

**STUDI IDENTIFIKASI *CRUDE* FUKOSANTIN DAN FUKOSANTIN
HASIL ISOLASI DARI ALGA COKLAT
(*Sargassum filipendula*) DENGAN PENGUJIAN
SPEKTROSKOPI FTIR**

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

Oleh:
**ANGGA ADI PRIHANANTO
NIM. 0710830018**



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

**STUDI IDENTIFIKASI *CRUDE* FUKOSANTIN DAN FUKOSANTIN
HASIL ISOLASI DARI ALGA COKLAT
(*Sargassum filipendula*) DENGAN PENGUJIAN
SPEKTROSKOPI FTIR**

**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:
**ANGGA ADI PRIHANANTO
NIM. 0710830018**



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

LAPORAN SKRIPSI
STUDI IDENTIFIKASI *CRUDE* FUKOSANTIN DAN FUKOSANTIN
HASIL ISOLASI DARI ALGA COKLAT
(*Sargassum filipendula*) DENGAN PENGUJIAN
SPEKTROSKOPI FTIR

Oleh:
ANGGA ADI PRIHANANTO
NIM. 0710830018

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

Menyetujui,
Dosen Penguji I

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

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

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

Tanggal:

Tanggal:

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Asep Awaludin P., S.Pi, MP
NIP. 19810602 200604 1 001

Dr. Ir. Hartati Kartianingsih, MS
NIP. 19640604 199002 2 002

Tanggal:

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

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

Tanggal:

RINGKASAN

Angga Adi Prihananto. Laporan Skripsi dengan judul Studi Identifikasi *Crude* Fukosantin dan Fukosantin Hasil Isolasi dari Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) dengan Pengujian Spektroskopi FTIR (dibawah bimbingan **Ir. Kartini Zaelanie, MP** dan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS**)

Fukosantin merupakan salah satu jenis dari karotenoid yang memiliki rumus $C_{42}H_{58}O_6$. Fukosantin mampu mengabsorpsi energi warna hijau-biru dan melewatkannya ke klorofil untuk proses fotosintesis, aktivitas tersebut ditunjukkan dengan sifat absorpsi pada panjang gelombang 400-540 nm (Nurdiana dan Limantara 2008). Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida di dalam molekulnya (Maeda, *et al.*, 2008). Fukosantin juga memiliki gugus hidroksil. Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin (Pangestuti, *et al.*, 2007). Untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada suatu senyawa maka dilakukan suatu identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Menurut Schwieter (1969), Teknik spektroskopi infra-red digunakan untuk mendeteksi struktur tertentu yang unik, seperti hidroksi, asetilenik, alenik dan gugus keto yang tidak reaktif, seperti yang terdapat pada fukosantin.

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

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksploratif untuk mengidentifikasi gugus fungsi *crude* fukosantin dan fukosantin murni dalam alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan pengujian Spektroskopi FT-IR. 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.

Hasil identifikasi *crude* fukosantin dari hasil KLT diperoleh R_f yaitu 0,25 dengan pola spectra pada pelarut aseton adalah 445 nm dan 446 nm dan hasil rendemen sebesar $0,062 \% \pm 0,008$ serta dari hasil uji spektroskopi FT-IR diperoleh gugus fungsi OH (hidroksil), gugus C-H, tidak adanya ikatan alenik, vibrasi C=O, dan vibrasi C=C konjugasi, vibrasi CH_2 , vibrasi C-O, vibrasi C-O-C dan vibrasi C=C trans-disubstitusi. Hasil identifikasi fukosantin hasil isolasi dari hasil KLT diperoleh R_f yaitu 0,28 dengan pola spectra pada pelarut aseton adalah 446,5 nm dan hasil rendemen sebesar $0,064 \% \pm 0,0065$ serta dari hasil uji spektroskopi FT-IR diperoleh gugus fungsi OH (hidroksil), gugus C-H, ikatan alenik, vibrasi C=O, dan vibrasi C=C konjugasi, vibrasi CH_2 , tidak adanya vibrasi C-O, vibrasi C-O-C dan vibrasi C=C trans-disubstitusi.

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan FT-IR mengenai identifikasi gugus fungsi pigmen fukosantin murni pada alga coklat dengan kedalaman yang berbeda.

KATA PENGANTAR

Atas berkat rahmat dan karunia Allah SWT, akhirnya penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul Studi Identifikasi Crude Fukosantin dan Fukosantin Hasil Isolasi dari Alga Coklat *Saragassum filipendula* dengan Pengujian Spektroskopi FTIR. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

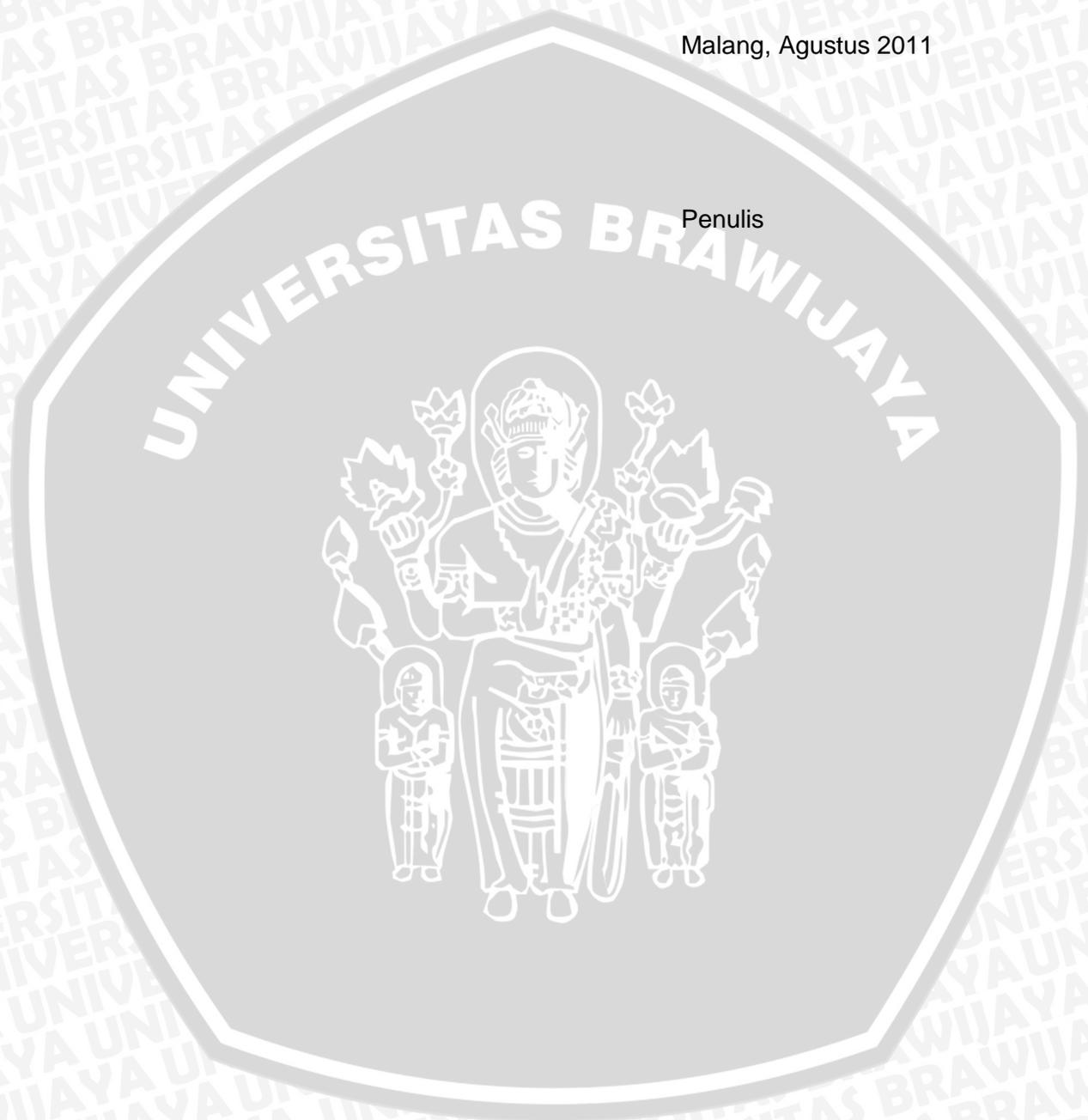
Ucapan terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Allah S.W.T atas segala kemudahan dan rahmat yang telah diberikan.
2. Ir. Kartinie Zaelanie, MP, selaku dosen pembimbing I dan Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing II yang telah dengan sabar membimbing.
3. Keluarga Besar Sabar Boediman, Ibuku tercinta Arsasi, mbak Wiwin, Mas Sugeng, Mas Rinto dan Jati Puspita Ningrum atas doa dan seluruh dukungannya.
4. Mas Carda, mbak Ima serta mbak Shanti yang selalu membantu penelitian kami. Dan teman-teman tim pigmen yang selalu bersama-sama dari pagi sampai larut malam. Tirta, Lusi, dan Datik terima kasih atas semangat dan kerja keras kalian.
5. Teman, sahabat, saudara-saudaraku yang sudah membantu, menemani dan memberikan dorongan dan tak lupa keponakan tercinta Feizar, Wildan dan si cantik Alya yang senantiasa memberi inspirasi agar omnya cepat selesai kuliah.

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

Malang, Agustus 2011

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Waktu dan Tempat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga Coklat.....	5
2.1.1 <i>Sargassum filipendula</i>	6
2.1.2 Komposisi Kimia Alga Coklat.....	7
2.2 Fukosantin.....	8
2.3 Manfaat Fukosantin.....	10
2.4 Pelarut.....	10
2.4.1 Metanol.....	12
2.4.2 Aseton.....	13
2.4.3 Dietil Eter.....	14
2.4.4 Etil Asetat.....	15
2.4.5 Heksan.....	16
2.5 Ekstraksi.....	17
2.6 Fraksinasi (Partisi).....	18
2.7 Kromatografi Kolom.....	19
2.8 <i>Silica Gel</i>	20
2.9 Kromatografi Lapis Tipis.....	20
2.10 Spektrofotometer UV-Vis 1601.....	22
2.11 Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR).....	23
3. METODE PENELITIAN	
3.1. Materi Penelitian.....	27
3.1.1 Bahan Penelitian.....	27
3.1.2 Alat Penelitian.....	27
3.2 Metode Penelitian.....	27
3.3 Prosedur Penelitian.....	28
3.3.1 Persiapan Sampel.....	28
3.3.2 Ekstraksi Pigmen.....	28
3.3.3 Isolasi Fukosantin.....	30
3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis.....	31
3.3.5 Spektrofotometer UV-VIS.....	33
3.3.6 Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR).....	34

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

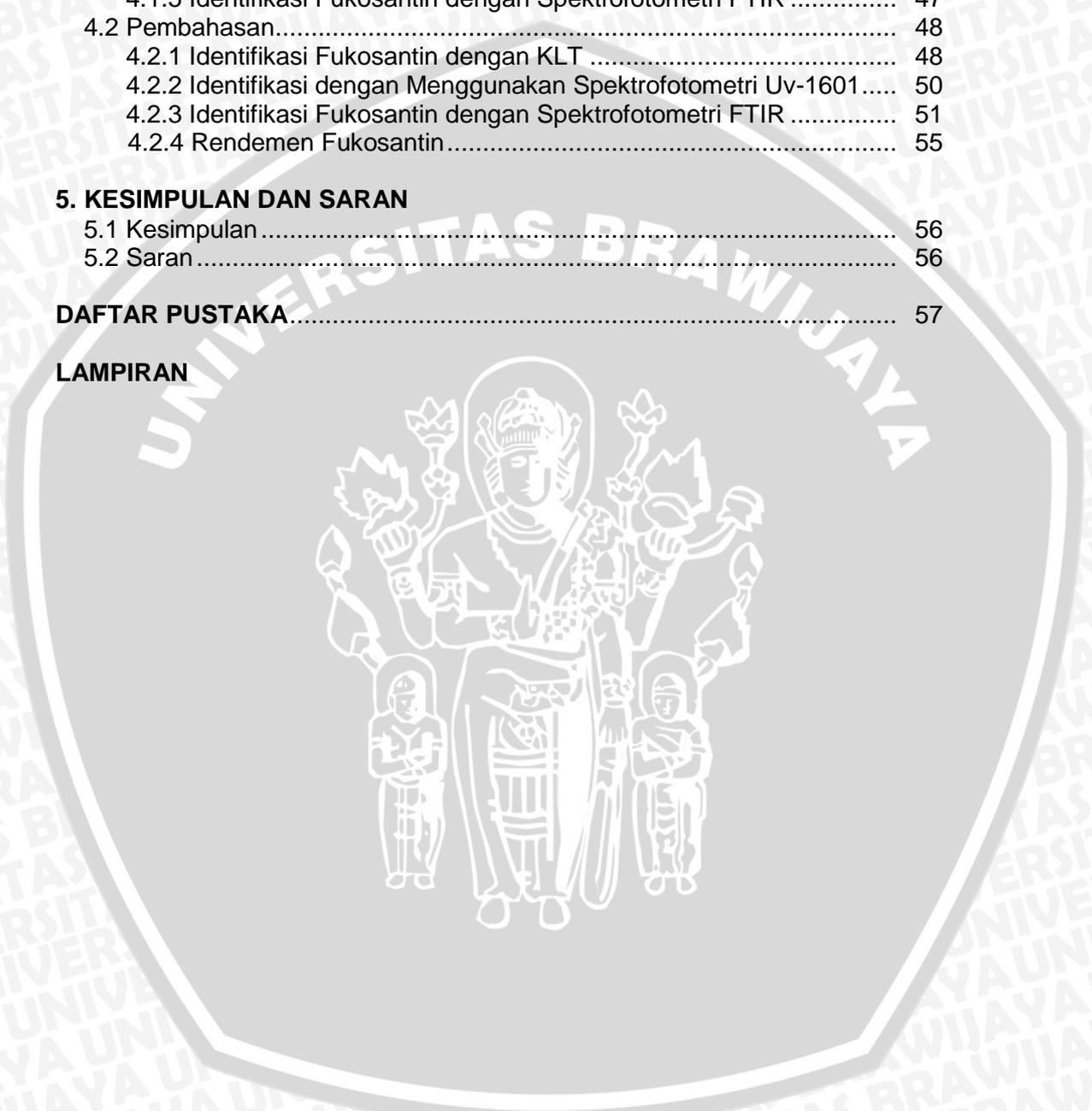
4.1 Hasil Penelitian	40
4.1.1 <i>Crude</i> Fukosantin	41
4.1.2 Isolasi Fukosantin dengan Kromatografi Kolom	41
4.1.3 Identifikasi Fukosantin dengan KLT	43
4.1.4 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-1601	45
4.1.5 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri FTIR	47
4.2 Pembahasan.....	48
4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan KLT	48
4.2.2 Identifikasi dengan Menggunakan Spektrofotometri Uv-1601.....	50
4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri FTIR	51
4.2.4 Rendemen Fukosantin.....	55

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	56

DAFTAR PUSTAKA.....	57
----------------------------	-----------

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Alga Coklat	7
2. Kandungan Mineral Pada Alga Coklat.....	9
3. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut	10
4. Sifat-sifat Metanol	13
5. Sifat-sifat Aseton.....	14
6. Sifat-sifat Dietil Eter	15
7. Sifat-sifat Etil Asetat.....	16
8. Sifat-sifat Heksan.....	16
9. Data Uji Pigmen Fukosantin.....	40
10. Nilai Rf dan Warna Pigmen.....	44
11. Analisa Gugus fungsional Pigmen Fukosantin	54



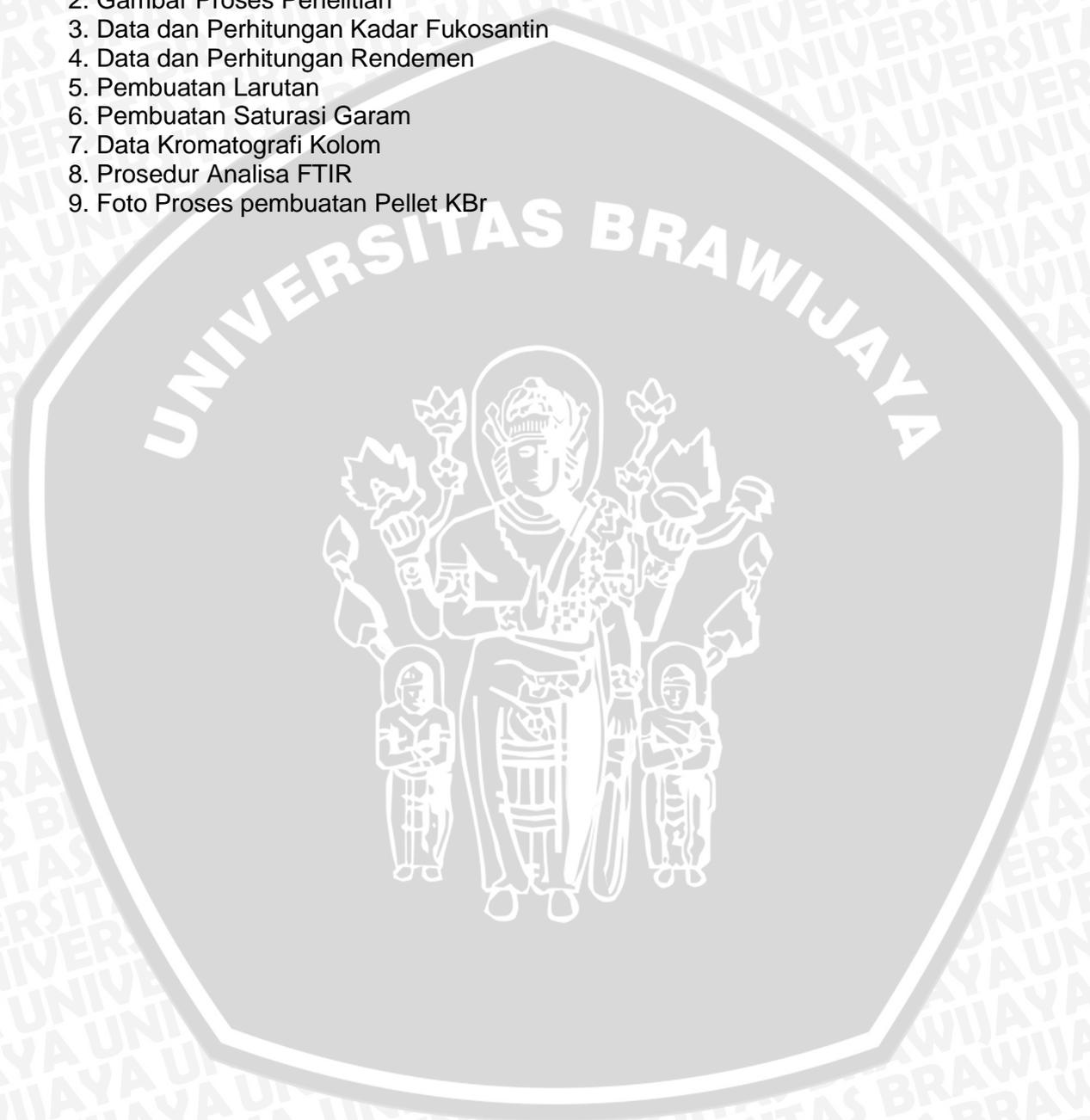
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum filipendula</i>	6
2. Struktur kimia Fukosantin	9
3. Struktur Kimia Metanol	12
4. Proses Kromatografi Kolom	19
5. Kromatografi Lapis Tipis	22
6. Spektrofotometer UV-VIS	23
7. Spektrofotometer FTIR	24
8. Daftar Gugus Fungsional	25
9. Spektrum Absorpsi Infra-Red dari Fukosantin.....	26
10. Proses Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat.....	35
11. Proses Isolasi Fukosantin Kromatografi Kolom.....	36
12. Proses Kromatografi Lapis Tipis	37
13. Prosedur Analisa dengan Spektrofotometer UV-1601	38
14. Prosedur Analisa dengan Spektrofotometer FTIR	39
15. Hasil <i>Crude</i> Fukosantin.....	41
16. Hasil Kromatografi Kolom	42
17. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi	43
18. Hasil KLT Pigmen <i>Crude</i> Fukosantin	44
19. Hasil KLT Pigmen Fukosantin Murni.....	44
20. Hasil Pola Spektra	46
21. Spektra IR dari Sampel <i>Crude</i> Fukosantin (KBr).....	47
22. Spektra IR dari Sampel Fukosantin (KBr)	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Prosedur Penelitian
2. Gambar Proses Penelitian
3. Data dan Perhitungan Kadar Fukosantin
4. Data dan Perhitungan Rendemen
5. Pembuatan Larutan
6. Pembuatan Saturasi Garam
7. Data Kromatografi Kolom
8. Prosedur Analisa FTIR
9. Foto Proses pembuatan Pellet KBr



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alga merupakan salah satu sumberdaya alam Indonesia yang sangat potensial. Alga merupakan tumbuhan tingkat rendah dan dibagi dalam tiga kelas, yaitu alga hijau (*chlorophyceae*), alga merah (*rhodophyceae*), dan alga coklat (*phaeophyceae*) (Bahtiar, 2007).

Alga coklat mempunyai kelimpahan dan sebaran yang sangat tinggi, terdapat hampir di seluruh wilayah laut Indonesia (Handayani, *et al.*, 2004) yakni antara lain di Kepulauan Seribu, Pulau Komodo, Pulau Lombok dan Pulau Ternate (Indriani dan Sumarsih, 1992). Alga coklat mengandung pigmen klorofil (Klorofil *a* dan Klorofil *c*) dan kaya akan pigmen karotenoid (fukosantin, β -karoten) (Goodwin, 1974). 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). Ditambahkan oleh Nurcahyanti dan Timotius (2007), fukosantin berwarna oranye dan termasuk kelompok santofil dan karotenoid. Pigmen ini dapat diperoleh dengan cara ekstraksi bahan-bahan alami seperti akar, batang, dan daun (Limantara dan Rahayu, 2008).

Fukosantin merupakan salah satu jenis dari karotenoid yang memiliki rumus $C_{42}H_{58}O_6$. Fukosantin mampu mengabsorpsi energi warna hijau-biru dan melewatkannya ke klorofil untuk proses fotosintesis, aktivitas tersebut ditunjukkan dengan sifat absorpsi pada panjang gelombang 400-540 nm (Nurdiana dan Limantara 2008). Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alenat dan 5,6 monoepoksida di dalam molekulnya (Maeda, *et al.*, 2008). Ikatan alenat merupakan sebuah senyawa yang satu atom karbonnya memiliki ikatan ganda dengan masing-masing dari dua karbon yang berdekatan (Wikipedia, 2011).

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

Spektrofotometer FTIR ini digunakan untuk mengetahui untuk pengujian kuantitatif beberapa komponen pada campuran yang tidak diketahui. Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk analisa sampel yang berupa padatan, cairan dan gas. Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisi cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai

intensitas fungsi energy, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam, *et al.*, 2007).

Sampai sejauh ini sudah banyak penelitian yang dilakukan pada alga coklat khususnya tentang pigmen fukosantin. Namun, penelitian mengenai identifikasi gugus fungsi pada *crude* fukosantin dan fukosantin hasil isolasi dari alga coklat *Sargassum fillipendula* belum banyak data yang mendukung. Pada penelitian sebelumnya Haugan *et al*, (1992), gugus fungsi penyusun fukosantin yaitu hidroksil (OH) pada gelombang 3483 cm^{-1} , hidrokarbon C-H pada gelombang $3030\text{-}2856\text{ cm}^{-1}$, dan gugus fungsi yang menjadi ciri khusus adanya fukosantin yaitu ikatan alenik pada gelombang 1930 cm^{-1} sedangkan menurut Schwieter (1969), ikatan alenik dideteksi pada gelombang 1956 cm^{-1} . Kisaran dari alenik pada kelompok karotenoid yaitu antara $2000\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ (Britton, 1995).. Oleh karena itu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai studi identifikasi *crude* fukosantin dan fukosantin hasil isolasi dari alga coklat (*Sargassum filipendulla*) dengan pengujian spektroskopi FT-IR.

1.2 Rumusan Masalah

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

- Seberapa besar perbedaan gugus fungsi dari pigmen *crude* fukosantin maupun fukosantin hasil isolasi dari alga coklat *Sargassum fillipendula*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya pigmen fukosantin dalam alga coklat (*Sargassum filipendula*) baik dari crude fukosantin maupun fukosantin hasil isolasi dengan menghitung nilai Rf pada KLT dan pola spektra dengan menggunakan spektrofotometr UV-Vis serta mengetahui gugus fungsinya dengan menggunakan Spektroskopi FTIR.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi kepada pihak-pihak yang berkepentingan tentang gugus fungsi yang terdapat pada dari crude fukosantin maupun fukosantin hasil isolasi pada spesies alga coklat khususnya *Sargassum filipendula* sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.5 Waktu dan Tempat

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

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat

Alga merupakan tumbuhan tingkat rendah dan dibagi dalam tiga kelas, yaitu alga hijau (*chlorophyceae*), alga merah (*rhodophyceae*), dan alga coklat (*phaeophyceae*). Alga coklat merupakan anggota Pheophita, alga khas daerah tropik, mengandung pigmen klorofil a dan c, α dan β -caroten, alginat dan lain-lain (Bahtiar, 2007). 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. *Phaeophyta* mempunyai peranan penting bagi kehidupan manusia diantaranya : sebagai bahan makanan, penghasil alginat, pewarna alami, bahan kosmetik, dan farmasi. Habitat alga coklat tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5 – 10 m ada arus dan ombak. Alga coklat hidup di daerah perairan yang jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang dan dapat tumbuh subur pada daerah tropis, suhu perairan 27,25°C – 29,30°C dan salinitas 32 – 33,5% (Atmadja, 2007).

Alga *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang – cabang. Panjang thalli utama mencapai 1 – 3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut “*bladder*”, berguna untuk menopang cabang – cabang thalli terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari. *Thallus* berbentuk silindris atau gepeng, daun melebar, lonjong atau seperti pedang, umumnya hidup soliter dan panjangnya dapat mencapai 7 meter (Kadi, 1997).

2.1.1 *Sargassum filipendula*

Salah satu jenis *Sargassum* adalah *Sargassum filipendula* memiliki thallus yang berbentuk silinder atau gepeng, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat, berukuran relatif besar, cabangnya rimbun menyerupai pohon, bentuk daun melebar, lonjong seperti pedang, mempunyai gelembung udara yang umumnya soliter, panjangnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat spesies yang panjangnya 3 meter), dan warna thallus umumnya coklat. *Sargassum filipendula* melekat pada batu karang dan dapat terlepas dari substratnya apabila terkena ombak besar dan hanyut di permukaan laut (Anonymous, 2009). *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada Gambar 1 dan klasifikasi *Sargassum filipendula* adalah sebagai berikut Anonymous (2010^a):

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



Gambar 1. *Sargassum filipendula*

Secara taksonomi, rumput laut coklat diklasifikasikan kedalam divisi *Phaeopyta* 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).

2.1.2 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 (Nurchahyanti 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

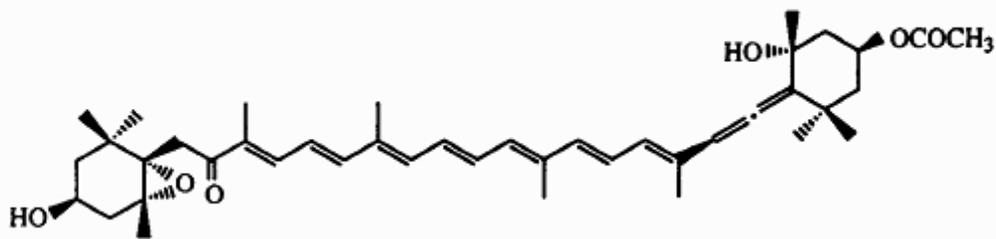
Unsur	Kisaran Kandungan (%) Berat Kering Alga Coklat
Chlor	9,8-15,0
Kalium	6,4-7,8
Natrium	2,6-3,8
Magnesium	1,0-1,9
Belerang	0,7-2,1
Silikon	0,5-0,6
Fosfor	0,3-0,6
Kalsium	0,2-0,3
Besi	0,1-0,2
Iod	0,1-0,8
Brom	0,03-0,14

Sumber : Winarno (1990)

2.2 Fukosantin

Secara taksonomi, rumput laut coklat diklasifikasikan kedalam divisi *Phaeopyta* 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 adalah bagian terbesar dari karetenoid yang memiliki rumus molekul $C_{42}H_{58}O_6$ dengan berat molekul 658,91g/mol (Wikipedia, 2011^a) ditambahkan oleh Haugan dan Jensen (1991) fukosantin adalah karetenoid besar pada alga coklat, diatom, chysophytes dan prymnesiophytes yang memiliki kode klarifikasi 3S, 5R, 6S, 3'S, 5'R, 6'R dengan *8 singel-trans configuration*. Pigmen fukosantin ini terdapat di dalam kloroplas dan plastid dari sel tumbuhan atau bagian tanaman, dimana tidak terdapat klorofil, terdapat juga pada *lamellae* fotosintetik pada *Blue-Green alga*, bukan untuk fotosintetik tetapi sebagai penyaji energi tambahan untuk melindungi sel dari kerusakan rantai senyawa akibat fotokimia, lebih lanjut dijelaskan bahwa fungsi fukosantin dalam suatu organisme adalah kontribusianya terhadap keseburan organisme tersebut (Abercrombie, *et al.*, 1990).

Fukosantin yang terdapat pada alga coklat berupa trans-fukosantin. Dalam alga coklat, fukosantin merupakan karotenoid utama karena kandungan fukosantin dapat mencapai lebih dari 50% dari total karotenoid. Fukosantin berwarna oranye termasuk kelompok santofil dari karotenoid (Nurchayanti dan Timotius, 2008).



Gambar 2. Struktur Kimia Fukosantin (Jeffrey, *et al.*, 1997)

Fukosantin memiliki struktur kimia yang unik karena memiliki sebuah ikatan alena dan 5,6 monoekposida didalam molekulnya. Dipandang dari segi kimianya, fukosantin tersusun atas 7 ikatan rangkap terkonjugasi. Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan pigmen mudah dirusak oleh degradasi oksidatif seperti zat kimia, enzim, suhu, oksigen, dan cahaya (Gross,1991).

Sifat fukosantin antara lain adalah fukosantin labil pada suasana basa, sehingga pada saat mengekstrasi pigmen tersebut lingkungan basa harus dihindari (Nurcahyati dan Timotius, 2008). Pigmen fukosantin menurut Borrow dan Shahidi (2008) tidak stabil pada oksigen (udara) sinar maupun panas, stabil pada pemanasan sampai temperatur sedang, disimpan ditempat tertutup dan tidak tembus cahaya tetapi labil bila ada oksigen atau terkena sinar ultra violet (Anis, 2008). Menurut Heriyanto dan Limantara (2010) yaitu fukosantin memiliki titik leleh pada suhu 164⁰C, kepadatan 1,09 dan fukosantin larut dalam etanol serta sedikit larut dalam karbon disulfida dan eter, namun tidak larut dalam petroleum eter. Fukosantin bersifat labil terhadap basa.

2.3 Manfaat Fukosantin

Fukosantin hanya terkandung dalam alga coklat dengan jumlah sedikit. Fukosantin adalah tipe karetenoid non Vitamin A turunan dari Xantophil. Studi fungsional pada fukosantin melaporkan bahwa fukosantin memiliki aktivitas untuk mencegah obesitas dan diabetes, mencegah dan memerangi kanker (kanker usus besar, kanker usus halus, kanker darah, kanker prostat dan kanker hati) pencegah oksidasi pada tubuh, mencegah penyumbatan pembuluh darah dan memerangi implamasi (Oryza oil and Fat chemical, 2010). Ditambahkan oleh Pangestuti, *et al.*, (2008), fukosantin memiliki efek farmotologi yang sangat penting. Pigmen ini sangat potensial sebagai obat dan suplemen karena dapat berperan sebagai antioksidan.

2.4 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan hasil ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan. Pemilihan pelarut didasarkan pada kemampuannya melarutkan ekstrak yang diinginkan saja serta mempunyai kelarutan yang besar (Guenther,1987). Proses melarutkan suatu zat ke dalam pelarut memperlihatkan adanya zat yang sangat mudah larut dalam pelarut tanpa dipaksa. Hal ini disebabkan adanya sifat "*like dissolve like*". Adanya faktor kecocokan antara zat terlarut dan pelarut, yang menyebabkan keduanya dapat tercampur menjadi satu, misalnya pelarut dan zat terlarut sama-sama bersifat polar (Pujatmaka, 1990).

Seperti juga yang ditambahkan oleh Vogel (1987), bahwa pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya yang melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi.

Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar, dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non polar.

Menurut Rivai (1995), salah satu ciri penting dari pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi zat/senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan/kutub dalam ruangan hampa dengan gaya yang bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut. Jadi, umumnya pelarut-pelarut yang berkutub (polar) dapat melarutkan zat-zat yang berkutub, dan pelarut yang tak berkutub dapat melarutkan zat-zat yang tidak berkutub. Beberapa nilai konstanta/tetapan dielektrik bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Konstanta Dielektrikum Beberapa Bahan Pelarut

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

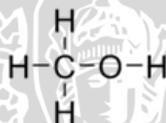
Keterangan : misibel artinya dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi

Sumber : Sudarmadji et al., (1997)

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

2.4.1 Metanol

Menurut Vogel (1987), metanol atau yang lebih dikenal dengan alkohol kayu atau metil alkohol adalah asam lemah turunan alkohol yang paling sederhana. Metanol adalah cairan yang tidak berwarna, volatil, mudah terbakar serta dapat diubah menjadi formadehid. Rumus kimia metanol adalah CH_3OH . Pada keadaan atmosfer metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan dari etanol). Metanol memiliki titik didih 65°C dan larut sempurna dalam air pada suhu 20°C (Hart, 1983). Struktur kimia metanol dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia metanol

Metanol dikenal dengan nama metil alkohol atau alkohol kayu, merupakan senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Metanol adalah alkohol yang paling sederhana, ringan, volatil, tidak berwarna, mudah terbakar, cairan yang beracun dengan bau yang sangat tajam. Metanol banyak digunakan untuk anti pembekuan, pelarut, dan bahan bakar (Wikipedia, 2011^b). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Sifat-sifat Metanol

No.	Karakteristik	Keterangan
1.	Nama IUPAC	Metanol
2.	Nama lain	Hidroksi metana, metil alkohol, metil hidrat, alkohol kayu dan karbinol
3.	Rumus molekul	CH ₃ OH
4.	Massa molar	32.04 g/mol ⁻¹
5.	Penampilan	Cair tidak berwarna
6.	Densitas	0,7918 g/cm ³ , cair
7.	Titik leleh	-97 °C, -142,9° F (176 °K)
8.	Titik didih	64.7 °C, 148,4° F (337,8° K)
9.	Kelarutan dalam air	<i>Miscible</i>
10.	Keasaman (p <i>K_a</i>)	15,5 -
11.	Kelekatatan	0,59 Mpa ° S pada 20° C
12.	Momen dipol	1,69 D (gas)
13.	Klasifikasi EU	Mudah terbakar (F), <i>toxic</i> (T)
14.	Titik nyala	12° C (54° F) (ditutup cangkir)
15.	Terkait alkohol	Etanol, propanol, butanol
16.	Terkait senyawa	Klorometana, Methoxymethane

Sumber : Wapedia (2011)

2.4.2 Aseton

Aseton merupakan larutan organik yang mudah menguap dengan gugus kimia CH₃COCH₃. Di laboratorium, aceton digunakan sebagai kutub pelarut aprotik dalam berbagai reaksi organik. Pelarut organik aseton dipilih dengan pertimbangan kemampuan mengekstraksi senyawa-senyawa polar dan non polar dengan meminimalkan kontaminasi garam laut (Day dan Underwood, 1999). 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^o). Sifat-sifat aseton dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini :

Tabel 5. Sifat-sifat Aceton

No.	Karakteristik	Keterangan
1.	Nama IUPAC	Propanon
2.	Nama lain	β -ketopropana, dimetil keton, dimetilformaldehid, DMK, propanon, 2-propanon, propan 2-1
3.	Rumus molekul	CH_3COCH_3
4.	Massa molar	58.08 g/mol^{-1}
5.	Penampilan	Cair tidak berwarna
6.	Densitas	$0,7925 \text{ g/cm}^3$, cair
7.	Titik leleh	$-94,9 \text{ }^\circ\text{C}$, $-139 \text{ }^\circ\text{F}$ ($178 \text{ }^\circ\text{K}$)
8.	Titik didih	$56.53 \text{ }^\circ\text{C}$, $134 \text{ }^\circ\text{F}$ ($330 \text{ }^\circ\text{K}$)
9.	Kelarutan dalam air	<i>Miscible</i>
10.	Keasaman ($\text{p} K_a$)	24,2 -
11.	Tekanan kritis (20°C)	4.701 kPa
12.	Momen dipol	2,91 D
13.	Klasifikasi EU	Mudah terbakar (F)
14.	Titik nyala	$-17 \text{ }^\circ\text{C}$
15.	Terkait pelarut	Air (sangat larut dalam air), Etanol, Isopropanol, Toluena
16.	Ambang Batas Nilai	500 ppm (TWA), 750 ppm (stel)
17.	LD_{50}	$>2000 \text{ mg/kg}$, oral (tikus)

Sumber : Wikipedia (2011^o)

2.4.3 Dietil Eter

Dietil eter, yang juga dikenal sebagai eter dan etoksi etana, adalah cairan mudah terbakar yang jernih, tak berwarna, dan bertitik didih rendah serta berbau khas. Anggota paling umum dari kelompok campuran kimiawi yang secara umum dikenal sebagai eter ini merupakan sebuah isomernya butanol. Berformula $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$, dietil eter digunakan sebagai pelarut biasa dan telah digunakan sebagai anestesi umum. Eter dapat dilarutkan dengan menghemat di dalam air (6.9 g/100 mL) (Wikipedia, 2011^o). Sifat-sifat dietil eter dapat dilihat pada Tabel 6 di bawah ini:

Tabel 6. Sifat-sifat Dietil Eter

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

Sumber: Wikipedia (2011^d)

2.4.4 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $CH_3CH_2OC(O)CH_3$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Senyawa ini sering disingkat EtOAc, dengan Et mewakili gugus etil dan OAc mewakili asetat. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat merupakan penerima ikatan hidrogen yang lemah, dan bukan suatu donor ikatan hidrogen karena tidak adanya proton yang bersifat asam (yaitu hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif seperti fluor, oksigen, dan nitrogen). Etil asetat dapat melarutkan air hingga 3%, dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Namun demikian, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam (Wikipedia, 2011^e). Sifat-sifat etil asetat dapat dilihat pada Tabel 7 di bawah ini:

Tabel 7. Sifat-sifat Etil Asetat

No.	Karakteristik	Etil Asetat
1.	Nama lain	Etil ester, Ester asetat, Ester etanol
2.	Rumus Molekul	$C_4H_8O_2$
3.	Massa molar	88.12 g/mol
4.	Densitas dan Fase	0.897 g/cm ³ , <u>cairan</u> pada 30°C
5.	Titik Lebur	-83.6°C (189.55 K)
6.	Titik didih	77.1°C (350.25 K)
7.	Penampilan	Cairan tak berwarna

Sumber: Wikipedia (2011^e)

2.4.5 Heksan

Heksan adalah hidrokarbon dengan rumus kimia C_6H_{14} merupakan sebuah alkane dengan 6 atom karbon. Heksan memiliki isomer yang tidak bercabang yang disebut normal heksan (n-heksan). Heksan berupa cairan tidak berwarna pada suhu kamar, dengan titik didih antara 50 dan 70°C, dengan bau mirip bensin. Heksan banyak digunakan karena murah, relative aman, sebagian besar tidak reaktif dan mudah menguap (non polar pelarut) (Day dan Underwood, 1999).

Tabel 8. Sifat-sifat n-Heksan

No.	Karakteristik	Keterangan
1.	Nama IUPAC	Propanon Heksan
2.	Nama lain	n-Heksan
3.	Rumus molekul	C_6H_{14}
4.	Massa molar	86,18 g/mol ⁻¹
5.	Penampilan	Cair berwarna
6.	Densitas	0,6548 g/mL, cair
7.	Titik leleh	-95 °C, -140° F (178 °K)
8.	Titik didih	69 °C, 134° F (342° K)
9.	Kelarutan dalam air	13 mg/L pada 20°C
10.	Keasaman (p K_a)	24,2 -
11.	Titik nyala	-23,3° C
12.	Klasifikasi EU	Mudah terbakar (F)
13.	Angka TTECS	MN9275000

Sumber : Wikipedia (2011^f)

2.5 Ekstraksi

Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Salah satu teknik ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan proses dimana simplisia yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut akan melarut. Maserasi merupakan cara penyaringan yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Ansel, 1989).

Proses ekstraksi adalah proses pengeluaran atau proses pemisahan suatu zat dari campuran zat dengan jalan menambahkan pelarut (*solvent*) tepat pada waktunya (Wanto dan Romli, 1997). 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 merusakkan dengan operasi penghalusan langsung kontak dengan bahan pelarut. Diharapkan komponen sel yang terdapat dalam sel lebih mudah diambil atau dicuci, sedangkan fase ekstraksi yaitu suatu peristiwa yang memungkinkan terjadinya pelintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel. Dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel secara difusi akan menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya (Voight, 1994).

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

2.6 Fraksinasi (Partisi)

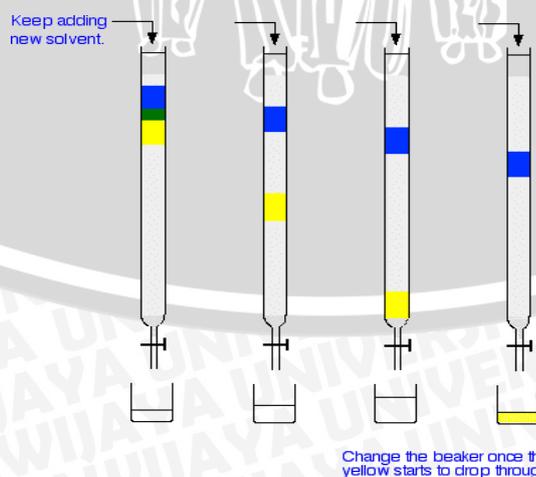
Istilah partisi/fraksinasi (pemisahan) atau distribusi (penyebaran) sering dipakai untuk menggambarkan bagaimana suatu senyawa memisah diantara dua medium yang tak saling melarutkan (Sudarmadji, 1997). Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran yang dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi), dimana komposisi perubahan sesuai dengan gradien tertentu (Wikipedia, 2011⁹).

Metode partisi pelarut biasanya menggunakan dua pelarut yang tidak campur didalam corong pisah. Pada metode ini komponen terdistribusi dalam dua pelarut berdasarkan perbedaan koefisien partisi. Metode partisi juga disebut penyarian cair-cair, yaitu proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur (Sholihah, 2010). Menurut Harborne (1987), pemisahan jumlah dan jenisnya senyawa menjadi fraksi yang berbeda yang tergantung pada jenis tumbuhan. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar.

2.7 Kromatografi Kolom

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

Kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada berapa besarnya komponen terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat. Akan terlihat bahwa jika perbedaan-perbedaan dalam serapan cukup besar maka akan terjadi pemisahan yang sempurna (Sastrohamidjojo, 2007). Gambar kolom kromatografi dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4. Proses Kromatografi kolom

2.8 Silica Gel

Silica gel merupakan salah satu jenis adsorben yang banyak digunakan untuk berbagai keperluan, kandungan utama silika gel adalah *silica* (Yanti, 2011). Ditambahkan oleh Wikipedia (2011^h), silika gel adalah butiran seperti kaca dengan bentuk yang sangat berpori, silika dibuat secara sintesis dari natrium silikat. Walaupun namanya, silika gel padat. Silica gel adalah mineral alami yang dimurnikan dan diolah menjadi salah satu bentuk butiran atau manik-manik. Sebagai pengering, ia memiliki ukuran pori rata-rata 2,4 nanometer dan memiliki afinitas yang kuat untuk molekul air.

Silika gel merupakan suatu bentuk dari silika yang dihasilkan melalui penggumpalan sol natrium silikat (NaSiO_2). Sol mirip agar – agar ini dapat didehidrasi sehingga berubah menjadi padatan atau butiran mirip kaca yang bersifat tidak elastis. Sifat ini menjadikan silika gel dimanfaatkan sebagai zat penyerap, pengering dan penopang katalis. Garam – garam kobalt dapat diabsorpsi oleh gel ini (Wikipedia, 2011^h).

2.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

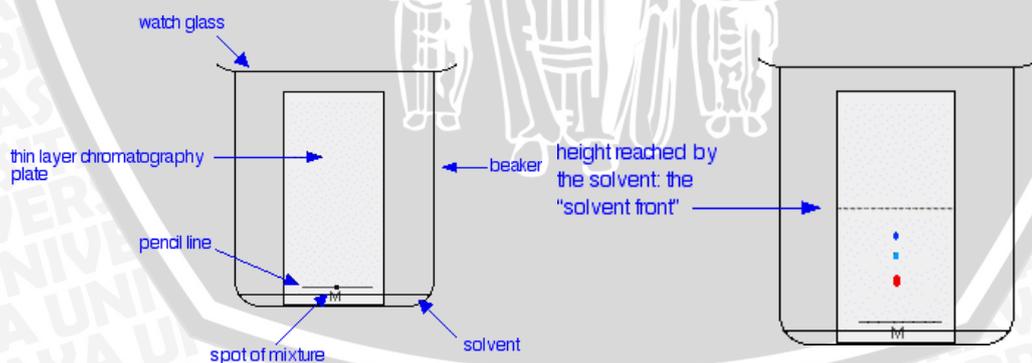
Identifikasi awal untuk mengetahui komponen pigmen adalah dengan menggunakan KLT. KLT merupakan salah satu contoh kromatografi serapan. Fase diam berbentuk lapis tipis yang melekat pada gelas kaca atau plastik, aluminium sedangkan fase gerak berupa campuran pelarut dengan perbandingan tertentu (Sastrohamidjoyo, 2002).

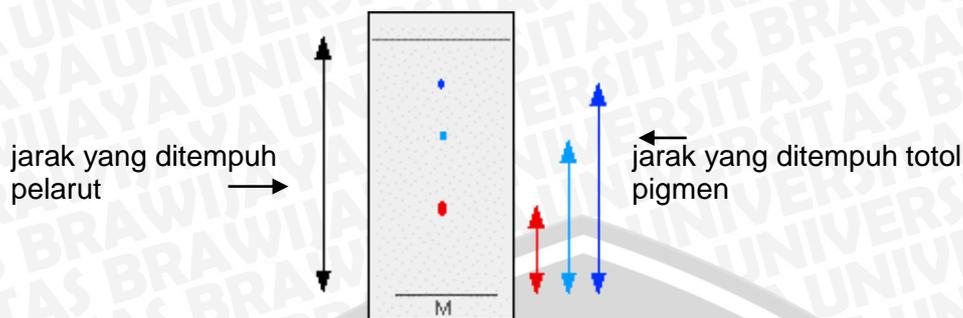
Selain dapat dimanfaatkan untuk metode pemisahan KLT juga dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kemurnian senyawa hasil isolasi. Jika dari hasil eluen (dua arah) dan telah divariasikan jenis eluen diperoleh satu noda maka dapat diperkirakan senyawa hasil isolasi dalam keadaan murni (Warsito, 2007).

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

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

Identifikasi secara visual dapat dilakukan dengan melihat warna total pada pelat KLT. Ketebalan warna total menunjukkan kuantitas pigmen sedangkan banyak noda menunjukkan jumlah pigmen minimal yang terdapat dalam ekstrak. Proses identifikasi pigmen dengan metode KLT dapat dilihat pada Gambar 5. Clark (2007) menyatakan bahwa rangkaian alat pada KLT terdiri dari pelat KLT yang telah ditotol ekstrak pada garis awal pelat, lalu pelat dimasukkan dalam *beakerglass* berisi sedikit pelarut kemudian ditutup dengan cawan petri. Pelarut akan merambat melalui pelat dan terbentuk pemisahan warna pada total tersebut. Setelah pelarut mencapai garis akhir pelat maka jarak total dapat nilai R_f nya.





Gambar 5. Metode kromatografi lapis tipis (Clark, 2007)

2.10 Spektrofotometer UV-Vis 1601

Metode spektrofotometri adalah metode analisis berdasarkan pengukuran absorbansi cahaya oleh senyawa yang mengalami transisi elektron saat terkena sinar dengan panjang gelombang tertentu (Anonymous, 2010^b). Apriyantono, *et al* (1989) menyatakan bahwa spektrofotometri digunakan untuk mengetahui pola spektrum pigmen yang diamati.

Umumnya spektroskopi dengan sinar ultraviolet (UV) dan sinar tampak (VIS) dibahas bersama karena sering kedua pengukuran dilakukan pada waktu yang sama. Karena spektroskopi UV-VIS berkaitan dengan proses berenergi tinggi yakni transisi elektron dalam molekul, informasi yang didapat cenderung untuk molekul keseluruhan bukan bagian-bagian molekulnya. Metode ini sangat sensitif dan dengan demikian sangat cocok untuk tujuan analisis. Spektroskopi UV-VIS bersifat sangat kuantitatif dan jumlah sinar yang diserap oleh sampel disebut juga dengan hukum Lambert-Beer (Takeuchi, 2006). Gambar spektrofotometer UV-vis 1601 dapat dilihat pada Gambar 6.



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

2.11 Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Spektrofotometri Infra Red atau Infra Merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang $0,75 - 1.000 \mu\text{m}$ atau pada Bilangan Gelombang $13.000 - 10 \text{ cm}^{-1}$ (Teguh, 2007). Pada dasarnya Spektrofotometer FTIR (Fourier Transform Infra Red) adalah sama dengan Spektrofotometer IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra merah melewati contoh (Anonymous, 2010^o).

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

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

Secara keseluruhan, analisis menggunakan Spektrofotometer ini memiliki dua kelebihan utama dibandingkan metoda konvensional lainnya, yaitu dapat digunakan pada semua frekwensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat daripada menggunakan cara sekuensial atau pemindaian dan sensitifitas dari metoda Spektrofotometri Fourier Transform Infra Red lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistim detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (Anonymous, 2010). Gambar spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada Gambar 7.

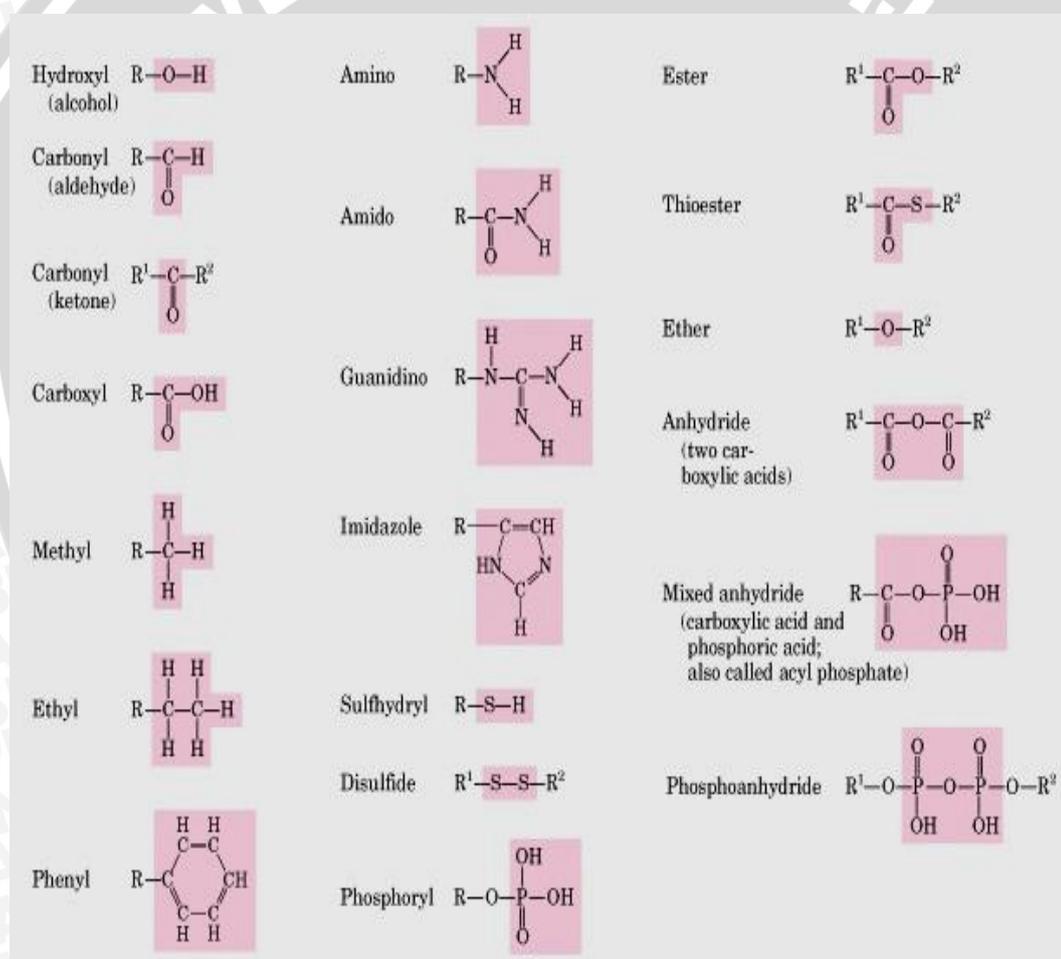


Gambar 7. Spektrofotometer FTIR
(Sumber: Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya)

Menurut Sastrohamidjojo (1991), Spektrofotometer infra merah digunakan untuk menguji gugus fungsional dari suatu senyawa. Prinsip dari Spektrofotometer infra merah ini yaitu apabila sinar infra merah dilewatkan melalui cuplikan seyawa organik maka sejumlah frekuensi akan diserap. Sedangkan frekuensi yang lain akan diteruskan, masing-masing seyawa hanya menyerap sinar infra merah dengan frekuensi tertentu. Sinar yang diserap

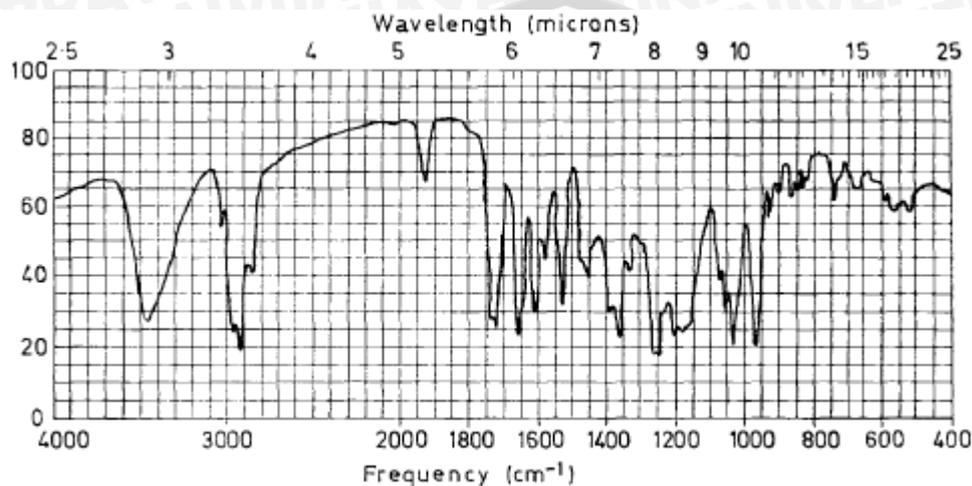
tersebut akan menaikkan amplitudo gerakan vibrasi dalam molekul. Oleh karena itu setiap jenis ikatan yang berbeda mempunyai sifat frekuensi vibrasi yang berbeda, maka cara ini dapat digunakan untuk menganalisis adanya gugus fungsi dalam suatu senyawa.

Gugus fungsional (istilah dalam kimia organik) adalah kelompok gugus khusus pada atom dalam molekul, yang berperan dalam memberi karakteristik reaksi kimia pada molekul tersebut. Senyawa yang bergugus fungsional sama memiliki reaksi kimia yang sama atau mirip (Wikipedia, 2011¹). Berikut adalah daftar gugus fungsional yang sering dijumpai.



Gambar 8. Daftar Gugus Fungsional

Teknik spektroskopi infra-red digunakan untuk mendeteksi struktur tertentu yang unik, seperti hidroksi, asetilenik, alenik dan gugus keto yang tidak reaktif, seperti yang terdapat pada fukosantin (Gambar 9). Gugus alenik dideteksi pada sinyal 1956 cm^{-1} , sampel dibuat dalam pellet KBr (Schwieter, 1969).



Gambar 9. Spektrum Absorpsi Infra-Red dari Fukosantin



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

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

3.1.2 Alat

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

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksploratif untuk mengidentifikasi gugus fungsi *crude* fukosantin dan fukosantin murni dalam alga coklat (*Sargassum filipendula*) dengan pengujian Spektroskopi

FT-IR. 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.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

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

3.3.2 Ekstraksi Pigmen

Ekstraksi alga coklat pada penelitian ini menghasilkan *crude* fukosantin. Ekstraksi alga coklat dilakukan dengan menggunakan metode Pangestuti, *et al* (2007) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009) (Gambar 10). Alga coklat yang sudah dibersihkan dengan air ledeng kemudian dikeringkan dengan kain yang bertujuan untuk mengurangi kandungan air bahan. Selanjutnya rumput laut dipotong kecil – kecil yang bertujuan supaya rumput laut cepat kering dan juga bertujuan untuk memperluas permukaan bidang supaya pigmen terekstraksi dengan maksimal. Alga coklat tersebut ditimbang 25 gram dengan menggunakan timbangan digital. Kemudian rumput laut tersebut dihaluskan dengan mortar yang bertujuan untuk memperluas permukaan bidang. Lalu ditambah $\text{CaCO}_3 \pm 1$ gr. Penambahan CaCO_3 ini bertujuan untuk menetralkan alga coklat agar tidak bersifat basa hal ini karena pigmen fukosantin yang terkandung didalamnya tidak

tahan pada pH tertentu (basa). Kemudian diekstraksi dengan cara maserasi yaitu dengan cara perendaman menggunakan bahan kimia Metanol dan aseton dengan perbandingan (7:3) sebanyak 150 ml. Adapun tujuan dari pemberian metanol yaitu agar pelarut bisa bercampur dengan air dan dapat melarutkan semua senyawa organik. Sedangkan aseton adalah untuk mengangkat pigmen polar (pelarut yang cocok untuk fukosantin). Dan prinsip dari maserasi ini adalah mengambil senyawa target dengan cara merendam atau memecah glukoprotein. Tahapan selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring halus hingga mendapatkan filtrat. Filtrat selanjutnya dipartisi menggunakan dietil eter lalu ditambahkan saturasi garam dan air ledeng hingga terbentuk dua fase (fase atas dan fase bawah). Partisi menggunakan dietil eter bertujuan agar semua pigmen terangkat ke fase atas dan fase bawah. Menurut Shriener, *et al.*, (1980), pelarut polar akan melarutkan zat terlarut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan zat terlarut yang non polar juga atau disebut "*like dissolves like*". Pelarut dietil eter yang bersifat non polar akan melarutkan sampel (pigmen) yang cenderung bersifat non polar walaupun tidak semua sampel (pigmen) yang terkandung didalamnya akan larut dalam dietil eter. Bahan organik yang larut dalam dietil eter akan berada di bagian atas corong pisah yang dinamakan fase atas. Sedangkan fase bawah merupakan bagian yang lebih bersifat polar oleh metanol, aseton, saturasi garam, air ledeng dan terdapat sedikit pigmen yang larut pada pelarut yang bersifat polar.

Perbandingan yang digunakan antara filtrat : dietil eter : saturasi garam : air ledeng dalam proses partisi ini adalah 50:25:60:5ml. Fase yang diambil adalah fase atas karena mengandung banyak pigmen. Hasil dari fase bawah tidak digunakan karena merupakan campuran dari methanol dan aseton. Hasil dari fase atas selanjutnya di *rotary evaporator vacum* dengan suhu 35°C dan kecepatan 100 rpm untuk menguapkan pelarut sampai volume berkurang. Filtrat

kemudian dipindahkan ke dalam botol sampel dan dikeringkan dengan gas nitrogen sampai kering sempurna, tujuan dari dikeringkan dengan nitrogen ini adalah menarik air dan pelarut yang ada pada ekstrak kasar. Ekstrak pigmen kering ditutup dengan *aluminium foil* yang bertujuan agar ekstrak pigmen kering terhindar dari pengaruh suhu, cahaya dan pH tertentu karena pigmen fukosantin labil terhadap suhu, cahaya dan pH tertentu kemudian disimpan dalam *freezer*. Prosedur fraksinasi untuk isolasi dapat dilihat pada Gambar 10.

3.3.3 Isolasi Fukosantin

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

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

Fukosantin kering dilarutkan dalam 0,5 mL fase gerak (heksan : etil asetat 8:2 v/v), kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Kran kolom yang berada di

bawah dibuka. Ekstrak akan meresap ke *silica gel* dalam kolom sampai batas atas *silica gel*. Selanjutnya dimasukkan fase gerak sambil kran kolom dibuka. Fase gerak akan mengalir terus menerus, sehingga perlu menambahkan fase gerak baru agar kolom tidak menjadi kering. Fase gerak yang ditambahkan kedalam kolom ditingkatkan terus menerus kepolarannya dengan menaikkan konsentrasi etil asetat secara bertingkat dimana komposisi yang digunakan untuk heksan : etil asetat 8:2v/v, 7:3 v/v. 6:4 v/v. Kemudian fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan menggunakan tabung reaksi berdasarkan warnanya. Setiap fraksi dianalisis dengan menggunakan KLT. Prosedur Isolasi Fukosantin dapat dilihat pada Gambar 11.

3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis

Hasil ekstraksi *crude* fukosantin di uji menggunakan metode Kromatografi lapis tipis (KLT) yang digunakan untuk mengetahui komposisi pigmen pada *crude* fukosantin alga coklat berdasarkan total warna yang terbentuk dan nilai Rf. Fase diam berupa silika gel F-254 dan fase gerak berupa Heksan : Aseton (7 : 3, v/v) ± 4 ml. Tujuan penggunaan fase gerak heksan dan aseton adalah untuk melarutkan senyawa yang tidak polar, polar maupun semi polar seperti fukosantin, sehingga senyawa tersebut dapat larut dan tertarik keatas sesuai tingkat kepolaranya.

Fukosantin hasil isolasi diuji menggunakan metode Kromatografi lapis tipis (KLT) yang digunakan untuk mengidentifikasi pigmen berdasarkan total warna yang terbentuk dan nilai Rf. Pada penelitian ini, fase diam yang digunakan *silica gel* F-254. Fase gerak untuk identifikasi fukosantin menggunakan heksan : aseton (7:3 v/v) ± 4 ml. Tujuan penggunaan fase gerak heksan dan acetone adalah untuk melarutkan senyawa yang tidak polar, polar maupun semi polar seperti fukosantin, sehingga senyawa tersebut dapat larut dan tertarik keatas sesuai tingkat kepolaranya.

Fukosantin merupakan senyawa bersifat basa sehingga sebelum penotolan diperlukan aktivasi fase diam silika dengan cara plat KLT disemprot dengan larutan KOH dalam aseton. Perlakuan ini bertujuan untuk memperoleh kromatogram senyawa dalam bentuk basa bebasnya daripada dalam bentuk garamnya. Garam-garam amina akan bergerak sangat lambat dalam fase gerak pelarut organik karena senyawa-senyawa basa cenderung berinteraksi secara kuat dengan gugus silanol yang ada di fase diam sehingga jika ada KOH dalam fase diam akan menekan interaksi ini. Fase gerak yang digunakan untuk jenis ini biasanya mengandung komponen yang bersifat basa (Gandjar dan Rohman, 2007). Aktivasi plat KLT bertujuan untuk menghilangkan pengotor dan air yang masih terdapat dalam plat KLT (Kusmardiyani dan Nawawi, 1992).

Tahapan pertama dalam KLT adalah membuat garis pada pelat dengan menggunakan pensil pada kedua ujung pelat. Bagian bawah pelat berukuran 1 cm yang bertujuan untuk menunjukkan posisi awal fraksi ketika ditotolkan, sedangkan bagian atas pelat berukuran 0,5 cm sebagai batas yang ditempuh pelarut. Selanjutnya, fraksi dari kolom yang ditampung dalam tabung reaksi diambil secukupnya menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan pada pelat KLT sambil ditiup-tiup. Setelah bercak tersebut mengering, pelat dimasukkan dalam *beaker glass* berisi fase gerak dan kertas saring. Fase gerak yang dimasukkan dalam beaker glass jumlahnya tidak terlalu banyak sekitar 4ml dan tujuan dari pemberian kertas saring adalah untuk mengetahui apakah kehomogenan larutan didalam *beaker glass*. Selanjutnya *beaker glass* ditutup dengan cawan petri dan dibiarkan sampai pelarut bergerak mendekati garis atas. Kemudian diambil dengan pinset tanpa menyentuh garis atas pelat. Setelah proses pengembangan mencapai batas akhir lintasan, plat KLT lalu dikeringkan pada temperatur yang sesuai dengan titik didih pelarut yang digunakan. Total yang terbentuk pada pelat diamati dan dihitung nilai Rf-nya (*retardation factor*).

Prosedur KLT untuk komposisi pigmen dan identifikasi fukosantin dapat dilihat pada Gambar 12.

3.3.5 Spektrofotometer UV-vis

Spektrofotometer ini digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi pigmen *crude* fukosantin dan fukosantin murni yang diamati. Di dalam analisa kuantitatif dengan metode spektrofotometri, panjang gelombang sinar yang digunakan harus dipilih terlebih dahulu, agar komponen yang dianalisa menyerap sinar tersebut semaksimal mungkin. Spektrofotometer UV-VIS ini berfungsi untuk analisis kualitatif atas dasar spektrum dan analisis kuantitatif atas dasar serapan.

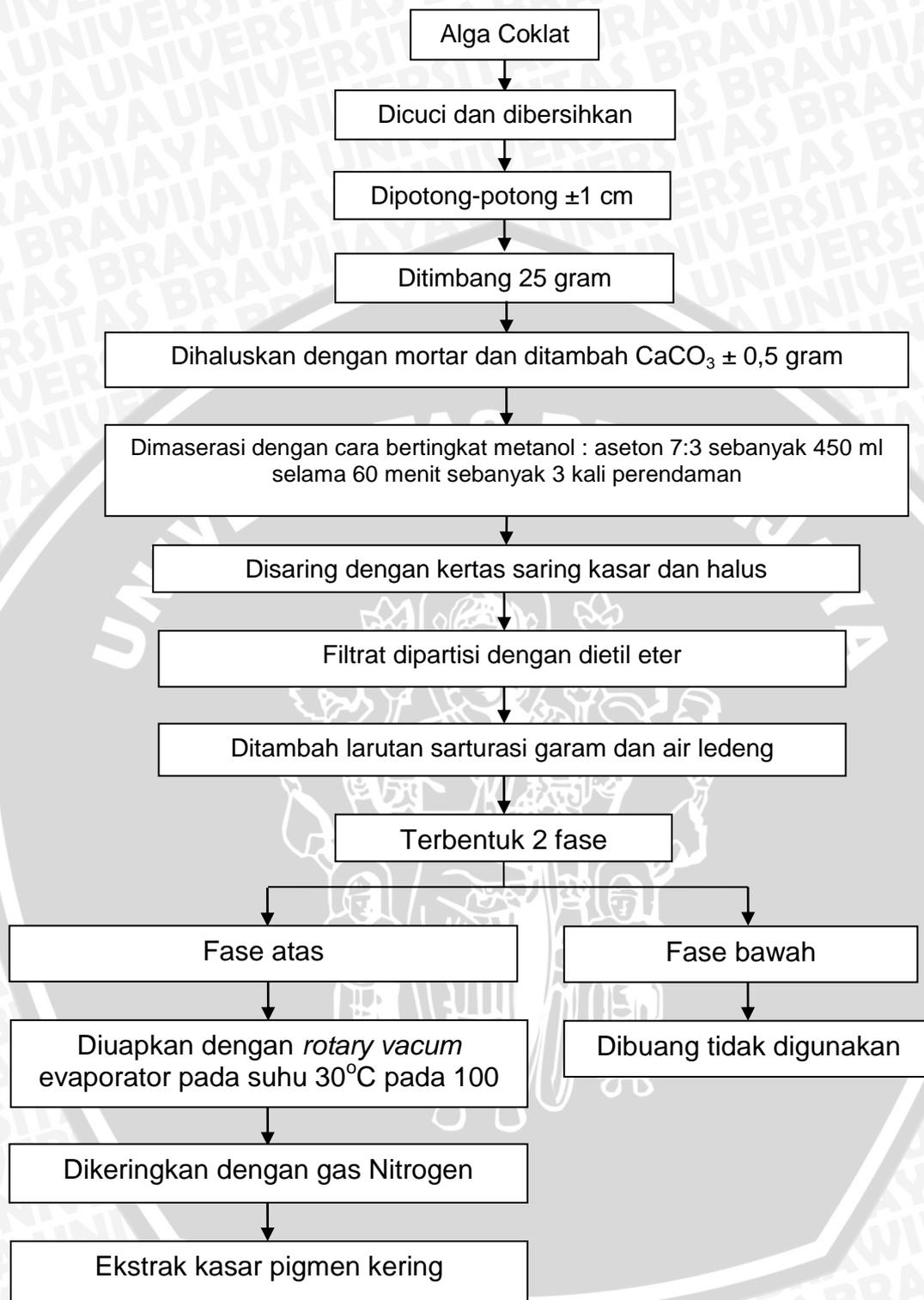
Metode spektrofotometri ini dilakukan untuk mengetahui pola spektra (serapan cahaya yang diabsorpsi) pigmen *crude* fukosantin dan fukosantin murni yang terkandung dalam alga coklat. Fraksi hasil dari kromatografi kolom dan KLT yang diyakini sebagai fukosantin yang dilihat berdasarkan warna dan nilai RF-nya. Kemudian fraksi yang diyakini sebagai fukosantin tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan dikeringkan dengan gas nitrogen. Pigmen yang telah dikeringkan kemudian ditambahkan aseton PA 100% hingga pengenceran 10^3 . Larutan pigmen dituang pada kuvet ± 3 ml dan kuvet kemudian dimasukkan ke dalam instrumen spektrofotometer 1601 Shimidzu dan dilakukan pengujian. Hasil dari pengujian yang berupa serapan maksimum yang terbentuk oleh pigmen fukosantin kemudian dibandingkan dengan serapan spektra maksimum. Prosedur analisa Spektrofotometer UV-VIS dapat dilihat pada Gambar 13.

3.3.6 Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

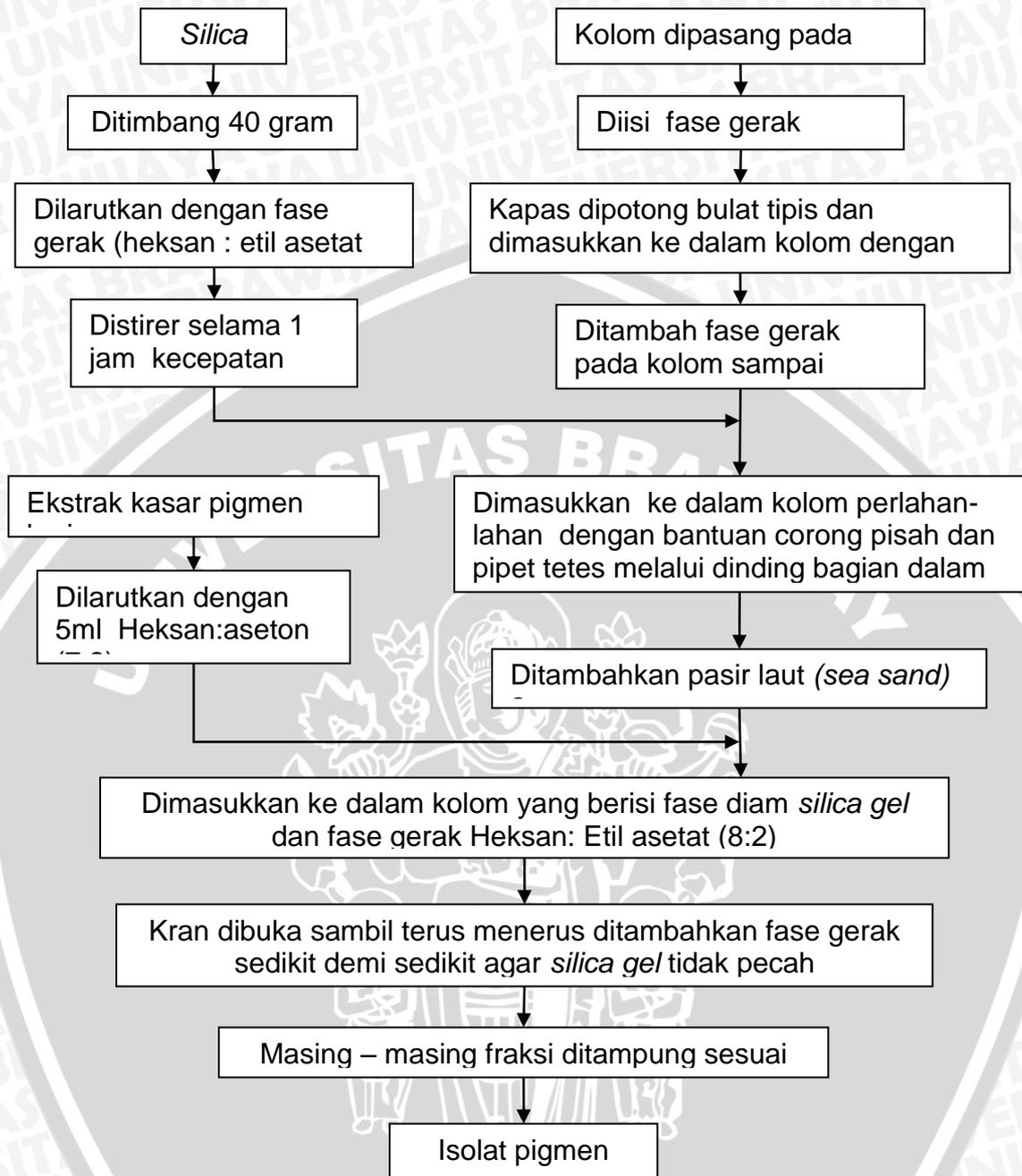
Spektrofotometer FTIR ini digunakan untuk mengetahui gugus fungsi *crude* fukosantin dan fukosantin murni. Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk analisa sampel yang berupa padatan, cairan dan gas. Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energy, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}).

Untuk pengambilan spektra IR jumlah sampel yang diperlukan antara 1-5 mg, sedangkan bentuk sampel dapat berupa padatan, cairan atau dalam bentuk gas. Sampel fukosantin yang digunakan pada spektroskopi FTIR ini berupa cairan sehingga ditetapkan menggunakan plat NaCl/NaCl window sekitar 2-3 tetes selanjutnya diukur serapannya di FT-IR.

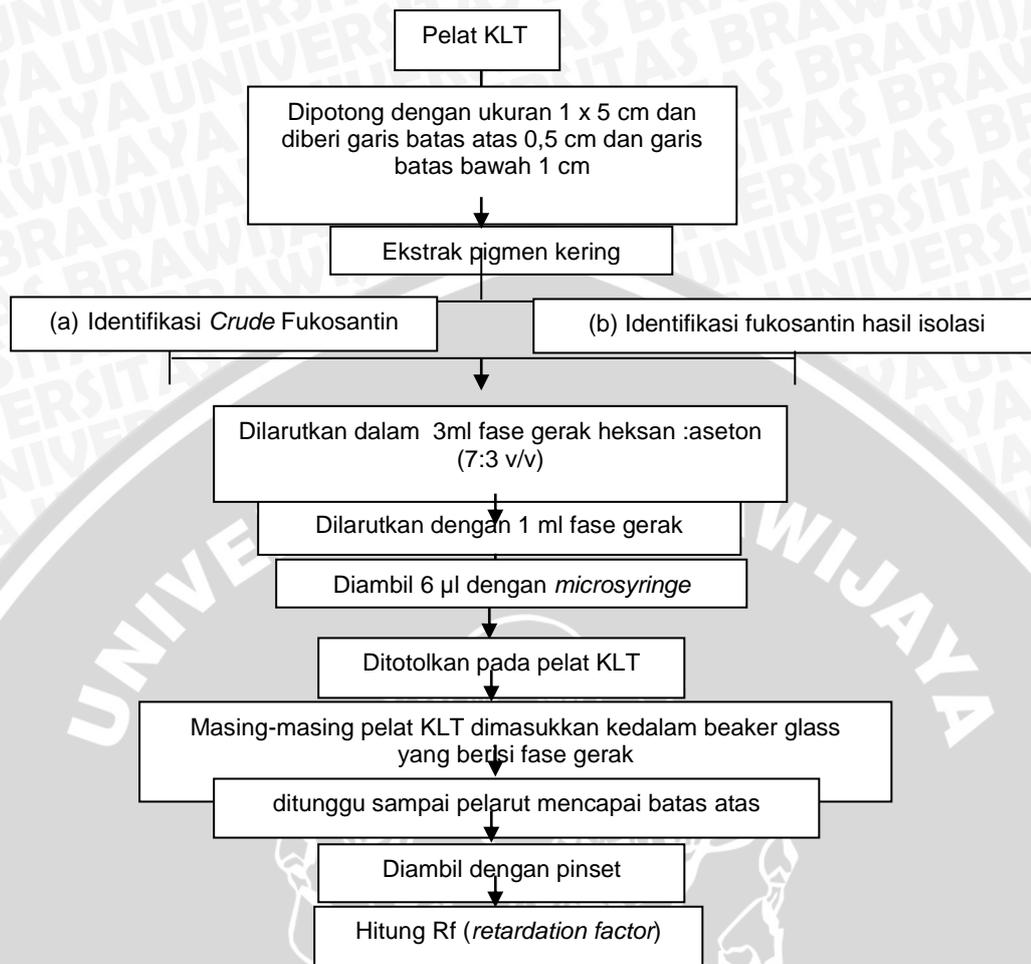
Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum inframerah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui) (Anam, *et al.*, 2007). Menurut Sastrohamidjojo (1991), daerah pada spektrum infra merah diatas 1500 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum atau gugus-gugus fungsi dalam molekul kimia, sedangkan daerah dibawah 1500 cm^{-1} menunjukkan daerah sidik jari. Prosedur identifikasi Spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada Gambar 14.



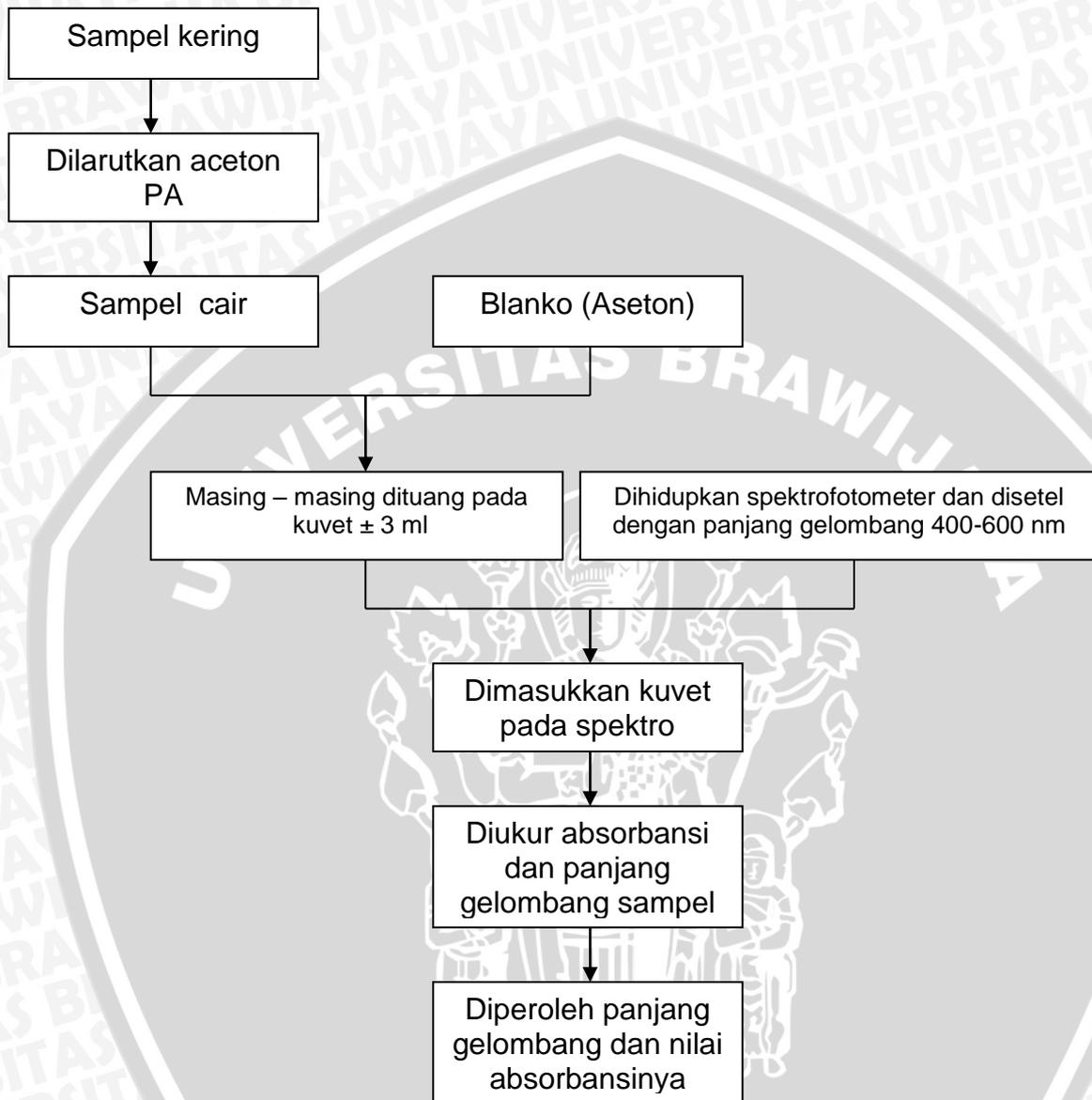
Gambar 10. Ekstraksi dan Fraksinasi Alga Coklat (Pangestuti, *et al.*, 2008) yang dimodifikasi oleh Muamar (2009)



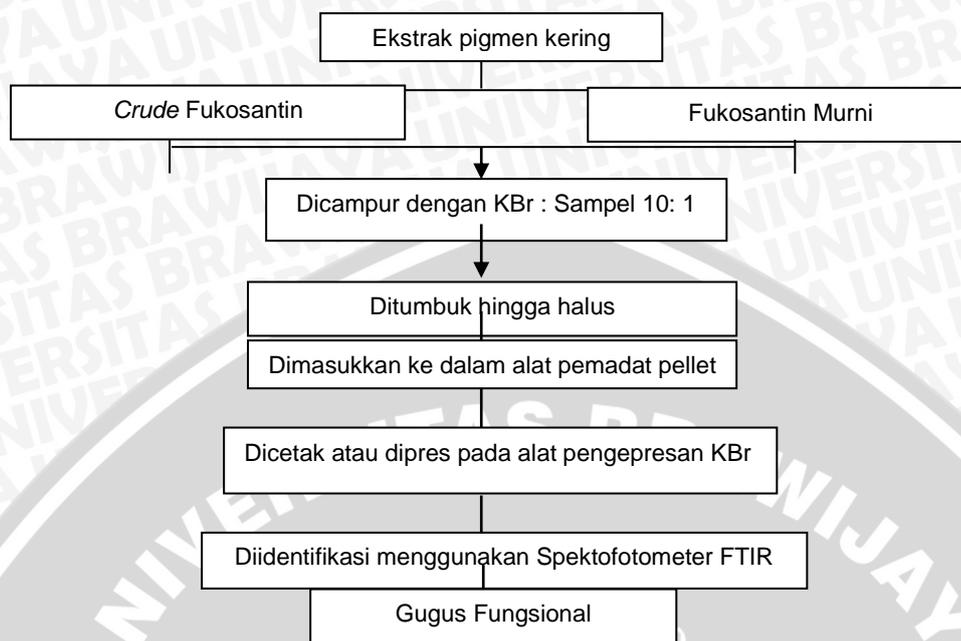
Gambar 11. Isolasi Fukosantin Kromatografi Kolom (Pangestuti, et al., 2007)



Gambar 12. Kromatografi Lapis Tipis (a) *Crude* Fukosantin (Soviani, *et al.*, 2004) dan (b) identifikasi fukosantin Hasil Isolasi (Yan, *et al.*, 1999).



Gambar 13 . Prosedur Analisa dengan Spektrofotometer UV-1601 (Jenie, *et al.*, 1997)



Gambar 14 . Prosedur Analisa Gugus Fungsional *Crude* Fukosantin dan Fukosantin Hasil Isolasi dengan Spektrofotometer FTIR

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian dari isolasi Fukosantin Alga coklat (*Sargassum Filipendula*) dengan parameter hasil dari kromatografi kolom, uji identifikasi dengan KLT (kromatografi lapis tipis), uji identifikasi pola spektra dengan spektrofotometer UV-Vis 1601 shimadzu, uji identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometri FTIR dapat dilihat dari Tabel 9 berikut ini :

Tabel 9. Data Uji Identifikasi Pigmen Fukosantin

No	Uji Identifikasi	Metode	Hasil	Literatur	
1.	Warna	Ekstraksi dan Fraksinasi	25 gram sampel alga coklat menghasilkan <i>crude</i> fukosantin hasil ekstraksi sebesar 345 ml warna hijau	Ekstak kasar berwarna hijau dan Fukosantin berwarna kuning tua (oranye) (Jeffrey, <i>et al.</i> , 1997)	
		Kromatografi Kolom	66 Isolat pigmen dalam tabung reaksi. Isolat fukosantin dari tabung 42-52 warna kuning tua (oranye)		
2.	Kemurnian dan Komposisi	KLT <i>crude</i>	Rf 0,25	Rf fukosantin 0,25-0,28 Yan, <i>et al.</i> ,(1999)	
		KLT Fukosantin Hasil Isolasi	Rf 0,28		
3.	Pola spektra	Spektrofotometer UV-VIS 1601 Shimadzu	Pelarut Aseton		Dalam pelarut Aseton (Jeffrey, <i>et al.</i> , 1997) panjang gelombang 446,3 nm
			Crude	Fukosantin	
			445 nm, 446 nm	446,5 nm	
4.	Gugus Fungsi	Spektrofotometer FTIR	Ekstak Kasar Fukosantin	Haugan <i>et al.</i> (1992)	
			Fukosantin Hasil Isolasi		
			OH → 3423,41 cm ⁻¹ C-H → 2958- 2854 cm ⁻¹ Ikatan alenik → - C=O → 1737,74 cm ⁻¹ C=C terkonjugasi → 1625 cm ⁻¹ C-O-C → 1032 cm ⁻¹ CH ₂ → 1575-1461 cm ⁻¹		
			Fukosantin Hasil Isolasi OH → 3462,20 cm ⁻¹ C-H → 2923- 2853 cm ⁻¹ Ikatan alenik 1930 cm ⁻¹ C=O → 1739 cm ⁻¹ C=C terkonjugasi → 1650 cm ⁻¹ C-O → - C-O-C → 1031 cm ⁻¹ CH ₂ → 1527-1459 cm ⁻¹		

4.1.1 Crude Alga Coklat

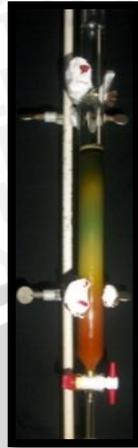
Hasil ekstraksi 25 gram alga coklat dengan pelarut metanol : aseton (7:3 v/v) sebanyak \pm 400 ml dihasilkan filtrat berwarna hijau kecoklatan. Setelah alga coklat diekstraksi, kemudian difraksinasi. Hasil filtrat yang diperoleh dari partisi fase atas pada alga coklat sebanyak \pm 345 ml. Kemudian hasil filtrat dirotary *vacuum evaporator* dan diberi gas nitrogen untuk mengeringkan sampel. Berikut hasil ekstraksi pigmen *crude* fukosantin pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil *Crude* Fukosantin

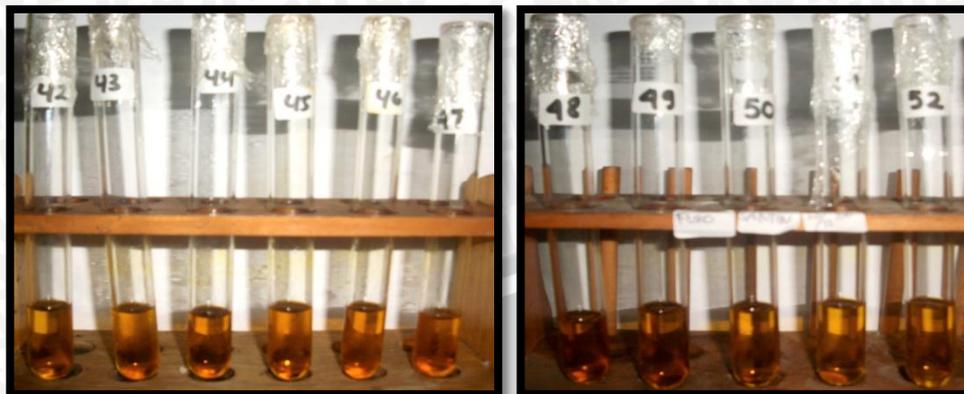
4.1.2 Isolasi Fukosantin dengan Kromatografi Kolom

Isolasi pigmen fukosantin dari alga coklat (*Sargassum filipendula*) dilakukan untuk mendapatkan fukosantin murni. Isolasi pigmen dilakukan dengan metode 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 16.



Gambar 16. Hasil Kromatografi Kolom

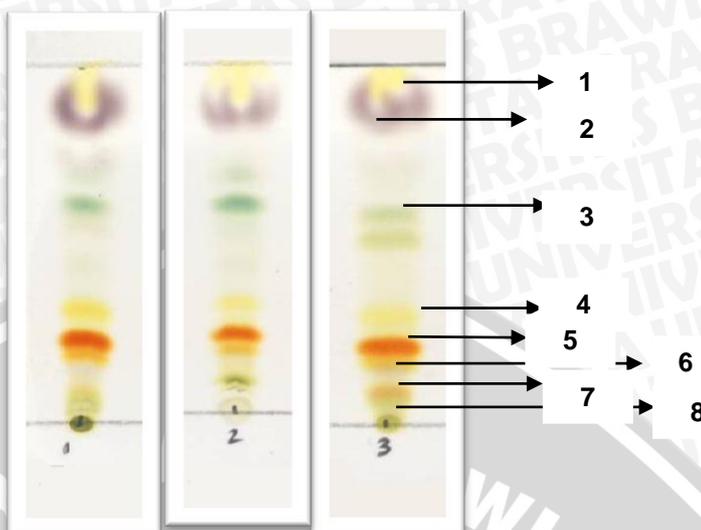
Berdasarkan hasil kromatografi kolom diatas dapat dilihat terbentuknya pita-pita pigmen berdasarkan warna dan tingkat kepolarannya. fukosantin yang berwarna kuning tua (oranye). Hasil isolasi yang diperoleh yaitu 66 fraksi yang ditampung pada tabung reaksi sesuai warna masing-masing. Fraksi yang diduga 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 17 di bawah ini.



Gambar 17. Pigmen Fukosantin Hasil Isolasi

4.1.3 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

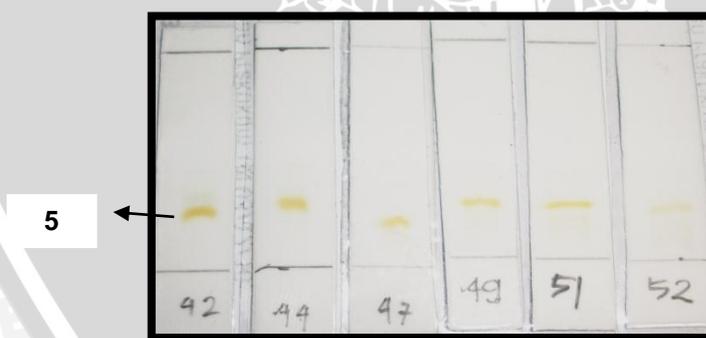
Identifikasi pigmen fukosantin dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : aseton (7:3 v/v). Tujuan penggunaan fase gerak heksan dan aseton (7:3 v/v) adalah untuk melarutkan senyawa yang tidak polar, polar maupun semi polar seperti fukosantin, sehingga senyawa tersebut dapat larut dan tertarik keatas sesuai tingkat kepolarannya. Waktu tempuh pelarut dari batas bawah hingga batas atas plat KLT selama ± 5 menit. Hasil pengujian KLT pigmen *Crude* fukosantin dapat dilihat pada Gambar 18 dan Fukosantin hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 19 di bawah ini.



Gambar 18. Hasil KLT Pigmen *Crude* Fukosantin

Tabel 10. Nilai Rf dan Warna Pigmen *Crude* Fukosantin

Alga coklat	Total Warna							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Sargassum filipendula</i>	Kuning	abu-abu	hijau biru	Kuning-oranye	oranye	Oranye kuning	Oranye hijau	hijau
Nilai Rf	0.94	0.81	0.59	0.31	0.25	0.2	0.14	0.07



Gambar 19. Hasil KLT Pigmen Fukosantin Murni

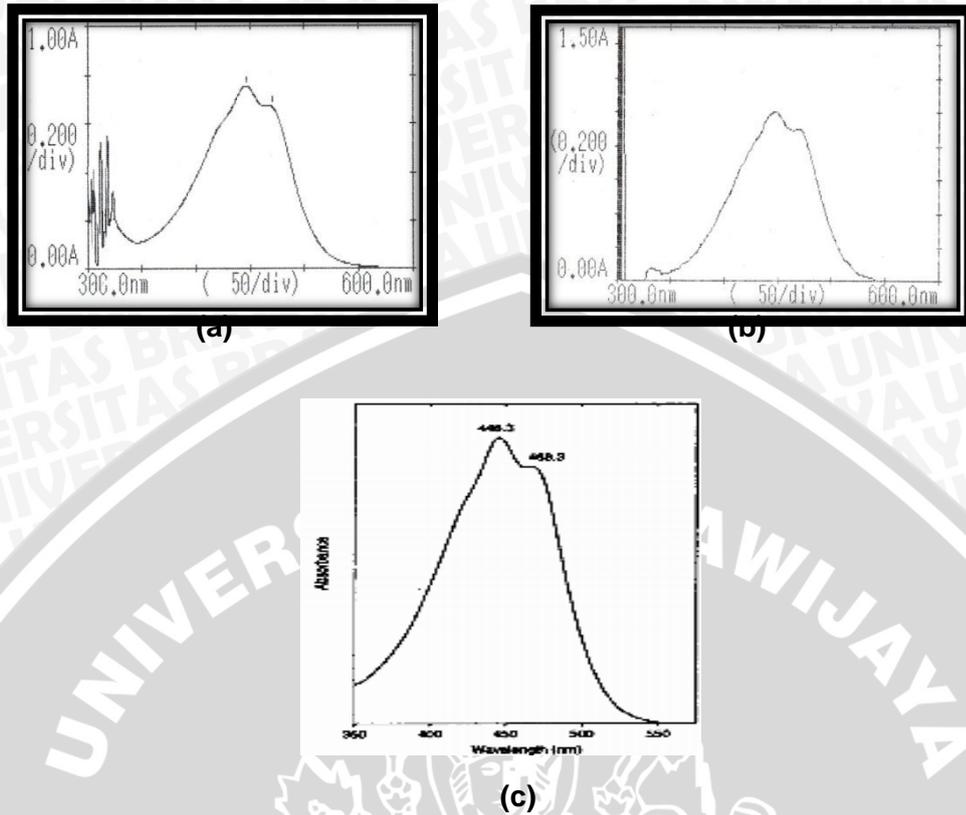
Gambar 18 menunjukkan terbentuk 8 total dengan warna total 1 (kuning dengan nilai Rf 0,94), total 2 (abu-abu dengan nilai Rf 0,81), total 3 (hijau biru dengan nilai Rf 0,59), total 4 (kuning-oranye dengan nilai Rf 0,31), total 5 (oranye

dengan nilai Rf 0,25), total 6 (oranye-kuning dengan nilai Rf 0,2), total 7 (oranye hijau dengan nilai Rf 0,14), dan total 8 (hijau dengan nilai Rf 0,07). Warna dari hasil KLT diatas digunakan sebagai dasar untuk mengidentifikasi pigmen. Pigmen abu-abu diduga merupakan feofitin, hal ini didukung oleh Jeffrey *et al.*, (1997), yaitu pigmen feofitin a berwarna abu-abu. Pigmen hijau biru merupakan klorofil a, pigmen hijau merupakan klorofil c, pigmen kuning, kuning-oranye, oranye pekat, dan oranye merupakan karotenoid. Menurut Gross (1991), klorofil a berwarna hijau biru dan karotenoid berwarna kuning, oranye. Karotenoid dibedakan menjadi dua, yaitu karoten (nonpolar) dan santofil (polar). Ditambahkan oleh Jeffrey *et al.*, (1997), klorofil berwarna hijau. Pada total 5 menunjukkan nilai Rf 0,25 dengan warna oranye yang merupakan ciri-ciri dari fukosantin, hal ini sesuai dengan Yan *et al.*, (1999), nilai Rf pigmen fukosantin berkisar antara 0,25 – 0,28.

Pada Gambar 19 diketahui bahwa total warna yang terbentuk hanya satu, yaitu berwarna oranye dengan nilai Rf yang diperoleh yaitu 0,28. Nilai Rf ini diperoleh dengan cara membagi jarak yang ditempuh pigmen dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut.

4.1.4 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-1601

Pengukuran pola spektra ekstrak kasar alga coklat dan fukosantin hasil isolasi dengan menggunakan spektrofotometer diperlukan untuk menguatkan identifikasi fukosantin dengan KLT. Pola spektra fukosantin dalam pelarut aseton dapat dilihat pada Gambar 20 berikut :



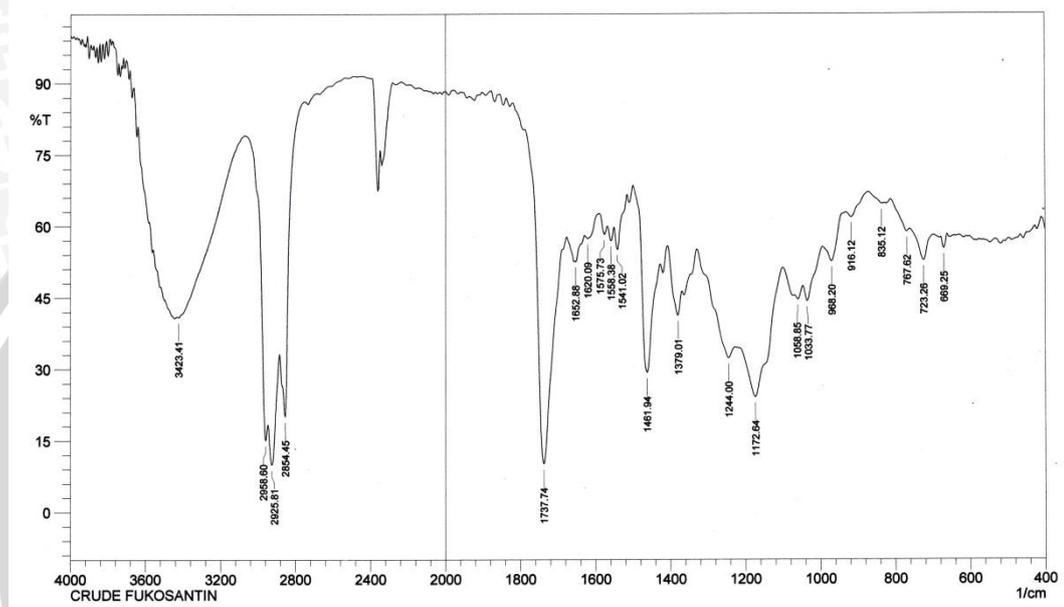
Gambar 20. Hasil Pola Spektra
a Pola spektra *Crude* fukosantin
b Pola spektra fukosantin Hasil Isolasi
c Pola spektra fukosantin (Jeffrey, *et al.*, 1997)

Dari pola spektra hasil penelitian dan pola spektra dari literatur diatas memiliki bentuk dan serapan maksimum yang hampir sama. Namun untuk *Crude* fukosantin memiliki pola spektra yang rumit, hal ini di karenakan masih adanya senyawa-senyawa yang lain terdapat dalam kandungan *crude* fukosantin.

Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer diperoleh hasil serapan maksimum pada puncak spektra pada pelarut aseton untuk *crude* fukosantin 445 nm dan 446 nm dan untuk fukosantin murni sebesar 446,5 nm.

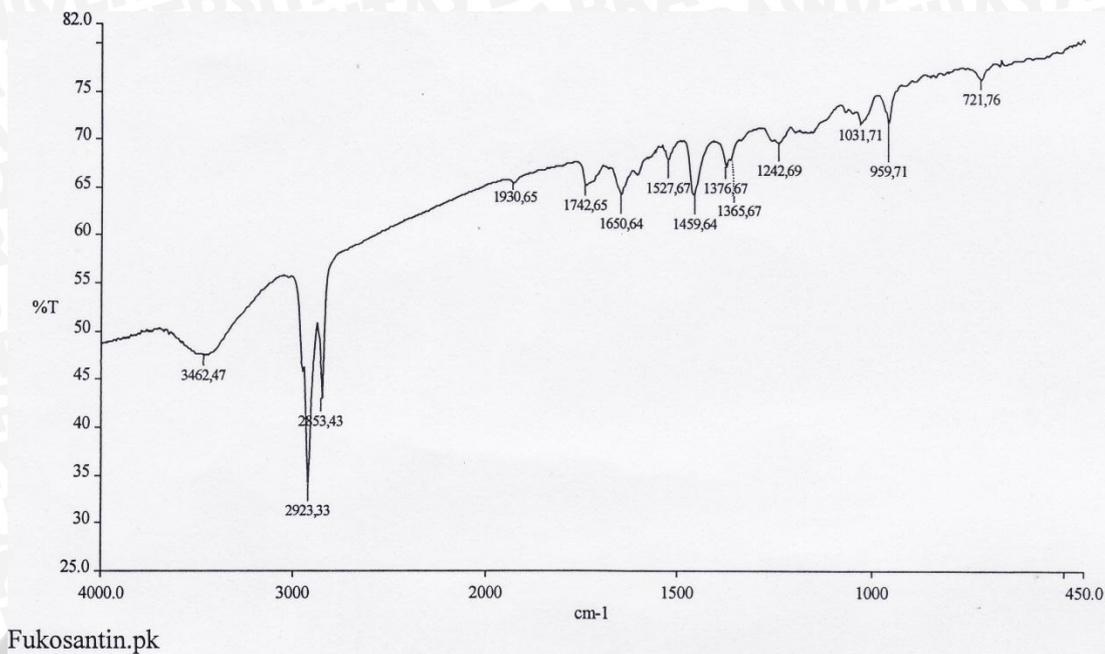
4.1.5 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri FTIR

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



Gambar 21. Spektra IR dari Sampel *Crude* Fukosantin (KBr)

Identifikasi spektroskopi inframerah menggunakan KBr pellet pada Gambar 21 di atas diperoleh hasil yang sedikit mempunyai kemiripan, dengan pembacaan sebagai berikut: puncak serapan (peak) pada bilangan gelombang $3423,41 \text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah gugus fungsi OH (hidroksil) dan pada daerah serapan $2958,60 \text{ cm}^{-1}$, $2925,81 \text{ cm}^{-1}$ dan $2854,45 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus CH_2 dan CH_3 . Kemudian bilangan gelombang pada daerah $1737,74 \text{ cm}^{-1}$ ini menunjukkan vibrasi $\text{C}=\text{O}$. Selanjutnya serapan pada daerah $1652,88 \text{ cm}^{-1}$, $1620,09 \text{ cm}^{-1}$, 1575 cm^{-1} , $1558,38 \text{ cm}^{-1}$ dan $1541,02 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi $\text{C}=\text{C}$ terkonjugasi. Pada bilangan gelombang 1031 cm^{-1} menunjukkan pita uluran $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ simetrik.



Fukosantin.pk

Gambar 22. Spektra IR dari Sampel Fukosantin Murni (KBr)

Identifikasi spektroskopi inframerah menggunakan KBr pellet pada Gambar 22 di atas diperoleh hasil yang sedikit mempunyai kemiripan, dengan pembacaan sebagai berikut: puncak serapan (peak) pada bilangan gelombang 3462,20 cm^{-1} merupakan daerah gugus fungsi OH (hidroksil) dan pada daerah serapan 2923,33 cm^{-1} dan 2852,43 cm^{-1} menunjukkan gugus CH. Pada bilangan gelombang 1930 cm^{-1} merupakan ikatan alenik C=C=C, kemudian bilangan gelombang pada daerah 1742 cm^{-1} ini menunjukkan vibrasi C=O. Selanjutnya serapan pada daerah 1650 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C=C terkonjugasi. Pada bilangan gelombang 1031 cm^{-1} menunjukkan pita uluran C-O-C simetrik.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisa terhadap faktor retardasi (R_f) digunakan untuk memperkuat identifikasi berdasarkan warna. Hasil penelitian pada *crude* fukosantin menunjukkan nilai R_f sebagai berikut : pigmen warna kuning (β -karoten) (total 1)

memiliki Rf 0,94. Hal ini sesuai dengan penelitian Soviani *et al.*, (2004) dan Pratikno *et al.*, (2004) menggunakan fase gerak yang sama dengan penelitian ini, yaitu Heksan : Aseton (7:3 v/v), dimana pigmen kuning memiliki kisaran Rf 0,91 – 0,94. Ditambahkan oleh Britton *et al.*, (1995), dengan fase gerak yang lebih bersifat nonpolar diperoleh nilai Rf β -karoten antara 0,8 – 1,0. Sistem KLT ini menggunakan “normal phase”, dimana fase diam bersifat lebih polar daripada fase geraknya, sehingga pigmen nonpolar akan merambat terlebih dahulu (Jeffrey, *et al.*, 1997). Metode KLT menggunakan fase diam polar dan fase gerak lebih nonpolar akan menyebabkan pigmen karotenoid bersifat nonpolar bergerak mengikuti fase gerak sehingga memiliki nilai Rf lebih tinggi (Ati, *et al.*, 2006). Jadi, dapat diketahui bahwa total no 1 merupakan β -karoten.

Total 2 berwarna abu-abu yang teridentifikasi sebagai feofitin yang merupakan turunan klorofil. Menurut Jeffrey *et al.*, (1997), feofitin berwarna abu-abu. Identifikasi ini berdasarkan sifat fase gerak yang didominasi oleh pelarut nonpolar. Pada penelitian ini nilai Rf untuk total 2 adalah 0,81. Hal ini sesuai dengan penelitian Soviani *et al.*, (2004), Heriyanto dan Limantara (2006), dan Pratikno *et al.*, (2004) menggunakan fase gerak yang sama, yaitu pigmen berwarna abu-abu memiliki kisaran nilai Rf 0,74 – 0,82. Total 3 dengan warna hijau biru dengan nilai Rf 0,59 teridentifikasi sebagai klorofil a. Berdasarkan penelitian Heriyanto dan Limantara (2006), klorofil a (hijau biru) memiliki kisaran Rf 0,57 – 0,64.

Total 5 yang berwarna oranye pekat memiliki nilai Rf 0,25 teridentifikasi sebagai pigmen santofil (fukosantin). Menurut Menurut Yan *et al.*, (1999), nilai Rf pigmen fukosantin dengan fase gerak heksana : Aseton (7 : 3, v/v) berkisar antara 0,25 – 0,28. Hal ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian ini. Pigmen fukosantin berwarna oranye dan termasuk golongan santofil (bersifat polar) (Nurchayanti dan Timotius, 2007) (Jeffrey, *et al.*, 1997). Pigmen fukosantin

merupakan pigmen dominan yang dimiliki alga coklat yang menyebabkan warna coklat pada seluruh bagian thallus (Pangestuti, 2007). Hal ini sesuai dengan hasil KLT diatas, yaitu total 5 yang berwarna oranye memiliki warna yang lebih pekat dibandingkan dengan total warna yang lainnya

Pada sampel fukosantin hasil isolasi, total warna yang terbentuk hanya satu, yaitu berwarna oranye dengan nilai Rf yang diperoleh yaitu 0,28. Nilai Rf ini diperoleh dengan cara membagi jarak yang ditempuh pigmen dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. Menurut Yan *et al.*, (1999), nilai Rf pigmen fukosantin dengan fase gerak heksana : etil asetat (1 : 1, v/v) berkisar antara 0,25 – 0,28.

Adanya perbedaan hasil total warna *crude* fukosantin yang menghasilkan 8 total warna dengan fukosantin murni yang menghasilkan 1 total warna. Banyaknya total warna menunjukkan jumlah pigmen yang terdapat dalam suatu ekstrak. Hal ini disebabkan karena perbedaan kemurnian. Menurut Heriyanto dan Limantara (2006), nilai Rf bervariasi tergantung pada pelarut, penjerap, kemurnian, dan konsentrasi pigmen. Sedangkan pergeseran antara nilai Rf *crude* fukosantin sebesar 0,25 dan fukosantin sebesar 0,28 masih dalam kondisi wajar karena Menurut Yan *et al.*, (1999), nilai Rf pigmen fukosantin dengan fase gerak heksana : etil asetat (1 : 1, v/v) berkisar antara 0,25 – 0,28.

4.2.2 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-1601

Pengukuran pola spectra *crude* fukosantin dan fukosantin murni dengan menggunakan spektrofotometer diperlukan untuk menguatkan identifikasi fukosantin dengan KLT. Identifikasi ini dipilih karena prosesnya sederhana karena tidak perlu melakukan preparasi khusus. Sampel dimasukan pada kuvet spektro kemudian ditaruh pada tempat khusus pada alat kemudian alat akan

melakukan pembacaan pola spektra dan panjang gelombang yang dihasilkan. Selain itu sampel yang digunakan untuk proses identifikasi ini sangat sedikit ± 20 μm .

Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh hasil serapan maksimum pada puncak spektra pada pelarut aseton untuk *crude* fukosantin 445 nm dan 446 nm dan untuk fukosantin murni sebesar 446,5 nm. Hasil ini hampir mirip dengan pola spektra menurut Jeffrey, *et al.*, (1997) Panjang gelombang fukosantin pada aseton 446,3 nm

Hasil pola spektra dan panjang maksimum pigmen *crude* fukosantin dan fukosantin murni dibandingkan dengan panjang gelombang spektra dan panjang gelombang maksimum menurut Jeffrey, *et al.*, (1997) dan Hirota dan Kumagai (1990) memiliki kemiripan yang hampir sama baik dalam pola spektra maupun panjang gelombang, namun untuk hasil pola spectra dan panjang gelombang maksimum *crude* fukosantin menghasilkan 2 puncak spectra berbeda dengan fukosantin murni yang menghasilkan 1 puncak spectra. Hal ini mungkin dikarenakan perbedaan tingkat kemurnian dari kedua zat tersebut dan kualitas pelarut yang digunakan untuk analisa (Toto *et al.*, 2006).

4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan Spektrofotometri FTIR

Identifikasi menggunakan FTIR ini dipilih karena dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat, sensitifitas dari metoda spektrofotometri FTIR lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistim detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (Sastrohamidjojo, 1991).

Mengenai nilai pada gugus fungsi khusus baik yang terdapat pada *crude* fukosantin maupun fukosantin murni sedikit mengalami pergeseran dengan yang ada pada literatur Haugan *et al.*, (1992), namun pergeseran nilai gugus fungsi

tersebut masih dalam kisaran, contohnya seperti gugus hidroksil OH pada *crude* fukosantin berada pada bilangan gelombang $3423,41\text{ cm}^{-1}$ sedangkan untuk fukosantin murni pada bilangan gelombang $3462,20\text{ cm}^{-1}$, ini sedikit berbeda dengan yang terdapat pada pustaka yaitu 3483 cm^{-1} . Menurut Sylverstein (1986), gugus hidroksil OH terdapat pada bilangan gelombang antara $3550\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$. Untuk gugus hidrokarbon C-H juga mengalami pergeseran pada *crude* fukosantin berada pada gelombang 2958 cm^{-1} , 2952 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} sedangkan untuk fukosantin murni berada pada bilangan gelombang 2923 cm^{-1} dan 2853 cm^{-1} , hal ini sedikit berbeda dengan pustaka yaitu 3030 cm^{-1} dan 2856 cm^{-1} . Menurut Sylverstein (1986), gugus hidrokarbon CH terdapat pada bilangan gelombang $3000\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$.

Menurut Schwieter (1969), Teknik spektroskopi infra-red digunakan untuk mendeteksi struktur tertentu yang unik, seperti hidroksi, asetilenik, alenik dan gugus keto yang tidak reaktif, seperti yang terdapat pada fukosantin. Gugus alenik dideteksi pada sinyal 1956 cm^{-1} (pellet KBr), sedangkan pada penelitian ini memberikan hasil analisa FT-IR baik *crude* fukosantik tidak memunculkan gugus alenik sedangkan fukosantin murni yaitu pada 1930 cm^{-1} . Tidak munculnya gugus alenik pada *crude* fukosantin dikarenakan adanya tingkat perbedaan kemurnian. Kisaran dari alenik pada kelompok karotenoid yaitu antara $2000\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ (Britton, 1995).

Pada gugus karboksil (ester) C=O mengalami pergeseran pada *crude* fukosantin berada pada gelombang 1737 cm^{-1} sedangkan untuk fukosantin murni berada pada bilangan gelombang 1742 cm^{-1} , hal ini sedikit berbeda dengan pustaka yaitu 1732 cm^{-1} . Namun pergeseran nilai gugus fungsi tersebut masih dalam kisaran, menurut Sylverstein (1986), gugus karboksil C=O terdapat pada bilangan gelombang $1750\text{-}1730\text{ cm}^{-1}$. Pada gugus C=C konjugasi *crude* fukosantin pada bilangan gelombang 1625 cm^{-1} dan fukosantin murni pada

bilangan gelombang 1650 dan pada pustaka pada bilangan gelombang 1654. Menurut Sylverstein (1986), gugus C=O terkonjugasi terdapat pada bilangan gelombang 1680-1620 cm^{-1} .

Pada gugus fungsi CH_2 *crude* fukosantin yaitu 1575 cm^{-1} , 1558 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} dan 1461 cm^{-1} sedangkan fukosantin murni yaitu 1527 cm^{-1} dan 1459 cm^{-1} . Pada pustaka yaitu 1607 cm^{-1} , 1576 cm^{-1} , 1530 cm^{-1} , 1471 cm^{-1} , 1456 cm^{-1} . Pada *crude* fukosantin muncul 4 bilangan gelombang dan pada fukosantin murni muncul 2 bilangan gelombang sedangkan pustaka muncul 5 bilangan gelombang. Adanya perbedaan ini disebabkan karena perbedaan tingkat kemurnian dan adanya pengotor yang mengotori zat tersebut sehingga serapan bilangan gelombang tidak dapat dideteksi (Pavia *et al.*, 1979). Sama halnya pada gugus fungsi C-O *crude* fukosantin yaitu 1379 cm^{-1} dan 1244 cm^{-1} , dan fukosantin murni tidak muncul, pada pustaka yaitu 1335 cm^{-1} , 1261 cm^{-1} , 1245 cm^{-1} . Muncul 2 bilangan gelombang pada *crude* fukosantin dan pada fukosantin murni tidak muncul bilangan gelombang sedangkan pustaka muncul 3 bilangan gelombang.

Pada gugus fungsi C=C *trans*-disubstitusi bilangan gelombang *crude* fukosantin muncul sebanyak 3 bilangan gelombang yaitu 1172 cm^{-1} , 1058 cm^{-1} , dan 968 cm^{-1} , pada bilangan gelombang fukosantin murni muncul 1 bilangan gelombang yaitu 959 cm^{-1} , sedangkan pada pustaka muncul bilangan gelombang sebanyak 6 gelombang yaitu 1201 cm^{-1} , 1175 cm^{-1} , 1157 cm^{-1} , 1071 cm^{-1} , 1053 cm^{-1} , dan 958 cm^{-1} . Adanya perbedaan ini disebabkan karena perbedaan tingkat kemurnian dan adanya pengotor yang mengotori zat tersebut sehingga serapan bilangan gelombang tidak dapat dideteksi (Pavia *et al.*, 1979). Pada gugus C-O-C bilangan gelombang baik *crude* fukosantin, fukosantin murni dan pustaka hampir mempunyai kemiripan yaitu berturut-turut 1033 cm^{-1} , 1033 cm^{-1} , dan 1031 cm^{-1} , cm^{-1} , sedikit mengalami pergeseran tapi masih masuk dalam kisaran. Menurut

Sylverstein (1986), gugus C-O-C terdapat pada bilangan gelombang 1050-1030 cm^{-1} . Analisa gugus fungsional sampel Fukosantin (*Fucus serratus*) dan crude fukosantin dan fukosantin murni *Sargassum filipendula* menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Spektrofotometer dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 11. Analisa gugus fungsional sampel Fukosantin *Fucus serratus* dan sampel crude dan fukosantin *Sargassum filipendula* menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Spektrofotometer

No,	Gugus Fungsional	V_{\max} (cm^{-1}) (A)	V_{\max} (cm^{-1}) (B)	V_{\max} (cm^{-1}) (C)
1.	OH	3483	3423,41	3462,20
2.	CH	3030-2856	2958- 2854	2923-2853
3.	Allene	1930	-	1930
4.	C=O	1732	1737,74	1742
5.	C=C, kojugasi	1654	1625	1650
6.	CH ₂	1607, 1576, 1530, 1471, 1456	1575, 1558, 1541, 1461	1527, 1459
7.	C-O, asetat	1335, 1261, 1245	1379,1244	-
8.	C=C,Trans disubstitusi	1201, 1175, 1157, 1071, 1053, 958	1172, 1058,, 968	959
9	C-O-C	1032	1033	1031

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

(B) = V_{\max} (cm^{-1}) crude Fukosantin (*Sargassum filipendula*) Berdasarkan uji FTIR yang dilakukan di laboratorium Kimia Universitas Brawijaya Malang.

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

4.2.4 Rendemen Fukosantin

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

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

Keterangan : fp = faktor pengenceran

Hasil rendemen pigmen *Crude* fukosantin dan fukosantin hasil isolasi pada alga coklat (*Sargassum filipendula*) dihitung dengan membagi antara kadar fukosantin yang didapatkan dengan sampel awal alga coklat yang digunakan. Hasil rendemen *crude* fukosantin *Sargassum filipendula* pada penelitian ini yaitu 0,062 % ± 0,008 dan fukosantin hasil isolasi yaitu 0,064 % ± 0,0065. 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. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

- Hasil identifikasi *crude* fukosantin dari hasil KLT diperoleh Rf yaitu 0,25 dengan pola spectra pada pelarut aseton adalah 445 nm dan 446 nm dan hasil rendemen sebesar 0,062 % \pm 0,008 serta dari hasil uji spektroskopi FT-IR diperoleh gugus fungsi OH (hidroksil), gugus C-H, tidak adanya ikatan alenik, vibrasi C=O, dan vibrasi C=C konjugasi, vibrasi CH₂, vibrasi C-O, vibrasi C-O-C dan vibrasi C=C trans-disubstitusi.
- Hasil identifikasi fukosantin murni dari hasil KLT diperoleh Rf yaitu 0,28 dengan pola spectra pada pelarut aseton adalah 446,5 nm dan hasil rendemen sebesar 0,064 % \pm 0,0065 serta dari hasil uji spektroskopi FT-IR diperoleh gugus fungsi OH (hidroksil), gugus C-H, ikatan alenik, vibrasi C=O, dan vibrasi C=C konjugasi, vibrasi CH₂, tidak ada vibrasi C-O, vibrasi C-O-C dan vibrasi C=C trans-disubstitusi.

5.2 Saran

Selalu lebih berhati-hati dalam proses penanganan sampel sebelum dilakukan proses identifikasi supaya tidak timbul suatu pengotor yang akan mempengaruhi hasil analisa FTIR dan perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan Spektrofotometer FT-IR mengenai identifikasi gugus fungsi pigmen fukosantin murni pada alga coklat dengan kedalaman yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abercrombie, M.M Hickman. M. L Johnson and M. Train. 1990. **The New Penguin Dictionary of Biology**. Eight edition. England By clays, Ltd St Ives Plc.
- Amirin, T.M. 2009. **Penelitian Eksploratori (Eksploratif)**. www.tatangmanguny.wordpress.com. Diakses tanggal 25 Juli 2010.
- Anam, Choirul; Sirojudin, dan K. Sofjan Firdausi. 2007. **Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR**. Jurusan Fisika fakultas MIPA Universitas Diponegoro. Semarang.
- Anis, E. 2008. **Pigmen Sebagai Zat Pewarna dan Antioksidan Alami**. UMM Press. Malang
- Anonymous. 2009. **Sargassum filipendula**. www.diaryroomblog.blogspot.com. Diakses tanggal 26 Juni 2009.
- _____.2010^a.**Klasifikasi Sargassum filipendula**. www.itis.gov. Diakses tanggal 31 juli 2010
- _____.2010^b.**Spektrofotometri-Spektrofotometer-UV-Vis** ww.scribd.com Diakses tanggal 31 juli2010
- _____.2010^c. **Spektroskopi FTIR** ww.scribd.com Diakses tanggal 31 juli 2010
- Apriyantono. A, D. Fardiaz, N. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyanto. 1989. **Analisis Pangan**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan DIKTI Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Aslan, L. M. 1998. **Rumput Laut**. Kanisius. Yogyakarta.
- Ati, N. H; P. Rahayu; S. Notoedarmo; dan L. Limantara. 2006. **Komposisi dan Kandungan Pigmen Tumbuhan Pewarna Alami Tenun Ikat di Kabupaten Timor Tengah Selatan, Propinsi Nusa Tenggara Timur**. Indo. J. Chem Vol 6 (3), 325 – 331.
- Atmadja, W. S; A. Kadi; Sulistijo, dan Rachmaniar. 1996. **Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia**. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Jakarta.
- Atmadja, W. 2007. **Apa Rumput Laut Itu Sebenarnya?**. <http://www.coremap.or.id/print/article.php?id=264>, Diakses tanggal 31 Juli 2010
- Bachtiar, E. 2007. **Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) Sebagai Biotarget Industri, Makalah**. Universitas Padjadjaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Jatinangor. Bandung.

- 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**. Birkhauser Verlag, Basel, Boston. Berlin.
- Chemistry. 2007 . **Kromatografi Kolom**. <http://www.chem-is-try.org>. Diakses Tanggal 10 Juli 2010
- Chen, Y. A. 2008. **Anabolisme : Fotosintesis**. www.drveggielabandresearch.blogspot.com. Diakses tanggal 31 Juli 2010.
- Clark, Jim. 2002(Modified 2004) **The Mechanism For Esterification Reaction**, [Http:// www. Chemguide.co.uk/organicprops / estermenu .Html1#top](Http://www.Chemguide.co.uk/organicprops/estermenu.Html1#top)
- Clark, J. 2007. **Kromatografi Lapis Tipis**. <http://www.chem-is-try.org>. Diakses tanggal 13 April 2009.
- Day, R.A dan Underwood, A.L., 1986, **Analisis Kimia Kuantitatif**, Erlangga, Jakarta.
- Ensiklopedia. 2009. **Algae-algae and Their Characteristic, Types of Algae, Ecological Relationship, Factors Limiting The Productivity of Algae**. www.science.jrank.org. Diakses tanggal 4 Juni 2009.
- 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.
- Goodwin, T. W. 1974. **Carotenoid and Biliproteins in Algal Physiology and Biochemistry**. University of California Press. Berkeley.
- Gross, J. 1991. **Pigments In Vegetables Chlorophylls and Carotenoids**. An Avi Book. New York.
- Guenther, E. Diterjemahkan oleh S. Ketaren. 1987. **Minyak Atsiri I**. Penerbit UI. Jakarta.
- Handayani, T., Sutarno dan A.D Setyawan. 2004. **Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* IJ. Agardh**. *Biofarmasi* 2 (2) Hal: 45:52,
- Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. Penerbit ITB. Bandung
- Hart, H. 1983. **Kimia Organik**. Houghton Mifflin Co. Michigan State University. USA. Alih Bahasa Dr. Suminar Achmadi Ph. D. Erlangga. Jakarta.

- Haugan, Jarle Andre and Synnove Liaaen – Jansen.1991. **Naturally Occurring Dtereoisomers Of Fucoxantin**. Phytochemistry. Vol 31. No 4 1359-1361, 1992.Great Britania.
- Hendayana, S. 2006. **Kimia Pemisahan**. PT Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Heriyanto dan L. Limantara. 2006. **Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan Taliputri *Cuscuta australis* R.Br dan *Cassytha filiformis* L.** Makara, Sains, Vol 10 (2) : 69-75.
- Hirota, Nozomu dan Akiki Kumagai. 1990. **Pigmen Composition of Cholrophyll-Protein Complex and Seasonal Variason Of Pigemn in the brown Algae Hizikia fusiformis.**
- Hui, Y. H. 1992. **Encyclopedia of Foods Science & Technology. Vol 2. A** Willey Interscience Publication. John Willey & Sons Inc. New York
- Indriani, H dan Sumarsih. 1992. **Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumpuk**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Jeffrey, S. W, R. F. C Mantoura, and S. W Wright. 1997. **Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Method**. UNESCO Publishing. Paris.
- Kadi, A. 2008. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia**. Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta.
- Kadi, A dan Atmadja.1996. **Rumpuk Laut, Jenis, Reproduksi, Budidaya dan Pasca Panen**. Seri sumber daya alam no 141. Puslitbang Oceanologi LIPI Jakarta
- Kusmardiyani, S. dan A. Nawawi. 1992. **Kimia Bahan Alam**. Universitas Bidang Ilmu Hayati. Jakarta.
- Lenny, S. 2006. **Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp**. USU repository
- Limantara, L dan P. Rahayu. 2008. **Sains dan Teknologi Pigmen Alami**. Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Hal: 2-42.
- Maeda, H, T. Tsukui, T. Sashima, M. Hosokawa dan K. Miyashita. 2008. **Seaweed Carotenoid, Fucoxanthin, as a multi-functional nutrient**. Asia Pacific journal of clinical nutrition. 17 Suppl (1) hal :196-199.
- Mu'amar, Hamim Ahmad. 2009. **Studi Termostabilitas Pigmen Fukosantin, Klorofil a dan Ekstrak Kasar *Padina australis* dan *Sargassum polycystum* Terhadap Suhu dan Lama Pemanasaan yang Berbeda**. Universitas Brawijaya.Malang.
- Nurchayati, A. D. R dan K.H Timotius. 2007. **Fucoxanthin Sebagai Anti Obesitas**. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol. XVIII No. 2. Hal: 134-141.

- Nurdiana, D. N dan L. Limantara. 2008. **Ragam Pigmen Rumput Laut Coklat: Potensi dan Aplikasi**. Departemen Biologi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Nurdiana, D. R, L Limantara dan Susanto AB. 2008. **Komposisi dan Fotostabilitas Pigmen Rumput Laut *Padina australis* Hauck dari kedalaman yang berbeda**.
- Oryza oil & Fat ChemicalCo.LTD. 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.
- Pavia, Donald. L., Lampman. Gary M, and KNZ. George S., Jr. 1979. **Introduction to Spectroscopy**. Sauders Golden Sunburst series.
- Pratikno, M. K, S. P. Hastuti, dan L. Limantara. 2004. **Pengaruh Penyimpanan Daun Terhadap Komposisi Pigmen Daun dan Gelatin Cincau Perdu (*Melastoma polyanthum* B)**. Prosiding Seminar Nasional Kimia VI Hal : 127-133.
- Rahayu, P dan L. Limantara. 2005. **Studi Lapangan Kandungan Klorofil In Vivo Beberapa Tumbuhan Hijau di Salatiga dan Sekitarnya**. Seminar Nasional MIPA.
- Rivai, H. 1995. **Azas Pemeriksaan Kimia**. UI Press. Jakarta.
- Sastrohamidjojo, Hardjono, 1991. **Spektroskopi**. Liberty. Yogyakarta.
- _____, 2007. **Kromatografi**. Liberty. Yogyakarta.
- Schwieter, U, G. Englert, N. Rigassi dan W. Vetter. 1969. **Physical Organic Methods In Carotenoid Research**. Research Departement, F. Hoffmann-La Roche and Co. Ltd. Switzerland.
- Sheriner, R.I., R.C Fuson ., D.Y Curtin., C.K.F Herman and T.C Morili.1980. **The Systematic Identification of Organic Compounds**. 6nd. Editor John Willey and Sons Inc. Singapore.
- Sholihah, H. M. 2010. **Uji Afrodisiaka Fraksi Larut Air Ekstrak Etanol 70% Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& Perry) Terhadap Libido Tikus Jantan**. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Silverstein R.M., F.X. Webster. 1997. **Spectrometric Identification of Organic Compound**, 6th Edition. John Wiley and sons. N.Y.
- Soviani, H. Soetjipto, dan L. Limantara. 2004. **Komposisi Pigmen Tomat Buah (*Lycopersicum esculentum* Mill) Varietas Arthaloka Selama Pematangan**. Prosiding Seminar Nasional Kima VI Hal : 197-203.
- 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**

Susanto, AB. 2008. **Penelitian Rumput Laut Di Indonesia dan Potensi Pemanfaatan Klorofil.** Prosiding Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Hal: 43-50.

Syahputra, Rio, Ferry F. Karwur dan Leenawaty Limantara. 2007. **Analisa Komposisi dan Kandungan Karetenoid Total dan Vitamin A Fraksi Cair dan Padat Minyak Sawit Kasar (CPO) menggunakan KCKT Dektektor PDA.** Jurnal *Nature* Indonesia Hal 89-97

Takeuchi, Yashito. 2006. **Pengantar Kimia.** Iwanami Shoten Publishers. Tokyo

Toto, Z. A. D, P. Rahayu, F. F. Karwur, dan L. Limantara. 2006. **Identifikasi dan Isolasi Pigmen Karotenoid Berbagai Jenis Kuning Telur Unggas.** *Organsime*, Vol I (2) : 100-110.

Vogel, A.I. 1978. **Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik.** EGC. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.

Voight, R. 1994. **Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie 5th Edition.** (Terjemahan S. Noerono). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Wanto dan M. Ramli. 1977. **Alat – alat Industri Kimia I.** Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan. Jakarta.

Wahyuriyadi. 2009. **Macam Spektrofotometri dan Perbedaanya.** <http://wahyuriyadi.blogspot.com>. Diakses tanggal 31Juli2010

Wapedia. 2011. **Metanol.** <http://wapedia.mobi/id/metanol?t=1>. Diakses tanggal 9 Juni 2011.

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

Widodo, Nanang. 2007. **Isolasi dan Karakteristik Senyawa Alkonoid Dalam Jamur Tiram Putih.** Tugas Akhir II.Fakultas MIPA. Universitas Negeri Semarang.

Wikipedia. 2011^a.**Fucoxanthin** .<http://id.wikipedia.org/wiki/Fucoxanthin>. Diakses tanggal 17 April 2010.

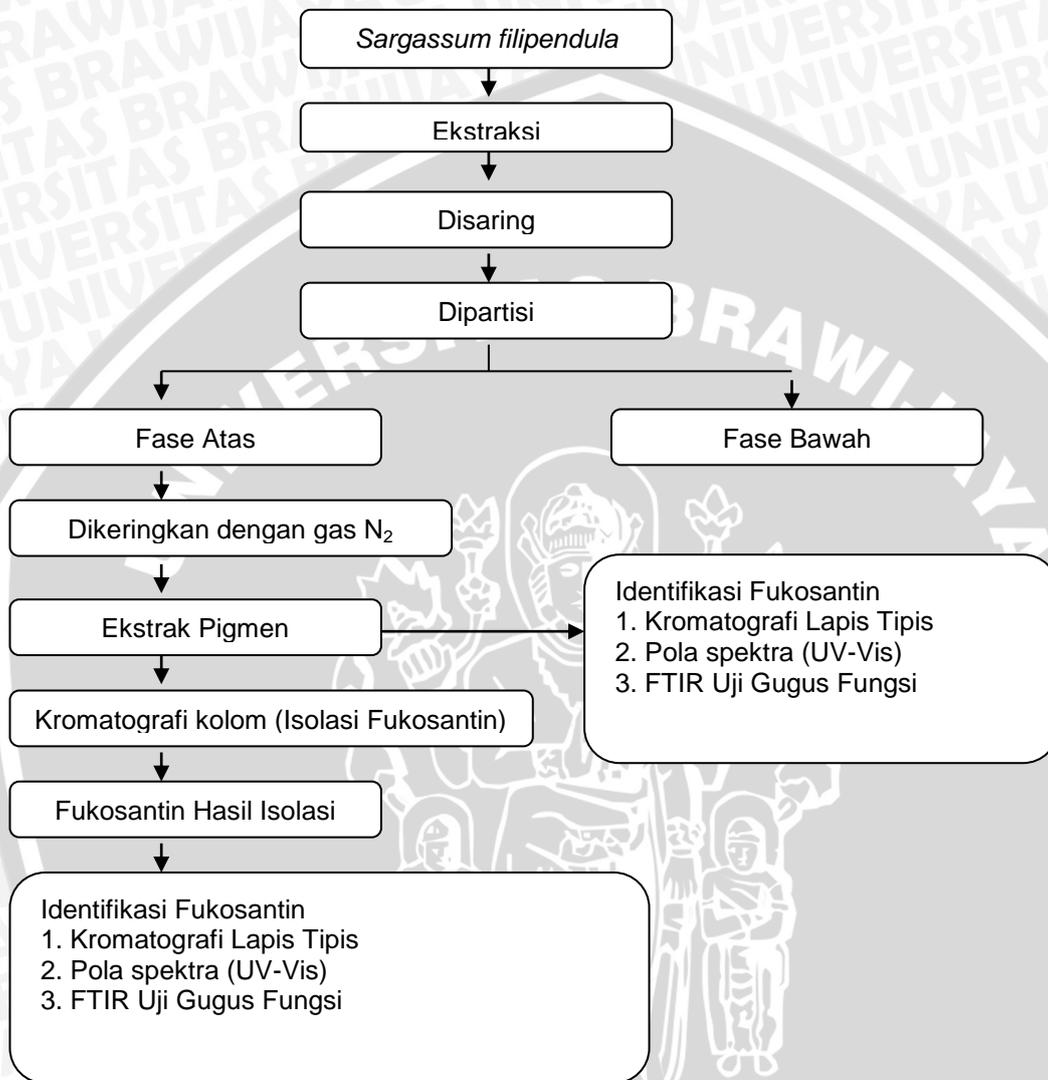
_____.2011^b. **Metanol.** <http://id.wikipedia.org/wiki/metanol>. Diakses tanggal 26 Maret 2011.

_____.2011^c.**Aseton.** <http://id.wikipedia.org/wiki/aseton>. Diakses tanggal 26 Maret 2011.

- _____.2010^d.**Dietil Eter**. <http://id.wikipedia.org/wiki/Dietil-eter>. Diakses tanggal 26 Maret 2011.
- _____.2011^e.**Etil Asetat**. <http://id.wikipedia.org/wiki/Etilasetat>. Diakses tanggal 26 Maret 2011.
- _____.2011^f.**Heksan**. <http://id.wikipedia.org/wiki/heksan>. Diakses tanggal 26 Maret 2011.
- _____.2011^g.**Fraksinasi**.<http://id.wikipedia.org/wiki/Fraksinasi>. Diakses tanggal 4 April 2011
- _____.2011^h.**Silika Gel**.http://id.wikipedia.org/wiki/Silika_gel. Diakses tanggal 4 April 2011
- _____.2011ⁱ.**Gugus Fungsional**. http://id.wikipedia.org/wiki/Gugus_fungsional. Diakses tanggal 3 juli 2011
- _____.2010^k.**Rendemem**. <http://id.wikipedia.org/wiki/Rendemem>. Diakses tanggal 4 juli 2010
- Winarno. 1990. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut**. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Yan, X; Y. Chuda; M. Suzuki; and T. Nagata. 1999. **Fucoxanthin as the Major Antioxidant in *Hijika fusiformis*, a Common Edible Seaweed**. Biochem Vol 63 (3), 605 – 607.
- Yanti, S.D.P. 2011. **Sintesis Silika Gel Dari Abu Sekam Padi dengan Ammonium Karbonat**. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Yunizal. 1999. **Teknologi Pengolahan Alginat**. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian



Lampiran 2. Gambar Proses Penelitian



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



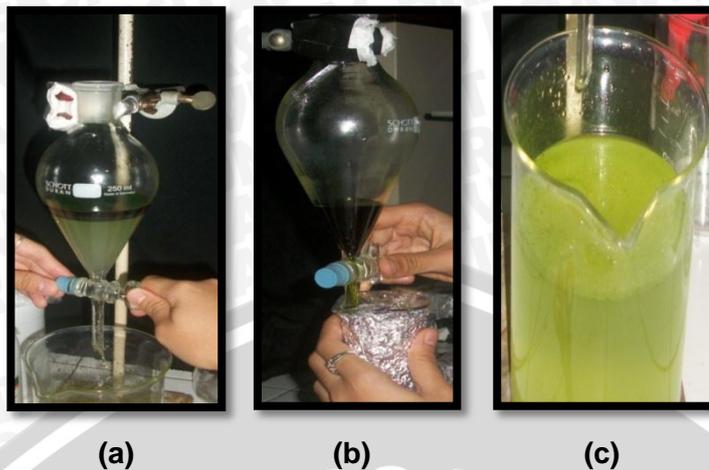
(f)



(g)

Gambar 1. Proses Ekstraksi

- (a). Pencucian alga coklat
- (b). Pengeringan alga coklat
- (c). Pemotongan alga coklat
- (d). Penambahan CaCO_3
- (e). Penumbukan alga coklat
- (f). Penambahan pelarut
- (g). Proses ekstraksi (perendaman)



(a)

(b)

(c)

Gambar 2. Proses Fraksinasi

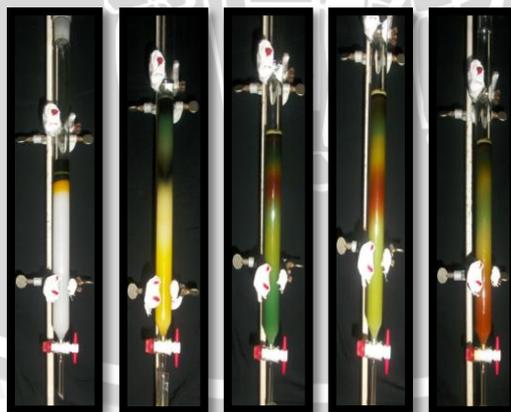
(a). Dua fase yang terbentuk (fase atas dan fase bawah)

(b). Fase atas yang digunakan

(c). Fase bawah yang tidak digunakan



Gambar 3. Proses Evaporasi dan Pengeringan Sampel dengan Gas N₂



Gambar 4. Proses Kromatografi Kolom

Lampiran 3. Data dan Perhitungan Kadar Fukosantin

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Absorbansi	Kadar Fukosantin (μg fukosantin/g)
<i>Sargassum filipendula</i>	Crude 1	25	0,5837	1,9823
	Crude 2	25	0,7492	2,5444
Standar deviasi				2,2633 \pm 0,28105

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Absorbansi	Kadar Fukosantin (μg fukosantin/g)
<i>Sargassum filipendula</i>	Fukosantin 1	25	0,7565	2,5692
	Fukosantin 2	25	0,6187	2,1012
Standar deviasi				2,3352 \pm 0,234

Perhitungan Kadar Fukosantin (Gross, 1991)

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

dimana :

A = Absorbansi tertinggi

V = Total volume pelarut yang ditambahkan saat pengenceran

G = Berat sampel

 $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = Koefisien absorbansi (ketetapan) $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ aceton = 1060, $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ methanol = 2500, $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ etanol = 1140

Absorbansi Crude Fukosantin Ulangan 1 = 0,5837

$$\mu\text{g fukosantin/g} = \frac{0,5837 \times 9 \times 10^6}{1060 \times 100 \times 25} = 1,9823$$

Absorbansi Crude Fukosantin Ulangan 2 = 0,7492

$$\mu\text{g fukosantin/g} = \frac{0,7492 \times 9 \times 10^6}{1060 \times 100 \times 25} = 2,5444$$

Absorbansi Fukosantin Hasil Isolasi Ulangan 1 = 0,7565

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

Absorbansi Fukosantin Hasil Isolasi Ulangan 2 = 0,6187

$$\mu\text{g fukosantin/g} = \frac{0,6187 \times 9 \times 10^6}{1060 \times 100 \times 25} = 2,1012$$

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Rendemen

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Volume Ekstrak (ml)	Kadar Fukosantin (μg fukosantin/g)	% Rendemen
<i>Sargassum filipendula</i>	Crude 1	25	345	1,9823	0,054
	Crude 2	25	345	2,5444	0,070
Standar Deviasi					$0,062 \pm 0,008$

Alga Coklat	Ulangan	Berat Sampel (gram)	Volume Ekstrak (ml)	Kadar Fukosantin (μg fukosantin/g)	% Rendemen
<i>Sargassum filipendula</i>	Fukosantin 1	25	345	2,5692	0,071
	Fukosantin 2	25	345	2,1012	0,058
Standar Deviasi					$0,064 \pm 0,0065$

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

fp = faktor pengenceran

Rendemen Crude Fukosantin Ulangan 1

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,9823 \mu\text{g/g} \times 20 \times 345 \text{ ml}}{25 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100\% = \frac{13677,87}{25 \times 10^6} \times 100\% = 0,054 \%$$

Rendemen Crude Fukosantin Ulangan 2

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,5444 \mu\text{g/g} \times 20 \times 345 \text{ ml}}{25 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100\% = \frac{17556,36}{25 \times 10^6} \times 100\% = 0,070 \%$$

Rendemen Fukosantin Hasil Isolasi Ulangan 1

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

Rendemen Fukosantin Hasil Isolasi Ulangan 2

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,1012 \mu\text{g/g} \times 20 \times 345 \text{ ml}}{25 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100\% = \frac{14498,28}{25 \times 10^6} \times 100\% = 0,058 \%$$

Lampiran 5. Pembuatan Larutan

Larutan Ekstraksi

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

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

$$\text{Aseton} = \frac{3}{10} \times 450 \text{ ml} = 135 \text{ ml}$$

Larutan Kolom

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

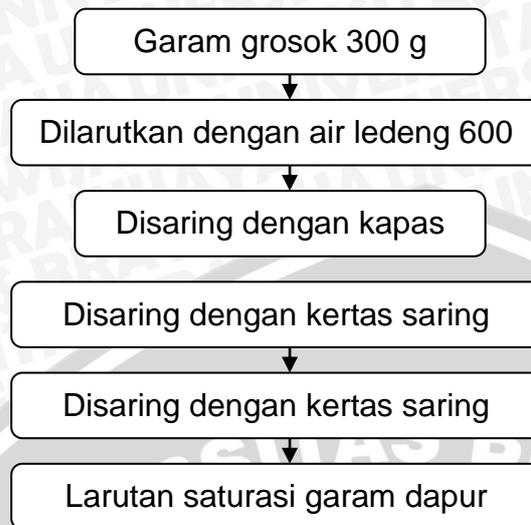
Larutan KLT

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

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

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

Lampiran 6. Pembuatan Saturasi Garam



Lampiran 7. Data Kromatografi Kolom

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

			7:3 (3)		
29	10.52	Hijau			Klorofil
30	10.56	Hijau			Klorofil
31	11.01	Hijau			Klorofil
32	11.12	Hijau			Klorofil
33	11.18	Hijau			Klorofil
34	11.24	Hijau			Klorofil
35	11.32	hijau			Klorofil
36	11.45	Hijau			Klorofil
37	11.57	Hijau tua	Heksan : Etil asetat 6:4 (1)	100 ml	Klorofil
38	12.20	Hijau tua			Klorofil
39	12.54	Hijau tua			Klorofil
40	13.17	Hijau kekuningan			
41	13.31	Kuning			
42	13.37	Kuning orange			Fukosantin
43	13.43	Kuning orange			Fukosantin
44	13.48	Kuning orange			Fukosantin
45	13.56	Kuning orange	Heksan : Etil asetat 6:4 (2)	100 ml	Fukosantin
46	13.05	Kuning orange			Fukosantin
47	14.14	Kuning orange			Fukosantin
48	14.23	Kuning orange			Fukosantin
49	14.30	Kuning orange			Fukosantin
50	14.36	Kuning orange			Fukosantin
51	14.45	Kuning orange			Fukosantin
52	14.50	Kuning orange			Fukosantin
53	14.53	Kuning			
54	14.56	Kuning			
55	14.59	Kuning			
56	15.06	Kuning			
57	15.10	Kuning muda			
58	15.26	Kuning muda			
59	15.47	Kuning muda			
60	15.57	Kuning muda			
61	16.09	Kuning muda			
62	16.21	Kuning muda			
63	16.47	Kuning muda			
64	15.26	Kuning muda			
65	15.47	Kuning muda			
66	15.57	Kuning muda			

Lampiran 8. Prosedur Analisa FTIR (Hadik, 2008)

- Pembuatan Pelet KBr

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

Prosedur penggunaan FTIR – 8400S SHIMADZU (Hadik, 2008).

- Tahap Awal

FTIR di hubungkan pada sumber tegangan 220 volt, selanjutnya dinyalakan alat FT-IR dengan menekan tombol ON diikuti dengan menyalakan komputer, dipilih program [IR SOLUTION] dan di klik 2x pada program [IR SOLUTION] untuk masuk ke dalam program. Dilanjutkan memilih menu [MEASUREMENT] yang ada pada *Function Tabs*, dan memilih menu [MEASUREMENT] yang ada pada *Menu Bar* dengan mengklik [INITIALIZE] kemudian TUNGGU sampai computer terhubung dengan alat FTIR.

- Pengukuran Sampel

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

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

- Tahap Akhir

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



Lampiran 9. Gambar Proses Pembuatan Pellet KBR



a. Proses pengambilan Sampel



b. Proses Pencampuran Sampel dengan KBR



c. Pemasukan Sampel ke dalam tabung Pemasukan



d. Pemadatan Sampel Menjadi Pellet



e. Sampel Telah dipadatkan



f. Identifikasi Gugus fungsi dengan FTIR