

**IDENTIFIKASI BERAT MOLEKUL FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT  
(*Sargassum filipendula*) MENGGUNAKAN LIQUID CHROMATOGRAPHY  
MASS SPECTROPHOTOMETRY**

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

Oleh:

**R. ROZA TIRTA FARADILA PERMATA  
NIM. 0710830023**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2011**

**IDENTIFIKASI BERAT MOLEKUL FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT  
(*Sargassum filipendula*) MENGGUNAKAN LIQUID CHROMATOGRAPHY  
MASS SPECTROPHOTOMETRY**

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

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

Oleh:

**R. ROZA TIRTA FARADILA PERMATA  
NIM. 0710830023**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2011**

LAPORAN SKRIPSI

**IDENTIFIKASI BERAT MOLEKUL FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT  
(*Sargassum filipendula*) MENGGUNAKAN LIQUID CHROMATOGRAPHY  
MASS SPECTROPHOTOMETRY**

Oleh:  
**R. ROZA TIRTA FARADILA PERMATA**  
**NIM. 0710830023**

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 19 Agustus 2011  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Ir. Darius, M. Biotech  
NIP. 19500531 198103 1 003  
Tanggal:

Dosen Penguji II

Asep Awaludin P., MP  
NIP. 19810602 200604 1 001  
Tanggal:

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS  
NIP. 19640726 198903 2 004  
Tanggal:

Dosen Pembimbing II

Ir. Kartini Zaelanie, MP  
NIP. 19550503 198503 2 001  
Tanggal:

Mengetahui,  
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS  
NIP. 19600322 198601 1 001  
Tanggal:

## RINGKASAN

**R. ROZA TIRTA FARADILA PERMATA.** Laporan Skripsi dengan judul Identifikasi Berat Molekul Fukosantin Dari Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) Menggunakan Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry (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 mengabsorbsi energi warna hijau-biru dan melewatkannya ke klorofil untuk proses fotosintesis, aktivitas tersebut ditunjukkan dengan sifat absorbsi pada panjang gelombang 400-540 nm (Nurdiana dan Limantara 2008). Berdasarkan tingkat kepolarannya, Menurut Gross (1991), golongan santofil (fukosantin) bersifat lebih polar dibandingkan dengan karoten. Untuk mengetahui berat molekul suatu senyawa maka dapat dilakukan suatu identifikasi menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry*. Metode ini digunakan untuk menentukan massa molekul dan rumus molekul yang sangat membantu dalam elusidasi struktur molekul baik organik maupun anorganik (Nadinah, 2008).

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2010 sampai dengan Januari 2011 di Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong Kota Tangerang Selatan Provinsi Banten, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Fakultas MIPA, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang.

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 spektrofotometer UV-Vis didapatkan panjang gelombang ( $\lambda$ ) untuk pelarut aseton yaitu 446,5 nm dan 446 nm. Hasil identifikasi berat molekul fukosantin menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry* (LCMS) didapatkan hasil peak pada modus negatif ( $M-H^-$ ) : 657.46.

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



## KATA PENGANTAR

Atas berkat rahmat dan karunia Allah SWT, penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul Identifikasi Berat Molekul Fukosantin dari Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) Menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry*. 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. Allah S.W.T atas segala kemudahan dan rahmat yang telah diberikan.
2. Dr. Ir Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I dan Ir. Kartinie Zaelanie, MP selaku dosen pembimbing II yang telah sabar membimbing.
3. Papa, Mama, onni Puput, dek Danial, kanda Nugraha, sahabat ku Tari, Ika, Lusi, Datik, Angga atas doa dan seluruh dukungannya.
4. Mbak Shanti, Mas Charda, Mbak Ima dan Mbak Lisa yang selalu membantu penelitian kami dari awal hingga akhir.
5. Teman-teman tim pigmen yang selalu bersama-sama, Lusi, Angga, dan Datik terima kasih atas semangat dan kerja keras kalian.
6. Teman-teman THP'07, sahabat dan saudara ku yang sudah membantu dan 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 2011

Penulis



## DAFTAR ISI

Halaman

<b>LEMBAR PENGESAHAN.....</b>	i
<b>RINGKASAN.....</b>	ii
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	iii
<b>DAFTAR ISI .....</b>	iv
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	vi
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	viii
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	5
2.1 Alga Coklat .....	5
2.2 Komposisi Kimia untuk Alga Coklat.....	6
2.3 Pigmen pada Alga Coklat .....	7
2.4 Fukosantin .....	8
2.5 Manfaat Fukosantin .....	9
2.6 Berat Molekul .....	9
2.7 Ekstraksi .....	10
2.8 Pelarut .....	12
2.8.1 Metanol .....	13
2.8.2 Aseton.....	14
2.8.3 Dietil Eter .....	15
2.8.4 Etil Asetat.....	16
2.8.5 Haksana.....	17
2.9 Fraksinasi .....	17
2.10 Khromatografi Kolom .....	18
2.11 Kromatografi Lapis Tipis .....	20
2.12 Spektrofotometer UV-Vis 1601 .....	22
2.13 <i>Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry</i> .....	23
<b>3. METODE PENELITIAN.....</b>	26
3.1 Materi Penelitian. ....	26
3.1.1 Bahan Penelitian.....	26
3.1.2 Alat Penelitian.....	26
3.2 Metode Penelitian.....	27
3.3 Prosedur Penelitian .....	27
3.3.1 Persiapan Sampel .....	27
3.3.2 Ekstraksi Alga Coklat.....	28
3.3.3 Fraksinasi Alga Coklat.....	29



3.3.4 Isolasi Fukosantin .....	30
3.3.5 Identifikasi Pigmen Fukosantin .....	32
3.3.5.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	32
3.3.5.2 Spektrofotometer UV-Vis.....	32
3.3.5.3 <i>Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry</i> .....	33
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	38
4.2 Pembahasan.....	38
4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis .....	40
4.2.2 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-Vis.....	41
4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan LCMS .....	42
4.2.4 Rendemen Fukosantin.....	44
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>45</b>
5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran .....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>46</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>



## DAFTAR TABEL

### Tabel

	Halaman
1. Komposisi Kimia Alga Coklat .....	6
2. Kandungan Mineral Pada Alga Coklat .....	7
3. Pigmen yang Terkandung Dalam Alga Coklat .....	7
4. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut.....	12
5. Sifat-sifat Pelarut Umum .....	13
6. Sifat-sifat Metanol .....	14
7. Sifat-sifat Aseton .....	15
8. Sifat-sifat Dietil Eter.....	16
9. Sifat-sifat Etil Asetat .....	16
10. Sifat-sifat Heksana .....	17
11. Penyerap-penyerap Untuk Kromatografi Lapis Tipis .....	20
12. Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin.....	38



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum filipendula</i> .....	6
2. Struktur Kimia Fukosantin .....	8
3. Struktur <i>Sillica Gel</i> .....	19
4. Proses Kromatografi Kolom .....	19
5. Metode Kromatografi Lapis Tipis .....	21
6. Spektrofotometer UV-Vis 1601 .....	23
7. <i>Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry</i> .....	24
8. Skema Pembuatan Ion dengan Metose ESI .....	25
9. Proses Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat Untuk Isolasi .....	35
10. Proses Kromatografi Kolom.....	36
11. Proses Kromatografi Lapis Tipis.	37
12. Hasil Kromatografi Kolom Pigmen Fukosantin .....	39
13. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi.....	40
14. Hasil KLT Pigmen Fukosantin .....	40
15. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi Dalam Aseton .....	41
16. Pola Spektra Pigmen Fukosantin (Jeffrey, et al., 1997) .....	42
17. Peak LCMS Pigmen Fukosantin.....	43



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pigmen Fukosantin.....	53
2. Bukti Hasil Uji Berat Molekul Fukosantin .....	54
3. Gambar Proses Penelitian .....	55
4. Data dan Perhitungan Kadar Fukosantin .....	57
5. Data dan Perhitungan Rendemen Fukosantin .....	58
6. Pembuatan Larutan .....	59
7. Pembuatan Saturasi Garam .....	60
8. Prosedur Analisa Panjang Gelombang dengan Spektrofotometer UV-1601 .....	61
9. Prosedur Analisa Berat Molekul dengan LCMS .....	62
10. Data Kromatografi Kolom .....	63



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Alga coklat mempunyai kelimpahan dan sebaran yang sangat tinggi, terdapat hampir di seluruh wilayah laut Indonesia (Handayani, *et al.*, 2004). Sumenep adalah daerah di Madura provinsi Jawa Timur. Produksi rumput laut di Sumenep pada tahun 2006 mencapai 304.026 ton (DKP Sumenep, 2007). Pantai Sumenep sebagai penghasil rumput laut tidak diragukan, karena lingkungan ekologisnya yang menunjang bagi pertumbuhan rumput laut secara maksimal, selain itu pantainya juga terbebas dari polusi atau cemaran industri sehingga hasilnya aman diaplikasikan (Warkoyo, 2008).

Salah satu jenis alga coklat dari marga *Sargassum* yaitu *Sargassum filipendula* berbentuk seperti thallus yang umumnya silindris atau gepeng, percabangannya rimbun menyerupai pepohonan di darat dengan bangun daun melebar, lonjong atau gepeng, mempunyai gelembung udara (*blader*) yang umumnya soliter, dan panjangnya mencapai tujuh meter dan warna thallus umumnya coklat (Kadi, 2008). Alga coklat mengandung pigmen klorofil (klorofil a dan klorofil c), fukosantin,  $\beta$ -karoten dan beberapa golongan santofil lainnya (Davis, *et al.*, 2003).

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). Fukosantin berwarna oranye dan termasuk kelompok santofil (Nurcahyanti dan Timotius, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, kemurnian fukosantin dapat diidentifikasi dengan kromatografi kolom dan spektrofotometri (Gross, 1991). Hal ini diperkuat dengan literatur yang menyatakan bahwa pigmen dengan warna oranye (kuning tua) merupakan ciri khas pigmen fukosantin (Strain *et al.*, 1943; Jeffry *et al.*, 1997) dengan R<sub>f</sub> fukosantin adalah 0,25-0,28 (Yan, *et al.*, 1999) dan serapan maksimum puncak spektra fukosantin dalam pelarut aseton adalah 446,3 nm (Jeffrey, *at al.*, 1997). Berdasarkan tingkat kepolarnya, menurut Gross (1991), golongan santofil (fukosantin) bersifat lebih polar dibandingkan dengan karoten. Untuk mengetahui berat molekul suatu senyawa maka dapat dilakukan suatu identifikasi menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry*. Menurut Nadinah (2008), metode ini digunakan untuk menentukan massa molekul dan rumus molekul yang sangat membantu dalam elusidasi struktur molekul baik organik maupun anorganik.

Sampai sejauh ini belum banyak penelitian yang melakukan identifikasi pigmen fukosantin khususnya identifikasi berat molekul. Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk identifikasi fukosantin yaitu dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis untuk mengetahui panjang gelombang dan Kromatografi Lapis Tipis untuk mengetahui nilai *Retention Factor*. Identifikasi ini digunakan untuk mengetahui karakteristik fisik fukosantin yang dihasilkan dari proses isolasi. Kedua proses identifikasi tersebut masih belum cukup untuk mengidentifikasi karakteristik fisik fukosantin yang dihasilkan dari proses isolasi, sehingga untuk memperkuat identifikasi tersebut maka perlu dilakukan identifikasi lanjutan yaitu dengan mengetahui berat molekul fukosantin menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry*. Menurut Williams and Fleming (1997) dalam Saputro (2009), *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry* (LCMS) merupakan kombinasi pemisahan antara kromatografi cair menggunakan deteksi spektrofotometri massa. Kombinasi

metode pemisahan ini memberikan teknik analisis pada beberapa jenis molekul termasuk senyawa yang bersifat termolabil, *non volatile* dan senyawa yang memiliki berat molekul yang tinggi. Identifikasi karakteristik fisik pigmen fukosantin diharapkan bisa membantu pengembangan serta pemanfaatannya kedepan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Uji berat molekul merupakan salah satu identifikasi fukosantin selain menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan Kromatografi Lapis Tipis. Uji berat molekul dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang karakteristik fisik suatu senyawa. Oleh karena itu dilakukan identifikasi fukosantin dari hasil isolasi alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan cara uji berat molekul, maka perumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Berapakah berat molekul dari fukosantin?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan melihat hasil pola spektra dan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis, menghitung nilai R<sub>f</sub> dengan KLT serta nilai berat molekulnya.

## 1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga maupun institusi lain mengenai karakteristik pigmen fukosantin yang terkandung pada alga coklat (*Sargassum filipendula*) yang mana dilihat dari nilai berat molekulnya sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

### 1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2010 sampai dengan Januari 2011 di Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong Kota Tangerang Selatan Provinsi Banten, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Fakultas MIPA, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Alga Coklat

Alga coklat berbentuk benang atau lembaran, bahkan ada yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi dengan bagian-bagian serupa akar, batang, dan daun. Alga coklat memiliki pigmen dominan fukosantin yang dapat memberikan warna coklat. 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 (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* termasuk alga coklat yang tumbuh hampir di semua perairan pantai di Indonesia (Kadi, 2008). Salah satu spesies yang telah diketahui yaitu *Sargassum filipendula* memiliki thallus yang umumnya berbentuk silindris atau gepeng, percabangan rimbun, daun melebar, lonjong atau menyerupai pedang, mempunyai gelembung udara (*bleeder*) yang umumnya soliter, panjang dapat mencapai tujuh meter dan warna thallus umumnya coklat. Umur tanaman lebih dari satu tahun (perennial), terutama pada bagian pangkal utamanya, sedang sebagian besar thalli dapat rontok atau terlepas secara musiman dalam satu tahun (Junianto, 2006). *Sargassum filipendula* ini hidup melekat pada batu karang dan dapat terlepas dari substratnya apabila ombak besar dan hanyut dipermukaan laut atau terdampar dipermukaan pasir pantai (Anonymous, 2010<sup>a</sup>). *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada Gambar 1 dan klasifikasi *Sargassum filipendula* (Zipcodezoo, 2010) adalah sebagai berikut :

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



Gambar 1. *Sargassum filipendula* (Zipcodezoo, 2010)

## 2.2 Komposisi Alga Coklat

Alga coklat memiliki dinding sel yang terdiri atas selulosa dan polisakarida (Ensiklopedia, 2009). Alga coklat juga mengandung cadangan makanan berupa laminarin, selulosa, alginat dan banyak mengandung iodium (Eva, 2008). Alga coklat juga menghasilkan algin, laminaria, fukoidan, selulosa dan manitol (Kadi, 1989). Selain itu, alga coklat mengandung pigmen fotosintesis seperti klorofil a, c, dan kaya akan karotenoid khususnya fukosantin, beta karoten dan violasantin (Nurcahyanti dan Limantara, 2007). Komposisi kimia alga coklat dan kandungan mineral dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. 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 2. Kandungan Mineral Pada Alga Coklat**

Unsur	Kisaran Kandungan (%) Berat Kering Alga Coklat
Chlor	9,8-15,0
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
Iod	0,1-0,8
Brom	0,03-0,14

Sumber : Winarno (1990)

### 2.3 Pigmen Alga Coklat

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 memiliki pigmen yang khas yang tidak dimiliki tumbuhan darat, yaitu klorofil c dan fukosantin (Pangestuti, *et al.*, 2007). Alga coklat mengandung pigmen karotenoid (terutama  $\beta$ -karoten) (Anis, 2008). Karotenoid dibedakan menjadi 2 kelas utama, yaitu karoten dan santofil. Karoten seperti  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  karoten dan santofil seperti fukosantin, zeaxanthin, lutein. Santofil lebih polar dibandingkan karoten. Karotenoid mempunyai fungsi utama dalam fotosintesis, yaitu sebagai pigmen asesoris yang berperan dalam menangkap cahaya (Gross, 1991). Berdasarkan pigmen yang dikandungnya. Jenis pigmen yang terdapat pada alga coklat dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

**Tabel 3. Pigmen Yang Terkandung Dalam Alga Coklat**

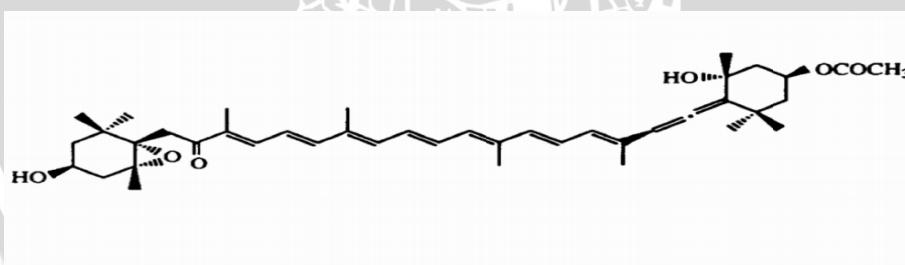
Jenis Pigmen	Warna
Klorofil c	Hijau terang
Fukosantin	Oranye
Klorofil a	Hijau
Santofil	Sedikit kuning
Karoten	Kuning

Sumber : (Strain, *et al.*, 1943)

## 2.4 Fukosantin

Dalam alga coklat, fukosantin merupakan karotenoid utama (Asai, et al., 2004) yang memiliki rumus molekul  $C_{42}H_{58}O_6$  (Wikipedia, 2011<sup>a</sup>) dengan berat molekul 658,92 g/mol (Jeffrey, et al., 1997). Fukosantin berperan sebagai pigmen pelengkap pada reaksi fotosintesis dan menyebabkan *phaeophyta* berwarna coklat. Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin. Fukosantin berwarna oranye termasuk kelompok santofil dari karotenoid (Nurcahyanti 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 (Pangestuti, et al., 2007). Selain itu, fukosantin juga mempunyai gugus keto pada posisi C-8 (Britton, et al., 1995). Struktur kimia fukosantin tersusun atas 7 ikatan rangkap terkonjugasi. Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan pigmen mudah rusak, salah satunya yaitu karena cahaya (Gross, 1991). Struktur kimia fukosantin dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Struktur Kimia Fukosantin (Barrow dan Shahidi, 2008)**

Fukosantin berfungsi sebagai agen proteksi terhadap kelebihan cahaya. Aktivitas fukosantin tersebut ditunjukkan oleh sifat absorpsi pada panjang gelombang 400-540 nm. Fukosantin mampu mengabsorbsi energi warna biru hijau dan melewatkannya ke klorofil untuk proses fotosintesis (Pangestuti, et al., 2007). Sifat fukosantin antara lain adalah fukosantin labil pada

suasana basa, sehingga pada saat mengekstrasi pigmen tersebut lingkungan basa harus dihindari (Nurcahyati dan Timotius, 2008). Pigmen fukosantin menurut Borrow dan Shahidi (2008), tidak stabil pada oksigen (udara) sinar maupun panas, stabil pada pemanasan sampai temperatur sedang, disimpan ditempat tertutup dan tidak tembus cahaya tetapi labil bila ada oksigen atau terkena sinar ultra violet (Anis, 2008).

## 2.5 Manfaat Fukosantin

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 inflamasi (Oryza oil and Fat chemical, 2010). Ditambahkan dalam Pangestuti, *et al.*, (2007), fukosantin memiliki efek farmakologis yang sangat penting. Pigmen ini sangat potensial sebagai obat dan suplemen karena dapat berperan sebagai antioksidan.

## 2.6 Berat Molekul

Berat molekul adalah massa rata-rata molekul suatu zat. Berat molekul dinyatakan dalam satuan massa atom (Anonymous, 2011<sup>a</sup>). Massa molekul suatu senyawa ialah jumlah massa atom unsur-unsur penyusunnya. Hal ini juga berarti massa molekul yaitu massa senyawa dalam gram yang setara dengan 1 mol (Pikir, 1989). Distribusi berat molekul mempengaruhi sifat-sifat polimer selama pengolahan dan aplikasinya. Sebagai contoh, rantai berat molekul rendah dapat membantu meningkatkan melelehnya sebuah pengolahan, sedangkan fraksi berat molekul yang tinggi sebagai sifat mekanik (Anonymous, 2011<sup>b</sup>).

Berat molekul berhubungan langsung dengan sifat-sifat fisika polimer.

Pada umumnya, polimer dengan berat molekul yang lebih tinggi bersifat kuat, tetapi berat molekul yang terlalu tinggi bisa menyebabkan kesukaran-kesukaran dalam pemprosesannya. Untuk menetapkan berat molekul senyawa-senyawa yang sederhana (nonpolimetrik), dapat menggunakan teknik-teknik yang biasa dikenal seperti spektrometri massa, penurunan titik beku (krioskopi), kenaikan titik didih (ebulliometri) dan ketika hadir gugus fungsi yang cocok, titrasi (sebagai contoh, netralisasi atau safonifikasi). Nilai berat molekul yang diperoleh bergantung pada besarnya ukuran dalam metode pengukurannya (Stevens, 2001).

Penentuan berat molekul (MW) dan distribusi berat molekul (MWD) dapat dilakukan dengan osmometry, hamburan cahaya, solusi viscometer, dan gel-permeasi kromatografi (GPC) (Kovuttikulrangsie dan Sakdapipanich, 2005). Manfaat dari mengetahui suatu berat molekul (Fathiyyah, 2009), yaitu untuk menentukan aplikasi polimer, sebagai indikator dalam sintesa dan proses pembuatan produk polimer, untuk studi kinetika reaksi polimerisasi, untuk studi ketahanan produk polimer dan efek cuaca terhadap kualitas produk. Sedangkan fungsi biomolekul dalam sel (Wikipedia, 2011<sup>9</sup>), yaitu : (a) protein sebagai enzim, alat transpor, antibodi, hormon dan pembentuk membran, (b) karbohidrat sebagai sumber energi, komponen pembentuk membran dan dinding sel, (c) lipid sebagai sumber energi, hormon, dan pembentuk sel, dan (d) asam nukleat sebagai faktor genetika, koenzim, pembawa energi, dan pengatur biosintesis protein.

## 2.7 Ekstraksi

Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu ekstraksi aqueous

phase dilakukan dengan pelarut air dan ekstraksi *organic phase* menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978). Prinsip 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 di luar bahan ekstraksi (Bernasconi, *et al.*, 1995).

Proses ekstraksi suatu zat dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu dengan menggunakan metode maserasi atau metode perendaman, metode perkolasji, destilasi uap dan sokletasi (Warsito, 2007). Maserasi merupakan metode perendaman sampel dengan pelarut organik yang memiliki molekul relatif kecil dan diperlakukan pada temperatur ruang. Pada umumnya maserasi bertingkat digunakan karena lebih efisien bila dilakukan berulang kali dengan jumlah pelarut lebih kecil dari pada bila jumlah pelarutnya banyak tetapi mengekstraknya hanya sekali (Widodo, 2007). 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 (Lenny, 2006).

Faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi adalah ukuran bahan yang akan diekstraksi sebaiknya memiliki luas permukaan yang kecil untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut sehingga ekstraksi berlangsung baik. Faktor yang kedua yaitu suhu ekstraksi. Hal ini dikarenakan menyangkut proses bercampurnya antara zat terlarut dengan pelarut. Faktor

ketiga yaitu lama ekstraksi, semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan (Sukardjo, 1997).

## 2.8 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan (Guenther, 1987). Pelarut merupakan komponen zat dalam jumlah lebih besar dalam suatu larutan (Rivai, 1995). Salah satu ciri penting pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat atau senyawa adalah tetapan dielektriknya. Dalam ilmu kimia, konstanta dielektrik dapat dijadikan pengukur relatif dari kepolaran suatu pelarut (Komara, 1991).

Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya 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 (Widjayanti, 2009). Beberapa nilai konstanta atau tetapan dielektrik bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 4 dan beberapa sifat-sifat umum bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 4. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut**

<b>Bahan Pelarut</b>	<b>Konstanta Dielektrikum</b>	<b>Tingkat kelarutan dalam air</b>			<b>Tingkat Kepolaran</b>
		<b>Tak larut</b>	<b>Sedikit</b>	<b>Misible*</b>	
n-heksan	1.89	Tak larut			Non-polar
Petroleum ether	1.90	Tak larut			
Dietilether	3.34		Sedikit		
Etilasetat	6.02		Sedikit		
Aseton	20.70			Misible	
Metanol	33.60			Misible	
Air	80.40			Misible	Polar

Keterangan : Misibel = dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi

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

**Tabel 5. Sifat-Sifat Pelarut Umum**

Solvent	Rumus kimia	Titik didih	Konstanta Dielektrik	Massa jenis
Pelarut Non-Polar				
Heksana	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	69 °C	2.0	0.655 g/ml
Benzena	$\text{C}_6\text{H}_6$	80 °C	2.3	0.879 g/ml
Toluena	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_3$	111 °C	2.4	0.867 g/ml
Dietil eter	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$	35 °C	4.3	0.713 g/ml
Kloroform	$\text{CHCl}_3$	61 °C	4.8	1.498 g/ml
Etil asetat	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-O-CH}_2\text{-CH}_3$	77 °C	6.0	0.894 g/ml
Pelarut Polar Aprotic				
1,4-Dioksana	$1\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-1}$	101 °C	2.3	1.033 g/ml
Tetrahidrofuran (THF)	$1\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-1}$	66 °C	7.5	0.886 g/ml
Diklorometana (DCM)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	40 °C	9.1	1.326 g/ml
Aseton	$\text{CH}_3\text{COCH}_3$	56 °C	21	0.786 g/ml
Asetonitril (MeCN)	$\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{N}$	82 °C	37	0.786 g/ml
Dimetilformamida (DMF)	$\text{H-C(=O)N(CH}_3)_2$	153 °C	38	0.944 g/ml
Dimetil sulfoksida (DMSO)	$\text{CH}_3\text{-S(=O)-CH}_3$	189 °C	47	1.092 g/ml
Pelarut Polar Protic				
Asam asetat	$\text{CH}_3\text{-C(=O)OH}$	118 °C	6.2	1.049 g/ml
n-Butanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	118 °C	18	0.810 g/ml
Isopropanol (IPA)	$\text{CH}_3\text{-CH}(\text{-OH})\text{-CH}_3$	82 °C	18	0.785 g/ml
n-Propanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	97 °C	20	0.803 g/ml
Etanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$	79 °C	30	0.789 g/ml
Metanol	$\text{CH}_3\text{-OH}$	65 °C	33	0.791 g/ml
Asam format	$\text{H-C(=O)OH}$	100 °C	58	1.21 g/ml
Air	$\text{H-O-H}$	100 °C	80	1.000 g/ml

Sumber: Wikipedia (2011)<sup>b</sup>

Penggunaan pelarut harus memiliki kepolaran sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diekstrak (Dewi, et al., 2007). Pelarut yang sering digunakan dalam proses esktraksi adalah aseton, etilen diklorida, etanol, heksana, isopropil alkohol dan metanol (Perry, 1984). Menurut Watson (2010), pelarut-pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi memiliki indeks polaritas yang berbeda. Semakin polar suatu pelarut atau campuran pelarut, semakin jauh pelarut tersebut akan menggerakan senyawa polar.

### 2.8.1 Metanol

Metanol dahulu dibuat dari kayu melalui penyulingan dan kadang dinamakan alkohol kayu. Kata metil bersal dari bahasa Latin (*methyl* = anggur,

yle = kayu). Tetapi sekarang metanol dibuat dari karbon monoksida dan oksigen.

Metanol memiliki titik didih  $65^{\circ}\text{C}$  dan larut sempurna dalam air pada suhu  $20^{\circ}\text{C}$  (Hart, 1983). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada Tabel 6 dibawah ini.

**Tabel 6. Sifat-sifat Metanol**

No.	Karakteristik	Metanol
1.	Nama lain	Hidroksi metana, metil alkohol, metil hidrat, alkohol kayu dan karbinol
2.	Rumus molekul	$\text{CH}_3\text{OH}$ $\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\   \\ \text{H} \end{array}$
3.	Sifat	Mudah terbakar, tidak berwarna
4.	Titik leleh	$-97^{\circ}\text{C}$
5.	Titik didih	$64.7^{\circ}\text{C}$
6.	Massa molar	32.04 g/mol
7.	Densitas	0,7918 g/cm <sup>3</sup> , cair
8.	Titik nyala	$11^{\circ}\text{C}$
9.	Konstanta dielektrik	33

Sumber : Wikipedia (2011<sup>c</sup>)

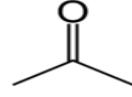
Metanol dikenal dengan nama metil alkohol atau alkohol kayu, merupakan senyawa kimia dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Metanol adalah alkohol yang paling sederhana, ringan, volatil, tidak berwarna, mudah terbakar, cairan yang beracun dengan bau yang sangat tajam. Metanol banyak digunakan untuk anti pembekuan, pelarut, dan bahan bakar (Wikipedia, 2011<sup>c</sup>).

### 2.8.2 Aseton

Aseton mempunyai nama lain dimetil asetat, dimetil keton, ketopropan, metilasetil, propanon, piroasetat eter dan piroasetis spirit. Rumus molekul dari aseton adalah  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ . Aseton 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). Aseton merupakan pelarut polar apriotik (mempunyai

kemampuan mensolviasi ion, tidak membentuk ikatan hidrogen dengan anion atau basa Lewis lainnya) yang mampu melarutkan senyawa organik dan juga berbagai garam (Pine, et al., 1988). Sifat-sifat aseton dapat dilihat pada Tabel 7 di bawah ini.

**Tabel 7. Sifat-sifat Aseton**

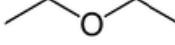
No.	Karakteristik	Aseton
1.	Nama lain	$\beta$ -ketopropana, dimetil keton, dimetilformaldeida, DMK
2.	Rumus bangun	$\text{CH}_3\text{COCH}_3$ 
3.	Sifat	Mudah terbakar, sangat volatil, tidak beresidu
4.	Berat molekul	58.1
5.	Titik leleh	-94.6 °C
6.	Titik didih	56.1 – 56.5 °C
7.	Massa molar	58,08 g/mol
8.	Kelarutan	Larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter
9.	Densitas	0,79 g/cm³, cair

Sumber : Schelfan, et al., (1983)

### 2.8.3 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. Berformula  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$ , 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) (Wikipedia, 2011<sup>d</sup>). Dietil eter digunakan sebagai pelarut karena pelarut ini memiliki kelarutan yang tinggi terhadap minyak, lemak, resin selain itu dietil eter mudah menguap pada kondisi atmosferik yakni suhu 38°C (Savitri dan Veronica, 2007). 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 <sup>3</sup> , 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: Wikipedia (2011<sup>d</sup>)

#### 2.8.4 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus  $CH_3CH_2OC(O)CH_3$ . 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. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Namun demikian, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam (Wikipedia, 2011<sup>e</sup>). Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid (Harborne, 1987). 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	$C_4H_8O_2$
3.	Massa molar	88.12 g/mol
4.	Densitas dan Fase	0.897 g/cm <sup>3</sup> , cairan 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: Wikipedia (2011<sup>e</sup>)

### 2.8.5 Heksana

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$  (isomer utama *n*-heksana memiliki rumus  $CH_3(CH_2)_4CH_3$ ). Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. 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 (Wikipedia, 2011<sup>f</sup>). Sifat-sifat heksan dapat dilihat pada Tabel 10 di bawah ini.

**Tabel 10. Sifat-sifat Heksan**

No.	Karakteristik	Heksan
1.	Nama lain Rumus molekul	n-heksana $C_6H_{14}$ 
2.	Sifat	Sangat reaktif dan sering digunakan sebagai pelarut dalam reaksi organik
3.	Titik didih	69 °C
4.	Massa Jenis	0.655 g/ml

Sumber : Wikipedia (2011<sup>f</sup>)

### 2.9 Partisi (Fraksinasi)

Istilah partisi/fraksinasi (pemisahan) atau distribusi (penyebaran) sering dipakai untuk menggambarkan bagaimana suatu senyawa memisah diantara dua medium yang tak saling melarutkan (Sudarmadji, et al., 2007). Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran yang dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi), dimana komposisi perubahan sesuai dengan gradien tertentu (Wikipedia, 2010).

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). Menurut Harborne (1984), pemisahan jumlah dan jenisnya senyawa menjadi fraksi yang berbeda yang tergantung pada jenis tumbuhan. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar.

## 2.10 Kromatografi Kolom

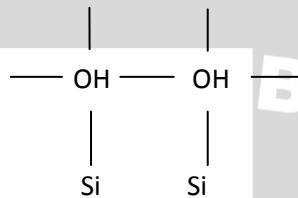
Kromatografi kolom adalah suatu metode pemisahan dan pemurnian senyawa dalam skala preparatif (Khopkar, 1990). Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase tetap (*stationary*) dan fase gerak (*mobile*) (Sastrohamidjoyo, 2002). Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat. Kromatografi kolom ini bertujuan untuk purifikasi dan isolasi komponen dari suatu campurannya (Lenny, 2006). Ditambahkan Kisman dan Ibrahim (1998), kromatografi kolom digunakan untuk mendapatkan hasil zat murni secara preparatif dari campuran, untuk pemisahan zat pada penentuan kuantitatif, dan untuk pemurnian pelarut organik dari senyawa yang mengadsorbsi lemak.

Fasa gerak pada kromatografi kolom dapat berupa pelarut tunggal atau campuran beberapa pelarut dengan komposisi tertentu. Pelarut dapat merupakan pelarut polar dan pelarut non polar. Umumnya senyawa non polar dengan berat molekul kecil lebih cepat meninggalkan fasa diam (Soebagio, et. al., 2005). *Silica gel* ada 2 macam menurut Asyhar (2010), yaitu :  
(a) GF245, dengan G melambangkan gypsum ( $\text{CaSO}_4$ ), F melambangkan floroscene, dan angka 245 menunjukkan besarnya panjang gelombang yaitu,



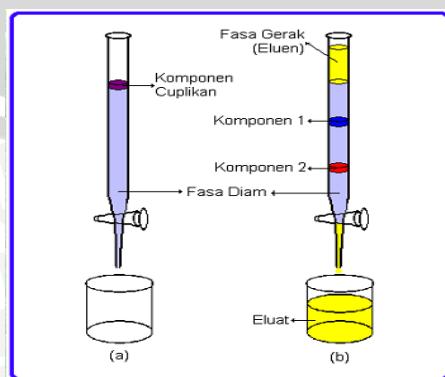
245 nm. Silika jenis ini sering digunakan pada kromatografi lapis tipis (TLC), dan

(b) H, dengan tanpa adanya gypsum dan floroscene. Silika jenis ini biasa digunakan pada kromatografi kolom. *Silica gel* dapat membentuk ikatan hidrogen di permukaannya, karena pada permukaannya terikat gugus hidroksil. Oleh karena itu, *silica gel* sifatnya sangat polar, struktur sillica gel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur *Silica Gel* (Hendayana, 2006)

Prinsip kerja kromatografi kolom adalah sebagai berikut : kolom gelas dengan kran pada salah satu ujungnya diisi oleh fase diam berupa *silica* atau alumina. Campuran yang akan dipisahkan dituangkan pada bagian atas kolom yang berisi fase diam. Begitu pula fase gerak berupa pelarut organik seperti heksan atau eter dialirkan dari bagian atas kolom. Komponen yang telah terpisah dari campurannya bergerak terbawa fase gerak ke bawah kolom. Jumlah komponen penyusun campuran dapat terlihat sebagai cincin-cincin berwarna sepanjang kolom gelas (Hendayana, 2006). Proses kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses Kromatografi Kolom (Suhanda, 2010)

## 2.11 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, alumunium sedangkan fase gerak berupa campuran pelarut dengan perbandingan tertentu (Sastrohamidjoyo, 2002). 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). Pada dasarnya prinsip pada KLT sama dengan kromatografi kertas hanya KLT mempunyai kelebihan yang khas dibandingkan dengan kromatografi kertas yaitu keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya (Widodo, 2007). Menurut Sastrohamidjoyo (2002), beberapa contoh penyerap yang digunakan untuk pemisahan-pemisahan dalam kromatografi lapisan tipis adalah sebagai berikut :

**Tabel 11. Penyerap-penyerap Untuk Kromatografi Lapis Tipis**

Zat padat	Digunakan untuk memisahkan
- Silika	- Asam-asam amino, alkaloid, gula, asam-asam lemak, lipida, minyak esensial, anion dan kation organik,sterol, terpenoid.
- Alumina	- Alkaloid, zat warna, fenol, steroid, vitamin-vitamin, karoten, asam-asam amino.
- Kieselguhr	- Gula, oligosakarida, asam-asam dibasa, asam-asam lemak, trigliserida, asam-asam amino, steroid.
- Bubuk selulose	- Asam-asam amino, alkaloid, nukleotida.
- Pati	- Asam-asam amino.
- Sephadex	- Asam-asam amino, protein.

Sumber : Sastrohamidjoyo (2002)

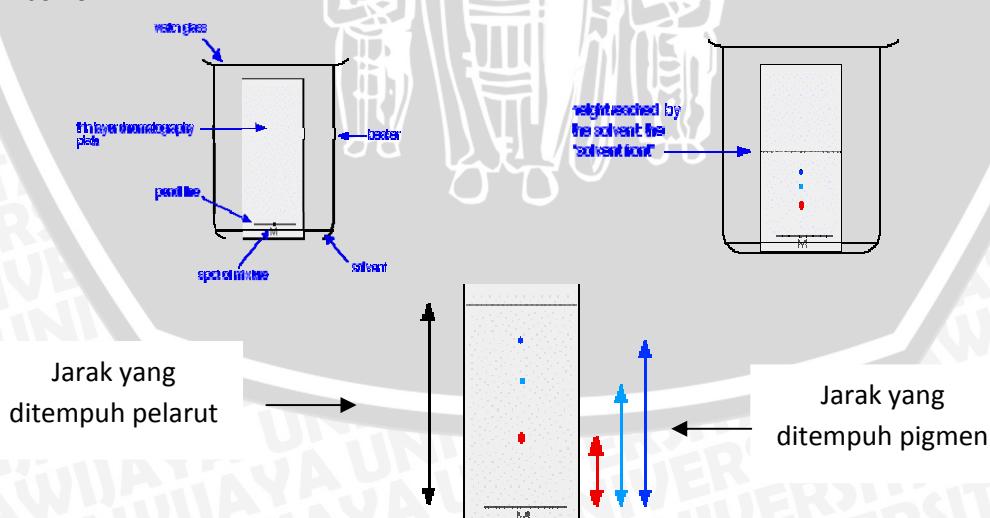
Penggunaan umum Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektifitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, serta untuk

memantau kromatografi kolom, melakukan screening sampel untuk obat (Qadri, 2010).

Identifikasi pigmen secara kualitatif dilakukan dengan cara menghitung nilai *retardation factor* (*R<sub>f</sub>*) (Jeffrey, et al., 1997). *R<sub>f</sub>* merupakan jarak titik pusat bercak dari titik awal penotolan/jarak garis depan pengembang dari titik awal penotolan. Harga *R<sub>f</sub>* untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga *R<sub>f</sub>* yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan, meskipun demikian daftar dari harga-harga *R<sub>f</sub>* untuk berbagai campuran dari pelarut dan penyerap dapat diperoleh (Hadiprabowo, 2009). Nilai *R<sub>f</sub>* 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 totol pada pelat KLT. Ketebalan warna totol menunjukkan kuantitas pigmen sedangkan banyak noda menunjukkan jumlah pigmen minimal yang terdapat dalam ekstrak. Proses identifikasi pigmen dengan metode KLT dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Metode Kromatografi Lapis Tipis (Clark, 2007)

## 2.12 Spektrofotometer UV-Vis 1601

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Analisis dengan spektrofotometri UV-Vis selalu melibatkan pembacaan absorbansi radiasi elektromagnetik oleh molekul atau radiasi elektromagnetik yang diteruskan (Indraswari, 2008). Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu di daerah ultra lembayung (ultra violet) dan sinar tampak (visible) (Huda, 2001).

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 semaksimum mungkin. Jika bahan yang dianalisa mempunyai warna tertentu, maka warna komplementernya merupakan bagian panjang gelombang yang sesuai untuk analisa tersebut (Apriyantono, *et al.*, 1989). Menurut Gross (1991), penentuan kandungan fukosantin dapat dihitung dengan rumus :

$$\mu\text{g crude fukosantin/g} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times G}$$

dimana : A = Absorbansi tertinggi, V = Total volume pelarut yang ditambahkan saat pengenceran, G = Berat sampel,  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  = Koefisien absorbansi (ketetapan),  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  aceton = 1060,  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  methanol = 2500,  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  etanol = 1140

Spektrofotometer sangat berhubungan dengan pengukuran jauhnya pengabsorbansian energi cahaya oleh suatu sistem kimia sebagai fungsi panjang gelombang dengan absorban maksimum dari suatu unsur atau senyawa. Konsentrasi unsur atau senyawa dapat dihitung dengan menggunakan kurva

standar yang diukur pada panjang gelombang absorban tersebut, yaitu panjang gelombang yang diperoleh dari hasil nilai absorbansi yang tertinggi. Spektrum absorban selain bergantung pada sifat dasar kimia, juga bergantung pada faktor-faktor lain. Perubahan pelarut sering menghasilkan pergeseran dari pita absorbansi. Larutan pembanding dalam spektrofotometri pada umumnya adalah pelarut murni atau suatu larutan blanko yang mengandung sedikit zat yang akan ditetapkan atau tidak sama sekali (Day dan Underwood, 1998).

Spektrofotometer Multispec-1601 mempunyai kelebihan yakni dapat memperoleh pola spektra pada keseluruhan panjang gelombang hanya dengan waktu 100 *milliseconds*. Detektor yang digunakan pada multispec-1601 spektrofotometer adalah *Photo Diode Array (PDA)* (Anonymous, 2009 ). Gambar multispec-1601 spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6. Spektrofotometer UV-1601**  
**(Sumber:** Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya)

### 2.13 *Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS)*

*Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS)* merupakan kombinasi pemisahan antara kromatografi cair menggunakan deteksi spektrofotometri massa. Kombinasi metode pemisahan ini memberikan teknik analisis pada beberapa jenis molekul termasuk senyawa yang bersifat termolabil, *non volatile* dan senyawa yang memiliki berat molekul yang tinggi. Keuntungan identifikasi menggunakan LCMS diantaranya dapat digunakan untuk senyawa-senyawa dengan titik lebur tinggi, berat molekul besar, termolabil, dan *non*

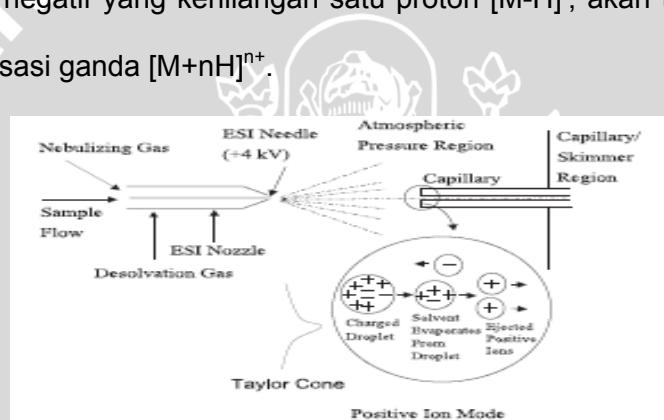
*volatile*. Spektrum massa ialah alur kelimpahan (jumlah relatif fragmen bermuatan positif yang berlainan) versus nisbah massa/ muatan ( $m/z$ ) dari fragmen-fragmen itu. Muatan ion dari kebanyakan partikel yang dideteksi dalam suatu spektrometer massa adalah  $+ 1$ ,  $m/z$  untuk suatu ion semacam itu sama dengan massanya (Williams and Fleming, 1997 dalam Saputro 2009). Kelemahan dari identifikasi menggunakan alat ini yaitu sulit untuk dibersihkan dan memiliki kecendrungan terkontaminasi dengan residu dari percobaan sebelumnya (Chemwiki, 2010). Prinsip dari metode analisis LCMS adalah ionisasi molekul (Nadinah, 2008). Alat LCMS dapat dilihat pada Gambar 7.

Pada LCMS, sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan ( $m/z$ ) yang selanjutnya dideteksi secara elektrik. Beberapa metode ionisasi yang banyak diaplikasikan untuk identifikasi yaitu *electrospray ionization* (ESI). ESI menghasilkan spektrum massa yang baik dengan fragmentasi yang sesuai dengan struktur senyawa. Selektivitas LCMS yang tinggi, identifikasi dan kuantifikasi dapat dilakukan dengan jumlah sampel yang sedikit dan tahapan preparasi yang minimal (Maryam, 2007).



**Gambar 7. Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry merk Waters tipe LCT Premier XE**  
**(Sumber:** Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi Serpong)

*Electrospray Ionization* (ESI) adalah teknik yang digunakan pada spektrofotometer massa untuk menghasilkan ion yang dapat dilihat pada Gambar 8. Mekanisme ionisasi menggunakan ESI dilakukan melalui *electrospray* dari cairan yang mengandung analit menjadi fase gas (*fine aerosol*). Pelarut yang biasa digunakan merupakan campuran air dengan pelarut organik yang volatil seperti metanol dan asetonitril. Menurut Wahyuni (2009), hasil elusi dari kolom LC secara langsung mengalami ionisasi melalui *electrospray*. Ada 2 macam mode ionisasi ESI-MS yaitu mode ion positif dimana ada penambahan satu proton (ion hidrogen)  $[M+H]^+$  atau kation yang lain seperti ion sodium  $[M+Na]^+$  dan mode ion negatif yang kehilangan satu proton  $[M-H]^-$ , akan tetapi seringkali ditemukan ionisasi ganda  $[M+nH]^{n+}$ .



**Gambar 8. Skema Pembentukan Ion Pada Analit Dengan Metode Electrospray Ionization (Kazakevich dan LoBrutto, 2007)**

Jenis mass analyzer yang digunakan pada LCMS yaitu Time of Flight (ToF). Dalam mass analyzer, ToF memiliki kekuatan elektromagnetik yang seragam diterapkan ke semua ion pada saat yang sama, sehingga dapat mempercepat ion dalam menyusuri tabung penerbangan. Ion lebih ringan, lebih cepat tiba pada detektor sehingga massa-biaya rasio ( $m/z$ ) dari ion dapat ditentukan langsung. Mass analyzer ToF memiliki jangkauan massa yang luas dan bisa sangat akurat dalam pengukuran massa ion/analit (Agilent Technologies, 2001).

### 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 Pedike, Kecamatan Talango, Sumenep, Madura. Bahan kimia yang digunakan adalah aseton PA (Pro Analisis) dan teknis, metanol PA, heksan PA, etil asetat PA, dietil eter PA, CaCO<sub>3</sub>, aquadest, air ledeng, larutan saturasi garam dapur, garam grosok, 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*), kapas, dan kertas label.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

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 1000 ml, beaker glass 250 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 50 ml dan 100 ml, corong kaca, *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 tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipa kapiler, pensil, penggaris, beaker glass 100 ml, pinset, cawan petri, kolom kromatografi, spektrofotometer UV-Vis 1601 merk Shimadzu dan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry* merk Waters tipe LCT Premier XE.

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Menurut Amirin (2009), penelitian eksploratorif 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. Ditambahkan oleh Singarimbun dan Effendi (1989), 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.

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Sampel

Alga coklat (*Sargassum filipendula*) yang diambil dari perairan Sumenep, Madura Jawa Timur dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran, kemudian dibilas dengan air tawar untuk menghilangkan pengaruh garam yang berasal dari air laut (lingkungan). Selanjutnya alga coklat (*Sargassum filipendula*) dikeringkan dengan kain dan dimasukkan ke dalam kantong *polyback* hitam. Selama perjalanan, sampel disimpan dalam *cool box* yang berisi es. Untuk penyimpanan selanjutnya, alga coklat (*Sargassum filipendula*) dimasukkan ke dalam freezer.

### 3.3.2 Ekstraksi Alga Coklat

Tahap ekstraksi alga coklat (*Sargassum filipendula*) pada penelitian ini menggunakan metode Pangestuti, et al., (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). Alga coklat (*Sargassum filipendula*) dicuci dengan air ledeng dan dibersihkan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, kemudian alga coklat dikeringkan dengan kain yang bertujuan untuk mengurangi kandungan air bahan. Selanjutnya alga coklat dipotong-potong kecil sekitar 1 cm yang bertujuan agar alga coklat cepat kering dan memperluas bidang permukaan alga coklat untuk memudahkan saat pengekstraksian (sampel mudah bercampur dengan pelarut), sehingga mendapatkan ekstrak pigmen yang optimal. Alga coklat ditimbang 25 gram menggunakan timbangan digital dan dihaluskan dengan mortar yang bertujuan untuk memperluas bidang permukaan alga coklat. Kemudian ditambahkan  $\text{CaCO}_3 \pm 0,5$  gram bertujuan untuk menetralkan alga coklat agar tidak bersifat basa, hal ini dikarenakan pigmen fukosantin yang terkandung dalam alga coklat tidak tahan pada pH tertentu (basa).

Tahap selanjutnya adalah proses ekstraksi, proses ekstraksi pada penelitian ini dengan maserasi bertingkat. Prinsip dari proses maserasi ini adalah mengambil senyawa target dengan cara merendam atau memecah glukoprotein. Alga coklat dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 ml, kemudian alga coklat diekstraksi menggunakan pelarut metanol : aseton (7:3 v/v) sebanyak 450 ml dengan cara distirer agar proses ekstraksi antara pelarut dengan sampel terjadi kesetimbangan sehingga proses ekstraksi dapat berjalan sempurna. Proses maserasi dilakukan secara bertingkat sebanyak 4 tahap. Pada saat ekstraksi pertama dilakukan selama 2 jam, sedangkan ekstraksi ke 2, 3, dan 4 masing-masing selama 15 menit pada suhu kamar. Adapun tujuan dari pemberian metanol yaitu agar dapat melarutkan semua senyawa organik dalam bahan. Sedangkan penggunaan pelarut aseton adalah untuk mengangkat pigmen semi

polar. Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring kasar dan halus. Proses penyaringan ini bertujuan untuk mengambil zat-zat yang mengandung pigmen dan sisa-sisa rumput laut dibuang sehingga filtrat yang dihasilkan bersih tanpa ada kotoran yang tertinggal. Prosedur ekstraksi alga coklat (*Sargassum filipendula*) dapat dilihat pada Gambar 9.

### 3.3.3 Fraksinasi Alga Coklat

Tahap selanjutnya adalah fraksinasi filtrat alga coklat (*Sargassum filipendula*). Tahap ekstraksi alga coklat (*Sargassum filipendula*) pada penelitian ini menggunakan metode Pangestuti, *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). Proses fraksinasi (partisi) menggunakan filtrat hasil ekstraksi, dietil eter, saturasi garam dan air ledeng. Filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah dan dipartisi menggunakan dietil eter, lalu corong pisah digoyangkan-goyangkan sesekali. Selanjutnya filtrat ditambahkan larutan saturasi garam dan air ledeng sampai semua pigmen terangkat ke atas sehingga terbentuk dua fase yaitu fase atas dan fase bawah. Perbandingan yang digunakan dalam fraksinasi ini antara filtrat : dietil eter : saturasi garam : air ledeng adalah 50 : 25 : 70 : 1 ml. Tujuan digunakannya dietil eter pada proses fraksinasi ini adalah untuk mengikat senyawa yang bersifat semi polar sehingga senyawa tersebut berada pada fase atas. Sedangkan tujuan penambahan saturasi garam dan air ledeng adalah agar pelarut lebih terikat sehingga naik ke fase atas karena larutan saturasi garam dan air ledeng memiliki banyak mineral, elektropositif dan elektronegatifan.

Setelah terbentuk dua fase dalam proses fraksinasi, hasil fase atas diambil karena mengandung banyak pigmen dan hasil fase bawah tidak digunakan karena merupakan campuran dari metanol dan aseton. Hasil dari fase atas ditampung pada erlenmeyer selanjutnya di *rotary evaporator vacum* dengan suhu 30°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 dibungkus dengan *alumunium foil*, dan bagian penutup botol sampel dilapisi dengan *cling wrap* selanjutnya disimpan dalam *freezer*. Prosedur fraksinasi untuk isolasi dapat dilihat pada Gambar 9.

### 3.3.4 Isolasi Fukosantin

Isolasi pigmen alga coklat (*Sargassum filipendula*) dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam *silica gel* dan fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2 v/v). *Silica gel* sebanyak 40 gram dilarutkan dalam fase gerak  $\pm$  250 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. Fase diam (*silica gel*) berfungsi sebagai fase penjerap komponen senyawa, sedangkan fase gerak untuk melarutkan zat komponen campuran. Ukuran kolom kromatografi yang digunakan yaitu panjang (P) = 40 cm dan diameter (d) = 3 cm.

Tahap selanjutnya kolom kromatografi dipasang 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 bubur *silica gel* akan mencapai  $\frac{3}{4}$  tinggi kolom atau sekitar  $\pm$  22 cm. Pada proses tersebut kolom yang telah berisi fase diam dibiarkan selama 12 jam yang bertujuan untuk mengetahui apakah *silica gel* (fase diam) pecah atau tidak, jika

pecah atau retak sebaiknya diulang lagi dari proses awal guna memperoleh hasil yang terbaik yaitu proses penjerapan oleh *silica gel* terhadap senyawa dengan sempurna, jika retak fase diam tidak melakukan proses penjerapan dengan baik. Selanjutnya ditambahkan *sea sand* (pasir laut) dan kertas saring agar pelarut tidak mengenai *silica gel* dan sebagai penyaring saat sampel dimasukkan.

Ekstrak sampel kering alga coklat dilarutkan terlebih dulu dengan 10 ml fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2, v/v), kemudian dimasukkan ke dalam kolom secara perlahan-lahan dengan menggunakan pipet volume 10 ml pada pingir kolom agar tidak merusak permukaan kolom dan *sea sand*. Kran kolom yang berada di bawah dibuka. Ekstrak akan meresap ke *silica gel* dalam kolom sampai batas atas *silica gel*. Selanjutnya dimasukkan fase gerak secara kontinyu karena fase gerak akan mengalir terus menerus sehingga diperlukan penambahan fase gerak baru agar kolom tidak 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 (8:2, 7:3, 6:4 v/v). Tujuan penggunaan pelarut heksan karena heksan merupakan pelarut non polar sehingga dapat melarutkan pigmen yang tidak polar. Sedangkan pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar (lebih polar daripada heksan) sehingga berfungsi untuk melarutkan pigmen yang semi polar. Kemudian fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan menggunakan tabung reaksi berdasarkan warnanya dan terus menambahkan fase gerak sedikit demi sedikit sampai diperoleh fukosantin yang berwarna orange. Setiap fraksi yang berwarna orange dianalisis menggunakan KLT untuk mengidentifikasi apakah termasuk fukosantin dan kemurnian fukosantin tersebut. Prosedur isolasi fukosantin dapat dilihat pada Gambar 10.

### 3.3.5 Identifikasi Pigmen Fukosantin

#### 3.3.5.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk mengidentifikasi pigmen berdasarkan totol 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.*, 2008). Tujuan penggunaan fase gerak heksan dan aseton adalah untuk melarutkan senyawa yang tidak polar, polar maupun semi polar seperti fukosantin, sehingga senyawa tersebut dapat larut dan tertarik keatas sesuai tingkat kepolaranya.

Langkah pertama dalam KLT yaitu 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 oleh pelarut. Kemudian fraksi dari kolom yang ditampung dalam tabung reaksi diambil secukupnya menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan pada pada pelat KLT sambil ditiup-tiup sesekali. Setelah bercak tersebut mengering, pelat dimasukkan dalam *beaker glass* yang berisi fase gerak sebanyak 5 ml dan kertas saring. Tujuan pemberian kertas saring adalah untuk mengetahui kehomogenan larutan didalam *beaker glass*. Selanjutnya *beaker glass* ditutup dengan cawan petri dan dibiarkan sampai pelarut bergerak mendekati garis atas. Selanjutnya diambil dengan pinset tanpa menyentuh garis atas pelat. Hasil totol pigmen yang terbentuk pada pelat diamati dan dihitung nilai Rf-nya (*retardation factor*). Prosedur Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada Gambar 11.

#### 3.3.5.2 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer 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 semaksimum mungkin. Spektrofotometer UV-VIS ini berfungsi untuk analisis kualitatif atas dasar spektrum dan analisis kuantitatif atas dasar serapan.

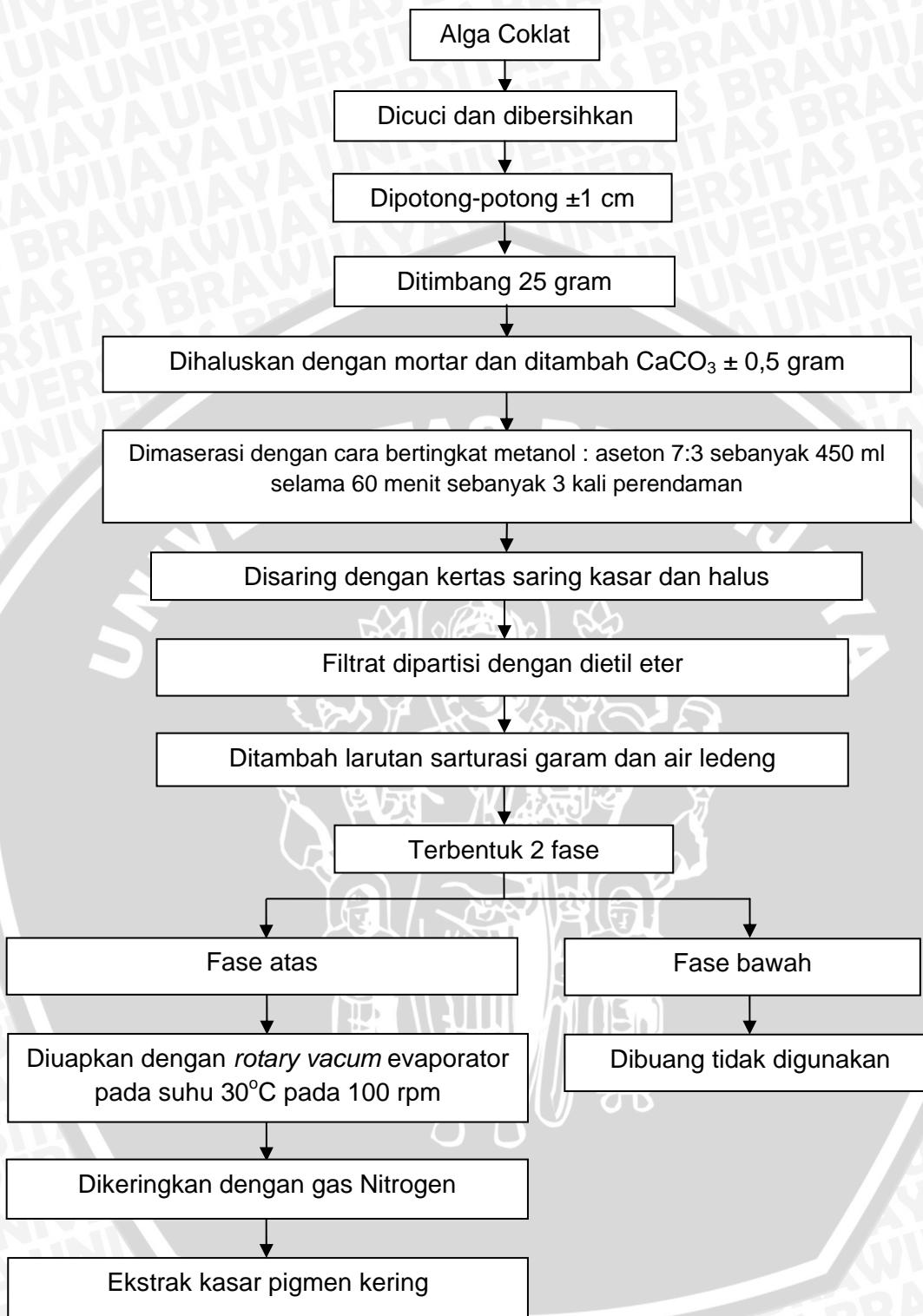
Metode spektrofotometri ini dilakukan untuk mengetahui pola spektra (serapan cahaya yang diabsorbsi) pigmen yang terkandung dalam alga coklat. Fraksi hasil dari kromatografi kolom dan KLT yang diyakini sebagai fukosantin yang dilihat berdasarkan warna dan nilai RF-nya. Kemudian fraksi yang diyakini sebagai fukosantin tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* dan dikeringkan dengan gas nitrogen. Pigmen yang telah dikeringkan kemudian ditambahkan aseton PA 100% hingga pengenceran  $10^3$ . Larutan pigmen dituang pada kuvet  $\pm 3$  ml dan kuvet kemudian dimasukan 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 (pola spektra) fukosantin menurut Jeffrey, *et al.*, (1997). Prosedur analisa fukosantin dengan Spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Lampiran 9.

### **3.3.5.3 Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry (LCMS)**

Penentuan berat molekul pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) pada penelitian ini menggunakan metode Sangeetha, *et al.*, (2009) yang dimodifikasi oleh BPPT (2010) dapat dilihat pada Lampiran 10. Analisis berat molekul fukosantin menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry* (LCMS) secara kuantitatif dengan teknik *electrospray ionization* (ESI). Pigmen fukosantin disuntikkan ke dalam botol dengan tinggi 7 cm dengan atau tanpa septa. Kemudian sampel dilarutkan dengan asetonitril dan asam format 0,05% dalam air (1:1 v/v), lalu sampel diinfusi ke dalam LCMS

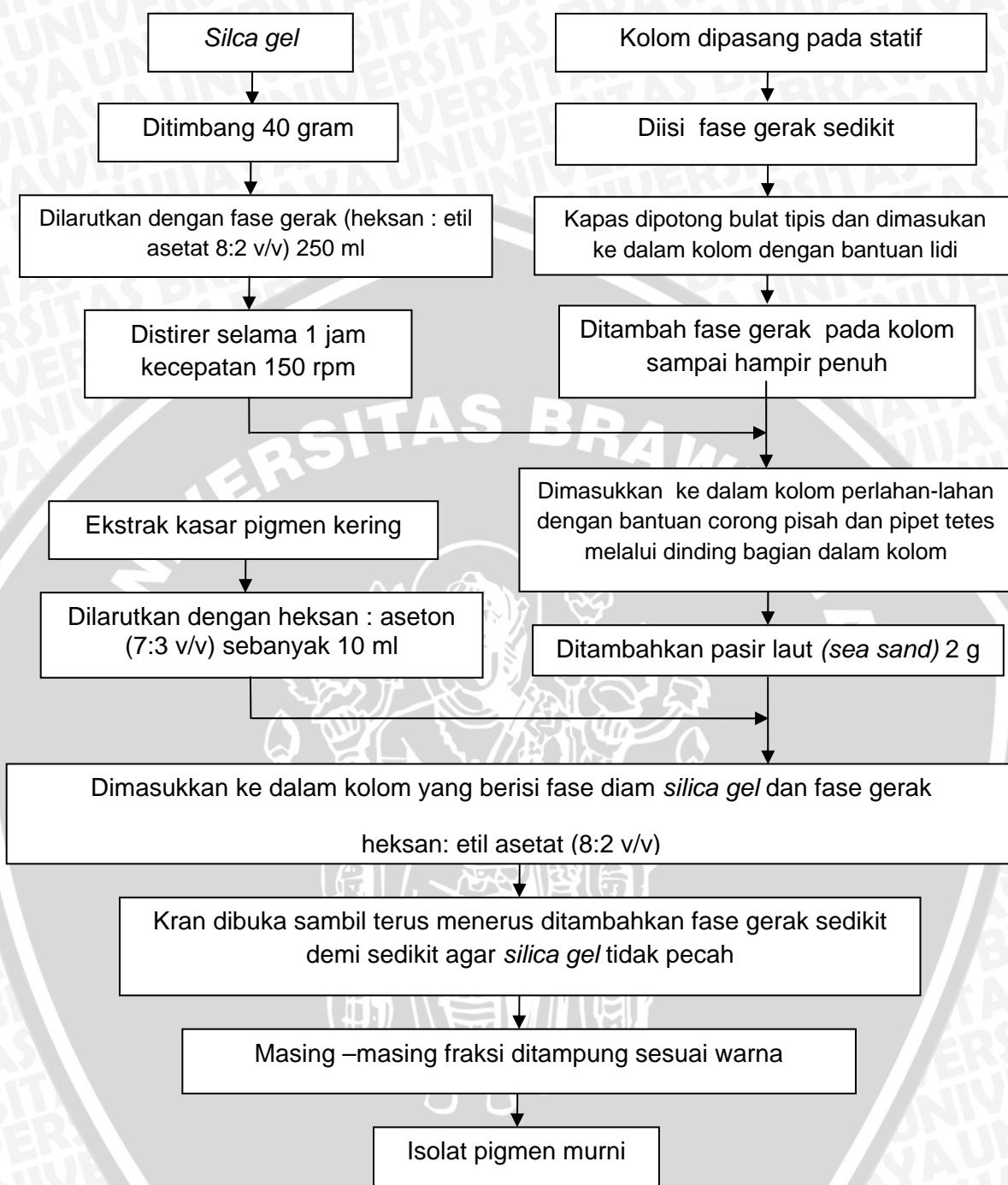
dengan kecepatan 5  $\mu\text{L}$  per menit dan dilakukan proses pompa selama 10-15 menit yang dialirkan ke katup kolom selector secara otomatis dan terjadi pemisahan kearah UV detektor dan diukur berat molekul pada spektrometer massa. Analisis dilakukan pada modus negatif dengan capillary voltage : - 1800 V dan cone voltage : - 60 V. Sisa ion akan masuk ke dalam katup splitter dan terkumpul dalam *fraction collector* untuk mengurangi arus ke sumber ESI-MS.



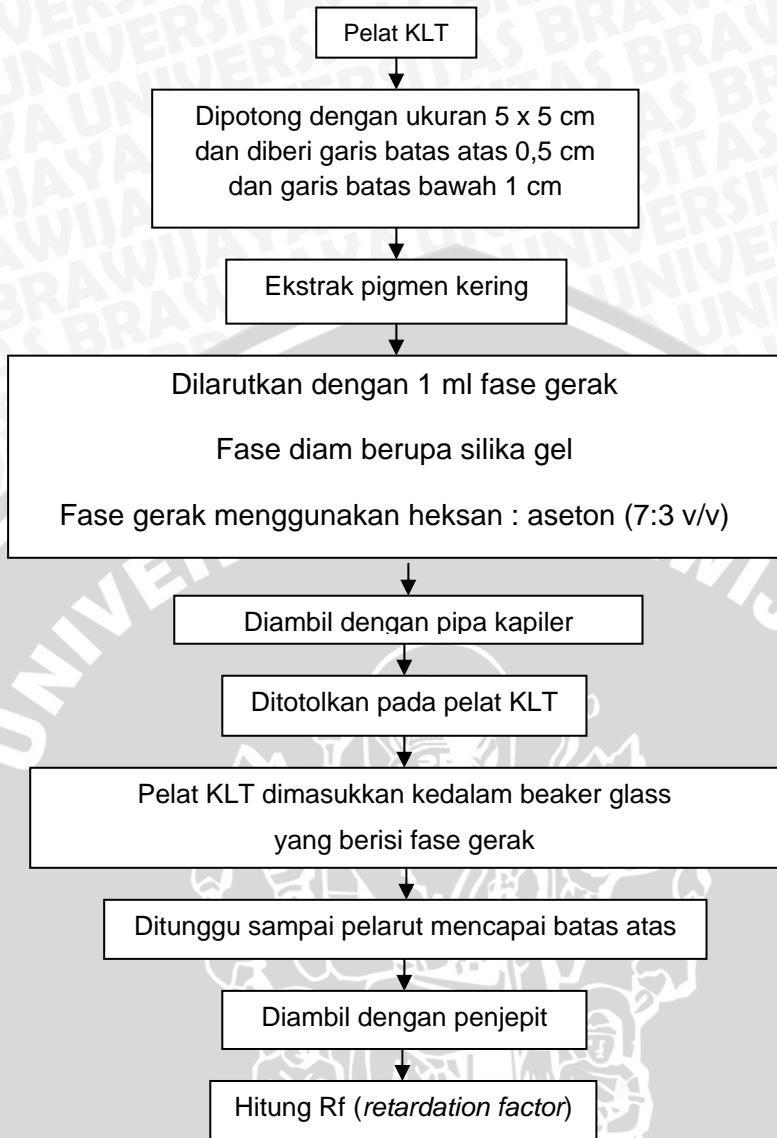


Gambar 9. Proses Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat Untuk Isolasi

(Pangestuti, et al., 2008) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009)



**Gambar 10. Proses Kromatografi Kolom (Pangestuti, et al., 2008) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009)**



Gambar 11. Proses Kromatografi Lapis Tipis (Pangestuti, et al., 2008)

## 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, dan uji identifikasi berat molekul dengan LCMS Waters tipe LCT Premier XE dapat dilihat dari Tabel 12 berikut ini:

**Tabel 12. Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin**

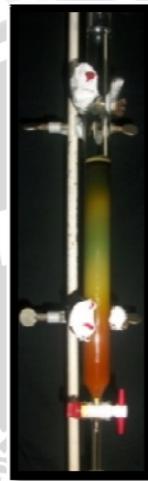
No.	Uji Identifikasi	Alat	Hasil	Literatur
1.	Warna	Kromatografi Kolom	66 Isolat pigmen dalam tabung reaksi. Isolat fukosantin dari tabung 42-52 warna kuning tua (orange)	Fukosantin berwarna kuning tua (orange) (Jeffrey, et al., 1997)
2.	KLT	KLT	Rf 0,28	Rf fukosantin 0,25-0,28 Yan, et al.,(1999)
3.	Pola spektra	Spektrofotometer UV-VIS 1601 Shimadzu	Dalam pelarut aseton panjang gelombang Ulangan 1 : 446.5 nm Ulangan 2 : 447,0 nm	Dalam pelarut Aseton (Jeffrey, et al., 1997) panjang gelombang 446.3 nm
4.	Berat Molekul	LCMS Waters tipe LCT Premier XE	Berat molekul fukosantin modus negatif (M-H) <sup>-</sup> : 657.46	Berat molekul fukosantin 658.92 (Jeffrey, et al., 1997)
5.	Rendemen		0,068 % ± 0,004243	

### 4.2 Pembahasan

Hasil ekstraksi 25 gram alga coklat dengan pelarut aseton : metanol (7:3 v/v) sebanyak ± 400 ml dihasilkan filtrat berwarna hijau kecoklatan. Setelah alga coklat diekstraksi, kemudian difraksinasi. Hasil filtrat yang diperoleh dari partisi fase atas pada alga coklat sebanyak ± 345 ml. Kemudian hasil filtrat dirotary vacum evaporator dan diberi gas nitrogen untuk mengeringkan sampel.

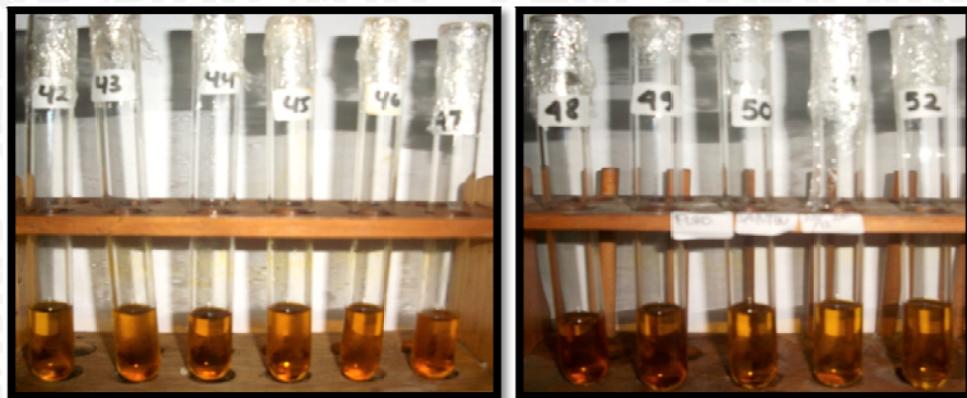


Selanjutnya pigmen diisolasi dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : etil asetat (8:2v/v, 7:3v/v, 6:4 v/v dan 5:5 v/v). Berikut hasil kromatografi kolom pigmen fukosantin dapat dilihat pada Gambar 12.



**Gambar 12. Hasil Kromatografi Kolom Pigmen Fukosantin**

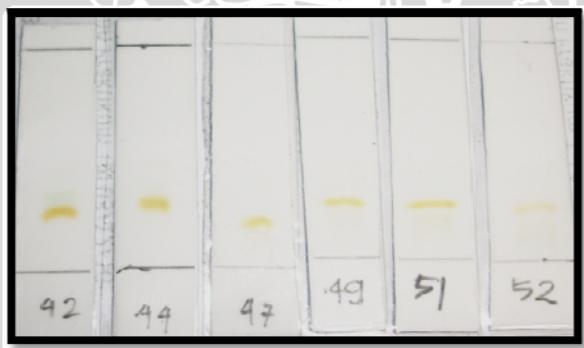
Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat pita pigmen fukosantin yang berwarna kuning tua (oranye). Hasil isolasi yang diperoleh yaitu 66 fraksi yang ditampung pada tabung reaksi sesuai warna masing-masing. Fraksi yang diduga pigmen fukosantin terdapat pada tabung 42,43,44,45,46,47,48,49,50,51 dan 52, hal ini didasarkan pada pigmen warna oranye (kuning tua) yang merupakan ciri khas pigmen fukosantin (Strain *et. al.*, 1943; Jeffry *et.al.*, 1997). Jumlah pigmen fukosantin yang terdapat pada tiap tabung yaitu sebesar 6,5 ml. Hasil pigmen fukosantin pada kromatografi kolom sebesar 71,5 ml. Pigmen fukosantin keluar pada fase gerak heksan : etil asetat (5:5). Pigmen fukosantin hasil isolasi yang ditampung pada tabung reaksi dapat dilihat pada Gambar 13 di bawah ini.



**Gambar 13. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi**

#### 4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi pigmen fukosantin hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui nilai *retardation factor* (*Rf*). dengan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : aseton (7:3 v/v). Hasil pengujian KLT pigmen fukosantin dapat dilihat pada Gambar 14 di bawah ini.



**Gambar 14. Hasil KLT Pigmen Fukosantin**

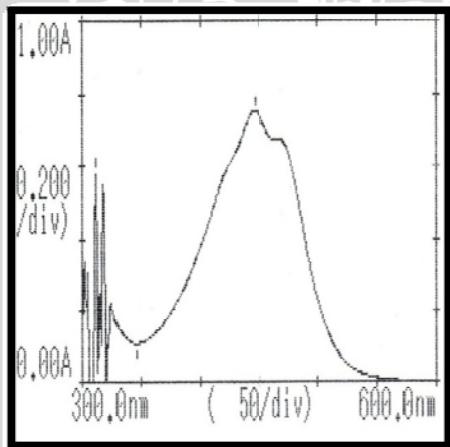
Berdasarkan hasil KLT diatas, diketahui bahwa totol warna yang terbentuk hanya satu, yaitu berwarna oranye yang diidentifikasi sebagai pigmen fukosantin. Menurut Yan *et al.*, (1999), nilai *Rf* pigmen fukosantin berkisar antara 0,25 – 0,28. Hal ini sama dengan nilai *Rf* yang diperoleh dari KLT diatas, masing-masing yaitu 0,28. Ditambahkan juga oleh Jeffrey *et al.*, (1997) bahwa fukosantin

mempunyai warna oranye (kuning tua). Hasil KLT tersebut dapat membuktikan bahwa pigmen yang dihasilkan adalah fukosantin murni.

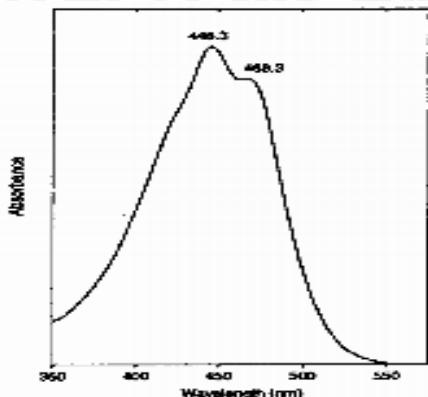
Gambar diatas menunjukkan bahwa totol warna yang terbentuk hanya 1 spot dengan warna oranye. Data ini sesuai dengan Jeffrey, et al.,(1997), yang menyatakan bahwa pigmen fukosantin berwarna oranye. Nilai *retardation factor* (Rf) juga dilakukan untuk memperkuat identifikasi pigmen dalam hal ini fukosantin. 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.

#### 4.2.2 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-Vis

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



**Gambar 15. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi Dalam Aseton**



**Gambar 16. Pola Spektra Pigmen Fukosantin (Jeffrey, et al.,1997)**

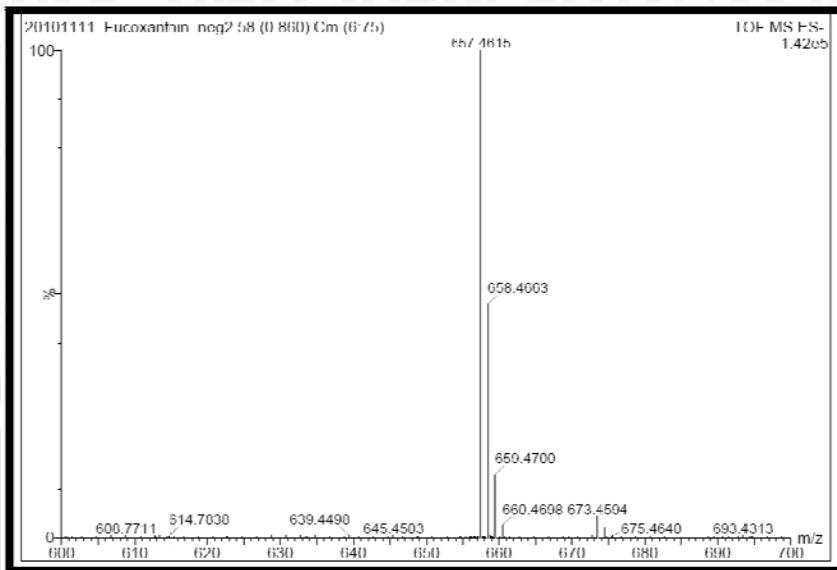
Berdasarkan hasil pengukuran hasil isolasi fukosantin menggunakan spektofotometer diperoleh hasil serapan maksimum pada puncak spektra dengan pelarut aseton pada sampel ulangan kesatu yaitu 446,5 nm dengan absorbansi 0,7565 dan pada sampel ulangan kedua yaitu 447,0 nm dengan absorbansi 0,6924. Hasil ini tidak beda jauh dengan serapan maksimum puncak spektra yang ada pada literatur Jeffrey, et al.,(1997) yaitu 446,3 nm.

Pada hasil pola spektra dan panjang maksimum pigmen yang dihasilkan dari proses isolasi dengan kromatografi kolom dengan panjang gelombang spektra dan panjang gelombang maksimum menurut Jeffrey, et al., (1997) dan memiliki kemiripan yang hampir sama baik dalam pola spektra maupun panjang gelombang, meskipun terdapat pergeseran pada panjang gelombang hal ini mungkin dikarenakan sudah terjadinya perubahan fukosantin menjadi *Cis-trans* fukosantin atau karena kualitas pelarut dan kemurnian pelarut yang digunakan untuk analisa (Toto et al., 2006).

#### 4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan LCMS

Untuk menguatkan hasil identifikasi fukosantin dari KLT, dan spektrofotometer maka dilakukan identifikasi lanjutan dengan melakukan uji berat

molekul menggunakan LCMS. Peak berat molekul fukosantin dapat dilihat pada gambar berikut:



**Gambar 17. Peak LCMS Pigmen Fukosantin**

Berdasarkan pada gambar 17 diperoleh hasil peak identifikasi berat molekul dari fukosantin menggunakan LCMS dengan hasil spektra identifikasi berat molekul dari fukosantin menggunakan LCMS dengan hasil peak modus negatif ( $M-H^-$ ) : 657.46. Berdasarkan hasil puncak spektra (peak) dalam mode ion negatif yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan serapan maksimum puncak spektra berat molekul fukosantin yang ada pada literatur yaitu 658.92 (Jeffrey, et al., 1997). Sebagian besar senyawa yang dianalisa pada LC-ESI-MS akan terdeteksi dalam modus ion negatif atau positif. Analisis komponen utama dilakukan dengan menggunakan intensitas puncak ion terdeteksi oleh ESI / MS dalam mode ion negatif (Moriwaki, et al., 2010). Ada 2 macam mode ionisasi ESI-MS yaitu mode ion positif dimana ada penambahan satu proton (ion hidrogen)  $[M+H]^+$  atau kation yang lain seperti ion sodium  $[M+Na]^+$  dan mode ion negatif yang kehilangan satu proton  $[M-H]^-$ , akan tetapi seringkali ditemukan ionisasi ganda  $[M+nH]^{n+}$  (Wahyuni, 2009).

Metode ini digunakan untuk menentukan massa molekul dan rumus molekul yang sangat membantu dalam elusidasi struktur molekul baik organik maupun anorganik. Keuntungan identifikasi menggunakan LCMS diantaranya dapat digunakan untuk senyawa-senyawa dengan titik lebur tinggi, berat molekul besar, termolabil, dan *non volatile* (Williams and Fleming, 1997 dalam Saputro, 2009). Pada penelitian ini digunakan metode ESI-MS bertujuan untuk mengetahui karakterisasi pigmen fukosantin dengan rasio intensitas puncak ion yang dilihat dari nilai berat molekulnya.

#### 4.2.4 Rendemen Fukosantin

Rendemen adalah berat akhir setelah perlakuan. Menurut Hanum (2000), perhitungan rendemen berdasarkan berat/volume input dan output yang dihasilkan proses ekstraksi (ekstrak atau konsentrat), dengan rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{kadar fucoxanthin} \times \text{fp} \times \text{volume ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan : fp = faktor pengenceran

Hasil rendemen pigmen fukosantin murni pada alga coklat (*Sargassum filipendula*) dihitung dengan membagi antara kadar fukosantin yang didapatkan dengan sampel awal alga coklat yang digunakan. Hasil rendemen fukosantin *Sargassum filipendula* pada penelitian ini yaitu  $0,068 \% \pm 0,004243$ . Hasil rendemen ini sedikit berbeda dengan penelitian oleh Wijayanti (2009), yaitu rendemen pada *Padina australis*  $0,07 \% \pm 0,00256$ , *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 3 meter (1,5 meter ketika surut) dengan substrat yang berupa pasir berlumpur, arus sedang dan berombak.



## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

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

- Hasil identifikasi KLT diperoleh perhitungan Rf fukosantin sebesar 0,28. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan panjang gelombang ( $\lambda$ ) untuk pelarut aseton yaitu 446,5 nm dan 447,0 nm. Hasil identifikasi berat molekul fukosantin menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrophotometry* (LCMS) didapatkan hasil peak pada modus negatif (M-H)<sup>-</sup> : 657.46.

### 5.2 Saran

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

## DAFTAR PUSTAKA

- Agilent Technologies. 2001. **Basics LCMS.** [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem). USA.  
Diakses tanggal 20 Mei 2011
- Anis, E. 2008. **Pigmen Sebagai Zat Pewarna dan Antioksidan Alami.** UMM Press. Malang
- Anonymous. 2009. **Shimadzu UV Vis Photodiode Array Spectrophotometer Multispec 1501.** [www.antteknik.com](http://www.antteknik.com). diakses tanggal 23 Juni 2009
- \_\_\_\_\_. 2010<sup>a</sup>. **Sargassum filipendula.** [www.itis.gov](http://www.itis.gov). Diakses tanggal 26 Juni 2010
- \_\_\_\_\_. 2010<sup>b</sup>. **Kromatografi Kolom.** [www.scribd.com](http://www.scribd.com). Diakses tanggal 20 Juni 2010
- \_\_\_\_\_. 2011<sup>a</sup>. **Berat Molekul.** [www.infogue.com](http://www.infogue.com). Diakses tanggal 20 Januari 2011
- \_\_\_\_\_. 2011<sup>b</sup>. **Berat Molekul.** [www.google.com](http://www.google.com). Diakses tanggal 20 Januari 2011
- Amirin, T.M. 2009. **Penelitian Eksploratori (Efksploratif).** [www.tatangmanguny.wordpress.com](http://www.tatangmanguny.wordpress.com). diakses tanggal 25 Juni 2009
- 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
- Asai, A., T. Sugarawa, H. Ono, and A. Nagao (dalam Agustina et al., 2008). 2004. **Biotransformation of Fucoxanthinol Into Amarouciaxanthin in Mica and HEPG2 Cell : Formation and Cytotoxicity of Fucoxanthin Metabolites.** Drug Metabolism and Disposition Hal 205-211
- Asyhar. 2010. **Kromatografi, Kolom dan Lapis Tipis.** <http://asyharstf08.wordpress.com>. Diakses tanggal 09 Juli 2011
- Atmadja, W. 2007. **Apa Rumput Laut Itu Sebenarnya?.** <http://www.coremap.or.id/print/article.php?id=264>, diakses Tanggal 31 juli 2010
- Bachtiar, E. 2007. **Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) Sebagai Biotarget Industri, Makalah.** Universitas Padjadjaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Jatinangor. Bandung
- 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. **Carotenoids Volume 1A: Isolation and Analysis.** Birkhäuser Verlag, Basel, Boston. Berlin
- Chen, Y. A. 2008. **Anabolisme : Fotosintesis.** [www.drveggiebandresearch.blogspot.com](http://www.drveggiebandresearch.blogspot.com). Diakses Tanggal 5 Juni 2009
- Chemwiki. 2010. **ESI.** <http://www.chemwiki.com>. Diakses tanggal 20 Desember 2010
- Clark, J. 2007. **Kromatografi Lapis Tipis.** <http://www.chem-is-try.org>. Diakses tanggal 13 April 2009
- Christiana, R; A.B Susanto; dan L. Limantara. 2008. **Analisis Pigmen Ekstrak Aseton Rumput Laut *Udotea sp*, *Amphiora rigida*, dan *Turbinaria conoides*.** Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Hal.194-210
- Davis, T.A., B. Volesky, dan A. Mucci. 2003. **A Review Of The Biochemistry Of Heavy Metal Biosorption By Brown Algae.** Water Research 37 (2003) Hal 4311-4330
- Day, R.A and Underwood. 1998. **Analisis Kimia Kuantitatif.** Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka
- Dewi, J. R., T. Estiasih dan E. S. Murtini. 2007. **Aktivitas Antioksidan Dedak Sorgum Lokal Varietas Coklat (*Sorghum bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut.** Jurnal Teknologi Pertanian, Vol. 8 No. 3. Desember 2007
- Departemen Kelautan dan Perikanan Sumenep. 2007. **Rumput Laut.** [www.dkp.go.id](http://www.dkp.go.id). Diakses tanggal 07 September 2007
- Ensiklopedia. 2009. **Algae-algae and Their Characteristic, Types of Algae, Ecological Relationship, Factors Limiting The Productivity of Algae.** [www.science.jrank.org](http://www.science.jrank.org). Diakses Tanggal 4 Juni 2009
- Eva. 2008. **Budidaya Rumput Laut.** [www.w3.org](http://www.w3.org). Diakses tanggal 15 Februari 2009
- Fathiyyah. 2009. **Berat Molekul.** [www.google.com](http://www.google.com). Diakses tanggal 29 Agustus 2010
- Gross, J. 1991. **Pigments In Vegetables Chlorophylls and Carotenoids.** An Avi Book. New York
- Guenther, E. Diterjemahkan oleh Ketaren. 1987. **Minyak Atsiri.** Penerbit UI Press. Jakarta
- Hadiprabowo, T. 2009. **Optimasi Sintesis Analog Kurkumin 1,3-BIS-(4-Hidroksi-3-Metoksi Benzilidin) Urea Pada Rentang pH 3-4.** Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Handayani, T., Sutarno dan A.D Setyawan. **Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* IJ.** Agardh. Biofarmasi 2 (2) Hal: 45:52

- Harborne, J. B. 1984. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.** Penerbit ITB. Bandung
- Hart, H. 1983. **Kimia Organik.** Houngton Mifflin Co. Michigan State University. USA. Alih Bahasa Dr. Suminar Achmadi Ph. D. Erlangga. Jakarta
- Hanum, T. 2000. **Ekstraksi dan Stabilitas Zat Pewarna Alami dari Katul Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*).** Buletin Teknologi dan Industri Pangan
- 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
- Hirota, Nozomu dan Akiki Kumagai. 1990. **Pigmen Composition of Cholrophyll-Protein Compex and Seasonal Variason Of Pigemn in the brown Algae *Hizikia Fusiformis***
- Huda, N. 2001. **Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis. GBC911A Menggunakan Pewarna Tartrazine CL 19140.** Bidang Evaluasi dan Pengembangan Keselamatan Instalasi. Sigma Epsilon
- Hui, Y. H. 1992. **Encyclopedia of Foods Science & Technology. Vol 2.** A Willey Interscience Publication. John Willey & Sons Inc. New York
- Indraswari, A. 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- 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
- \_\_\_\_\_. 1997. **Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Method.** UNESCO Publishing. Paris
- Jenie, B.S.L., K. D Mitrajanty dan S. Fardiaz. 1997. **Produksi Konsentrat dan Bubuk Pigmen Angkak Dari *Monascus purpureus*.** Buletin Teknologi dan Industri Pangan No.7
- Junianto, 2006. **Rendemen dan Kualitas Algin Hasil Ekstraksi Alga (*Sargassum sp*) dari Pantai Selatan Daerah Cidaun Barat.** Jurnal Bionatura Vol 8 N0. 2 Juli 2006 : 152-160
- Kadi, A. 1989. **Peranan Rumput Laut Sebagai Salah Satu Bahan Baku Industri Penunjang Kesehatan.** Makalah Seminar nasional Obat-Pangan dari Laut LON-LIPI. Jakarta

- \_\_\_\_\_, A. 2008. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia.** Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta
- Kazakevich, Y., dan R. LoBrutto. 2007. **HPLC For Pharmaceutical Scientists.** Wiley. New Jersey
- Kisman, S dan Slamet Ibrahim. 1998. **Analisis Farmasi.** Jogjakarta: Gajah Mada University Press (Terjemahan dari Roth, H.J. and G. Blaschke. 1981. **Pharmazeutische Analytik.** Stuttgart: Georg Thieme Verlag Herdweg)
- Khopkar, S.M., 2003. **Konsep Dasar Kimia Analitik,** UI Press, Jakarta
- Komara, A. 1991. **Mempelajari Ekstraksi Oleoresin dan Karakteristik Mutu Oleoresin dari Bagian Cabe Rawit (*Capsicum frutescens, L*) dalam Anam, C. (2000). **Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu.** Tesis. Universitas Brawijaya. Malang**
- Kovuttikulrangsie, S., dan J. T. Sakdapipanich. 2005. **The Molecular weight (MW) and Molecular Weight Distribution (MWD) of NR from Different Age and Clone Hevea Trees.** Songklanakarin Journal Sci. Technology, Vol. 27 No. 2 Maret-April 2005
- Lenny, S. 2006. **Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp.** USU repository
- Lide.Ed. 2010. **Handbook of Chemistry and Physics.** CRC Press. Boca Rato. Hal 8-141
- 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
- Maryam, R. 2007. **Metode Deteksi Mikotoksin.** Jurnal Mikol Kedokteran Indonesia Vol 7 No.1-2, 2007 : 12-24
- Moriwaki, H., Hagiwara, A., Takasaki, M., Izumi, F., Watanabe, A., Kurabayashi, N., Totani, Y., and Suzuki, Y. 2010. **Electrospray Ionization-Mass Spectrometric Measurement of Sake, Traditional Japanese Alcohol Beverage, for Characterization.** Analytical Sciences March 2010, Vol.26. The Japan Society for Analytical Chemistry
- Muamar, H. A. 2009. **Termostabilitas Pigmen Fukosantin, Klorofil a dan Ekstrak Kasar *Padina australis* dan *Sargassum polycystum* Terhadap Suhu dan Lama Pemanasan yang Berbeda.** Skripsi. Program Studi THP Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Nadinah. 2008. **Kinetika Inhibisi Ekstrak Etanol Seledri (*Apium graveolens L.*) dan Fraksinya Terhadap Enzim Xanthin Oksidase Serta Penentuan Senyawa Aktifnya.** Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Nurcahyanti, A. D. R dan L.Limantara. 2007. **Fotodegradasi Ekstrak Kasar, Klorofil a dan Fucoxanthin *Padina australis* dan *Dyctyota crenulata*.** Prosiding Back To Nature dengan Pigmen Alami. Hal : 224- 241



- Nurcahayati, 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. N., L. Limantara dan Susanto A.B. 2008. **Komposisi Dan Fotostabilitas Pigmen Rumput Laut *Padina australis* Hauck Dari Kedalaman Yang Berbeda.** Departemen Biologi, Universitas Airlangga. Surabaya
- Oryza oil & Fat ChemicalCo.LTD. 2009. **Fucoxantin.** 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
- Perry. 1984. dalam Syaflan dan Hastuti. 2002. **Ekstraksi Oleorisin Suatu Alternatif Untuk Memberikan Nilai Tambah Bagi Vanili.** Seminar PATPI. Malang
- Pikir, S. 1989. **Kimia Dasar.** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Airlangga. Airlangga University Press
- Pine, S.H., Hendrickson, J.B., Cram D.J., and Hammond G.S. 1988. **Kimia Organik 1.** Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Prangdimurti, E. 2007. **Pigmen Alami.** Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Qadri, A. 2010. **Isolasi Artonin E Dari Ekstrak Etilasetat Kulit Kayu Kluwih (*Artocarpus communis* J.R. & G.).** Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Rivai, H. 1995. **Azaz Pemeriksaan Kimia.** UI Press. Jakarta
- Saputro, A.A. 2009. **Optimasi Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 1,3-Bis-(4-Hidroksi-3,5 Dimetilbenzilidin) Urea Pada Rentang pH 3-4.** Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Sastrohamidjoyo, H. 2002. **Kromatografi.** Liberty. Yogyakarta
- Savitri, Nike Dwi dan Veronica, 2007. **Proses Produksi DiEtil Eter dengan Dehidrasi Etanol pada fase cair.** Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponogoro. Semarang
- Scheflan., Leopold dan Morns B. Jacobs. 1983. **Bioactive Properties of Wild Blueberry Fruits.** Journal Food Sciences
- 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 Herman and T. C Morili. 1980. **The Systematic Identificatin of Organic Compounds.** 6<sup>nd</sup> Edition. John Willey and Sons Inc. Singapore
- Singarimbun, M. dan Effendi, S. 1989. **Metode Penelitian Survai.** Edisi Revisi. LP3ES. Jakarta
- Soebagyo, Endang, B., Sodiq, I. Hayuni, R.W, dan Munzil.2005. **Kimia Analitik I.** Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang.
- Stevens, M.P. 2001. **Kimia Polimer.** Pradnya Paramita. 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
- Suhanda, H. 2010. **Dasar-Dasar Kromatografi.** <http://file.upi.edu>. Diakses Tanggal 05 Juni 2011
- Sukardjo. 1997. **Kimia Fisika.** Rineka Cipta. Jakarta
- Syahputra, M. R dan L. Limantara. 2007. **Peranan Karotenoid dalam Fotosintesis.** Organisme, Vol 2 (1): 148-155
- Toto, Z. A. D, P. Rahayu, F. F. Karwur, dan L. Limantara. 2006. **Identifikasi dan Isolasi Pigmen Karotenoid Berbagai Jenis Kuning Telur Unggas.** Organsime, Vol I (2) : 100-110
- Voight, R. 1994. **Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie 5<sup>th</sup> Edition.** (Terjemahan S. Noerono). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Wahyuni, R.H. 2009. **Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 3,6-Bis-(4'-Hidroksi-3',5'-Dimetilbenzilidin)-Piperazin-2'-5'-Dion dengan Katalis HCl.** Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Warkoyo. 2008. **Metode Ekstraksi carrageenan Dari Rumput Laut Asal Pantai Sumenep Madura Jenis *Eucheuma spinosum*.** Universitas Muhammadiyah Malang
- Warsito. 2007. **Metode Isolasi dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman.** Disampaikan pada Workshop :Skrinning Senyawa Bioaktif
- Watson D.G. 2010. **Analisis Farmasi Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi Edisi 2.**Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Halaman 372 – 375

Widiyarti, G., dan M. Hanafi. 2008. Pengaruh Konsentrasi Katalis dan Perbandingan Molaritas Reaktan Pada Sintesis Senyawa  $\alpha$ -Monolaurin. Reaktor Vol 12 No. 2, Desember 2008. Hal. 90-97

Widjayanti, L. 2009. Studi Komposisi Pigmen Dan Kandungan Fukosantin Pada Alga Coklat (*Sargassum duplicatum*, *Sargassum polycystum*, *Sargassum filipendula*, *Padina australis*, dan *Turbinaria conoides*). Skripsi. Program Studi THP Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang

Widodo, N. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Yang Terkandung Dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang

Wikipedia. 2010. Fraksinasi. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 September 2010 pukul 13.00 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>a</sup>. Fukosantin. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 12.45 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>b</sup>. Pelarut. <http://www.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 10 Januari 2011 pukul 12.45 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>c</sup>. Metanol. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 12.45 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>d</sup>. Dietil Eter. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 12.45 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>e</sup>. Etil Asetat. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 12.45 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>f</sup>. Heksana. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 12.45 WIB

\_\_\_\_\_. 2011<sup>g</sup>. Biomolekul. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 10 Juni 2011 pukul 12.00 WIB

Winarno. 1990. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta

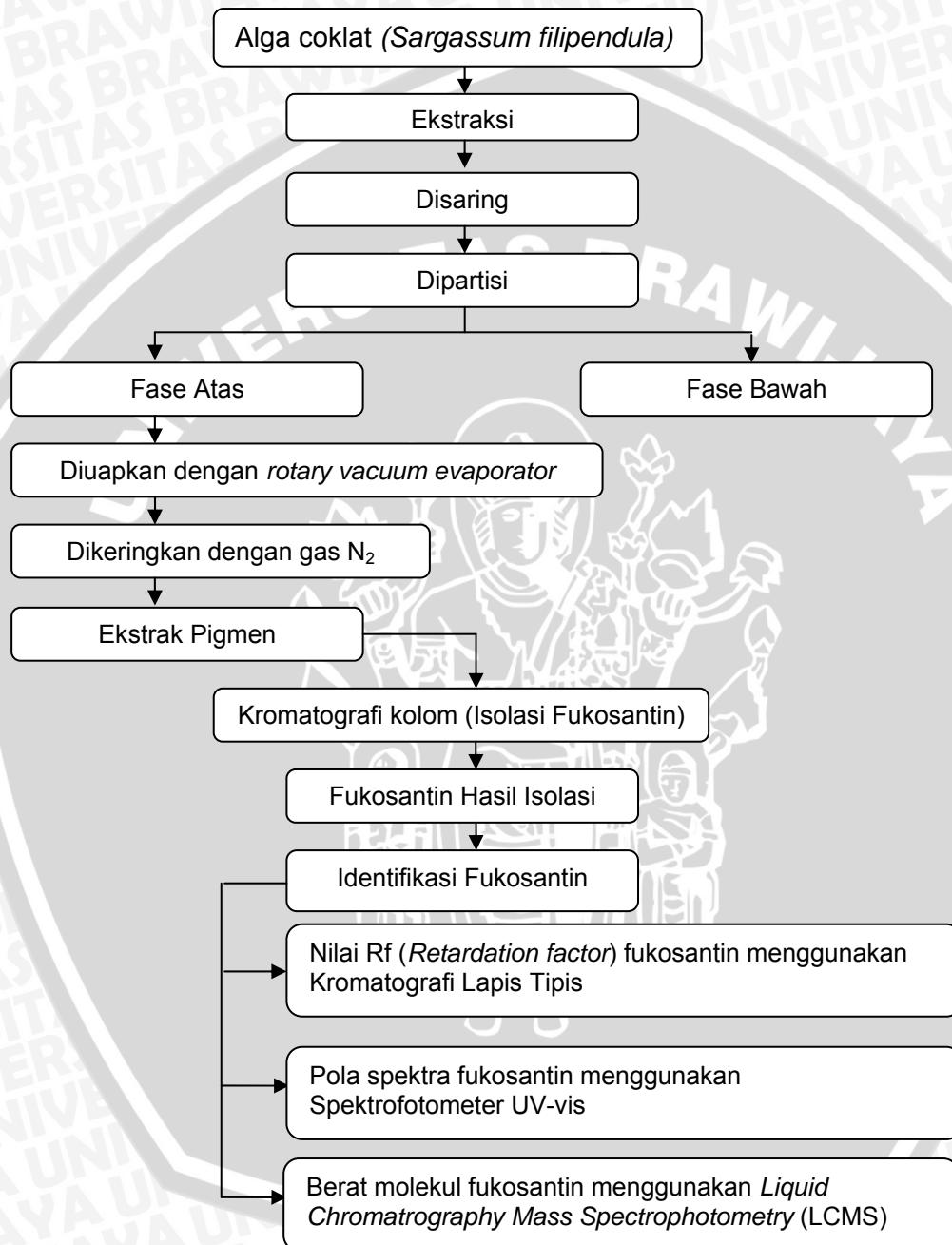
Yan, X., Y. Chuda, M. Suzuki and T.Nagata. 1999. Fucoxanthina as The Mayor Antioxidant in *Hijika fujiformia*, a Common Edible Seaweed. Biochem Vol 63(3), 605-607

Yunizal. 1999. Teknologi Pengolahan Alginat. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta

Zipcodezoo. 2010. Klasifikasi *Sargassum filipendula*. [www.zipcodezoo.com](http://www.zipcodezoo.com). Diakses tanggal 16 Agustus 2010

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pigmen Fukosantin



**Lampiran 2. Bukti Hasil Uji Berat Molekul Fukosantin**

LABORATORIUM PENGUJI  
BALAI PENGEKAJIAN BIOTEKNOLOGI  
BADAN PENGEKAJIAN DAN PENERAPAN TEKNOLOGI  
Gd. 630 Kawasan Puspittek Serpong 15314  
Tel : 021-756-3120  
Fax : 021-756-0208  
E-mail : lab\_biotekbppt@yahoo.com

F405.10-2.1 ; Ed 3 ; Rev 0

**SERTIFIKAT HASIL UJI**

Nama pelanggan : Raja Roza Tirta

Halaman : 1 dari 1

Alamat pelanggan: Universitas Brawijaya Malang

Tanggal penerimaan: 1 November 2010

Jenis Bahan Uji : Ekstrak kering

Tanggal pengujian : 15 November 2010

Tanggal Sertifikat : 22 November 2010

No.	Kode Sampel	Metode	Parameter	Hasil	Keterangan
1	Fucoxanthin	Direct LC-MS modus positif dan negative	Modus positif: Capillary voltage: + 1800V, cone voltage: +60V Modus negatif: Capillary voltage: - 1800V, cone voltage: -60V	Senyawa fucoxanthin	Hasil MS spectra modus negatif: $(M-H)^{-}$ : 657.46 Modus positif: $(M+Na)^{+}$ : 681.39

Lampiran: 2 halaman

- MS spectra positif dan negatif dengan m/z 150-1000
- MS Spectra positif dan negatif dengan m/z 600-700 (perbesaran)

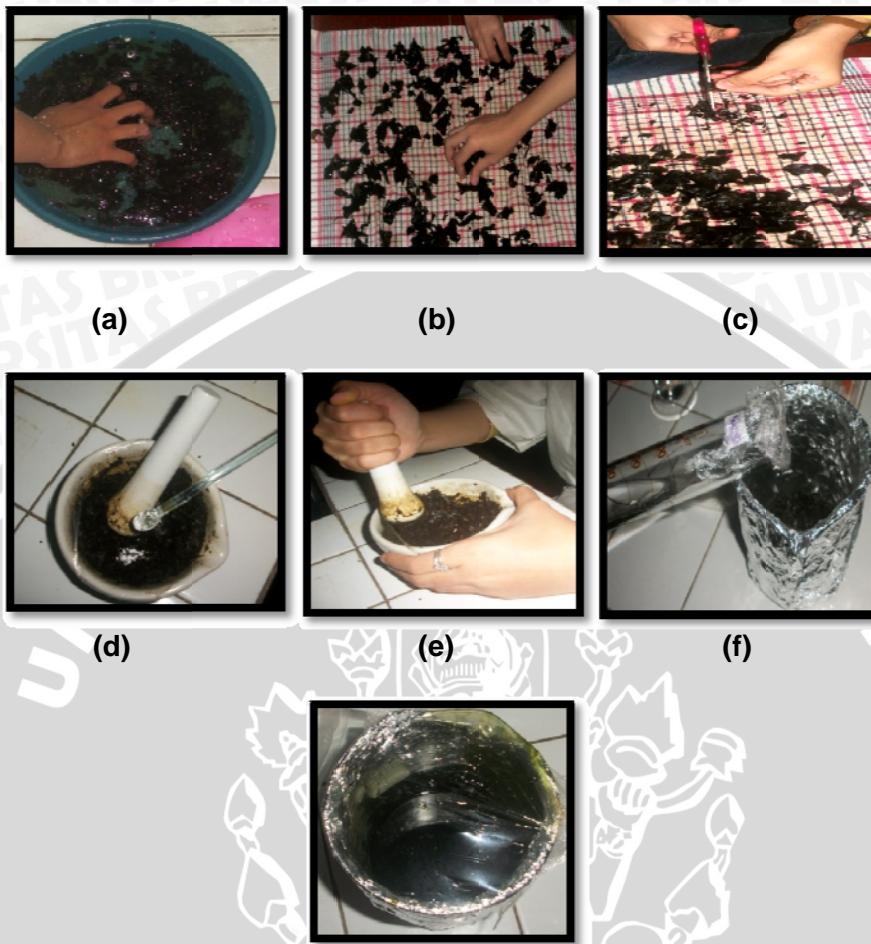
Penanggung jawab

Laboratorium LC-MS

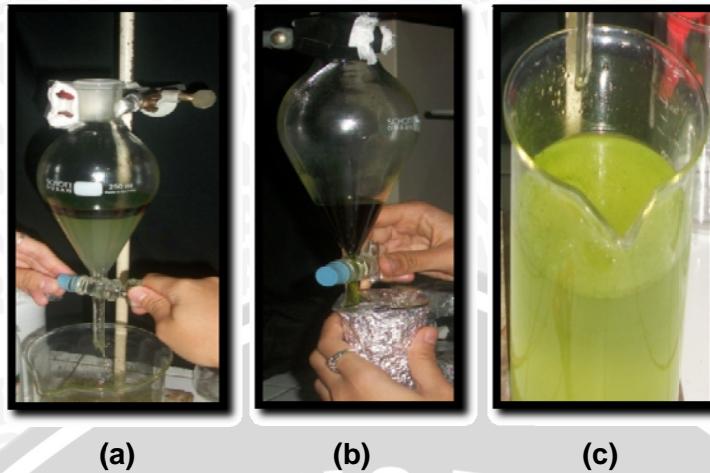


Dr.rer.nat. Anis H. Mahsunah, M.Sc.

Hasil yang terdapat pada sertifikat ini hanya berlaku untuk sampel yang diuji.  
Sertifikat ini sah bila telah dibubuh cap Balai Pengkajian Bioteknologi – BPPT dan ditandatangani oleh pejabat  
yang berwenang.

**Lampiran 3. Gambar Proses Penelitian****Gambar 1. Proses Ekstraksi**

- (a). Pencucian alga coklat
- (b). Pengeringan alga coklat
- (c). Pemotongan alga coklat
- (d). Penambahan CaCO<sub>3</sub>
- (e). Penumbukan alga coklat
- (f). Penambahan pelarut
- (g). Proses ekstraksi (perendaman)



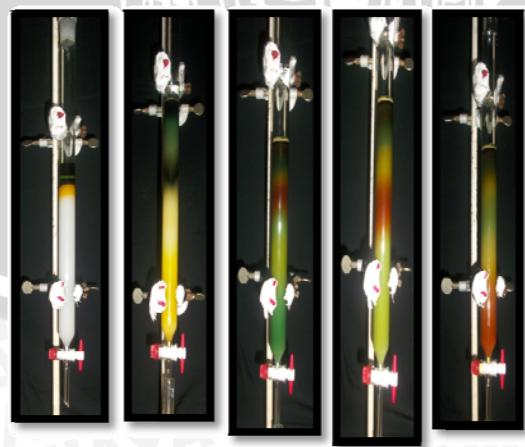
(a) (b) (c)

**Gambar 2. Proses Fraksinasi**

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



**Gambar 3. Proses Evaporasi dan Pengeringan Sampel dengan Gas N<sub>2</sub>**



**Gambar 4. Proses Kromatografi Kolom**

#### Lampiran 4. Data dan Perhitungan Kadar Fukosantin

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Absorbansi	Kadar Fukosantin ( $\mu\text{g}$ fukosantin/g)
<i>Sargassum filipendula</i>	1	25	0,7565	2,5692
	2	25	0,6924	2,3515
Standar deviasi				2,460 ± 0,15394

#### Perhitungan Kadar Fukosantin (Gross, 1991)

$$\mu\text{g fukosantin/g} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times G}$$

dimana : A = Absorbansi tertinggi

V = Total volume pelarut yang ditambahkan saat pengenceran

G = Berat sampel

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$  = Koefisien absorbansi (ketetapan)

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$  aceton = 1060,  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  methanol = 2500,  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  etanol = 1140

#### Absorbansi 0,7565

$$\mu\text{g fukosantin/g} = \frac{0,7565 \times 9 \times 10^6}{1060 \times 100 \times 25} = 2,5692$$

#### Absorbansi 0,6924

$$\mu\text{g fukosantin/g} = \frac{0,6924 \times 9 \times 10^6}{1060 \times 100 \times 25} = 2,3515$$



**Lampiran 5. Data dan Perhitungan Rendemen Fukosantin**

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Volume Ekstrak (ml)	Kadar Fukosantin ( $\mu\text{g}$ fukosantin/g)	% Rendemen
<i>Sargassum filipendula</i>	1	25	345	2,5692	0,071
	2	25	345	2,3515	0,065
Standar Deviasi					$0,068 \pm 0,004243$

**Perhitungan Rendemen Fukosantin (Gross, 1991)**

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{kadar crude fukosantin} \times \text{fp} \times \text{volume ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

fp = faktor pengenceran

**Rendemen 1**

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,5692 \mu\text{g/g} \times 20 \times 345 \text{ ml}}{25 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100\% = \frac{17727,48}{25 \times 10^6} \times 100\% = 0,071\%$$

**Rendemen 2**

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,3515 \mu\text{g/g} \times 20 \times 345 \text{ ml}}{25 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100\% = \frac{16225,35}{25 \times 10^6} \times 100\% = 0,065\%$$

## Lampiran 6. Pembuatan Larutan

### Larutan Ekstraksi

Metanol : Aseton (7 : 3 v/v) dalam 450 ml

$$\text{Metanol} = \frac{7}{10} \times 450 \text{ ml} = 315 \text{ ml}$$

$$\text{Aseton} = \frac{3}{10} \times 750 \text{ ml} = 135 \text{ ml}$$

### Larutan Kolom

- Heksan : Etil Asetat (8 : 2 v/v) dalam 200 ml

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

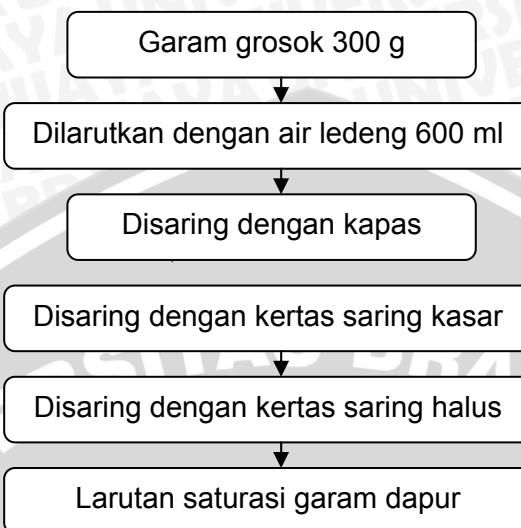
$$\text{Etil Asetat} = \frac{5}{10} \times 200 \text{ ml} = 100 \text{ ml}$$

### Larutan KLT

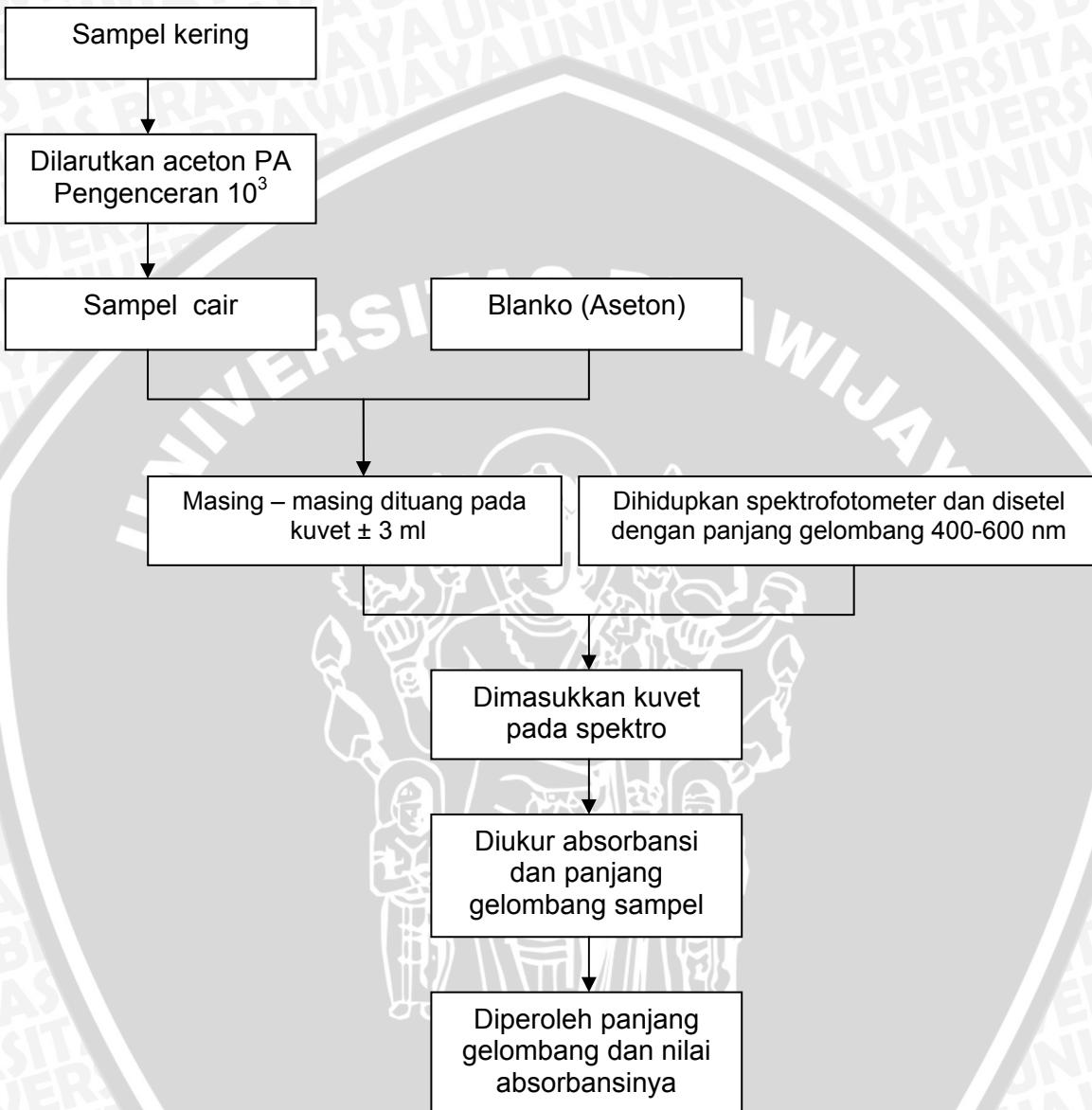
Heksan : Aseton (7 : 3 v/v) dalam 5 ml

$$\text{Heksan} = \frac{7}{10} \times 5 \text{ ml} = 3,5 \text{ ml}$$

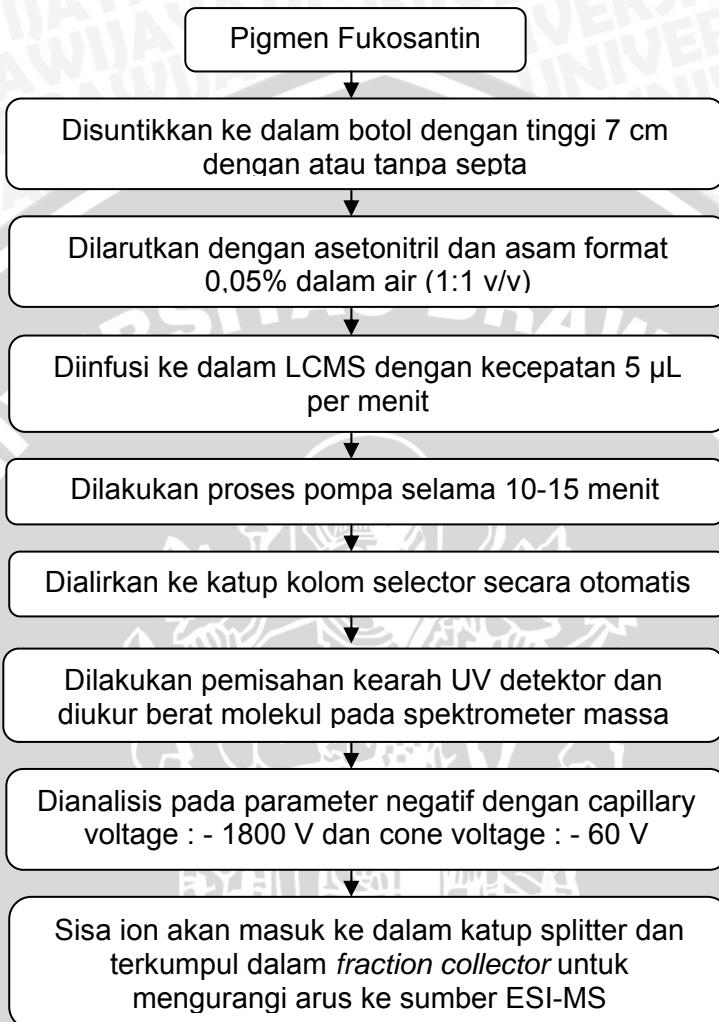
$$\text{Aseton} = \frac{3}{10} \times 5 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

**Lampiran 7. Pembuatan Saturasi Garam**

Lampiran 8. Prosedur Analisa Panjang Gelombang dengan Spektrofotometer UV-1601 (Jenie, et al., 1997)



Lampiran 9. Prosedur Analisa Berat Molekul dengan (Sangeetha, et al., 2009) yang dimodifikasi oleh LCMS BPPT (2010)



**Lampiran 10. Data Kromatografi Kolom**

Tabung Ke-	Menit	Warna	Pelarut	ml Pelarut	Jumlah Pelarut Tiap Tabung	Senyawa
(22/12/10) 1	14.48	Kuning	Heksan : Etil asetat 8 :2	100 ml		β - Karoten
2	15.35	Kuning				β - Karoten
3	15.57	Kuning muda				
4	16.09	Kuning bening				
5	16.40	Kuning bening				
6	17.15	Bening hijau				
7	17.33	Bening kehijauan				
8	18.14	Hijau				
9	18.50	Hijau keabuan				
10	18.58	Hijau keabuan				
11	19.14	Hijau keabuan				
12	19.16	Hijau keabuan				
13	19.45	Bening kehijauan	Heksan : Etil asetat 7:3 (1)	100 ml		
14	20.04	Bening kehijauan				
15	20.18	Bening kehijauan				
16	20.24	Bening kehijauan				
17	20.38	Kuning bening				
18	20.51	Bening (kuning bening)				
(23/12/10) 19	09.15	Kuning bening ke hijau muda				
20	09.27	Kuning bening ke hijau muda				
21	09.38	Hijau bening				
22	09.53	Hijau muda				Klorofil
23	10.00	Hijau muda				Klorofil
24	10.11	Hijau muda	Heksan : Etil asetat 7:3 (2)	100 ml		Klorofil
25	10.21	Hijau muda				Klorofil
26	10.29	Hijau muda				Klorofil
27	10.36	Hijau				Klorofil
28	10.43	Hijau	Heksan : Etil asetat 7:3 (3)	100 ml		Klorofil

29	10.52	Hijau				Klorofil
30	10.56	Hijau				Klorofil
31	11.01	Hijau				Klorofil
32	11.12	Hijau				Klorofil
33	11.18	Hijau				Klorofil
34	11.24	Hijau				Klorofil
35	11.32	hijau				Klorofil
36	11.45	Hijau				Klorofil
37	11.57	Hijau tua	Heksan : Etil asetat 6:4 (1)	100 ml		Klorofil
38	12.20	Hijau tua				Klorofil
39	12.54	Hijau tua				Klorofil
40	13.17	Hijau kekuningan				
41	13.31	Kuning				
42	13.37	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
43	13.43	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
44	13.48	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
45	13.56	<b>Kuning orange</b>	Heksan : Etil asetat 6:4 (2)	100 ml		Fukosantin
46	13.05	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
47	14.14	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
48	14.23	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
49	14.30	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
50	14.36	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
51	14.45	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
52	14.50	<b>Kuning orange</b>				Fukosantin
53	14.53	Kuning				
54	14.56	Kuning				
55	14.59	Kuning				
56	15.06	Kuning				
57	15.10	Kuning muda				
58	15.26	Kuning muda				
59	15.47	Kuning muda				
60	15.57	Kuning muda				
61	16.09	Kuning muda				
62	16.21	Kuning muda				
63	16.47	Kuning muda				
64	15.26	Kuning muda				
65	15.47	Kuning muda				
66	15.57	Kuning muda				