

Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Leenawaty Limantara^{1,2*} dan Heriyanto^{2*}

¹Teknik Industri, Universitas Ma Chung, Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

² Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung, Jl Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

*e-mail: leenawaty.limantara@machung.ac.id; **e-mail: heri.yanto@machung.ac.id

Abstrak

Variasi warna thallus pada setiap jenis rumput laut dipengaruhi oleh adanya perbedaan jenis pigmen dan kandungan pigmen dominan yang terdapat didalamnya. Oleh sebab itu, lima jenis rumput laut cokelat telah dianalisa menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dilengkapi dengan detektor photodiode array untuk menentukan komposisi pigmen dan kandungan pigmen dominan fukosantin. Dua puluh enam, 27, 18, 27, dan 19 jenis pigmen telah dipisahkan dari *Sargassum duplicatum*, *S. filipendula*, *S. polycystum*, *Padina australis* dan *Turbinaria conoides* secara berturut-turut, dalam satu langkah kerja dengan KCKT fase terbalik menggunakan elusi gradien antara metanol, aseton dan larutan amonium asetat selama 70 menit waktu elusi untuk mendapatkan pemisahan puncak pigmen dengan resolusi yang tinggi. Identifikasi pigmen dilakukan berdasarkan urutan kepolaran dan panjang gelombang serapan maksimum setiap pigmen yang dibandingkan dengan literatur yang menggunakan sampel rumput laut cokelat dan fase gerak yang relatif sama. Klorofilid a, klorofil c₁, isomer trans fukosantin, isomer cis fukosantin, β -kriptoxantin, zeaxantin, violaxantin, fucoxantol, klorofil a, klorofil a', feofitin a, feofitin a' dan β -karoten merupakan pigmen yang ditemukan pada hampir semua rumput laut cokelat. Kandungan fukosantin ditentukan berdasarkan persamaan garis dari kurva standar fukosantin antara luas puncak fukosantin dan konsentrasi fukosantin standar. *P. australis* memiliki kandungan fukosantin tertinggi jika dibandingkan dengan rumput laut cokelat lainnya yaitu sebesar 0,6368 mg/g berat basah. Hal ini disebabkan karena *P. australis* tumbuh pada kedalaman yang lebih dalam, sehingga memiliki kemampuan adaptasi khusus berupa thallus yang menyerupai lembaran daun yang digunakan dalam proses pemanenan cahaya secara efisien.

Kata kunci: rumput laut cokelat, komposisi pigmen, kandungan fukosantin, KCKT

Abstract

The color of seaweed is influenced by the difference of the type and the content of main pigments inside of seaweed thallus. Therefore, five kinds of brown seaweed have been analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) which equipped by photodiode array detector to determine the composition of pigment and the content of fucoxanthin. Twenty six, 27, 18, 27, and 19 pigments were separated from *Sargassum duplicatum*, *S. filipendula*, *S. polycystum*, *Padina australis* and *Turbinaria conoides*, respectively, in a single-step procedure by reversed-phase HPLC with an elution gradient of methanol, acetone and ammonium acetate solution during elution time of 70 minutes. The high resolution peaks of the separated pigments from seaweeds have been obtained by above procedure. The identification of pigments was carried out based on the sequence of pigment polarity and the maximum absorption wavelength of each pigment. These pigment properties were compared by literature that using the brown seaweed as a sample and its mobile phase was relatively similar. Chlorophyllide a, chlorophyll c₁, trans-isomer fucoxanthin, cis-isomers fucoxanthin, β -cryptoxanthin, zeaxanthin, violaxanthin, fucoxanthol, chlorophyll a, chlorophyll a', phaeophytin a, phaeophytin a' and β -carotene were pigments found in almost of brown seaweeds. The content of fucoxanthin was determined according to a line equation of the fucoxanthin standard curve between the peak area of fucoxanthin and the concentration of fucoxanthin standard. *P. australis* has a highest of fucoxanthin content than that of the other brown seaweeds, which is 0.6368 mg/g wet weight. This result is caused by the deeper growth place of *P. australis*. Therefore, *P. australis* has leaf-like thallus which can be used for efficient light harvesting process.

Key words: brown seaweeds, pigment composition, fucoxanthin content, HPLC

Pendahuluan

Rumput laut merupakan makroalga yang dikonsumsi sebagai sumber bahan makanan sehari-hari oleh orang Asia sejak jaman dahulu. Terdapat sekitar 221 jenis rumput laut telah dimanfaatkan secara komersial di dunia dan 65% diantaranya digunakan sebagai bahan makanan manusia (Zemke-White & Ohno, 1999). Berdasarkan hasil penelitian yang sudah banyak dilakukan, rumput laut mengandung sumber potensial dari beberapa komponen bioaktif seperti: serat makanan, protein, asam lemak esensial, vitamin, karotenoid dan mineral (Mabeau & Fleurence, 1993; Fleurence, 1999; Bhaskar & Miyashita, 2005). Selain komponen bioaktif, rumput laut juga mengandung 3 jenis hidrokoloid utama yaitu alginat, agar-agar dan karagenan (Dhargalkar & Verlecar, 2009) yang telah digunakan dalam berbagai macam industri yaitu farmasi, kosmetik dan makanan (Armisen, 1995; Ganesan *et al.*, 2008).

Rumput laut telah dikelompokkan berdasarkan nutrisi dan komposisi kimia yang terkandung didalamnya (Dawczynski *et al.*, 2007), sedangkan menurut Hegazi *et al.* (1998) lebih dari 200 tahun yang lalu, rumput laut berdasarkan warna *thallus* dikelompokkan menjadi 3 jenis, yaitu rumput laut merah (Rhodophyta), rumput laut hijau (Chlorophyta) dan rumput laut cokelat (Phaeophyta). Pengelompokan 3 jenis rumput laut berdasarkan warna ini juga telah diklasifikasikan oleh Susanto (2008). Jenis rumput laut cokelat banyak ditemukan di Perairan Pulau Talango, wilayah timur pulau Madura, namun rumput laut cokelat ini belum dibudidayakan dan dikembangkan secara optimal oleh masyarakat setempat. Warna *thallus* rumput laut cokelat berasal dari campuran pigmen golongan klorofil dan pigmen golongan karotenoid. Variasi warna *thallus* setiap spesies rumput laut cokelat sangat dipengaruhi oleh komposisi serta kandungan pigmen penyusunnya. Klorofil *a* merupakan pigmen utama dalam proses fotosintetik dari tumbuhan tingkat tinggi termasuk didalamnya makroalga, sedangkan karotenoid hanya sebagai pigmen pelengkap. Fukosantin merupakan karotenoid utama yang terdapat dalam rumput laut cokelat (Haugan *et al.*, 1995) dan diperkirakan lebih dari 10% dari total produksi karotenoid alami (Matsuno, 2001).

Sampai saat ini informasi mengenai komposisi pigmen dan kandungan pigmen utama dari beberapa jenis spesies rumput laut coklat di perairan Madura belum banyak dipublikasikan. Beberapa metode pemisahan dan identifikasi pigmen dari rumput laut telah dikembangkan dengan menggunakan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis, namun metode tersebut relatif sulit untuk memisahkan semua pigmen dari rumput laut dalam satu tahap pemisahan (Bjornland & Aguilar-Martinez,

1976; Palermo *et al.*, 1991). Hegazi *et al.* (1998) dan Hegazi (2002) telah berhasil mengembangkan metode untuk pemisahan, penentuan kandungan dan identifikasi pigmen dari rumput laut menggunakan teknik Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) fase terbalik. Berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis melakukan penelitian dengan mengacu kepada metode KCKT yang dilakukan oleh Hegazi *et al.* (1998) dan Hegazi (2002). Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan komposisi pigmen dan kandungan fukosantin dari 5 jenis rumput laut cokelat menggunakan teknik KCKT. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai jenis pigmen dan kandungan fukosantin yang terkandung di dalam 5 jenis spesies rumput laut cokelat sebagai dasar pengembangan penelitian lebih lanjut kearah aplikasi pigmen rumput laut coklat.

Materi dan Metode

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah lima jenis rumput laut cokelat segar, yaitu: *Sargassum duplicatum*, *S. polycystum*, *S. filipendula*, *Padina australis* dan *Turbinaria conoides*, yang diperoleh dari Desa Ponjuk, Pulau Talango, Sumenep, Madura karena kelimpahan jenis rumput laut pada daerah tersebut untuk wilayah Jawa Timur. Fukosantin standar diperoleh dari South Product Co. Ltd. (Okinawa, Jepang). Bahan kimia yang digunakan adalah aseton, metanol, kalsium karbonat (CaCO_3) dan amonium asetat kualitas Pro Analisis (PA, Merck).

Preparasi Sampel dan Ekstraksi Pigmen

Rumput laut cokelat dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran, selanjutnya sampel ditiriskan menggunakan kain dan dimasukkan ke dalam kantong *polyback* hitam. Selama perjalanan, sampel disimpan dalam wadah dingin berisi es. Jika diperlukan, sampel disimpan dalam lemari pembeku untuk tahap penelitian selanjutnya.

Satu gram sampel segar yang telah dipotong kecil-kecil dan ditambah CaCO_3 , kemudian ditumbuk sampai halus menggunakan mortal. Selanjutnya, sampel diekstraksi menggunakan 10 mL aseton selama 20 menit dan disaring. Proses ekstraksi diulang sampai residu berwarna pucat. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan gas argon (UHP).

Komposisi Pigmen

Komposisi pigmen rumput laut cokelat dianalisa menggunakan KCKT LC-20AD (Shimadzu, Kyoto) yang dilengkapi dengan *photodiode array detektor* (PDA) SPD-M20A. Kolom Shim-Pack VP-ODS C-18 yang dilindungi oleh kolom pelindung (*guard column*) digunakan dalam penelitian ini. Analisa

pigmen dilakukan berdasarkan metode Hegazi *et al.* (1998) yang telah dimodifikasi. Elusi pigmen dilakukan dengan kecepatan alir 1 mL/min pada suhu 30 °C menggunakan sistem elusi gradien dari campuran pelarut metanol, aseton dan larutan amonium asetat (1 M) (Tabel 1). Ekstrak kasar pigmen kering dilarutkan dalam 5 mL aseton dan difiltrasi menggunakan membran filter (0,2 µm, Nilon), kemudian sebanyak 20 µL ekstrak pigmen diinjeksikan ke KCKT.

Kandungan Fukosantin

Kandungan fukosantin dalam satuan mg/g berat basah ditentukan berdasarkan luas puncak fukosantin pada kromatogram KCKT dari rumput laut cokelat yang dideteksi pada 450 nm. Luas puncak fukosantin tersebut digunakan dalam perhitungan kandungan fukosantin dengan persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar fukosantin murni.

Analisa Data

Persamaan garis antara luas puncak fukosantin pada kromatogram KCKT yang dideteksi pada 450 nm dengan konsentrasi fukosantin standar dibuat dengan menggunakan Microsoft Office Excel 2007.

Hasil dan Pembahasan

Pemisahan pigmen rumput laut telah dilakukan menggunakan KCKT yang dilengkapi dengan detektor PDA. Pada analisa KCKT ini, pengukuran suatu sampel dapat dilakukan pada interval panjang gelombang yang diinginkan sepanjang spektrum cahaya UV-Tampak secara bersama-sama, sehingga komposisi pigmen dalam sampel tersebut dapat dideteksi pada beberapa panjang gelombang tanpa diperlukan pengulangan injeksi sampel. Oleh sebab itu, pola spektrum dari setiap puncak yang terpisahkan pada kromatogram KCKT dapat diperoleh dan pola spektrum tersebut dapat digunakan untuk identifikasi yang akurat untuk setiap puncak pigmen dengan membandingkannya dengan pustaka acuan yang menggunakan sampel dan metode yang hampir sama. Kromatogram KCKT 3 dimensi sebagai fungsi intensitas (mAU), waktu tambat (menit) dan panjang gelombang (nm) dari ekstrak pigmen kasar *S. filipendula* dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan data dari KCKT 3 dimensi tersebut, kromatogram pada satu panjang gelombang tertentu (grafik antara waktu tambat dan intensitas) dan pola spektrum suatu puncak pada waktu tambat tertentu (grafik antara panjang gelombang dan intensitas) dapat digambarkan dan dianalisa.

Komposisi Pigmen

Komposisi pigmen dari 5 jenis rumput laut cokelat dapat dianalisis berdasarkan jumlah puncak

yang dapat dipisahkan pada kromatogram KCKT. Kromatogram dari ekstrak kasar pigmen *S. filipendula* yang dideteksi pada panjang gelombang 430 nm selama 70 menit waktu elusi dapat dilihat pada Gambar 2. Setiap puncak pada kromatogram KCKT menandakan keberadaan pigmen yang terkandung pada ekstrak kasar pigmen rumput laut cokelat. Nomor setiap puncak pigmen sesuai dengan urutan elusinya yaitu dari pigmen yang memiliki kepolaran tinggi sampai pada pigmen yang memiliki kepolaran rendah, karena pada penelitian ini menggunakan sistem elusi fase terbalik.

Identifikasi pigmen telah dilakukan berdasarkan pola spektrum setiap puncak dan urutan kepolarannya dibandingkan dengan hasil penelitian Hegazi *et al.* (1998) yang menggunakan komposisi pelarut dan fase diam yang hampir sama untuk menganalisa rumput laut cokelat. Nilai waktu tambat (t_r , waktu retensi), jenis pigmen, panjang gelombang serapan maksimum dan keberadaan pigmen pada rumput laut cokelat dapat dilihat pada Tabel 2. Tiga puluh tujuh pigmen telah berhasil dipisahkan dari 5 jenis rumput laut cokelat yang terdiri dari 19 pigmen yang teridentifikasi dan 18 pigmen yang belum teridentifikasi. Golongan klorofil yang sudah berhasil diidentifikasi berjumlah 8 jenis (klorofilid a, klorofil c_1 , klorofil b, klorofil b', klorofil a, klorofil a', feofitin a, feofitin a'), sedangkan golongan karotenoid berjumlah 11 jenis (isomer *trans* fukosantin, neoxantin, violaxantin, flavoxantin, fukoxantol, 2 buah isomer *cis* fukosantin, anteraxantin, β-kriptoxanti, zeaxantin, β-karoten).

Teknik kromatografi yang digunakan pada penelitian ini adalah elusi gradien antara aseton, metanol dan larutan amonium asetat dengan komposisi yang bervariasi dengan waktu dan menggunakan kolom VP-ODS C18 menunjukkan hasil pemisahan pigmen dengan resolusi yang sangat tinggi. Hal ini dapat diamati dari 2 jenis pigmen yang memiliki kepolaran yang hampir sama yaitu klorofil a dan klorofil a' (epimer klorofil a) dapat dipisahkan pada kromatogram KCKT. Penggunaan amonium asetat sebagai buffer dalam fase gerak telah memberikan hasil yang bagus dalam pemisahan mono dan divinil klorofil a serta klorofil b (Van Heukelem *et al.*, 1994), pemisahan pigmen satu dengan yang lainnya (Furuya *et al.*, 1998) dan pada pigmen-pigmen polar seperti klorofilid a dan klorofil c (Mantoura & Llewellyn, 1983).

Jumlah pigmen yang dapat dipisahkan dari 5 jenis rumput laut cokelat (26 pigmen pada *S. duplicatum*, 27 pigmen pada *S. filipendula*, 18 pigmen pada *S. polycystum*, 27 pigmen pada *P. australis*, dan 19 pigmen pada *T. conoides*) berbeda satu dengan yang lainnya, sehingga komposisi pigmen penyusunnya juga bervariasi. Klorofil c_1 , isomer *trans* fukosantin, isomer *cis* fukosantin, β-kriptoxantin, zeaxantin, klorofil a, klorofil a', feofitin a, feofitin a'

dan β -karoten merupakan pigmen yang ditemukan pada semua jenis rumput laut, sedangkan klorofilid *a*, violaxantin, fukoxantol merupakan pigmen yang juga terdapat pada semua jenis rumput laut kecuali pada *S. polycystum*. Hegazi *et al.* (1998) dan Hegazi (2002) menyatakan bahwa pigmen yang paling melimpah dan khas dari rumput laut cokelat adalah fukosantin, fukoxantol, flavoxantin, diatoxantin dan zeaxantin, sedangkan klorofil c_1 dan klorofil c_2 merupakan klorofil khas dari phaeophyta. Klorofil *a* merupakan golongan klorofil yang dominan pada rumput laut cokelat, sedangkan fukosantin merupakan karotenoid utamanya (Nurchayanti & Limantara, 2007; Indrawati *et al.*, 2010). Ciri khas rumput laut dari genus *Sargassum* adalah keberadaan pigmen klorofil *b*, klorofil *b'* dan neoxantin, namun neoxantin tidak ditemukan pada *S. polycystum*. Sedangkan anteraxantin merupakan pigmen khas dari golongan karotenoid pada *P. australis* dan *T. conoides*.

Pada semua jenis rumput laut cokelat ditemukan keberadaan turunan klorofil *a* yaitu klorofilid *a*, klorofil *a'* dan feofitin *a*. Keberadaan klorofilid *a* sebagai produk degradasi klorofil *a* kemungkinan disebabkan oleh aktifitas enzim klorofilase yang tinggi pada rumput laut cokelat. Suzuki & Fujita (1986) serta Jeffrey & Hallegraeff (1987) menyatakan bahwa klorofilid dihasilkan selama proses penyaringan dan kondisi basah sebelum proses ekstraksi dapat meningkatkan reaksi enzim klorofilase. Berdasarkan penelitian di atas, penting untuk melakukan penyaringan secepat mungkin dibawah vakum bertekanan rendah (Li, 1986) dan proses ekstraksi yang relatif cepat (Furuya *et al.*, 1998). Keberadaan klorofil *a* selalu disertai oleh sejumlah kecil epimernya yaitu klorofil *a'*. Hasil penelitian Hegazi *et al.* (1998) menunjukkan bahwa klorofil *a'* juga teridentifikasi pada rumput laut cokelat, sedangkan turunan klorofil *a* lainnya yaitu feofitin *a* kemungkinan bukan merupakan hasil produk degradasi karena dalam semua tumbuhan pada dasarnya memiliki feofitin pada pusat reaksinya dalam jumlah terbatas dengan perbandingan 2 (bakterio) feofitin : 4 (bakterio) klorofil pada pusat reaksi bakteri fotosintesis atau fotosistem II (PS II) tumbuhan tingkat tinggi (Blankenship *et al.*, 1995; Ort & Yokehn, 1996). Watanabe *et al.*, (1985) menyatakan bahwa klorofil *a'* dan feofitin juga ditemukan pada daun hijau.

Identifikasi Fukosantin

Identifikasi fukosantin dalam ekstrak kasar pigmen rumput laut cokelat dapat dilakukan dengan cara ko-kromatografi antara fukosantin standar dan ekstrak kasar pigmen rumput laut cokelat yang dianalisa menggunakan KCKT (Gambar 3). Pada kromatogram KCKT fukosantin standar, yang dideteksi pada panjang gelombang 450 nm, terdapat 2 puncak pada waktu tambat 10,06 menit dan 17,23

menit dengan intensitas atau luas puncak yang berbeda (Gambar 3A). Panjang gelombang serapan maksimum puncak ke-1 dan ke-2 yaitu pada 451 nm dan 443 nm, secara berturut-turut. Fukosantin memiliki serapan maksimum pada 452 nm dalam pelarut KCKT yang sama dengan penelitian ini (Hegazi *et al.*, 1998). Weedon & Moss (1995) menyatakan bahwa karotenoid alami sebagian besar terdapat secara dominan dalam bentuk isomer *trans*. Hasil penelitian Heriyanto & Limantara (2010) menyatakan bahwa puncak ke-1 diidentifikasi sebagai isomer *trans* fukosantin sedangkan puncak ke-2 sebagai campuran isomer *cis* fukosantin pada posisi 13 dan 13'.

Ko-kromatografi dilakukan untuk mengidentifikasi puncak fukosantin pada kromatogram KCKT ekstrak kasar pigmen rumput laut cokelat. Pada kromatogram KCKT hasil ko-kromatografi antara fukosantin standar dan ekstrak kasar pigmen, puncak pada waktu tambat 10,06 menit dan 17,23 menit menunjukkan kesamaan waktu tambat, pola spektra dan panjang gelombang serapan maksimum setiap puncaknya dengan puncak ke-1 dan puncak ke-2 pada kromatogram fukosantin standar (pola spektra dan serapan maksimum setiap puncak tidak ditampilkan pada paper ini). Peningkatan intensitas yang nyata pada kedua puncak tersebut juga diamati setelah ekstrak kasar pigmen rumput laut ditambah dengan fukosantin standar. Berdasarkan hasil ko-kromatografi maka 2 puncak pada waktu tambat 10,06 menit dan 17,23 menit pada ekstrak kasar pigmen *S. filipendula* adalah isomer *trans* fukosantin dan campuran antara isomer *cis* fukosantin pada posisi 13 dan 13', secara berturut-turut. Kedua puncak fukosantin ini akan digunakan dalam perhitungan kandungan fukosantin berdasarkan persamaan garis dari kurva standar fukosantin.

Kandungan Fukosantin

Persamaan garis kurva standar fukosantin antara konsentrasi fukosantin standar (g/ml) (X) dan luas puncak fukosantin yang dideteksi pada panjang gelombang 450 nm (Y) adalah sebagai berikut $Y = (2 \times 10^{11} X) - 35997$ ($R^2 = 0,999$). Diagram batang kandungan fukosantin (mg/g berat basah) dari 5 jenis rumput laut cokelat dapat dilihat pada Gambar 4. *P. australis* memiliki kandungan fukosantin tertinggi yaitu 2,17-3,22 kali dibandingkan dengan kandungan fukosantin rumput laut cokelat lainnya, sedangkan *T. conoides* memiliki kandungan fukosantin terendah. Urutan kadungan fukosantin adalah sebagai berikut: *P. australis* (0,6368) > *S. duplicatum* (0,2931) > *S. polycystum* (0,2480) > *S. filipendula* (0,2354) > *T. conoides* (0,1975).

Heriyanto *et al.*, (2010) menyatakan bahwa kandungan fukosantin 5 jenis rumput laut cokelat, secara spektroskopi berdasarkan metode Seely *et al.* (1972), tertinggi pada *P. australis* yaitu sebesar 0,2674

$\pm 0,0115$ mg/g berat basah, sedangkan kandungan rumput laut cokelat genus *Sargassum* berkisar antara $0,1957 \pm 0,0432 - 0,1578 \pm 0,0226$ mg/g berat basah dan *T. conoides* sebesar $0,2134 \pm 0,0269$ mg/g berat basah. Tidak ada perbedaan berarti antara kandungan fukosantin pada *Sargassum sp.* dan *T. conoides*. Hasil penelitian Pangestuti *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa kandungan fukosantin dari *S. polycystum* di perairan Teluk Awur, Jepara, sebesar $0,29 \pm 0,001 - 0,32 \pm 0,003$ mg/g berat basah berdasarkan metode spektroskopi Seely *et al.* (1972).

P. australis memiliki kandungan fukosantin yang paling tinggi dari 5 jenis rumput laut cokelat yang diteliti. Hegazi (2002) menyatakan bahwa rumput laut mengandung pigmen fotosintetik yang khas dan konsentrasinya bervariasi tergantung pada berbagai macam faktor lingkungan yaitu kedalaman, suhu, musim, tempat tumbuh, ketersediaan cahaya dan lain sebagainya. Kandungan fukosantin selain dipengaruhi oleh morfologi rumput laut cokelat, juga ditentukan oleh faktor lingkungan khususnya tingkat kedalaman tempat tumbuh atau ketersediaan cahaya (Heriyanto *et al.*, 2010). Pertumbuhan makroalga pada tempat tumbuh yang lebih dalam pada umumnya akan meningkatkan pigmen fotosintetiknya untuk mengimbangi ketersediaan cahaya yang rendah (Ramus *et al.*, 1976). Hal tersebut didukung oleh pernyataan dari Malta *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa pertumbuhan sel pada permukaan air yang lebih dalam, maka kandungan pigmen fotosintetiknya akan ditingkatkan untuk memaksimalkan efisiensi penangkapan cahaya matahari.

P. australis memiliki *thallus* yang pendek dan cenderung tumbuh di dasar laut, sedangkan *Sargassum spp.* memiliki *thallus* yang panjang mencapai 1-3 meter (Kadi, 2008) sehingga *Sargassum spp.* bisa tumbuh sampai di permukaan air laut. *Thallus* dari *T. conoides* hanya memiliki panjang sekitar 13 cm. Tempat tumbuh *P. australis* terdapat pada perairan yang lebih dalam dibandingkan rumput laut cokelat lainnya. Oleh sebab itu, morfologi *P. australis* berbeda dengan rumput laut cokelat lainnya, dengan bentuk *thallus* yang menyerupai daun. Pigmen baik klorofil maupun karotenoid terdapat paling melimpah pada daun karena keberadaan pigmen di plastida berperan dalam proses fotosintesis (Limantara & Rahayu, 2008). Lebih lanjut Herring *et al.* (1990) menyatakan bahwa kandungan fukosantin akan meningkat lebih cepat daripada kandungan klorofil *a* seiring dengan bertambahnya kedalaman.

Kesimpulan

KCKT yang dilengkapi dengan detektor PDA dapat digunakan untuk mengidentifikasi pigmen pada rumput laut cokelat secara cepat dan akurat berdasarkan pola spektrum setiap puncak yang

terpisahkan pada kromatogram KCKT. Berdasarkan jumlah dan jenis pigmen yang terpisahkan dapat diketahui bahwa komposisi pigmen dari 5 jenis rumput laut cokelat bervariasi. Urutan kandungan fukosantin dari 5 jenis rumput laut adalah sebagai berikut: *P. australis* > *S. duplicatum* > *S. polycystum* > *S. filipendula* > *T. conoides*. Besar dari kandungan fukosantin ini sangat dipengaruhi oleh tempat tumbuh dari setiap rumput laut cokelat. Rumput laut cokelat yang tumbuh pada dasar laut akan meningkatkan kandungan pigmen fotosintetiknya sebagai respon akan ketersediaan cahaya yang rendah.

Ucapan Terima Kasih

Dana penelitian ini didukung oleh hibah kompetensi tahun ke-1 (Nomor: 424/SP2H/PP/DP2M/VI/2010) dan hibah penelitian Ma Chung II (Nomor: 001/MACHUNG/LPPM-MRG II/III/2010) yang telah diterima oleh penulis. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Masahiko Iha dari South Product Co. Ltd. (12-75 Suzaki, Uruma-Shi, Okinawa 904-2234, Japan) yang telah menyediakan fukosantin standar.

Daftar Pustaka

- Armisen, R. 1995. World-wide use and important of *Gracilaria*. *Journal of Applied Phycology*, 7: 231-243.
- Bhaskar, N., & Miyashita, K. 2005. Lipid composition of *Padina tetratomica* (Dictyotales, Pheophyta), a brown seaweed of the west coast of India. *Indian Journal of Fisheries*, 52: 263-268.
- Bjornland, T., & Aguilar-Martinez, M. 1976. Carotenoids in Red Algae. *Phytochemistry*, 15: 291-296.
- Blankenship, R.E., Madigan, M.T., & Bauer, C.E. 1995. *Advances in Photosynthesis*, Vol 2: Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Kluwer Academic Publishers, London. p: 1331.
- Dawczynski, C., Schubert, R., & Jahreis, G. 2007. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*, 103: 891-899.
- Dhargalkar, V.K., & Verlecar, X. N. 2009. Southern Ocean seaweeds: A resource for exploration in food and drugs. *Aquaculture*, 287: 229-242.
- Fleurence, J. 1999. Seaweed proteins: Biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 25-28.
- Furuya, K., Hayashi, M., & Yabushita, Y. 1998. HPLC Determination of Phytoplankton Pigments

- Using N,N-Dimethylformamide. *Journal of Oceanography*, 54: 199-203.
- Ganesan, P., Chandini, S., & Bhaskar, K.N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 99: 2717-2723.
- Haugan, J.A., Aakemann, T., & Liaaen-Jensen, S. 1995. In: Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (Eds.). Carotenoids. Vol. 1A: Isolation and Analysis, Birkhauser Verlag, Basel. P: 215-226.
- Hegazi, M.M.I. 2002. Separation, identification and quantification of photosynthetic pigments from three Red Sea seaweeds using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Egyptian Journal of Biology*, 4: 1-6.
- Hegazi, M.M.I., Ruzafa, A.P., Almela, L., & Candela, M.E. 1998. Separation and identification of chlorophylls and carotenoids from *Caulerpa prolifera*, *Jania rubens* and *Padina pavonica* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 829: 153-159.
- Heriyanto & Limantara, L. 2010. Photo-Stability and Thermo-Stability Studies of Fucoxanthin Isomerization. Proceeding of Natural Pigments Conference for South East Asia, Ma Chung University, Malang, p: 73-78.
- Heriyanto, Zaelanie, K., & Limantara, L. 2010. Studi Kandungan Fukosantin Lima Jenis Rumput Laut Cokelat Di Perairan Madura. Prosiding Seminar Nasional Tahunan VII Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 24 Juli.
- Herring, P.J., Campbell, A.K., Whitfield, M., & Maddock, L. 1990. Light and Life in The Sea. Cambridge University Press. Melbourne, Australia.
- Indrawati, R., Heriyanto, Limantara, L., & Susanto, A. 2010. Study of pigments distribution in the stem, leaf and vesicle of *Sargassum filipendula* C. Agardh, *Sargassum polycystum* C. Agardh and other *Sargassum* spp. from Madura waters by high performance liquid chromatography. *Proceedings of Natural Pigments Conference for South East Asia*, Ma Chung University, Malang, p: 225-230.
- Jeffrey, S.W., & Hallegraef, G.M. 1987. Chlorophyllase distribution in ten classes of phytoplankton: a problem for chlorophyll analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 35: 293-304.
- Kadi, A. 2008. *Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia*. Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta.
- Li, W.K.W. 1986. *Experimental approaches to field measurements: methods and interpretation*. In: Platt, T., & Li, W.K.W. (Eds). *Photosynthetic Picoplankton*. Dept. Fish and Ocean, Ottawa. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 214: 251-286.
- Limantara, L., & Rahayu, P. 2008. *Sains dan Teknologi Pigmen Alami*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Pigmen Alami, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, p: 2-42.
- Mabeau, S., & Fleurence, J. 1993. Seaweed in food products: Biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 4: 103-107.
- Malta, M., Rijstenbil, J.W., Brouwer, P.E.M., & Kromkamp, J.C. 2003. Vertical heterogeneity in physiological characteristics of *Ulva* spp. mats. *Mar. Biol.*, 143: 1029-1038.
- Mantoura, R.F.C., & Llewellyn, C.A. 1983. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reversephase high-performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 151: 297-314.
- Matsuno, T. 2001. Aquatic animal carotenoids. *Fisheries Science*, 67: 771-783.
- Nurchayanti, A.D.R., & Limantara, L. 2007. Fotodegradasi ekstrak kasar, klorofil a dan fucoxanthin *Padina australis* dan *Dictyota crenulata*. Prosiding Seminar Nasional Pigmen, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, p: 243-260.
- Ort, R.R., & Yokehn, C.F. 1996. *Advances in Photosynthesis Vol 4: Oxygenic photosynthesis: The light reactions*. Kluwer Academic Publishers, London. p: 682.
- Palermo, J.A., Gros, G.E., & Seldes, A.M. 1991. Carotenoids from three red algae of the Corallinaceae. *Phytochemistry*, 30: 2983-2986.
- Pangestuti, R., Limantara, L., & Susanto, A. 2007. Kandungan dan aktivitas antioksidan fukosantin *Sargassum polycystum* C. A. Agardh. Prosiding Seminar Nasional Pigmen, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, p: 220-228.
- Ramus, J., Beale, S.I., Mauzerall, D., & Haward, K.L. 1976. Changes in photosynthetic pigment

concentration in seaweeds as a function of water depth. *Mar. Biol.*, 37:223-229.

Seely, G.R., Duncan, M.J., & Vidaver, W.E. 1972. Preparative and analytical extraction of brown algae with dimethyl sulfoxide. *Marine Biology*, 12: 184-188.

Susanto, A.B. 2008. Apa Yang Terdapat Dalam Rumput Laut. <http://www.dkp.go.id> diakses 29 April 2008.

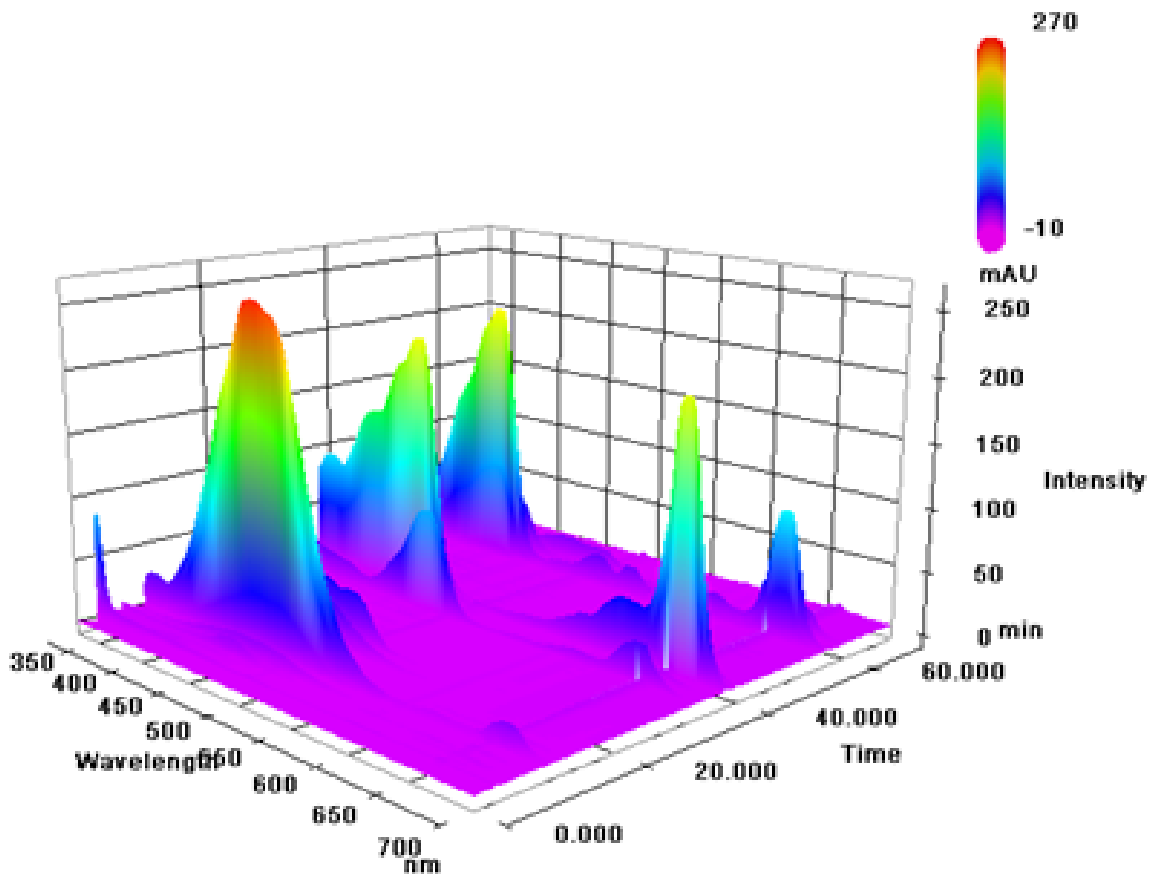
Suzuki, R., & Fujita, Y. 1986. Chlorophyll decomposition in *Skeletonema costatum*: a problem in chlorophyll determination of water samples. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 28: 81-85.

Van Heukelem, L., Lewitus, A.L., Kana, T.M., & Craft, N.E. 1994. Improved separations of phytoplankton pigments using temperature-controlled High-Performance Liquid Chromatography. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 114: 303-313.

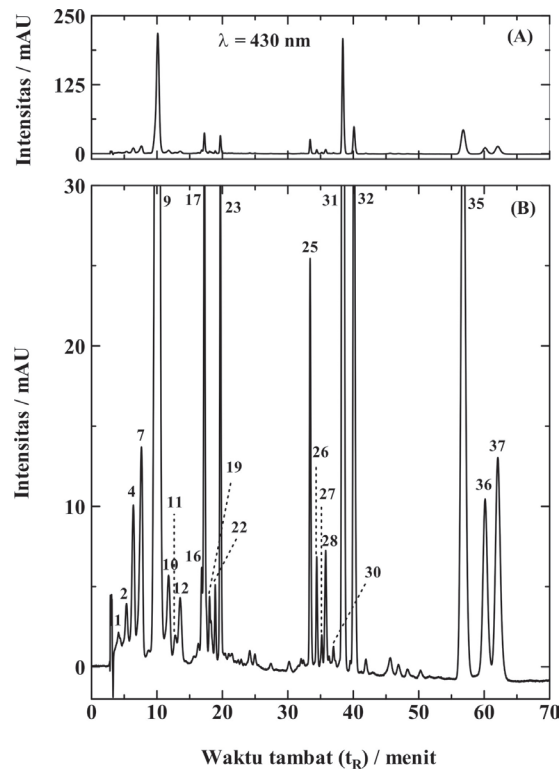
Watanabe, T., Nakazato, M., Mazaki, H., Hongu, A., Konno, M., Saitoh, S., & Honda, K. 1985. Chlorophyll *a* epimer and pheophytin *a* in green leaves. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 807(2): 110-117.

Weedon, B.C.L., & Moss, G.P. 1995. Chapter 3. Structure and Nomenclature. In: Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H (Eds). *Carotenoids. Volume 1A: Isolation and Analysis*. Birkhauser Verlag, Basel. p: 34.

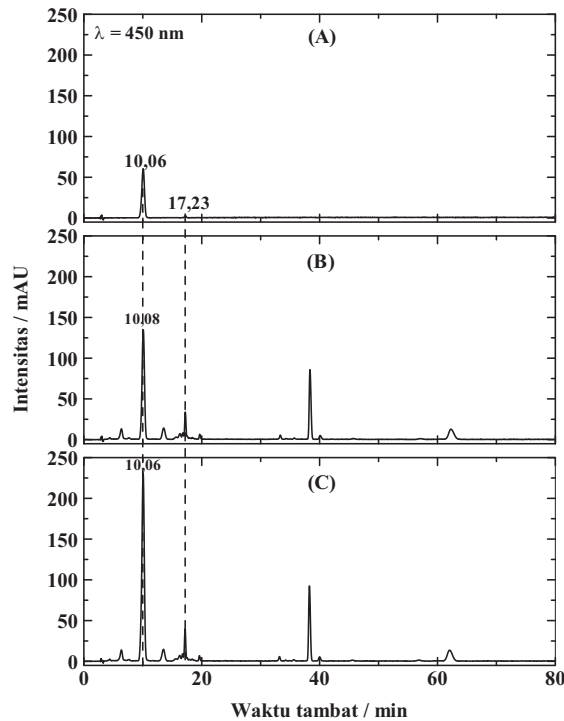
Zemke-White, L.W., & Ohno, M. 1999. World seaweed utilization: an end of century summery. *J. Appl. Phycol.*, 11: 369-376.



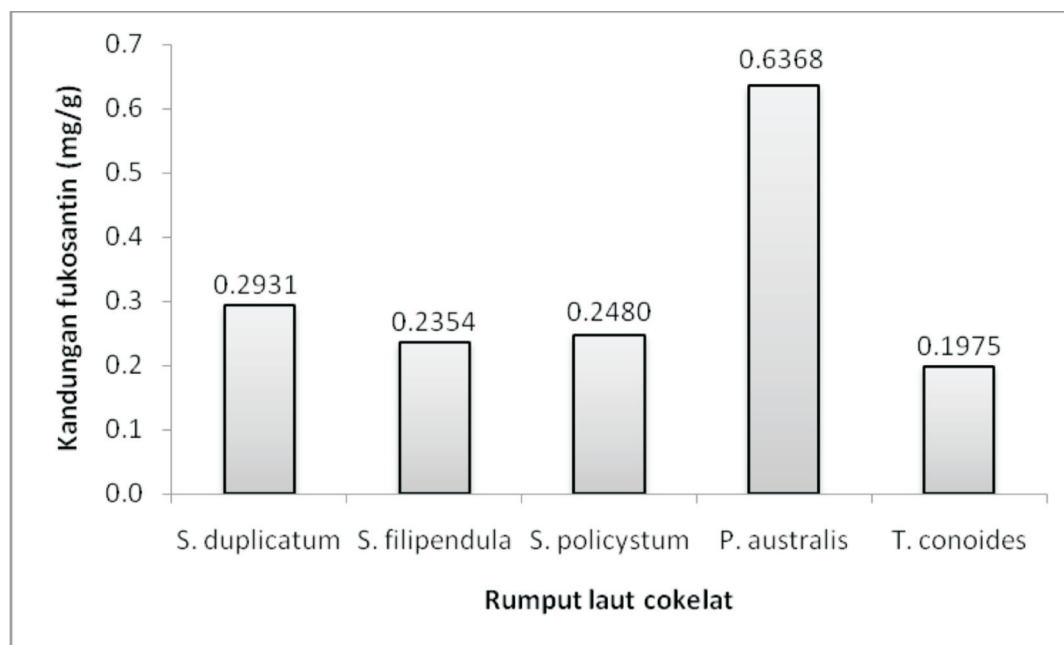
Gambar 1. Kromatogram KCKT 3 dimensi dari ekstrak kasar pigmen *S. filipendula*.



Gambar 2. Kromatogram KCKT ekstrak kasar pigmen *S. filipendula* yang dideteksi pada 430 nm dengan skala intensitas awal (A) dan skala intensitas yang telah diperkecil (B). Nomor puncak menandakan setiap pigmen pada Tabel 2.



Gambar 3. Kromatogram KCKT fukosantin standar (A), ekstrak kasar pigmen *S. filipendula* (B) dan ko-kromatografi fukosantin standar dan ekstrak kasar pigmen *S. filipendula* (C) yang dideteksi pada 450 nm.



Gambar 4. Kandungan fukosantin (mg/g berat basah) 5 jenis rumput laut cokelat

Tabel 1. Sistem elusi gradien dari aseton (A), metanol (B) dan amonium asetat (1M) (C) dalam pemisahan pigmen dari rumput laut cokelat (Hegashi et al., 1998 yang dimodifikasi)

Waktu (menit)	A (%)	B (%)	C (%)
0 – 10	80	10	10
10 – 25	80	16	4
25 – 45	80	20	0
45 – 65	80	20	0
65 – 70	70	30	0

Tabel 2. Daftar pigmen dan keberadaan setiap pigmen yang dideteksi pada 430 nm dari 5 jenis rumput laut cokelat (A = *S. duplicatum*, B = *S. filipendula*, C = *S. polycystum*, D = *P. australis*, E = *T. conoides*). + = terdapat pigmen; - = tidak terdapat pigmen.

No	t_R (min)	Pigmen	λ_{maks} (nm)	A	B	C	D	E
1	4,16	golongan klorofil	400, 662	+	+	+	+	+
2	5,36	klorofilid <i>a</i>	430, 666	+	+	-	+	+
3		golongan karotenoid	338, 355, 376	-	-	-	-	-
4	6,42	klorofil <i>c₁</i>	443, 633	+	+	+	+	+
5	6,97	golongan karotenoid	415, 443, 469	-	-	-	-	+
6	7,62	golongan klorofil	446, 667	+	+	+	-	-
7	7,65	golongan klorofil	417, 668	-	-	-	+	-
8	8,97	golongan karotenoid	, 446, 477	-	-	-	+	-
9	10,11	isomer <i>trans</i> fukosantin	450	+	+	+	+	+
10	11,76	neoxantin	411, 436, 467	+	+	-	-	-
11	12,78	golongan klorofil	408, 668	-	+	+	-	-
12	13,53	violaxantin	416, 440, 469	+	+	-	+	+
13	15,88	flavoxantin	400, 423, 450	+	-	-	+	-
14	16,33	fukoxantol	400, 423, 448	+	+	-	+	+
15	16,82	golongan karotenoid	381, 401, 426	+	+	+	+	-
16	16,87	isomer <i>cis</i> fukosantin	, 445, 470	-	-	-	-	+
17	17,24	isomer <i>cis</i> fukosantin	443	+	+	+	+	+
18	17,64	anteraxantin	, 445, 470	-	-	-	+	+
19	18,04	golongan karotenoid	381, 401, 426	+	+	+	+	-
20	18,25	golongan karotenoid	400, 426, 452	+	+	-	-	-
21	18, 49	golongan karotenoid	, 431, 462	-	-	-	-	+
22	18,90	β -kriptoxantin	430, 452, 476	+	+	+	+	+
23	19,68	zeaxantin	, 451, 477	+	+	+	+	+
24	32,17	golongan klorofil	430, 666	-	-	-	+	-
25	33,40	klorofil <i>b</i>	467, 453	+	+	+	-	-
26	34,40	klorofil <i>b'</i>	467, 652	+	+	+	-	-
27	35,18	golongan klorofil	420, 657	+	+	-	+	-
28	35,78	golongan klorofil <i>a</i>	432, 665	+	+	+	+	+
29	36,34	golongan klorofil <i>a</i>	432, 666	-	-	-	+	-
30	36,97	golongan klorofil	420, 657	+	+	-	+	-
31	38,39	klorofil <i>a</i>	432, 665	+	+	+	+	+
32	40,10	klorofil <i>a'</i>	432, 666	+	+	+	+	+
33	48,29	golongan feofitin <i>a</i>	408, 666	+	+	-	+	-
34	50,26	golongan feofitin <i>a</i>	408, 665	-	+	-	+	-
35	56, 79	feofitin <i>a</i>	408, 666	+	+	+	+	+
36	60,14	feofitin <i>a'</i>	408, 666	+	+	+	+	+
37	62,08	β -karoten	, 452, 478	+	+	+	+	+