

PIGMENT KLOROFIL PADA ALGA *Caulerpa* sp. DIKEPULAUAN KEI

Cenny Putnarubun^{*1}, Riris Yuli Valentine²

¹ Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual,

Jl. Raya Langgur-Sathean KM-6, Maluku Tenggara 97611, Maluku, Indonesia

² Program studi Teknik Budidaya Perikanan, Politeknik Kelautan dan Perikanan Kupang,

Kupang Barat, Nusa Tenggara Timur 85351, Nusa Tenggara Timur, Indonesia

Koresponden : *cennyputri@gmail.com; ririssinaga.kkp@gmail.com

(Diterima 19-05-2020; Direvisi 31-05-2020; Dipublikasi 18-06-2020)

ABSTRAK

Salah satu tumbuhan yang berklorofil dan tumbuhnya berupa thalus adalah makroalga, alga mampu hidup pada perairan, dan memiliki pertumbuhan yang sangat cepat dengan berfotosintesis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan pigmen alga *Caulerpa* sp. di kepulauan Kei. Metode penelitian pigmen alga dengan metode kolom kromatografi. Hasil yang diperoleh untuk memisahkan pigmen klorofil pada alga *Caulerpa* sp dengan menggunakan kromatografi kolom adalah b-karoten, xantofil, karatenoin, klorofil a dan klorofil b.

Kata Kunci : Analisis; Alga; *Caulerpa* sp.; Klorofil; Pigmen.

Chlorophyll Pigment in Algae Caulerpa sp. on the Kei Islands

ABSTRACT

One of the plants that has chlorophyll and macroalgae is growth, algae are able to live the waters, and have very fast growth with photosynthesis. This research was conducted to determine the pigment content of *Caulerpa* sp. algae in the Kei Islands. Algae pigment research method using column chromatography method. The results obtained to separate the chlorophyll pigments in algae *Caulerpa* sp. using column chromatography are b-carotene, xanthophyll, caratenoin, chlorophyll a and chlorophyll b.

Keywords : Analysis; Algae; *Caulerpa* sp.; Chlorophyll; Pigment.

PENDAHULUAN

Alga adalah sekelompok organisme yang bervariasi meliputi bentuk, ukuran, warna (pigmen) dan komposisi senyawa kimia lainnya (Leibo *et al.* 2016). Makroalga atau dikenal dengan rumput laut merupakan kekayaan hayati laut yang banyak tersebar di perairan Indonesia, baik tumbuh secara alami maupun hasil budidaya. Alga telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat, bahan pangan maupun kosmetik. Alga Indonesia telah diteliti mengandung antioksidan yang tinggi dalam menangkal radikal bebas (Firdaus 2003; Diachanty *et al.* 2017; Nufus *et al.* 2017; Gazali *et al.* 2018) dan dapat meningkatkan sistem imun (Subaryono *et al.* 2017). Komoditi alga telah diteliti mengandung komponen bioaktif di antaranya fenol (Machu *et al.* 2015; Zakaria *et al.* 2017), flavonoid (Elmegeed *et al.* 2014).

Klorofil dan karotenoid (Rohani-Ghadikolaei *et al.* 2012; Pangestuti dan Kim 2011) dan polisakarida sulfat (Barahona *et al.* 2014). Klorofil dan karotenoid merupakan pigmen alami yang tersebar pada semua jenis alga baik *Phaeophyceae*, *Rhodophyceae* dan *Chlorophyceae* dengan komposisi yang bervariasi (Chen *et al.* 2017; Bocanegara *et al.* 2009; Holdt dan Kraan 2011). Alga hijau (*Chlorophyceae*) merupakan jenis alga yang memiliki kandungan klorofil paling tinggi (Haryatfrehni *et al.* 2015).

Pigmen klorofil dan karotenoid telah diteliti mempunyai efek biologis untuk meningkatkan kesehatan, diantaranya antioksidan, antiinflamasi maupun antikanker (Pangestuti dan Kim 2011; Prangdimurti *et al.* 2006). Salah satu alga potensial adalah alga hijau *Caulerpa* sp. yang tumbuh secara alami dan hanya terdapat disebagian kecil perairan tertentu diIndonesia salah satunya Propinsi Maluku, namun hanya di kepulauan Kei.

Alga hijau *Caulerpa* sp. dikenal oleh masyarakat Kei sebagai Lat (nama lokal) atau anggur laut, alga ini dikonsumsi sebagai sayuran atau lalapan mentah oleh masyarakat Kei. Alga *Caulerpa* sp. tumbuh secara alami dan tidak mengenal musim.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan pigmen klorofil pada Alga Hijau *Caulerpa* sp. dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

METODE PENELITIAN

Waktu dan tempat

Penelitian analisis pigmen klorofil Alga *Caulerpa* sp. dilakukan pada Laboratorium Dasar Politeknik Perikanan Negeri Tual. Titik pengambilan sampel alga *Caulerpa* sp. di Kepulauan Kei. Gambar *Caulerpa* sp. Dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Alga *Caulerpa* sp

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi lumping, alu, gelas ukur, tabung reaksi, pipet tetes, statif, buret, erlemeyer, sentrifugasi, pipet volum, kolom, *magnetic stirrer*, *hot plate*, aluminium foil, pisau, dan vial.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi silica gel, aseton, *n-heksana*, kapas, dan alga *caulerpa* sp.

Prosedur penelitian

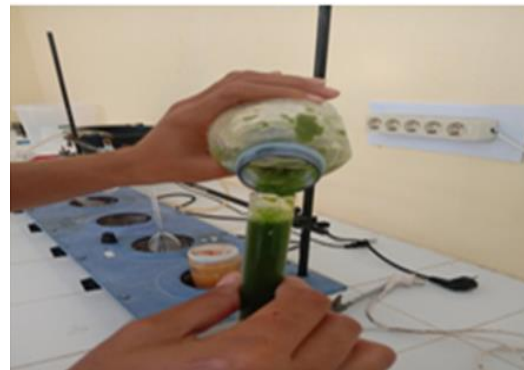
Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode penelitian deskriptif. Sampel dianalisis di laboratorium, data yang diperoleh adalah data kualitatif.

Pengambilan dan preparasi sampel

Sampel alga *caulerpa* sp. di ambil dilaut Kei, selanjutnya dicuci dengan air mengalir sampai bersih, dengan tujuan membersihkan pasir, karang dan kotoran yang menempel pada alga *Caulerpa* sp.

Proses ekstraksi

Sampel yang telah dibersihkan, dilakukan proses ekstraksi. Sebelum dilakukan proses ekstraksi alga *caulerpa* sp diambil dan ditimbang dengan berat 50 gr, kemudian sampel dipotong kecil-kecil dengan menggunakan pisau. Selanjutnya dilakukan penggerusan dengan menggunakan lumpang dan alu. Selama penggerusan ditambahkan aseton sebanyak 50 ml. Penggerusan dilakukan secara terus menerus hingga larutan berubah warna dengan tujuan untuk mendapatkan ekstrak klorofil secara maksimal. .Sampel alga dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Sampel ekstrak alga *Caulerpa* sp.

Proses karakterisasi pigmen klorofil dengan kolom

Hasil ekstraksi alga *caulerpa* sp. kemudian disentrifugasi dengan menggunakan sentrifugus dengan kecepatan 3000 rpm, sampel sentrifugasi alga *caulerpa* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sentrifugasi alga *caulerpa* sp.

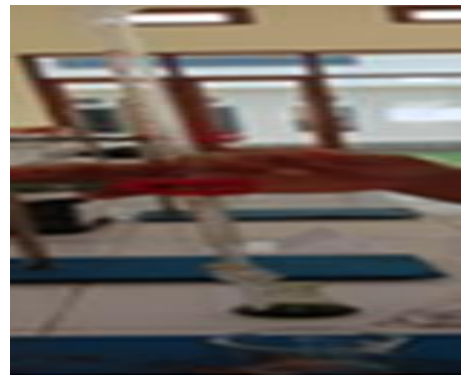
Hasil sentrifugasi berupa supernatan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi/erlemeyer untuk dilakukan pencampuran reaksi dengan perbandingan 4:1, 3:2, 2:3, 1:4 menggunakan larutan aseton dan n-heksan..

Penyiapan kolom dan fase diam

Tahap pertama menyiapkan kolom untuk kromatografi, masukkan kapas dan kertas saring pada bagian kolom dan kran kolom ditutup. Tahap kedua tuangkan cairan fase gerak sampai setengah bagian kolom, masukkan fase diam yang akan digunakan sampai jumlah yang dikehendaki. Tahap ketiga keluarkan cairan fase gerak sampai 1 cm diatas permukaan fase diam. Amati dengan baik. Perhatikan jangan sampai ada gelembung udara dalam fase diam. Kolom siap digunakan.

Selanjutnya secara perlahan buka kran kolom sehingga eluen akan mengalir keluar, dan tatat waktu pertama setelah penetesan fase gerak. Lalu masukan masukan sampel alga *Caulerpa* sp. ke dalam kolom sesuai urutan perbandingan larutan yakni 4:1, 3:2, 2:3, 1:4, serta amati perubahan pigmen warna yang melewati kolom tadi, kromatografi. Fraksi yang keluar

ditampung tiap 2 mL, catat pada menit beberapa tetesan atau fraksi yang berisi analit pertama mulai keluar (menit pertama dan terakhir untuk suatu analit yang sama). Demikian seterusnya untuk analit berikutnya. Penambahan fase gerak jangan sampai terlambat yaitu jangan sampai cairan fase gerak diatas fase diam habis. Contoh kolom pada gambar 4.



Gambar 4. Kolom kromatografi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis pigmen klorofil alga *Caulerpa* sp.

Alga telah diteliti mengandung komponen bioaktif di antaranya fenol (Machu *et al.* 2015; Zakaria *et al.* 2017), flavonoid (Elmegeed *et al.* 2014), klorofil, karotenoid (Rohani-Ghadikolaei *et al.* 2012; Pangestuti dan Kim 2011) dan polisakarida sulfat (Barahona *et al.* 2014). Klorofil dan karotenoid merupakan pigmen alami yang tersebar pada semua jenis rumput laut baik *Phaeophyceae*, *Rhodophyceae* dan *Chlorophyceae* dengan komposisi yang bervariasi (Chen *et al.* 2017; Bocanegara *et al.* 2009; Holdt dan Kraan 2011). Hasil penelitian diperoleh

pigmen warna dari hasil kromotografi kolom alga *caulerpa* sp seperti Tabel 1.

Tabel 1. Pigmen warna *caulerpa* sp

Sampel	Fraksi	Warna	Pigmen
<i>Caulerpa</i> sp	1	Kuning tua	b-Karoten
	2	Kuning muda	Xantofil
	3	Kuning	Karotenoid
	4	Hijau kebiruan	Klorofil a
	5	Hijau keuningan	Klorofil b

Hasil kromotografi fraksi 1 warna yang keluar menunjukkan warna kuning tua, maka pigmen yang dihasilkan adalah B-karoten. Beta-karoten pada setiap RC mempunyai fungsi proteksi, dan karotenoid pada sisi periferal LHC PSII berfungsi sebagai pemanen cahaya. Beta-karoten terdapat pada kompleks *reaction center* (RC) dan *light-harvesting complex* (LHC) fotosistem I (PSI) serta pada RC dan inti LHC fotosistem II (PS II).

Zeaxantin yang terdapat dalam LHC PSI pada beberapa algae merah. Pada bagian periferal LHC PS II, terikat berbagai jenis karotenoid sesuai dengan kelas algae. Karotenoid utama yang ditemukan ialah *alloxantin* (*Cryptophyta*); *fukoxantin* (*Chrysophyceae*, *Raphidophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Phaeophyceae*, serta *Haptophyceae*); *diadinoxantin* dan *vaucheriaxantin* (*Xantophyceae*); *violaxantin* dan *vaucheriaxantin* (*Eustigmatophyceae*); *peridinin* (*Dinophyta*); *diadinoxantin* (*Euglenophyta*); *siphonaxantin* (*Chlorophyceae* dan *Ulvophyceae*), serta *lutein*,

violaxantin dan 9'-cis *neoxantin* (tumbuhan darat) (Durnrof, 2003; Macpherson & Hiller, 2003; Neilson & Durnford, 2010). Fraksi ke 2 warna kuning muda menunjukkan pigmen xantofil. Xantofil merupakan karotenoid yang mengandung gugus hidroksil. Xantofilumum biasanya berupa monohidroksikarotena (misalnya lutein, rubixantin), dihidroksikarotena (zeaxantin), atau dihidroksiepoksikarotena (*violaxantin*).

Fraksi ke 3 warna kuning menunjukkan pigmen karatenoid. Fraksi 4 warna hijau kebiruan menunjukkan pigmen klorofil a dan fraksi 5 warna hijau kekuningan menunjukkan pigmen klorofil b. karatenoid, klorofil a, dan klorofil b memiliki fungsi yang sangat penting dalam kehidupan. Pembentukan warna pigmen dengan kromotografi kolom dapat dilihat pada Gambar 5.a dan b.

Klorofil dan karotenoid berikatan dengan peptida, membentuk pigmen-protein kompleks pada membran tilakoid. 5 jenis pigmen protein kompleks pada algae telah diisolasi serta dianalisis komposisi pigmennya (Durnrof, 2003; Macpherson & Hiller, 2003; Neilson & Durnford, 2010). Pada fotosintesis, karotenoid mempunyai peranan penting yaitu sebagai pigmen aksesoris pemanen cahaya serta sebagai triplet quencher untuk melindungi komponen fotosintesis dari kerusakan fotooksidatif (Krinsky, 1968; Goodwin, 1976; Cogdell, 1987).



(a)



(b)

Gambar 5. (a) Kromatografi Kolom yang menunjukkan warna pigmen; (b) vial penampung fraksi 1,2,3,4,dan 5 pigmen warna *caulerpa* sp.

Mekanisme fotoproteksi karotenoid meliputi *quenching chlorophyll triplet state* sehingga mencegah pembentukan oksigen singlet yang dapat mengoksidasi klorofil. Selain itu karotenoid juga mampu mencegah pembentukan oksigen singlet secara langsung. Karotenoid dalam LHC berfungsi untuk menyerap energi pada panjang gelombang yang tidak efisien diserap oleh klorofil. Energi diserap oleh karotenoid dan disalurkan ke klorofil hingga akhirnya sampai pada pusat reaksi. Efisiensi transfer energi dari tahap *singlet excited* karotenoid ke tahap *singlet excited* klorofil pada LHC tergantung pada struktur dan eksitasi energi karotenoid serta jarak dan posisinya terhadap klorofil (Bacon, 2001).

Singlet state karotenoid mempunyai energi lebih tinggi sedangkan *triplet state* karotenoid mempunyai energi yang lebih rendah dibandingkan tahapan energi pada klorofil, kondisi tersebut mendukung peran karotenoid sebagai fotoprotekto dan pigmen aksesoris pemanen cahaya (Cogdell, 1987). Pemisahan pigmen dengan kromatografi kolom menggunakan larutan aseton dan heksana 4:1, 3:2, 2:3, 1:4 memperoleh 5 lapisan pigmen yaitu pigmen b-karoten, karatenoin, klorofil a, klorofil b, dan xantofil. Dengan warna karoten berwarna kuning, klorofil a berwarna hijau tua, klorofil b berwarna hijau muda, dan xiantofil yang berwarna kuning muda. Data ini sesuai dengan deskripsi yang menyatakan bahwa klorofil a berwarna hijau biru, klorofil b berwarna hijau kuning dan karatenoin berwarna kuning orange. Karotenoid dibedakan menjadi dua golongan utama yaitu: karotenoid polar (xantofil) dan karotenoid non polar (karoten). Perbedaan warna ini juga berpengaruh dari serapan yang bervariasi dan juga panjang dari nanometer yang dihasilkan dari masing-masing pigmen.

KESIMPULAN

Pigmen warna yang berhasil diisolasi menggunakan kromatografi kolom pada alga *caulerpa* sp adalah b-karoten, xantofil, karatenoin, klorofil a dan klorofil b.

DAFTAR PUSTAKA

- Bacon, K. 2001. *Photosynthesis: Photobiochemistry and Photobiophysics*. Kluwer Academic Publishers, Netherland.
- Bocanegara, A., Bastida, S., Benedi, J., Rodenas, S., Sanchez-Muniz, F.J. 2009. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *Journal Medicine Food*. 12(2): 236–258.
- Barahona, T., Encinas, M.V., Imarai, M., Mansilla, A., Matsuhiro, B., Torres, R., Valenzuela, B. 2014. Bioactive polysaccharides from marine algae. *Journal Bioactive Carbohydrate and Dietary Fibre*. 4(2): 125-138.
- Chen, K., Ríos, J.J., Perez-Galvez, A., Roca, M. 2017. Comprehensive chlorophyll composition in the main edible seaweeds. *Food Chemistry*. 228: 625-633.
- Cogdell RJ, Frank HA. 1987. *Biochim. Biophys. Acta*. 895:63-79.
- Diachanty S, Nurjanah, Abdullah A. 2017. Aktivitas antioksidan berbagai jenis rumput laut coklat dari Perairan Kepulauan Seribu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 305-318.
- Durnford, D.G. 2003. *Structure and regulation of algal light-harvesting complex genes*. In *Photosynthesis in Algae*; Larkum, A.W.D., Douglas, S.E., Raven, J.A., Eds.; Kluwer: Dordrecht, The Netherlands.
- Elmegeed, D.F.A., Ghareeb, D.A., Elsayed, M., El-Saadani M. 2014. Phytochemical constituents and bioscreening activities of green algae *Ulva lactuca*. *International Journal of Agricultural Policy and Research*. 2(11): 373-378.
- Firdaus, M. 2003. Indek aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum aquifolium*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(1): 42-47
- Gazali, M., Nurjanah, Zamani, N.P. 2018. Eksplorasi senyawa bioaktif alga cokelat *Sargassum* sp. Agardh sebagai antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1):167-178.
- Goodwin, T.W. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Academic Press, New York.
- Haryatfrehni, R., Dewi, S.C, Meilianda, A., Rahmawati, S., Sari, I.Z.R. 2015. Preliminary study the potency of macroalgae in Yogyakarta: extraction and analysis of algal pigments from common Gunungkidul seaweeds. *Procedia Chemistry*. 14: 373-380.
- Holdt, S.L., Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*. 23: 543–597.
- Krinsky NI. 1968. *Photophysiology III*. Academic Press, New York.
- Leibo, R.D.M.H., Mantiri, G.S., Gerung. 2016. Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak total alga hijau *Halimeda opuntia Linnaeus* dan *Halimeda macroloba Decaisne* dari perairan teluk totok. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2(1):36.
- Machu, L., Misurcova, L., Ambrozova, J.V., Orsavova, J., Mlcek, J., Sochor, J., Jurikova, T. 2015. Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*. 20(1): 1118-1133.
- Macpherson, Hiller. 2003. *Light-Harvesting Systems in Chlorophyll C-Containing Algae*. Green BR, Parson WW, editors. *Light-Harvesting Antennas in*

- Photosynthesis. Kluwer; Dordrecht, pp. 323–352.
- Neilson, J.A.D., Durnford, D.G. 2010. Structural and functional diversification of the light-harvesting complexes in photosynthetic eukaryotes. *Photosynth Res.* 106: 57–71.
- Nufus, C., Nurjanah, Abdullah, A.. 2017. Karakteristik rumput laut hijau dari perairan Kepulauan Seribu dan Sekotong Nusa Tenggara Barat sebagai antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 20(3): 620-630.
- Pangestuti, R., Kim, S.K. 2011. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *Journal of Functional Foods.* 3: 255-266.
- Prangdimurti, E., Muchtadi, D., Astawan, M., Zakaria, F.R. 2006. Aktivitas antioksidan ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia* NE Brown). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 17(2): 79-85.
- Rohani-Ghadikolaei, K., Abdulalian, E., Ng, W.K. 2012. Evaluation of the proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. *Journal of Food Science and Technology.* 49(6): 774-780.
- Subaryono, Perangiangan, R., Suhartono, M.T., Zakaria, F.R. 2017. Aktivitas imunomodulator oligosakarida alginat (OSA) yang dihasilkan dari alginat asal *Sargassum crassifolium*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 20(1): 63-73.
- Zakaria, F.R., Priosoeryanto, B.P., Erniati, Sajida. 2017. Karakteristik nori dari campuran rumput laut *Ulva lactuca* dan *Euचेuma cottoni*. *Jurnal Pascapanen dan*
- Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.* 12(1):23-30.