

PIGMEN KLOROFIL PADA MIKROALGA *Coccolithophore* sp. HASIL KULTIVASI PADA SKALA LABORATORIUM

Daniel Ngabalin¹, Cenny Putnarubun*², Jakomina Metungun³, Dewy Rosi Ngabalin³

¹Program Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Teknologi Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual, Jl. Raya Langgur Sathean Km-6, 97614 Maluku Tenggara, Indonesia

²Program Studi Bioteknologi, Jurusan Teknologi Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual, Jl. Raya Langgur Sathean Km-6, 97614 Maluku Tenggara, Indonesia

³Jurusan Teknologi dan Budidaya Perikanan, Program Studi Teknologi Budidaya Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual, Jl. Raya Langgur Sathean Km-6, 97614 Maluku Tenggara, Indonesia

Diterima Juli 04-2025 ; Diterima setelah revisi Juli 25-2025 ; Disetujui Juli 27-2025

*Korespondensi : cennyputri@gmail.com

ABSTRAK

Pigmen mikroalga merupakan senyawa bioaktif penting yang dapat dimanfaatkan dalam industri pangan, farmasi, dan kosmetik. *Coccolithophore* sp., salah satu jenis mikroalga laut, diketahui memiliki kandungan pigmen seperti karoten, klorofil, dan xantofil. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis pigmen yang terkandung dalam mikroalga *Coccolithophore* sp. menggunakan metode kromatografi kolom. Proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut aseton 90%, kemudian pemisahan pigmen menggunakan eluen heksana:aseton dengan perbandingan bertahap (4:1 hingga 1:4). Hasil pemisahan menunjukkan adanya pigmen karoten (warna kuning), klorofil a (hijau tua), klorofil b (hijau muda), dan xantofil (kuning muda). Waktu elusi berbeda-beda tergantung kepolaran masing-masing senyawa. Hasil ini menunjukkan potensi *Coccolithophore* sp. sebagai sumber pigmen alami yang dapat diaplikasikan untuk produk industri ramah lingkungan.

Kata Kunci: *Coccolithophore* sp.; Kromatografi kolom; Klorofil; Mikroalga; Pigmen

Chlorophyll Pigments In Microalgae *Coccolithophore* sp. Cultivated At Laboratory Scale

ABSTRACT

Microalgal pigments are important bioactive compounds with potential applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. *Coccolithophore* sp., a type of marine microalga, is known to contain pigments such as carotene, chlorophyll, and xanthophyll. This study aims to identify the types of pigments present in *Coccolithophore* sp. using column chromatography. The extraction process was carried out using 90% acetone, followed by pigment separation with a stepwise eluent ratio of hexane:acetone (4:1 to 1:4). The separation results revealed the presence of carotene (yellow), chlorophyll a (dark green), chlorophyll b (light green), and xanthophyll (light yellow) pigments. Elution times varied depending on the polarity of each compound. These results demonstrate the potential of *Coccolithophore* sp. as a natural pigment source for environmentally friendly industrial applications.

Keywords: *Chlorophyll*; *Coccolithophore* sp.; *Column chromatography*; *Microalgae*; *Pigment*

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan organisme fotosintetik mikroskopik yang hidup di lingkungan perairan dan telah dikenal sebagai sumber senyawa bioaktif bernilai tinggi, seperti protein, asam lemak, polisakarida, dan pigmen fotosintetik (Demirbas, 2011; Mata *et al.*, 2010). Di antara senyawa tersebut, pigmen seperti klorofil, karotenoid, dan xantofil memiliki peranan penting dalam fotosintesis serta potensi besar dalam bidang industri pangan, farmasi, dan kosmetik sebagai pewarna alami, antioksidan, dan agen antikanker (Singh & Gu, 2011; Bahadar & Bilal, 2020).

Salah satu kelompok mikroalga laut yang menarik untuk diteliti adalah *Coccolithophore* sp., anggota kelas *Haptophyceae*, yang ditandai dengan struktur luar khas berupa lempengan kalsium karbonat (*coccolith*) dan kandungan pigmen unik seperti β -karoten, *fucoxanthin*, *klorofil a* dan *b* (Nontji, 2014; Henderiks & Pagani, 2021). Walaupun genus ini banyak ditemukan di lautan terbuka dan berperan penting dalam siklus karbon global, potensi aplikatifnya dalam bidang bioindustri, khususnya sebagai sumber pigmen alami, masih sangat terbuka untuk dieksplorasi (Read *et al.*, 2023).

Identifikasi dan isolasi pigmen dari mikroalga umumnya dilakukan dengan pendekatan kromatografi. Metode kromatografi kolom menjadi salah satu teknik yang efektif untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran antara fase diam dan fase gerak (Christian & Skoog, 2016). Dalam konteks pemisahan pigmen, penggunaan pelarut bertingkat (*gradient elution*) seperti campuran heksana dan aseton dapat mempermudah fraksinasi senyawa nonpolar hingga polar secara bertahap (Sedjati *et al.*, 2012).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis pigmen klorofil yang terkandung dalam mikroalga *Coccolithophore* sp. hasil kultivasi skala laboratorium dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Hasil dari studi ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi pemanfaatan mikroalga laut sebagai sumber pigmen alami yang ramah lingkungan dan bernilai ekonomi tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain lumping dan alu, gelas ukur, tabung reaksi, pipet tetes, statif, buret, labu Erlenmeyer, sentrifus, pipet volumetrik, kolom kromatografi, magnetic stirrer, hot plate, aluminium foil, pisau, dan vial. Bahan-bahan yang digunakan meliputi silica gel, aseton, n-heksana, kapas, serta sampel mikroalga *Coccolithophore* sp.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif, dengan analisis sampel yang dilakukan di laboratorium. Data yang dikumpulkan bersifat kualitatif dan menggambarkan karakteristik hasil yang diamati.

Pembuatan Pasta Mikroalga *Coccolithophore* sp.

Mikroalga *Coccolithophore* sp yang telah dikultur, diambil dengan proses pemanenan menggunakan setrifus untuk mengambil padatan dari mikroalga kemudian dikeruk dan disentrifugasi selama 10 menit. Dan diambil pasta mikroalga. Pasta Mikroalga *Coccolithophore* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pasta Mikroalga *Coccolithophore* sp.

Proses Karakterisasi pigmen Klorofil Dengan Kolom

Ekstrak mikroalga *Coccolithophore* sp. yang telah diperoleh kemudian diproses melalui sentrifugasi menggunakan alat sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah sentrifugasi, supernatan yang terbentuk dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi atau erlenmeyer. Selanjutnya, dilakukan pencampuran reagen dengan perbandingan volume 4:1, 3:2, 2:3, dan 1:4 antara larutan aseton dan n-heksan.

Penyiapan Kolom dan Fase Diam

Langkah awal adalah menyiapkan kolom kromatografi dengan memasukkan kapas dan kertas saring di bagian dasar kolom, kemudian menutup kran. Setelah itu, fase gerak dituangkan hingga setengah tinggi kolom, diikuti dengan penambahan fase diam hingga volume yang diinginkan. Selanjutnya, fase gerak dikeluarkan perlahan hingga tersisa sekitar 1 cm di atas permukaan fase diam, sambil memastikan tidak terdapat gelembung udara dalam fase diam. Kolom yang telah disiapkan siap digunakan.

Kran kolom kemudian dibuka perlahan agar eluen mengalir, dan pencatatan waktu dimulai sejak tetesan pertama fase gerak. Sampel mikroalga *Coccolithophore* sp. dimasukkan ke dalam kolom berdasarkan rasio campuran pelarut (4:1, 3:2, 2:3, dan 1:4). Perubahan warna pigmen diamati saat melewati kolom kromatografi.

Fraksi yang keluar ditampung setiap 2 mL, dan waktu munculnya analit pertama (menit awal dan akhir keluarnya analit) dicatat untuk setiap fraksi. Penting untuk memastikan penambahan fase gerak dilakukan tepat waktu agar cairan di atas fase diam tidak habis. Contoh kolom pada gambar 2



Gambar 2. Contoh Kolom

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Pigmen

Tabel 1. menunjukkan bahwa pigmen terelusi berdasarkan urutan kepolaran. Karoten (nonpolar) keluar pertama pada menit ke-3,26 dengan warna kuning. Klorofil a dan b keluar berikutnya pada menit 6,18 dan 17,20 dengan warna hijau tua dan muda. Terakhir, xantofil (lebih polar) keluar pada menit 32,43 dengan warna kuning muda.

Tabel 1. Perbandingan Eluen dan Pigmen Warna

| Perbandingan Eluen | Waktu (Menit) | Warna | Jenis Pigmen |
|--------------------|---------------|-------------|--------------|
| Heksana:Aseton 4:1 | 3,26 | Kuning | Karoten |
| Heksana:Aseton 3:2 | 6,18 | Hijau Tua | Klorofil a |
| Heksana:Aseton 2:3 | 17,20 | Hijau Muda | Klorofil b |
| Heksana:Aseton 1:4 | 32,43 | Kuning Muda | Xantofil |

Metode kromatografi kolom efektif memisahkan pigmen karena adanya gradasi kepolaran dari eluen. Karoten yang bersifat nonpolar cepat terelusi oleh heksana. Klorofil memiliki gugus polar dan nonpolar sehingga elusi terjadi lebih lambat. Xantofil sebagai pigmen polar paling akhir keluar karena kuat berikatan dengan fase diam silika.

Pigmen Karoten

Karotenoid merupakan kelompok pigmen alami yang umumnya berwarna kuning, jingga, hingga merah oranye, serta memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut organik nonpolar atau lemak (lipofilik). Senyawa ini termasuk dalam golongan terpenoid dan memiliki struktur kimia yang tersusun dari rantai isoprena, dengan

rumus kimia yang menyerupai atau identik dengan karoten. Karoten sendiri terdiri dari beberapa bentuk isomer, antara lain α -karoten, β -karoten, dan γ -karoten (Britton, 2008).

Karotenoid bersifat sangat mudah mengalami degradasi akibat paparan cahaya, panas, dan oksigen, sehingga kestabilannya dalam bahan biologis sangat tergantung pada kondisi lingkungan selama pengolahan dan penyimpanan (Mertz *et al.*, 2010; Rodriguez-Amaya, 2016). Oleh karena itu, analisis karotenoid membutuhkan metode pemisahan yang tepat serta kondisi yang dapat meminimalkan kerusakan senyawa tersebut.

Dalam penelitian ini, analisis pigmen pada sampel *Coccolithophore* sp. dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom. Teknik ini memungkinkan pemisahan komponen pigmen berdasarkan perbedaan afinitas terhadap fase diam dan fase gerak, yang dalam hal ini menggunakan campuran pelarut n-heksana dan aseton dalam berbagai rasio. Campuran pelarut tersebut dipilih karena sifat karotenoid yang sangat hidrofobik dan berada secara intraseluler, sehingga membutuhkan pelarut nonpolar untuk proses ekstraksi yang efektif (Maleta *et al.*, 2018; Rao & Rao, 2007).

Hasil pemisahan pigmen menunjukkan bahwa pigmen karoten muncul pada menit ke-3,26 dengan rasio eluen 4:1 (n-heksana:aseton). Fraksi yang keluar pada waktu tersebut menunjukkan warna kuning khas, yang konsisten dengan karakteristik umum karoten. Menurut Sediaoetama (1976), pigmen karoten biasanya berwarna kuning hingga jingga, meskipun tidak semua warna kuning pada tumbuhan atau makanan dihasilkan oleh karoten.

Warna kuning yang teramati mendukung identifikasi visual terhadap keberadaan karoten, meskipun untuk konfirmasi spesifik diperlukan metode spektrofotometri atau kromatografi lanjutan seperti HPLC (High Performance Liquid Chromatography), sesuai dengan standar analisis pigmen modern (Rodriguez-Amaya, 2016).

Pigmen Klorofil (Klorofil a dan Klorofil b)

Klorofil merupakan pigmen fotosintetik utama yang memberikan warna hijau pada tumbuhan, alga, dan beberapa jenis bakteri. Pigmen ini umumnya ditemukan di dalam kloroplas bersama dengan pigmen lain seperti karotenoid (karoten dan xantofil). Dua jenis utama klorofil yang sering ditemukan dan dipelajari adalah klorofil a dan klorofil b, masing-masing memiliki struktur dan sifat polaritas yang sedikit berbeda (Lichtenthaler & Buschmann, 2001).

Dalam penelitian ini, pemisahan klorofil dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dengan campuran pelarut n-heksana dan aseton. Berdasarkan hasil pengamatan, klorofil a terelusi lebih awal pada

rasio pelarut 3:2 (n-heksana:aseton), sedangkan klorofil b muncul kemudian pada rasio 2:3. Perbedaan waktu elusi ini disebabkan oleh sifat polaritas masing-masing pigmen; klorofil b lebih polar dibandingkan klorofil a, sehingga cenderung tertahan lebih lama pada fase diam yang bersifat nonpolar (Jeffrey & Mantoura, 1997).

Warna larutan yang teramati selama pemisahan mendukung keberadaan kedua jenis klorofil. Klorofil a ditandai dengan warna hijau tua, sementara klorofil b menunjukkan warna hijau muda. Warna-warna ini merupakan karakteristik visual yang umum digunakan dalam identifikasi pigmen klorofil, meskipun untuk konfirmasi lebih lanjut diperlukan analisis spektroskopi seperti UV-Vis atau HPLC (Rodriguez-Amaya, 2016).

Klorofil bersifat amfipatik, yaitu memiliki gugus polar (seperti gugus karbonil dan hidroksil) namun didominasi oleh struktur hidrokarbon panjang dan cincin porfirin yang menyebabkan sifat nonpolar secara keseluruhan. Oleh karena itu, pelarut nonpolar seperti kloroform, petroleum eter, atau n-heksana lebih efektif digunakan dalam ekstraksi klorofil (Sub *et al.*, 2019). Dalam proses ekstraksi menggunakan aseton murni, dihasilkan warna hijau terang, yang menandakan keberadaan pigmen polar dan nonpolar dalam campuran.

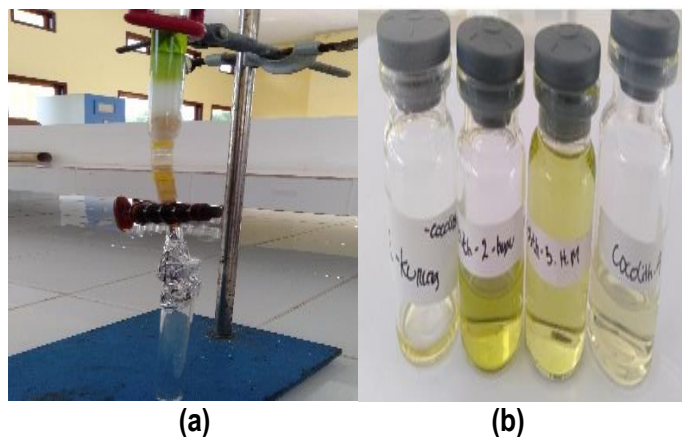
Menurut Prasanna *et al.*, (2010), dalam pigmen yang murni dan tidak bercampur, warna yang dihasilkan dapat berbeda tergantung pada sifat kimianya. Pigmen polar dan nonpolar masing-masing menunjukkan warna khas dalam pelarut tertentu, dan hal ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar identifikasi visual awal sebelum dilakukan konfirmasi lebih lanjut melalui analisis instrumen. Dengan demikian, hasil pemisahan menunjukkan bahwa sampel *Coccolithophore* sp. mengandung klorofil a dan b, yang masing-masing dapat terdeteksi secara visual dan dikonfirmasi melalui pola elusi berdasarkan polaritas pelarut.

Pigmen Xantofil

Xantofil merupakan salah satu jenis karotenoid yang bersifat lebih polar, dibandingkan karoten, karena keberadaan gugus oksigen seperti hidroksil atau epoksida dalam strukturnya (Rodriguez-Amaya, 2016). Senyawa ini umumnya memberikan warna kuning cerah pada jaringan tumbuhan dan mikroalga. Dalam penelitian ini, xantofil dipisahkan menggunakan metode kromatografi kolom, dengan campuran pelarut n-heksana dan aseton dalam rasio 1:4, serta penggunaan aseton murni sebagai pelarut lanjutan. Pemilihan eluen tersebut didasarkan pada kepolaran xantofil yang lebih tinggi dibandingkan karoten, sehingga membutuhkan pelarut yang lebih polar untuk proses elusi yang optimal (Britton, 2008).

Fraksi yang keluar pada menit 32,43 menunjukkan warna kuning muda, yang secara visual mengindikasikan keberadaan xantofil. Menurut Rani Agustian *et al.*, (2013), karotenoid dapat dikelompokkan menjadi dua golongan utama, yaitu karotenoid nonpolar (seperti karoten) dan karotenoid polar (seperti xantofil). Warna kuning muda yang dihasilkan oleh fraksi yang terelusi dalam pelarut aseton menunjukkan

karakteristik khas dari xantofil. Perlu diketahui bahwa meskipun penampakan warna dapat digunakan sebagai indikator awal keberadaan pigmen tertentu, identifikasi lebih akurat terhadap xantofil memerlukan konfirmasi lebih lanjut menggunakan analisis spektroskopi atau kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dengan deteksi pada panjang gelombang spesifik.



Gambar 3. (a) Kromatografi Kolom yang menunjukkan warna pigmen; (b) vial penampung fraksi 1,2,3 dan 4, pigmen warna mikroalga *Coccolithophore* sp.

SIMPULAN

Kromatografi kolom efektif memisahkan pigmen dalam *Coccolithophore* sp. Pigmen mikroalga *Coccolithophore* sp yang diidentifikasi meliputi karoten berwarna kuning, klorofil a berwarna hijau tua, klorofil b berwarna hijau muda, dan juga xantofil berwarna kuning muda. Hasil ini menunjukkan potensi mikroalga laut sebagai sumber pigmen alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahadar, A., & Bilal, M. (2020). Emerging Roles Of Carotenoids In Human Health And Nutrition: Current Perspective And Future Prospects. *Journal of Functional Foods*, **67**, 103857. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103857>
- Britton, G. (2008). *Carotenoids: Natural Functions*. Birkhäuser Basel
- Christian, G. D., & Skoog, D. A. (2016). *Instrumental Analysis*. Pearson Education.
- Demirbas, A. (2011). Biodiesel from microalgae. *Energy Conversion and Management*, *52*(1), 163–170.
- Henderiks, J., & Pagani, M. (2021). Coccolithophore Response To Climate And Ocean Carbonate Chemistry Over The Cenozoic. *Earth and Planetary Science Letters*, *567*, 117008. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2021.117008>
- Jeffrey, S. W., & Mantoura, R. F. C. (1997). *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods*. UNESCO Publishing.
- Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: measurement and

characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, F4.3.1–F4.3.8.

- Maleta, H.S., Indrawati, R., Limantara, L. & Brotosudarmo T.H.P. (2018). Various Carotenoid Extraction Methods from Plants. *Journal of Natural Products*, 15(2), 44–51. DOI: <https://doi.org/10.23955/rkl.v13i1.10008>
- Mertz, C., Gancel, A. L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 533-539.
- Nontji, A. (2014). Laut Nusantara.Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Djambatan.
- Prasanna, R., Sood, A., & Singh, P. K. (2010). Chlorophylls, carotenoids and phycobiliproteins in cyanobacteria from diverse habitats. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(2), 263–272.
- Rani, A.R., Ervia, Y., & Sri, S. (2013) Uji Toksisitas Ekstrak Pigmen Kasar Mikroalga *Spirulina platensis* Dengan Metode Uji Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Journal Of Marine Research*, 2(1), 25-31.
- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207–216.
- Read, A. B., Smith, C. D., & Jones, E. F. (2023). Exploring coccolithophore-derived pigments for bioindustrial applications. *Journal of Marine Biotechnology*, 15(4), 245–260. <https://doi.org/10.XXXX/jmb.2023.015>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). *Food Carotenoids: Chemistry, Biology and Technology*. Wiley-Blackwell
- Sedjati, S., Yudiati, E., & Suryono, S. (2012). Profil Pigmen Polar dan Nonpolar Mikroalga Laut. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15(1), 25–32. DOI: <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.17.3.176-182>
- Singh, S., & Gu, S. (2011). Commercialization Potential Of Microalgae For Biofuels Production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(9), 2596–2610. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.06.014>