

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian dari isolasi fukosantin alga hijau *caulerpa rasemosa* dengan parameter hasil dari kromatografi kolom, uji identifikasi menggunakan KLT (kromatografi lapis tipis), uji identifikasi pola spektra dengan spektrofotometer UV-Vis 1601 Shimadzu, uji DPPH dan uji total fenol dapat dilihat pada tabel 4 :

**Tabel 4 .Data uji identifikasi fukosantin**

No	Uji Identifikasi	Metode	Hasil	Literatur
1.	Warna	Ekstraksi dan Fraksinasi	100 gram sampel alga hijau menghasilkan <i>crude</i> fukosantin hasil ekstraksi sebesar 2 tabung warna hijau	Menurut Nurcahyani dan timotius (2007), fukosantin berwarna orange.
		Kromatografi Kolom	Isolat pigmen dalam tabung reaksi. Isolat fukosantin 5 tabung warna orange	
2.	Kemurnian dan Komposisi	KLT fukosantin Hasil Isolasi	Rf 0,28	Menurut Yan <i>et al.</i> , (1999) nilai Rf fukosantin berkisar 0,25-0,28
3.	Pola spectra	Spektrofotometer UV-VIS 1601 Shimadzu	Pelarut Aseton	Menurut Jeffreyet <i>al.</i> , (1997) panjang gelombang pada fukosantin adalah 446,3 nm
			Isolasi fukosantin	
4.	Antioksidan	DPPH	IC <sub>50</sub> = 116,7 ppm	Menurut Rini Pramesti (2013), ekstrak <i>Caulerpa</i> memiliki IC <sub>50</sub> sebesar 136,89 ppm
5	Tota Fenol	Folin-Ciocalteu	1,813 mg GAE/g	Menurut Julyasih, <i>et al.</i> , (2009) nilai total fenol rumput laut <i>Eucheuma</i> sp. ialah 1,50 mg GAE/g

## 4.2 Pembahasan

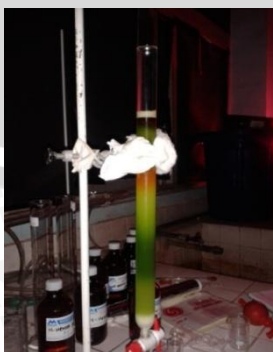
### 4.2.1 Crude alga hijau

Hasil ekstraksi 100 gram alga hijau dengan perbandingan pelarut metanol : aseton (7:3) sebanyak 2 botol sampel kering filtrat berwarna hijau pekat. Setelah alga hijau di ekstraksi, selanjutnya difraksinasi. Hasil filtrat yang diperoleh dari partisi fase atas pada alga hijau sebanyak 2 botol sampel kering *crude caulerpa rasemosa* yang kemudian hasil filtrat di rotary vakum evaporator dan diberi gas nitrogen untuk mengeringkan sampel

### 4.2.2 Isolasi fukosantin Dengan Kromatografi Kolom

Isolasi pigmen fukosantin dari alga hijau *caulerpa rasemosa* dilakukan untuk mendapatkan fukosantin murni. Isolasi pigmen dilakukan dengan metode kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak heksan : etil asetat (8:2 , 7:3 , dan 6 : 4).

Berdasarkan hasil kromaografi kolom dapat dilihat terbentuknya pita-pita pigmen berdasarkan warna dan tingkatan kepolarannya. Hasil isolasi yang diperoleh yaitu 5 botol fukosantin yang ditampung dalam botol vial sesuai warna masing - masing. Fraksi yang di duga fukosantin terdapat pada tabung 51, 52, 53, 54 dan 55. Hal ini didasarkan pada pigmen warna orange yang merupakan ciri khas dari pigmen fukosantin



**Gambar 13. Isolasi pigmen fukosantin  
(Sumber : Dokumentasi, 2014).**

#### 4.2.3 Identifikasi Fukosantin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi pigmen pfukosantin dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam menggunakan silika gel sedangkan fase gerak menggunakan heksan : aseton (7:3). Tujuan dari penggunaan fase gerak heksan dan aseton (7:3) adalah untuk melarutkan senyawa yang tidak 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 kurang lebih 5 menit. Hasil pengujian KLT pigmen fukosantin dapat dilihat pada Gambar.



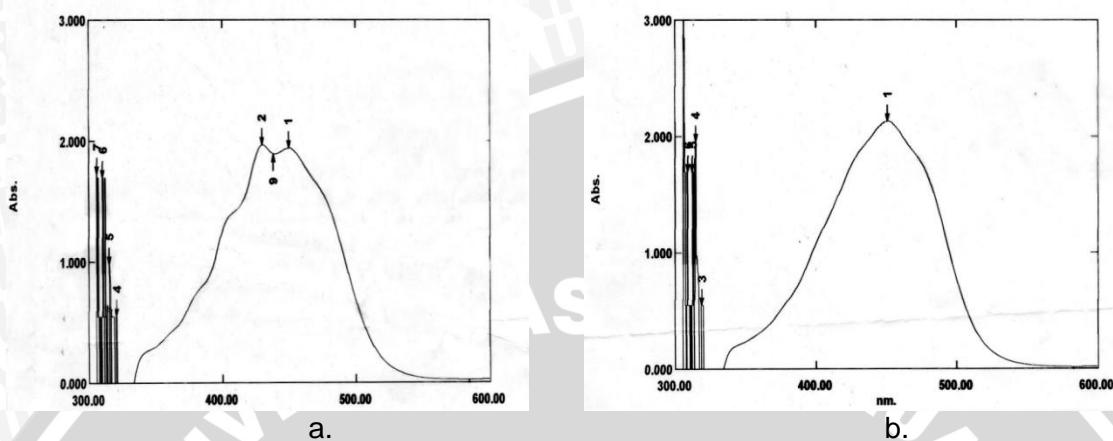
**Gambar 14. Hasil KLT pigmen fukosantin (Sumber : Dokumentasi, 2014).**

Pada Gambar menunjukkan terbentuknya satu totol dengan warna oranye yang diduga sebagai pigmen fukosantin dengan nilai  $R_f$  0,28. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Hartati *et al.*, (2013), pada *Padina australis* menunjukkan bahwa pigmen yang diduga fukosantin memiliki  $R_f$  0,28. Menurut Yan *et al.*, (1999) nilai  $R_f$  dari fukosantin berkisar 0,25-0,28. Sehingga hasil KLT diatas digunakan sebagai dasar untuk mengidentifikasi pigmen. Hasil uji KLT dapat dilihat pada gambar.

#### 4.2.4 Identifikasi Pigmen Fukosantin dengan Spektrofotometri UV-1601

Pola pengukuran spektra pigmen fukosantin dari alga hijau (*caulerpa rasemosa*) hasil dari isolasi dengan menggunakan spektrofotometer diperlukan

untuk memperkuat identifikasi fukosantin dengan KLT. Pola spektra fukosantin dalam pelarut aseton dapat dilihat pada Gambar 15 :



**Keterangan:** a. Pola spektra fukosantin ulangan 1

b. Pola spektra fukosantin ulangan 2

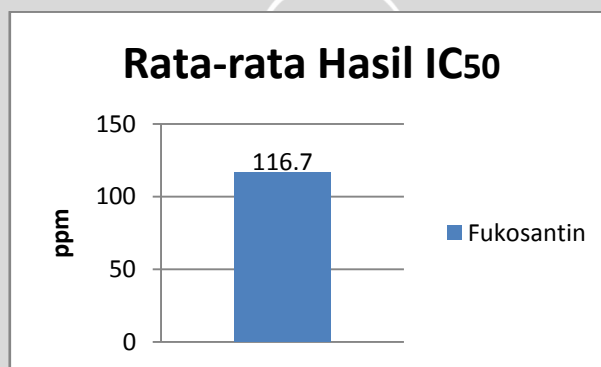
Dari pola spektra hasil penelitian dan pola spektra literatur diatas memiliki bentuk dan serapan maksimum. Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer diperoleh hasil serapan maksimum pada puncak spektra pada pelarut aseton untuk fukosantin sebesar 429,80 nm dan 451,00 nm. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Hartati *et al.*, (2013), pada *Padina australis* memperoleh serapan maksimum pada 446 nm dan 448 nm. Perbedaan hasil serapan maksimum diduga karena perbedaan kepekatan fraksi yang diidentifikasi. Ditambahkan Jeffrey *et al.*, (1997) yang menyatakan bahwa absorbansi maksimal fukosantin pada panjang gelombang 446,3 nm.

#### 4.2.5 Uji Antioksidan Fukosantin Dengan Metode DPPH

Metode DPPH mengukur suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Kemampuan penangkapan radikal bebas berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan electron atau hidrogen akan bereaksi dan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah

dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa antioksidan. Konsentrasi DPPH pada akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkap radikal (Naik, et al., 2003).

Pengukuran aktivitas antioksidan pigmen fukosantin pada rumput laut hijau *Caulerpa Rasemosa* dilakukan dengan metode DPPH. Nilai  $IC_{50}$  menyatakan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat meredam aktivitas dari radikal bebas sebesar 50%. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi fukosantin rumput laut hijau *Caulerpa Rasemosa* (sumbu x) dengan prosentase inhibisi radikal DPPH (sumbu y). Rata-rata  $IC_{50}$  dan total fenol dapat dilihat pada gambar 16.



**Gambar 16.** Hasil rata - rata Nilai  $IC_{50}$

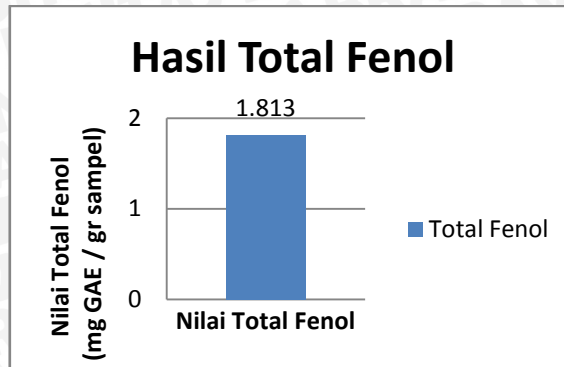
Persentase penghambatan radikal bebas oleh fukosantin semakin meningkat seiring meningkatnya konsentrasi fukosantin. Hal ini dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi fukosantin maka semakin tinggi pula dalam peredaman radikal. Persamaan regresi yang didapatkan pada ulangan 1 yaitu  $y = 0,438x + 0,302$  dengan  $R^2 = 0,988$  dan pada ulangan 2 yaitu  $y = 0,423x + 0,151$  dengan  $R^2 = 0,991$  yang berarti persamaan tersebut linier. Kemudian nilai  $IC_{50}$  dimasukkan sebagai factor y sehingga didapatkan nilai  $IC_{50}$  penghambatan fukosantin terhadap radikal. Nilai  $IC_{50}$  aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas.

IC<sub>50</sub> yang dimiliki oleh fukosantin rumput laut hijau *Caulerpa Rasemosa* sebesar 116,7 ppm. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Intan (2014), menunjukkan bahwa uji DPPH fukosantin *Sargassum cristaefolium* memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 134,23 ppm. Dari hal tersebut dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan fukosantin rumput laut hijau *Caulerpa Rasemosa* lebih tinggi dari pada rumput laut *Sargassum cristaefolium* dengan ditunjukkannya nilai IC<sub>50</sub> yang lebih kecil namun masih sama tergolong dalam antioksidan sedang. Menurut Molyneux (2004) yang diacu oleh Tuanta (2013), nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan bahwa antioksidan yang terkandung pada bahan yang diuji semakin tinggi.

#### 4.2.6 Uji Total Fenol

Kandungan total fenol fukosantin rumput laut hijau *Caulerpa rasemosa* diuji menggunakan menggunakan reagen *Folin-ciocalteau*. *Folin-ciocalteau* merupakan pereaksi anorganik yang dapat membentuk larutan kompleks dengan senyawa fenol. Pengukuran total fenol menggunakan metode *Folin-ciocalteau* didasarkan reaksi oksidasi – reduksi.

Analisa total fenol diawali membuat kurva kalibrasi asam galat sebagai standart total fenol yang dapat dilihat pada lampiran 16. Selanjutnya, hasil absorbansi analisa total fenol sampel isolat fukosantin *Caulerpa rasemosa* yang diperoleh disubstitusikan ke dalam persamaan garis pada kurva standart asam galat  $Y = 0,027x - 0,053$  dengan koefisien kolerasi  $R^2 = 0,972$  yang berarti bahwa persamaan regresi yang didapatkan tersebut linier. Perhitungan yang dihasilkan dihasilkan dinyatakan dengan satuan mg GAE/g (Galic Acid Ekuivalent). Data hasil dan perhitungan analisa total fenol dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil analisa total fenol fukosantin *Caulerpa rasemosa* dapat dilihat di Gambar 17.



**Gambar 17.** Hasil Total Fenol Fukosantin

Dari analisa total fenol pada sampel isolat fukosantin *Caulerpa rasemosa* didapatkan hasil pada sampel isolat fukosantin *Caulerpa rasemosa* memiliki kandungan fenol yaitu 1,813 mg GAE/g. Ditambahkan oleh Julyasih, *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa kandungan total fenol pada ekstrak *Eucheuma spinosum* sebesar 1,50 mg GAE/g. Kandungan fenol pada *Caulerpa rasemosa* lebih tinggi dibandingkan dengan *Eucheuma spinosum* diduga karena pada alga coklat mempunyai banyak kandungan pigmen sedangkan pada alga hijau didominasi oleh klorofil dan fukosantin.