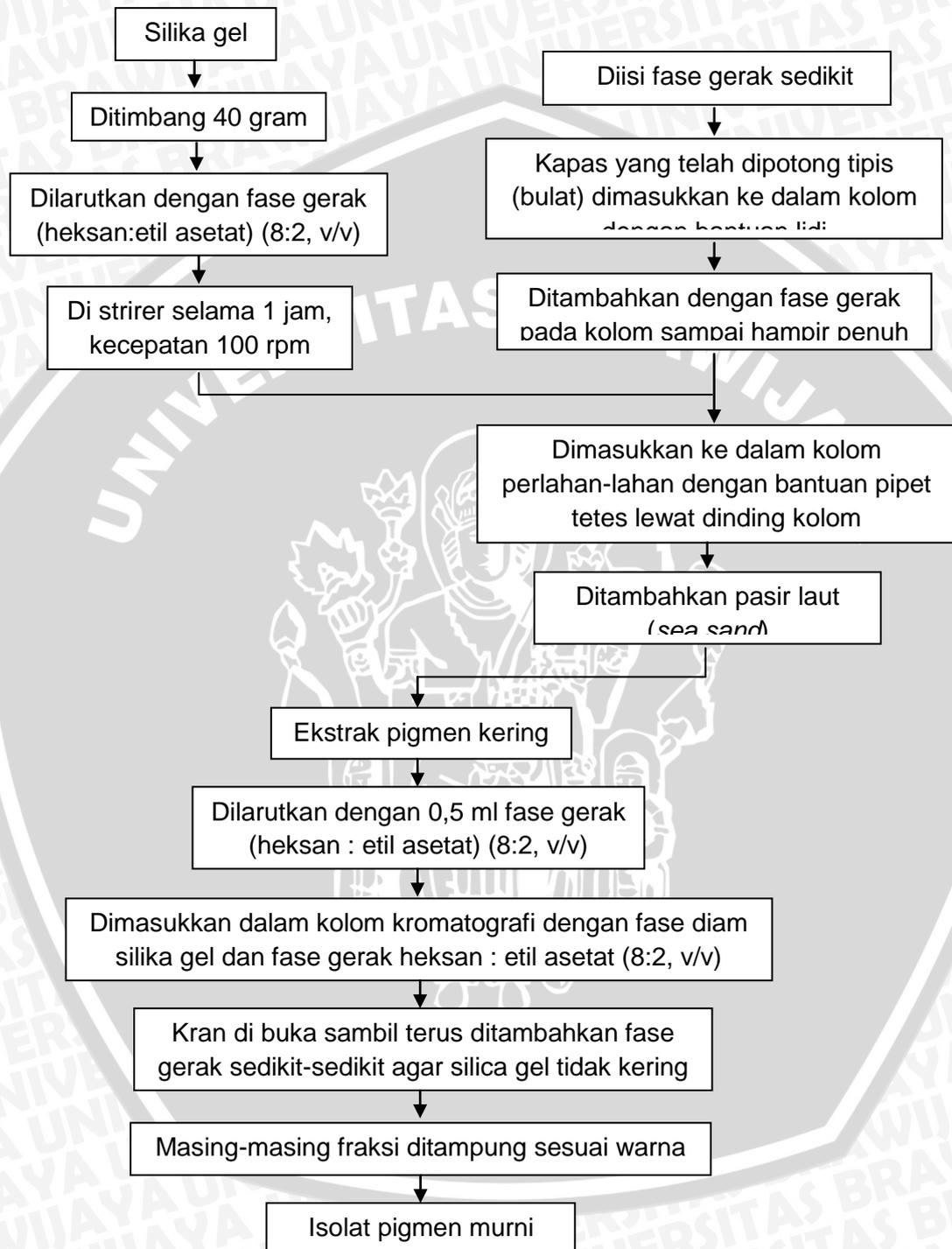
Kolom disiapkan terlebih dulu dengan menegakkan pada statif. Ukuran kolom kromatografi yang digunakan pada penelitian ini yaitu panjang 40 cm dan berdiameter 3 cm. Kapas tipis yang sudah dibasahi dengan fase gerak dimasukkan ke dalam kolom dengan bantuan lidi kemudian ditambahkan fase gerak secara perlahan melalui dinding kolom. Bubur silika gel dimasukkan ke dalam kolom kromatografi secara perlahan melalui dinding kolom dengan bantuan corong kaca sampai kolom dapat terbentuk sempurna. Bubur silika diaduk terus menerus secara perlahan agar tidak mengendap dan memudahkan penuangan ke dalam kolom, selama bubur silika dimasukkan ke dalam kolom.

Kolom diketuk-ketuk agar tumpukan silika merata dan tidak terdapat rongga udara di dalam kolom. Bubur silika gel yang dimasukkan akan mencapai tiga perempat tinggi kolom. Sisa silika gel yang menempel pada ujung kolom, dilusi dengan pelarut fase gerak.

Kolom yang telah berisi fase diam dibiarkan selama 24 jam untuk mengetahui ada tidaknya keretakan pada kolom. Jika fase diam pada kolom pecah atau retak sebaiknya dilakukan pengulangan prosedur, karena proses penyerapan oleh silika gel terhadap senyawa secara sempurna terjadi jika fase diam tidak mengalami retak. Pasir laut sebanyak 2 gram ditambahkan setelah kolom dipastikan tidak mengalami retak. Hal ini bertujuan agar pelarut tidak mengenai silika gel dan sebagai penyaring saat sampel dimasukkan.

Sampel kering dilarutkan dengan 0,5 ml fase gerak heksan:etil asetat (8:2, v/v) kemudian dimasukkan ke dalam kolom dengan menggunakan pipet tetes secara perlahan-lahan agar tidak merusak silika gel. Setelah ekstrak pigmen meresap pada silika gel sampai batas atas, dilakukan penambahan fase gerak heksan : etil asetat sisa dari pembuatan bubur silika. Kran pada kolom dibuka kemudian terbentuk fraksi yang berwarna keluar dari kolom. Fraksi tersebut ditampung pada tabung reaksi sesuai warna masing-masing sambil terus menambahkan fase gerak sedikit demi sedikit agar silika gel tidak kering. Fase gerak akan mengalir secara terus menerus sehingga diperlukan penambahan fase gerak baru pada bagian atas kolom. Fase gerak yang ditambahkan bertingkat kepolarannya dengan cara menaikkan konsentrasi heksan : etil asetat secara bertingkat. Komposisi yang digunakan untuk heksan: etil asetat 8:2v/v, 7:3 v/v. 6:4 v/v dan 5:5 v/v. Hasil fraksi yang berwarna kuning kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan dikeringkan dengan gas nitrogen untuk diidentifikasi menggunakan KLT. Prosedur tahapan ini dapat dilihat pada

Lampiran 4. Diagram alir isolasi pigmen alga coklat dengan kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Pemurnian Pigmen dengan Kromatografi Kolom Pangestuti *et al.*, (2007) yang dimodifikasi oleh Mu'amar (2009)

3.3.5 Identifikasi Pigmen Beta Karoten

3.3.5.1 Kromatografi Kolom Lapis Tipis (Pangestuti *et al.*, 2007)

Identifikasi pigmen beta karoten menggunakan KLT menggunakan fase diam *silica gel* F-254 dan fase gerak heksan : aseton dengan perbandingan 7/3 v/v. Langkah awal dalam proses kromatografi lapis tipis adalah membuat garis pada pelat dengan menggunakan pensil 2B pada kedua ujung pelat. Pada bagian bawah pelat berukuran 1 cm yang bertujuan untuk menunjukkan posisi awal fraksi ketika ditotolkan. Sedangkan bagian atas pelat berukuran 0,5 cm sebagai batas yang ditempuh.

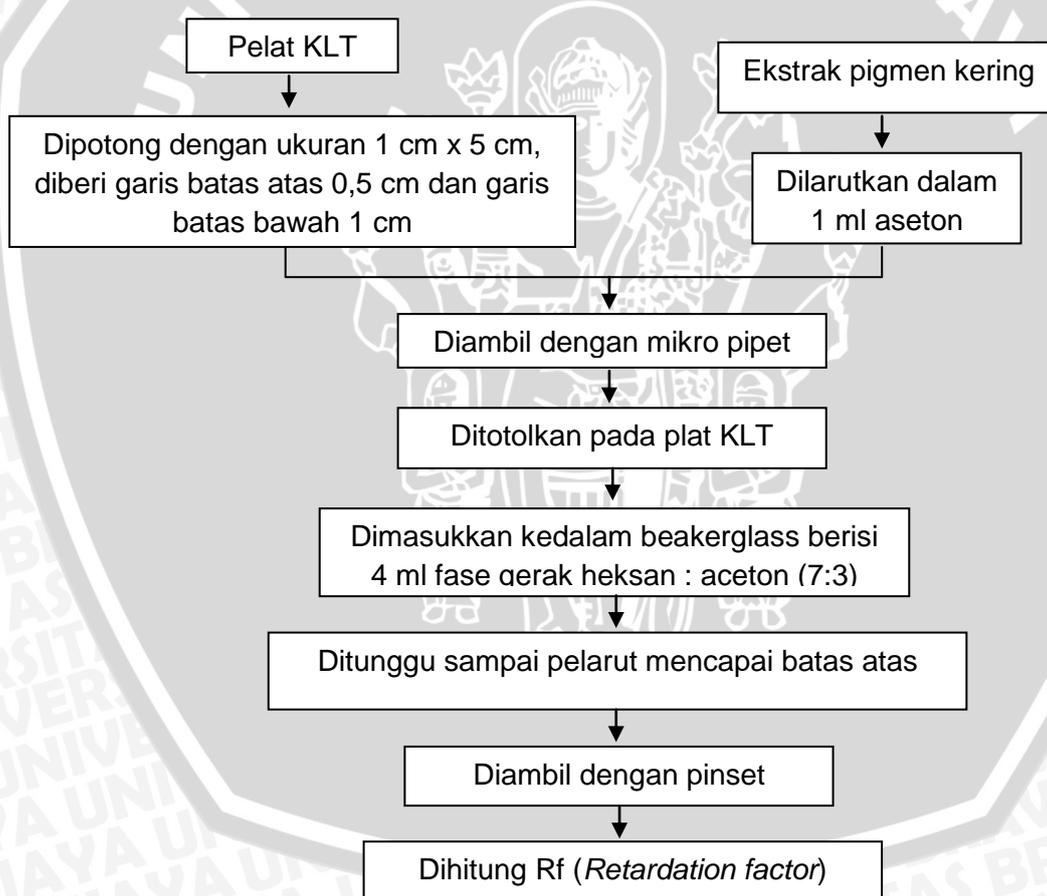
Setiap fraksi hasil kolom dilarutkan dengan aseton 1 ml kemudian ditotolkan pada garis bagian bawah pelat dengan menggunakan mikro pipet dan ditunggu sampai pelat kering. Pelat KLT yang telah kering dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi fase gerak berupa heksan : aseton (7:3, v/v) sebanyak 4 ml kemudian ditutup dengan cawan petri agar pelarut tidak cepat menguap. Pelat KLT ditunggu sampai pelarut mencapai batas atas. Setelah itu warna pada pelat KLT dihitung nilai R_f -nya. Diagram alir proses KLT untuk identifikasi beta karoten dapat dilihat pada Gambar 10, serta prosedur KLT untuk identifikasi beta karoten dapat dilihat pada Lampiran 5. Perhitungan R_f dapat dilihat sebagai berikut.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

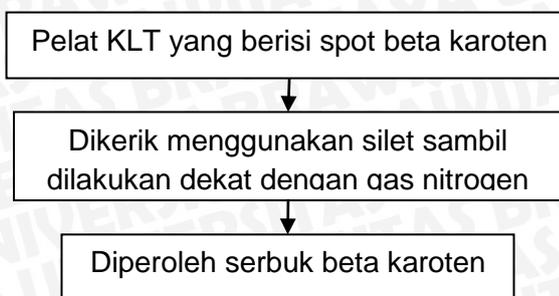
3.3.5.2 Pemurnian Pigmen Beta Karoten (Limantara *et al.*, 2009)

Pemurnian pigmen beta karoten dilakukan untuk mendapatkan pigmen murni. Tahap awal pemurnian pigmen yaitu pelat KLT yang digunakan saat identifikasi digunakan kembali. Pelat KLT dikerik menggunakan silet untuk diambil spot pigmennya, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Botol vial

yang berisi kerikan spot pigmen dilarutkan dengan aseton kurang \pm 3 ml. Pigmen yang telah dilarutkan selanjutnya disaring menggunakan *whatman* 0,2 untuk menyaring pigmen dari sisa-sisa logam KLT. Pigmen kemudian dikeringkan kembali dengan gas nitrogen. Tahap kedua pigmen kering diencerkan kembali dengan aseton (p.a) secukupnya kurang lebih 0,5 ml. Kemudian pigmen ditotolkan kembali ke pelat KLT yang baru. Proses ini dilakukan sampai 3 kali perlakuan. Diagram alir pemurnian beta karoten dapat dilihat pada Gambar 11, serta prosedur pemurnian pigmen beta karoten dapat dilihat pada Lampiran 5.



Gambar 10. Kromatografi Lapis Tipis (Pangestuti *et al.*, 2007)



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

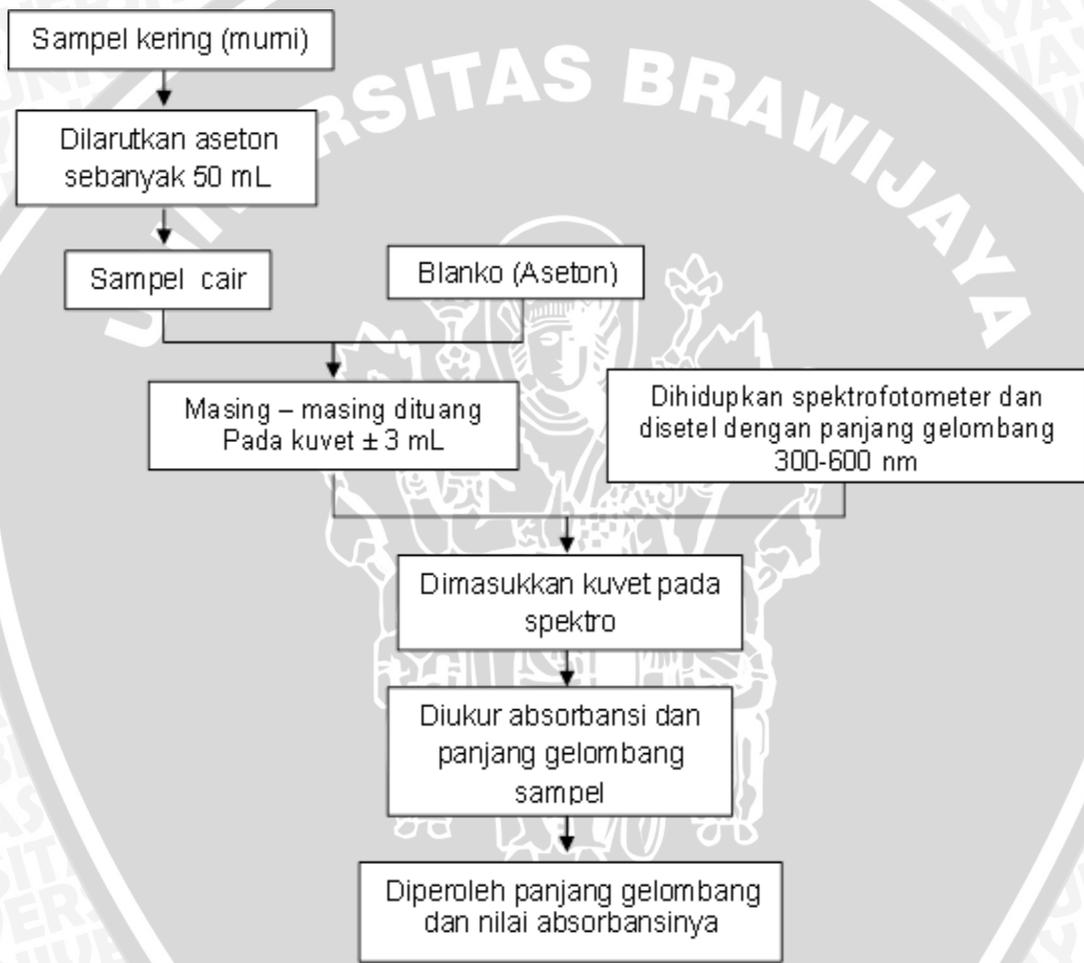
Gambar 11. Pemurnian Pigmen Beta Karoten (Limantara *et al.*, 2009)

3.3.6 Analisis Spektrofotometer UV-Vis (Limantara *et al.*, 2009)

Metode spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengetahui pola spektra (serapan cahaya yang diabsorpsi) pigmen yang terkandung dalam alga coklat. Sampel yang dianalisis menggunakan spektrofotometer yaitu sampel *Sargassum cristaefolium* segar dan "teh" yang sudah diekstrak menjadi pigmen kering, sedangkan untuk sampel teh seduh hanya dilakukan pengujian spektrofotometer UV-Vis.

Pigmen kering yang telah dilakukan pemurnian dengan menggunakan KLT, kemudian disiapkan beaker glass 50 mL yang berisi aseton (p.a) sebanyak 50 ml. Pigmen kering yang telah diencerkan dengan aseton ditambahkan ke dalam beaker glas yang berisi aseton 50 mL, dengan menggunakan mikro pipet sekukupnya sesuai absorbansi yang diinginkan. Larutan pigmen dituang pada kuvet ± 3 ml dan kuvet kemudian dimasukan ke dalam instrumen

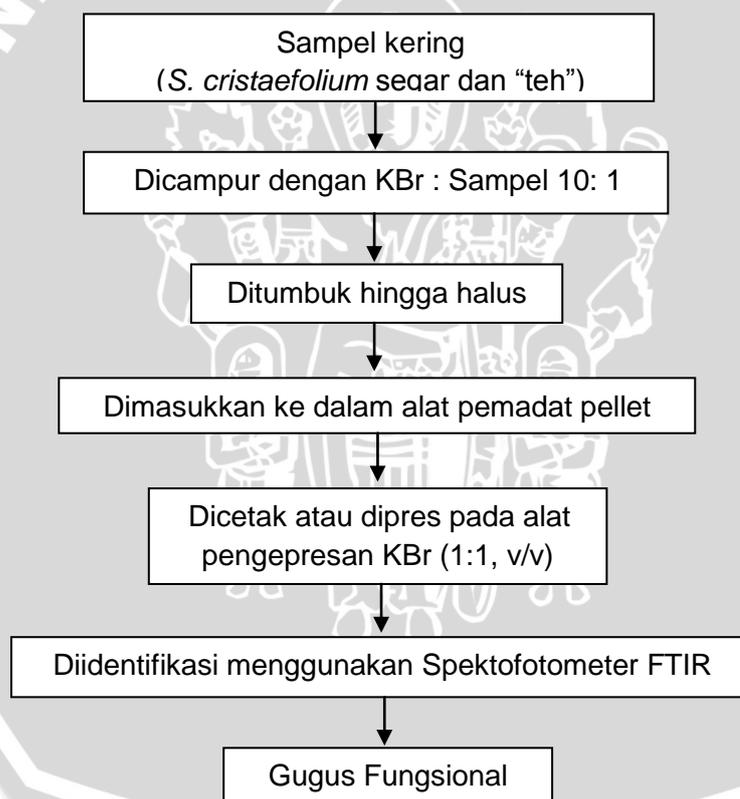
spektrofotometer 1601 Shimadzu untuk dilakukan pengujian. Hasil dari pengujian yang berupa serapan maksimum yang terbentuk oleh pigmen beta karoten kemudian dibandingkan dengan serapan spektra maksimum menurut Jeffrey *et al.*, (1977). Diagram alir analisis spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 12, serta prosedur analisis spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 12. Analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis 1601 (Limantara *et al.*,2009)

3.3.7 Analisis Spektrofotometer FT-IR (Nugrahani *et al.*, 2013)

Analisis spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengetahui gugus fungsi beta karoten. Sampel yang dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR yaitu sampel segar dan basa "teh". Sampel untuk pengujian FTIR dikeringkan lebih dahulu menggunakan gas nitrogen kemudian dianalisa gugus fungsinya dengan spektrofotometer FTIR. Diagram alir analisis gugus fungsional beta karoten dengan spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada Gambar 13, serta prosedur analisis FTIR dapat dilihat pada Lampiran 7.



Gambar 13. Prosedur Analisis Gugus Fungsional β -karoten dengan Spektrofotometer FTIR (Nugrahani *et al.*, 2013)

3.3.8 Pengukuran Warna (L, a, b) (Hutching, 1999)

Warna merupakan parameter penting dari produk pangan. Baik dalam bentuk cair maupun padatan. Pengukuran warna dapat menggunakan alat ukur *chromameter*. Pengujian ini berprinsip mendapatkan warna berdasarkan daya pantul dari sampel terhadap cahaya yang diberikan oleh *chromameter*. Prosedur pengukuran warna (L, a, b) sebagai berikut:

- Dihidupkan *chromameter*, dilakukan kalibrasi
- Disiapkan sampel cair dalam *beaker glass* 50 ml.
- Diukur warnanya

Hasil pengukuran dikonversi ke dalam sistem Hunter dengan nilai L menyatakan parameter kecerahan (*lightness*), yaitu 0 untuk hitam dan 100 untuk putih, a menunjukkan intensitas warna merah (+) atau hijau (-), dan b menunjukkan intensitas warna kuning (+) atau biru (-). Selanjutnya dari nilai a dan b dapat dihitung °Hue yang menunjukkan kisaran warna sampel. Sampel yang dilakukan pengujian intensitas warna adalah sampel segar dan “teh” rumput laut.

3.3.9 Perhitungan Kadar Beta Karoten (Sudarmadji *et al.*,1997)

Perhitungan kandungan beta karoten berdasarkan hukum “*Lambert-Beer*” dalam Sudarmadji *et al.*, (1997) yang dimodifikasi, yaitu sebagai berikut:

$$A = \varepsilon b C$$

Dimana :

A = absorbansi

ε = absorptifitas molar dengan unit $\text{mL g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (*specific extinction β -carotene*)

b = diameter kuvet (cm)

C = konsentrasi senyawa dalam larutan, dinyatakan dalam molar (mLg)

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Data Hasil Penelitian

Hasil ekstraksi dan isolasi beta karoten dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan “teh” dengan parameter hasil kolom kromatografi, identifikasi dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis), pengukuran pola spektra dan panjang gelombang dengan spektrofotometri UV-Vis, identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometri inframerah (*Fourier Transform-Infra Red*), serta pengukuran warna L, a, b dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Data Hasil Isolasi Beta Karoten

No	Parameter	Hasil		Literatur
		Segar	“Teh”	
1.	Kolom Kromatografi	57 isolat pigmen dalam tabung reaksi, volume tiap tabung ±16 ml. Isolat β-karoten dari tabung 5 sampai 9 warna kuning merah	49 isolat pigmen dalam tabung reaksi, volume tiap tabung ±17 ml. Isolat β-karoten dari tabung 5 sampai 7 warna kuning merah	β-karoten berwarna kuning merah (Gross, 1991)
2.	KLT	Rf 0,8	Rf 0,8	Rf β-karoten 0,8 – 1,0 (Britton <i>et al.</i> , 1995)
3.	λ spektra UV-Vis	452 nm	451 nm	Dalam pelarut aseton panjang gelombang 453,5 nm (SCOR WG 78 data dalam Jeffrey <i>et al.</i> , 1997) 452 nm (Britton <i>et al.</i> , 1995)
4.	Serapan IR β-karoten	CH³ simetrik → 2958.60 cm ⁻¹ 2926.78 cm ⁻¹ 2856.34cm ⁻¹ C=C-C →1738.71cm ⁻¹ 1651.92cm ⁻¹ CH³ deformasi → 1461.94 cm ⁻¹ 1379.97 cm ⁻¹ C-CH₃ (7-cis) → 1244 cm ⁻¹ C-O →1203.50 cm ⁻¹ 1171.68 cm ⁻¹ 1143.71 cm ⁻¹	CH³ simetrik → 2925.81 cm ⁻¹ 2856.38 cm ⁻¹ C=C-C →1741.60cm ⁻¹ 1697.24 cm ⁻¹ CH³ deformasi → 1460.01 cm ⁻¹ 1375.15 cm ⁻¹ C-H →1311.51 cm ⁻¹ C-CH₃ (7-cis) → 1242.07cm ⁻¹ C-O →1203.50 cm ⁻¹ 1170.71 cm ⁻¹ 1114.78 cm ⁻¹	CH³ simetrik → 2960 cm ⁻¹ 2930 cm ⁻¹ 2870 cm ⁻¹ C=C-C →1720 cm ⁻¹ 1680 cm ⁻¹ CH³ deformasi → 1450 cm ⁻¹ 1370 cm ⁻¹ C-CH₃ (7-cis) → 1250 cm ⁻¹ C-H → 1100 cm ⁻¹ 845 cm ⁻¹

Dilanjutkan

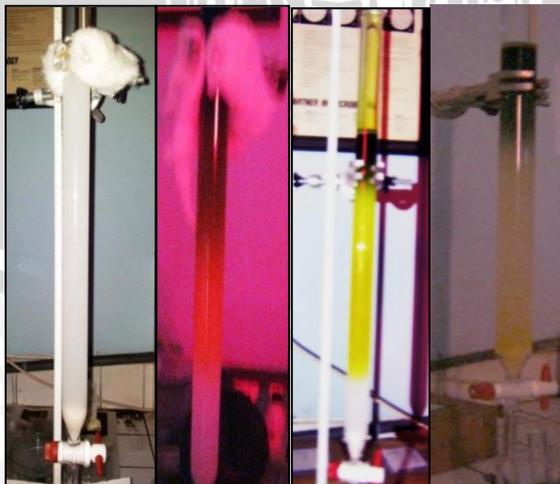
Lanjutan Tabel 11.

	<p>C-H → 1077.17 cm⁻¹ 1016.43 cm⁻¹ 913.23 cm⁻¹ 837 cm⁻¹</p> <p>cisRCH=CHR (15-cis) → 773 cm⁻¹ (7-cis) → 727 cm⁻¹</p> <p>trans CH=CH → 968.20cm⁻¹</p> <p>β-ionon → 1461.94cm⁻¹ 1379.97 cm⁻¹ 1244 cm⁻¹</p>	<p>C-H → 1016.42 cm⁻¹ 912.27 cm⁻¹ 835.12 cm⁻¹</p> <p>cisRCH=CHR (7-cis) → 723.26cm⁻¹</p> <p>trans CH=CH → 966.27 cm⁻¹</p> <p>β-ionon → 1460.01cm⁻¹ 1375.15 cm⁻¹ 1242.07 cm⁻¹</p>	<p>cisRCH=CHR (15-cis) → 780 cm⁻¹ (7-cis) → 740 cm⁻¹</p> <p>C-O-C → 1080 cm⁻¹</p> <p>β-ionon → 1450 cm⁻¹ 1360 cm⁻¹ 1250 cm⁻¹</p> <p>(Marshell, 1998)</p> <p>CH² → 2922 cm⁻¹ CH³ → 2862 cm⁻¹ 2875 cm⁻¹</p> <p>CH₂ → 1445 cm⁻¹</p> <p>C-H → 1360 cm⁻¹ 1033 cm⁻¹</p> <p>trans -CH=CH- → 962cm⁻¹</p> <p>(Ammawath <i>et al.</i>, 2010)</p>
--	--	---	--

4.2 Pembahasan

4.2.1 Isolasi Beta Karoten

Isolasi β-karoten dengan kolom kromatografi menggunakan *silica gel* sebagai fase diam dan fase gerak heksan:etil asetat dengan perbandingan 8 : 2 v/v (250 ml), 7:3 v/v(200 ml), 6:4 v/v(200 ml) dan 5:5 v/v(200 ml). Isolasi β-karoten pada kolom kromatografi dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Isolasi Pigmen β-Karoten

Hasil kromatografi kolom menunjukkan terbentuknya pita-pita pigmen berdasarkan warna dan tingkat kepolarannya. Sistem kromatografi kolom pada penelitian ini digunakan sistem “*normal phase*”, yaitu fase diam yang digunakan bersifat polar sedangkan fase gerak bersifat lebih non polar, sehingga pigmen yang bersifat non polar akan keluar terlebih dahulu (Jeffrey *et al.*, 1997). Ditambahkan oleh Haqiqi (2008), komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat.

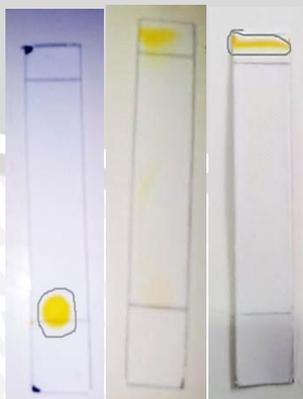
Pemisahan pigmen pada kromatografi kolom pada penelitian ini dihasilkan 57 fraksi untuk sampel segar dan 49 fraksi untuk sampel “teh”. Seluruh fraksi ditampung berdasarkan warnanya di dalam tabung reaksi dengan isi ± 17 ml. Fraksi yang diduga pigmen β -karoten pada sampel segar terdapat pada tabung 5 sampai dengan tabung 9, sedangkan pada sampel “teh” terdapat pada tabung 5 sampai 7. Warna fraksi yang diduga pigmen β -karoten berwarna kuning merah, hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Gross (1991) bahwa pigmen beta karoten berwarna kuning merah. Pada penelitian ini pigmen β -karoten keluar saat perbandingan fase gerak heksan : etil asetat 8:2 v/v. Hal tersebut dapat diketahui bahwa tingkat kepolaran pigmen β -karoten bersifat non polar. Menurut Satriyanto *et al.* (2012), β -karoten merupakan senyawa organik yang bersifat non-polar. Hasil isolasi pigmen β -karoten yang ditampung dalam tabung reaksi dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil Isolasi β -karoten

4.2.2 Identifikasi β -karoten dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Isolat sampel segar dan “teh” hasil kromatografi kolom yang diduga sebagai pigmen β -karoten dilakukan identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : aseton (7:3 v/v). Tujuan penggunaan fase gerak heksan dan aseton (7:3 v/v) yaitu untuk melarutkan senyawa yang non-polar, semi polar, dan polar sehingga senyawa tersebut akan larut dan tertarik keatas sesuai tingkat kepolarannya, salah satunya β -karoten yang sifatnya non-polar. Menurut Gusti (2012), beta karoten merupakan senyawa non polar yang sangat larut baik dalam pelarut non polar seperti heksana. Ditambahkan oleh Erawati (2006), kombinasi pelarut heksana dan aseton mampu menambah daya tarik pelarut terhadap beta karoten. Hasil identifikasi β -karoten dengan KLT dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Hasil KLT β -karoten

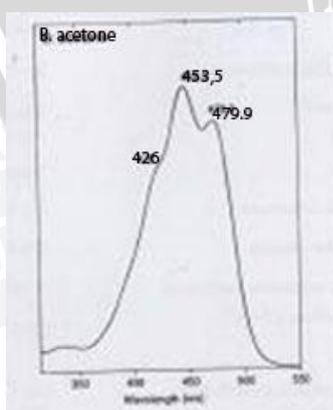
Hasil KLT diatas menunjukkan bahwa total yang terbentuk hanya satu warna, yaitu warna kuning merah. Hal ini sesuai dengan Gross (1991), bahwa pigmen β -karoten berwarna kuning merah. Hasil KLT diperkuat dengan perhitungan nilai Rf yaitu perbandingan antara jarak yang ditempuh fraksi pigmen dengan jarak yang ditempuh pelarut. Nilai Rf yang didapat pada sampel segar dan "teh" sebesar 0,8. Nilai tersebut sama dengan penelitian Britton *et al.* (1995), dengan fase gerak non polar diperoleh nilai Rf sebesar 0,8 – 1,0. Jumlah spot dan nilai retention faktor (Rf) yang terpisah menunjukkan banyaknya komponen yang terdeteksi, sedangkan warna yang dihasilkan merupakan karakteristik warna senyawa yang terkandung dalam setiap ekstrak. Ketebalan spot mengindikasikan besar kecilnya konsentrasi dari senyawa yang terpisah, artinya semakin tebal spot yang terpisah maka konsentrasi senyawa tersebut semakin banyak (Lestari, 2010).

Identifikasi pigmen beta karoten dengan menggunakan KLT lebih efisien karena kelebihanannya dibanding analisa lainnya, menurut Setiawan (2008), pemisahan pada KLT dapat dilakukan dengan cepat, analisis dapat lebih sensitif, mudah untuk memperoleh kembali senyawa-senyawa yang terpisahkan, dan dapat digabungkan dengan instrumen deteksi yang lain untuk evaluasi hasil pemisahannya (Setiawan, 2008). Kromatografi lapis tipis merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan sedikit. Tujuan kualitatif KLT digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil, menentukan pelarut yang tepat untuk pemisahan dengan KLT preparatif maupun kromatografi kolom dan untuk mengidentifikasi komponen penyusun campuran melalui suatu perbandingan dengan senyawa yang diketahui strukturnya (Novianti, 2012). Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi komposisi pigmen berdasarkan warna adalah nilai Rf. Nilai Rf pada KLT ini merupakan salah satu

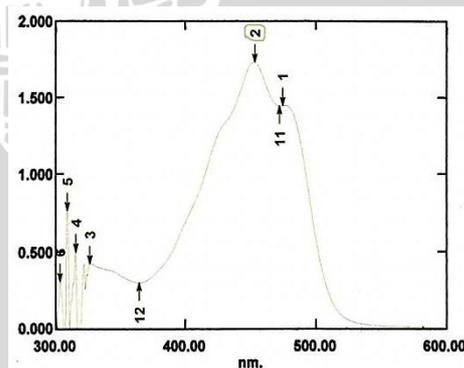
kelemahannya. Menurut Sastrohamidjojo (2007), faktor yang mempengaruhi harga Rf antara lain : struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap dan derajat aktifitasnya, tebal dan kerataan lapisan penyerap, pelarut fase gerak, kejenuhan ruang kromatografi, suhu, dan penetesan cuplikan.

4.2.3 Identifikasi β -karoten dengan Pola Spektra dan Panjang Gelombang Maksimum (λ max)

Identifikasi β -karoten dengan pengukuran pola spektra dan panjang gelombang dilakukan untuk membuktikan bahwa hasil yang didapat benar-benar senyawa β -karoten. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601. Pengukuran pola spektra terhadap standar β -karoten tidak dilakukan, identifikasi pigmen β -karoten digunakan serapan panjang gelombang, serta nilai Rf pada KLT sesuai literatur menurut Jeffrey *et al.*, (1997). Data yang diperoleh dari pengukuran spektrofotometer UV-vis tersebut dibandingkan dengan literatur dari Jeffrey *et al.*, 1997 dalam pelarut aseton. Pola spektra UV-Vis β -karoten menurut Jeffrey *et al.*, (1997), dapat dilihat pada Gambar 17. (a). Dan pola spektra pada sampel segar dapat dilihat pada Gambar 17. (b).



(a)



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	●	474.50	1.448
2	●	452.00	1.734
3	●	326.00	0.425
4	●	315.50	0.498

(b)

Gambar 17 (a). Pola spektra β -karoten dalam pelarut aseton menurut Jeffrey *et al.*,(1997)

(b). Pola spektra pigmen β -karoten sampel segar hasil isolasi dalam pelarut aseton

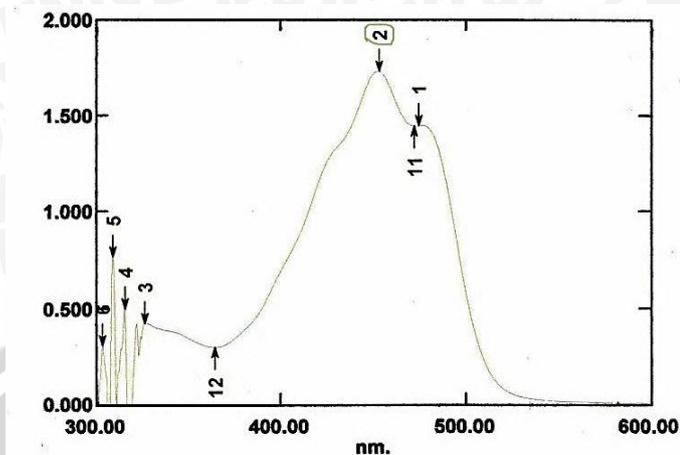
Gambar diatas menunjukkan hasil pengukuran pola spektra menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601. Pada penelitian ini, pengukuran pola spektra dengan menggunakan pelarut aseton diperoleh serapan maksimum pada sampel segar sebesar 452 nm. Sedangkan serapan maksimum dalam pelarut aseton menurut SCOR WG 78 data dalam Jeffrey *at al.*,(1997), sebesar 453,5 nm. Hasil pengukuran pola spektra pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan literatur tersebut, sehingga dapat dikatakan hasil serapan pada penelitian ini identik karena memiliki serapan yang hampir sama.

4.2.4 Analisis Pigmen β -karoten

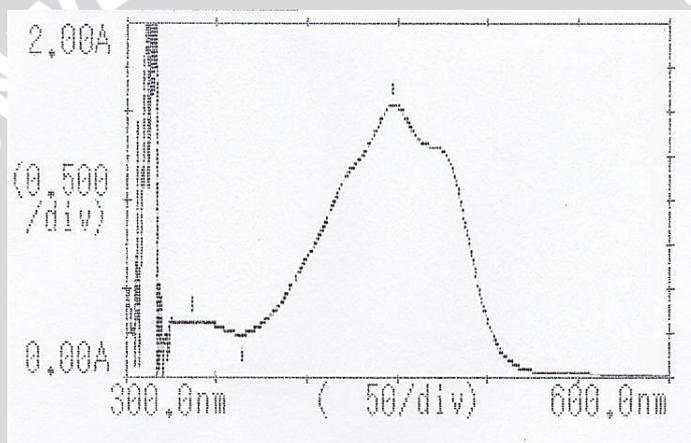
Analisis pigmen β -karoten dilihat dari tiga parameter yaitu pergeseran panjang gelombang dan pola spektra dengan spektrofotometer UV-Vis, pengukuran warna (L, a, b) dan $^{\circ}$ hue, serta perubahan spektra dan gugus fungsi dengan spektrofotometri inframerah.

4.2.4.1 Perubahan Pola Spektra dan Pergeseran Panjang Gelombang

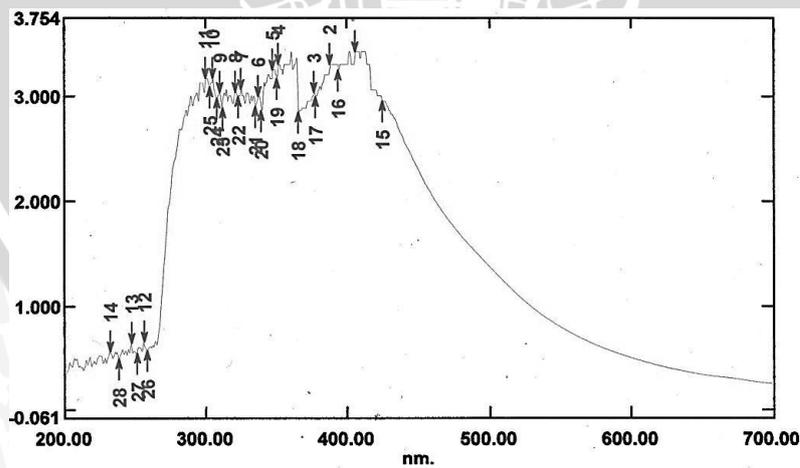
Pengukuran pola spektra dan panjang gelombang pada penelitian ini bertujuan untuk melihat perubahan pola spektra dan pergeseran panjang gelombang (λ max) pigmen β -karoten yang terdapat pada sampel segar, "teh", dan teh seduh. Hasil pengukuran pola spektra (λ max) pada sampel segar dapat dilihat pada Gambar 18. (a), "teh" pada Gambar 18. (b), serta teh seduh pada gambar 18. (c).



(a)



(b)



(c)

Gambar 18. (a). Pola Spektra Sampel Segar
 (b). Pola Spektra Sampel "Teh"
 (c). Pola Spektra Sampel Teh Seduh

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa β -karoten mengalami sedikit perubahan pola spektra dan pergeseran panjang gelombang setelah diolah menjadi “teh”. Perubahan pola spektra tersebut diduga terjadi degradasi pada β -karoten. Ditambahkan oleh Nurcahyanti dan Limantara (2007), yang menyatakan bahwa degradasi pigmen dapat dilihat dari perubahan pola spektranya, penurunan absorbansi dan pergeseran panjang gelombang. Penurunan absorbansi tersebut menunjukkan terjadinya pembentukan produk degradasi yang lebih kecil dari molekul awal. Hal ini didukung oleh Gunawan *et al.* (2009), bahwa semakin banyak ikatan rangkap dua yang terkonjugasi dalam molekul, maka pita serapan utama makin bergeser ke daerah panjang gelombang yang lebih tinggi. Pergeseran serapan maksimum (λ max) pada sampel segar dan “teh” dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Rerata Panjang Gelombang β -Keroten Pada Sampel Segar, “Teh”, dan Teh Seduh

Sampel	Rerata Panjang Gelombang (λ max)	Panjang Gelombang Menurut Literatur
Segar	452	Menurut SCOR WG 78 data λ dalam Jeffrey <i>et al.</i> , (1997) adalah 453.5 nm
“Teh”	451	
Teh Seduh	-	

Pada Tabel. 12 menunjukkan bahwa pengolahan “teh” alga coklat *Sargassum cristaefolium* mengalami pergeseran panjang gelombang ke arah yang lebih pendek (hipsokromik). Pergeseran panjang gelombang kearah lebih pendek atau ke daerah merah (hipsokromik) maupun kearah yang lebih panjang atau ke daerah merah (batokromik) menunjukkan terjadinya degradasi. Pergeseran yang terjadi juga dimungkinkan karena perbedaan alat yang digunakan pada saat proses (Rahmawan, 2008). Pergeseran panjang gelombang yang terjadi pada sampel “teh” dimungkinkan akibat dari proses pengeringan. Hal ini didukung penelitian yang dilakukan oleh Fretes *et al.* (2012),

bahwa puncak serapan dari ketiga varian yang diteliti bergeser ke arah hipsokromik sebesar 1,5 nm setelah pemanasan selama 48 jam. Pergeseran puncak serapan maksimum ini mengindikasikan terjadinya isomerisasi cis-trans karotenoid.

Namun menurut Satriyanto *et al.* (2012), mengatakan bahwa pengaruh suhu terhadap oksidasi karotenoid adalah karotenoid belum mengalami kerusakan pada pemanasan 60°C tetapi reaksi oksidasi karotenoid dapat berjalan lebih cepat pada suhu yang relatif tinggi. Degradasi yang dialami sampel "teh" mungkin juga akibat proses pengeringan yang menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi. Menurut Khoo *et al.* (2011), degradasi oksidatif karotenoid karena berbagai metode pengolahan dapat menyebabkan isomerisasi cis-trans dan pembentukan epoksida karotenoid (Khoo *et al.*, 2011).

Sedangkan pada pola spektra UV-Vis teh sedu tidak ditemukan β -karoten. Hal ini dikarenakan beta karoten memiliki sifat non polar sehingga pigmen ini tidak larut dalam senyawa polar (aquades). Menurut Putra (2004), karotenoid umumnya larut dalam lemak/bersifat non-polar sehingga akan terlarut dengan sangat baik bila dilarutkan dengan larutan yang bersifat non-polar juga. Betakaroten sensitif terhadap udara, cahaya, dan suhu tinggi (Madhavi *et al.*, 1996). Senyawa β -karoten tahan terhadap panas apabila dalam keadaan vakum atau tanpa oksigen (Gunawan, 2009). Ditambahkan oleh Selly (2008), keberadaan oksigen dan panas yang biasanya menjadi katalis dalam proses oksidasi. Oksidasi akan membuka cincin β -ionon pada ujung molekul karoten, sehingga menyebabkan kerusakan aktivitas karoten tersebut sebagai provitamin A.

4.2.4.2 Analisa Warna (L), (a), (b)

Salah satu pendekatan untuk mengetahui jumlah beta karoten adalah dengan pengukuran warna. Pengukuran warna dilakukan untuk mengetahui nilai $L^* a^* b^*$. Menurut Indriani (2003), nilai L (*lightness*) adalah suatu nilai yang menyatakan gelap dan terangnya warna bahan yang dianalisis. Semakin besar nilai L, semakin terang atau cerah bahan tersebut. Nilai a menyatakan derajat kemerahan (a+) atau kehijauan (a-). Nilai b menyatakan derajat kekuningan (b+) atau kebiruan (b-). Hasil analisa warna (L), (a), dan (b) pada pigmen β -karoten dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil Pengukuran Warna (L), (a), (b)

Sampel	Nilai L	Nilai a	Nilai b	Hue*
Segar	31,8	-2,3	12,9	79,89
“Teh”	32,9	5,4	25,4	77,99

Keterangan: *Hue= $\tan^{-1} (b/a)$

Berdasarkan hasil pengukuran warna (L,ab), parameter tingkat kecerahan (L) pada pigmen β -karoten diperoleh nilai yang paling rendah pada perlakuan segar yaitu 31,8 sedangkan pada sampel “teh” lebih tinggi yaitu 32,9. Menurut Satriyanto *et al.* (2012), nilai L^* menyatakan tingkat gelap terang dengan kisaran 0-100 dimana nilai 0 menyatakan kecenderungan warna hitam atau sangat gelap, sedangkan nilai 100 menyatakan kecenderungan warna terang/putih. Nilai warna tingkat kecerahan (L) dari kedua sampel menunjukkan bahwa warna pigmen pada sampel segar lebih gelap daripada sampel “teh”. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada sampel “teh” mengalami degradasi dilihat dari nilai intensitas warna kecerahan (L). Perbedaan kecerahan ini, terjadi diduga karena adanya pemberian perlakuan pengeringan sehingga warna pigmen memudar atau lebih cerah. Berdasarkan literatur menurut Mas’ud (2011), karotenoid akan mengalami kerusakan pada suhu tinggi sehingga terjadi

dekomposisi karotenoid yang mengakibatkan turunnya intensitas warna karotenoid atau terjadi pemucatan.

Data hasil pengukuran warna parameter merah-hijau (a) pada sampel segar menunjukkan nilai warna a (-) yaitu - 2,3 sedangkan pada sampel "teh" nilai warna a (+) 5,4. Menurut Suyatma (2009), untuk notasi a* warna kromatik campuran merah-hijau dengan nilai +a* (positif) dari 0 sampai +80 untuk warna merah dan nilai -a* (negatif) dari 0 sampai -80 untuk warna hijau. Pada nilai intensitas warna yang dihasilkan pada sampel segar memiliki nilai negatif, hal ini menunjukkan bahwa β -karoten terdapat warna hijau. Sedangkan pada sampel "teh" menunjukkan nilai intensitas warna yang dihasilkan memiliki nilai positif, hal ini menunjukkan bahwa β -karoten pada sampel "teh" cenderung berwarna merah. Berdasarkan hasil tersebut pada sampel segar kemungkinan telah mengalami degradasi secara alami, karena sampel terukur dalam kisaran warna hijau. Hal ini mengindikasikan pigmen beta karoten pada sampel segar mengalami isomerisasi secara alami. Berdasarkan penelitian Erawati (2006), nilai -a perlakuan menunjukkan kerusakan struktur trans beta karoten dalam bentuk epoksida. Hal ini didukung oleh Gross (1991), secara alami karotenoid didominasi isomer all-trans yang lebih stabil, tetapi secara alami cis dan poli-cis isomer dapat terisolasi.

Berdasarkan hasil pengukuran warna parameter kuning-biru (b) pigmen β -karoten pada sampel segar diperoleh nilai (b) sebesar +12,9 sedangkan pada perlakuan "teh" menghasilkan nilai warna (b) sebesar +25,4. Menurut Suyatma (2009), notasi b*: warna kromatik campuran biru-kuning dengan nilai +b* (positif) dari 0 sampai +70 untuk warna kuning dan nilai -b* (negatif) dari 0 sampai -70 untuk warna biru. Pada penelitian ini cenderung memiliki nilai positif yang menunjukkan bahwa β -karoten cenderung berwarna kuning. Hasil tersebut menunjukkan sampel "teh" memiliki intensitas warna lebih kuning dibanding

sampel segar. Menurut Satriyanto *et al.* (2012), semakin rendah kadar betakaroten akan menurunkan warna a^* (kemerahan) dan makin tinggi kadar β -karoten maka makin merah atau kuning warnanya.

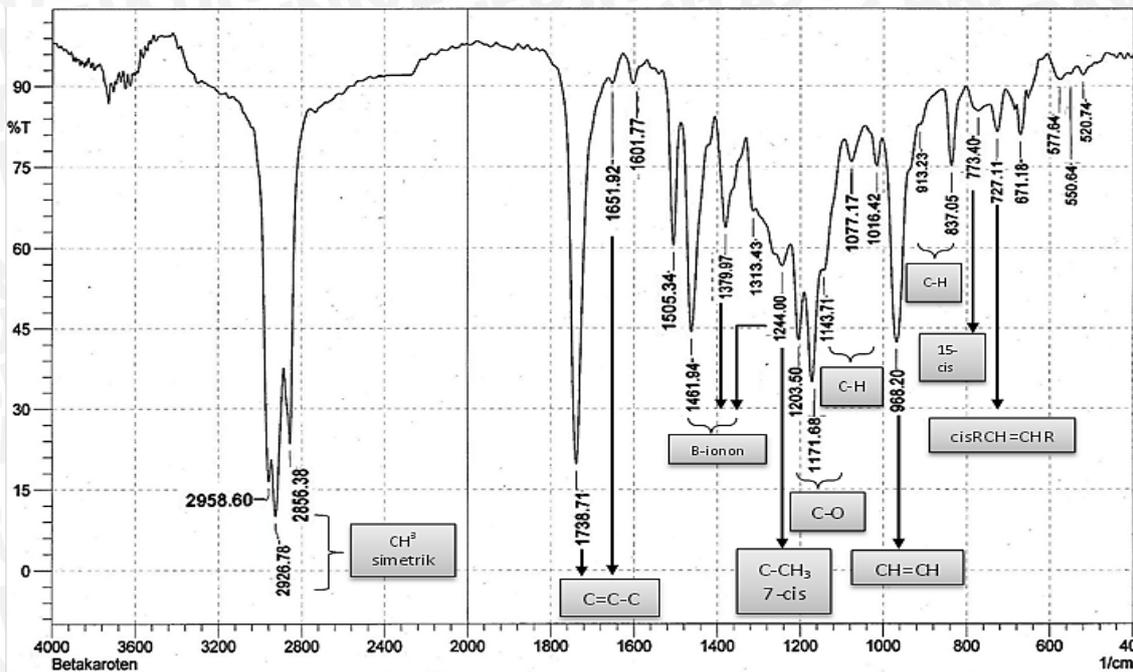
Berdasarkan nilai a dan b dihitung $^{\circ}\text{hue}$ untuk mengetahui kisaran warna sampel. Nilai $^{\circ}\text{hue}$ pada sampel segar sebesar 79,89 sedangkan pada sampel "teh" sebesar 77,99. Nilai $^{\circ}\text{hue}$ yang didapat berada pada kisaran warna kromatisitas kuning merah ($54^{\circ} - 90^{\circ}$) dilihat berdasarkan tabel warna kromatisitas menurut Hutching (1999). Didukung oleh penelitian Gross (1991), bahwa pigmen β -karoten berwarna kuning merah.

Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa kedua sampel masih mengandung pigmen beta karoten yang dibuktikan dari terdeteksinya warna kuning. Hal ini didukung oleh Rachmawaty dan Wahono (2013), betakaroten merupakan pigmen kelompok dari pigmen karotenoid yang berkontribusi terhadap warna kuning, oranye, dan merah pada buah dan sayuran. Namun pigmen beta karoten diduga mengalami degradasi pada sampel "teh" dilihat dari intensitas kecerahan yang lebih cerah dan nilai $^{\circ}\text{hue}$ lebih kecil dibanding sampel segar.

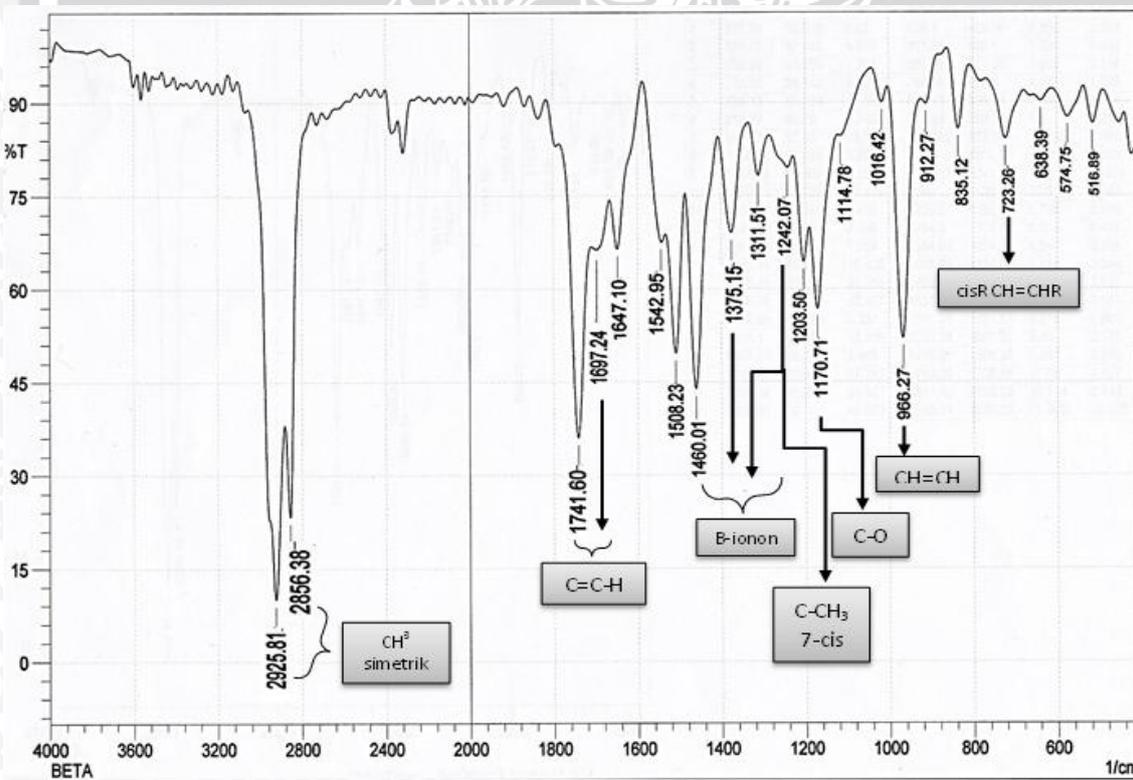
Banyak faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan karoten. Karoten stabil pada pH netral, alkali namun tidak stabil pada kondisi asam, adanya udara atau oksigen, cahaya dan panas. Selain itu, dapat mengalami isomerisasi bila terkena panas, cahaya dan asam. Isomerisasi dapat menyebabkan penurunan intensitas warna dan titik cair (Yulianawati, 2012).

4.2.4.3 Perubahan Spektra Serapan IR dan Pergeseran Gugus Fungsi β -karoten

Analisa gugus fungsi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer inframerah untuk analisis lanjutan dari isolasi pigmen β -karoten. Pengukuran spektrum standar β -karoten tidak dilakukan, identifikasi pigmen β -karoten pada sampel digunakan serapan panjang gelombang dan absorbansi, serta nilai Rf pada KLT dibandingkan dengan literatur menurut Jeffrey *et al.*, (1997). Identifikasi menggunakan FTIR ini dipilih karena dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan, sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat. Sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik, sehingga sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Radiasi inframerah menyebabkan terjadinya vibrasi dari gugus fungsi suatu molekul. Vibrasi terjadi dapat mendeteksi adanya ikatan-ikatan tersebut dalam molekul organik menyebabkan senyawa-senyawa organik dapat diidentifikasi melalui frekuensi yang karakteristik sebagai pita serapan dalam spektrum inframerah (Sastrohamidjojo, 1996). Pigmen β -karoten pada sampel segar dan "teh" memiliki kemiripan serapan inframerah yang hampir sama dengan literatur (Marshell, 1998). Spektrum IR pigmen β -karoten sampel *Sargassum cristaefolium* segar dan "teh" dapat dilihat pada Gambar 19 dan 20.



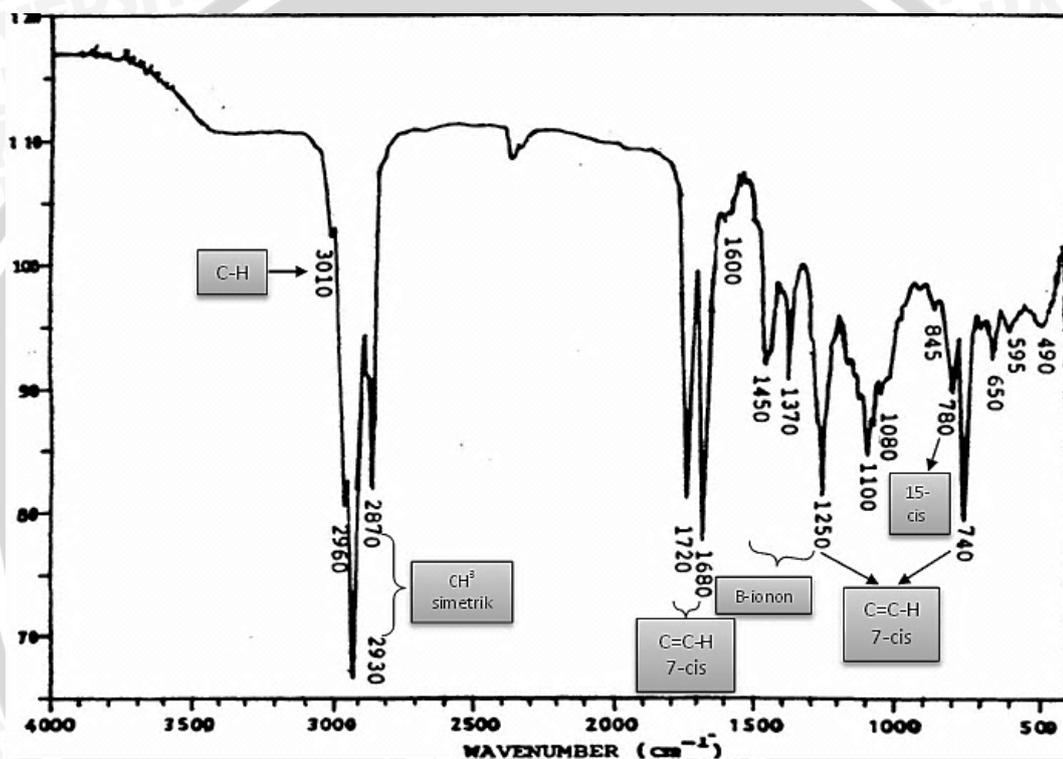
Gambar 19. Spektrum IR Pigmen β -Karoten pada *Sargassum cristaefolium* Segar



Gambar 20. Spektrum IR Pigmen β -Karoten pada "Teh" Rumpuk Laut

Pola spektrum inframerah pigmen beta karoten menggunakan KBr pada sampel segar dan "teh" *Sargassum cristaefolium* memiliki serapan yang hampir

sama. Seperti pada gugus khas beta karoten yaitu gugus β -ionon pada sampel segar 1461.94 cm^{-1} ; 1379.97 cm^{-1} ; 1244 cm^{-1} , sedangkan pada sampel "teh" 1460.01 cm^{-1} ; 1375.15 cm^{-1} ; 1242.07 cm^{-1} . Spektra IR pigmen β -karoten menggunakan metode pellet KBr ini memiliki kemiripan serapan dengan literatur Marshall, (1998). Spektrum IR pigmen β -karoten menurut literatur Marshall (1998) dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Spektrum IR β -karoten Wortel Segar menurut Marshall (1998)

Berdasarkan Gambar 19. dan Gambar 20. Serta dibandingkan dengan literatur Marshall (1998) terdapat pergeseran nilai gugus fungsi, akan tetapi masih dalam kisaran yang tidak jauh berbeda. Pada gugus CH_3 simetrik pada sampel segar berada pada 2958.60 cm^{-1} ; 2926.78 cm^{-1} ; 2856.34 cm^{-1} dan pada sampel "teh" 2925.81 cm^{-1} ; 2856.38 cm^{-1} . Sedangkan menurut literatur yaitu 2960 cm^{-1} ; 2930 cm^{-1} ; 2870 cm^{-1} . Berdasarkan hasil serapan tersebut terdapat pergeseran frekuensi yaitu antara sampel dan literatur sebesar 2, 4, 14 cm^{-1} . Hal ini didukung oleh percobaan Marshall (1998) yang juga mengalami pergeseran

serapan sebesar 20, 10, 40 cm^{-1} . Namun pergeseran frekuensi ini masih masuk dalam range frekuensi dari gugus CH^3 yaitu pada 2850 - 3000 cm^{-1} .

Gugus $\text{C}=\text{C}-\text{C}$ pada sampel segar berada pada serapan kuat 1738.71 cm^{-1} ; serapan lemah 1651.92 cm^{-1} , dan sampel "teh" berada pada serapan kuat 1741.60 cm^{-1} ; serapan lemah 1697.24 cm^{-1} . Sedangkan menurut literatur serapan kuat 1720 cm^{-1} dan 1680 cm^{-1} . Gugus $\text{C}=\text{C}-\text{C}$ yang berpasangan merupakan karakteristik spesifik dari isomer cis beta karoten. Berdasarkan hasil serapan tersebut terdapat pergeseran frekuensi yaitu antara sampel dan literatur sebesar 21, 17 cm^{-1} . Hal ini didukung oleh percobaan Marshall (1998) yang juga mengalami pergeseran serapan sebesar 5 cm^{-1} dan salah satunya menghilang.

Pada gugus $\text{C}-\text{CH}_3$ sampel segar berada pada serapan 1244 cm^{-1} , dan pada sampel "teh" berada pada serapan 1242.07 cm^{-1} . Gugus 7-cis $\text{RCH}=\text{CHR}$ sampel segar berada pada serapan 727 cm^{-1} dan pada sampel "teh" berada pada serapan 723.26 cm^{-1} . Gugus 15-cis $\text{RCH}-\text{CHR}$ hanya terdapat pada sampel segar yaitu pada serapan 773 cm^{-1} . Sedangkan menurut literatur gugus $\text{C}-\text{CH}_3$ berada pada serapan 1250 cm^{-1} , gugus 7-cis $\text{RCH}=\text{CHR}$ pada serapan 740 cm^{-1} , dan gugus 15-cis $\text{C}-\text{H}$ 780 cm^{-1} . Hasil serapan tersebut terdapat pergeseran frekuensi antara sampel dan literatur sebesar 6, 17, 7 cm^{-1} . Hal ini didukung oleh percobaan Marshall (1998) yang juga mengalami pergeseran serapan sebesar 10 cm^{-1} untuk gugus $\text{C}-\text{CH}_3$ dan 5 cm^{-1} untuk gugus 15-cis, sedangkan untuk 7-cis $\text{RCH}=\text{CHR}$ menghilang. Karakteristik konfigurasi 7-cis ditunjukkan pada pasangan gugus $\text{C}-\text{CH}_3$ dan $\text{RCH}=\text{CHR}$, sedangkan karakteristik 15-cis hanya ditunjukkan pada gugus $\text{RCH}=\text{CHR}$. Hal ini didukung oleh literatur Britton *et al.*, (1995), bahwa cis rantai ganda terdapat pada serapan kuat antara 750-800 cm^{-1} , serapan untuk 15-cis antara 775-780 cm^{-1} , dan untuk 7-cis 675-730 cm^{-1} .

Gugus C-H pada sampel segar berada pada serapan 1077cm^{-1} ; 1016.43 cm^{-1} ; 913.23 cm^{-1} ; 837 cm^{-1} , dan untuk sampel "teh" berada pada serapan 1311.51 cm^{-1} ; 1016.42 cm^{-1} ; 912.27 cm^{-1} ; 835.12 cm^{-1} . Sedangkan menurut literatur serapan terdapat pada 1100 cm^{-1} dan 845 cm^{-1} . Hasil serapan tersebut terdapat pergeseran frekuensi antara sampel dan literatur sebesar 10 cm^{-1} , serapan C-H yang ditunjukkan literatur tidak sebanyak yang terdapat pada sampel segar dan "teh". Berdasarkan literatur oleh Suyatno (2011), frekuensi vibrasi gugus C-H alkil $1475\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$, dan gugus C-H $1000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$.

Pada gugus C-O sampel segar berada pada serapan 1203.50 cm^{-1} ; 1171.68 cm^{-1} ; 1143.71 cm^{-1} , dan pada sampel "teh" berada pada serapan 1203.50 cm^{-1} ; 1170.71 cm^{-1} ; 1114.78 cm^{-1} . Sedangkan pada literatur pada serapan 1080 cm^{-1} . Hasil serapan terdapat pergeseran antara sampel segar dan "teh" sebesar $0.87, 28.93\text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan pergeseran gugus tidak jauh, namun hasil serapan sampel segar dan "teh" dibandingkan dengan literatur cukup berbeda. Menurut literatur Suyatno (2011), serapan vibrasi gugus C-O terdapat antara $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$.

Gugus trans $\text{CH}=\text{CH}$ pada sampel segar berada pada serapan 968.20 cm^{-1} dan pada sampel "teh" serapan yang didapat 966.27 cm^{-1} , sedangkan menurut literatur oleh Ammawath *et al.* (2010) berada pada 962 cm^{-1} . Berdasarkan hasil tersebut terdapat pergeseran frekuensi yang tidak jauh yaitu antara sampel segar dengan literatur 6 cm^{-1} dan sampel "teh" dengan literatur 4 cm^{-1} . Hal ini didukung oleh Britton *et al.* (1995), bahwa gugus trans $\text{CH}=\text{CH}$ berada pada frekuensi $960\text{-}980\text{ cm}^{-1}$ dan jika sedikitnya terdapat satu pasang ikatan ganda pada posisi trans.

Gugus β -ionon pada sampel segar 1461.94 cm^{-1} ; 1379.97 cm^{-1} ; 1244 cm^{-1} , dan pada sampel "teh" 1460.01 cm^{-1} ; 1375.15 cm^{-1} ; 1242.07 cm^{-1} .

Sedangkan menurut literatur berada pada serapan 1450 cm^{-1} ; 1360 cm^{-1} ; 1250 cm^{-1} , serapan β -ionon yang ditimbulkan bertepatan dengan kelompok getaran dari kelompok metil (C-H). Menurut Marshall (1998), molekul beta karoten memiliki cincin β -ionon di kedua ujung rantai terkonjugasi dengan 4 kelompok metil pada rantai poliena dan 6 kelompok metil pada cincin β -ionon.

Bilangan pada gugus tersebut mengalami pergeseran, hal ini kemungkinan disebabkan akibat adanya perlakuan pengeringan dan penambahan basa. Proses pengeringan dapat mempengaruhi kualitas bahan yang dikeringkan. Beta karoten sangat tidak stabil dalam udara karena dapat teroksidasi dan juga panas sebab dapat mengalami isomerasi menjadi bentuk cis- β -karoten yang lebih tidak stabil (Tungriani *et al.*, 2012). Ditambahkan oleh Gunawan (2009), bahwa setiap ikatan rangkap dapat berkonjugasi cis atau trans. Karotenoid alami umumnya berkonfigurasi trans, tetapi kadang juga berubah menjadi cis karena dipengaruhi faktor cahaya, panas, dan asam.

Namun kekhasan yang dimiliki β -karoten masih dapat diidentifikasi seperti adanya gugus β -ionon, gugus CH^3 simetrik, kelompok gugus $\text{C}=\text{C}$, dan C-H diluar bidang. Hal ini didukung oleh Britton *et al.* (1995), karotenoid akan membentuk cis-isomer sebagai produk degradasi akibat proses stereoisomerisasi karena faktor suhu, cahaya, asam, perbedaan struktur, dll.

Analisis gugus fungsional sampel β -karoten segar, "teh", dan literatur menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Spektrofotometer dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Gugus Fungsional Serapan IR Sampel Segar, “Teh”, dan Literatur β -karoten

No.	Gugus fungsi	λ max (cm^{-1}) (A)	λ max (cm^{-1}) (B)	λ max (cm^{-1}) (C)
1.	CH^3 simetrik	2960 cm^{-1} 2930 cm^{-1} 2870 cm^{-1}	2958.60 cm^{-1} 2926.78 cm^{-1} 2856.34 cm^{-1}	2925.81 cm^{-1} 2856.38 cm^{-1}
2.	C=C-C (isomer cis)	1720 cm^{-1} 1680 cm^{-1}	1738.71 cm^{-1} 1651.92 cm^{-1}	1741.60 cm^{-1} 1697.24 cm^{-1}
3.	C=C,C=N	1600 cm^{-1}	1601.77 cm^{-1} 1505.34 cm^{-1}	1647.10 cm^{-1} 1542.95 cm^{-1} 1508.23 cm^{-1}
4.	CH^3 deformasi	1450 cm^{-1} 1370 cm^{-1}	1461.94 cm^{-1} 1379.97 cm^{-1}	1460.01 cm^{-1} 1375.15 cm^{-1}
5.	C- CH_3 } (7-cis) C-H } 15-cis	1250 cm^{-1} 740 cm^{-1} 780 cm^{-1}	1244 cm^{-1} 727 cm^{-1} 773 cm^{-1}	1242.07 cm^{-1} 723.26 cm^{-1} -
6.	C-H	- 1100 cm^{-1} - 845 cm^{-1}	1077 cm^{-1} 1016.43 cm^{-1} 913.23 cm^{-1} 837 cm^{-1}	1311.51 cm^{-1} 1016.42 cm^{-1} 912.27 cm^{-1} 835.12 cm^{-1}
7.	C-O	970 – 1250 cm^{-1}	1203.50 cm^{-1} 1171.68 cm^{-1} 1143.71 cm^{-1}	1203.50 cm^{-1} 1170.71 cm^{-1} 1114.78 cm^{-1}
8.	trans RCH=CHR	962 cm^{-1} *	968.20 cm^{-1}	966.27 cm^{-1}
9.	β -ionon	1450 cm^{-1} 1360 cm^{-1} 1250 cm^{-1}	1461.94 cm^{-1} 1379.97 cm^{-1} 1244 cm^{-1}	1460.01 cm^{-1} 1375.15 cm^{-1} 1242.07 cm^{-1}

Keterangan : (A) = λ max (cm^{-1}) ekstrak β -karoten menurut Marshall (1998);
*Ammawath *et al.*, (2010).

(B) = λ max (cm^{-1}) β -karoten sampel segar *Sargassum cristaefolium* berdasarkan uji FTIR yang dilakukan laboratorium Kimia Universitas Brawijaya Malang

(C) = λ max (cm^{-1}) β -karoten sampel “teh” *Sargassum cristaefolium* berdasarkan uji FTIR yang dilakukan laboratorium Kimia Universitas Brawijaya Malang

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

- Hasil isolasi pigmen β -karoten pada sampel “teh” mengalami pergeseran panjang gelombang ke arah yang lebih pendek (hipsokromik) dari 452 nm ke 451 nm, nilai warna tingkat kecerahan (L) yaitu dari 31,8 menjadi 32,9, nilai warna a^* (kemerahan) yaitu dari -2,3 menjadi 5,4 dan nilai warna b^* (kekuningan) yaitu dari 12,9 menjadi 25,4, serta nilai $^{\circ}$ hue dari 79,89 menjadi 77,99 berada pada kisaran warna kromatisitas kuning merah ($54^{\circ} - 90^{\circ}$).
- Pada spektra IR juga mengalami pergeseran hipsokromik pada “teh” yaitu pada gugus β -ionon dari 1461.94 cm^{-1} ; 1379.97 cm^{-1} ; 1244 cm^{-1} menjadi 1460.01 cm^{-1} ; 1375.15 cm^{-1} ; 1242.07 cm^{-1} .
- Pigmen β -karoten dari sampel segar dan “teh” telah mengalami degradasi diakibatkan oleh perlakuan yang diberikan sehingga strukturnya mengalami perubahan.
- Pigmen β -karoten tidak ditemukan pada sampel teh sedu dikarenakan pigmen tidak dapat larut dalam pelarut polar (aquades).

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kestabilan pigmen β -karoten terhadap degradasi pigmen pada “teh” rumput laut. Perlu berhati-hati dalam proses penanganan sampel dan saat melakukan penelitian untuk menjaga kualitas pigmen β -karoten agar terhindar dari oksidasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 2011. **Analisa Pengukuran Kadar Larutan Temulawak Menggunakan Metode TLC (*Thin Layer Chromatography*)**. Seminar Tugas Akhir, Institut Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Adnan, M. 1997. **Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan**. Andi Yogyakarta. Yogyakarta.
- Ahmadsoffa. 2009. **Cerita Rumput Laut dari Alor**. <http://Theahmadinstitute.com> Diakses tanggal 20 Mei 2013, pukul 16.30WIB.
- Akbar, M. A. 2012. **Optimasi Ekstraksi *Spent Bleaching Earth* Dalam Recovery Minyak Sawit (Skripsi)**. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Depok.
- Al-Ash'ary, M.N., F.M Titin. S., dan Zackiyah. 2010. **Penentuan Pelarut Terbaik dalam Mengekstraksi Senyawa Bioaktif dari Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus***. Jurnal Sains dan Teknologi Kimia Vol.1 no.2 Oktober 2010 Hal. 150-158. ISSN 2087-7412
- Ammawath, W dan Yaakob C.M. 2010. ***A Rapid Method for Determination of Commercial β -Caroten in RBD Palm Olein by Fourier Transform Infrared Spectroscopy***. *As. J. Food Ag-Ind.* 2010, 3(4), 443-452.
- Anam, C, Sirojudin., dan K. Sofjan F. 2007. **Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin, dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR**. Vol 10. , No.1, April 2007, hal 79-85. ISSN : 1410 – 9662.
- Aprilia, M. 2012. **Kromatografi**. <http://murtyaprilia.blogspot.com/2012/12/kromatografi.html>. Diakses tanggal 7 Januari 2013 pukul 10:42WIB.
- Armstrong G.A, Hearst J.E.1996. ***Carotenoids 2: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis***. *Faseb J.*, 10 (2), 228–37.
- Asni. 2000. **Pengaruh Penambahan Serbuk *Chlorella pyrenoidosa* Strain Lokal (Ink) Terhadap Mutu Organoleptik dan Kimia Minuman Teh**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Britton, G, Liaaen-J, S, and Pfander, H. 1995. ***Carotenoids : Isolation and Analysis***. Birkhäuser Verlag, Basel. Boston. Berlin, 328 pp.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet dan M. Wootton. 1985. **Ilmu Pangan**. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Day dan Underwood. 2002. **Analisis Kimia Kuantitatif**. Erlangga. Jakarta.

- Dewi, F. K. 2010. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar** (Skripsi). FMIPA, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Erawati, C.M. 2006. **Kendali stabilitas beta karoten selama proses produksi tepung ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*)** (Thesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fahri, Muhammad. 2010. **Kajian Kandungan Metabolit Sekunder dari Alga Coklat *Sargassum cristaefolium***. <http://elfahrybima.blogspot.com/2010/10/kajian-kandungan-metabolit-sekunder.html>. Diakses pada tanggal 2 Juni 2013 pukul 23:51 WIB.
- Fardiaz, S., Helda, K., Lilis, N., 1995. **Pengaruh Faktor Fisik dan Kimia terhadap Stabilitas Pigmen Karotenoid dari Kapang Oncom Merah**. Buletin Teknologi Pangan, IPB, Bogor.
- Fernandez, Rio. 2011. **Spektroskopi Infra Merah (FT-IR) dan Sinar Tampak (UV-Vis)**. Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Fessenden, R.J, dan Joan S, F. 1997. **Kimia Organik**. Jilid 1 edisi ketiga. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Firdhayani, I.N. 2010. **Solusi Sehat Bagi Penderita Kanker dan Diabetes**. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Firmansyah, F. 2011. **Metode Analisis**. <http://technologyofpharmaceutical.blogspot.com/2011/02/metode-analisis.html?zx=43ee339beb60ac2d>. Diakses tanggal 7 Juli 2013 pukul 9:55 WIB
- Frete, H., AB. Susanto., Budhi P., Heriyanto., Tatas H.P.B., dan Leenawaty. 2012. **Estimasi Produk Degradasi Ekstrak Kasar Pigmen Alga Merah *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty Varian Merah, Coklat, dan Hijau: Telaah Perbedaan Spektrum Serapan**. Jurnal ILMU KELAUTAN Maret 2012. Vol. 17 (1): 31-38. ISSN 0853-7291
- Frete, Helly de., A.B Susanto., Budhi P., dan Leenawaty L. 2012. **Karotenoid dari Makroalgae dan Mikroalgae: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi**. J. Teknol dan Industri Pangan, Vol XXIII no. 2 Th.2012.
- Ghazali, M. 2007. **Analisis Kekerabatan Alginofit (*Padina*, *Sargassum*, *Turbinaria*) Se-Pulau Lombok Menggunakan Karakter Morfologi** (Skripsi). Universitas Mataram. Mataram
- Gross, J. 1991. **Pigments In Vegetables Chlorophylls And Carotenoids**. Library of Congress Catalog, ISBN 0-442-00657-8
- Guiry, M.D. dan Guiry, G.M. 2013. ***Sargassum cristaefolium* C. Argadh (Algae Base)**. (Serial online). <http://www.algaebase.org>. Diakses pada tanggal 2 Juni 2013 pukul 23:37 WIB.

Gunawan, E. 2009. **Profil Peningkatan Recovery pada Proses Pemekatan β -karoten dari Minyak Sawit Kasar dengan Metode Pengulangan Fraksinasi Pelarut**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Gusti, D.R. 2012. **Studi Pengaruh Kerusakan Beta-karoten dalam Pelarut Heksana, Aseton, dan Metanol serta Tanpa Pelarut dalam Udara Terbuka**. Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains Vol 14 No. (2), Hal. 25-28. ISSN 0852-8349

Hamijaya, M.C.T., Hartati K., dan Kartini Z. 2010. **Karakterisasi Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi dari Alga Coklat *Sargassum fillipendula* Pada Variasi pH dan Kondisi Simpan yang Berbeda**. Teknologi Hasil Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.

Handayani, T., Sutarno., dan Ahmad D.S. 2004. **Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh**. Biofarmasi 2 (2): 45-52, Agustus 2004, ISSN: 1693-2242.

Haqiqi, S. H. 2008. **Kromatografi Lapis Tipis**. Diakses dari <http://d4him.files.wordpress.com/2009/02/paper-kromatografi-lapis-tipis.pdf> pada tanggal 20 Desember 2012 18:40 WIB.

Harborne. 1987. **Metode Fitokimia-Penuntun Cara Menganalisa Tumbuhan**. ITB. Bandung.

Hariyani, R. 2012. **Uji Stabilitas Karotenoid dalam Madu**. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.

Hartika, R. 2009. **Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase Ekstrak Senyawa Golongan Flavonoid Buah Mahkota Dewa (Skripsi)**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hernawan, A.M., Hartati K., dan Kartini Z. 2013. **Perbedaan pH Perendaman Dalam Larutan Kapur (Ca(OH)_2) dengan Pengeringan Oven Terhadap Kualitas Kimia Teh Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) (Skripsi)**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Malang

Hidayat, I.N. 2012. **Khasiat Rumput Laut**. <http://khasiatrumputlaut.blogspot.com/2011/02/sargassumcristaefolium.html>. Diakses tanggal 20 Desember 2012.

Hikmah, M.N dan Zuliyana. 2010. **Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) dari Minyak Dedak dan Metanol dengan Proses Esterifikasi dan Transesterifikasi (Skripsi)**. Universitas Diponegoro. Semarang.

Hikmah, R dan Heri B.S. 2009. **Gambaran Struktur Mikroanatomi Uterus Mencit (*Mus musculus L*) Setelah Pemberian Fraksi n-Heksana dan Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Durian (*Durio zibethinus* Murr)**. Bioscientiae Vol (6) no. 2, Juli 2009. Hal 11-15.

- Hudaya, R. N. 2003. **Pengaruh Penambahan Tepung Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*) untuk Peningkatan Kadar Iodium dan Serat Pangan pada Tahu Sumedang**. FPIK Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hutchings, JB. 1999. **Food Colour and Appearance**. United Kingdom : Blackie Academic and Professional.
- Ismiyati, U. 2008. **Penentuan Tahanan Nanofiltrasi Menggunakan Model Tahanan Seri Pada Pemisahan Beta-Karoten dan Alfa-Karoten Minyak Sawit dalam Isopropanol**. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Jeffrey, S.W, Mantoura, R. F. C, and Wright, S. W. 1997. **Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Method**. UNESCO Publishing, Paris, 661 pp.
- Khoo, H. E., K.N. Prasad, K.W. Kong, Y. Jiang, & A. Ismail. 2011. **Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables**. Molecules, 16: 1710-1738
- Kustamiyati, B. 2006. **Prospek Teh Indonesia Sebagai Minuman Fungsional**. <http://www.lppi.go.id> diakses pada tanggal 10 Oktober 2013.
- Kustina, L. 2006. **Studi Kasus Fisika Pangan Hasil Pembuatan Teh Rumput Laut Jenis *Sargassum sp.*** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lestari, S.W. 2011. **Fraksinasi Bertingkat**. <http://sardewforester.blogspot.com/2011/12/fraksinasi-bertingkat.html>. Diakses pada tanggal 7 Juli pukul 07:11 WIB.
- Lestari, T.A. 2010. **Profil Kimiawi Ekstrak Ramuan Kunyit, Temulawak, dan Meniran Berdasarkan Aktivitas Antioksidan [Skripsi]**. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Limantara, L dan Heriyanto. 2010. **Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**. Ilmu Kelautan Maret 2010 Vol. 15 (1) 23-32. ISSN 0853-7291
- Limantara, L dan Heriyanto. 2011. **Optimasi Proses Ekstraksi Fukosantin Rumput Laut Coklat Padina australis Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar**. Jurnal Ilmu Kelautan Vol.16(2) 86-94, ISSN 0853-7291
- Limantara, L., Windu M., dan A.B Susanto. 2009. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Klorofil a dan β -Karoten *Sargassum sp.*** Jurnal Kelautan Nasional Vol.2 Edisi Khusus Januari 2009
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunke, D.K. 1996. **Food Antioxidant Technological, Toxicological, and Health Perspectives**. New York: Marcel Dekker, Inc

- Marshel, J. 1998. **Fourier Transform Infrared Spectra of Freshly Isolated β -Carotene**. *Asian Journal of Chemistry* Vol. 10, No.1 (1998), 29-34
- Mas'ud, F. 2011. **Optimasi Proses Pemanasan Pada Pembuatan Chips Wortel Kaya Karotenoid Menggunakan *Response Surface Methodology***. *Jurnal AgriTechno* (Vol. 4, No. 1, September 2011), ISSN: 1979-7362.
- Masyhuri dan Zainuddin. 2008. **Metodologi Penelitian: Pendekatan Praktis dan Aplikatif**. Bandung: PT. Refika Aditama.
- Maulida, R. 2007. **Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Caulerpa lentillifera***. FPIK Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Maulidia, D dan Naufal Z. 2010. **Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solvent Campuran, N-Heksana, Aseton, Dan Ethanol (Skripsi)**. Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro. Semarang.
- Merdekawati, W., A.B Susanto., dan Leenawaty L. 2009. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Klorofil a dan β -Karoten *Sargassum sp.*** *Jurnal Kelautan Nasional* Vol.2 Edisi Khusus Januari 2009
- Merdekawati, Windu dan A.B Susanto. 2009. **Kandungan dan Komposisi Pigmen Rumput Laut Serta Potensinya Untuk Kesehatan**. *Squalen* Vol. 4 no. 2, Agustus 2009.
- Mila, Yohanes B. 2012. **Identifikasi dan Fosfotabilitas Pigmen Utama Ekstrak Teh Hijau dan Teh Hitam**. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.
- Mu'amar, H. A. 2009. **Studi Termostabilitas Pigmen Fukosantin, Klorofil a dan Ekstrak Kasar *Padina australis* dan *Sargassum polycystum* Terhadap Suhu dan Lama Pemanasan yang Berbeda**. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 1:141.
- Mudambi, R.S. dan Rajagopal, M.V. 1977. **Effect of Heat on The β -karoten Contents of Nigerian Palm Oil**. *J.Food.Sci.* 42:1414-1415.
- Munawaroh, S dan Prima A.H. 2010. **Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana**. *Jurnal Kompetensi Teknik* Vol.2 No.1, November 2010.
- Ningsih, R dan Erna H. 2012. **Karakterisasi Ekstrak Teh Hitam dan Tinta Cumi-Cumi Sebagai Fotosensitiser Pada Sel Surya Berbasis Pewarna Tersentisasi**. Jurusan Fisika, Universitas Islam Negeri Malang.
- Novianti, N.D. 2012. **Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Jambo-Jambo (*Kjelbergiodendron celebicus* (Koord Merr.) (Skripsi)**. FMIPA Universitas Indonesia. Depok.

Nugrahani, I, Slamet I, Rachmat M, dan Pusparani K. 2013. **Studi Transformasi Hidrat Sefadroksil Monohidrat dan Sefaleksin Monohidrat dengan FTIR**. Jurnal Matematika & Sains, April 2013, Vol. 18 Nomor 1.

Nurchayanti, A.D.R dan Limantara, L. 2007. **Fotodegradasi ekstrak kasar, klorofil a dan fucoxanthin *Padina australis* dan *Dictyota crenulata***. Prosiding Seminar Nasional Pigmen, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, p: 243-260.

Nurdiansyah dan Abdi R. 2011. **Efek Lama Maserasi Bubuk Kopra Terhadap Rendemen, Densitas, dan Bilangan Asam Biodiesel yang Dihasilkan dengan Metode Transesterifikasi In Situ**. Jurnal Belian Vol. 10 No. 2 Sep. 2011: 218 – 224.

Pangestuti, R, Leenawaty L, dan A. Susanto. 2007. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Fukosantin *Sargassum polycystum* C. Agardh**. Prosiding Back to Nature dengan Pigmen Alami Hal. 201-209.

Panuju, D.T. 2008. **Teh dan Pengolahannya**. www.multiplycontent.com. Diakses tanggal 23 Agustus 2013 pukul 15.00WIB.

Purba, Citra Y.C. 2011. **Bioaktivitas Ekstrak Kayu Teras Suren (*Toona sinensis* Roemor) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Aktifnya**. Skripsi Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Putri, E.S.Y. 2010. **Esterifikasi Asam p-Hidroksi Benzoat Dengan Glukosa Menggunakan Katalis Heterogen Alumina**. Thesis Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. Depok.

Putri, K. H. 2011. **Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargassum* sp) Sebagai Serbuk Minuman Pelangsing Tubuh**. Teknologi Hasil Petanian IPB. Bogor.

Rachmawaty, N dan Wahono, H.S. 2013. **Pembuatan Pasta Buah Mangga Podang (*Mangifera Indica* L) (Kajian Konsentrasi Asam Sitrat dan Gula Pasir)**. (Skripsi) Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

Reskika, Andi. 2011. **Evaluasi Potensi Rumput Laut Coklat (*Phaeophyceae*) dan Rumput Laut Hijau (*Chlorophyceae*) Asal Perairan Takalar Sebagai Antibakteri *Vibrio* spp.** (Skripsi). Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Makasar.

Rita, I. 2011. **Proses Emulsifikasi dan Analisis Biaya Produksi i Minuman Emulsi Minyak Sawit Merah**. (Thesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

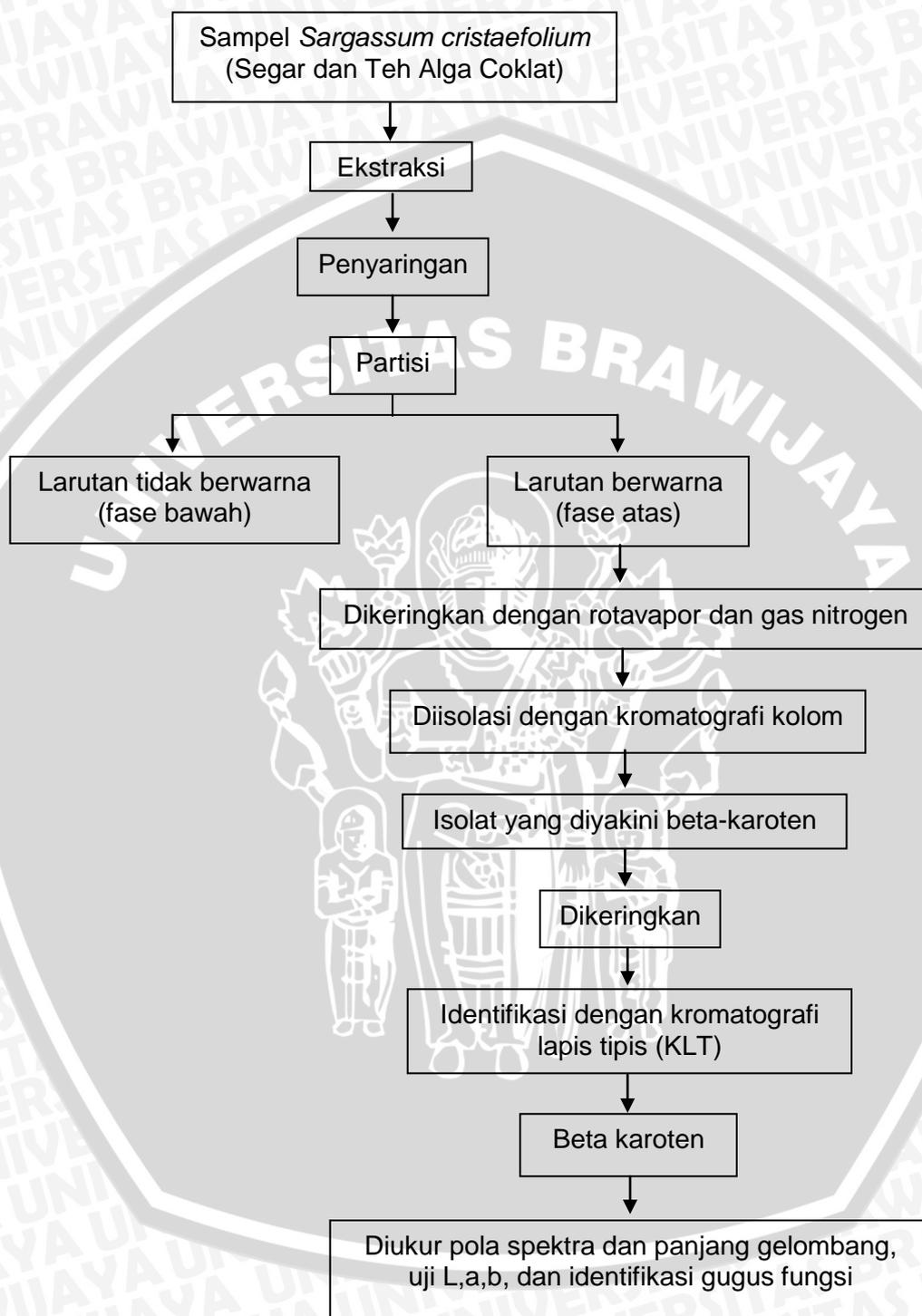
Roni, M.A. 2008. **Formulasi Minuman Herbal Instan Antioksidan dari Campuran Teh Hijau (*Camellia sinensis*), Pegagan (*Centella asiatica*), dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*)**. (Skripsi) Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.

- Rosita, Y.S.K Dewi, dan S. Priyono. 2012. **Kajian Daun Nanas Kerang Pada Karakter Fisikokimia dan Sensori “Liang Teh” Pontianak.** (Skripsi) Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Tanjung Pura.
- Salim, A. 2007. **Penelitian Deskriptif Interpretatif.** Diakses melalui http://www.ktiguru.net/file.php/1/moddata/data/3/9/47/PENELITIAN_DESKRIPTIF_INTERPRETATIF.pdf pada tanggal 5 Juli 2013 pukul 13.45 WIB.
- Sastrohamidjojo, H. 1992. **Spektroskopi Inframerah.** Cetakan Pertama. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- _____. 1996. **Spektroskopi Inframerah.** Cetakan Pertama. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- _____. 2007. **Kromatografi.** Cetakan Keempat. Yogyakarta: Penerbit Liberty
- Satriyanto, B, Simon, B. W, dan Yunianta. 2012. **Stabilitas Warna Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus*) Terhadap Pemanasan Sebagai Sumber Potensial Pigmen Alami.** Jurnal Teknologi Pertanian Vol.13 No.3 (Desember 2012) 157-168.
- Satyaningtyas, E dan Teti E. 2013. **Roti Tawar Laktogenik, Produk Pangan Perangsang Produksi ASI (Air Susu Ibu), Berbasis Kearifan Lokal Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*).** Artikel Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Sedarmayanti dan Syarifudin, H. 2002. **Metodologi Penelitian.** Penerbit CV. Mandar Maju. Bandung
- Selly, A.J. 2008. **Karakterisasi Sifat Fisiko-Kimia dan Pengujian Antiproliferasi Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam.*) terhadap Sel Kanker HeLa dan K-562 secara In Vitro.** Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Septiana, A.T dan Ari A. 2012. **Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi.** Agrotek Vol 6, no.1 Maret 2012.
- Setiawan S. 2008. **Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Jati Belanda Berpotensi Antioksidan** [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Siallagan, B. 2009. **Kajian Proses Pengeringan Kemoreaksi Jahe dengan Kapur Api (CaO).** Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan .
- Siska, A. dan Arifin H. 2011. **The Effect of Multiple Fraction of Celery Root (*Apium graveolens L.*) on Blood Pressure of Hypertension Rats.** Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka. Padang.

- Smallwood, I. W. 1996. **Handbook of Organic Solvent Properties**. Halsted Press. John Wiley and Sons Inc. New York.
- Soebagio, B, E, Ibnu, M.S, Widarti, H.R, dan Munzil. 2005. **Kimia Analitik II**. Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang. Hal: 88-91.
- Standar Nasional Indonesia. 2008. **Etil Asetat**. SNI 06-2583-1992
- Subani. 2008. **Penentuan Kadar Natrium Benzoat, Kalium Sorbat, dan Natrium Sakarin dalam Sirup dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) di Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan Medan**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sudarmadji, S., B.Haryono, dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Yogyakarta: Liberty.
- Sukir. 2012. **Eter**. <http://blogkimiawan.blogspot.com/2012/02/blog-post.html>. Diakses tanggal 7 Juli 2013 pukul 15.55 WIB.
- Supirman, Hartati K, dan Kartini Z. 2013. **Pengaruh Perbedaan pH Perendaman Asam Jeruk Nipis (*Citrus auratifolia*) dengan Pengeringan Sinar Matahari Terhadap Kualitas Kimia The Alga Coklat (*Sargassum fillipendula*)**. THPi student journal, VOL. I NO. 1 pp 46-52 Universitas Brawijaya. Malang.
- Supriyadi, A. 2009. **Sifat Antibakteri Zat Ekstraktif Kayu Siwak (*Salvadora persica* Wall) Terhadap *Streptococcus* sp.** (Skripsi). Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Susilowati. 2008. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Karotenoid dari Cabai Merah (*Capsicum annum* L.)** (Skripsi), Universitas Islam Negeri (UIN). Malang.
- Takeuchi, Y. 2006. **Pengantar Kimia**. Iwanami Shoten Publishers. Tokyo.
- Tamujaya, D.N. 2011. **Perubahan Kualitas Fisik dan Kimiawi Wortel (*Ducus carota*) Sepanjang Rantai Pasokan dari Tingkat Pengumpul Hingga Pedagang di Pasar Swalayan dan Pasar Tradisional**. (Skripsi) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata. Semarang.
- Tranggono dan Sutardi. 1990. **Biokimia dan Teknologi Pasca Panen**. PAU Pangan dan Gizi. UGM-Press. Yogyakarta.
- Tungriani, D.A., A.Karim., Asmawati., dan Seniwati. 2012. **Analisis Kandungan β -Karoten dan Vitamin C Pada Berbagai Varietas Talas (*Colocasia esculenta*)**. Indonesia Chimica Acta FMIPA, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Utami, F dan Yunahara F. 2014. **Analisis Kandungan Mineral dan Logam Berat dalam Teh Hitam yang Beredar di Pasar Jakarta Selatan**

- Secara Spektrofometri Serapan Atom.** Artikel Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila. Jakarta.
- Vargas, F.D., A.R. Jiménez., and O. Paredes L. 2000. **Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3):173-289 (2000).
- Wadli. 2005. **Kajian Pengeringan Rumput Laut Menggunakan Alat Pengering Efek Rumah Kaca.** Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wahlqvist, Mark L., Wattana P., dan Naiyana. 2002. **Food and Nutrition, 2nd Edition.** Allen & Unwin Pty Ltd. Australia.
- Wati. 2010. **Gugus Fungsional.** <http://waticchemistry.blogspot.com/2010/04/gugus-fungsional.html>. Diakses tanggal 7 Juli 2013 pukul 01:00 WIB.
- Widayat dan Hantoro, S. 2008. **Optimasi Pembuatan Dietil Eter dengan Proses Reaktif Distilasi.** *Reaktor* vol. 12 no. 1, Juni 2008, Hal 7-11
- Wijayanti, L. 2010. **Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Pada Alga Coklat (*Sargassum duplicatum*, *Sargassum polycystum*, *Sargassum filipendula*, *Padina australis*, dan *Turbinaria conoides*)** (Skripsi) Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.
- Winarni, O. 2007. **Kinetika Desorpsi Isotermal Beta Karoten Olein Sawit Kasar Dari Atapulgit Dengan Menggunakan Etanol** (Skripsi). Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wulan, S.N. 2001. **Kemungkinan Pemanfaatan Limbah Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao*, L) Sebagai Sumber Zat Pewarna (β -Karoten).** *Jurnal Teknologi Pertanian*, Vol 2. No.2 Agustus 2001: 22 – 29.
- Yani, A. 2011. **Fraksinasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Tanaman Berenuk (*Crescentia cujete* L)** (Skripsi). Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yanti, H. 2008. **Sifat Anti Rayap Zat Ekstraktif Kulit Kayu *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth.** Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yulianawati, T.A. 2012. **Perubahan Kandungan Beta Karoten, Total Asam, dan Sifat Sensorik Yoghurt Labu Kuning Berdasarkan Lama Simpan dan Pencahayaan** (Skripsi). Jurusan Teknologi Pertanian, Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang.

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian



Lampiran 2. Prosedur Persiapan Sampel dan Pembuatan “Teh” Rumput Laut

Prosedur Persiapan Sampel

Prosedur persiapan sampel segar, sebagai berikut :

- *Sargassum cristaefolium* segar dicuci dengan air tawar mengalir dan disikat bagian thalus untuk menghilangkan sisa pasir dan lendir yang menempel sehingga alga coklat menjadi bersih.
- Sampel ditiriskan untuk mengurangi resapan air pada bahan.
- Sampel dipilih dan diambil bagian daun menggunakan gunting.
- Dikeringkan diatas lembaran koran untuk mengurangi kandungan air bahan.
- Sampel alga coklat segar

Prosedur Pembuatan Teh Rumput Laut (Hernawan, 2013)

Prosedur pembuatan teh alga coklat, sebagai berikut :

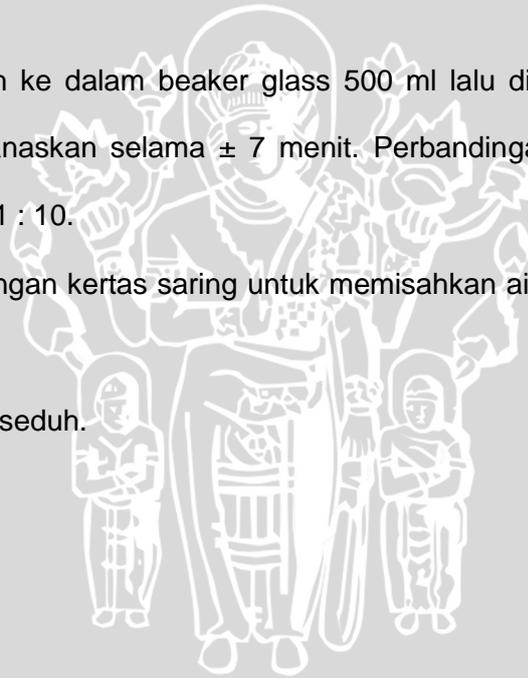
- Disiapkan *Sargassum cristaefolium* segar yang sudah bersih, timbangan digital, bak, larutan air kapur, pH paper, dan beaker glass 1000ml.
- Dibuat larutan air kapur dengan pH 11 dengan cara ditimbang kapur sirih 20 gram dan dilarutkan dalam air keran sebanyak 5000 ml (5 L), lalu diukur pH dengan pH paper.
- Alga coklat direndam kedalam larutan air kapur selama 4,5 jam.
- Dicuci kembali hingga bersih untuk menghilangkan bau kapur.
- Ditiriskan menggunakan keranjang dan dikeringkan diatas lembaran koran untuk mengurangi kandungan air pada bahan.
- Dikeringkan sampel menggunakan *microwave* dengan suhu 80°C selama 30 menit sampai kadar airnya 5%.

- Digiling sampel menggunakan blender dampai menjadi serbuk teh.
- Serbuk teh dimasukkan ke dalam plastik klip dilapisi dengan aluminium foil. Tujuannya untuk menjaga kualitas pigmen teh.
- Teh rumput laut.

Prosedur Penyeduhan Teh Alga Coklat (DKP, 2012)

Prosedur penyeduhan teh alga coklat, sebagai berikut:

- Disiapkan teh, beaker glass 500 ml, air panas, spatula, dan kertas saring.
- Dipanaskan 100 ml air sampai suhu 100⁰C dan ditimbang teh sebanyak 10 gram.
- Dimasukkan teh ke dalam beaker glass 500 ml lalu diseduh dengan air yang telah dipanaskan selama \pm 7 menit. Perbandingan teh dengan air panas sebesar 1 : 10.
- Disaring teh dengan kertas saring untuk memisahkan air seduhan dengan ampas teh.
- Teh alga coklat seduh.



Lampiran 3. Prosedur Ekstraksi dan Fraksinasi (Pangestuti, *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009)

Prosedur Ekstraksi

Prosedur ekstraksi dilakukan sebagai berikut:

- Disiapkan alga coklat segar yang sudah bersih, “teh” alga coklat, mortar dan alu, CaCO₃ beaker glass 1000ml, gelas ukur 100 ml, pelarut aseton (p.a), metanol (p.a), kertas saring halus, aluminium foil, dan wrap.
- Ditimbang sampel segar dan “teh” sebanyak 100 gram dengan timbangan digital dengan ketelitian 10⁻⁴ gram.
- Dihaluskan dengan menggunakan mortar dan diberi CaCO₃ sebanyak 10 gram sampel segar. Untuk sampel “teh” langsung ke perlakuan selanjutnya.
- Dimaserasi bertingkat dengan pelarut metanol : aseton ((7:3 v/v) sebanyak 300 ml selama 24 jam, 12 jam, dan 6 jam.
- Disaring filtrat setiap pergantian waktu maserasi dengan menggunakan kertas saring halus.
- Filtrat hasil maserasi lalu di partisi.
- Pembuatan larutan ekstraksi, sebagai berikut:

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

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

Prosedur Fraksinasi

Prosedur fraksinasi, sebagai berikut:

- Disiapkan filtrat hasil maserasi, beaker glass 1000ml, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 100 ml, pelarut dietil eter (p.a), saturasi garam, air ledeng, kertas saring halus, corong pisah, rotavapor, boto vial, aluminium foil, dan wrap.
- Filtrat partisi dengan pelarut dietil eter, saturasi garam, dan air ledeng dengan perbandingan 50 ml : 25 ml : 60 ml : 5 ml. Penambahan pelarut berurutan dimulai dari filtrat – dietil eter – saturasi garam – air ledeng.
- Diambil fase atas dan fase bawah dibuang. Fase atas ditampung ke dalam erlenmeyer 250 ml.
- Filtrat hasil dari partisi di *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 30°C dan kecepatan 100 rpm untuk menguapkan pelarut sampai volume berkurang dan terbentuk kerak.
- Dipindahkan filtrat kerak ke dalam botol vial dengan cara ditetesi pelarut dietil eter \pm 4ml.
- Dikeringkan kembali dengan gas nitrogen agar sampel kering sempurna.
- Ditutup botol vial dengan cling wrap dan dilapisi aluminium foil. Lalu disimpan di dalam *freezer*.
- Ekstrak pigmen kering.

Lampiran 4. Prosedur Kolom Kromatografi (Pangestuti, *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009)

Prosedur kolom kromatografi untuk isolasi pigmen alga coklat, sebagai berikut:

- Disiapkan ekstrak pigmen kering, silika gel F-254, kolom kromatografi, *magnetic* dan *stirer*, pelarut heksan dan etil asetat (p.a), beaker glass 500 ml, gelas ukur 100 ml, pasir laut, corong kaca, dan tabung rekasi.
- Ditimbang fase diam silika gel ditimbang sebanyak 40 gram dengan timbangan digital dengan ketelitian 10^{-4} gram. Lalu dibuat fase gerak yaitu campuran pelarut heksan : etil asetat (8:2, v/v) \pm 250 ml.
- Distirer fase diam dilarutkan dengan fase gerak. Proses stirer dilakukan selama 1 jam bertahap (45 menit pertama dengan kecepatan 1300 rpm, 1100 rpm, dan 900 rpm setiap 15 menit sekali; 15 menit terakhir dengan kecepatan 700 rpm, 500 rpm, 300 rpm dan 150 rpm, setiap 5 menit sekali).
- Disiapkan kolom kromatografi dengan cara diisi fase gerak sedikit lalu dimasukkan kapas tipis yang dibentuk bulat ke dalam kolom. Kemudian ditambahkan fase gerak sampai setengah kolom.
- Fase diam yang telah distirer dimasukkan perlahan ke dalam kolom dengan bantuan corong kaca dialirkan melalui dinding kolom. Selama memasukkan fase diam, kolom diketuk-ketuk agar tidak terdapat gelembung udara.
- Ditunggu 24 jam untuk melihat ada tidaknya keretakan pada kolom.
- Ditambahkan pasir laut sebanyak 2 gram.
- Dimasukkan ekstrak pigmen kering yang dilarutkan lebih dulu dengan fase gerak 10 ml (heksan : etil asetat) (8:2, v/v) ke dalam kolom.

- Dibuka kran kolom sambil terus ditambahkan fase gerak agar silika gel tidak mengering. Komposisi fase gerak antara lain : 8:2v/v, 7:3 v/v. 6:4 v/v dan 5:5 v/v.
- Ditampung fraksi di dalam tabung reaksi sesuai warnanya. Lalu dimasukkan ke dalam botol vial sesuai warnanya dan dikeringkan dengan gas nitrogen.
- Didapat isolat pigmen murni,
- Pembuatan larutan fase gerak, sebagai berikut:

Heksan : Etil Asetat (8:2, v/v) dalam 10 ml

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

$$\text{Etil asetat} = \frac{2}{10} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

Heksan : Etil Asetat (8:2, v/v) dalam 250 ml

$$\text{Heksan} = \frac{8}{10} \times 250 \text{ ml} = 200 \text{ ml}$$

$$\text{Etil asetat} = \frac{2}{10} \times 250 \text{ ml} = 50 \text{ ml}$$

Heksan : Etil Asetat (7:3, v/v) dalam 200 ml

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

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

Heksan : Etil Asetat (6:4, v/v) dalam 200 ml

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

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

Heksan : Etil Asetat (5:5, v/v) dalam 200 ml

$$\text{Heksan} = \frac{5}{10} \times 200 \text{ ml} = 100 \text{ ml}$$

$$\text{Etil asetat} = \frac{5}{10} \times 200 \text{ ml} = 100 \text{ ml}$$

Lampiran 5. Prosedur Kromatografi Lapis Tipis dan Pemurnian Pigmen Beta Karoten

Prosedur Kromatografi Lapis Tipis (Pangestuti *et al.*, 2008)

Prosedur kromatografi lapis tipis, sebagai berikut:

- Disiapkan Plat KLT, fase gerak dengan pelarut heksan : aseton, pensil 2B, penggaris, gunting, beaker glass 50 ml, gelas ukur 10 ml, pipet ukur 1 ml, mikropipet, dan cawan petri.
- Dibuat garis pada plat yang berukuran 1 cm x 5 cm dimana 1 cm pada bagian bawah dan 0,5 cm di bagian atas.
- Ekstrak pigmen kering dilarutkan dengan 1 ml aseton.
- Ditotolkan ekstrak pigmen cair dengan bantuan mikropipet pada garis bawah dan ditunggu sampai kering.
- Dimasukkan ke dalam beaker glas berisi fase gerak berupa heksan : aseton (7:3, v/v) sebanyak 4 ml, lalu ditutup dengan cawan petri dan ditunggu sampai pelarut mencapai batas atas.
- Dihitung nilai RF warna pada plat KLT.

Prosedur Pemurnian Pigmen Beta Karoten (Limantara *et al.*, 2009)

Prosedur pemurnian beta karoten, sebagai berikut:

- Plat KLT yang berisi spot beta karoten yang telah diidentifikasi dikerik menggunakan silet, dilakukan dekat dengan gas nitrogen.
- Serbuk beta karoten dimasukkan ke dalam botol via dan dilarutkan dengan aseton \pm 3 mL.
- Larutan pigmen dilarutkan disaring dengan *whatman* 0,2 dan dimasukkan ke dalam botol vial lalu diuapkan dengan gas nitrogen.

- Ditotolkan kembali pada plat KLT baru dan diulang 3 kali.

Lampiran 6. Prosedur Analisis Spektrofotometer UV-Vis (Limantara *et al.*, 2009)

Prosedur analisis spektrofotometer UV-Vis, sebagai berikut :

- Disiapkan ekstrak pigmen kering segar dan “teh” hasil dari pemurnian KLT.
- Diencerkan pigmen kering dengan aseton (p.a) \pm 3ml.
- Dimasukkan larutan pigmen murni ke dalam beaker glass yang berisi aseton (p.a) 50 ml menggunakan mikropipet sesuai absorbansi yang diinginkan.
- Dituang ke dalam kuvet \pm 3ml lalu dimasukkan ke dalam instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Lampiran 7. Prosedur Analisis FTIR (Nugrahani *et al.*, 2013)

Prosedur analisis FTIR, sebagai berikut:

- Pembuatan Pelet KBr

KBr yang digunakan yaitu jenis Spektro grade, langkah pertama KBr dioven pada suhu $105^{\circ}\text{C} \pm 1$ jam, selanjutnya ditumbuk halus. Apabila sampel padat maka langsung dicampurkan ke dalam KBr tersebut serta ditumbuk halus bersama KBr, dengan perbandingan KBr : sampel (10:1). Setelah KBr ditumbuk halus kemudian dicetak/ dipres pada alat pengepresan. Pellet siap diukur pada FTIR, namun apabila sampel cair maka setelah KBr menjadi pellet barulah sampel ditetaskan (antara 2-3 tetes).

- Tahap Awal

FTIR dihubungkan pada sumber tegangan 220 volt, selanjutnya dinyalakan alat FTIR dengan menekan tombol ON diikuti dengan menyalakan komputer, dipilih program [IR SOLUTION] dan di klik 2x pada program [IR

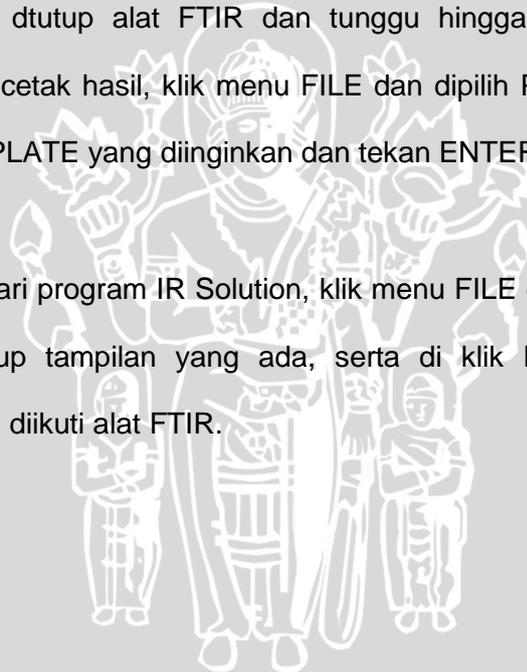
SOLUTION] untuk masuk ke dalam program. Dilanjutkan memilih menu [MEASUREMENT] yang ada pada *function tabs*, dan memilih menu [MEASUREMENT] yang ada pada *Menu Bar* dengan meng-klik [INITIALIZE] kemudian TUNGGU sampai komputer terhubung dengan alat FTIR.

- Pengukuran Sampel

Sebelum dilakukan pengukuran sampel. *Sample compartment* (ruangan di dalam alat yang disediakan untuk tempat sampel) dikosongkan terlebih dahulu dan di klik *background* [BKG] serta ditunggu hingga proses *scanning* selesai. Langkah selanjutnya membuka *sample compartment* dan dimasukkan sampel, kemudian dtutup alat FTIR dan tunggu hingga proses *scanning* selesai. Untuk mencetak hasil, klik menu FILE dan dipilih PRINT selanjutnya dipilih bentuk TEMPLATE yang diinginkan dan tekan ENTER.

- Tahap Akhir

Untuk keluar dari program IR Solution, klik menu FILE dan dipilih CLOSE atau untuk menutup tampilan yang ada, serta di klik EXIT. Selanjutnya komputer dimatikan diikuti alat FTIR.



Lampiran 8. Pembuatan Larutan KLT

Pembuatan larutan fase gerak pada KLT, sebagai berikut :

- Heksan : Aseton (7 : 3 v/v) dalam 4 ml

$$\text{Heksan} = \frac{7}{10} \times 4 \text{ ml} = 2,8 \text{ ml}$$

$$\text{Aseton} = \frac{3}{10} \times 4 \text{ ml} = 1,2 \text{ ml}$$

Lampiran 9. Perhitungan Kadar β -karoten

$$A = \epsilon b c$$

A= absorbansi

ϵ = absorptifitas molar (*specific extinction β -carotene*)

b= lebar bagian dalam kuvet

c= konsentrasi (molar)

- Kadar β -karoten Segar

Panjang Gelombang 452,0 nm absorbansi 1,902

$$C = \frac{A}{\epsilon \times b} \rightarrow C = \frac{1,902}{2500 (100 \text{mLg}^{-1} \text{cm}^{-1}) \times 1 \text{cm}} = 0,07608 \text{mLg}$$

- Kadar β -karoten Teh (Basa Kering)

Panjang Gelombang 451,0 nm absorbansi 1,663

$$C = \frac{A}{\epsilon \times b} \rightarrow C = \frac{1,663}{2500 (100 \text{mLg}^{-1} \text{cm}^{-1}) \times 1 \text{cm}} = 0,06652 \text{mLg}$$

Perhitungan Kadar Rendemen

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

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{0,93}{100} \times 100\% \\ &= 0,93 \% \end{aligned}$$

Lampiran 10. Data Stabilitas β -karoten

No	Perlakuan	Intensitas L,a,b	Spektrofotometer UV-Vis	
			Panjang Gelombang	Puncak Absorbansi
1	Segar	L = 31.8; a= -2.3; b=12.9	452	1.723 \pm 0.185
2	Basa Kering	L = 32.9; a=5.4; b=25.4	451	1.69 \pm 0.052

Lampiran 11. Foto Proses Pembuatan Teh



(a)

(b)

(c)



(d)



(e)



Keterangan

- (a) Proses pencucian alga coklat
- (b) Proses perendaman larutan kapur
- (c) Proses penirisan
- (d) Proses pemotongan alga coklat
- (e) Proses pengeringan

(f)

(f) Teh alga coklat



Lampiran 12. Foto Proses Ekstraksi



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Keterangan

- (a) Proses pencucian alga coklat
- (b) Proses pemotongan alga coklat
- (c) Penghalusan sampel
- (d) Proses maserasi
- (e) Proses penyaringan

Lampiran 13. Foto Proses Partisi



(a)



(c)



(b)

Keterangan

- (a) Proses fraksinasi
- (b) Proses *Rotary Vacuum Evaporator*
- (c) Proses pengeringan menggunakan gas nitrogen

Lampiran 14. Foto Proses Komatografi Kolom



(a)

(b)

(c)

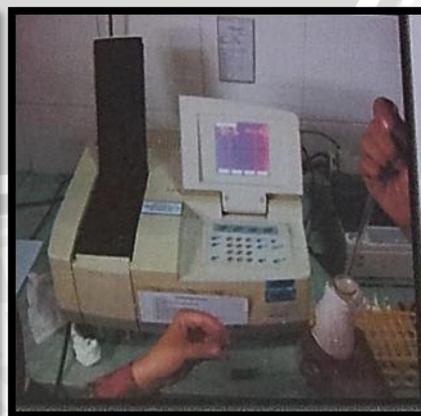
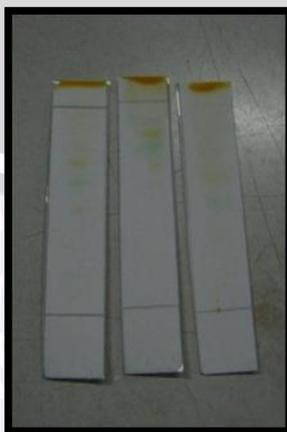


(d)

Keterangan

- (a) Pembuatan bubuk silika
- (b) Pemasangan bubuk silika
- (c) Pergerakan pigmen dalam kromatografi kolom
- (d) Pigmen beta karoten hasil isolasi kromatografi kolom

Lampiran 15. Proses Identifikasi Pigmen



(a)

(b)

(c)

Keterangan

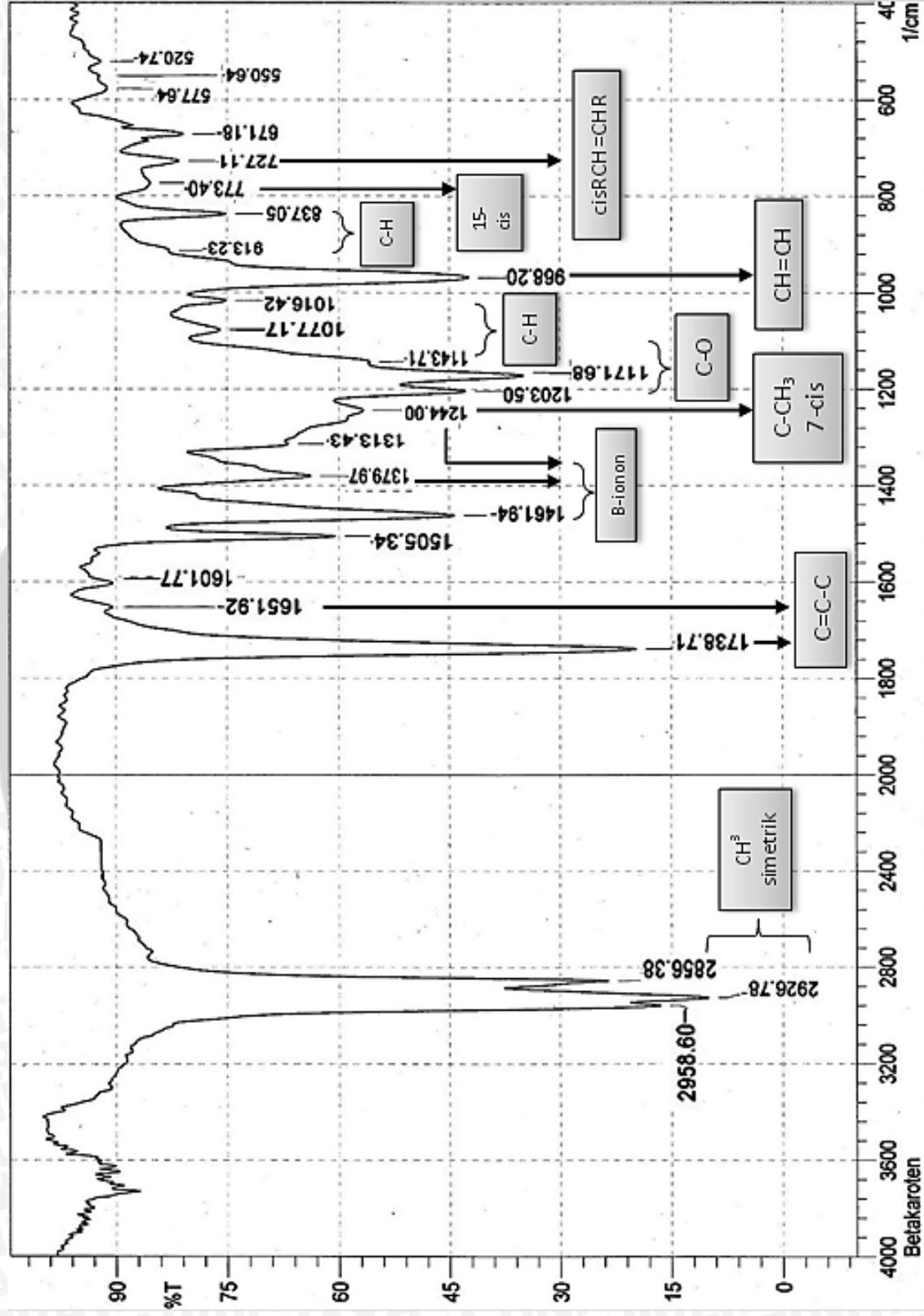
(a) Proses identifikasi beta karoten menggunakan KLT

(b) Hasil KLT

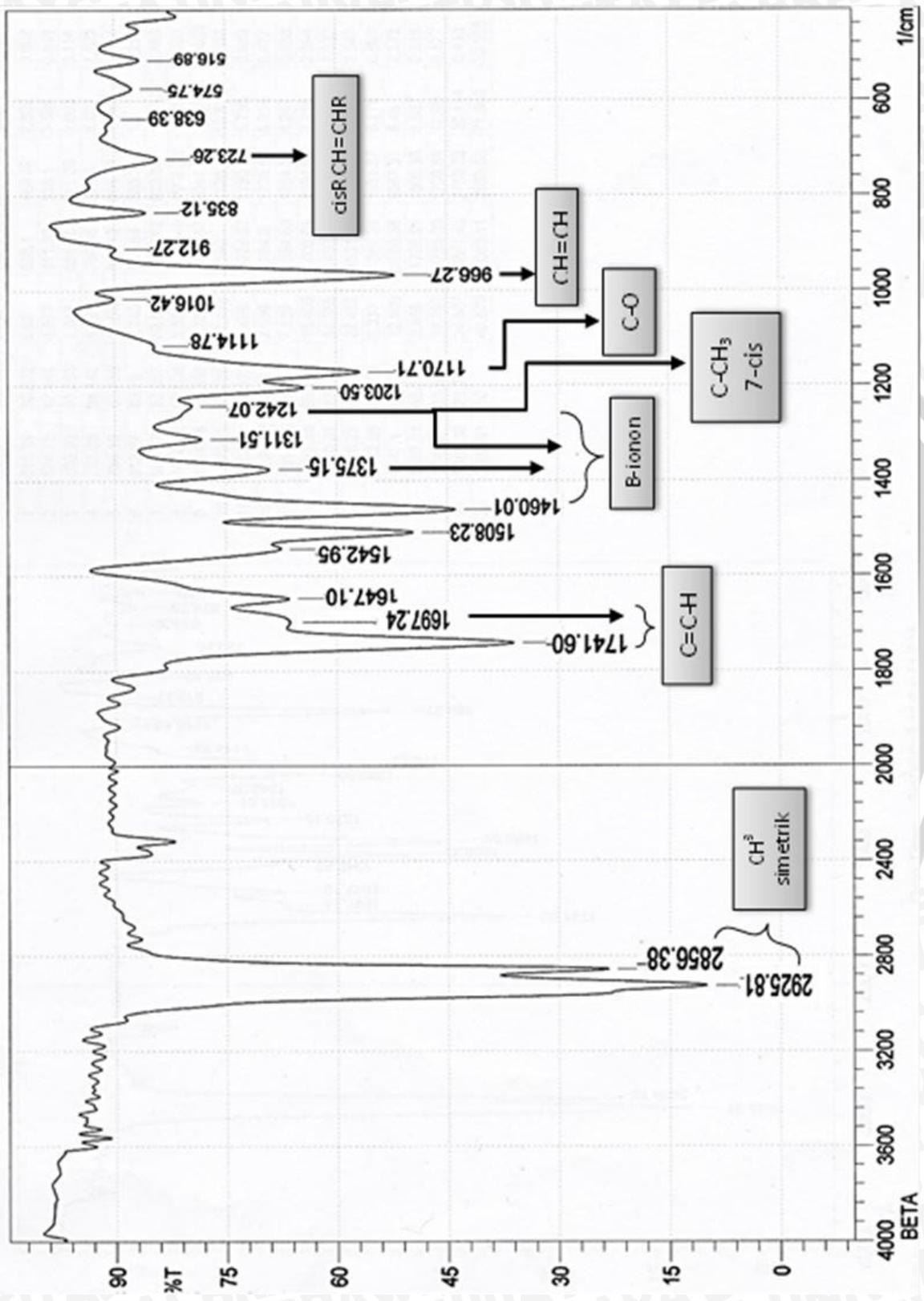
(c) Proses pengukuran absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis 1601

Lampiran 16. Spektrum IR β -karoten Sampel Segar





Lampiran 17. Spektrum IR β -karoten "Teh" Rumput Laut



Lampiran 18. Data Kromatografi Kolom Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Segar

Tabung ke	Waktu	Warna	Pelarut (Heksan : Etil Asetat)	ml Pelarut	ml Pelarut per tabung	Senyawa
1	12:21	Bening	(8:2,v/v)	250 ml	16 ml	
2	12:24	Bening			16 ml	
3	12:27	Bening			16 ml	
4	12:30	Bening			16 ml	
5	12:33	kuning			16 ml	β -karoten
6	12:36	kuning			16 ml	β -karoten
7	12:39	kuning			16 ml	β -karoten
8	12:42	kuning			16 ml	β -karoten
9	12:45	kuning	(7:3,v/v)	200 ml	16 ml	β -karoten
10	12:48	kuning bening			16 ml	
11	12:51	kuning bening			16 ml	
12	12:54	putih			16 ml	
13	12:57	putih			16 ml	
14	13:00	putih			16 ml	
15	13:03	abu-abu			16 ml	
16	13:07	abu-abu			16 ml	
17	13:10	abu-abu			16 ml	
18	13:13	abu-abu			16 ml	
19	13:17	abu-abu			16 ml	
20	13:20	abu-abu			16 ml	
21	13:23	Hijau-biru bening			16 ml	
22	13:27	hijau kecoklatan			16 ml	Klorofil-a
23	13:30	hijau			16 ml	Klorofil-a
24	13:32	hijau			16 ml	Klorofil-a
25	13:35	hijau kekuningan			16 ml	Klorofil-a
26	13:38	hijau kebiruan			16 ml	Klorofil-a
27	13:41	biru bening			16 ml	Klorofil-a
28	13:44	biru bening			16 ml	Klorofil-a
29	13:47	biru pekat	(6:4,v/v)	200 ml	16 ml	Klorofil-a
30	13:50	biru pekat			16 ml	Klorofil-a
31	13:53	biru pekat			16 ml	
32	13:55	biru pekat			16 ml	
33	13:58	biru			16 ml	
34	14:01	hijau kebiruan pekat			16 ml	
35	14:04	hijau kebiruan pekat			16 ml	
36	14:07	hijau pekat			16 ml	

37	14:10	hijau			16 ml	
38	14:13	hijau			16 ml	
39	14:16	hijau bening (+++)			16 ml	
40	14:19	hijau bening (+++)			16 ml	
41	14:22	hijau bening (+++)			16 ml	
42	14:25	hijau bening (++)			16 ml	
43	14:28	hijau bening (++)	(5:5,v/v)	200 ml	16 ml	
44	14:31	hijau muda bening			16 ml	
45	14:36	hijau muda bening			16 ml	
46	14:39	hijau muda bening			16 ml	
47	14:41	hijau muda bening			16 ml	
48	14:44	hijau muda bening			16 ml	
49	14:47	hijau muda bening			16 ml	
50	14:49	orange			16 ml	Fukosantin
51	14:52	orange			16 ml	Fukosantin
52	14:55	orange			16 ml	Fukosantin
53	14:58	orange			16 ml	Fukosantin
54	15:00	orange			16 ml	Fukosantin
55	15:03	orange muda			16 ml	
56	15:09	orange muda			16 ml	
57	15:00	orange muda			16 ml	

Lampiran 19. Data Kromatografi Kolom “Teh” Rumput Laut

Tabung ke	Waktu	Warna	Pelarut (Heksan : Etil Asetat)	ml Pelarut	ml Pelarut per tabung	Senyawa
1	12.01	Bening	(8:2, v/v)	250 ml	17 ml	
2	12.07	Bening			17 ml	
3	12.15	Bening			17 ml	
4	12.24	Bening			17 ml	
5	12.30	Kuning			17 ml	β-karoten
6	12.38	Kuning			17 ml	β-karoten
7	12.45	Kuning	(7:3, v/v)	200 ml	17 ml	β-karoten
8	12.51	Kuning Kehijauan			17 ml	
9	12.58	Kuning Kehijauan Bening			17 ml	
10	13.05	Kuning Kehijauan Bening			17 ml	
11	13.15	Kuning Kehijauan Bening			17 ml	
12	13.24	Kuning Kehijauan Bening			17 ml	
13	13.30	Hijau Bening			17 ml	
14	13.37	Hijau Bening			17 ml	
15	13.44	Hijau Bening			17 ml	
16	13.51	Hijau Kehitaman			17 ml	
17	13.58	Hijau Kehitaman Pekat			17 ml	
18	14.04	Hijau Kehitaman Pekat			17 ml	
19	14.12	Hijau Kebiruan Bening			17 ml	
20	14.18	Hijau Kebiruan Bening			17 ml	
21	14.24	Hijau Kebiruan Bening			17 ml	
22	14.31	Hijau Kebiruan Bening			17 ml	
23	14.39	Hijau Kebiruan Bening	(6:4, v/v)	200 ml	17 ml	
24	14.46	Hijau Kebiruan			17 ml	
25	15.01	Hijau Kebiruan			17 ml	
26	15.09	Hijau Kebiruan			17 ml	
27	15.15	Hijau Kebiruan Pekat			17 ml	
28	15.25	Hijau Bening			17 ml	
29	15.31	Hijau Bening			17 ml	
30	15.37	Hijau Kekuningan Bening			17 ml	
31	15.46	Hijau Kekuningan Bening			17 ml	
32	15.52	Hijau Kekuningan Bening			17 ml	
33	16.00	Hijau Kekuningan Bening			17 ml	
34	16.08	Hijau Kekuningan Bening			17 ml	
35	16.20	Hijau Kekuningan Bening			17 ml	
36	16.31	Hijau Bening	(5:5, v/v)	200 ml	17 ml	

37	16.37	Hijau Kekuningan			17 ml	
38	16.54	Hijau Kekuningan			17 ml	
39	17.01	Kuning Bening			17 ml	
40	17.13	Kuning Bening			17 ml	
41	17.23	Kuning Bening			17 ml	
42	17.33	Kuning Bening			17 ml	
43	17.42	Hijau Kekuningan			17 ml	
44	17.50	Orange			17 ml	Fukosantin
45	17.58	Orange			17 ml	Fukosantin
46	18.06	Orange			17 ml	Fukosantin
47	18.24	Orange			17 ml	Fukosantin

