

**IDENTIFIKASI FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT
(*SARGASSUM FILIPENDULA*) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI KOLOM DENGAN PENGUJIAN
SPEKTROSKOPI FTIR**

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

Oleh :

NUR FAHIMA TUDIN W.

NIM. 0610830068



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2010**

**IDENTIFIKASI FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT
(*SARGASSUM FILIPENDULA*) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI KOLOM DENGAN PENGUJIAN
SPEKTROSKOPI FTIR**

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan dan
Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh :
**NUR FAHIMA TUDIN W.
NIM. 0610830068**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2010**

**IDENTIFIKASI FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT
(*SARGASSUM FILIPENDULA*) MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI KOLOM DENGAN PENGUJIAN
SPEKTROSKOPI FTIR**

Oleh :
NUR FAHIMA TUDIN W.
NIM. 0610830068

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 07 Oktober 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Ir. J. A. Soemardi, MS
Tanggal :

Dosen Penguji II

Ir. Yahya, MP
Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Ir. Kartini Zaelanie, MP
Tanggal :

Mengetahui
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
Tanggal :

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT dan nabi besar junjungan kami Nabi Muhammad SAW atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian skripsi beserta laporan yang berjudul: Identifikasi Fukosantin Dari Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) Menggunakan Kromatografi Kolom Dengan Pengujian Spektroskopi FTIR. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Ucapan terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I dan Ir. Kartinie Zaelanie, MP selaku dosen pembimbing II yang telah dengan sabar membimbing.
2. Kedua orang tua ku yang selalu memberi semangat, terutama ibuku dan ayahku serta kakak yang sudah banyak membantu.
3. Mas Hamim yang selalu membantu penelitian kami dari awal sampai akhir.
4. Teman-teman tim pigmen yang selalu bersama-sama dari pagi sampai malam. Carda, Shanti, Defi, Lisa.
5. Keluarga besar Universitas Muhamadiyah Malang (Mas Angga, Pak Arisandi dan teman lainnya)
6. Teman, sahabat, saudara-saudaraku yang sudah membantu, menemani, memberikan dorongan sehingga laporan ini bisa terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna. Akhirnya penulis berharap semoga Laporan Skripsi ini bermanfaat sebagai salah satu informasi bagi semua pihak yang memerlukan dan bagi yang membacanya.

Malang, Agustus 2010

Penulis

RINGKASAN

NUR FAHIMA TUDIN W. Laporan Skripsi dengan judul: Identifikasi Fukosantin Dari Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) Menggunakan Kromatografi Kolom Dengan Pengujian Spektroskopi FTIR (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** dan **Ir. Kartini Zaelanie, MP**).

Fukosantin adalah bagian dari karotenoid yang memiliki rumus $C_{42}H_{58}O_6$. Fukosantin berwarna oranye, termasuk kelompok xantofil dari karotenoid. Pigmen ini banyak ditemukan pada beberapa spesies alga coklat. Fukosantin mampu mengabsorpsi energi warna hijau-biru dan melewatkannya ke klorofil untuk proses fotosintesis, aktivitas tersebut ditunjukkan dengan sifat absorpsi pada panjang gelombang 400-540 nm (Nurdiana dan Limantara 2008). Fukosantin memiliki stuktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alena dan 5,6 monoekposida didalam molekulnya. Dipandang dari segi kimianya, fukosantin tersusun atas 7 ikatan rangkap terkonjugasi. Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan pigmen mudah dirusak oleh degradasi oksidatif seperti zat kimia, enzim, suhu, oksigen, dan cahaya (Gross,1991). Analisa gugus fungsi ini diukur dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektrofotometer inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya (Anam, *et al.*, 2007). Spektrofotometer infra merah digunakan untuk menguji gugus fungsional dari suatu senyawa (Sastrohamidjojo, 1991).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, pada bulan Juni - Agustus 2010.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Metode eksploratif bertujuan untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan. Dalam penelitian eksploratif pengetahuan tentang gejala yang hendak diteliti masih sangat terbatas dan merupakan langkah pertama bagi penelitian yang lebih mendalam (Singarimbun dan Effendi, 1989).

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis diperoleh R_f 0,28. Identifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis didapatkan panjang gelombang (λ) untuk pelarut aseton yaitu 447 nm dan untuk pelarut etanol yaitu 451 nm. Hasil identifikasi fukosantin menggunakan Spektrofotometer FTIR didapatkan beberapa gugus fungsi yaitu gugus hidroksil, ikatan alenik, gugus karbonil (ester), ikatan rangkap terkonjugasi (C=C) dan CH.

Disarankan perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi pigmen fukosantin dengan menggunakan FTIR dan diharapkan agar lebih berhati-hati dalam proses penanganan sampel sebelum dilakukan proses identifikasi supaya tidak timbul suatu pengotor yang akan mempengaruhi hasil analisa FTIR.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga Coklat	5
2.1.1 Komposisi Kimia Alga Coklat	6
2.1.2 <i>Sargassum filipendula</i>	7
2.2 Fukosantin	8
2.3 Kegunaan Fukosantin	9
2.4 Ekstraksi	10
2.5 Fraksinasi	11
2.6 Pelarut	11
2.6.1 Metanol	13
2.6.2 Aseton	14
2.6.3 Etanol	15
2.6.4 Dietil Eter	16
2.6.5 Etil Asetat	17
2.6.6 n-Heksana	17
2.7 Kromatografi Kolom	18
2.8 Kromatografi Lapis Tipis	19
2.9 Spektrofotometer UV-Vis	21
2.10 Spektrofotometer FTIR	22
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	26
3.1.1 Bahan Penelitian	26
3.1.2 Alat Penelitian	26
3.2 Metode Penelitian	26
3.3 Prosedur Penelitian	27
3.3.1 Persiapan Sampel	27
3.3.2 Ekstraksi Pigmen	27
3.3.3 Isolasi Fukosantin	29
3.3.4 Identifikasi Fukosantin	30
3.3.4.1 Kromatografi Lapis Tipis	30
3.3.4.2 Spektrofotometer UV-vis	30
3.3.4.3 Spektrofotometer FTIR	31



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

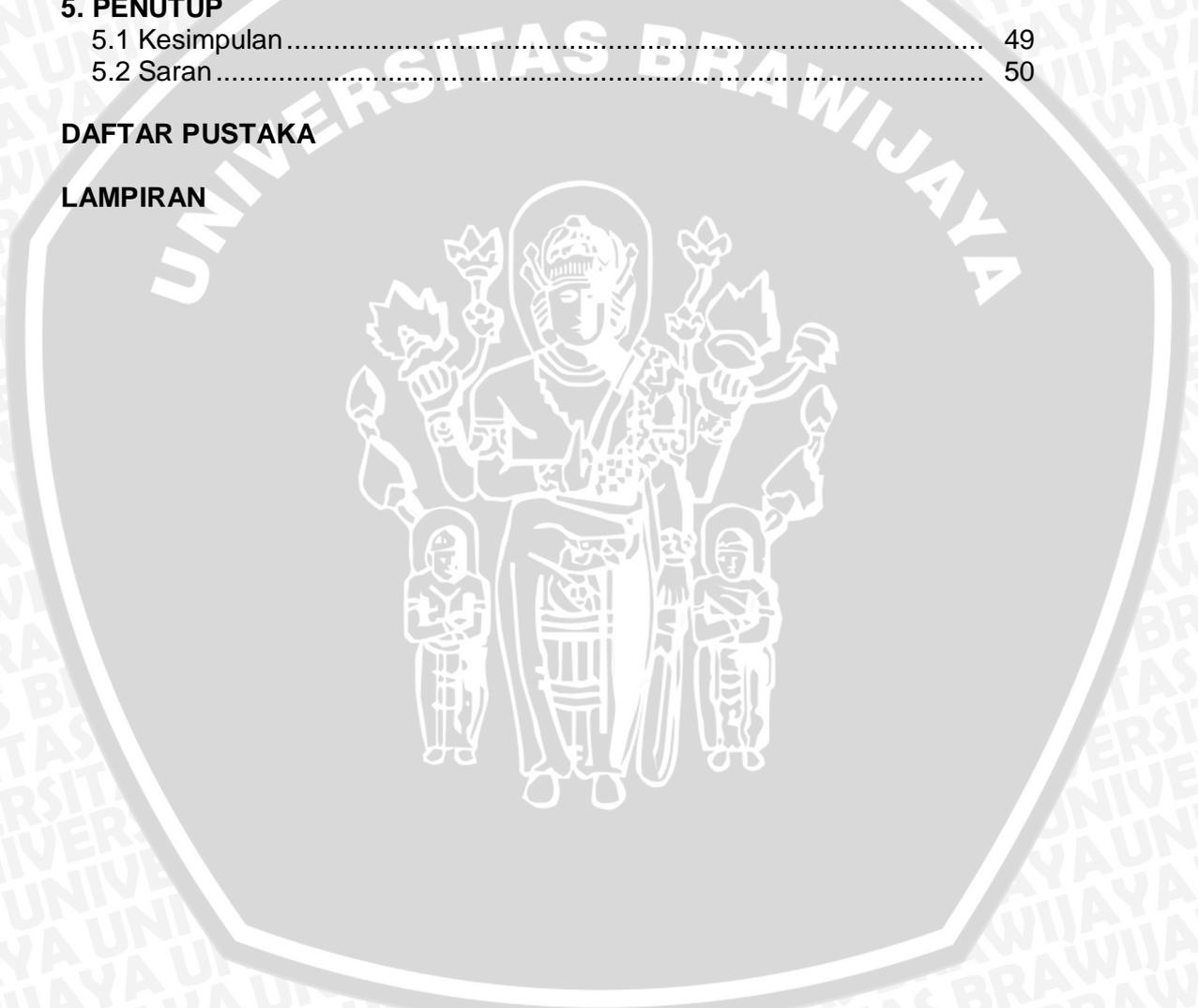
4.1 Hasil Penelitian	36
4.1.1 Ekstraksi Fukosantin	37
4.1.2 Fraksinasi Fukosantin	38
4.1.3 Isolasi Fukosantin	41
4.1.4 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	42
4.1.5 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometer UV-Vis	43
4.1.6 Identifikasi Fukosantin dengan Spektroskopi Inframerah (FTIR) ...	44
4.2 Pembahasan.....	45
4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	45
4.2.2 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometer UV-Vis	45
4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan Spektroskopi Inframerah (FTIR) ...	46
4.2.4 Rendemen Fukosantin	48

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	50

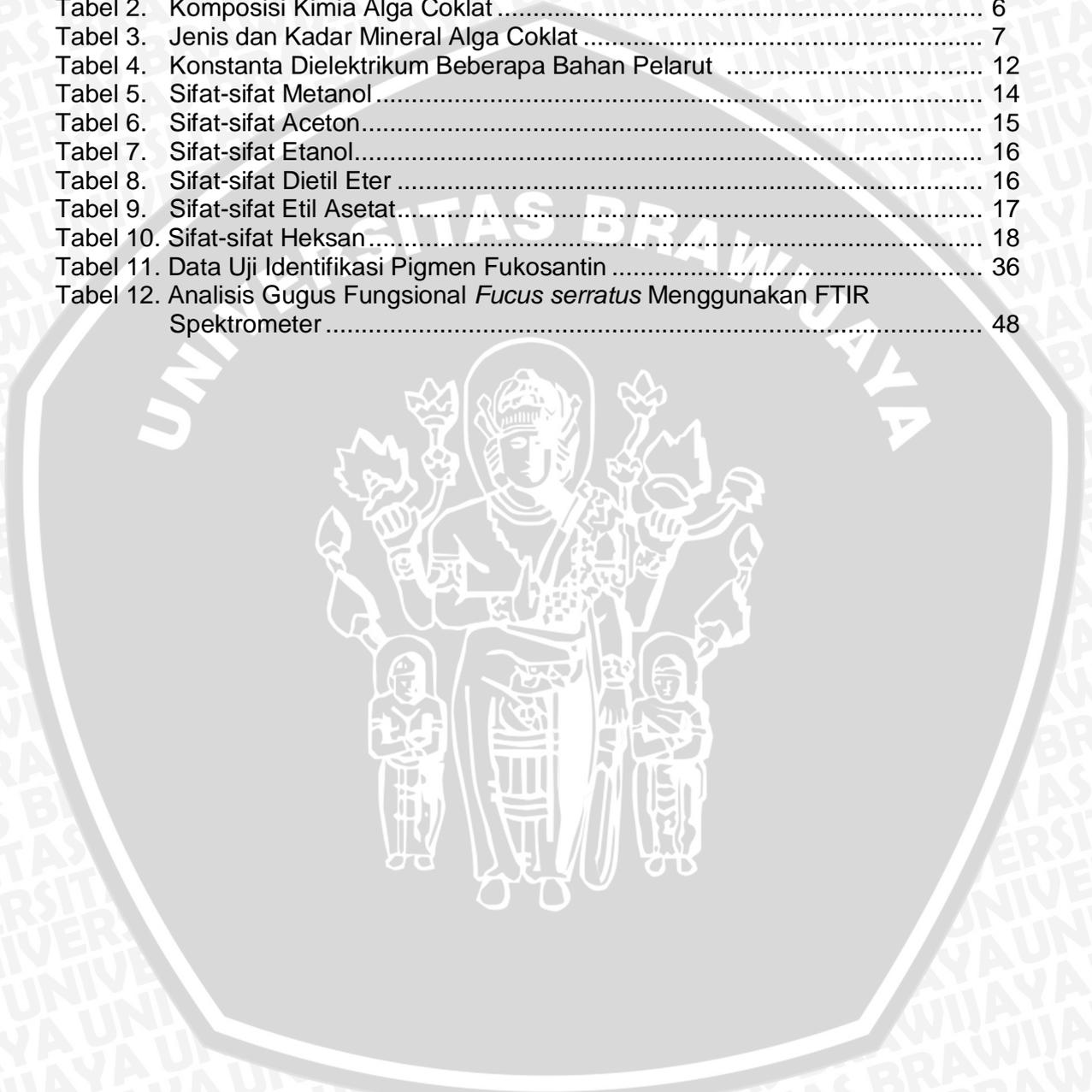
DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



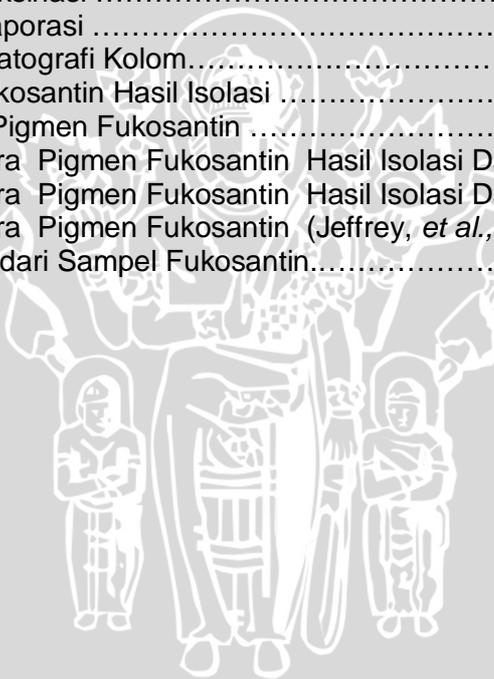
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Penyebaran Alga Coklat Di Indonesia.....	2
Tabel 2. Komposisi Kimia Alga Coklat	6
Tabel 3. Jenis dan Kadar Mineral Alga Coklat	7
Tabel 4. Konstanta Dielektrikum Beberapa Bahan Pelarut	12
Tabel 5. Sifat-sifat Metanol.....	14
Tabel 6. Sifat-sifat Aceton.....	15
Tabel 7. Sifat-sifat Etanol.....	16
Tabel 8. Sifat-sifat Dietil Eter	16
Tabel 9. Sifat-sifat Etil Asetat.....	17
Tabel 10. Sifat-sifat Heksan	18
Tabel 11. Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin	36
Tabel 12. Analisis Gugus Fungsional <i>Fucus serratus</i> Menggunakan FTIR Spektrometer	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. <i>Sargassum filipendula</i>	8
Gambar 2. Struktur Kimia Fukosantin(Jeffrey, <i>et al.</i> , 1997)	9
Gambar 3. Kromatografi Kolom (Chemistry,2009)	19
Gambar 4. Metode Kromatografi Lapis Tipis (Clark, 2007)	20
Gambar 5. Gambar UV-Vis 1601	21
Gambar 6. Spektrofotometer FTIR	23
Gambar 7. Daftar Gugus Fungsional	24
Gambar 8. Spektrum Absorpsi Infra-Red dari Fukosantin	25
Gambar 9. Ekstraksi fukosantin	33
Gambar 10. Isolasi Fukosantin Kromatografi Kolom	34
Gambar 11. Diagram alir Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	35
Gambar 12. Proses Ekstraksi	38
Gambar 13. Proses Fraksinasi	40
Gambar 14. Proses Evaporasi	40
Gambar 15. Hasil Kromatografi Kolom.....	41
Gambar 16. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi	42
Gambar 17. Hasil KLT Pigmen Fukosantin	42
Gambar 18. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi Dalam Aseton	43
Gambar 19. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi Dalam Etanol	43
Gambar 20. Pola Spektra Pigmen Fukosantin (Jeffrey, <i>et al.</i> ,1997)	43
Gambar 21. Spektra IR dari Sampel Fukosantin.....	44



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut atau yang biasa disebut dengan *seaweed* merupakan tanaman makro alga yang hidup di laut yang tidak memiliki akar, batang dan daun sejati dan umumnya hidup di dasar perairan. Fungsi dari akar, batang dan daun yang tidak dimiliki oleh rumput laut tersebut digantikan dengan thallus. Selain thallus, ada pula *holdfast* yaitu bagian dasar dari rumput laut yang berfungsi untuk menempel pada substrat (Juneidi, 2004).

Pengelompokkan makroalga berdasarkan jenis pigmennya yakni alga merah (*Rhodophyta*), alga coklat (*Phaeophyta*), dan alga hijau (*Chlorophyta*). Alga merah dan coklat ialah alga yang paling sering digunakan untuk sumber pangan pada manusia (Dawczynski, *et al.*, 2007).

Alga coklat mempunyai kelimpahan dan sebaran yang sangat tinggi, terdapat hampir di seluruh wilayah laut Indonesia (Handayani, *et al.*, 2004) yakni antara lain di Kepulauan Seribu, Pulau Komodo, Pulau Lombok dan Pulau Ternate (Indriani dan Sumarsih, 1992). Pada umumnya, alga coklat telah dimanfaatkan sebagai sumber alginat namun pigmen yang terdapat pada alga coklat hingga saat ini belum dimanfaatkan secara optimal (Bachtiar, 2007).

Beberapa jenis alga coklat yang terdapat di Indonesia adalah marga *Sargassum*, *Dictyota*, *Turbinaria*, *Padina*, *Hydroclathrus* dan *Hormophysa*. Salah satu jenis *Sargassum* yaitu *Sargassum fillipendula*. Ciri utama dari marga *Sargassum* adalah membentuk thallus yang umumnya gepeng, percabangannya rimbun dengan daun melebar atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter dan panjangnya mencapai tujuh meter dan warna thallus umumnya coklat

(Kadi dan Atmadja, 1996). Penyebaran alga coklat di Indonesia dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Penyebaran Alga Coklat Di Indonesia

Jenis	Daerah Penyebaran
<i>Dictyota dichotoma</i>	Kepulauan Seribu, Sulawesi, Pulau Komodo, Kepulauan Kangean, Bali
<i>Hydroclafharus clathatus</i>	Kalimantan, Sulawesi, Timor, Sumbawa, Kepulauan Seribu
<i>Padina australis</i>	Jawa, Sumatera, Ambon, Sumba, Sulawesi, Kepulauan Seribu
<i>Sargassum sp</i>	Jawa, Sulawesi, Pulau Kei, Sumatera Utara, Lombok, Kepulauan Aru, Irian
<i>Turbinaria conoides</i>	Jawa, Sumatera, Irian, Maluku, Flores

Sumber : Indriani dan Sumarsih, (1992)

Dari tabel diatas diketahui bahwa alga coklat jenis *Sargassum sp*, *Padina*, dan *Turbinaria* adalah alga coklat yang mempunyai kelimpahan dan sebaran yang sangat tinggi, terdapat hampir di seluruh wilayah laut Indonesia. Ditambahkan oleh Atmadja, *et al* (1996), pemanfaatan alga coklat di Indonesia masih belum banyak dimanfaatkan.

Pigmen yang terdapat pada alga coklat hingga saat ini belum banyak dimanfaatkan. Pigmen merupakan molekul khusus yang dapat memunculkan warna dan mampu menyerap cahaya matahari dengan menyerap dan memantulkannya pada panjang gelombang tertentu (Prangdimurti, 2007). Alga coklat mengandung pigmen klorofil (klorofil a dan klorofil c) dan kaya akan pigmen karotenoid (fukosantin, β -karoten) (Goodwin, 1974 dalam Agustina, *et al.*, 2007; Atmadja, *et al.*, 1996; dan Aslan, 1998).

Fukosantin merupakan karotenoid yang utama pada alga coklat dimana produksi terbesar terjadi di seluruh jaringan fotosintesis alga (Syahputra dan Limantara, 2007). Ditambahkan oleh Chen (2008), fotosintesis ini terjadi di dalam kloroplas. Fukosantin berperan sebagai pigmen pelengkap pada reaksi fotosintesis dan menyebabkan *phaeophyta* berwarna coklat. Fukosantin dapat menyerap warna biru-hijau dan melewatkannya ke klorofil

untuk proses fotosintesis (Pangestuti *et al.*, 2007). Ditambahkan oleh Nurcahyanti dan Timotius (2007), fukosantin berwarna oranye dan termasuk kelompok santofil dan karotenoid. Pigmen ini dapat diperoleh dengan cara ekstraksi bahan-bahan alami seperti akar, batang, dan daun (Limantara dan Rahayu, 2008).

Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida di dalam molekulnya (Maeda, *et al.*, 2008). Fukosantin juga memiliki 2 gugus hidroksil. Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin (Pangestuti, *et al.*, 2007). Untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada suatu senyawa maka dilakukan suatu identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Menurut Schwieter (1969), Teknik spektroskopi infra-red digunakan untuk mendeteksi struktur tertentu yang unik, seperti hidroksi, asetilenik, alenik dan gugus keto yang tidak reaktif, seperti yang terdapat pada fukosantin.

Sampai sejauh ini belum banyak penelitian yang melakukan identifikasi pigmen fukosantin khususnya identifikasi gugus fungsi. Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk identifikasi fukosantin yaitu dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis dan Kromatografi Kolom Lapis Tipis. Identifikasi ini digunakan untuk mengetahui kemurnian fukosantin yang dihasilkan dari proses isolasi. Kedua proses identifikasi tersebut masih belum cukup untuk membuktikan bahwa fukosantin yang dihasilkan dari proses isolasi merupakan fukosantin murni, sehingga untuk memperkuat identifikasi tersebut maka perlu dilakukan identifikasi lanjutan yaitu dengan mengetahui komposisi penyusun fukosantin menggunakan spektrofotometer FTIR. Spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektrofotometer inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya

(Anam, *et al.*, 2007). Spektrofotometer infra merah digunakan untuk menguji gugus fungsional dari suatu senyawa (Sastrohamidjojo, 2001).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang sudah diuraikan diatas maka perumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Dalam penelitian ini metode FTIR dimanfaatkan untuk menentukan gugus fungsi dari pigmen fukosantin. Spektrum hasil pengujian sampel tersebut akan sangat membantu dalam identifikasi gugus fungsi.
- Selain untuk penentuan gugus fungsi dapat pula hasil spektrum tersebut digunakan untuk mengetahui kemurnian dari pigmen fukosantin tersebut.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pigmen fukosantin yang dihasilkan dari proses isolasi merupakan fukosantin murni, dengan melihat dari hasil pola spektra dan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-vis, menghitung nilai Rf pada KLT dan dari gugus fungsinya.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pihak yang berkepentingan tentang kandungan fukosantin yang terkandung pada alga coklat (*Sargassum filipendula*) sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, dan laboratorium Kimia Farmasi Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Mei sampai dengan Agustus 2010.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat

Rumput laut atau alga atau seaweed termasuk tumbuhan berthallus yang banyak dijumpai hampir di seluruh perairan Indonesia. Rumput laut dibagi menjadi 4 kelas berdasarkan pigmen pembawanya, yaitu : *Rhodophyta* (alga merah), *Phaeophyta* (alga coklat), dan *Chlorophyta* (alga hijau). Rumput laut umumnya tumbuh melekat pada suatu substrat (Susanto, 2008). Rumput laut ada yang berbentuk bola kecil, lembaran, rumpun atau tegakan yang beraneka ragam warna seperti coklat, merah, hijau, dan warna lainnya. Rumput laut termasuk kelompok alga yang berukuran besar, dapat terlihat dengan mata biasa tanpa alat pembesar dan tumbuh atau menancap atau menempel pada substrat di perairan laut. Pengelompokan rumput laut didasarkan pada perbedaan kandungan pigmennya.

Alga coklat hidup melekat pada batu atau bongkahan karang dan dapat terlepas dari substratnya karena ombak besar dan hanyut ke permukaan laut atau terdampar di atas permukaan pantai (Yunizal, 1999). Alga coklat memiliki pigmen dominan fucoxanthin yang dapat memberikan warna coklat. Alga coklat berbentuk benang atau lembaran, bahkan ada yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi dengan bagian-bagian serupa akar, batang, dan daun. *Phaeophyta* mempunyai peranan penting bagi kehidupan manusia diantaranya: sebagai bahan makanan, penghasil alginat, pewarna alami, bahan kosmetik, dan farmasi. Habitat alga coklat tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5 – 10 m ada arus dan ombak. Alga coklat hidup di daerah perairan yang jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang dan dapat tumbuh subur pada daerah tropis, suhu perairan 27,25°C – 29,30°C dan salinitas 32 – 33,5% (Atmadja, 2007).

Kebanyakan spesies mempunyai kantong udara dan pembiakannya secara seksual (ogami dan isogami) atau aseksual (zoospora berflagella dan fragmentasi). Contoh alga coklat adalah *Fucus sp*, *Turbinaria sp*, *Padina*, *Dictyota*, *Laminaria*, dan *Sargassum sp* (Bachtiar, 2007).

Alga *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang – cabang. Panjang thalli utama mencapai 1 – 3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut “*bladder*”, berguna untuk menopang cabang – cabang thalli terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari. *Thallus* berbentuk silindris atau gepeng, daun melebar, lonjong atau seperti pedang, umumnya hidup soliter dan panjangnya dapat mencapai 7 meter. Alga coklat jenis *Padina* memiliki daun yang berbentuk seperti kipas dan hidupnya melekat pada batu karang seperti halnya jenis *Sargassum*. *Turbinaria* memiliki thalli yang tegak, keras dan percabangan berputar sekeliling batang utama (Kadi, 2008).

2.1.1 Komposisi Kimia Alga Coklat

Alga coklat memiliki dinding sel yang terdiri atas selulosa dan polisakarida (Ensiklopedia, 2009). Rumput laut juga mengandung protein, lemak, serat kasar, vitamin, dan zat anti bakteri serta mineral. Komposisi kimia alga coklat dan kadar mineral dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3 :

Tabel 2. Komposisi Kimia Alga Coklat

Komposisi Kimia	Jumlah (%)
Karbohidrat	19,06
Protein	5,53
Lemak	0,74
Air	11,71
Abu	34,57
Serat kasar	28,39

Sumber : Yunizal (1999)

Tabel 3. Jenis dan Kadar Mineral Alga Coklat

Unsur	Kadar (%)
Chlor	9,8 – 15,00
Kalium	6,4 – 7,8
Natrium	2,6 – 3,8
Magnesium	1,0 – 1,9
Belerang	0,7 – 2,1
Silikon	0,5 – 0,6
Fosfor	0,3 – 0,6
Kalsium	0,2 – 0,3
Besi	0,1 – 0,2
Yodium	0,1 – 0,8
Brom	0,003 – 0,14

Sumber : Winarno (1990) dalam Yunizal (1999)

2.1.2 *Sargassum filipendula*

Sargassum filipendula memiliki thallus yang berbentuk silinder atau gepeng, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat, berukuran relatif besar, cabangnya rimbun menyerupai pohon, bentuk daun melebar, lonjong seperti pedang, mempunyai gelembung udara yang umumnya soliter, panjangnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat spesies yang panjangnya 3 meter), dan warna thallus umumnya coklat. *Sargassum filipendula* melekat pada batu karang dan dapat terlepas dari substratnya apabila terkena ombak besar dan hanyut di permukaan laut (Anonymous, 2008). *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada Gambar 1 dan klasifikasi *Sargassum filipendula* adalah sebagai berikut Anonymous (2009)^a :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Phaeophyta
Class	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Family	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum filipendula</i>



Gambar 1. *Sargassum filipendula*

2.2 Fukosantin

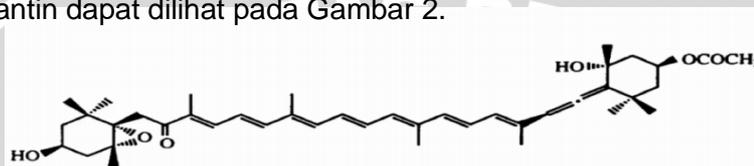
Fukosantin berwarna oranye, termasuk kelompok xantofil dari karotenoid. Pigmen ini banyak ditemukan pada beberapa spesies alga coklat. Fukosantin juga ditemukan pada alga hijau dan merah, namun tidak ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi (Ballard, *et al.*, dalam Nurcahyati dan Timotius, 2007). Fukosantin merupakan pigmen yang berwarna kecoklatan yang memberikan ciri pada jenis rumput laut coklat (Nurdiana dan Limantara, 2008).

Fukosantin adalah bagian dari karotenoid yang memiliki rumus $C_{42}H_{58}O_6$. Pigmen fukosantin ditemukan dalam kloroplas pada alga coklat, yang memberikan warna coklat dan coklat kehijauan. Absorbansi cahaya fukosantin umumnya mempunyai spektrum cahaya hijau-biru sampai kuning-hijau dengan peak antara 510-525 nm dengan beberapa estimasi dan absorbansi yang signifikan antara 450 - 540 nm (Anonymous, 2009^b). Ditambahkan Anis, (2008), fukosantin adalah suatu karotenoid. Karotenoid merupakan pigmen yang bersifat larut dalam minyak (lipida). Karotenoid seringkali terdapat dalam kloroplas (0,5%) bersama-sama dengan klorofil (9,3%), terutama pada bagian permukaan atas daun dekat dinding sel palisade.

Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin. Dalam alga coklat, fukosantin merupakan karotenoid utama karena kandungan

fukosantin dapat mencapai lebih dari 50% dari total karotenoid (Nurchayanti dan Timotius, 2007).

Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida di dalam molekulnya (Maeda, *et al.*, 2008). Fukosantin juga memiliki 2 gugus hidroksil. Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin (Pangestuti, *et al.*, 2007). Selain itu, fukosantin juga mempunyai gugus keto pada posisi C-8 (Britton, *et al.*, 1995)^a. Struktur kimia fukosantin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Fukosantin (Nurchayanti dan Timotius, 2007).

Sifat-sifat fukosantin antara lain fukosantin labil pada suasana basa, sehingga pada saat mengekstraksi pigmen tersebut, lingkungan basa harus dihindari (Nurchayati dan Timotius, 2007). Fukosantin stabil dengan adanya bahan-bahan organik (Borrow and Shahidi, 2008). Pigmen ini tidak stabil pada oksigen (udara) sinar maupun panas, stabil pada pemanasan sampai temperatur sedang, disimpan di tempat tertutup dan tidak tembus cahaya tetapi labil bila ada oksigen atau bila terkena sinar ultra violet (Anis, 2008).

2.3 Kegunaan Fukosantin

Fukosantin hanya terkandung dalam alga coklat dengan jumlah sedikit. Fukosantin adalah tipe karotenoid non Vitamin A turunan dari Xantopil. Studi fungsional pada fukosantin melaporkan bahwa fukosantin memiliki aktivitas untuk mencegah obesitas dan diabetes, mencegah dan memerangi kanker (kanker usus besar, kanker usus halus, kanker darah, kanker prostat dan kanker hati) pencegah oksidasi pada tubuh, mencegah penyumbatan pembuluh darah dan memerangi implamasi (Oryza oil and Fat chemical, 2010). Ditambahkan

dalam Pangestuti, *et al.*, (2007), fukosantin memiliki beberapa efek farmakologi yang sangat penting. Pigmen ini sangat potensial sebagai obat dan suplemen, karena dapat berperan sebagai antioksidan. Fukosantin dapat pula sebagai antiobesitas.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi dapat didefinisikan sebagai suatu proses penarikan keluar atau proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, biasanya dengan menggunakan pelarut. Pelarut polar hanya akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut non polar juga atau disebut "*like dissolves like*" (Shriner, *et al.*, 1980). Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa zat dari suatu bahan padatan atau cairan. Pada proses ini akan terjadi kontak antara pelarut dengan bahan sehingga pada bidang antar muka dari keduanya akan terjadi pengendapan massa secara difusi sampai tercapai keseimbangan konsentrasi larutan di dalam dan diluar bahan ekstraksi (Bernasconi, *et al.*, 1995). Pemisahan yang diinginkan dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat yaitu dapat larutnya antara bagian – bagian campuran zat pada bahan pelarut (Wanto dan Romli, 1977).

Fase ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Pada fase pencucian terjadi penyatuan cairan ekstraksi, melalui rusaknya sel-sel zat yang diekstrak atau terusakkan dengan operasi penghalusan, langsung kontak dengan bahan pelarut. Sehingga komponen sel yang terdapat dalam sel lebih mudah diambil. Sedangkan pada fase ekstraksi, yaitu suatu peristiwa yang memungkinkan terjadinya perlintasan bahan pelarut ke bagian dalam sel, yang memungkinkan bahan ekstraksi mencapai ke dalam ruang dalam sel. Dengan mengalirnya bahan pelarut ke

dalam sel akan menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai kelarutannya (Voight, 1994).

Berdasarkan bentuk campuran yang diekstrak, ekstraksi dibedakan menjadi dua macam yaitu ekstraksi padat-cair : campuran yang diekstrak berbentuk padat dan ekstraksi cair-cair : cairan yang diekstrak berbentuk cair. Ekstraksi bentuk padat-cair paling sering digunakan untuk mengisolasi zat yang terkandung dalam bahan alami. Mengekstraksi suatu zat dapat dilakukan dengan berbagai cara, ada yang menggunakan cara maserasi (*macerare* = mengairi, melunakkan) biasa dan maserasi kocok, ekstraksi pusingan, ekstraksi perlokasi dan lainnya (Anis, 2008).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran yang dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi), dimana komposisi perubahan sesuai dengan gradien tertentu (Anonymous, 2010^f). Metode partisi pelarut biasanya menggunakan dua pelarut yang tidak campur didalam corong pisah. Pada metode ini komponen terdistribusi dalam dua pelarut berdasarkan perbedaan koefisien partisi. Metode partisi juga disebut penyarian cair-cair, yaitu proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur (Sholihah, 2010).

2.6 Pelarut

Larutan adalah campuran homogen antara dua komponen/zat atau lebih. Dua komponen tersebut adalah pelarut (*solvent*) dan zat terlarut (*solute*). Pelarut merupakan komponen zat dalam jumlah besar dalam suatu larutan (Rivai, 1995).

Proses melarutkan suatu zat ke dalam pelarut memperlihatkan adanya zat yang sangat mudah larut dalam pelarut tanpa dipaksa. Hal ini disebabkan adanya sifat "*like dissolve like*". Adanya faktor kecocokan antara zat terlarut dan

pelarut, yang menyebabkan keduanya dapat tercampur menjadi satu, misalnya pelarut dan zat terlarut sama-sama bersifat polar (Pujatmaka, 1990). Seperti juga yang ditambahkan oleh Vogel (1987), bahwa pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya yang melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar, dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non polar.

Menurut Rivai (1995), akhir-akhir ini ada kecenderungan semakin banyak pelarut bukan air digunakan dalam pemeriksaan kimia, pelarut tersebut biasanya berupa pelarut organik. Selain itu, pelarut tersebut bisa digunakan sebagai campuran dengan beberapa pelarut organik lain atau dengan air. Salah satu ciri penting dari pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi zat/senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan/kutub dalam ruangan hampa dengan gaya yang bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut. Jadi, umumnya pelarut-pelarut yang berkutub (polar) dapat melarutkan zat-zat yang berkutub, dan pelarut yang tak berkutub dapat melarutkan zat-zat yang tidak berkutub. Beberapa nilai konstanta/tetapan dielektrik bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Konstanta dielektrikum beberapa bahan pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik (D)	Tk. Kelarutan dalam air
Kloroform	4, 806	Sedikit
Etil asetat	6,02	Sedikit
n-butanol	17,80	Sedikit
2-propanol	18,30	Misibel
1-propanol	20,10	Sedikit
Aseton	20,70	Misibel
Etanol	24,30	Misibel
Methanol	33,60	Misibel
Air	80,40	Misibel

Keterangan : misibel artinya dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi

Sumber : Sudarmadji et al., (1997)

Sifat penting lainnya dari pelarut adalah kecenderungan membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen adalah harga tetapan dielektriknya dalam hubungan dengan momen dwi kutubnya. Terbentuknya sejumlah besar ikatan hidrogen menyebabkan tetapan dielektrika yang sangat tinggi. Dalam setiap larutan, pelarut memainkan peranan yang sangat penting. Molekul-molekul pelarut saling mempengaruhi dengan molekul-molekul bukan air. Saling pengaruh ini disebut pengaruh pelarutan atau *salvation effect*. Kadang-kadang pengaruh ini sangat lemah, tetapi dalam hal ini pelarutan dapat menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang terikat secara kimia (Day and Underwood, 1999).

2.6.1 Metanol

Metanol dahulu dibuat dari kayu melalui penyulingan dan kadang dinamakan alkohol kayu. Kata metil bersal dari bahasa Latin (*methy* = anggur, *yle* = kayu). Tetapi sekarang metanol dibuat dari karbon monoksida dan oksigen. Metanol memiliki titik didih 65°C dan larut sempurna dalam air pada suhu 20°C (Hart, 1983).

Metanol dikenal dengan nama metil alkohol atau alkohol kayu, merupakan senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Metanol adalah alkohol yang paling sederhana, ringan, volatil, tidak berwarna, mudah terbakar, cairan yang beracun dengan bau yang sangat tajam. Metanol banyak digunakan untuk anti pembekuan, pelarut, dan bahan bakar (Anonymous, 2009^c). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada tabel 5 dibawah ini.

Tabel 5. 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 °C
5.	Titik didih	64.7 °C
6.	Massa molar	32.04 g/mol
7.	Densitas	0,7918 g/cm ³ , cair
8.	Titik nyala	11 °C
9.	Konstanta dielektrik	33

Sumber : Wapedia (2009)

2.6.2 Aceton

Aceton mempunyai nama lain dimetil asetat, dimetil keton, ketopropan, metilasetil, propanon, piroasetat eter dan piroasetis spirit. Rumus molekul dari aseton adalah CH₃COCH₃. Aceton biasa digunakan sebagai pelarut karena mempunyai sifat higroskopis, sangat volatil, tidak beresidu dan mudah terbakar. Kegunaan aseton antara lain adalah sebagai pelarut senyawa asetilen, campuran adesif, parfum, pembersih, bahan campuran resin dan lain sebagainya (Schelfan, *et al.*, 1983).

Aceton adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Aceton digunakan sebagai pelarut aprotik polar dalam kebanyakan reaksi organik. Oleh karena polaritas aceton yang menengah, ia melarutkan berbagai macam senyawa atau larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter (Anonymous, 2009^d). Sifat-sifat aceton dapat dilihat pada Tabel 6 di bawah ini :

Tabel 6. Sifat-sifat Aceton

No.	Karakteristik	Aceton
1.	Nama lain	β -ketopropana, dimetil keton, dimetilformaldehid, DMK
2.	Rumus bangun	CH_3COCH_3 
3.	Sifat	Mudah terbakar, sangat volatil, tidak beresidu
4.	Berat molekul	58.1
5.	Titik leleh	$-94.6\text{ }^\circ\text{C}$
6.	Titik didih	$56.1 - 56.5\text{ }^\circ\text{C}$
7.	Massa molar	58,08 g/mol
8.	Kelarutan	larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter
9.	Densitas	$0,79\text{ g/cm}^3$, cair

Sumber : Schelfan, *et al.*, (1983)

2.6.3 Etanol

Etanol termasuk golongan alkohol yang merupakan senyawa organik yang mengandung gugus hidroksil dengan rumus umum : R-OH atau $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{OH}$. Alkohol dapat dianggap sebagai turunan alkana, dimana atom H diganti oleh gugus hidroksil. Penamaan jenis alkohol tergantung dari jumlah n pada alkilnya, jika $n = 1$ diberi nama metanol dan bila $n = 2$ dikenal dengan nama etanol yang merupakan kependekan dari etil alkohol. Etanol dengan formula $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ merupakan larutan jernih, tidak berwarna, volatil dengan bau khas, mendidih pada suhu $78,5^\circ\text{C}$, larut dalam air, eter, kloroform dan aseton (Basri, 1996). Ditambahkan Buckingham (1982), etanol merupakan pelarut organik yang dapat diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat, dan pati.

Etanol biasanya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa pelarut etanol lebih baik daripada air, metanol maupun pelarut lain dalam mengekstraksi senyawa antioksidan maupun antibakteri (Hirasawa, *et al.*, 1999). Sifat-sifat fisik dan kimia etanol dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Sifat-sifat Etanol

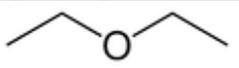
No.	Karakteristik	Etanol
1.	Nama lain	Etanol, metil karbinol, etil alkohol, ansol
2.	Rumus bangun	C_2H_5OH $\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$
3.	Sifat	Mudah menguap, berbau khas, tidak beresidu
4.	Berat molekul	46.7
5.	Titik leleh	-117.3 sampai -112 ^o C
6.	Titik didih	78.4 ^o C
7.	Berat jenis	6.6 lbs/gal pada 20 ^o C
8.	Kelarutan	Dalam air, eter, kloroform dan metil alkohol
9.	Densitas	1.59

Sumber : Schelfan, *et al.*, (1983)

2.6.4 Dietil Eter

Dietil eter, yang juga dikenal sebagai eter dan etoksi etana, adalah cairan mudah terbakar yang jernih, tak berwarna, dan bertitik didih rendah serta berbau khas. Anggota paling umum dari kelompok campuran kimiawi yang secara umum dikenal sebagai eter ini merupakan sebuah isomernya butanol. Berformula $CH_3-CH_2-O-CH_2-CH_3$, dietil eter digunakan sebagai pelarut biasa dan telah digunakan sebagai anestesi umum. Eter dapat dilarutkan dengan menghemat di dalam air (6.9 g/100 mL) (Anonymous, 2010^a). Sifat-sifat dietil eter dapat dilihat pada Tabel 8 di bawah ini:

Tabel 8. Sifat-sifat Dietil Eter

No.	Karakteristik	Dietil Eter
1.	Nama IUPAC	Ethoxyethane 3-oxapentane
2.	Rumus Molekul	$C_4H_{10}O$ $C_2H_5OC_2H_5$ 
3.	Massa molar	74.12 g/mol
4.	Densitas dan Fase	0.7134 g/cm ³ , cair
5.	Titik Leleh	-116.3 °C (156.85 K)
6.	Titik didih	34.6 °C (307.75 K)
7.	Penampilan	Jernih, cairan tak berwarna
8.	Viskositas	0.224 cP at 25°C

Sumber: Anonymous, (2010^a)

2.6.5 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Senyawa ini sering disingkat EtOAc, dengan Et mewakili gugus etil dan OAc mewakili asetat. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat merupakan penerima ikatan hidrogen yang lemah, dan bukan suatu donor ikatan hidrogen karena tidak adanya proton yang bersifat asam (yaitu hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif seperti fluor, oksigen, dan nitrogen). Etil asetat dapat melarutkan air hingga 3%, dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Namun demikian, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam (Anonymous, 2010^b). Sifat-sifat etil asetat dapat dilihat pada Tabel 9 di bawah ini:

Tabel 9. Sifat-sifat Etil Asetat

No.	Karakteristik	Etil Asetat
1.	Nama lain	Etil ester, Ester asetat, Ester etanol
2.	Rumus Molekul	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ 
3.	Massa molar	88.12 g/mol
4.	Densitas dan Fase	0.897 g/cm ³ , <u>cairan</u> pada 30°C
5.	Titik Lebur	-83.6°C (189.55 K)
6.	Titik didih	77.1°C (350.25 K)
7.	Penampilan	Cairan tak berwarna

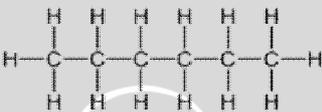
Sumber: Anonymous, (2010^b)

2.6.6 n-Heksana

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama *n*-heksana memiliki rumus $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$). 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. Seluruh isomer heksana amat tidak reaktif, dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang inert. Heksana juga umum terdapat pada bensin dan lem sepatu, kulit dan tekstil. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Anonymous, 2010^o). Sifat-sifat heksan dapat dilihat pada Tabel 10 dibawah ini.

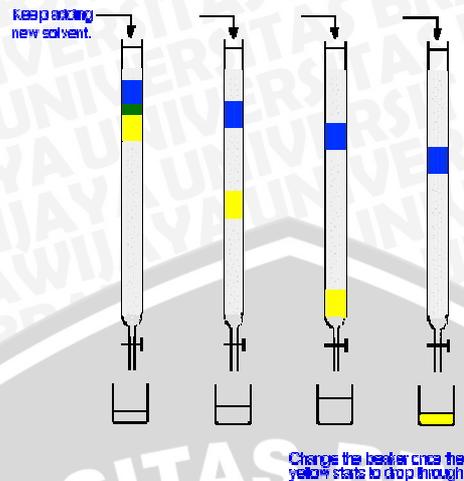
Tabel 10. Sifat-sifat Heksan

No.	Karakteristik	Heksan
1.	Nama lain	-
2.	Rumus molekul	C_6H_{14}
		
3.	Sifat	mudah terbakar, tidak berwarna
4.	Titik leleh	$-95^{\circ}C(178^{\circ}k)$
5.	Titik didih	$69^{\circ}C(324^{\circ}k)$
6.	Massa molar	86.18g/mol
7.	Densitas	0,6548 g/cm ³ , cair
8.	Visikositas	0.294 pada 25 °C
9.	Konstanta dielektrik	2

Sumber : Anonymous, (2010)^o.

2.7 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan yang terdiri atas kolom gelas dengan kran pada salah satu ujungnya diisi oleh fase diam berupa silica atau alumina. Ukuran diameter partikel fase diam berkisar 100 μ m. campuran yang akan dipisahkan dituangkan pada bagian atas kolom yang berisi fase diam. Begitu pula fase gerak berupa pelarut organik dialirkan dari bagian atas kolom. Jumlah komponen penyusun campuran dapat terlihat sebagai cincin-cincin berwarna sepanjang kolom gelas dan ditampung pada tempat yang berbeda. Metode pemisahan kromatografi kolom ini memerlukan bahan kimia yang banyak sebagai fase diam dan fase gerak, bergantung pada ukuran kolom gelas (Hendayana, 2006). Gambar kolom kromatografi dapat dilihat pada Gambar 5 di bawah ini.



Gambar 3. Proses Kromatografi Kolom

Kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada berapa besarnya komponen terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat. Akan terlihat bahwa jika perbedaan-perbedaan dalam serapan cukup besar maka akan terjadi pemisahan yang sempurna (Sastrohamidjojo, 2001).

2.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

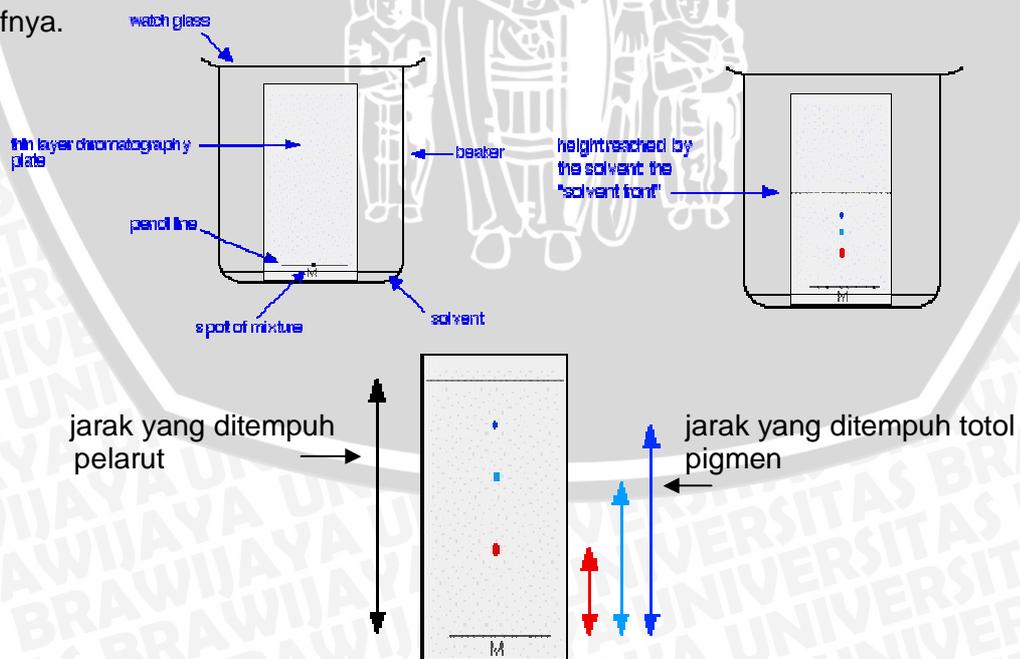
Identifikasi awal untuk mengetahui komponen pigmen adalah dengan menggunakan KLT. KLT merupakan salah satu contoh kromatografi serapan. Fase diam berbentuk lapis tipis yang melekat pada gelas kaca atau plastik, aluminium sedangkan fase gerak berupa campuran pelarut dengan perbandingan tertentu (Sastrohamidjojo, 2001).

Selain dapat dimanfaatkan untuk metode pemisahan KLT juga dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kemurnian senyawa hasil isolasi. Jika dari hasil eluen (dua arah) dan telah divariasi jenis eluen diperoleh satu noda maka dapat diperkirakan senyawa hasil isolasi dalam keadaan murni (Warsito, 2007).

Identifikasi pigmen secara kualitatif dilakukan dengan cara menghitung nilai *retardation factor* (R_f) (Jeffrey, *et al.*, 1997). Pengukuran jumlah perbedaan warna yang terbentuk dari campuran dilakukan berdasarkan pada jarak yang ditempuh oleh pelarut dan jarak yang ditempuh oleh bercak warna. Nilai R_f untuk setiap warna dapat dihitung dengan rumus :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Identifikasi secara visual dapat dilakukan dengan melihat warna total pada pelat KLT. Ketebalan warna total menunjukkan kuantitas pigmen sedangkan banyak noda menunjukkan jumlah pigmen minimal yang terdapat dalam ekstrak. Proses identifikasi pigmen dengan metode KLT dapat dilihat pada Gambar 6. Clark (2007) menyatakan bahwa rangkaian alat pada KLT terdiri dari pelat KLT yang telah ditotol ekstrak pada garis awal pelat, lalu pelat dimasukkan dalam *beakerglass* berisi sedikit pelarut kemudian ditutup dengan cawan petri. Pelarut akan merambat melalui pelat dan terbentuk pemisahan warna pada total tersebut. Setelah pelarut mencapai garis akhir pelat maka jarak total dapat nilai R_f nya.



Gambar 4. Metode kromatografi lapis tipis (Clark, 2007)

2.9 Spektrofotometer UV-Vis 1601

Metode spektrofotometri adalah metode analisis berdasarkan pengukuran absorbansi cahaya oleh senyawa yang mengalami transisi elektron saat terkena sinar dengan panjang gelombang tertentu (Anonymous, 2009^e). Apriyantono, *et al* (1989) menyatakan bahwa spektrofotometri digunakan untuk mengetahui pola spektrum pigmen yang diamati.

Umumnya spektroskopi dengan sinar ultraviolet (UV) dan sinar tampak (VIS) dibahas bersama karena sering kedua pengukuran dilakukan pada waktu yang sama. Karena spektroskopi UV-VIS berkaitan dengan proses berenergi tinggi yakni transisi elektron dalam molekul, informasi yang didapat cenderung untuk molekul keseluruhan bukan bagian-bagian molekulnya. Metode ini sangat sensitif dan dengan demikian sangat cocok untuk tujuan analisis. Spektroskopi UV-VIS bersifat sangat kuantitatif dan jumlah sinar yang diserap oleh sampel disebut juga dengan hukum Lambert-Beer (Takeuchi, 2006). Gambar spektrofotometer UV-vis 1601 dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 5. Spektrofotometer UV-1601
(Sumber: Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya)

Menurut Sudarmaji, et al.,(1997) Untuk menghitung kadar yang terdapat pada sampel maka dapat dilakukan perhitungan dengan rumus :

$$A = \epsilon bc$$

A adalah absorbansi (tidak ada unit, karena $A = \log_{10} P_0/P$)

ϵ adalah absorbtivity molar dengan unit $\text{mol L}^{-1} \text{cm}^{-1}$

b Diameter kuvet (cm)

c adalah konsentrasi senyawa dalam larutan, dinyatakan dalam mol L^{-1}

2.10 Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red (FTIR)

Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*), yaitu metode spektroskopi inframerah modern yang dilengkapi dengan teknik transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Dalam hal ini metode spektroskopi yang digunakan adalah metode spektroskopi absorpsi, yaitu metode spektroskopi yang didasarkan atas perbedaan penyerapan radiasi inframerah oleh molekul suatu materi (Chatwal, 1985 dalam Cholifah, 2004).

Spektrofotometer FTIR ini digunakan untuk pengujian kuantitatif beberapa komponen pada campuran yang tidak diketahui. FTIR juga dapat digunakan untuk analisa sampel yang berupa padatan, cairan dan gas. Inti spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmision cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energy, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam, et al., 2007).

Secara keseluruhan, analisis menggunakan Spektrofotometer ini memiliki dua kelebihan utama dibandingkan metoda konvensional lainnya, yaitu dapat

digunakan pada semua frekwensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat daripada menggunakan cara sekuensial atau pemindaian dan sensitifitas dari metoda Spektrofotometri Fourier Transform Infra Red lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistim detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (Anonymous, 2010^d). Gambar spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada Gambar 8.



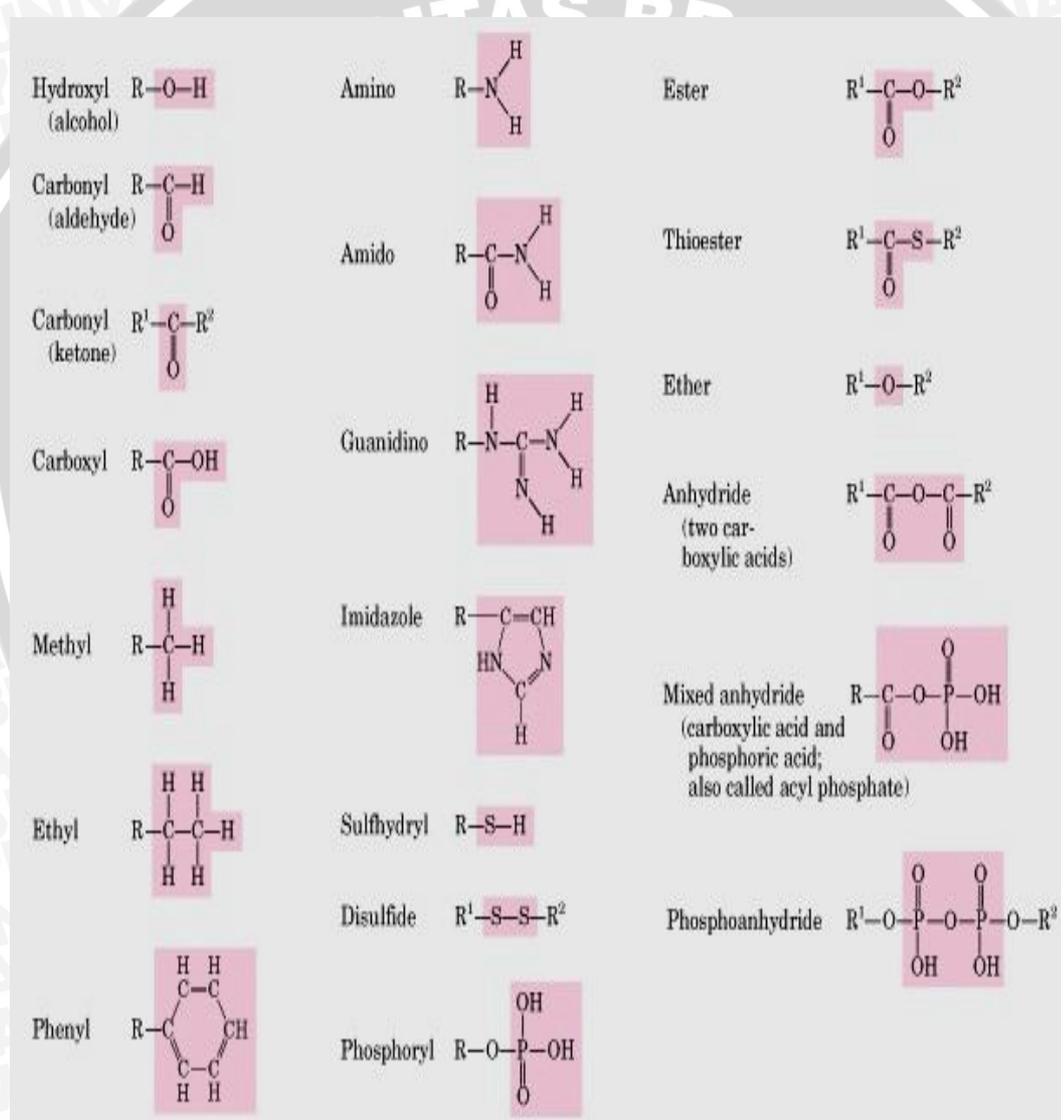
Gambar 6. Spektrofotometer FTIR
(Sumber: Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya)

Menurut Sastrohamidjojo (2001), Spektrofotometer infra merah digunakan untuk menguji gugus fungsional dari suatu senyawa. Prinsip dari Spektrofotometer infra merah ini yaitu apabila sinar infra merah dilewatkan melalui cuplikan seyawa organik maka sejumlah frekuensi akan diserap. Sedangkan frekuensi yang lain akan diteruskan, masing-masing seyawa hanya menyerap sinar infra merah dengan frekuensi tertentu. Sinar yang diserap tersebut akan menaikkan amplitudo gerakan vibrasi dalam molekul. Oleh karena itu setiap jenis ikatan yang berbeda mempunyai sifat frekuensi vibrasi yang berbeda, maka cara ini dapat digunakan untuk menganalisis adanya gugus fungsi dalam suatu senyawa.

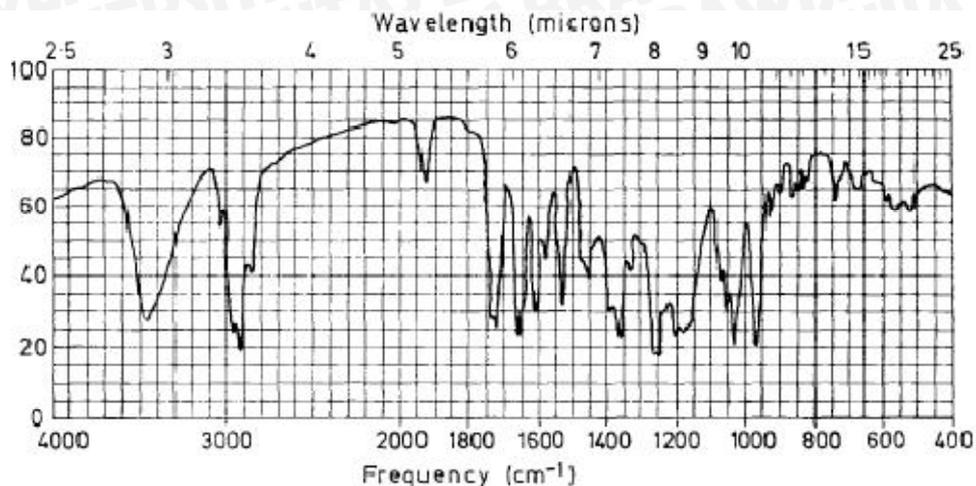
Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum infra merah menggunakan tabel

korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui) (Anam *et al*, 2007).

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 (Anonymous, 2010⁶). Berikut adalah daftar gugus fungsional yang sering dijumpai.

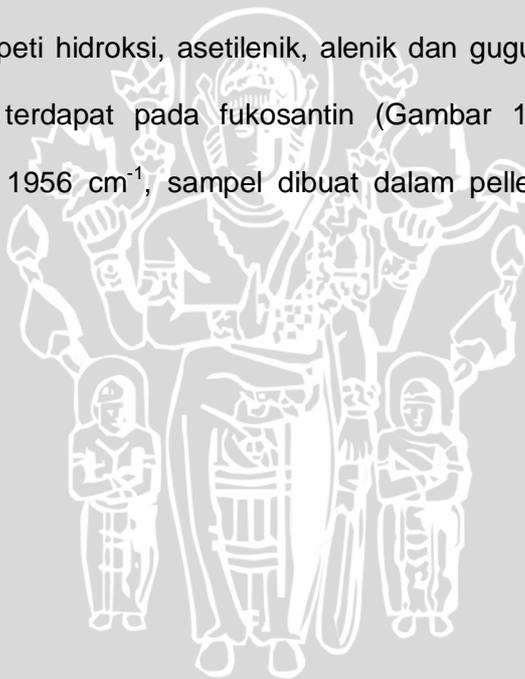


Gambar 7. Daftar Gugus Fungsional



Gambar 8. Spektrum Absorpsi Infra-Red dari Fukosantin
Sumber : Schwieter *et al.* (1969)

Teknik spektroskopi infra-red digunakan untuk mendeteksi struktur tertentu yang unik, seperti hidroksi, asetilenik, alenik dan gugus keto yang tidak reaktif, seperti yang terdapat pada fukosantin (Gambar 10). Gugus alenik dideteksi pada sinyal 1956 cm⁻¹, sampel dibuat dalam pellet KBr (Schwieter, 1969).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah alga coklat *Sargassum filipendula* yang diperoleh dari Desa Ponjuk, Pulau Talango, Sumenep, Madura. Bahan kimia yang digunakan adalah aseton PA, metanol PA, heksan PA, etil asetat PA, dietil eter PA, air ledeng, larutan saturasi garam dapur, pelat KLT, *silica gel* 60, *silica gel* F-254, alumunium foil, *cling wrap*, kertas saring kasar, kertas saring halus, tisu, gas nitrogen, dan pasir laut (*sea sand*).

3.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari peralatan untuk ekstraksi dan peralatan untuk analisa. Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi antara lain timbangan digital, gunting, mortar, beaker glass 250 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 50 ml dan 100 ml, corong, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *rotary evaporator vacuum*, spatula, botol sampel, pipet volume 1 ml dan 10 ml, pipet tetes, statif, dan corong pisah. Peralatan yang digunakan untuk analisa adalah spektrofotometer UV-Vis 1601 merk Shimadzu, Spektrofotometer FTIR (Fourier Transform Infra Red), kolom kromatografi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipa kapiler, pensil, penggaris, beaker glass 100 ml, pinset dan cawan petri.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Metode eksploratif bertujuan untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya

dapat dirumuskan. Dalam penelitian eksploratif pengetahuan tentang gejala yang hendak diteliti masih sangat terbatas dan merupakan langkah pertama bagi penelitian yang lebih mendalam (Singarimbun dan Effendi, 1989).

Amirin, (2009) menyatakan bahwa penelitian eksploratif merupakan salah satu pendekatan dalam penelitian. Metode eksploratif berupaya menemukan informasi umum mengenai sesuatu topik/masalah yang belum dipahami sepenuhnya oleh seseorang peneliti. Jadi, penelitian eksploratif merupakan salah satu pendekatan penelitian yang digunakan untuk meneliti sesuatu (yang menarik perhatian) yang belum diketahui, belum dipahami, belum dikenali, dengan baik.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan dibilas dengan air tawar untuk menghilangkan garam yang berasal dari air laut (lingkungan). Selanjutnya sampel dikeringkan dengan kain dan dimasukkan ke dalam kantong *polyback* hitam. Selama perjalanan, sampel disimpan dalam *cool box* yang berisi es. Untuk penyimpanan selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam *freezer*.

3.3.2 Ekstraksi Pigmen

Ekstraksi alga coklat dilakukan dengan menggunakan metode Pangestuti, *et al* (2007) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009) (Gambar 9). Alga coklat yang sudah dibersihkan dengan air ledeng kemudian dikeringkan dengan kain yang bertujuan untuk mengurangi kandungan air bahan. Selanjutnya alga coklat dipotong kecil – kecil yang bertujuan supaya alga coklat cepat kering dan juga bertujuan untuk memperluas permukaan bidang supaya pigmen terekstraksi dengan maksimal. Alga coklat tersebut ditimbang 200 gram dengan

menggunakan timbangan digital, kemudian rumput laut tersebut dihaluskan dengan mortar yang bertujuan untuk memperluas permukaan bidang. Lalu ditambah $\text{CaCO}_3 \pm 1$ g. Penambahan CaCO_3 ini bertujuan untuk menetralkan alga coklat agar tidak bersifat basa hal ini karena pigmen fukosantin yang terkandung didalamnya tidak tahan pada pH tertentu (basa) dan tujuan diekstraksi dengan cara maserasi yaitu dengan cara perendaman menggunakan bahan kimia Metanol dan aseton dengan perbandingan (7:3) sebanyak 750 ml. Adapun tujuan dari pemberian metanol yaitu agar pelarut bisa bercampur dengan air dan dapat melarutkan semua senyawa organik, sedangkan aseton adalah untuk mengangkat pigmen polar (pelarut yang cocok untuk fukosantin). Dan prinsip dari maserasi ini adalah mengambil senyawa target dengan cara merendam.

Tahapan selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring halus hingga mendapatkan filtrat. Filtrat selanjutnya dipartisi menggunakan dietil eter lalu disaturasi dengan menggunakan garam dapur dan air ledeng hingga terbentuk dua fase (fase atas dan fase bawah tidak berwarna). Perbandingan yang digunakan antara filtrat : dietil eter : saturasi garam : air ledeng dalam proses partisi ini adalah 50:25:60:5 ml. Fase yang diambil adalah fase atas karena mengandung banyak pigmen. Hasil dari fase bawah tidak digunakan karena merupakan campuran dari metanol dan aseton. Hasil dari fase atas selanjutnya di *rotary evaporator vacum* dengan suhu 35°C dan kecepatan 100 rpm untuk menguapkan pelarut sampai volume berkurang. Filtrat kemudian dipindahkan ke dalam botol sampel dan dikeringkan dengan gas nitrogen sampai kering sempurna, tujuan dari dikeringkan dengan nitrogen ini adalah menarik air dan pelarut yang ada pada ekstrak kasar. Ekstrak pigmen kering ditutup dengan *aluminium foil* dan disimpan dalam *freezer*.

3.3.3 Isolasi Fukosantin

Isolasi fukosantin dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam *silica gel*. Fase gerak untuk isolasi fukosantin menggunakan heksan : etil asetat (8:2 v/v) (Yan, *et al*, 1997). *Silica gel* sebanyak 40 gram dilarutkan dalam fase gerak \pm 150 mL dan distirer selama 1 jam dengan kecepatan 150 rpm. Tujuannya adalah agar tidak ada lagi gelembung udara dalam *silica gel* dan *silica gel* tidak pecah ketika di dalam kolom hal ini bertujuan agar fase diam dapat berfungsi seperti yang diharapkan.

Tahap selanjutnya kolom di pasang pada statif dan dimasukkan sedikit fase gerak untuk membasahi kapas. Kapas tipis dimasukkan ke dalam kolom dengan bantuan lidi, kemudian ditambahkan fase gerak sampai hampir penuh. Bubur *silica gel* dimasukkan ke dalam kolom dengan bantuan corong pisah dan pipet tetes. *Silica gel* yang akan dimasukkan diaduk terus menerus agar tidak terdapat rongga udara di tengah tengah kolom. Timbunan bubuk *silica gel* akan mencapai $\frac{3}{4}$ tinggi kolom. Selanjutnya ditambahkan *sea sand* (pasir laut) agar pelarut tidak mengenai *silica gel* dan sebagai penyaring saat sampel dimasukkan.

Fukosantin kering dilarutkan dalam 0,5 mL fase gerak (heksan : etil asetat 8:2 v/v), kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Kran kolom yang berada di bawah dibuka. Ekstrak akan meresap ke *silica gel* dalam kolom sampai batas atas *silica gel*. Selanjutnya dimasukkan fase gerak sambil kran kolom dibuka. Fase gerak akan mengalir terus menerus, sehingga perlu menambahkan fase gerak baru agar kolom tidak menjadi kering. Fase gerak yang ditambahkan kedalam kolom ditingkatkan terus menerus kepolarannya dengan menaikkan konsentrasi etil asetat secara bertingkat dimana komposisi yang digunakan untuk heksan : etil asetat 8:2v/v, 7:3 v/v, 6:4 v/v. Kemudian fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan menggunakan tabung reaksi berdasarkan warnanya.

Setiap fraksi dianalisis dengan menggunakan KLT. Prosedur Isolasi Fukosantin dapat dilihat pada Gambar 10.

3.3.4 Identifikasi Pigmen Fukosantin

3.3.4.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk mengidentifikasi pigmen berdasarkan total warna yang terbentuk dan nilai Rf. Pada penelitian ini, fase diam yang digunakan *silica gel* F-254. Fase gerak untuk identifikasi fukosantin menggunakan heksan : aseton (7:3 v/v) (Pangestuti *et al.*, 2007).

Tahapan pertama dalam KLT adalah membuat garis pada pelat dengan menggunakan pensil pada kedua ujung pelat. 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 pelarut. Selanjutnya, fraksi dari kolom yang ditampung dalam tabung reaksi diambil secukupnya menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan pada pelat KLT sambil ditiup-tiup. Setelah bercak tersebut mengering, pelat dimasukkan dalam *beaker glass* berisi fase gerak dan kertas saring. Fase gerak yang dimasukkan dalam *beaker glass* jumlahnya tidak terlalu banyak sekitar 4 ml dan tujuan dari pemberian kertas saring adalah untuk mengetahui apakah kehomogenan larutan didalam *beaker glass*. Selanjutnya *beaker glass* ditutup dengan cawan petri dan dibiarkan sampai pelarut bergerak mendekati garis atas. Kemudian diambil dengan pinset tanpa menyentuh garis atas pelat. Total yang terbentuk pada pelat diamati dan dihitung nilai Rf-nya (*retardation factor*). Prosedur KLT dapat dilihat pada Gambar 11.

3.3.4.2 Spektrofotometer UV-vis

Spektrofotometer ini digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi pigmen yang diamati. Di dalam analisa kuantitatif dengan metode

spektrofotometri, panjang gelombang sinar yang digunakan harus dipilih terlebih dahulu, agar komponen yang dianalisa menyerap sinar tersebut semaksimal mungkin. Jika bahan yang dianalisa mempunyai warna tertentu, maka warna komplementernya merupakan bagian panjang gelombang yang sesuai untuk analisa tersebut (Apriyantono, *et al.*, 1989). Spektrofotometer UV-VIS ini berfungsi untuk analisis kualitatif atas dasar spektrum dan analisis kuantitatif atas dasar serapan.

Metode spektrofotometri ini dilakukan untuk mengetahui pola spektra (serapan cahaya yang diabsorpsi) pigmen yang terkandung dalam alga coklat. Fraksi hasil dari kromatografi kolom dan KLT yang diyakini sebagai fukosantin yang dilihat berdasarkan warna dan nilai RF-nya. Kemudian fraksi yang diyakini sebagai fukosantin tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan dikeringkan dengan gas nitrogen. Pigmen yang telah dikeringkan kemudian ditambahkan aseton PA 100% hingga pengenceran 10^4 . Larutan pigmen dituang pada kuvet ± 3 ml dan kuvet kemudian dimasukkan ke dalam instrumen spektrofotometer 1601 Shimidzu dan dilakukan pengujian. Hasil dari pengujian yang berupa serapan maksimum yang terbentuk oleh pigmen fukosantin kemudian dibandingkan dengan serapan spektra maksimum.

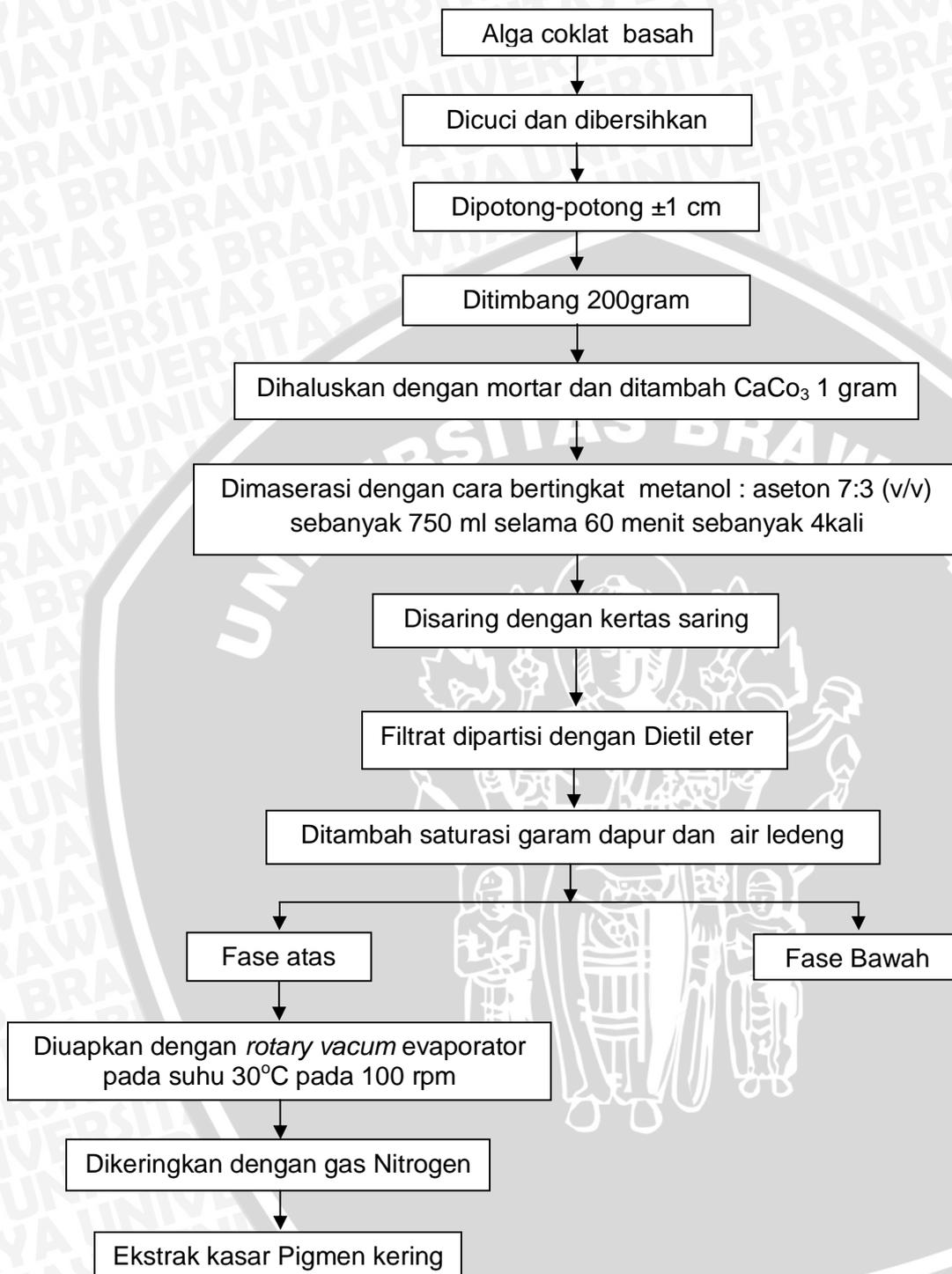
3.3.4.3 Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Spektrofotometer FTIR ini digunakan untuk mengetahui untuk pengujian kualitatif beberapa komponen pada campuran yang tidak diketahui. Dapat digunakan untuk analisa sampel yang berupa padatan, cairan dan gas. Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan.

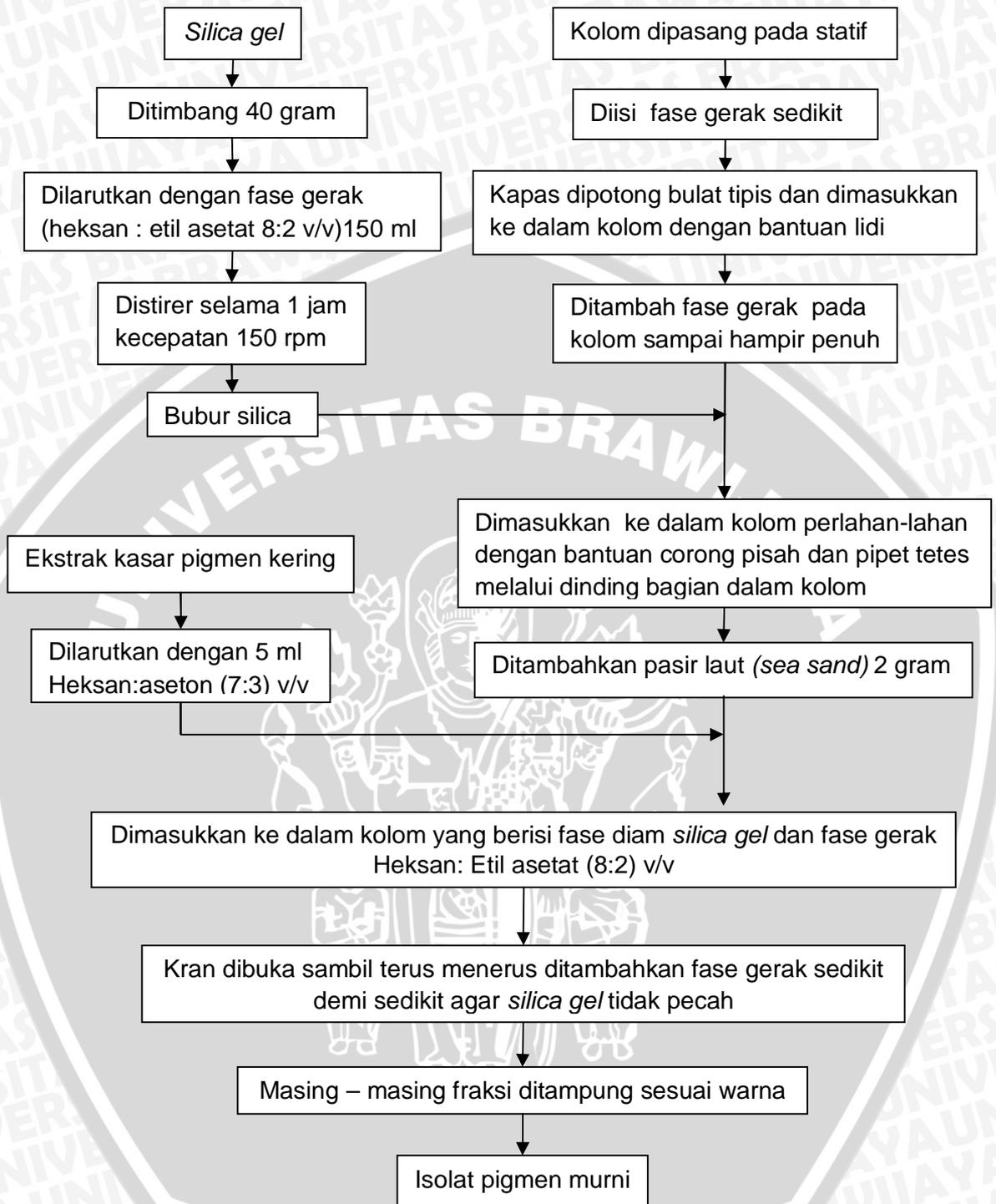
Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisi cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energy, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam, *et al.*, 2007).

Untuk analisa spektra IR, sampel yang digunakan dapat berupa padatan, cairan atau dalam bentuk gas. Sampel fukosantin yang digunakan pada spektroskopi FTIR ini berupa padatan sehingga ditetapkan menggunakan pellet KBr yang dibuat dengan menumbuk sampel (0,1 – 2 % berat) dengan KBr kemudian ditekan hingga diperoleh pellet selanjutnya diukur serapannya di FTIR.

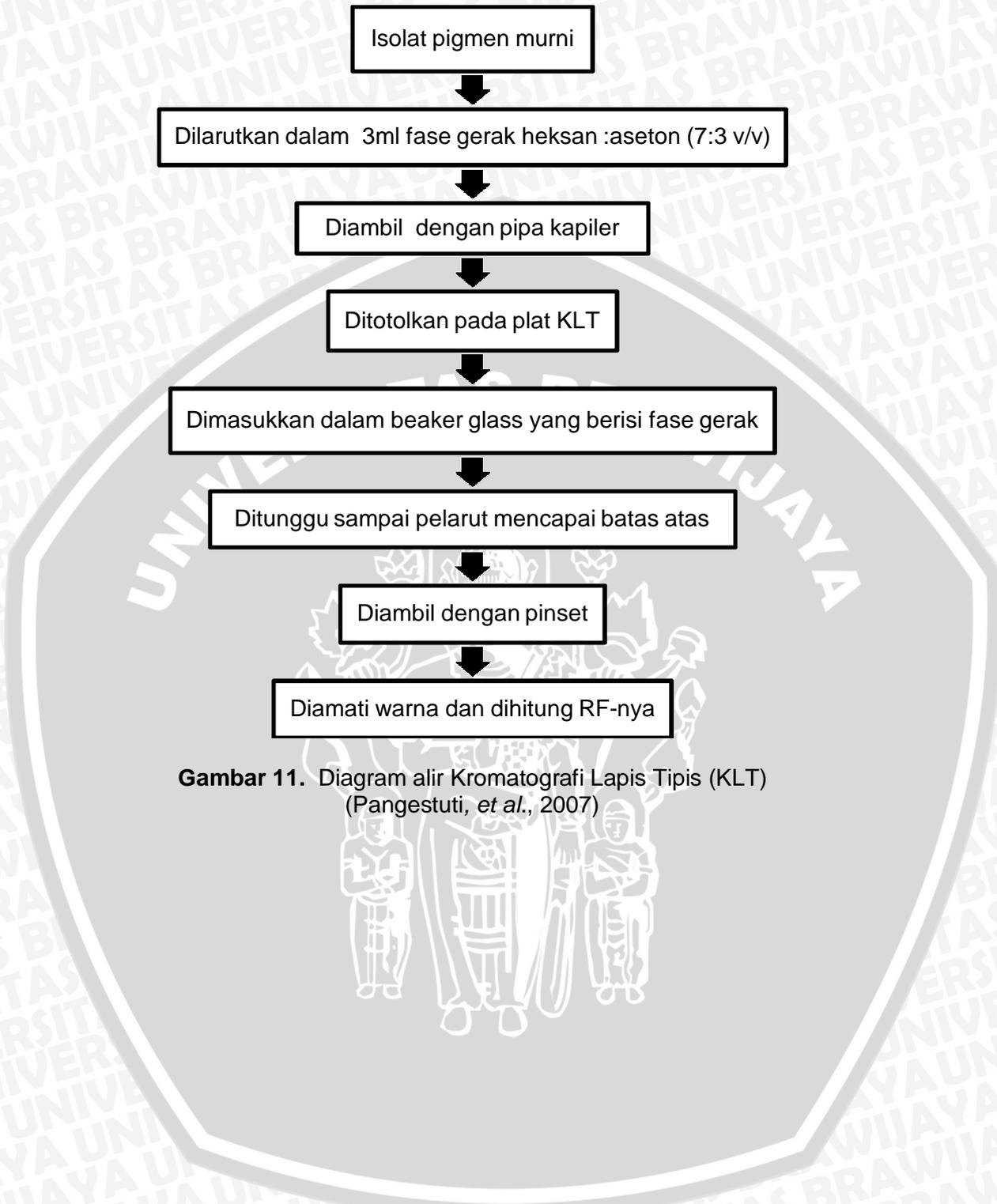
Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum inframerah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui) (Anam, *et al.*, 2007). Menurut Sastrohamidjojo (2001), daerah pada spektrum infra merah diatas 1500 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum atau gugus-gugus fungsi dalam molekul kimia, sedangkan daerah dibawah 1500 cm^{-1} menunjukkan daerah sidik jari.



Gambar 9. Ekstraksi fukosantin (Pangestuti, *et al.*, 2007) dimodifikasi oleh Muamar (2009).



Gambar 10. Isolasi Fukosantin Kromatografi Kolom (Pangestuti, et al., 2007)



Gambar 11. Diagram alir Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
(Pangestuti, *et al.*, 2007)

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian dari isolasi Fukosantin Alga coklat (*Sargassum Filipendula*) dengan parameter hasil dari kromatografi kolom, uji identifikasi dengan KLT (kromatografi lapis tipis), uji identifikasi pola spektra dengan spektrofotometer UV-Vis 1601 shimadzu, uji identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometri FTIR dan perhitungan rendemen dapat dilihat dari tabel 11 berikut ini :

Tabel 11. Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin

No.	Uji Identifikasi	Alat	Hasil	Literatur	
1.	Rendemen		0,03 % ± 0,007		
2.	Warna	Kromatografi Kolom	135 Isolat pigmen dalam tabung Reaksi. Isolat Fukosantin dari tabung 96-121 warna kuning tua	Fukosantin berwarna kuning tua (oranye) (Jeffrey, <i>et al.</i> , 1997)	
3.	KLT	KLT	Rf 0,28	Rf fukosantin 0,25-0,28 Yan, <i>et al.</i> ,(1999)	
4.	Pola spektra	Spektrofotometer UV-VIS 1601 Shimadzu	Pelarut		Dalam pelarut Aseton (Jeffrey, <i>et al.</i> , 1997) panjang gelombang 446.3nm Dalam Pelarut Etanol (Hirota dan Kumagai,1990) Panjang gelombang 450 nm
			Aseton	Etanol	
			447 nm	451 nm	
5.	Gugus fungsi	Spektrofotometer FTIR	OH → 3462 cm ⁻¹ CH → 2923, 2853 cm ⁻¹ Ikatan alenik → 1930 cm ⁻¹ C=O → 1742 cm ⁻¹ C=C terkonjugasi → 1650 cm ⁻¹ CH ₂ → 1527, 1459 cm ⁻¹	Haugan <i>et al.</i> (1992)	

4.1.1 Ekstraksi Fukosantin

Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Pangestuti, *et al* (2007) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). *Sargassum filipendula* segar dicuci, dibersihkan dan dikeringkan dengan tisu untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel kemudian dipotong-potong kurang lebih 1 cm dan ditimbang 200 g kemudian dihaluskan dengan mortar dan ditambahkan CaCO_3 sebanyak $\pm 0,5$ gram sebagai agen penetral. Proses pemotongan bertujuan untuk memperluas permukaan alga coklat sehingga mempermudah proses ekstraksi (Yunizal, 1999).

Tahap selanjutnya adalah ekstraksi, ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan maserasi bertingkat. Alga coklat diekstraksi menggunakan pelarut metanol : aseton (7:3 v/v) sebanyak 750 ml selama 60 menit pada suhu kamar. Dari hasil ekstraksi 200 gram alga coklat dengan pelarut metanol : aseton (7:3 v/v) sebanyak 750 ml dihasilkan filtrat berwarna hijau kecoklatan. Proses pencucian awal hingga proses maserasi dapat dilihat pada Gambar 12.

Prinsip dari maserasi adalah mengambil senyawa target dengan cara merendam. Menurut Lenny (2006), maserasi adalah proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dalam perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam sel dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.



Gambar 12. Proses Ekstraksi

- (a). Pencucian alga coklat
- (b). Pengeringan alga coklat
- (c). Pemotongan alga coklat
- (d). Penumbukan alga coklat
- (e). Penambahan pelarut
- (f). Proses ekstraksi

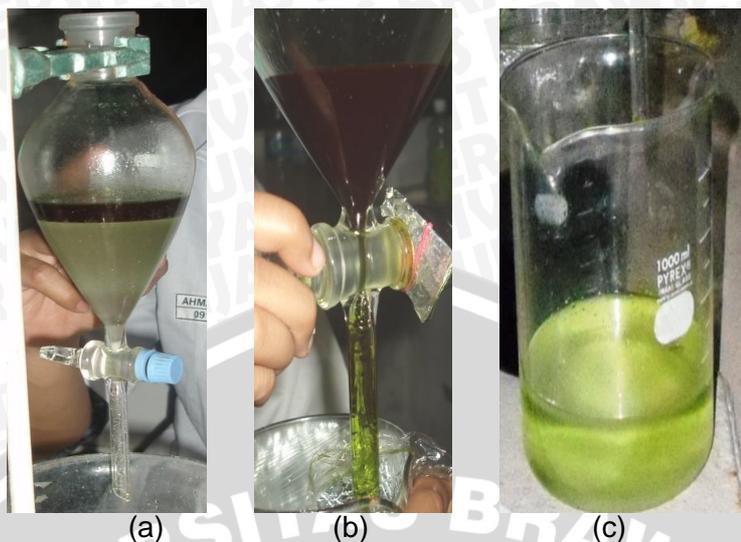
4.1.2 Fraksinasi

Tahapan setelah ekstraksi adalah fraksinasi. Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran yang dibagi dalam beberapa jumlah kecil atau fraksi-fraksi, dimana komposisi perubahan sesuai dengan gradien tertentu (Anonymous, 2010¹). Proses fraksinasi ini menggunakan filtrat hasil ekstraksi, dietil eter, saturasi garam dan air ledeng.

Selanjutnya setelah proses ekstraksi, dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring halus yang bertujuan untuk mengambil filtrat hasil

ekstraksi. Filtrat selanjutnya di fraksinasi (partisi) menggunakan dietil eter yang bertujuan semua pigmen terangkat ke fase atas. Menurut Shriener, *et al.*, (1980), pelarut polar akan melarutkan zat terlarut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan zat terlarut yang non polar juga atau disebut "*like dissolves like*". Pelarut non polar yang digunakan pada penelitian ini adalah dietil eter yang bersifat non polar yang akan melarutkan sampel (pigmen) yang cenderung bersifat non polar walau didalam sampel (pigmen) tersebut tidak semua larut dalam dietil eter. Bahan organik yang larut dalam dietil eter akan berada di bagian atas corong pisah yang dinamakan fase atas. Sedangkan pada fase bawah merupakan bagian yang lebih bersifat polar terisi oleh aseton, metanol, saturasi garam, air ledeng dan terdapat sedikit pigmen yang larut pada pelarut yang bersifat polar.

Hasil fase bawah dari proses fraksinasi ini tidak digunakan karena kandungan pigmen yang terkandung didalamnya jumlahnya sangat sedikit, sedangkan fase atas ditampung pada sebuah erlenmeyer yang telah dibungkus dengan alumunium foil. Pada proses fraksinasi perbandingan antara filtrat : dietil eter : saturasi garam : air ledeng adalah 50 : 25 : 70 : 5 ml. Dari perbandingan tersebut fase atas yang dihasilkan ± 25 ml. Berdasarkan hasil ini dapat diasumsikan bahwa hampir seluruh dietil eter yang digunakan mampu mengikat hampir seluruh pigmen.



Gambar 13. Proses Fraksinasi

- (a). 2 fase yang terbentuk (fase atas dan fase bawah)
- (b). Fase atas yang digunakan
- (c). Fase bawah yang tidak digunakan

Filtrat yang dihasilkan dari proses fraksinasi selanjutnya di *rotary evaporator vacum* dengan suhu 30°C dan kecepatan 100 rpm untuk menguapkan pelarut sampai volume berkurang (sampai pekat). Setelah kering ekstrak pigmen kasar tersebut ditampung pada labu *rotary vacuum evaporator*, namun karena tidak dapat diambil maka terlebih dahulu ekstrak kasar pigmen dilarutkan pada dietil eter sebanyak 5-10 ml atau sampai tidak ada ekstrak pigmen kasar yang menempel pada labu *rotary vacuum evaporator*.



Gambar 14. Proses Evaporasi

Filtrat kemudian dipindahkan ke dalam botol sampel dan dikeringkan dengan gas N_2 sampai kering sempurna. Ekstrak pigmen kering dibungkus

dengan aluminium foil dan bagian penutup botol sampel dilapisi dengan *cling wrap* selanjutnya disimpan dalam *freezer*.

4.1.3 Isolasi Fukosantin

Isolasi pigmen fukosantin pada alga coklat dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksana : etil asetat (8:2v/v, 7:3v/v, 6:4 v/v dan 5:5 v/v). Berikut pigmen Fukosantin hasil kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 15. Hasil Kromatografi Kolom

Dari gambar diatas dapat dilihat terbentuknya pita-pita pigmen berdasarkan warna dan tingkat kepolarannya masing-masing. Warna yang terbentuk antara lain: kuning, abu-abu, hijau, dan oranye. Pigmen fukosantin yaitu yang berwarna kuning tua (oranye). Pada penelitian ini sistem kromatografi kolom yang digunakan adalah "*normal phase*", yaitu fase diam yang digunakan bersifat polar dan fase gerak bersifat lebih nonpolar, sehingga pigmen yang bersifat nonpolar akan keluar terlebih dahulu (Jeffrey, *et al.*, 1997). Dari hasil isolasi yang dilakukan diperoleh 135 fraksi yang ditampung pada tabung reaksi sesuai warna masing-masing. Fraksi yang diduga pigmen fukosantin terdapat pada tabung 96 -121, hal ini didasarkan pada pigmen warna oranye (kuning tua) yang merupakan ciri khas pigmen fukosantin (Strain *et. al.*,1943; Jeffrey *et.al.*,

1997). Selain fukosantin murni di dapatkan juga pigmen yang merupakan campuran antara fukosantin dan pigmen lainnya, pigmen ini berada pada fase antara. Jumlah kuantitas pigmen pada fase ini tidak dapat dihitung karena banyaknya pigmen lain yang bercampur. Berdasarkan hasil tersebut juga diketahui mengenai tingkat kepolaran pigmen fukosantin, yaitu bersifat semi polar. Menurut Gross (1991), golongan santofil (fukosantin) bersifat lebih polar dibandingkan dengan karoten. Pigmen fukosantin hasil isolasi yang ditampung pada tabung reaksi dapat dilihat pada Gambar 18 di bawah ini.



Gambar 16. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi

4.1.4 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi pigmen fukosantin hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : aseton 7:3 v/v. Hasil pengujian KLT pigmen fukosantin dapat dilihat pada Gambar 17 di bawah ini.

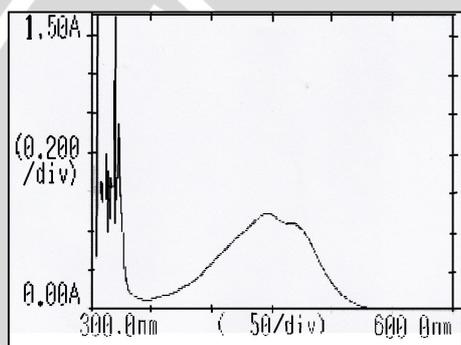


Gambar 17. Hasil KLT Pigmen Fukosantin

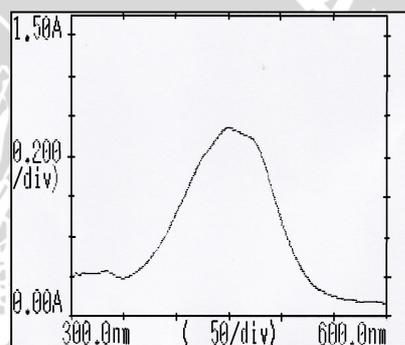
Dari hasil KLT diatas, diketahui bahwa total warna yang terbentuk hanya satu, yaitu berwarna oranye dan nilai Rf yang diperoleh yaitu 0,28. Nilai Rf ini diperoleh dengan cara membagi jarak yang ditempuh pigmen dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut.

4.1.5 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-vis

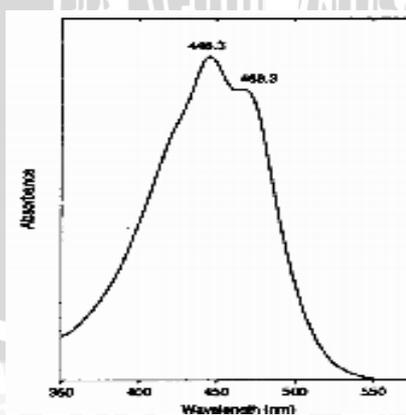
Pengukuran pola spektra fukosantin hasil isolasi dengan menggunakan spektrofotometer diperlukan untuk menguatkan identifikasi fukosantin dengan KLT. Pola spektra fukosantin dalam pelarut aseton dan etanol dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 18. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi (Aseton)



Gambar 19. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi (etanol)

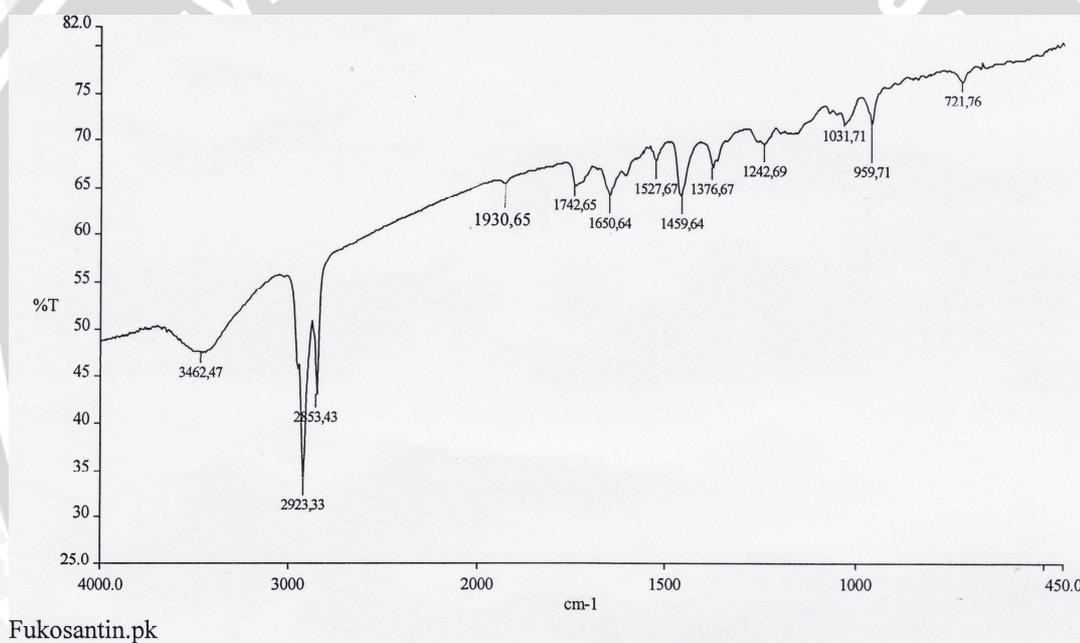


Gambar 20. Pola Spektra Pigmen Fukosantin (Jeffrey, *et al.*,1997)

Berdasarkan hasil pengukuran hasil isolasi fukosantin menggunakan spektrofotometer didapatkan hasil serapan maksimum pada puncak spektra pada pelarut aseton 447 nm dan pada pola spektra menggunakan etanol didapatkan hasil serapan maksimal 451 nm.

4.1.6 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri FTIR

Spektra inframerah pada penelitian ini digunakan untuk mendukung data spektra UV dalam menentukan struktur kimia yang terkandung dalam fukosantin. Pola spektra inframerah fukosantin dengan menggunakan KBr pellet dapat dilihat pada gambar sebagai berikut:



Gambar 21. Spektra IR dari sampel fukosantin (KBr-pellet).

Identifikasi spektroskopi inframerah menggunakan KBr pellet pada Gambar 21 di atas diperoleh hasil yang sedikit mempunyai kemiripan, dengan pembacaan sebagai berikut: puncak serapan (peak) pada bilangan gelombang 3462 cm^{-1} merupakan daerah gugus fungsi OH (hidroksil) dan pada daerah serapan 2923 dan 2853 cm^{-1} menunjukkan gugus metilena (CH_2). Pada bilangan gelombang 1930 cm^{-1} merupakan ikatan alenik, kemudian bilangan gelombang pada daerah 1742 cm^{-1} ini menunjukkan vibrasi $\text{C}=\text{O}$ (ester). Selanjutnya serapan

pada daerah 1650 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C=C terkonjugasi. Pada bilangan gelombang 1031 cm^{-1} menunjukkan pita uluran C-O-C simetrik.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi awal pigmen fukosantin pada penelitian ini menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika dan fase gerak heksan : aseton (7:3 v/v). Nilai Rf yang dihasilkan yaitu 0,28. Menurut Yan *et al.*, (1999), nilai Rf pigmen fukosantin berkisar antara 0,25 – 0,28. Heriyanto dan Limantara (2006) menyatakan golongan santofil (termasuk fukosantin) memiliki Rf 0,10–0,30 dalam pelarut heksana : aseton. Hasil penelitian lain memperlihatkan nilai Rf yang berbeda-beda, pada ayam buras Rf fukosantin 0,03-0,06 (Toto, et al.,2006), *Hizikia fusiformis* Rf fukosantin $0,67\pm 0,06$ (Hirota dan Kumagai,1990). Perbedaan nilai Rf pada kromatografi lapis tipis ini diduga karena sifat dari struktur kimia yang dipisahkan, sifat penyerap dan derajat aktifitasnya, tebal dan kerataan lapisan penyerap, pelarut yang digunakan sebagai fase gerak (kemurnian pelarut), derajat kejenuhan dari uap dalam bejana yang digunakan, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu dan kesetimbangan (Anonymous, 2010⁹).

4.2.2 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-vis

Pengukuran pola spektra fukosantin hasil isolasi dengan menggunakan spektrofotometer diperlukan untuk menguatkan identifikasi fukosantin dengan KLT. Identifikasi ini dipilih karena prosesnya sederhana karena tidak perlu melakukan preparasi khusus. Sampel dimasukan pada kuvet spektro kemudian ditaruh pada tempat khusus pada alat kemudian alat akan melakukan pembacaan pola spektra dan panjang gelombang yang dihasilkan. Selain itu sampel yang digunakan untuk proses identifikasi ini sangat sedikit $\pm 20\ \mu\text{m}$.

Keuntungan dari identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-vis adalah cara yang sederhana dan konsentrasi larutan yang sangat kecil (Adrian, 2009).

Berdasarkan hasil pengukuran hasil isolasi fukosantin menggunakan spektrofotometer didapatkan hasil serapan maksimum pada puncak spektra pada pelarut aseton 447 nm dan pada pelarut etanol didapatkan hasil serapan maksimal 451 nm. Pada penelitian ini terdapat perbedaan panjang gelombang. Perbedaan ini diduga karena setiap pelarut memiliki panjang gelombang yang spesifik (Sastrohamidjojo, 2001). Oleh karena itu maka hasil pengukuran panjang gelombang fukosantin antara aseton dan etanol berbeda. Panjang gelombang fukosantin pada aseton 446,3 nm (Jeffrey, *et al.*, 1997) dan etanol 450 nm (Hirota dan Kumagai, 1990).

Hasil pola spektra dan panjang maksimum pigmen yang dihasilkan dari proses isolasi dengan kromatografi kolom dibandingkan dengan panjang gelombang spektra dan panjang gelombang maksimum menurut Jeffrey, *et al.*, (1997) dan Hirota dan Kumagai (1990) memiliki kemiripan yang hampir sama baik dalam pola spektra maupun panjang gelombang, meskipun terdapat pergeseran pada panjang gelombang hal ini mungkin dikarenakan kualitas pelarut dan kemurnian pelarut yang digunakan untuk analisa (Toto *et al.*, 2006).

4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri FTIR

Spektroskopi FTIR pada penelitian ini digunakan untuk mendukung data spektra UV dalam menentukan struktur kimia yang terkandung dalam fukosantin. Identifikasi menggunakan FTIR ini dipilih karena dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat, sensitifitas dari metoda spektrofotometri FTIR lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistim detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (Sastrohamidjojo, 2001).

Berdasarkan hasil spektroskopi inframerah menghasilkan daerah puncak spektrum yang berbeda jika dibandingkan dengan spektrum absorpsi infra-Red dari fukosantin menurut Schwieter (1969), ini dikarenakan jumlah penggunaan sampel pada cuplikan KBr pellet kurang pekat sehingga menyebabkan puncak spektrum yang dihasilkan tidak tajam. Mengenai nilai pada gugus fungsi khusus yang terdapat pada fukosantin sedikit mengalami pergeseran dengan yang ada pada literatur Haugan *et al*, (1992), namun pergeseran nilai gugus fungsi tersebut masih dalam kisaran, contohnya seperti gugus hidroksil OH berada pada bilangan gelombang 3462 cm^{-1} , ini sedikit berbeda dengan yang terdapat pada pustaka yaitu 3483 cm^{-1} . Menurut Sylverstein (1986), gugus hidroksil OH terdapat pada bilangan gelombang antara $3550\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$.

Menurut Schwieter (1969), Teknik spektroskopi infra-red digunakan untuk mendeteksi struktur tertentu yang unik, seperti hidroksi, asetilenik, alenik dan gugus keto yang tidak reaktif, seperti yang terdapat pada fukosantin. Gugus alenik dideteksi pada sinyal 1956 cm^{-1} (pellet KBr), sedangkan pada penelitian dari Haugan *et al*. (1992) memberikan hasil analisa FT-IR pada ekstrak fukosantin dari *Fucus serratus* dengan hasil sama untuk deteksi gugus alenik, yaitu pada 1930 cm^{-1} . Kisaran dari alenik pada kelompok karotenoid yaitu antara $2000\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ (Britton, 1995). Analisa gugus fungsional sampel Fukosantin (*Fucus serratus*) dan *Sargassum filipendula* menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Spektrofotometer dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Analisa gugus fungsional sampel Fukosantin (*Fucus serratus*) dan *Sargassum filipendula* menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Spektrofotometer

No.	Gugus Fungsional	V_{\max} (cm^{-1}) (A)	V_{\max} (cm^{-1}) (B)
1.	OH	3483	3462
2.	CH	3030-2856	2923, 2853
3.	Allene	1930	1930
4.	C=O, ester	1732	1742
5.	C=C terkonjugasi	1654	1650
6.	CH ₂	1607, 1576, 1530, 1471, 1456	1527, 1459
7.	C-O, asetat	1335, 1261, 1245	-
8.	C-O-C	1032	1031
9.	C=C, Trans disubstitusi	1201, 1175-1157, 1071, 1053, 958	959

Keterangan : (A) = V_{\max} (cm^{-1}) ekstrak Fukosantin (*Fucus serratus*) menurut Haugan *et al.*, (1992)

(B) = V_{\max} (cm^{-1}) ekstrak Fukosantin (*Sargassum filipendula*) berdasarkan uji FTIR yang dilakukan di laboratorium Kimia Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Dari hasil pembacaan FTIR hasil isolasi kolom diatas dapat disimpulkan bahwa sampel yang diduga fukosantin adalah benar merupakan fukosantin, hal ini terlihat dari adanya gugus hidroksil, ikatan alenik, gugus karbonil (ester), ikatan rangkap terkonjugasi (C=C) dan CH. Untuk peak-peak lain yang muncul, dapat diasumsikan merupakan suatu pengotor yang terkandung dalam sampel yang dimungkinkan karena kemurnian pelarut yang digunakan pada saat isolasi dan ketepatan alat yang berbeda antara satu tempat dengan tempat lainnya.

4.2.4 Rendemen Fukosantin

Hasil rendemen fukosantin *Sargassum filipendula* pada penelitian ini yaitu 0,03 % \pm 0,007. Hasil rendemen ini sedikit berbeda dengan penelitian oleh Wijayanti (2009), yaitu rendemen pada *Padina australis* 0,05 % \pm 0.00256, *Sargassum polycystum* 0.03 % \pm 0.00265, disebabkan adanya perbedaan spesies dan habitat alga coklat antara penelitian dengan pustaka. Nurdiana *et al.*, (2008), menyatakan bahwa pada kedalaman 3 meter jumlah fukosantin lebih tinggi dibandingkan kedalaman 6 meter. Habitat alga coklat yang digunakan pada penelitian ini berada pada kedalaman 4 meter (1,5 meter ketika surut) dengan substrat yang berupa pasir berlumpur, arus sedang dan berombak.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai studi identifikasi fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik yaitu memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida di dalam molekulnya. Selain itu, fukosantin juga mempunyai gugus keto pada posisi C-8 dan memiliki 2 gugus hidroksil.
2. Kandungan fukosantin dalam alga coklat dipengaruhi oleh cahaya, habitat, spesies, dan kandungan pH lingkungan.
3. Fukosantin memiliki aktivitas untuk mencegah obesitas dan diabetes, mencegah dan memerangi kanker (kanker usus besar, kanker usus halus, kanker darah, kanker prostat dan kanker hati) pencegah oksidasi pada tubuh, mencegah penyumbatan pembuluh darah dan memerangi implamasi.
4. Rendemen fukosantin yang dihasilkan yaitu $0,03 \% \pm 0,007$
5. Dari hasil KLT didapatkan hasil perhitungan Rf yaitu 0,28.
6. Dari hasil pengukuran pola spektra didapatkan hasil serapan maksimum pada puncak spektra pada pelarut aseton 447 nm dan pada pola spektra menggunakan etanol didapatkan hasil serapan maksimal 451 nm.
7. Dari hasil uji gugus fungsi menggunakan spektroskopi FT-IR didapatkan gugus fungsi yaitu sebagai berikut: gugus fungsi OH (hidroksil), gugus C-H (alkana), ikatan alenik, vibrasi C=O (ester), dan vibrasi C=C terkonjugasi serta vibrasi CH₂.

5.2 Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi pigmen fukosantin dengan menggunakan FTIR dan diharapkan agar lebih berhati-hati dalam proses penanganan sampel sebelum dilakukan proses identifikasi supaya tidak timbul suatu pengotor yang akan mempengaruhi hasil analisa FTIR.



DAFTAR PUSTAKA

- Adrian, Nur. 2009. **Alat Analisa**. Jurusan teknik kimia Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret Surakarta. http://adrian_nur.staff.uns.ac.id/files/2009/12/08-alat-analisa-upload.pdf
- Amirin, T.M. 2009. **Penelitian Eksploratori (Eksploratif)**. www.tatangmanguny.wordpress.com. diakses tanggal 25 Juli 2010.
- Anam, Choirul; Sirojudin, dan K. Sofjan Firdausi. 2007. **Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR**. Jurusan Fisika fakultas MIPA Universitas Diponegoro. Semarang.
- Anis, E. 2008. **Pigmen Sebagai Zat Pewarna dan Antioksidan Alami**. UMM Press. Malang.
- Anonymous. 2008. **Sargassum filipendula**. www.diaryroomblog.blogspot.com. Diakses Tanggal 26 Juni 2009.
- _____. 2009^a. **Sargassum filipendula**. www.itis.gov. Diakses Tanggal 26 Juni 2009.
- _____. 2009^b. **Fucoxanthin**. <http://www.wikipedia.org/wiki/Fucoxanthin>. Diakses tanggal 10 April 2009.
- _____. 2009^c. **Metanol**. <http://www.wikipedia.org/wiki/Metanol>. Diakses tanggal 10 April 2009.
- _____. 2009^d. **Aceton**. <http://www.wikipedia.org/wiki/Aseton>. Diakses tanggal 10 April 2009.
- _____. 2009^e. **Spektrofotometri UV**. <http://www.wikipedia.org/wiki/Aseton>. Diakses tanggal 10 April 2009.
- _____. 2010^a. **Dietil Eter**. http://www.wikipedia.org/wiki/dietil_eter. Diakses tanggal 25 Agustus 2010.
- _____. 2010^b. **Etil Asetat**. http://www.wikipedia.org/wiki/Etil_asetat. Diakses tanggal 25 Agustus 2010.
- _____. 2010^c. **Hexan**. <http://www.wikipedia.org/wiki/hexan>. Diakses tanggal 25 Agustus 2010.
- _____. 2010^d. **Spektrofotometer FTIR**. http://www.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometer_FTIR. Diakses tanggal 25 Agustus 2010.
- _____. 2010^e. **Gugus Fungsi**. http://www.wikipedia.org/wiki/Gugus_fungsi. Diakses tanggal 25 Agustus 2010.
- _____. 2010^f. **Fraksinasi**. <http://www.wikipedia.org/wiki/fraksinasi>. Diakses tanggal 25 Agustus 2010.

_____, 2010^g. **Kromatografi Kolom**. <http://www.scribd.com>. Diakses Tanggal 31 juli 2010.

Apriyantono, A, D. Fardiaz, N. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto. 1989. **Analisis Pangan**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan DIKTI Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Aslan, L. M. 1998. **Rumput Laut**. Kanisius. Yogyakarta.

Atmadja, W. S; A. Kadi; Sulistijo, dan Rachmaniar. 1996. **Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia**. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Jakarta.

Atmadja, W. 2007. **Apa Rumput Laut Itu Sebenarnya?**. <http://www.coremap.or.id/print/article.php?id=264>, diakses pada 29 April 2009.

Bachtiar, E. 2007. **Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) Sebagai Biotarget Industri, Makalah**. Universitas Padjadjaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Jatinangor. Bandung.

Basri, S. 1996. **Kamus Kimia**. Rineka Cipta. Jakarta.

Bernasconi, G. H *et al.*, diterjemahkan oleh L. Handoyo. 1995. **Teknologi Kimia 2**. PT. Pradya Paramita. Jakarta.

Borrow, C and F. Shahidi. 2008. **Marine Nutraceutical and Functional Foods**. CRC Press. London. New York.

Britton, G., L. Jensen, S. dan Pfander, H. 1995^a. **Carotenoids Volume 1A: Isolation and Analysis**. Birkauser Verlag, Basel, Boston. Berlin

Britton, G., L. Jensen, S. dan Pfander, H. 1995^b. **Carotenoids Volume 1B: Spectroscopy**. Birkauser Verlag, Basel, Boston. Berlin

Buckingham, J and Vonoghy. 1982. **Dictionary of Organic Compounds**. Chapman and Hill Press. New York.

Chen, Y. A. 2008. **Anabolisme : Fotosintesis**. www.drveggielabandresearch.blogspot.com. Diakses Tanggal 5 Juni 2009.

Cholifah, Siti. 2004. **Penggunaan Metode Ftir (Fourier Transform Infra Red) Untuk Studi Analisis Gugus Fungsi Sampel Minyak Goreng Dengan Perlakuan Variasi Pemanasan**. Jurusan Fisika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro. Semarang.

Clark, J. 2007. **Kromatografi Lapis Tipis**. http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/instrumen_analisis/kromatografi1/kromatografi_lapis_tipis/. Diakses Tanggal 13 April 2009.

- Dawczynski, C; R. Schubert; G. Jahreis. 2007. **Jurnal Amino Acids, Fatty Acids, and Dietary Fibre in Edible Seaweed Products.** Food Chemistry 103 (2007) 891–899.
- Day, R.A and Underwood. 1999. **Analisis Kimia Kuantitatif.** Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.
- Ensiklopedia. 2009. **Algae-algae and Their Characteristic, Types of Algae, Ecological Relationship, Factors Limiting The Productivity of Algae.** www.science.jrank.org. Diakses Tanggal 4 Juni 2009.
- Goodwin, T. W. 1974. **Carotenoid and Biliproteins in Algal Physiology and Biochemistry.** University of California Press. Berkeley.
- Gross, J. 1991. **Pigments In Vegetables Chlorophylls and Carotenoids.** An Avi Book. New York.
- Hadik. 2008. **Petunjuk Penggunaan Alat FTIR (Fourier Transform Infra Red).** Laboratorium Instrument Jurusan Kimia Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya. Malang.
- Handayani, T, Sutarno, dan A.D Setyawan. 2004. **Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh.** Biofarmasi 2 (2): 42-52.
- Hart, H. 1983. **Kimia Organik.** Houghton Mifflin Co. Michigan State University. USA. Alih Bahasa Dr. Suminar Achmadi Ph. D. Erlangga. Jakarta.
- Haugan, J.A., Englert, G., Glinz, E., and Jensen, S.L., 1992. **Algal Carotenoids, Structural Assignments of Geometrical Isomers of Fucoxanthin.** *Acta Chem. Scand* 46 : 389-395.
- Hendayana, S. 2006. **Kimia Pemisahan.** PT Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Heriyanto dan L. Limantara. 2006. **Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan Taliputri *Cuscuta australis* R.Br dan *Cassytha filiformis*** L. Makara, Sains, Vol 10 (2) : 69-75.
- Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima dan Tanada, K. 1999. **Three Kinds of Antibacterial Substances From *Lentinus edobes* (Berk) Sing, Shintake an Edible Mushroom.** International Journal of Antibacterial Agents 11.
- Hirota, Nozomu dan Akiki Kumagai. 1990. **Pigmen Composition of Cholrophyll-Protein Compex and Seasonal Variason Of Pigemn in the brown Algae Hizikia Fusiformis.**
- Indriani, H dan Sumarsih. 1992. **Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut.** Penebar Swadaya. Jakarta.
- Jeffrey, S. W, R. F. C Mantoura, and S. W Wright. 1997. **Phytoplankton Pigments in Oceanography.** (Dalam Pangestuti R, L. Limantara, dan A. Susanto. 2007. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Fukosantin**

- Sargassum polycystum* C. A Agardh.** Prosiding Back to Nature dengan Pigmen Alami Hal. 201-209.
- Juneidi, A. W. 2004. **Rumput Laut, Jenis Dan Morfologisnya.** Departemen Pendidikan Nasional Direktorat Jenderal Pendidikan Dasar Dan Menengah Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan.
- Kadi, A. 2008. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia.** Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta.
- Kadi, A dan W.S. Atmadja. 1996. **Rumput Laut, Jenis, Reproduksi, Budidaya dan Pasca Panen.** Seri Sumber Daya Alam No 141. Puslitbang Oseanologi LIPI. Jakarta.
- Lenny, S. 2006. **Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp.** USU repository
- Limantara, L dan P. Rahayu. 2008. **Sains dan Teknologi Pigmen Alami.** Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Hal: 2-42.
- Maeda, H, T. Tsukui, T. Sashima, M. Hosokawa dan K. Miyashita. 2008. **Seaweed Carotenoid, Fucoxanthin, as a multi-functional nutrient.** Asia Pacific journal of clinical nutrition. 17 Suppl (1) hal :196-199.
- Muamar, Hamim Ahmad. 2009. **Studi Termostabilitas Pigmen Fukosantin, Klorofil A dan Ekstrak Kasar *Padina Australis* dan *Sargassum Polycystum* terhadap Suhu dan Pemanasan Yang Berbeda.** Universitas Brawijaya. Malang
- Nurchayati, A. D. R dan K.H Timotius. 2007. **Fucoxanthin Sebagai Anti Obesitas.** Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol. XVIII No. 2. Hal: 134-141.
- Nurdiana, D. N dan L. Limantara. 2008. **Ragam Pigmen Rumput Laut Coklat: Potensi dan Aplikasi.** Departemen Biologi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Nurdiana, D. R, L Limantara dan Susanto AB. 2008. **Komposisi dan Fotostabilitas Pigmen Rumput Laut *Padina australis* Hauck dari kedalaman yang berbeda.**
- Oryza oil & Fat ChemicalCo.LTD. 2010. **Fucoxanthin.** JAPAN
- Pangestuti, R, L. Limantara, dan A. Susanto. 2007. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Fukosantin *Sargassum polycystum* C. A Agardh.** Prosiding Back to Nature dengan Pigmen Alami Hal. 201- 209.
- Prangdimurti, E. 2007. **Pigmen Alami.** Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rivai, H. 1995. **Azas Pemeriksaan Kimia.** UI Press. Jakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. **Kromatografi.** Liberty. Yogyakarta.

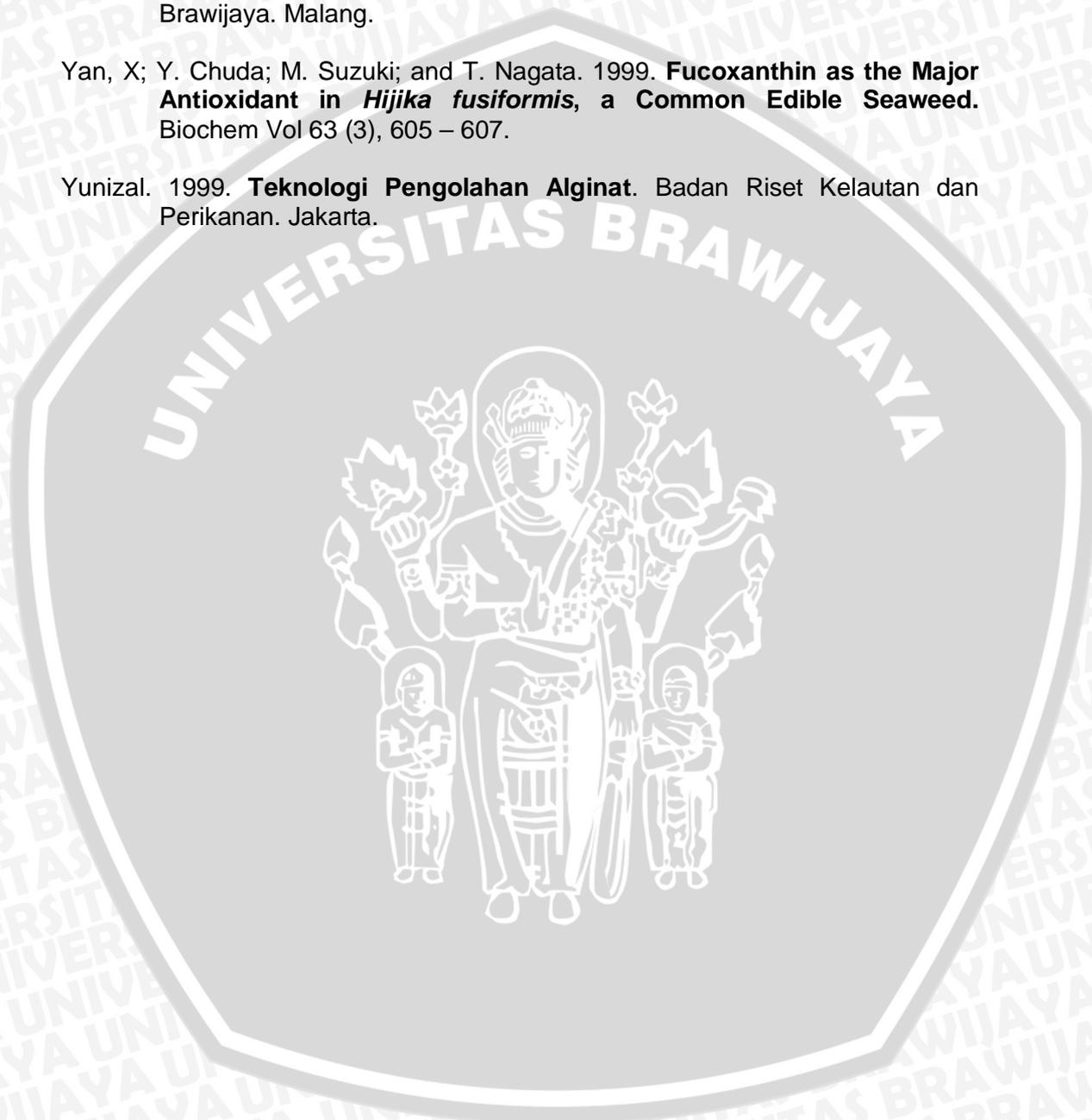
- Schelfan, Leopold and Morris B. Jacobs. 1983. **The Handbook of Solvent**. D. Van Nostrand Comp. Inc. New York.
- Schwieter, U, G. Englert, N. Rigassi dan W. Vetter. 1969. **Physical Organic Methods In Carotenoid Research**. Research Departement, F. Hoffmann-La Roche and Co. Ltd. Switzerland.
- Sholihah, H. M. 2010. **Uji Afrodisiaka Fraksi Larut Air Ekstrak Etanol 70% Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& Perry) Terhadap Libido Tikus Jantan**. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Shriner, R.L, R.C. Fuson, D.Y. Curtin, C.K.F. Hermann and T.C. Morili. 1980. **The Systematic Identification of Organic Compounds. 6th Edition**. John Wiley dan Sons, Inc. Singapore.
- Singarimbun, M. dan Effendi, S. 1987. **Metode Penelitian Survei**. Edisi Revisi. LP3ES. Jakarta.
- Strain, H. H., Winston, M. M., and G. Hardins. 1943. **Xanthophylls and Carotenes of Diatoms, Brown Algae, Dinoflagellates, and Sea-Anemones**. Carnegie institution of Washington. Division of Plant Biology. Stanford University. California.
- Sudarmadji, S, B. Haryono, dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty. Yogyakarta.
- Susanto, AB. 2008. **Penelitian Rumput Laut Di Indonesia dan Potensi Pemanfaatan Klorofil**. Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Hal: 43-50.
- Syahputra, M. R dan L. Limantara. 2007. **Peranan Karotenoid dalam Fotosintesis**. Organisme, Vol 2 (1): 148-155.
- Takeuchi, Yashito. 2006. **Pengantar Kimia**. Iwanami Shoten Publishers. Tokyo.
- Toto, Z. A. D, P. Rahayu, F. F. Karwur, dan L. Limantara. 2006. **Identifikasi dan Isolasi Pigmen Karotenoid Berbagai Jenis Kuning Telur Unggas**. Organisme, Vol I (2) : 100-110.
- Vogel, A. I. 1987. **Textbook of Practical Organic Chemistry**, Revised by Furnies, B.S. Fourth Edition. New York.
- Voight, R. 1994. **Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie 5th Edition**. (Terjemahan S. Noerono). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wanto dan M. Ramli. 1977. **Alat – alat Industri Kimia I**. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan. Jakarta.
- Wapedia. 2009. **Metanol**. <http://wapedia.mobi/id/metanol?t=1>. Diakses tanggal 9 Juni 2009.

Warsito. 2007. **Metode Isolasi dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman**. Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Malang.

Wijayanti, Lucky. 2009. **Studi Komposisi Pigmen Dan Kandungan Fukosantin Pada Alga Coklat (*Sargassum Duplicatum*, *Sargassum Polycystum*, *Sargassum Filipendula*, *Padina Australis*, Dan *Turbinaria Conoides*)**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.

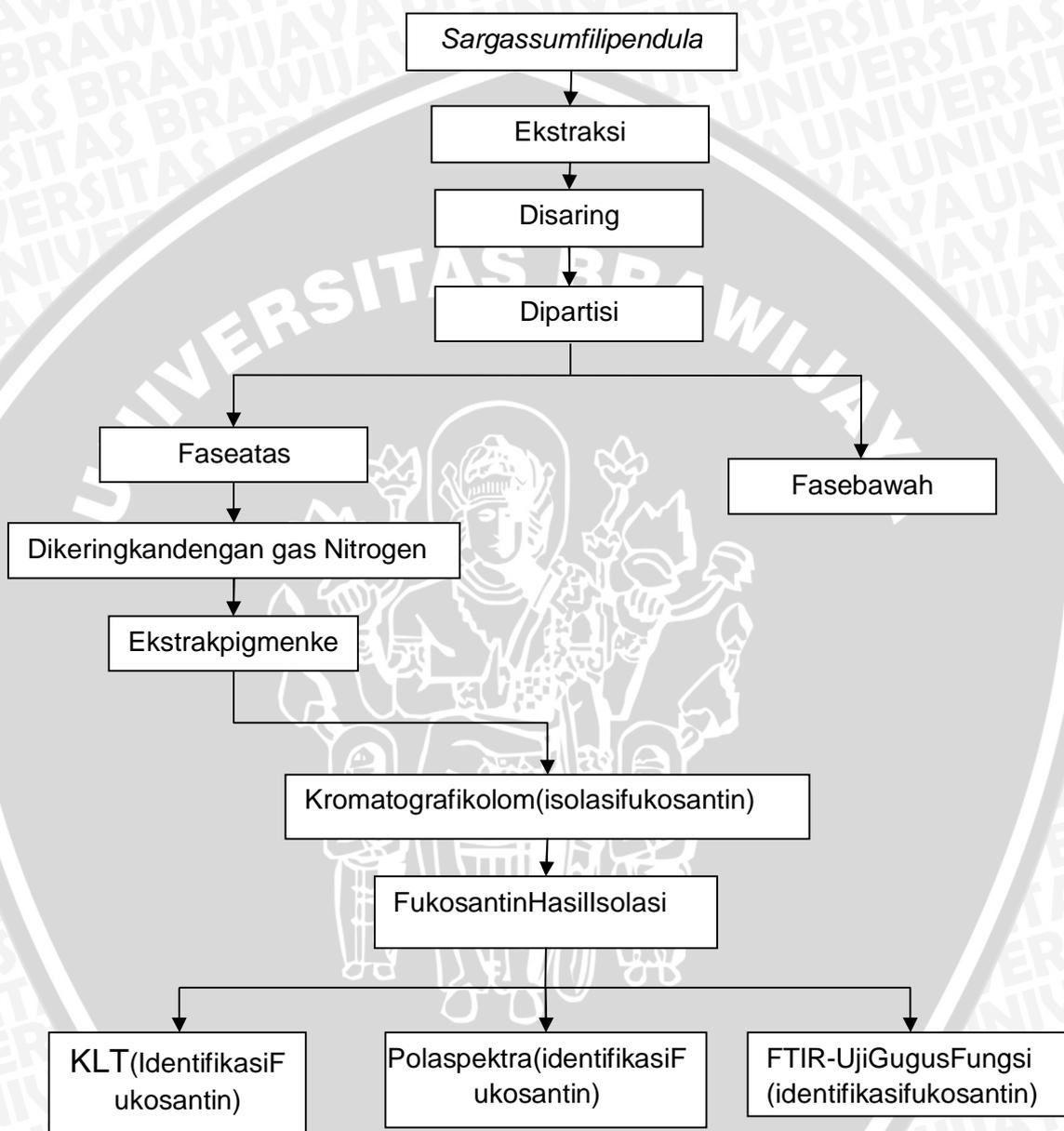
Yan, X; Y. Chuda; M. Suzuki; and T. Nagata. 1999. **Fucoxanthin as the Major Antioxidant in *Hijika fusiformis*, a Common Edible Seaweed**. *Biochem Vol 63 (3)*, 605 – 607.

Yunizal. 1999. **Teknologi Pengolahan Alginat**. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian



Lampiran 2. Data absorbansi

Alga Coklat	Ulangan	Pengenceran	absorbansi
<i>Sargassumfilipendula</i>	1	25 liter	0,389
	2	20liter	0,505

Lampiran 3. Kadar Fukosantin

Alga Coklat	Ulangan	Jumlahfukosantin	Standardevasiasi
<i>Sargassumfilipendula</i>	1	0,0587gr	± 0,00134
	2	0,0606gr	

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Fukosantin

Ulangan 1 :

Absorbansi 0,389 pengenceran 25 liter

$$A = \epsilon bc$$

$$0.389 = 109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times C$$

$$C = \frac{0,389}{109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$C = 3.5688 \times 10^{-6} (1 \text{ mol}^{-1})$$

$$M = \frac{gr}{Mr} \times \frac{1000}{Vml}$$

$$3.5688 \times 10^{-6} = \frac{X}{658.92} \times \frac{1000}{25000}$$

$$3.5688 \times 10^{-6} = \frac{X}{16473}$$

$$X = 16473 \times 3.5688 \times 10^{-6}$$

$$X = 0,0587 \text{ gr}$$

Ulangan 2

Absorbansi 0,502 pengenceran 20 liter

$$A = \epsilon bc$$

$$0.502 = 109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1 \text{ cm} \times C$$

$$C = \frac{0,502}{109 \times 10^3 (1 \text{ mol}^{-1})}$$

$$C = 4.6055 \times 10^{-6} (1 \text{ mol}^{-1})$$

$$M = \frac{gr}{Mr} \times \frac{1000}{V_{ml}}$$

$$4.6055 \times 10^{-6} = \frac{X}{658.92} \times \frac{1000}{20000}$$

$$4.6055 \times 10^{-6} = \frac{X}{13178,4}$$

$$X = 13178,4 \times 4.6055 \times 10^{-6}$$

$$X = 0,0606 \text{ gr}$$

Lampiran 5 Pembuatan Larutan

Larutan ekstraksi

Metanol : aseton (7:3 v/v) — Membuat 750 ml

$$\text{Metanol} = \frac{7}{10} \times 750 \text{ ml} = 525 \text{ ml}$$

$$\text{Aseton} = \frac{3}{10} \times 750 \text{ ml} = 225 \text{ ml}$$

Larutan kolom

Heksan : Etil Asetat (8:2 v/v) — Membuat 50 ml

$$\text{Heksan} = \frac{8}{10} \times 50 \text{ ml} = 40 \text{ ml}$$

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

Heksan : Etil Asetat (7:3 v/v) — Membuat 50 ml

$$\text{Heksan} = \frac{7}{10} \times 50\text{ml} = 35\text{ ml}$$

$$\text{EtilAsetat} = \frac{3}{10} \times 50\text{ml} = 15\text{ ml}$$

Heksan :EtilAsetat (6:4 v/v) —Membuat 50ml

$$\text{Heksan} = \frac{6}{10} \times 50\text{ml} = 30\text{ ml}$$

$$\text{EtilAsetat} = \frac{4}{10} \times 50\text{ml} = 20\text{ ml}$$

Heksan :EtilAsetat (6:4 v/v) —Membuat 50ml

$$\text{Heksan} = \frac{6}{10} \times 50\text{ml} = 30\text{ ml}$$

$$\text{EtilAsetat} = \frac{4}{10} \times 50\text{ml} = 20\text{ ml}$$

Heksan :EtilAsetat (5:5 v/v) —Membuat 50ml

$$\text{Heksan} = \frac{5}{10} \times 50\text{ml} = 25\text{ ml}$$

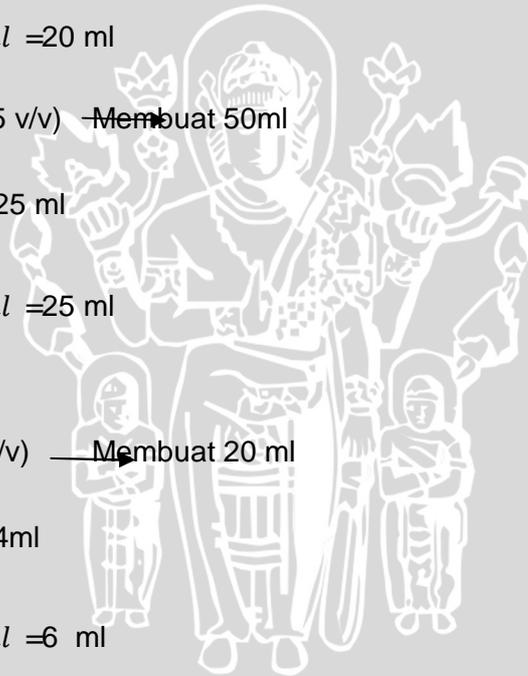
$$\text{EtilAsetat} = \frac{5}{10} \times 50\text{ml} = 25\text{ ml}$$

Larutan KLT

Heksan :Aseton (7:3 v/v) —Membuat 20 ml

$$\text{Heksan} = \frac{7}{10} \times 20\text{ml} = 14\text{ml}$$

$$\text{EtilAsetat} = \frac{3}{10} \times 20\text{ml} = 6\text{ ml}$$



Lampiran 6. Prosedur Analisa FTIR (Hadik, 2008)

- Pembuatan Pelet KBr

KBr yang di gunakan yaitu Jenis Spektro Grade, langkah pertama KBr dioven pada suhu $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ Jam, selanjutnya ditumbuk halus : apabila sampel padat maka langsung dicampurkan kedalam KBr tersebut serta ditumbuk halus bersama KBr, dg perbandingan KBr : Sampel (10 : 1), Setelah KBr ditumbuk halus kemudian di cetak / dipress pada alat pengepresan pellet KBr dan pellet siap diukur pada FT IR., namun apabila sample cair maka setelah KBr menjadi pellet barulah sampel ditetaskan (antara 2 – 3 tetes). dan siap diukur pada FT IR.

Prosedur Penggunaan FTIR – 8400S SHIMADZU (Hadik, 2008)

- Tahap Awal

FTIR dihubungkan pada sumber tegangan 220 volt, selanjutnya dinyalakan alat FT IR dengan menekantombol ON diikuti dengan menyalakan Komputer. dipilih program [IR SOLUTION] dan diklik 2x pada program [IR SOLUTION] untuk masuk kedalam program. Dilanjutkan memilih menu [MEASUREMENT] yang ada pada *Function Tabs*, dan memilih menu [MEASUREMENT] yang ada pada *Menu Bar* dengan mengklik [INITIALIZE] kemudian TUNGGU sampai komputer terhubung dengan alat FTIR.

- Pengukuran Sampel

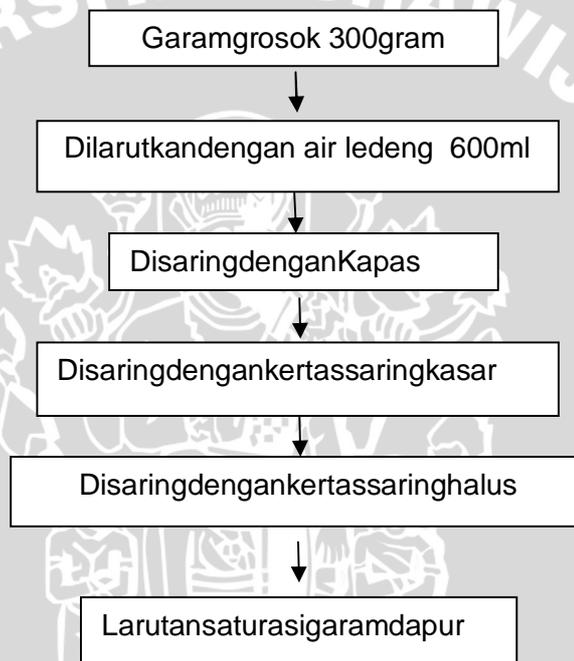
Sebelum dilakukan pengukuran sample, *Sample Compartment* (ruangan di dalam alat yang disediakan untuk tempat sampel) dikosongkan terlebih dahulu dan diklik background [BKG] serta ditunggu hingga proses scanning selesai. Langkah selanjutnya membuka sample compartment dan masukkan sampel, kemudian ditutup alat FT-IR dan ditunggu hingga proses

scanning selesai. Untuk mencetak hasil, klik menu FILE dan pilih PRINT selanjutnya pilih bentuk TEMPLATE yang diinginkan dan tekan ENTER.

- Tahap akhir

Untuk keluar dari program IR Solution, klik menu FILE dan pilih CLOSE atau untuk menutup tampilan yang ada, sertaklik EXIT. Selanjutnya computer dimatikan diukutialat FTIR.

Lampiran 7. Diagram Alir Pembuatan Saturasi Garam



Lampiran8.Gambar Proses Pembuatan Pellet KBr (UniversitasAirlangga, Surabaya)



a. Proses pengambilan sampel b. Proses pencampuran sampel dengan KBr



c. Pemasukan sampel ke dalam tabung pemadat d. Pematatan sampel menjadi pellet



e. Bentuk sampel yang telah dipadatkan f. Proses pendeteksiangugus fungsi dengan FTIR.

Lampiran 9.

No.	Bilangan Gelombang (cm^{-1}) (A)	Bilangan Gelombang (cm^{-1}) (B)	Gugus Fungsi
1.	3462	3550 – 3200	OH
2.	2923, 2853	3000 – 2840	C-H (alkana)
3.	1930	2000 – 1900	C=C=C (alena)
4.	1742	1750 – 1735	C=O (ester)
5.	1650	1650	C=C, terkonjugasi
6.	1527	-	-
7.	1459	Dekat 1450	CH ₃ bending (taksimetris)
8.	1376	1075 – 1030	CH ₃ bending (simetris)
9.	1242	1242	CH ₂
10.	1031	1075 – 1020	C-O-C stretch
11.	959	950 – 810	Uluran simetrik pada cincin epoksi
12.	721	Dekat 720	CH ₂ bending (Alkana)

Keterangan : A. Bilangan gelombang sampel fukosantin *Sargassum filipendula*

B. Bilangan gelombang di daerah puncak spektrum Inframerah pada literature (Silverstein, 1991)

