

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian isolasi fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan parameter hasil kolom, uji identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan uji identifikasi pola spektra serta panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601 dapat dilihat dari Tabel 12, sedangkan hasil karakterisasi pigmen fukosantin pada variasi pH dan kondisi simpan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 12. Hasil Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin

No	Uji Identifikasi	Alat	Hasil	Literatur	
1.	Kolom	Kromatografi Kolom	135 Isolat pigmen dalam tabung reaksi. Isolat Fukosantin dari tabung 96-121 warna kuning tua (oranye)	Fukosantin berwarna kuning tua (oranye) (Jeffrey, <i>et al.</i> ,1997)	
2.	KLT	KLT	Rf 0,28	Rf fukosantin 0,25-0,28 Yan, <i>et al.</i> ,(1999)	
3.	Pola spektra	Spektrofotometer UV-VIS 1601 Shimadzu	Pelarut		Dalam pelarut Aseton (Jeffrey, <i>et al.</i> , 1997) panjang gelombang 446,3 dan 468,3 nm
			Aseton	Etanol	

Tabel 13. Hasil Karakterisasi Fukosantin Pada Variasi pH dan Kondisi Simpan

No	Perlakuan	Karakterisasi	Spektrofotometer		
		Rata-rata Intensitas Warna	Rata-rata Pergeseran Panjang Gelombang	Rata-rata Puncak Absorbansi	Panjang Gelombang Literatur
	• Larutan buffer				
1	pH 3	L = 28,75 ± 0,45 a = 0,7 ± 0,02 b = 5,2 ± 0,03	446,6 ± 0,10 nm 468,5 ± 0,10 nm		Menurut Jeffrey λ 446,3 dan 468,3
2	pH 4	L = 30,06 ± 0,00 a = 0,6 ± 0,01 b = 4,7 ± 0,04	446,9 ± 0,05 nm 468,7 ± 0,10 nm		
3	pH 5	L = 30,22 ± 1,97 a = 0,5 ± 0,05 b = 2,3 ± 0,02	447,3 ± 0,10 nm 468,8 ± 0,10 nm		
4	pH 7	L = 30,99 ± 5,82 a = 0,2 ± 0,01 b = 1,6 ± 0,05	447,5 ± 0,10 nm 468,9 ± 0,05 nm		
	• Kondisi simpan				
5	Suhu Freezer ± (-5°C)		446,6 ± 0,10 nm 468,5 ± 0,10 nm	0,989 ± 0,01 A	Menurut Jeffrey λ 446,3 dan 468,3
6	Suhu Dingin ± (5°C)		446,6 ± 0,28 nm 468,6 ± 0,28 nm	0,947 ± 0,00 A	
7	Suhu Kamar ± (25°C)		447,5 ± 0,00 nm 469,5 ± 0,00 nm	0,911 ± 0,05 A	

Dari hasil penelitian karakterisasi pigmen fukosantin pada variasi pH diatas dapat dilihat penambahan larutan buffer pH 3 pada larutan fukosantin memiliki rata-rata intensitas warna (kecerahan) $L = 28,75 \pm 0,45$, $a = 0,7 \pm 0,02$ dan $b = 5,2 \pm 0,03$. Sedangkan rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $446,6 \pm 0,10$ nm dan $468,5 \pm 0,10$ nm. Pada penambahan larutan buffer pH 4 memiliki rata-rata intensitas warna (kecerahan) $L = 30,06 \pm 0,00$, $a = 0,06 \pm 0,01$ dan $b = 4,7 \pm 0,04$. Sedangkan rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $446,9 \pm 0,05$ nm dan $468,7 \pm 0,10$ nm. Pada penambahan

larutan buffer pH 5 memiliki rata-rata intensitas warna (kecerahan) $L = 30,22 \pm 0,97$, $a = 0,05 \pm 0,5$ dan $b = 2,3 \pm 0,02$. Sedangkan rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $447,3 \pm 0,10$ nm dan $468,8 \pm 0,10$ nm. Pada penambahan larutan buffer pH 7 memiliki rata-rata intensitas warna (kecerahan) $L = 30,99 \pm 0,82$, $a = 0,2 \pm 0,01$ dan $b = 1,6 \pm 0,05$. Sedangkan rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $447,5 \pm 0,10$ nm dan $468,9 \pm 0,05$ nm.

Dari hasil penelitian tersebut dapat dilihat bahwa penambahan larutan buffer pH 3 pada larutan fukosantin mengalami perubahan rata-rata intensitas warna tingkat kecerahan yang paling rendah sedangkan nilai a dan b paling tinggi. Hal ini menunjukkan pada buffer pH 3 memiliki rata-rata intensitas warna paling gelap atau belum mengalami pemucatan warna. Sedangkan rata-rata pergeseran panjang gelombang yang paling rendah juga pada buffer pH 3 bila dibandingkan rata-rata panjang gelombang pada buffer pH 4, buffer pH 5 maupun buffer pH 7 yang paling tinggi.

Dari tabel hasil penelitian karakterisasi pigmen fukosantin pada kondisi simpan diatas dapat dilihat pada penyimpanan suhu freezer $\pm(-5^{\circ}\text{C})$ selama 6 hari rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $446,6 \pm 0,10$ nm dan $468,5 \pm 0,10$ nm, sedangkan rata-rata puncak absorbansinya $0,989 \pm 0,01$ A. Pada penyimpanan suhu dingin $\pm(5^{\circ}\text{C})$ selama 6 hari rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $446,6 \pm 0,28$ nm dan $468,6 \pm 0,28$ nm, sedangkan rata-rata puncak absorbansinya $0,947 \pm 0,00$ A. Pada penyimpanan suhu kamar $\pm(25^{\circ}\text{C})$ selama 6 hari rata-rata serapan maksimum pada panjang gelombang $447,5 \pm 0,00$ nm dan $469,5 \pm 0,00$ nm, sedangkan rata-rata puncak absorbansinya $0,911 \pm 0,05$ A.

Dari hasil penelitian tersebut dapat dilihat bahwa kondisi simpan pada suhu freezer mengalami rata-rata pergeseran panjang gelombang yang paling

rendah bila di dibandingkan panjang gelombang pada suhu dingin dan kamar. Sedangkan rata-rata penurunan puncak absorbansi pada penyimpanan suhu freezer juga paling rendah bila di dibandingkan pada penyimpanan suhu dingin maupun pada suhu kamar yang mengalami penurunan paling tinggi.

4.1.1 Hasil Isolasi Fukosantin

Berdasarkan hasil isolasi fukosantin dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam *silica gel* dan fase gerak heksan : etil asetat dapat diperoleh 135 Isolat yang masing-masing ditampung pada tabung reaksi dengan volume @ 5 ml. Britton (1995), menyatakan bahwa alumina dan silika gel cocok untuk pemisahan semua campuran golongan karotenoid dan santofil. Isolasi fukosantin menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksan atau aseton 1-100%.

Isolat yang diduga sebagai fukosantin (warna oranye) terdapat pada tabung 96-121 dengan pelarut heksan: etil asetat perbandingan 6:4 v/v dan 5:5 v/v. Hal ini didasarkan pada warna pigmen yaitu berwarna orange yang merupakan ciri dari fukosantin (Jeffrey, *et al.*, 1997). Pemisahan pigmen dari ekstrak alga coklat dengan kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 11 dan fukosantin hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 11. Pemisahan isolat fukosantin dengan kromatografi kolom

Dari gambar 11 dapat dilihat pita pigmen fukosantin yang berwarna kuning tua (oranye). Pada gambar dapat dilihat pula terbentuknya pita-pita pigmen hasil pemisahan berdasarkan warna dan tingkat kepolarannya. Sistem kromatografi kolom pada penelitian ini menggunakan *normal phase* yaitu fase diam bersifat polar dan fase gerak cenderung bersifat non polar, sehingga pigmen yang bersifat nonpolar akan keluar terlebih dahulu (Jeffrey, *et al.*, 1997). Prinsip kromatografi kolom adalah fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen yang terdapat dalam campuran sampai campuran tersebut mencapai titik kesetimbangan antara kedua fasenya (fase gerak-fase diam), ini menentukan perbedaan perbedaan nilai perpindahan pada sistem kromatografi kolom. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal, sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pigmen fukosantin bersifat semi polar atau lebih polar dari karoten. Hal ini sesuai dengan pendapat Gross (1991), bahwa golongan santofil salah satunya yaitu fukosantin bersifat lebih polar dibandingkan dengan karoten.



Gambar 12. Fukosantin hasil isolasi

4.1.2 Hasil Identifikasi Fukosantin

4.1.2.1 Hasil Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk membuktikan hasil isolasi yang didapat adalah pigmen fukosantin maka harus dilakukan identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui nilai *retardation factor* (Rf). Hal ini sesuai dengan Gross (1991), yang menyatakan bahwa karotenoid dapat diidentifikasi berdasarkan sifat kromatografis dan spektrofotometrisnya, identifikasi sifat kromatografis yaitu menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui nilai *retardation factor* (Rf)

Isolat hasil kromatografi kolom yang diduga sebagai fukosantin diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam *silica gel* lebih polar daripada fase geraknya atau dikenal dengan *normal phase* fase gerak. Plat KLT yang digunakan menggunakan fase diam *silica gel* dan fase geraknya heksan : acetone (7:3 v/v). Hasil identifikasi fukosantin dengan KLT dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Hasil KLT fukosantin

Gambar diatas menunjukkan bahwa total warna yang terbentuk hanya 1 spot dengan warna oranye. Data ini sesuai dengan Jeffrey, *et al.*,(1997), yang menyatakan bahwa pigmen fukosantin berwarna oranye. Menurut Warsito (2007), 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 divariasikan jenis eluen diperoleh satu spot maka dapat diperkirakan senyawa hasil isolasi tersebut dalam keadaan murni.

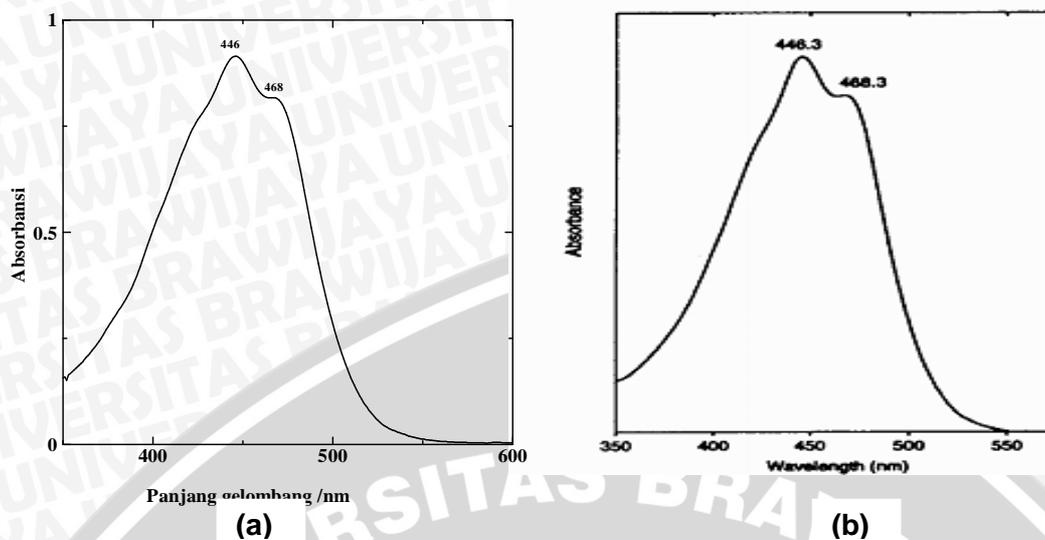
Nilai *retardation factor* (Rf) juga dilakukan untuk memperkuat identifikasi pigmen dalam hal ini fukosantin. Hasil KLT di atas menunjukkan bahwa nilai Rf fukosantin adalah 0,28. Yan, *et al* (1999) menyatakan bahwa Rf fukosantin berkisar antara 0,25 – 0,28. Dari hasil isolasi dengan kromatografi ini didapatkan pigmen fukosantin murni.

4.1.2.2 Hasil Identifikasi Fukosantin dengan Pola Spektra dan Panjang Gelombang Maksimum (λ max)

Untuk memastikan fukosantin selain dengan KLT, juga dipastikan melalui pola spektra dan serapan maksimumnya. Isolat yang diduga sebagai fukosantin dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601 yang bertujuan untuk mengetahui pola spektra dan serapan maksimumnya. Pola spektra dan serapan maksimum hasil penelitian dibandingkan dengan Jeffrey, *et al.*, (1997) dalam pelarut yang sama. Hasil pola spektra fukosantin dalam pelarut aseton dapat dilihat pada Gambar 14.

Dari Gambar 14 (a), diketahui bahwa pola spektra fukosantin hasil isolasi memiliki kemiripan dengan pola spektra fukosantin menurut Jeffrey, *et al.*, (1997) yang ditunjukkan pada Gambar 14 (b). Serapan maksimum fukosantin hasil isolasi terletak pada panjang gelombang 446 nm dan 468 nm. Hal ini tidak berbeda jauh dengan serapan maksimum fukosantin menurut Jeffrey, *et al* (1997) yaitu 446.3 nm dan 468.3 nm. Untuk pengukuran pola spektra menggunakan etanol didapatkan hasil serapan maksimal adalah 451 nm. Berdasarkan literatur Hirota dan Kumagai (1990) menyatakan bahwa serapan maksimal dari pigmen fukosantin dalam pelarut etanol adalah 450 nm. Pola serapan ini juga dapat dikatakan identik karena hampir mendekati.

Pola Spektra Fucoxanthin dalam Aseton



Gambar 14. (a). Pola spektra pigmen fukosantin hasil isolasi dalam pelarut aseton.
(b). Pola spektra fukosantin dalam pelarut aseton (Jeffrey, *et al.*, 1997).

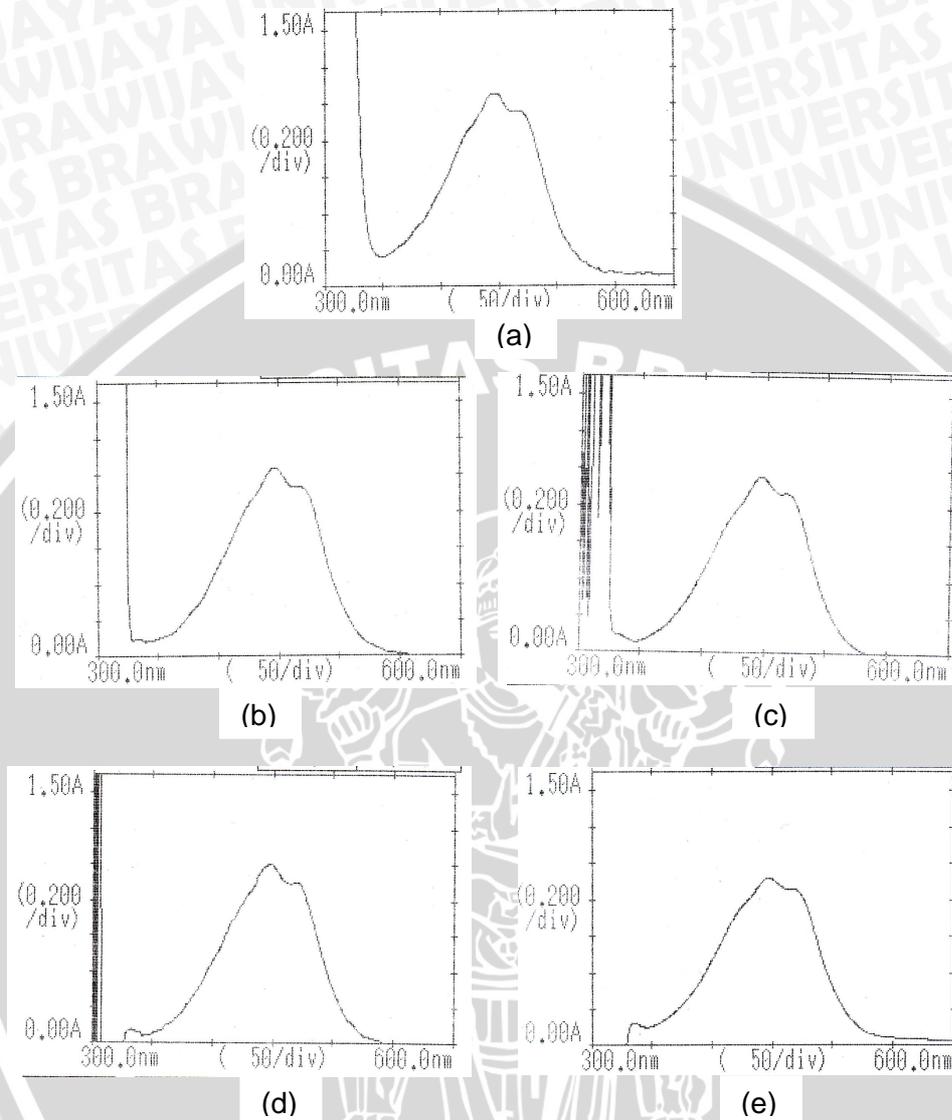
Berdasarkan gambar di atas, menunjukkan bahwa pola spektra dan serapan maksimum fukosantin hasil isolasi dalam pelarut aseton tidak berbeda jauh dengan pola spektra dan serapan maksimum fukosantin menurut Jeffrey, *et al* (1997), meskipun terdapat pergeseran panjang gelombang yang tidak terlalu jauh. Pergeseran yang terjadi pada fukosantin hasil isolasi diduga karena adanya interaksi antara zat terlarut (pigmen) dan pelarut yang sangat ditentukan oleh kualitas pelarut atau kemurnian pelarut yang digunakan untuk analisa (Toto, *et al.*, 2006).

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pola Spektra Pigmen Fukosantin Sebelum dan Setelah Penambahan Variasi pH

Kajian fukosantin dalam penelitian ini dilakukan dalam pelarut aseton dan dengan menggunakan blanko acetone pada saat pengujian pola spektra dan serapan maksimum (λ max) yang dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis 1601. Hasil pola spektra dan serapan maksimum (λ max) fukosantin dalam

pelarut aseton sebelum dan setelah penambahan variasi buffer pH 3, 4, 5 dan 7 dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar. 15 a) Pola spektra dan serapan maksimum (λ max) sebelum penambahan variasi pH
 b) Pola spektra dan serapan maksimum (λ max) penambahan buffer pH 3
 c) Pola spektra dan serapan maksimum (λ max) penambahan buffer pH 4
 d) Pola spektra dan serapan maksimum (λ max) penambahan buffer pH 5
 e) Pola spektra dan serapan maksimum (λ max) penambahan buffer pH 7

Pada gambar 15(a) dapat dilihat pola spektra pigmen fukosantin dalam pelarut aceton belum mengalami perubahan pola spektra dan pergeseran panjang gelombang karena belum mengalami penambahan variasi pH. Hal ini menunjukkan bahwa fukosantin yang di dapat masih memiliki kemiripan dengan pola spektra fukosantin menurut Jeffrey, *et al.*, (1997). Karakteristik kestabilan yang cukup bagus dengan kata lain fukosantin belum banyak mengalami degradasi akibat kondisi lingkungan sekitar.

Pada gambar 15(b) dan 15(c) dan yaitu setelah fukosantin mengalami penambahan larutan buffer pH 3 dan pH 4, memiliki kemiripan pola spektra dan pergeseran panjang gelombang yang masih cukup sedikit. Pada penambahan larutan buffer pH 5 dan pH 7 pigmen telah mengalami sedikit perubahan pola spektra dimana adanya puncak tambahan di daerah serapan *near-ultraviolet*. Menurut Gross (1991), menyatakan bahwa serapan spektrum *cis-isomer* ditunjukkan dengan adanya puncak tambahan di daerah serapan *near-ultraviolet* yang disebut puncak *cis*. Pada umumnya terletak 143 nm dari panjang gelombang maksimum yang terjauh. Sedangkan pada penambahan larutan buffer pH 7 mengalami pergeseran panjang gelombang yang paling besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Harbone (1996), pigmen tidak stabil dalam larutan netral, basa bahkan dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya.

Degradasi pigmen dapat dilihat dari perubahan pola spektranya, penurunan absorbansi dan pergeseran panjang gelombang. Penurunan absorbansi tersebut menunjukkan terjadinya pembentukan produk degradasi yang lebih kecil dari molekul awal (Nurchayanti dan Limantara, 2007). Limantara (2006), menyatakan bahwa pergeseran panjang gelombang kearah lebih pendek/ke daerah merah (hipsokromik) maupun kearah yang lebih panjang/ke daerah merah (batokromik) menunjukkan terjadinya degradasi.

Pergeseran yang terjadi juga dimungkinkan karena perbedaan alat yang digunakan pada saat proses identifikasi atau pun dikarenakan sudah terjadinya perubahan fukosantin menjadi *Cis-fukosantin*.

4.2.2 Karakteristik Pigmen Fukosantin Terhadap Penambahan Variasi pH

Perubahan karakteristik kestabilan pigmen fukosantin terhadap penambahan variasi pH setelah ditambah larutan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7 dapat dilihat dari 3 jenis yaitu: pergeseran panjang gelombang, perubahan intensitas warna dan nilai pH akhir pigmen setelah ditambah larutan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7.

Panjang Gelombang

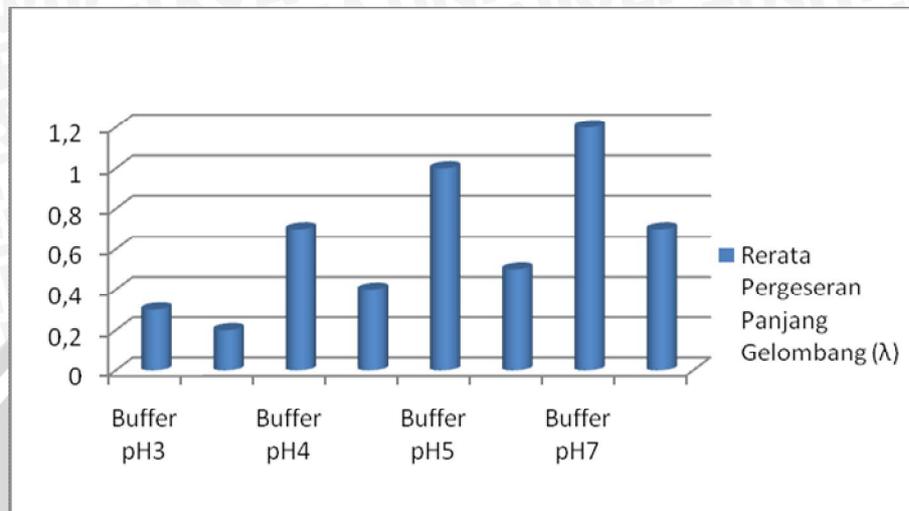
Perubahan karakteristik kestabilan pigmen fukosantin dapat dilihat dari apakah mengalami perubahan serapan maksimum/panjang gelombang (λ_{max}) pada panjang gelombang baku pigmen fukosantin yaitu 446,3 dan 468,3. Perubahan serapan maksimum (λ_{max}) pada panjang gelombang pada perlakuan penambahan larutan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7 dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel. 14 Rerata Panjang Gelombang Fukosantin Akibat Perbedaan pH

Penambahan	Rerata Panjang Gelombang (λ_{max})	Panjang Gelombang Literatur
Buffer pH3	446,6 \pm 0,10 nm 468,5 \pm 0,10 nm	Menurut Jeffrey λ 446,3 dan 468,3
Buffer pH4	446,9 \pm 0,05 nm 468,7 \pm 0,10 nm	
Buffer pH5	447,3 \pm 0,10 nm 468,8 \pm 0,10 nm	
Buffer pH7	447,5 \pm 0,10 nm 468,9 \pm 0,05 nm	

Dari data posisi panjang gelombang dan pergeseran gelombang (λ_{max}) pigmen fukosantin dapat diketahui bahwa pola spektra pigmen fukosantin mengalami pergeseran yang berbeda pada tiap penambahan buffer sitrat pH 3,

4, 5, dan 7, yaitu pergeseran ke panjang gelombang yang lebih panjang (bathokromik). Rerata pergeseran panjang gelombang pada berbagai penambahan larutan buffer dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Grafik rerata pergeseran panjang gelombang pada penambahan larutan buffer 3, 4, 5 dan 7

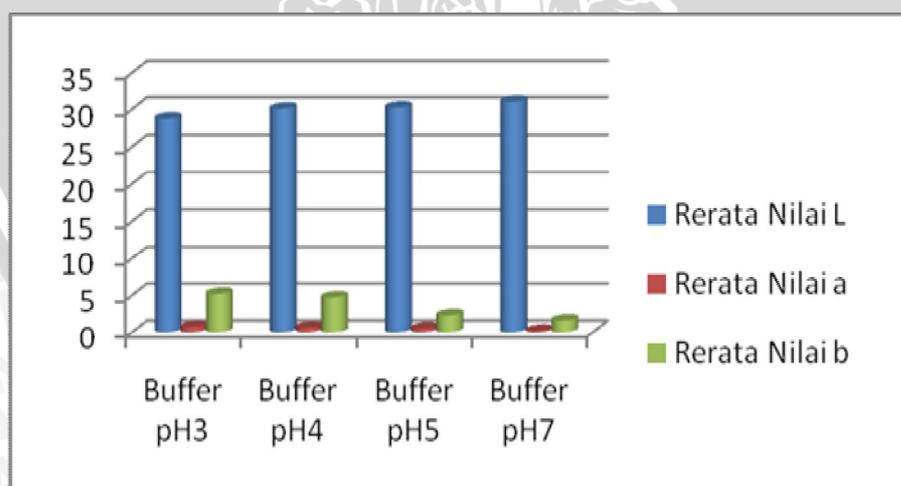
Pergeseran panjang gelombang kearah lebih panjang (bathokromik) paling kecil pada perlakuan penambahan larutan buffer pH 3, kemudian larutan buffer pH 4, larutan buffer pH 5 serta larutan buffer pH 7 yang mengalami pergeseran paling besar. Pada penelitian ini pada penambahan larutan buffer pH 7 diasumsikan bahwa pH 7 merupakan pH netral yang mendekati pH basa. Sesuai dengan pendapat Nurcahyati dan Timotius (2008), Sifat-sifat fukosantin antara lain fukosantin labil pada suasana basa. Limantara (2006), menyatakan bahwa pergeseran panjang gelombang kearah lebih pendek/ke daerah merah (hipsokromik) maupun kearah yang lebih panjang/ke daerah merah (batokromik) menunjukkan terjadinya degradasi. Pergeseran yang terjadi juga dimungkinkan karena perbedaan alat yang digunakan pada saat proses identifikasi atau pun dikarenakan sudah terjadinya perubahan fukosantin menjadi *Cis-fukosantin*.

Intensitas Warna Tingkat Kecerahan (L), (a), (b)

Nilai L untuk parameter kecerahan (*lightness*), yaitu 0 untuk hitam dan 100 untuk putih. Intensitas warna a menunjukkan bahwa jika a (+) berwarna merah atau jika a (-) berwarna hijau. Intensitas warna b menunjukkan bahwa jika b (+) berwarna kuning atau jika b (-) berwarna biru (Fabre, *et al.*,1993). Hasil analisa intensitas warna tingkat kecerahan (L), (a), dan (b) pada pigmen fukosantin dapat dilihat pada Tabel 15. Sedangkan grafik penambahan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7 pada intensitas warna tingkat kecerahan (L), (a), dan (b) pada pigmen fukosantin dapat dilihat pada Gambar 17.

Tabel 15. Hasil Analisa Rerata Intensitas Warna Tingkat Kecerahan (L), (a), dan (b)

Penambahan	Rerata Nilai L	Rerata Nilai a	Rerata Nilai b
Buffer pH3	28,75 ± 0,45	0,7 ± 0,02	5,2 ± 0,03
Buffer pH4	30,06 ± 0,00	0,6 ± 0,01	4,7 ± 0,04
Buffer pH5	30,22 ± 0,97	0,5 ± 0,05	2,3 ± 0,02
Buffer pH7	30,99 ± 0,82	0,2 ± 0,01	1,6 ± 0,05



Gambar 17. Grafik penambahan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7 pada intensitas warna tingkat kecerahan (L), (a), dan (b)

Dari data hasil analisa intensitas warna tingkat kecerahan (L) pada pigmen fukosantin didapatkan nilai intensitas warna tingkat kecerahan (L) paling rendah pada penambahan buffer pH 3 kemudian buffer pH 4, buffer pH 5 dan tertinggi pada buffer pH 7. Intensitas warna L merupakan parameter kecerahan atau derajat gelap sampai terang dengan kisaran nilai 0 sampai 100. Nilai 0 menunjukkan warna sangat gelap dan nilai 100 menunjukkan warna sangat terang. Hal ini menunjukkan intensitas warna tingkat kecerahan (L) pada penambahan buffer pH 3 yaitu $28,75 \pm 0,45$ lebih gelap dan stabil terhadap perubahan warna bila di bandingkan penambahan buffer pH 7 yaitu $30,99 \pm 0,82$ yang lebih cerah, hal ini dapat diasumsikan penambahan buffer pH 7 memiliki pH mendekati basa sedangkan fukosantin labil terhadap suasana basa. Sesuai dengan pendapat Nurcahyati dan Timotius (2008), Sifat-sifat fukosantin antara lain fukosantin labil pada suasana basa. Ditambahkan oleh Khuluq, *et al.*, (2007), bahwa kandungan pigmen yang tinggi mempengaruhi tingkat kecerahan, pigmen tersebut mengalami degradasi membentuk molekul yang lebih kecil dan ikatan rangkap lebih sedikit. Hal ini mengakibatkan pada perlakuan buffer pH 7 lebih mudah mengalami degradasi yang ditandai dengan perubahan intensitas warna tingkat kecerahan (L) yang lebih cerah dibandingkan intensitas warna tingkat kecerahan (L) pada penambahan buffer pH 3 yang lebih bersifat asam. Sesuai dengan pendapat Hulme (1971), bahwa stabilitas maksimum pigmen dicapai pada pH rendah dan pH asam 1-6. Pigmen tidak stabil dalam larutan netral, basa bahkan dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya sehingga larutanya harus disimpan di tempat gelap serta didinginkan (Harbone,1996).

Dari data hasil analisa intensitas warna (a) menunjukkan nilai intensitas warna (a) bernilai positif (+). Pada perlakuan penambahan larutan buffer 3

dengan nilai $+0,7 \pm 0,02$, larutan buffer 4 dengan nilai $+0,6 \pm 0,1$, larutan buffer 5 dengan nilai $+0,5 \pm 0,05$ dan pada larutan buffer 7 dengan nilai $+0,2 \pm 0,01$. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen fukosantin yang dianalisa berwarna merah pada perlakuan penambahan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7. Menurut Pomeranz and Meloand (1994), bahwa pigmen yang diukur dengan menggunakan intensitas warna a menyatakan tingkat hijau sampai merah dengan kisaran -100 sampai +100. Nilai negatif (-) akan menunjukkan bahwa pigmen tersebut berwarna hijau dan apabila menunjukkan warna nilai positif (+) maka menunjukkan pigmen tersebut berwarna merah. Pada nilai intensitas warna yang dihasilkan pada penelitian ini cenderung memiliki nilai positif yang menunjukkan bahwa karotenoid cenderung berwarna merah, hal ini sesuai dengan pernyataan Gross (1991) bahwa karotenoid merupakan suatu kelompok pigmen yang berwarna kuning, orange, atau merah orange. Menurut pendapat Khuluq, *et al.*, (2007), menyatakan bahwa kenaikan dan penurunan intensitas warna merah dipengaruhi oleh besar kecilnya kadar pigmen pada bahan.

Dari data hasil analisa intensitas warna (b) pigmen fukosantin menunjukkan nilai intensitas warna (b) bernilai positif (+). Pada perlakuan penambahan larutan buffer 3 dengan nilai $+5,2 \pm 0,03$, larutan buffer 4 dengan nilai $+4,7 \pm 0,04$, larutan buffer 5 dengan nilai $+2,3 \pm 0,01$ dan pada larutan buffer 7 dengan nilai $+1,6 \pm 0,05$. Menurut Pomeranz and Meloand (1994), bahwa pigmen yang diukur dengan menggunakan intensitas warna b menyatakan tingkat biru sampai kuning pada kisaran -100 sampai +100. Nilai negatif (-) akan menunjukkan bahwa pigmen tersebut berwarna biru dan apabila menunjukkan warna nilai positif (+) maka menunjukkan pigmen tersebut berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen fukosantin yang dianalisa berwarna kuning pada

perlakuan penambahan buffer sitrat pH 3, 4, 5, dan 7, hal ini sesuai dengan warna fukosantin yaitu oranye (gabungan warna merah dan kuning). Fukosantin berwarna oranye, termasuk kelompok xantofil dari karotenoid (Ballard, *et al.*, (1989) dalam Nurcahyati dan Timotius, 2008). Dijelaskan juga oleh Rodriguez-Amaya (2001) adanya karakteristik dari karotenoid yaitu terdapatnya ikatan ganda yang terkonjugasi, yang mana menghasilkan penyerapan cahaya pembawa warna kuning orange, dan merah pada karotenoid.

Nilai pH

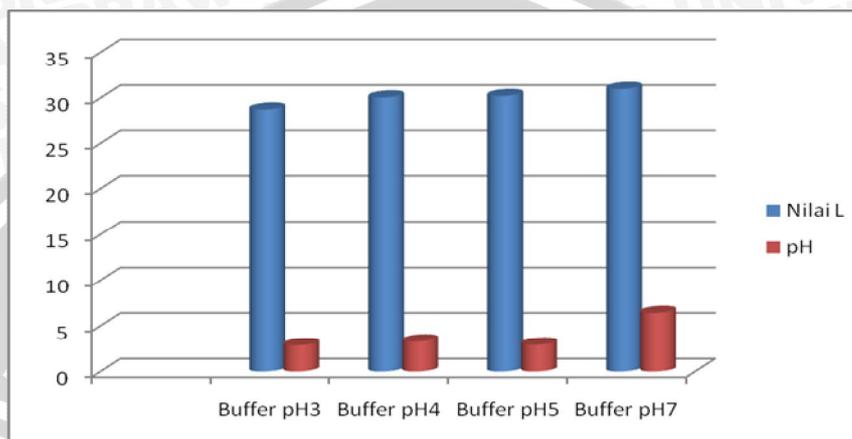
Nilai pH berhubungan dengan kestabilan suatu bahan (Castellar, *et al.*, (2003), dalam Khuluq, *et al.*, 2007). Hasil analisa dari intensitas warna pigmen fukosantin akibat perbedaan nilai pH dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Intensitas Warna Tingkat Kecerahan (L) dan Nilai pH Pigmen Fukosantin Akibat Penambahan larutan buffer pH 3, 4, 5 dan 7

Penambahan	Nilai L	pH
Buffer pH3	28,75 ± 0,45	2,87 ± 0,02
Buffer pH4	30,06 ± 0,00	3,29 ± 0,03
Buffer pH5	30,22 ± 0,97	2,93 ± 0,03
Buffer pH7	30,99 ± 0,82	6,42 ± 0,02

Dari data hasil penambahan pigmen fukosantin terhadap nilai pH larutan adalah setelah penambahan pigmen fukosantin pH larutan semakin bertambah asam. Nilai pH terendah terdapat pada larutan buffer pH 3 memiliki pH 2,87± 0,02, kemudian larutan buffer pH 5 memiliki pH 2,93± 0,03, larutan buffer pH 4 memiliki pH 3,29± 0,03, dan larutan buffer pH 7 memiliki pH 6,42± 0,02. Hal ini sesuai dengan Nurcahyati dan Timotius (2008), sifat-sifat fukosantin antara lain yaitu labil pada suasana basa, dan memiliki pH asam, sehingga pada saat mengekstraksi pigmen tersebut, lingkungan basa harus dihindari. Saati, 2002,

menyatakan adanya proses evaporasi pada konsentrasi pigmen yang menyebabkan berkurangnya air pada bahan dapat meningkatkan konsentrasi asam sehingga memicu adanya penurunan pH. Oleh karena itu penambahan larutan pH buffer 3, 4, 5, dan 7 dapat menurunkan tingkat keasaman pada larutan fukosantin, dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Grafik penambahan larutan pH buffer 3, 4, 5, dan 7 dapat menurunkan tingkat keasaman dan nilai L larutan fukosantin

Dilihat dari Intensitas warna tingkat kecerahan (L) pada larutan pH buffer 3, 4, 5, dan 7 setelah penambahan larutan pigmen fukosantin, penambahan larutan fukosantin pada larutan buffer pH 3 memiliki tingkat kecerahan yang paling tinggi (tingkat kecerahan pigmen semakin rendah nilai L maka semakin gelap warna suatu pigmen). Nilai L untuk parameter kecerahan (*lightness*), yaitu 0 untuk hitam dan 100 untuk putih (Fabre, *et al.*,1993). Hal ini sesuai dengan pendapat Lydia dkk, 2001, Intensitas warna tingkat larutan pigmen kondisi pH (3,4,5) sangat mempengaruhi intensitas warna, seperti pada zat warna kulit rambut. Semakin rendah nilai pH maka warna konsentrasi makin merah dan stabil atau jika pH semakin mendekati satu maka warna semakin stabil (Shamsudin dan Khoirudin, 2008). Ditambahkan oleh Shi *et al.*,(1992), menyatakan bahwa di dalam larutan dengan pH rendah (asam) pigmen akan

berwarna merah tua dan pada pH tinggi akan mulai terjadi perubahan warna menjadi tidak berwarna.

Dari hasil penelitian pada penambahan variasi pH yaitu pada penambahan larutan pH buffer 3, 4, 5, dan 7 dari pengujian intensitas warna tingkat kecerahan (L), a, b, pada pengujian spektrofometri yaitu pergeseran panjang gelombang serta pH akhir larutan dapat disimpulkan bahwa karakteristik pigmen fukosantin yang paling stabil pada perlakuan larutan pH buffer 3, kemudian pada perlakuan larutan pH buffer 4, karena paling sedikit mengalami degradasi dilihat dari pergeseran panjang gelombang dan intensitas warna yang terlihat. Hal ini dapat digunakan sebagai salah satu pertimbangan untuk pemanfaatan pada aplikasi sebelum pengolahan fukosantin menjadi obat, suplemen makanan dan fungsional food lainnya.

4.2.3 Karakteristik Pigmen Fukosantin Terhadap Kondisi Simpan Berbeda

Perubahan karakteristik kestabilan pigmen fukosantin terhadap kondisi simpan yang berbeda dapat dilihat dari perubahan/pergeseran panjang gelombang dan puncak absorbansi maksimal yang dapat dilihat setelah diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai panjang gelombang (nm) dan penurunan puncak absorbansi maksimal terhadap kondisi simpan dapat dilihat pada Tabel 17, sedangkan grafik rerata pergeseran panjang gelombang (nm) dan penurunan puncak absorbansinya dapat dilihat pada Gambar 20.

Tabel 17. Rerata Panjang Gelombang (nm) dan Puncak Absorbansi Terhadap Kondisi Simpan.

Suhu Penyimpanan (°C)	Rata-rata Puncak Absorbansi	Rata-rata Panjang Gelombang	Panjang Gelombang Literatur
Suhu Freezer $\pm (-5^{\circ}\text{C})$	$0,989 \pm 0,01 \text{ A}$	$446,3 \pm 0,57 \text{ nm}$ $468,3 \pm 0,57 \text{ nm}$	Menurut Jeffrey λ 446,3 dan 468,3
Suhu Dingin $(\pm 5^{\circ}\text{C})$	$0,947 \pm 0,00 \text{ A}$	$446,6 \pm 0,28 \text{ nm}$ $468,6 \pm 0,28 \text{ nm}$	
Suhu Kamar $(\pm 25^{\circ}\text{C})$	$0,911 \pm 0,05 \text{ A}$	$447,5 \pm 0,00 \text{ nm}$ $469,5 \pm 0,00 \text{ nm}$	

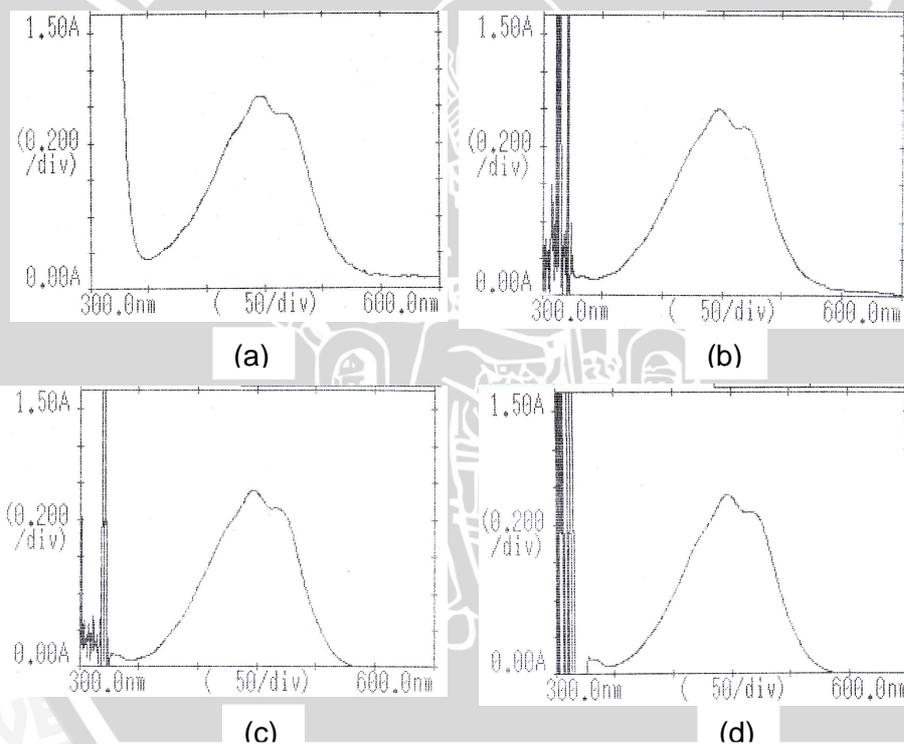
Panjang Gelombang

Perubahan karakteristik kestabilan pigmen fukosantin dapat dilihat dari apakah mengalami perubahan serapan maksimum/panjang gelombang (λ_{max}) pada panjang gelombang baku pigmen fukosantin yaitu 446,3 dan 468,3. Perubahan serapan maksimum (λ_{max}) pada panjang gelombang pada penyimpanan pigmen fukosantin dalam pelarut aceton dalam kondisi suhu freezer, suhu dingin dan suhu kamar pada penelitian ternyata mengalami pergeseran gelombang ke kanan yaitu ke panjang gelombang yang lebih panjang (bathokromik). Pada penyimpanan penyimpanan selama 6 hari pada suhu freezer rata-rata mengalami pergeseran pada panjang gelombang $446,3 \pm 0,57$ nm dan $468,3 \pm 0,57$ nm, pada penyimpanan suhu dingin mengalami pergeseran pada panjang gelombang $446,6 \pm 0,28$ nm dan $468,6 \pm 0,28$ nm dan pada penyimpanan suhu kamar mengalami pergeseran pada panjang gelombang $447,5 \pm 0,00$ nm dan $469,5 \pm 0,00$ nm.

Dari hasil penelitian karakteristik pigmen fukosantin pada kondisi simpan yang berbeda dilihat dari pergeseran panjang gelombang, pada penyimpanan suhu freezer paling sedikit mengalami pergeseran panjang gelombang. Penyimpanan pada suhu freezer sebenarnya masih mengalami pergeseran panjang gelombang kekanan yaitu ke panjang gelombang yang lebih panjang (batokromik) tetapi pada suhu freezer paling sedikit mengalami pergeseran panjang gelombang pada penyimpanan suhu kamar ataupun suhu dingin. Limantara (2006), menyatakan bahwa pergeseran panjang gelombang kearah lebih pendek/ke daerah merah (hipsokromik) maupun kearah yang lebih panjang/ke daerah merah (batokromik) menunjukkan terjadinya degradasi.

Penurunan Puncak Absorbansi

Perubahan karakteristik kestabilan pigmen fukosantin dapat dilihat dari apakah mengalami penurunan puncak absorbansi atau tidak pada saat pengukuran menggunakan spektrofotometer. Penurunan puncak absorbansi yang dilihat adalah berdasarkan pada penurunan pada puncak absorbansi awal pada berbagai kondisi simpan yaitu suhu freezer, suhu dingin dan suhu kamar pada hari ke-0. Pada pengukuran puncak absorbansi awal pigmen fukosantin menggunakan pelarut acetone hari ke-0 didapat puncak absorbansi 1,011. Puncak absorbansi pada hari ke-0, pada suhu freezer, suhu dingin dan suhu kamar pada hari ke-6 dapat dilihat pada Gambar 19.

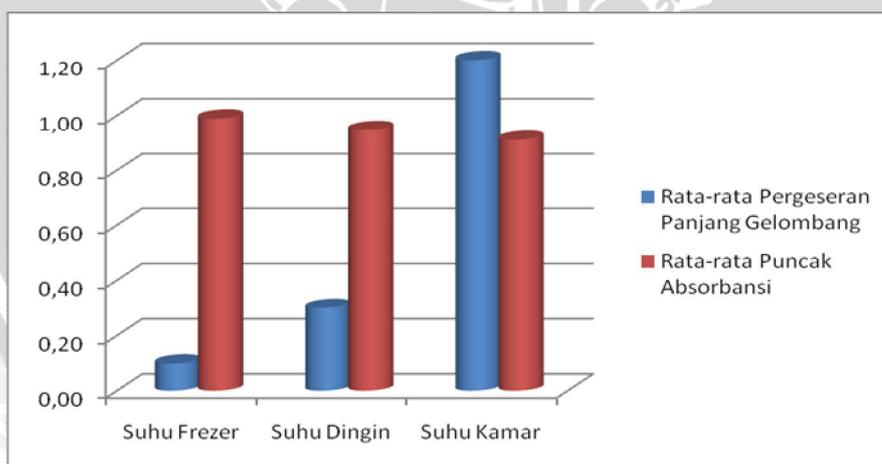


Gambar 19. (a) Puncak absorbansi pada hari ke-0 pada puncak absorbansi 1,011
(b) Puncak absorbansi suhu freezer pada hari ke-6
(c) Puncak absorbansi suhu dingin pada hari ke-6
(d) Puncak absorbansi suhu kamar pada hari ke-6

Dari hasil penelitian penurunan puncak absorbansi dari hari ke-0 sampai hari ke-6 yang memiliki penurunan yang paling rendah adalah pada perlakuan suhu freezer dari 1,011 menjadi rata-rata penurunan absorbansi $0,989 \pm 0,01$ A

sehingga mengalami penurunan 0,022. Pada perlakuan kondisi simpan suhu dingin dari 1,011 menjadi rata-rata penurunan absorbansi $0,947 \pm 0,00$ A sehingga mengalami penurunan 0,064. Pada perlakuan kondisi simpan suhu kamar dari 1,011 menjadi rata-rata penurunan absorbansi $0,911 \pm 0,05$ A sehingga mengalami penurunan 0,100.

Pada kondisi penyimpanan yang berbeda dapat disimpulkan bahwa penyimpanan pada suhu freezer, suhu dingin dan suhu kamar dilihat dari penurunan puncak absorbansi (pergeseran hypokromik), tetapi penyimpanan pada suhu freezer selama 6 hari menunjukkan yang paling stabil dari kondisi simpan suhu dingin maupun suhu kamar. Menurut Nurcahyanti dan Limantara (2007), pergeseran hypokromik menunjukkan terjadinya pembentukan produk degradasi yang lebih kecil dari molekul awal sedangkan pergeseran hyperkromik adalah kenaikan absorbansi. Kenaikan absorbansi dapat disebabkan karena laju penguapan pelarut pada larutan fukosantin lebih cepat dibandingkan dengan laju degradasinya.

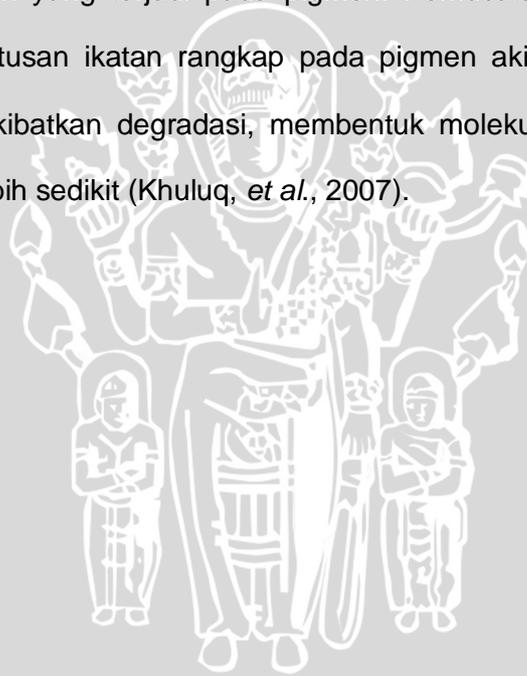


Gambar 20. Grafik rerata pergeseran panjang gelombang (nm) dan penurunan puncak absorbansi pada kondisi simpan yang berbeda.

Dari hasil penelitian karakteristik pigmen fukosantin dapat disimpulkan bahwa kondisi simpan pada suhu freezer selama masa simpan 6 hari merupakan kondisi simpan yang terbaik. Hal ini dapat dilihat dari pergeseran panjang

gelombang (nm) dan penurunan puncak absorbansi yang paling sedikit (lebih stabil) dari pada perlakuan kondisi simpan pada suhu dingin ataupun pada suhu kamar. Hal ini dapat digunakan sebagai salah satu pertimbangan untuk pemanfaatan pada aplikasi sebelum pengolahan fukosantin menjadi obat, suplemen makanan dan fungsional food lainnya.

Degradasi pigmen dapat dilihat dari perubahan pola spektranya atau penurunan absorbansi. Penurunan absorbansi tersebut menunjukkan terjadinya pembentukan produk degradasi yang lebih kecil dari molekul awal (Nurchayanti dan Limantara, 2007). Selain itu juga dapat dilihat dari perubahan warna atau pemucatan yang terjadi pada pigmen. Pemucatan ini diperkirakan karena adanya pemutusan ikatan rangkap pada pigmen akibat energi panas. Energi panas mengakibatkan degradasi, membentuk molekul yang lebih kecil dan ikatan rangkap lebih sedikit (Khuluq, *et al.*, 2007).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

- Tingkat kestabilan pigmen fukosantin *Sargassum filipendula* terhadap degradasi dilihat dari pergeseran panjang gelombang, intensitas warna kecerahan (L), (a), (b) dan pH akhir pada variasi penambahan larutan buffer pH 3, 4, 5 dan 7 yang terbaik adalah pada perlakuan penambahan larutan buffer pH 3.
- Tingkat kestabilan pigmen fukosantin *Sargassum filipendula* terhadap degradasi dilihat dari pergeseran panjang gelombang dan penurunan absorbansi pada kondisi simpan suhu freezer, suhu dingin dan suhu kamar selama 6 hari yang terbaik pada perlakuan suhu freezer.

5.2 Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai tingkat kestabilan terhadap degradasi pigmen yang terbentuk pada perlakuan variasi pH dan kondisi simpan yang berbeda untuk diaplikasikan pada *fungsiional food* atau produk pangan lainnya.