IDENTIFIKASI TITIK LELEH FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT (Sargassum filipendula) MENGGUNAKAN MELTING POINT APPARATUS

LAPORAN SKRIPSI PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN

> Oleh: LUSIA WIDYANI NIM. 0710830041



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2011

IDENTIFIKASI TITIK LELEH FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT (Sargassum filipendula) MENGGUNAKAN MELTING POINT APPARATUS

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: LUSIA WIDYANI NIM. 0710830041



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2011

IDENTIFIKASI TITIK LELEH FUKOSANTIN DARI ALGA COKLAT (Sargassum filipendula) MENGGUNAKAN MELTING POINT APPARATUS

Oleh: LUSIA WIDYANI NIM. 0710830041

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

Dosen Penguji II

Menyetujui, Dosen Pembimbing I

RAHMI NURDIANI, S.Pi, M.App.Sc Tanggal:

<u>Dr. Ir.HARTATI KARTIKANINGSIH,MS</u> Tanggal :

Dosen Pembimbing II

I<u>r. KARTINI ZAELANIE, MP</u> Tanggal :

> Mengetahui Ketua Jurusan MSP,

<u>Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, MS</u> Tanggal :

RINGKASAN

LUSIA WIDYANI. Laporan Skripsi dengan judul Indentifikasi Titik Leleh Fukosantin dari Alga Coklat (*Sargasssum filipendula*) Menggunakan Melting Point Apparatus (di bawah **bimbingan Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** dan **Ir. Kartini Zaelanie, MP**)

Pigmen merupakan molekul khusus yang dapat memunculkan warna dan mampu menyerap cahaya matahari dan memantulkannya pada panjang gelombang tertentu (Prangdimurti, 2007). *Sargassum filipendula* merupakan salah satu spesies dari alga cokelat (*Phaeophyta*). Umumnya alga cokelat tersebut mengandung berbagai pigmen baik dari golongan karotenoid maupun golongan khlorofil. Fukosantin merupakan salah satu jenis dari karotenoid yang memiliki rumus C₄₂H₅₈O₆. Fukosantin mampu mengabsorbsi energi warna hijaubiru dan melewatkannya ke klorofil untuk proses fotosintesis, aktivitas tersebut ditunjukkan dengan sifat absorbsi pada panjang gelombang 400-540 nm (Nurdiana dan Limantara 2008). Fukosantin berwarna oranye, termasuk kelompok santofil dari karotenoid. Pigmen ini banyak ditemukan pada beberapa spesies alga coklat. Dipandang dari segi kimianya, fukosantin tersusun atas 7 ikatan rangkap terkonjugasi. Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan pigmen mudah dirusak oleh degradasi oksidatif seperti zat kimia, enzim, suhu, oksigen, dan cahaya (Gross, 1991).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Fakultas MIPA, dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2010 sampai dengan Januari 2011.

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksploratif. Metode eksploratif bertujuan untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga setelah melalui tahap observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan (Singarimbun dan Effendi, 1989). Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Pangestuti, et al (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). Fraksinasi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Pangestuti, et al (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). Modifikasi yang dilakukan berupa variasi perbandingan konsentrasi pelarut untuk menurunkan pigmen. Isolasi pigmen dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silica gel fase gerak heksan: etil asetat.

Dari hasil penelitian menggunakan kromatografi kolom didapatkan 66 eluat pigmen dimana pigmen fukosantin terdapat pada tabung no 42 hingga 52. Rf fukosantin yang didapatkan masing-masing yaitu 0,28 dengan satu spot berwarna orange. Identifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis didapatkan panjang gelombang (λ) untuk pelarut aseton yaitu 446,5 nm dan 446 nm. Hasil identifikasi titik leleh fukosantin menggunakan *Melting Point Apparatus* didapatkan hasil yaitu titik leleh fukosantin 163-164°C, 162-163°C dan 163-164°C. Untuk pengolahan fukosantin diharapkan panas pengolahan tersebut tidak melebihi tingginya derajat titik leleh fukosantin sehingga fukosantin tidak rusak.

KATA PENGANTAR

Atas berkat rahmat dan karunia Allah SWT, penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul Identifikasi Titik Leleh Fukosantin dari Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) Menggunakan Melting Point Apparatus. 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. Ir. Kartinie Zaelanie, MP, selaku dosen pembimbing II dan Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I yang telah dengan sabar membimbing.
- 3. Papa, Mama, dek Dika, dan dek Inaz atas doa dan seluruh dukungannya.
- 4. Mentor saya, Bapak Imron, yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
- 5. Mbak Shanti, Mas Charda, dan Mbak Ima yang selalu membantu penelitian kami dari awal hingga akhir.
- Teman-teman tim pigmen yang selalu bersama-sama, Tirta, Angga, dan
 Datik terima kasih atas semangat dan kerja keras kalian.
- 7. Teman, sahabat, yang sudah membantu, dan memberikan dorongan.

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

Hala	man
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	V
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.5 Waktu dan Tempat	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga Coklat	4
2.2 Komposisi Kimia untuk Alga Coklat	5
2.3 Pigmen pada Alga Coklat	6
2.4 Fukosantin	7
2.5 Manfaat Fukosantin	8
2.6 Titik Leleh	9
2.7 Ekstraksi	10
2.8 Pelarut	12
2.8.1 Metanol	13
	14
2.8.2 Aseton	15
2.8.4 Detil Eter	15
2.8.5 Haksana	16
2.9 Fraksinasi	16
2 10 Khromatografi Kolom	17
2.10 Khromatografi Kolom	18
2.12 Spektrofotometer UV-Vis 1601	20
2.13 Melting Point Apparatus	22
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian.	23
3.1.1 Bahan Penelitian	23
3.1.2 Alat Penelitian	23
3.2 Metode Penelitian	
3.3 Prosedur Penelitian	
3.3.1 Persiapan Sampel	
3.3.2 Ekstraksi Alga Coklat	
3.3.3 Fraksinasi Alga Coklat	26
3.3.4 Isolasi Fukosantin	27
3.3.5 Identifikasi Pigmen Fukosantin	
3.3.5.1 Kromatografi Lapis Tipis	29
3.3.5.2 Pengukuran Pola Spektra Fukosantin	30
3.3.5.3 Pengukuran Titik Leleh Fukosantin	31
0.0.0.0 i diiganarar run Lolori i anobariur	01

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian4.2 Pembahasan	36
4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Khromatografi Lapis Tipis (KLT)	38
4.2.2 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometer UV VIS	39
4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan Analisa Titik Leleh	41
4.2.4 Rendemen Fukosantin	43
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan5.2 Saran	44 44
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Та	abel	Halam	nan
	Komposisi Kimia Alga Coklat		5
2.	Kandungan Mineral pada Alga Coklat		6
	Pigmen yang Terkandung dalam Alga Coklat		6
4.	Konstanta Dielektrium Bahan-Bahan Pelarut		13
5.	Sifat-sifat Metanol		14
6.	Sifat-sifat Aseton		15
7.	Sifat-sifat Etil Asetat		15
8.	Sifat-sifat Dietil Eter		16
9.	Penyerap-Penyerap untuk Kromatografi Lapis Tipis		19
10). Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin		36
11	. Titik Leleh Fukosantin		42
	2. Jarak Temperatur Pelelehan		42



DAFTAR GAMBAR

Gar	mbar Halar	nan
1.	Sargassum filipendula	5
2.	Struktur kimia Fukosantin	7
3.	Perubahan Fase pada Suatu Zat	9
4.	Metode Kromatografi Lapis Tipis	20
5.	Spektrofotometer UV-Vis 1601	21
6.	Melting Point Apparatus	22
7.	Ekstraksi dan Fraksinasi	33
8.	Pemurnian Fukosantin dengan Kromatografi Kolom	34
9.	Kromatografi Lapis Tipis	35
10.		37
11.	Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi	38
12.	Hasil KLT Pigmen Fukosantin pada tabung ke 42 dan 52	38
13.	Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi dalam Aseton	
	(Sampel Ulangan Pertama)	39
14.	Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi dalam Aseton	
	(Sampel Ulangan Kedua)	40
15.	Pola Spektra Pigmen Fukosantin	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

- 1. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pigmen Fukosantin
- 2. Bukti Hasil Uji Titik Leleh Fukosantin
- 3. Data Kadar Fukosantin
- 4. Perhitungan Kadar Fukosantin
- 5. Data Rendemen Fukosantin
- 6. Perhitungan Rendemen Fukosantin
- 7. Pembuatan Larutan
- 8. Pembuatan Saturasi Garam
- 9. Prosedur Analisa Panjang Gelombang dengan Spektrofotometer UV-1601
- 10. Prosedur Uji Titik Leleh Melting Point Apparatus Buchi 503
- 11. Preparasi Sampel Alga Coklat
- 12. Prosedur Ekstraksi Alga Coklat
- 13. Prosedur Fraksinasi
- 14. Evaporasi dan Pengeringan dengan Nitrogen
- 15. Prosedur Isolasi dengan Kromatografi Kolom
- 16. Identifikasi Fukosantin Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis
- 17. Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometer UV-vis
- 18. Identifikasi Fukosantin Menggunakan Mlting Point Apparatus



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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).

Rumput laut disebut juga dengan *sea weed* merupakan tanaman fotosintetik tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun. Wujudnya tampak seperti ada perbedaan, tetapi sesungguhnya merupakan bentuk *thallus* saja (Winarno, 1990). Salah satu jenis rumput laut yaitu alga coklat. Alga coklat mengandung pigmen klorofil (klorofil *a* dan klorofil *c*) dan kaya akan pigmen karotenoid (fukosantin, β-karoten) (Atmadja, *et al.*, 1996; dan Aslan, 1998). Ditambahkan oleh Pangestuti *et al* (2007), fukosantin merupakan pigmen dominan yang dimiliki alga coklat yang memberikan warna coklat pada seluruh bagian *thallus*. Pigmen klorofil terdapat dalam kloroplas bersama-sama dengan karotenoid dan santofil (Anis, 2008).

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). Pigmen ini dapat diperoleh dengan cara ekstraksi bahan-bahan alami seperti akar, batang, dan daun (Limantara dan

Rahayu, 2008). Fukosantin berwarna oranye dan termasuk kelompok santofil (Nurcahyanti dan Timotius, 2007). Menurut Gross (1991), golongan santofil (fukosantin) bersifat lebih semi polar dibandingkan dengan karoten.

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 Rf 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 kepolarannya, Menurut Gross (1991), golongan santofil (fukosantin) bersifat lebih polar dibandingkan dengan karoten. Titik leleh merupakan salah satu sifat fisik yang penting untuk mengetahui karakterisasi suatu senyawa (Iqmal *et al*, 2002). Pengukuran titik leleh pada padatan dapat digunakan memberikan informasi tentang karakteristik fisik zat (Hornback, 2006). Untuk mengetahui titik leleh suatu senyawa, maka dapat dilakukan suatu identifikasi menggunakan *Melting Point Apparatus*.

Sampai sejauh ini belum banyak penelitian yang melakukan identifikasi pigmen fukosantin khususnya identifikasi titik leleh. 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 *Reterdation Factor*. Identifikasi ini digunakan untuk mengetahui karakteristik fisik fukosantin yang dihasilkan dari proses isolasi. Analisa titik leleh pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dilakukan dengan menggunakan *Melting Point Apparatus*. Identifikasi tentang karakteristik fisik pigmen fukosantin ini diharapkan bisa membantu pengembangan serta pemanfaatannya kedepan.

1.2 Rumusan Masalah

Uji titik leleh merupakan salah satu identifikasi fukosantin selain menggunakan kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometer UV-vis. Pengukuran titik leleh dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang karakteristik fisik suatu zat (Hornback, 2006). Oleh karena itu perlu dilakukan identifikasi fukosantin dari hasil isolasi alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan cara uji titik leleh, maka perumusan masalah dari penelitian ini adalah yaitu berapakah derajat titik leleh dari fukosantin yang berasal dari alga coklat *Sargassum filipendula*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan melihat dari hasil pola spektra dan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-vis, menghitung nilai Rf pada KLT serta derajat titik lelehnya.

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 derajat titik lelehnya sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2010 sampai dengan Januari 2011 di 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 adalah thallus yang berwarna pirang atau coklat. Alga coklat hidup melekat pada batu atau bongkahan karang dan dapat terlepas dari substratnya karena ombak besar dan hanyut ke permukaan laut atau terdampar di atas permukaan pantai (Yunizal, 1999). Alga coklat memiliki pigmen dominan 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, suhu perairan 27,25°C – 29,30°C (Atmadja, 2007).

Alga *Sargassum* termasuk alga coklat yang tumbuh hampir di semua perairan pantai di Indonesia (Kadi, 2000). Habitat rumput laut Sargassum tumbuh di perairan pada kedalam 0,5 – 10 m ada arus dan ombak (Hartono, 2008). Marga *Sargassum* memiliki sekitar 400 species yang tersebar di seluruh dunia, sedangkan di Indonesia baru 12 spesies yang telah diketahui diantaranya adalah *Sargassum filipendula* (Kadi dan Atmadja, 2008). Ciri-ciri *Sargassum filipendula* adalah berbentuk thallus, cabangnya rimbun menyerupai pohon, bentuk daun melebar, mempunyai gelembung udara, panjangnya mencapai 7 meter, dan warna thallus umumnya coklat. *Sargassum filipendula* ini hidup melekat pada batu karang dan dapat terlepas dari substratnya apabila ombak besar dan hanyut dipermukaan laut atau terdampar di permukaan pasir pantai (Hartono, 2008). *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada Gambar 1 dan klasifikasi *Sargassum filipendula* (Zipcodezoo, 2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Phaeophyta

Class : Phaeophyceae

Ordo : Fucales

Family : Sargassaceae

Genus : Sargassum

Spesies : Sargassum filipendula



Gambar 1. Sargassum filipendula (Zipcodezoo, 2010)

2.2 Komposisi Kimia Alga Coklat

Alga coklat memiliki dinding sel yang terdiri atas selulosa dan polisakarida (Ensiklopedia, 2009). Menurut Eva (2008), alga coklat mengandung cadangan makanan berupa laminarin, selulosa, alginat dan banyak mengandung iodium. 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 alga coklat dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 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
lod	0,1-0,8
Brom	0,03-0,14

Sumber: Winarno (1990)

2.3 Pigmen pada 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 mengandung pigmen karotenoid (terutama β -karoten) (Anis, 2008). Karotenoid dibedakan menjadi 2 kelas utama, yaitu karoten dan xantofil. Karoten seperti α , β , γ karoten dan xantofil seperti fukosantin, zeaxanthin, lutein. Alga coklat memiliki pigmen yang khas yang tidak dimiliki tumbuhan darat, yaitu klorofil c dan fukosantin (Pangestuti, *et al.*, 2007). Xantofil lebih polar dibandingkan karoten. Karotenoid mempunyai fungsi utama dalam fotosintesis, yaitu sebagai pigmen asesoris yang berperan dalam menangkap cahaya (Gross, 1991). 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
Santhofil	Sedikit kuning
Karoten	Kuning

Sumber: (Strain et al,. 1943)

2.4 Fukosantin

taksonomi, rumput laut coklat diklasifikasikan kedalam divisi Secara Phaepyta dengan ciri khas warna coklat pada seluruh bagian thallus. Warna ini disebabkan oleh adanya pigmen fukosantin yang dikandungnya yang tergolong karetenoid xantofil (Nurdiana dan Limantara, 2008). Fukosantin memiliki rumus molekul C₄₂H₅₈O₆ dengan berat molekul 658,91g/mol (Wikipedia, 2009). fukosantin memiliki titik leleh pada suhu 163-164°C (Heriyanto dan Limantara, 2010). Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin. Pada alga coklat, fukosantin merupakan karotenoid utama karena kandungan fukosantin dapat mencapai lebih dari 50% dari total karotenoid. Fukosantin berwarna oranye termasuk kelompok santofil dari karotenoid (Nurcahyanti dan Timotius, 2008). Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida di dalam molekulnya (Maeda et al., 2008). Fukosantin juga memiliki 2 gugus hidroksil (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 (Jeffrey, et al,. 1997)

Fukosantin yang merupakan golongan karotenoid berfungsi sebagai pigmen pelengkap pada proses fotosintesis. Selain itu juga berfungsi sebagai agen proteksi terhadap kelebihan cahaya. Aktivitas fukosantin tersebut ditunjukkan oleh sifat absorbsi 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, disimpan ditempat tertutup dan tidak tembus cahaya tetapi labil bila ada oksigen atau terkena sinar ultra violet (Anis, 2008).

2.5 Manfaat Fukosantin

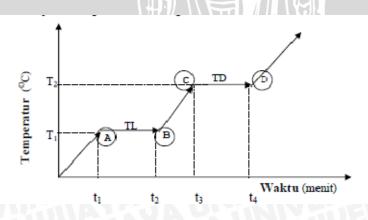
Fukosantin memiliki aktivitas untuk mencegah obesitas dan diabetes, mencegah dan memerangi kanker (kanker usus besar, kanker usus halus, kanker darah, kanker prostat dan kanker hati), pencegah oksidasi pada tubuh, mencegah penyumbatan pembuluh darah dan memerangi implamasi (Oryza Oil and Fat Chemical, 2010). Menururt Miyashita (2009), fukosantin adalah salah satu karakteristik karotenoid yang ditemukan dalam rumput laut coklat, yang menunjukkan efek sebagai anti obesitas. Ditambahkan oleh Pangestuti, et al., (2007) fukosantin memiliki efek farmotologi yang sangat penting. Pigmen ini sangat potensial sebagai obat dan suplemen karena dapat berperan sebagai antioksidan.

2.6 Titik Leleh

Titik leleh (*melting point*) dari suatu senyawa adalah rentang suhu yang merujuk pada saat proses perubahan senyawa tersebut antara fasa padat dan fasa cair. Suhu titik leleh adalah suhu di mana material mencair pada tekanan atmosfer (Iqmal, *et al.*, 2002). Fase – fase titik leleh terdiri dari tiga tahap yaitu; (a) *onset point* adalah suhu di mana fasa cair pertama kali muncul pada kristal, (b) *meniscus point* adalah ketika fase padat berada di bawah dan fase cair di atas dengan meniskus didefinisikan dengan baik. dan (c) *clear point* adalah fase ketika zat menjadi benar-benar cair (Schornick, 2011).

Pengukuran titik leleh pada padatan dapat digunakan memberikan informasi tentang karakteristik fisik zat (Hornback, 2006). Menurut Menurut Wan (2011), beberapa faktor yang mempengaruhi dapat mempengaruhi kisaran titik leleh meliputi ukuran kristal, jumlah kristal, tingkat pemanasan, kekeringan kristal.

Suatu material apabila diberikan perlakuan panas secara terus menerus maka temperaturnya akan bertambah, dan pada keadaan tertentu temperaturnya menjadi konstan dengan syarat pada tekanan konstan pula. Pada temperatur konstan tersebut, panas yang terabsorbsi oleh zat digunakan untuk melakukan perubahan wujud. Proses perubahan wujud zat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3. Perubahan fase pada suatu zat

Berdasarkan gambar 3 nilai T1 pada sumbu temperatur menunjukan titik leleh, sedangkan t1 menunjukan waktu zat mulai meleleh dan pada saat t2 seluruh zat tepat meleleh semua dari padatan. Jika kalor terus menerus diberikan maka suhu zat akan naik, sehingga pada saat t3 temperatur mencapai harga T2. Pada temperatur tersebut nilainya tetap meskipun kalor terus-menerus diberikan, hal tersebut terjadi karena sedikit demi sedikit zat cair mulai berubah menjadi gas. Peristiwa demikian dikatakan bahwa zat cair itu mendidih, dan suhu T2 disebut titik didih. Titik didih (TD) suatu zat adalah harga temperatur saat sejumlah zat cair berubah seluruhnya menjadi uap jika dipanaskan pada tekanan konstan. Sedangkan titik leleh (TL) adalah harga temperatur saat sejumlah zat padat berubah seluruhnya menjadi zat cair jika dipanaskan pada tekanan konstan (Mulyatno *et al.*, 1992).

2.7 Ekstraksi

Proses ekstraksi adalah proses pengeluaran sesuatu zat dari campuran zat, dengan jalan menambahkan bahan ekstraksi tepat pada waktunya. Pemisahan yang diinginkan dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat yaitu dapat larutnya antara bagian – bagian campuran dari suatu campuran zat pada bahan pelarut (Wanto dan Romli, 1977). Proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Pada fase pencucian terjadi penyatuan cairan ekstraksi, melalui rusaknya sel-sel zat yang diekstrak atau terusaknya dengan operasi penghalusan, langsung kontak dengan bahan pelarut. Diharapkan komponen sel yang terdapat dalam sel lebih mudah diambil atau dicuci. Fase ekstraksi yaitu suatu peristiwa yang memungkinkan terjadinya pelintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel, sehingga bahan ekstraksi mencapai ke dalam sel. Mengalirnya pelarut ke sel menyebabkan

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

Menurut Warsito (2007), mengekstraksi suatu zat dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu menggunakan metode maserasi atau metode perendaman, metode perlokasi, destilasi uap, dan sokhletasi. Maserasi adalah proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada suhu ruang (Lenny, 2006). Maserasi merupakan cara penyarian yang relatif lebih sederhana bila dibandingkan metode lainnya. Hal ini dikarenakan cara pengerjaanya sederhana dan peralatannya yang mudah diusahakan (Indraswari, 2008). Prinsip dari proses maserasi ini adalah mengambil senyawa target dengan cara merendam atau memecah glukoprotein (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). Mengalirnya bahan pelarut ke dalam ruang sel menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Gaya yang bekerja adalah adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang mula-mula masih tanpa bahan aktif yang mengelilinginya. Bahan kandungan sel akan mencapai ke dalam cairan di sebelah luar selama difusi melintasi membran sampai terbentuknya keseimbangan konsentrasi antara larutan di sebelah dalam dan larutan di sebelah luar sel (Voigt, 1994).

Ditambahkan oleh Widodo (2007), maserasi merupakan metode perendaman sampel dengan pelarut organik yang memiliki molekul relatif kecil. Pada umumnya maserasi bertingkat digunakan karena lebih efisien bila

BRAWIJAYA

dilakukan berulang kali dengan jumlah pelarut lebih kecil dari pada bila jumlah pelarutnya banyak tetapi mengekstraknya hanya sekali.

Hal pertama yang berpengaruh dalam ekstraksi yaitu 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. Karena hal ini 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. Dalam pemilihan pelarut harus melarutkan ekstrak yang diinginkan saja dan mempunyai kelarutan yang besar (Rivai, 1995). Penggunaan pelarut harus memiliki kepolaran sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diekstrak (Dwi, et al., 2007). Pelarut polar hanya akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut non polar juga atau disebut "like dissolves like" (Shriner, et al., 1980).

Menurut Somaatmadja (1981), ada dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut mempunyai daya larut tinggi dan pelarut tidak berbahaya, atau tidak beracun. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi antara lain: pelarut untuk ekstraksi polar (air, etanol, metanol, dan sebagainya), pelarut untuk ekstraksi semi polar (etil asetat, diklormetana, dan sebagainya), dan pelarut untuk ektraksi non polar (heksana, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya) (Sa'ad, 2009).

Bahan-bahan dan senyawa kimia akan mudah larut dalam bahan pelarut yang sama polaritasnya dengan bahan yang akan dilarutkan. Polaritas bahan dapat berubah karena adanya perubahan kimiawi. Secara fisika, tingkat polaritas dapat ditunjukan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum suatu bahan pelarut. Semakin besar konstanta dielektrikum suatu bahan pelarut disebut semakin polar. Tabel berikut menunjukan polaritas bahan pelarut dan angka konstanta dielektrikumnya (Sudarmadji, *et al.*,2007).

Tabel 4. Konstanta Dielektrikum Bahan-Bahan Pelarut

Bahan	Konstanta Tingka		Konstanta Tingkat kelarutan dalam air		
Pelarut	Dielektrikum	Tak larut	Sedikit	Misible*	
n-heksan	1.89	Tak larut			Non-polar
Petroleum ether	1.90	Tak larut			Y
Dietilether	3.34	1 /	Sedikit		
Etilasetat	6.02	A Community	Sedikit	4	
Aseton	20.70			Misible	
Metanol	33.60		となり	Misible	
Air	80.40			Misible	Polar

Ket: Misibel = dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi Sumber: Sudarmadji, *et al.*, (2007).

Menurut Komara (1991), banyaknya pelarut yang akan digunakan mempengaruhi konsentrasi jenuh larutan selama ekstraksi, makin banyak pelarut yang digunakan makin banyak zat terlarut yang terekstrak. Salah satu ciri penting pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat atau senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan/kutub dalam ruangan hampa dengan gaya yang bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut (Rivai, 1995).

2.8.1 Metanol

Metanol dahulu dibuat dari kayu melalui penyulingan dan kadang dinamakan alkohol kayu. Kata metil bersal dari bahasa Latin (*methy* = anggur, *yle* = kayu). Tetapi sekarang metanol dibuat dari karbon monoksida dan oksigen.

BRAWIJAYA

Metanol memiliki titik didih 65°C dan larut sempurna dalam air pada suhu 20°C (Hart, 1983).

Metanol dengan rumus molekul CH₃OH adalah zat kimia yang tidak berwarna, berbentuk cair pada suhu kamar, mudah menguap dan sedikit berbau ringan. Metanol merupakan zat kimia yang toksin (beracun) dan menyebabkan efek berbahaya bila dihirup atau tertelan (Pratiwi, 2010). Metanol banyak digunakan untuk anti pembekuan, pelarut, dan bahan bakar (Wikipedia, 2011^b). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Sifat-sifat Metanol

No.	Karakteristik	Metanol
1.	Rumus molekul	CH₃OH
2.	Sifat	Mudah terbakar, tidak berwarna
3.	Titik leleh	-97 °C
4.	Titik didih	64.7 °C
5.	Massa molar	32.04 g/mol
6.	Densitas	0,7918 g/cm³, cair
7.	Titik nyala	11°C
8.	Konstanta dielektrik	33

Sumber: Wikipedia (2011^a)

2.8.2 Aseton

Aseton adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Aseton digunakan sebagai pelarut aprotik polar dalam kebanyakan reaksi organik. Oleh karena polaritas aseton yang menengah, ia melarutkan berbagai macam senyawa atau larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter (Wikipedia, 2011^b). 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). Sifat-sifat aseton dapat dilihat pada Tabel 6 di bawah ini:

Tabel 6. Sifat-Sifat Aseton

No.	Karakteristik	Aseton
1.	Nama IUPAC	Phropanone
2.	Rumus molekul	CH ₃ 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,
1.6	ASP. OF	etanol, dietil eter
9.	Densitas	0,79 g/cm³, cair

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

2.8.3 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus C₄H₈O₂. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis (Wikipedia, 2011^d). Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel (Harborne, 1987). Sifatsifat etil asetat dapat dilihat pada Tabel 7 di bawah ini :

Tabel 7. Sifat-sifat Etil Asetat

No.	Karakteristik	Etil Asetat
1.	Nama IUPAC	Etil Acetat
2.	Rumus molekul	$C_4H_8O_2$
3.	Sifat	Cairan tidak berwarna
4.	Titik lebur	−83.6 °C (189.55 K)
5.	Titik didih	77.1 °C (350.25 K)
6.	Massa molar	88.12 g/mol
7.	Densitas	0.897 g/cm³
	Konstanta dielektrik	6.0
	0.4.01.1 11 0.0.4.4.0	

Sumber; (Wikipedia,2011^d

2.8.4 Dietil Eter

Dietil eter, adalah cairan mudah terbakar yang jernih, tak berwarna, dan bertitik didih rendah serta berbau khas. (Wikipedia, 2011°). Dietil eter digunakan sebagai pelarut karena pelarut ini memiliki kelarutan yang tinggi terhadap minyak, lemak, resin selain itu dietil eter mudah menguap pada kondisi

BRAWIJAYA

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	$C_4H_{10}O_1C_2H_5OC_2H_5$
3.	Sifat	Mudah menguap,tidak berwarna
5.	Titik leleh	-116.3 °C (156.85 K)
6.	Titik didih	34.6 °C (307.75 K)
7.	Massa molar	74.12 g/mol
8.	Densitas	6.9 g/100 ml (20 °C
9.	Visikositas	0.224 pada 25 °C
10.	Konstanta dielektrik	4.3

Sumber: Wikipedia (2011^e)

2.8.5 Heksana

Heksana memiliki rumus molekul C_6H_{14} , berat jenis 0.6548 g/mL dalam keadaan cair, daya larut dalam air 13 mg/L at 20°C, titik didih 69 °C (342 K), dan titik beku -95 °C (178 K) (Wikipedia, 2011^f). Heksana merupakan pelarut organik bersifat non polar. Pelarut heksana banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa polar (Channel, 1998).

2.9 Fraksinasi

Istilah partisi/fraksinasi (pemisahan) atau distribusi (penyebaran) sering dipakai untuk menggambarkan bagaimana suatu senyawa memisah diantara dua medium yang tak saling melarutkan (Sudarmadji, 1996). Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

Metode fraksinasi pelarut biasanya menggunakan dua pelarut yang tidak campur didalam corong pisah. Pada metode ini komponen terdistribusi dalam dua pelarut berdasarkan perbedaan koefisien partisi. Metode partisi juga disebut

penyarian cair-cair, yaitu proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur (Sholihah, 2010).

2.10 Khromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah suatu metode pemisahan dan pemurnian senyawa dalam skala preparatif. Kromatografi kolom dapat dilakukan pada tekanan atmosfer atau dengan tekanan lebih besar dengan menggunakan bantuan tekanan luar (Khopkar, 1990). Ditambahkan Kisman dan Ibrahim (1998), kromatografi kolom digunakan untuk mendapatkan hasil zat murni secara preparatif dari campuran, untuk pemisahan zat pada penentuan kuantitatif. Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase diam dan cairan (pereaksi) sebagai fase bergerak (Adnan 1997). 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). Fasa gerak pada kromotografi 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).

Pengisian kolom adalah tidak mudah untuk memperoleh pengisian kolom yang homogen; tetapi perlu dicoba hingga mendapatkan hasil yang maksimum. Pengisian yang tidak teratur dari penyerap akan mengakibatkan merusak batasbatas pita kromatografi. Putusnya penyerap dalam kolom biasanya disebabkan oleh gelembung-gelembung udara selama pengisian. Untuk mencegah hal-hal tersebut sedapat mungkin zat pengisi/penyerap dibuat menjadi "bubur" dengan

pelarut kemudian dituangkan perlahan-lahan dalam tabung. Jika penyerap dibiarkan turun perlahan-lahan dapat ditolong dengan mengguncang perlahan-lahan maka akan diperoleh pengisian yang homogen (Sastrohamidjojo, 2002).

Menurut Asyhar (2010), kromatografi kolom bertujuan untuk mengisolasi komponen senyawa organik dari campurannya. Pada kromatogarfi kolom digunakan kolom dengan adsorben sillika gel karena kolom yang dibentuk dengan silika gel memiliki tekstur dan struktur yang lebih kompak dan teratur. Silica gel ada 2 macam; (a) GF245, dengan G melambangkan gypsum (CaSO4), F melambangkan floroscene, dan angka 245 menunjukkan besarnya panjang gelombang yaitu, 245 nm. Silika jenis ini sering digunakan pada kromatografi lapis tipis (TLC). (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.

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).

2.11 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan yang menggunakan plat atau lempeng kaca yang sudah dilapiskan adsorben yang bertindak sebagai fasa diam. Fase bergerak ke atas sepanjang fase diam dan terbentuklah kromatogram (Khopkar, 1990). Kromatografi lapis tipis secara

umum dianggap sebagai metode pemisahan sederhana, cepat, dan murah, saat ini digunakan terutama untuk pemeriksaan awal untuk memberi dan indikasi jumlah dan variasi pigmen hadir dan membantu dalam pemilihan pemisahan yang sesuai dan prosedur pemurnian untuk analisa lebih lanjut. Khromatografi lapis tipis mempunyai kelebihan yang khas dibandingkan dengan kromatografi kertas yaitu keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya (Widodo, 2007). Ditambahkan oleh Warsito (2007), selain dapat dimanfaatkan untuk metode pemisahan 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. Menurut Sastrohamidjojo (2002), beberapa contoh penyerap yang digunakan untuk pemisahan-pemisahan dalam kromatografi lapisan tipis adalah sebagai berikut:

Tabel 9. Penyerap-Penyerap untuk Kromatografi Lapisan 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 animo, alkaloid, nukleotida.
- Pati	- Asam-asam amino.
- Sephadex	- Asam-asam amino, protein.

Identifikasi pigmen secara kualitatif dilakukan dengan cara menghitung nilai *retardation factor* (Rf) (Jeffrey, *et al.*, 1997). Rf merupakan jarak titik pusat bercak dari titik awal penotolan/jarak garis depan pengembang dari titik awal penotolan. Harga Rf untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga Rf yang diperoleh hanya berlaku

untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan, meskipun demikian daftar dari harga-harga Rf untuk berbagai campuran dari pelarut dan penyerap dapat diperoleh (Hadiprabowo, 2009). Nilai Rf *retardation factor* untuk setiap warna dapat dihitung dengan rumus :



Gambar 4. 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 (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).

Menurut Apriyantono, *et al.*, (1989), panjang gelombang maksimum absorptifitas molar (ε) dapat ditentukan dengan menggunakan hukum *lambert-beer* yaitu $\mathbf{A} = \varepsilon \cdot \mathbf{b} \cdot \mathbf{C}$, dimana A adalah absorbansi, yang mana absorbansi tidak mempunyai satuan, karena $A = log_{10} P_0 / P$, ε adalah absorbtivity molar dengan satuan mol L ⁻¹ cm ⁻¹,b adalah diameter kuvet dengan satuan cm, dan $\mathbf{c} = k$ onsentrasi senyawa dalam larutan, dinyatakan dalam (mol L ⁻¹). Analisis ini

BRAWIJAYA

dapat digunakan yakni dengan penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur (Tahir, 2008).

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 pergesaran 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 *miliseconds*. Detektor yang digunakan pada multispec-1601 spektrofotometer adalah *Photo Diode Array* (*PDA*) (Anonymous, 2009 b). Gambar multispec-1601 spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 5.



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

2.13 Melting Point Apparatus

Melting point apparatus digunakan untuk pengukuran titik leleh atau titik leleh dari suatu senyawa yaitu untuk mengukur suhu pada saat perubahan dari fase padat ke fasa cair dari suatu zat. Desain luar dari melting point apparatus bisa bervariasi (Anonymous, 2007). Metode yang digunakan pada Melting Point Apparatus Buchi 530 yaitu menggunakan Metode Pipa Kapiler (Capillary Tube Method) dengan prinsip yaitu titik leleh ditentukan dengan memanaskan suatu penangas minyak dimana tabung kapiler (dengan sampel) telah ditempatkan. Tabung diamati dengan kaca pembesar. Titik leleh adalah suhu dimana pelelehan pertama dalam tabung kapiler terlihat hingga suhu dimana semua padatan menjadi cair. Penentuan kisaran titik leleh dilakukan secara visual (Apag, 2011). Gambar melting point apparatus dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. *Melting Point Apparatus Buchi 530* (Sumber: Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa bahan utama, bahan kimia dan bahan penunjang. Bahan utama yang digunakan adalah alga coklat *Sargassum filipendula* yang diperoleh dari dari Desa Padike, Kecamatan Talango, Sumenep Madura, sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah aseton grade PA (Pro Analisis), aseton teknis, CaCO₃, methanol PA, dietil eter PA, heksan PA dan etil asetat PA, air ledeng, *silica gel* 60, *silica gel* F-254, *cling warp*, kertas saring kasar, kertas saring halus, pasir laut (*sea sand*), kapas, gas nitrogen, akuades, saturasi garam dapur, pelat KLT, kertas label, dan garam grosok.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan terdiri dari peralatan untuk ekstraksi dan peralatan untuk analisa. Alat-alat yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah timbangan digital, mortar, nampan, gunting, gelas ukur 50 ml dan 100 ml, beaker glass 1000 ml, beaker glass 250 ml, kertas saring kasar, kertas saring halus, corong kaca, erlenmeyer 600 ml, erlenmeyer 250 ml, pipet volume 1 ml dan 10 ml, pipet tetes, spatula, *magnetic stirrer*, corong pisah, *hotplate*, *rotary vaccum evaporator* dan botol sampel. Peralatan yang digunakan untuk analisa meliputi kolom kromatografi, statif, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipa kapiler, pinset cawan petri, pipa kapiler, pensil, penggaris, beaker glass 100 ml, spektrofotometer multispec-1601 UV -Vis merek Shimadzu dan *melthing point apparatus* merk Buchi 530.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksploratif untuk mengidentifikasi titik leleh terhadap karakteristik fukosantin. Penelitian eksploratif bersifat menjelajah, artinya penelitian yang dilakukan apabila pengetahuan tentang gejala yang diteliti masih sangat kurang atau tidak ada sama sekali. Penelitian eksploratif seringkali berupa studi kasus dari suatu kelompok atau golongan tertentu, yang masih kurang diketahui orang (Yumei dan Yulia, 2009). 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

Sampel dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan dibilas dengan air tawar untuk menghilangkan garam yang berasal dari air laut, kemudian dikeringkan dengan menggunakan kain lap dan dimasukkan ke dalam plastik *polyback* hitam. Sampel disimpan dalam *cool box* yang berisi es dengan perbandingan 1:1. Setelah sampai kemudian di tempat tujuan, sampel disimpan ke dalam *freezer* sebagai tempat penyimpanan selanjutnya.

3.3.2 Ekstraksi Alga Coklat

Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode Pangestuti, et al (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). Alga coklat jenis Sargassum filipendula dicuci dengan air ledeng dan dibersihkan untuk

menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu untuk mengurangi kandungan air pada bahan, selanjutnya dipotong-potong sekitar 1 cm menggunakan gunting, dengan tujuan agar alga coklat cepat kering dan untuk memperluas permukaan alga coklat saat ekstraksi, kemudian alga coklat ditimbang sebanyak 25 gram menggunakan timbangan digital selanjutnya dihaluskan dengan mortar, dan ditambah ± 0,5 gr CaCO₃. Tujuan penambahan CaCO₃ yaitu untuk menetralkan alga coklat sehingga tidak bersifat basa, ini karena pigmen fukosantin yang terkandung dalam alga tidak tahan pada pH tertentu khususnya basa. Setelah ditambahkan CaCO₃ pada alga coklat, kemudian alga coklat diekstraksi menggunakan metode Muamar (2008) yaitu menggunakan bahan kimia methanol (CH₃OH) dan aseton (CH₃COCH₃) perbandingan (7:3) v/v sebanyak 450 ml. Tujuan dari penggunaan metanol karena pelarut metanol dapat melarutkan semua senyawa organik yang terkadung pada bahan, sedangkan aseton digunakan untuk mengangkat pigmen yang bersifat polar (pelarut yang cocok untuk fukosantin). Prosedur ekstraksi yang dilakukan yaitu pertama-tama disiapkan beaker glass 1000 ml yang bagian luarnya telah dilapisi alufo, selanjutnya alga coklat dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian dimasukkan berturut-turut pelarut metanol dan aceton. Setelah semua bahan masuk ke dalam beaker glass, kemudian beaker glass ditutup dengan cling warp dan dilapisi alufo, dan distirer. Selanjutnya alga coklat dimaserasi bertingkat selama 2 jam 45 menit sebanyak 4 kali perendaman. Maserasi pertama dilakukan selama 2 jam, dan maserasi ke 2,3, dan 4 masingmasing dilakukan selama 15 menit. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring halus kemudian disaring dengan kertas saring kasar. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan filtrat yang berupa cairan tanpa tercampur rumput laut. Prosedur ekstraksi alga coklat (Sargassum filipendula) dapat dilihat pada Gambar 7.

3.3.3 Fraksinasi Alga Coklat

Setelah proses penyaringan selesai dan diperoleh filtrat, kemudian filtrat difraksinasi menggunakan corong pisah. Tujuan dari fraksinasi ini yaitu untuk pemisahan agar terbentuk 2 lapisan berdasarkan berat jenis (berat jenis yang tinggi berada dibawah dan berat jenis yang rendah berada di atas). Fraksinasi pada penelitian ini menggunakan metode Pangestuti, et al (2008) yang telah dimodifikasi oleh Muamar (2009). Prosedur fraksinasi dilakukan dengan cara sampel hasil maserasi diukur dengan gelas ukur sebanyak 50 ml selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian dietil eter sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam corong pisah dengan menggunakan pipet volume. Dietil eter berguna untuk mengikat senyawa yang bersifat semi polar sehingga senyawa tersebut berada pada fase atas. Setelah sampel dan dietil eter tercampur, selanjutnya saturasi garam sebanyak 70 ml dimasukkan ke dalam corong pisah menggunakan pipet volume, selanjutnya larutan yang ada dalam corong pisah dikocok agar terpisah menjadi dua fase. Tujuan penambahan saturasi garam adalah agar pelarut lebih tertarik mengikat larutan saturasi yang memiliki keelektronegatifan dan keelektropositifan yang lebih tinggi dari pada senyawa target sehingga pelarut metanol dan aseton terikat pada saturasi garam dan berada di bawah. Apabila pemisahan antara kedua fase atas dan fase bawah masih tidak sempurna (terjadi saturasi/gelembung udara) maka dilakukan penambahan air ledeng secukupnya yang berguna untuk meningkatkan elektropositifan dan elektonegatifan sehingga pelarut lebih tertarik mengikat larutan saturasi garam dan air ledeng yang memiliki banyak mineral dan elektropositifan dan elektonegatifan yang lebih tinggi dari pada senyawa target sehingga pelarut methanol dan aceton terikat pada saturasi garam dan ikut terbuang.

Pada proses fraksinasi terbentuk dua fase yaitu fase atas dan fase bawah. Fase yang diambil pada fraksinasi adalah fase atas karena banyak mengandung pigmen sedangkan fase bawah tidak digunakan karena merupakan campuran methanol dan aseton. Hasil dari fase atas ditampung pada erlenmeyer kemudian *dirotary vacuum evaporator* pada suhu 30°C dengan kecepatan 100 rpm untuk menguapkan pelarut sampai volume berkurang. Filtrat kemudian dipindah dalam botol sampel dan dikeringkan dengan menggunakan gas nitrogen sampai menghasilkan ekstrak pigmen kering. Tujuan pengeringan filtrat dengan nitrogen adalah untuk menarik air dan pelarut yang ada pada ekstrak kasar. Kemudian ekstrak pigmen kering dibungkus dengan alumunium foil dan bagian penutup botol sampel dilapisi dengan *cling wrap* selanjutnya disimpan dalam *freezer*. Prosedur fraksinasi untuk isolasi fukosantin dapat dilihat pada Gambar 7.

3.3.4 Isolasi Fukosantin

Isolasi pigmen alga coklat (*Sargassum filinpendula*) dilakukan menggunakan kromatografi kolom. Kolom kromatografi yang digunakan mempunyai ukuran panjang (P) = 40 cm dan diameter (d) = 3 cm, menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2, v/v) ± 250 ml. Fase diam (*silica gel*) sebagai fase penjerap akan menahan komponen campuran yaitu dengan prinsip absorbsi pada silika gel dengan komponen senyawa tersebut sehingga komponen tertahan pada fase diam (*silica gel*), 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.

Silica gel ditimbang 40 gram menggunakan timbangan digital kemudian dilarutkan kedalam fase gerak heksan : etil asetat (8:2, v/v) ± 250 ml dan distirer selama 1 jam dengan kecepatan 150 rpm agar tidak ada lagi gelembung udara

dalam silica gel dan silica gel tidak pecah ketika di dalam kolom. Selanjutnya kolom dipasang pada statif dan dimasukkan sedikit fase gerak menggunakan pipet volume 10 ml yang bertujuan untuk membasahi kapas yang akan dimasukkan ke dalam kolom. Selanjutnya kapas tipis dimasukkan ke dalam kolom hingga sampai ujung bawah kolom dengan bantuan lidi, kemudian ditambahkan fase gerak sampai hampir penuh. Bubur silica gel dimasukkan ke dalam kolom menggunakan corong pisah. Silica gel yang akan dimasukkan diaduk terus menerus menggunakan spatula agar tidak terdapat rongga udara di tengah tengah kolom. Bubur silica gel dimasukkan ke dalam kolom sampai mencapai ¾ tinggi kolom, Pemasukan silica gel dilakukan dengan cara ujung corong pisah ditempekan pada dinding kolom, kemudian corong pisah dibuka. Selama silica gel keluar dari corong pisah, ujung corong pisah digerakkan berkeliling kolom. Setiap cuplikan yang tertinggal pada dinding kolom, dicuci dengan pelarut, menggunakan bantuan pipet volume. Selanjutnya ditambahkan sea sand (pasir laut) dan kertas saring ke dalam kolom yang berfungsi sebagai penyaring kotoran yang terdapat dalam sampel. Setelah silica gel (fese diam) dan fase gerak masuk ke dalam kolom, kemudian kedua fase tersebut didiamkan selama 12 jam dengan 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 sempurnanya proses penjerapan oleh silica gel terhadap senyawa.

Tahap selanjutnya yaitu pemasukkan ekstrak sampel kering yang telah dilarutkan dengan 10 ml fase gerak heksan : etil asetat (8 : 2, v/v), ke dalam kolom secara perlahan-lahan menggunakan pipet volume 10 ml dengan cara ujung pipet ditempelkan pada dinding kolom dan terletak sedikit di atas permukaan penyerap. Hal tersebut bertujuan agar tidak merusak tekstur silica gel dan sea sand pada permukaan kolom. Setelah ekstrak meresap ke dalam

silica gel, selanjutnya dimasukkan fase gerak heksan : etil asetat sambil kran kolom yang berada pada bagian di bawah dibuka. Fase gerak akan mengalir kontinyu sehingga perlu menambahkan fase gerak (eluen) baru dari bagian atas kolom agar silica tidak kering yang dapat menyebabkan fase diam pecah atau retak. Fase gerak yang ditambahkan kedalam kolom ditingkatkan terus menerus kepolarannya dengan menaikan 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 non polar, sedangkan etil asetat merupakan pelarut semi polar (lebih polar daripada heksan) sehingga berfungsi untuk melarutkan pigmen yang semi polar. Hai ini dimaksudkan agar komponen dapat terpisahkan dengan baik. Kemudian fraksi yang keluar dari kolom ditampung pada tabung reaksi berdasarkan warnanya dan terus ditambahkan fase gerak sedikit demi sedikit pada kolom menggunakan pipet volume 10 ml, sampai didapatkan fraksi berwarna orange gelap karena untuk fukosantin biasanya bewarna orange gelap. Setiap fraksi terutama yang berwarna mirip orange dianalisis menggunakan KLT untuk mengidentifkasi apakah termasuk fukosantin dan kemurnian fukosantin tersebut. Prosedur isolasi pigmen alga coklat dengan kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 8.

3.3.5 Identifikasi Pigmen Fukosantin

3.3.5.1 Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi pigmen fukosantin menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bertujuan untuk mengidentifikasi kemurnian pigmen berdasarkan jumlah totol warna yang terbentuk dan nilai Rf. Fase diam yang digunakan pada khromatografi lapis tipis ini yaitu *silika gel* F-254 dan fase gerak heksan : aseton (7 : 3, v/v) (Pangestuti *et al.*, 2008). Tujuan pengunaan fase gerak heksan dan

BRAWIJAYA

aceton adalah untuk melarutkan senyawa yang tidak polar, polar maupun semi polar seperti fukosantin, sehingga senyawa tersebut dapat larut dan tertarik keatas sesuai tingkat kepolarannya.

Tahapan pertama yang dilakukan membuat garis pada pelat dengan menggunakan pensil 2B pada kedua ujung pelat, bagian bawah pelat berukuran 1 cm yang bertujuan untuk menunjukkan posisi awal fraksi ketika ditotolkan, sedangkan bagian atas pelat berukuran 0,5 cm sebagai batas yang ditempuh pelarut. Selanjutnya, fraksi dari kolom khromatografi yang telah ditampung dalam tabung reaksi diambil secukupnya menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan pada pada pelat KLT sambil ditiup-tiup sesekali agar fraksi yang ditotolkan cepat mengering dan membentuk bercak. Setelah bercak tersebut mengering, pelat dimasukkan dalam beaker glass yang telah berisi ± 5 ml fase gerak dan kertas saring yang sudah dipotong memanjang. Tujuan pemberian kertas saring tersebut adalah untuk mengetahui kehomogenan larutan didalam beaker glass. Selanjutnya beaker glass ditutup dengan cawan petri dan dibiarkan sampai pelarut bergerak mendekati garis atas, kemudian diambil dengan pinset tanpa menyentuh garis atas pelat. Selanjutnya hasil totol warna yang terbentuk pada pelat diamati dan dihitung nilai Rf-nya (retardation factor) (Jeffrey, et al., 1997). Prosedur Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada Gambar 9. Nilai Rf untuk setiap warna dapat dihitung dengan rumus :

R_f = <u>jarak yang ditempuh oleh komponen</u> jarak yang ditempuh oleh pelarut

3.3.5.2 Pengukuran Pola Spektra Fukosantin

Spektrofotometer digunakan untuk pengukuran pola spekta (serapan cahaya yang diabsorbsi) pigmen yang terkandung dalam alga coklat.

BRAWIJAYA

Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi pigmen yang diamati.

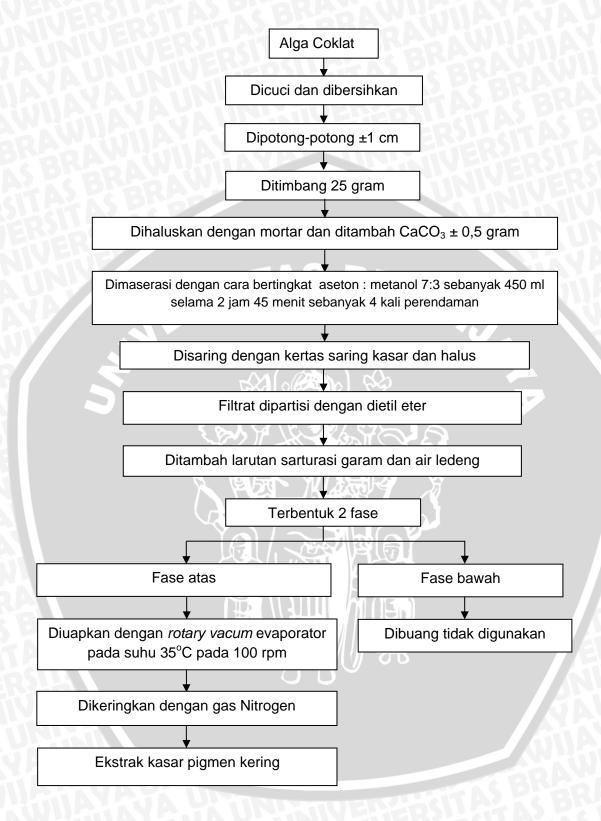
Fraksi hasil kromatografi kolom dalam tabung reaksi yang mana telah diuji KLT dan diyakini sebagai fukosantin berdasarkan warna dan nilai Rf-nya diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 30°C dan kecepatan 100 rpm, hingga ekstrak tersebut menjadi pekat, selanjutnya dikeringkan dengan gas nitrogen kemudian dilarutkan dengan aceton PA 100 % hingga pengenceran 10^3 kemudian dituang pada kuvet \pm 3 ml, selanjutnya kuvet 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).

3.3.5.3 Pengukuran Titik Leleh Fukosantin

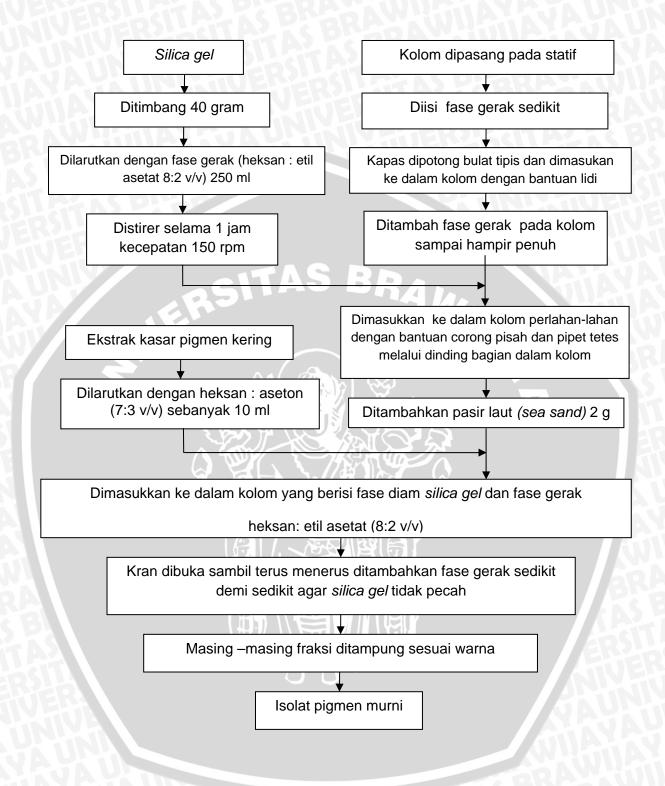
Analisa titik leleh pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dilakukan dengan *Melting Point Apparatus* merk Buchi 530 menggunakan Metode Pipa Kapiler (*Capillary Tube Method*) dengan prinsip yaitu titik leleh ditentukan dengan memanaskan suatu penangas minyak dimana tabung kapiler (dengan sampel) telah ditempatkan. Tabung diamati dengan kaca pembesar. Titik leleh adalah suhu dimana pelelehan pertama dalam tabung kapiler terlihat hingga suhu dimana semua padatan menjadi cair. Penentuan kisaran titik leleh dilakukan secara visual (Apag, 2011).

Analisa titik leleh pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dilakukan dengan *Melting Point Apparatus* Buchi. Analisis pigmen fukosantin dilakukan dengan cara sampel dimasukkan dalam tabung specimen (tinggi tabung specimen yaitu 75 mm dan diameter dinding 0,2 mm) setinggi 2 mm dari dasar tabung, tabung spesimen dimasukkan pada tempat tabung

spesimen, lalu tempat tabung spesimen letakkan *melting point apparatus*, Diatur set potensiometer pada suhu 153°C dan atur tombol utama pada posisi ON, Reset program temperatur dengan menekan tombol 0, kemudian setelah suhu minyak mencapai suhu 153°C pada set potensiometer kemudian tombol ditekan untuk kenaikan suhu yang diperlukan, sampel yang mencair diamati melalui kaca pembesar dan dibaca suhu dari termometer. Sampel diamati secara visual pada tiap fase pelelehan yaitu (a) *onset point* adalah suhu di mana fasa cair pertama kali muncul pada kristal, (b) *meniscus point* adalah ketika fase padat berada di bawah dan fase cair di atas dengan meniskus didefinisikan dengan baik. dan (c) *clear point* adalah fase ketika zat menjadi benar-benar cair. Selama sampel melewati fase-fase tersebut, sampel dicatat suhunya.



Gambar 7. Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat untuk Isolasi (Pangestuti, *et al.*, 2008) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009)



Gambar 8. Pemurnian Fukosantin dengan Kromatografi kolom (Pangestuti, et al., 2008) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009)

Gambar 9. 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 tititk leleh dengan *melting point apparatus* merk Buchi 530 dapat dilihat dari Tabel 10 berikut ini:

Tabel 10. Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin

	100			
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 (oranye)	Fukosantin berwarna kuning tua (oranye) (Jeffrey, et al., 1997)
2.	KLT	KLT	Rf 0,28	Rf fukosantin 0,25-0,28 Yan, et al.,(1999)
3.	Pola spektra	Spektrofotom eter UV-VIS 1601 Shimadzu	Dalam pelarut aseton panjang gelombang Ulangan 1: 446,5 nm Ulangan 2: 446.0 nm	Dalam pelarut Aseton (Jeffrey, et al., 1997) panjang gelombang 446.3 nm
4.	Titik Leleh	Melting Point Apparatus Buchi 530	Suhu titik leleh fukosantin ulangan 1 : 163-164°C ulangan 2 : 162-163°C ulangan 3 : 163-164°C	Suhu titik leleh fukosantin 163-164°C (Heriyanto dan Limantara 2010)
5.	Rendemen		0,068 % ± 0,004243	

4.2 Pembahasan

Dari 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 di*rotary 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 10.



Gambar 10. Pigmen fukosantin berwarna orange pada kolom bagian bawah

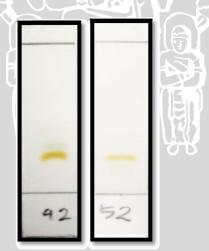
Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat pita pigmen fukosantin yang berwarna kuning tua (oranye). Hasil isolasi yang diperoleh yaitu 66 fraksi yang ditampung pada tabung reaksi sesuai warna masing-masing. Fraksi yang diduga pigmen fukosantin terdapat pada tabung 42,43,44,45,46,47,48,49,50,51 dan 52, 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 11 di bawah ini.



Gambar 11. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi

4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi pigmen fukosantin hasil kromatografi kolom dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui nilai *retardation factor* (Rf). Fase yang digunakan pada KLT ini yaitu menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : aseton (7:3 v/v). Hasil pengujian KLT pigmen fukosantin dapat dilihat pada Gambar 12 di bawah ini.



Gambar 12. Hasil KLT Pigmen Fukosantin pada tabung ke 42 dan ke 52

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-

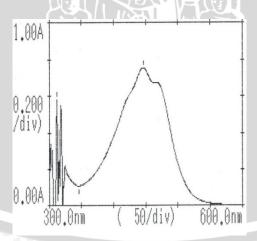
BRAWIJAYA

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.

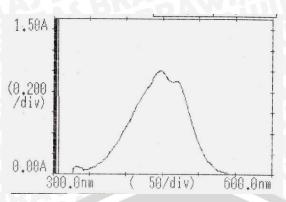
Gambar diatas menunjukkan bahwa totol warna yang terbentuk hanya 1 spot dengan warna oranye. Data ini sesuai dengan Jeffrey, *et al.*,(1997), yang menyatakan bahwa pigmen fukosantin berwarna oranye. Nilai *retardation factor* (Rf) juga dilakukan untuk memperkuat identifikasi pigmen dalam hal ini fukosantin.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

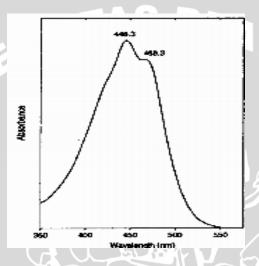
Pengukuran pola spektra fukosantin hasil isolasi dengan menggunakan spektrofotometer diperlukan untuk menguatkan identifikasi fukosantin dengan KLT. Pola spektra fukosantin dalam pelarut aseton dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 13. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi dalam Aseton (Sampel Ulangan Pertama)



Gambar 14. Pola Spektra Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi dalam Aseton (Sampel Ulangan Kedua)



Gambar 15. 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 Analisa Titik Leleh

Berdasarkan hasil pengukuran hasil isolasi fukosantin menggunakan *melting point apparatus* diperoleh hasil rentang titik leleh fukosantin yaitu pada ulangan 1 mempunyai suhu titik leleh sebesar 163-164°C, pada ulangan 2 mempunyai suhu titik leleh sebesar 162-163°C, dan pada ulangan 3 mempunyai suhu titik leleh sebesar 163-164°C. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan titik leleh fukosantin menurut Heriyanto dan Limantara (2010) yaitu 163-164°C. Suhu titik leleh pada ulangan kedua hanya mencapai 162-163°C, hal ini diperkirakan karena fukosantin telah teroksidasi dengan cahaya sebelum fukosantin diuji titik lelehnya. Menurut Gross (1991), struktur kimia fukosantin tersusun atas 7 ikatan rangkap terkonjugasi. Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan pigmen mudah rusak, salah satunya yaitu karena cahaya. Diduga bahwa cahaya yang diterima oleh pigmen menghasilkan energi panas. Energi panas mengakibatkan degradasi, membentuk molekul yang lebih kecil (Khuluq, *et al.*, 2007).

Titik kendali kritis (*critical control point*) pada uji titik leleh yaitu terletak pada persiapan sampel. Sampel harus dalam bentuk bubuk, kering, dan homogen untuk mengopimalkan pencapaian suhu titik leleh dan Jumlah sampel yang dimasukkan dalam pipa kapiler sebaiknya mencapai setinggi 2 mm dari bagian bawah pipa kapiler, karena apabila terlalu sedikit, maka suhu titik leleh yang tercapai tidak akan maksimal.

Tabel 11. Titik Leleh Fukosantin

Ulangan	Titik Leleh (⁰C)		
1	163 – 164		
2	162 – 163		
3	163 - 164		

Tabel 12. Jarak Temperatur Pelehan

Ulangan	Temperatur Onset Point (°C)	Temperatur Clear Point (°C)	Jarak Temperatur (°C)
1	163	164	1
2	162	163	1
3	163	164	1

Temperatur *onset point* adalah suhu di mana fasa cair pertama kali muncul pada kristal. Pada penelitian ini, *onset point* fukosantin ulangan 1 yaitu pada suhu 163°C, pada fukosantin ulangan 2 mempunyai *onset point* pada suhu 162°C, dan fukosantin ulangan 3 memiliki suhu *onset point* pada suhu 163°C, sedangkan *clear point* yaitu fase ketika zat menjadi benar-benar cair yang mana molekul-molekul fukosantin menjadi tidak beraturan lagi, pada fukosantin ulangan 1, mempunyai suhu *clear point* yaitu 164°C, pada ulangan 2, mempunyai suhu *clear point* yaitu 163°C, dan pada ulangan 3 mempunyai suhu *clear point* yaitu 164°C.

Saat panas ditambahkan ke padatan, padatan akhirnya perubahan cairan. Hal ini terjadi sebagai molekul memperoleh energi yang cukup untuk mengatasi gaya antarmolekul yang sebelumnya mengikat mereka bersama-sama dalam suatu kisi kristal yang teratur. Pencairan tidak terjadi seketika, karena molekul harus menyerap energi dan kemudian secara fisika memotong ikatannya. Biasanya bagian luar kristal akan mencair lebih cepat daripada di dalam, karena butuh waktu untuk panas untuk menembus (Anonymous, 2011).

Kepolaran fukosantin juga mempengaruhi tingginya titik leleh fukosantin. Sebuah molekul yang lebih polar akan memiliki titik lebur yang lebih tinggi.

Sebuah molekul polar akan memiliki ikatan dipol-dipol yang kuat dan akan memerlukan lebih banyak energi untuk memecah ikatan itu (Wikipedia, 2011 ⁹).

Adanya 2 gugus hidroksil pada fukosantin juga menyebabkan titik leleh pada fukosatin tinggi. Menurut Jim (2011) ukuran titik leleh akan tergantung pada kekuatan gaya antarmolekul. Kehadiran ikatan hidrogen akan meningkatkan titik leleh dan titik didih. Molekul yang berukuran lebih besar memungkinkan daya tarik van der Waals yang lebih besar pula dan molekul tersebut akan lebih membutuhkan lebih banyak banyak energi untuk pemutusan ikatannya. Semakin besar ikatan molekul, semakin tinggi titik lelehnya, hal ini dikarenakan titik leleh berhubungan dengan energi yang diperlukan untuk memutuskan gaya antar molekul. Semakin kuat gaya antar molekul, semakin besar energi yang digunakan untuk memutuskannya sehingga semakin tinggi titik lelehnya.

4.2.4 Rendemen Fukosantin

Rendemen adalah berat akhir setelah perlakuan. Menurut Hanum (2009) perhitungan rendemen berdasarkan berat/volume input dan output yang dihasilkan proses ekstraksi (ekstrak atau konsentrat), dengan rumus:

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

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 % ± 0,004243. Hasil rendemen ini sedikit berbeda dengan penelitian oleh Wijayanti (2009), yaitu rendemen pada *Padina australis* 0,07 % ± 0.00256, *Sargassum polycystum* 0.03

% ± 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 hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

Hasil identifikasi KLT diperoleh perhitungan Rf fukosantin masing-masing sebesar 0,28. Identifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis didapatkan panjang gelombang (λ) untuk pelarut aseton yaitu 446,5 nm dan 446 nm.
 Hasil identifikasi titik leleh fukosantin menggunakan *Melting Point Apparatus* didapatkan hasil yaitu titik leleh fukosantin yaitu pada ulangan 1 didapatkan suhu titik leleh sebesar 163-164°C, pada ulangan 2 didapatkan suhu titik leleh sebesar 162-163°C dan pada ulangan 3 didapatkan suhu titik leleh sebesar 163-164°C.

5.2 Saran

Untuk pengolahan fukosantin diharapkan panas pengolahan tersebut tidak melebihi tingginya derajat titik leleh fukosantin sehingga fukosantin tidak rusak.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2007. **Melting Point Apparatus**, http: www. Laboratory and Equipment.in/melting-point-appartus. Diakses tanggal 23 April 2011 Pukul 18.00 WIB
- Anonymous, 2011. **Melting Point Process**, http: www. Melting range /melting-point-range. Diakses tanggal 2 Mei 2011 Pukul 14.30 WIB
- Adnan, M. 1997. **Teknik Khromatografi untuk Analisis Bahan Pangan**. Andi, Yogyakarta.
- Anis, E. 2008. **Pigmen Sebagai Zat Pewarna dan Antioksidan Alami**. UMM Press. Malang
- 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
- Apag, 2011. **Melting Points**. http://orgchem.colorado.edu/hndbksupport/.html. Diakses tanggal 1 Juli 2011 Pukul 01.14 WIB
- Aslan, L. M. 1998. Rumput Laut. Kanisius. Yogyakarta
- Asyhar, Kromatografi Lapis Tipis. Wordpress. Diakses 3 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
- 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. Birkauser Verlag, Basel, Boston. Berlin
- Britton, G., L. Jensen, S. dan Pfander, H. 1995. **Carotenoids Volume 4: Natural Function**. Birkauser Verlag, Basel, Boston. Berlin
- Chen, Y. A. 2008. **Anabolisme : Fotosintesis.** www.drveggielabandresearch.blogspot.com. Diakses Tanggal 5 Juni 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
- Clark, J. 2007. **Kromatografi Lapis Tipis.** http://www.chem-is-try.org. Diakses tanggal 13 April 2009

- 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
- Ensikolpedia. 2009. Algae-algae and Their Characteristic, Types of Algae, Ecological Relationship, Factors Limiting The Productivity of Algae. www.science.jrank.org. Diakses Tanggal 4 Juni 2009
- Eva. 2008. **Budidaya Rumput Laut**. www.w3.org. diakses tanggal 15 Februari 2009
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2007. **Kimia Analisis Farmasi**.

 Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Gross, J. 1991. Pigments In Vegetables Chlorophylls and Carotenoids. An Avi Book. New York
- Harborne, J. B. 1987. **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
- Heriyanto and Limantara L. 2010. **Photo-stability and Thermo-stability Studies of Fucoxanthin Isomerization.** Natural Pigments Conference for South-East Asia (NP-SEA). pp. 34-35.
- Hendayana, S. 2006. Kimia Pemisahan. PT Remaja Rosdakarya. Bandung
- Honback, J.M, 2006. **Organic Chemistry, Second Edition**, Thompson Cooperation. Belmut.
- 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
- Iqmal ,Tahir, Karna Wijaya, M. Utoro Yahya.2002. Quantitative relationships Between Molecular Structure and Melting Point of Several Organic Compunds. Austrian-Indonesia Centre for Computatinal Chemistry, Gadjah mada University, Yogyakarta.
- 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 Mitrajanti dan S.Fardiaz, 1997. **Produksi Konsentrat dan Bubuk Pigmen Angkak dari monascus purpureus**. Buletin Teknologi dan Industri Pangan No. 7
- Jim, Clark. 2001. **Struktur Molekul**. http://ict.unimed.ac.id/belajarbareng/ repositori/fmipa/kimia/224-molekul.html. Diakses 14 April 2011 Pukul 12.30
- Kadi, A. 2008. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia.** Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta
- 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, Ul Press, Jakarta
- Khuluq, A.D., S.B. Widjanarko dan E. S. Murtini. 2007. **Ekstraksi dan Stabilitas Betasianin Daun Darag (Alternatif dentata) Kajian Perbandingan Pelarut Air : Etabol dan Suhu Ekstraksi)**. Jurnal Teknologi Pertanian. 8(3) Hal: 169-178
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp. USU repository
- Maeda, H.T. Tsukui, T. Sashima, M. Hosokawa, dan K. Miyashita. 2008. Seaweed Carotenoid, Fucoxanthin as Multi Functional Nutrient. Asia Pasific Journal of Clinical Nutrition, 17 Suppl (1) hal: 196-199
- Miyashita K, 2009. The Carotenoid Fukosantin from Brown Seaweed Affect Obesity. Vol. 21, No 8/9 DOI 10.1002/lite. 200900040
- 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
- Mulyatno, Tjipto Yuwono, B. Supraptomo S, Muliawati G. Siswanto, Setyo Purwanto, 1992: **Seri Fisika Perguruan Tinggi Panas dan Termodinamika**, Edisi I, Intan Pariwara, Klaten.
- Munson, J.W. 1991. **Analisis Farmasi Metode Modern**. Airlangga University Press. Surabaya.

- 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
- Pambayun R., Gardjito M., Sudarmaji S., Rahayu K., Kuswanto., 2009. *Phenolic Content and Antibacterial Properties of Various Extracts of Gambir (UncariagambirRoxb)*. Majalah Farmasi Indonesia, 18 93), 141-146, 2007.
- Prangdimurti, E. 2007. Pigmen Alami. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Pratiwi T.R. 2010.**Prarancangan Pabrik Dimetil Eter dari Metanol Kapasitas 31.000 Ton Per Tahun**. Juusan Teknik Kimia Fakultas Teknik.
 Universitas Muhammadyah Surakarta. Surakarta.
- Rahayu, H.D.I. 2010. Pengaruh Pelarut Yang Digunakan Terhadap Optimasi Ekstraksi Kurkumin Pada Kunyit (Curcuma domestica Vahl.). Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Rivai, H. 1995. Azas Pemeriksaan Kimia. Ul Press. Jakarta
- Sa'ad.M, 2009. Uji Aktivitas Penangkap radikal Isolat A dan B Fraksi IV Ekstrak Etanol Daun Dewawaru (*Eugenia uniflora L.*) dengan Metode DPPH. Fakutas 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., Leopoid 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 Muhammadyah 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. 6nd Edition. John Willey and Sons Inc. Singapore
- Singarimbun, M. dan Effendi, S. 1989. Metode Penelitian Survai. Edisi Revisi. LP3ES. Jakarta
- Schornick, .2011. The Theory and use of Melting Point and Refractive Index Identify Verify or Organic Compounds. http://classweb.gmu.edu/jschorni/meltpoint. Diakses 13 Mei Pukul 02.30
- Soebagyo, Endang, B., Sodiq, I. Hayuni, R.W, dan Munzil. 2005. Kimia Analitik I. Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang.
- Somaatmadja, D. 1981. Prospek Pengembangan Industri Oleoresin di Indonesia. Komunikasi No. 201. BBIHP. Bogor.
- 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
- Sukardjo. 1997. Kimia Fisika. Rineka Cipta. Jakarta
- Tahir, I.. 2008. Arti Penting Kalibrasi Pada Proses Pengukuran Analitik: Aplikasi Pada Penggunaan pH Meter dan Spektrofotometer UV-Vis. Laboratorium Kimia Dasar, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Gadjah Mada Sekip utara, Yogyakarta 55281.
- 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 5th Edition. (Terjemahan S. Noerono). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Wahidin, dan Djoko Suhardjono, 2009. Sintesis Sasmito. Divenhidramin dan Uji Aktivitas Antihistaminiknya secara In Vitro Terhadap Otot Polos Trakea Marmot Terisolasi. Fakultas Farmasi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta

- Wahyuni, R.H. 2009. Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 3,6-Bis-(4'-Hidroksi-3',5'-Dimetilbenzilidin)-Piperazin-2'-5'-Dion dengan Katalis HCI. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta
- Wanto dan M. Ramli. 1977. **Alat alat Industri Kimia I**. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan. Jakarta
- Warsito. 2007. **Metode Isolasi dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman**. Disampaikan pada Workshop :Skrinning Senyawa Bioaktif
- Wan, 2011. **Melting Point.** http://www.tutorvista.com/chemistry/melting-point-boiling-point. Dlakses 21 Mei 2011 Pukul 14.00 WIB
- 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
- 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.
- Wikipedia. 2011^a. **Metanol.** http://www.wikipedia.org. Diakses tanggal 4 Januari 2011 pukul 13.00 WIB
- _____. 2011^b. **Aseton.** http://www.wikipedia.org. Diakses tanggal 10 2011 pukul 07.30 WIB
- _____. 2011°. **Dietil Eter.** http://www.wikipedia.org. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 13.00 WIB
 - _____. 2011^d. **Etil Asetat.** http://www.wikipedia.org. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 13.15 WIB
- . 2011^e. **Heksana.** http://www.wikipedia.org. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 13.30 WIB
- _____. 2011^f. **Fraksinasi.** http://www.wikipedia.org. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 14.00 WIB
- ______, 2011 ⁹. **Melting Point and Polarity**. http://wiki.answers.com/Q/How does polarity affect the melting point of a molecule#ixzz1UyihZ83F. Diakses tanggal 10 Januari 2011 pukul 14.00 WIB
- Winarno. 1990. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut**. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta

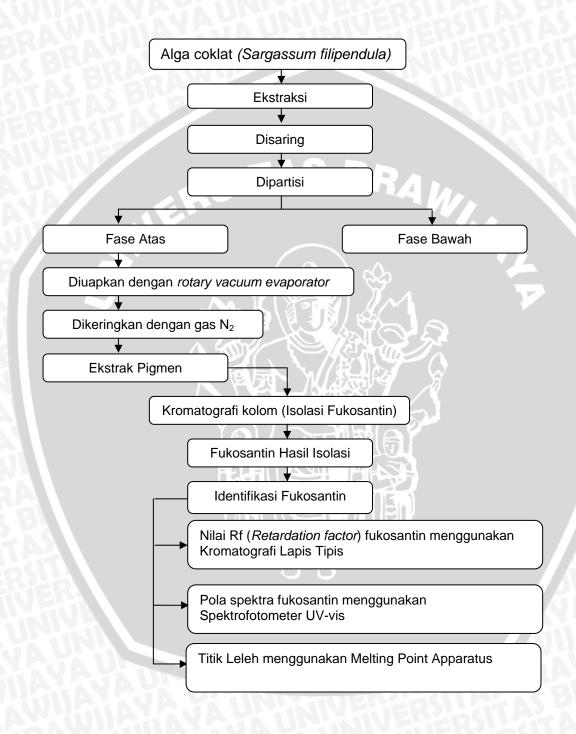
- Yan, X., Y. Chuda, M. Suzuki and T.Nagata. 1999. Fucoxanthina as The Mayor Antioxidant in *Hijika fujiformia*, a Commom Edible Seaweed. Biochem Vol 63(3), 605-607
- Yunizal. 1999^a. **Teknologi Pengolahan Alginat.** Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Yunizal. 1999^b. **Teknologi Ekstraksi Alginat Dari Rumput Laut Coklat** (*Phaeophyceae*). Balai Penelitian Perikanan Laut. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta

Zipcodezoo. 2010. **Klasifikasi Sargassum filipendula**. www.zipcodezoo.com. Diakses tanggal 16 Agustus 2010



LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pigmen Fukosantin



BRAWIJAYA

Lampiran 2. Bukti Hasil Uji Titik Leleh Fukosantin



ail : <u>kimia UB@brawijaya.ac.idekanmipa@brawijaya.ac.id</u> , Website.www.mipa.brawijaya.ac.i

LAPORAN HASIL ANALISA

NO : TN.17 / RT.5 / T.1 / R.0 / TT. 150803 / 2011

1.Data konsumen:

Nama konsumen : Lusia Widyani Instansi :-

Alamat : Jalan Sumbersari Gang 2 No.88 Malang

Telepon : 085649539938
Status : Umum
Keperluan analisis : Uji Kualitas
2.Sampling oleh : Konsumen

3.Identifikasi sampel

Nama sampel : FUKOSANTIN
Asal sampel : Lusia Widyani
Wujud : Padatan (bubuk)
Warna : Jingga
Bau : Berbau

4. Prosedur analisa : Dari Lab. Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA Unibraw Malang.

5. Penyampaian Laporan hasil analisis : Diambil langsung 6. Tanggal terima sampel : 12 Mei 2011

7. Data hasil analisa

				Metode Analisis	
Parameter	No.	Kode	Hasil Analisa	Pereaksi	Metode
Titik Leleh	1.	Fukosantin 1	163 – 164 °C	-	Capillary Tube Method
	2.	Fukosantin 2	162-163 °C	-	Capillary Tube Method

Catatan:

1. Hasil analisa ini adalah nilai rata – rata pengerjaan analisis secara duplo.

2. Hasil analisa ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu.

Mengetahui : Ketua,

Dr. H.Sasanaka Prasetyawan, MS. NIP. 19630404 198701 1 001 Malang, 19 Mei 2011 Kalab.Lingkungan,

Ir.Bambang Ismuyanto, MS. NIP. 19600504 198603 1 003



LAPORAN HASIL ANALISA NO :TN.17/RT.5/T.1/R.0/TT. 150803/2011

1.Data konsumen:

Nama konsumen : Lusia Widyani

Instansi

: Jalan Sumbersari Gang 2 No.88 Malang Alamat

: 085649539938 Telepon Status : Umum Keperluan analisis : Uji Kualitas : Konsumen 2.Sampling oleh

3.Identifikasi sampel

: FUKOSANTIN Nama sampel Asal sampel : Lusia Widyani Wujud : Padatan (bubuk) Warna : Jingga

: Berbau Bau

4. Prosedur analisa : Dari Lab. Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA Unibraw Malang.

5. Penyampaian Laporan hasil analisis: Diambil langsung 6. Tanggal terima sampel : 25 Agustus 2011

7. Data hasil analisa

Parameter	No.	Kode	Hasil Analisa	Metode Analisis	
				Pereaksi	Metode
Titik Leleh	1.	Fukosantin 1	163 – 164 °C	S#3	Capillary Tube Method

Catatan:

1. Hasil analisa ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu.

etyawan, MS. NIP. 19630404/198701 1 001

Malang, 09 September 2011 Kalab.Lingkungan,

Ir.Bambang Ismuyanto, MS. NIP. 19600504 198603 1 003

Lampiran 3. Data Kadar Fukosantin

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Absorbansi	Kadar Fukosantin (µg fukosantin/g)
Sargassum	1	25	0,7565	2,5692
filipendula	2	25	0,6924	2,3515
Standar deviasi				2,460 ± 0,15394

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Fukosantin (Gross, 1991)

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

A = Absorbansi tertinggi dimana:

V = Total volume pelarut yang ditambahkan saat pengenceran

G = Berat sampel

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

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

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

Absorbansi 0,6924

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

Lampiran 5. Data Rendemen Fukosantin

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Volume Ekstrak (ml)	Kadar Fukosantin (µg fukosantin/ g)	% Rendemen
Sargassum	4 1	25	345	2,5692	0,071
filipendula	2	25	345	2,3515	0,065
Standar Deviasi	Bha				0,068 ± 0,004243

Lampiran 6. Perhitungan Rendemen Fukosantin (Gross, 1991)

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

fp = faktor pengenceran

Rendemen 1

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

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

BRAWIJAYA

Lampiran 7. Pembuatan Larutan

Larutan Ekstraksi

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

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

Aseton = $\frac{3}{10}$ x 750 ml = 135 m l

Larutan Kolom

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

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

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

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

BRAWIUAL

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

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

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

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

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

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

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

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

Larutan KLT

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

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

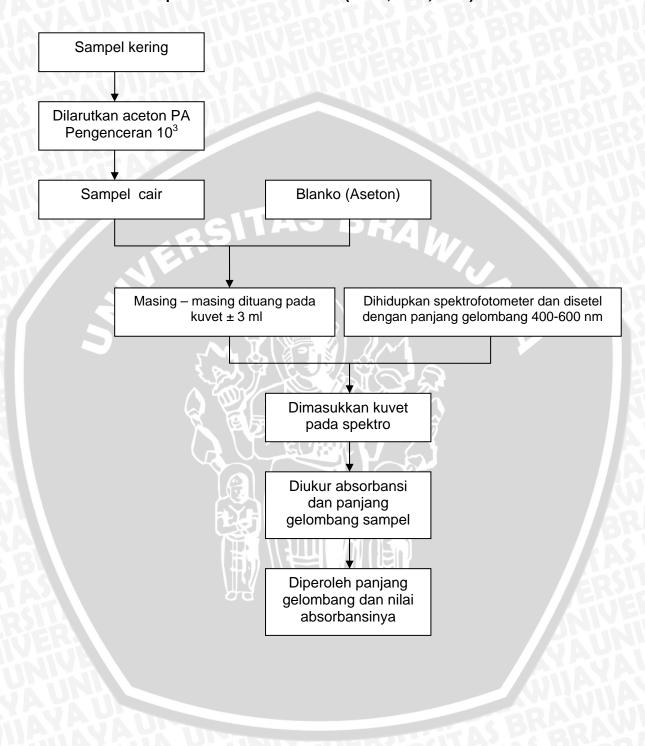
Aseton $= \frac{3}{10} \times 5 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$

Lampiran 8. Pembuatan Saturasi Garam

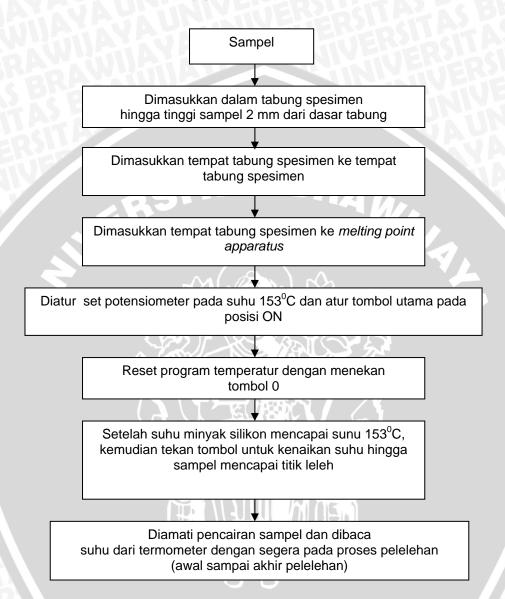




Lampiran 9. Prosedur Analisa Panjang Gelombang dengan Spektrofotometer UV-1601 (Jenie, *et al.*, 1997)



Lampiran 10. Prosedur Uji Titik Leleh *Melting Point Apparatus* Buchi 503 (Wahidin *et al*, 2009 dimodifikasi oleh Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya, 2010)



Lampiran 11. Preparasi Sampel Alga Coklat





(b)





- (a) Pencucian alga co0klat
- (b) Pemotongan alga coklat
- (c) Pengeringan alga coklat
- (d) Penumbukan alga coklat

Lampiran 12. Prosedur Ekstraksi Alga Coklat





(a) (b)





(c) (d)

- (a) Penambahan pelarut metanol: aceton (7:3 v/v) sebanyak 450 ml
- (b) Maserasi Alga Coklat
- (c) Hasil Proses Ekstraksi
- (d) Disaring dengan Kertas Saring

Lampiran 13. Prosedur Fraksinasi





(c)

- Pemasukan larutan pada corong pisah
- Pengocokan larutan hingga terbentuk fase atas dan fase bawah (b)

Lampiran 14. Evaporasi dan Pengeringan dengan Nitrogen



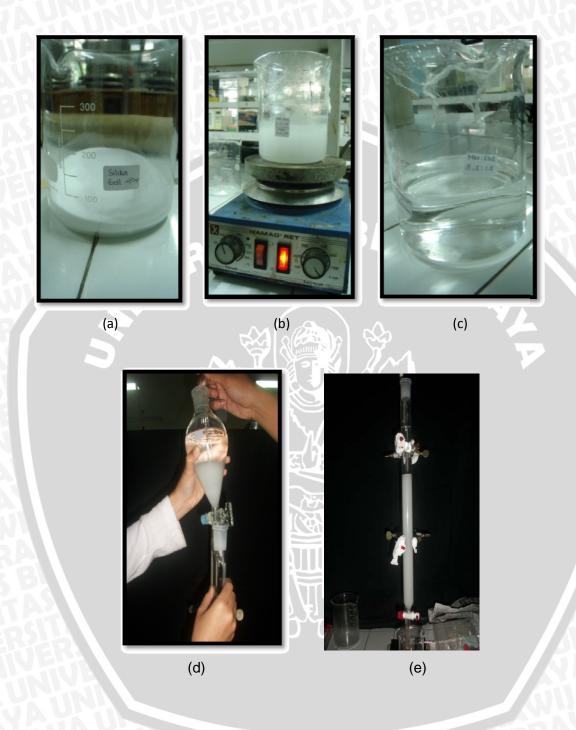
(a)



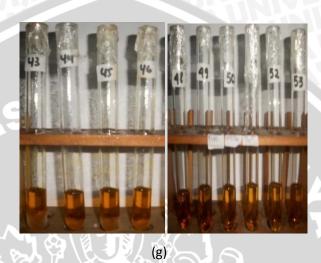
(b)

- (a) Proses evaporasi
- (b) Pengeringan sampel dengan gas nitrogen

Lampiran 15. Prosedur Isolasi dengan Kromatografi Kolom







(f)

Keterangan:

(a) Fase diam : Silica gel

(b) Fase Gerak Heksan: Etil Asetat

Silica gel dicampur fase gerak dan distirer

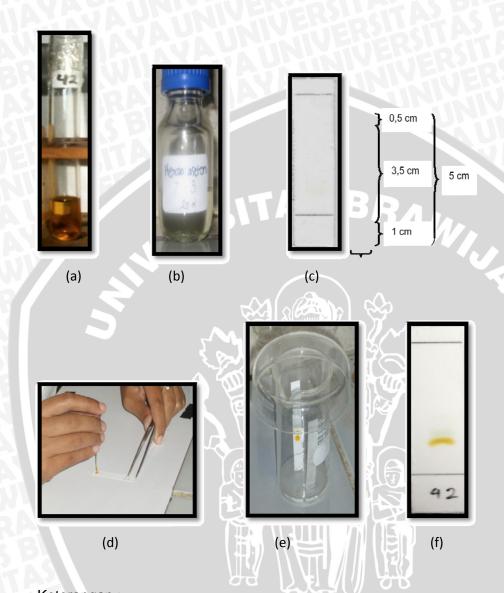
(d) Pemasukan silica gel dalam kolom

(e) silica gel di dalam kolom

Pigmen fukosantin berwarna orange, pada kromatografi kolom bagian bawah (f)

(g) Pigmen fukosantin hasil isolasi

Lampiran 16. Identifikasi Fukosantin Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis



- (a) Fukosantin
- (b) Fase Gerak: Heksan: aseton 7:3
- (c) Fase Diam : Silica Gel
- (d) Penotolan fukosantin pada plat KLT
- (e) Plat KLT dicelupkan pada fase gerak
- (f) Hasil KLT: Rf Fukosantin 0,28

Lampiran 17. Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometer UV-vis





(a)

Keterangan:

- (a) Pigmen dalam kuvet
- (b) Diukur absorbansi dan pola spektranya dengan spektrofotometer UV-vis

Lampiran 18. Identifikasi Fukosantin Menggunakan Miting Point Apparatus







(c)



- (a) Pemasukan fukosantin dalam pipa kapiler (tabung sampel)
- (b) Pemasukan pipa kapiler dalam tempat tabung spesimen
- (c) Pemasukan tempat tabung specimen ke melting point apparatus
- (d) Pengamatan proses pelelehan secara visual