

## Optimasi Proses Ekstraksi Fukosantin Rumput Laut Coklat *Padina australis* Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar

Leenawaty Limantara<sup>1,2\*</sup> dan Heriyanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung

<sup>2</sup> Teknik Industri, Universitas Ma Chung. Jl. Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151 Jawa Timur, Indonesia

e-mail: \*leenawaty.limantara@machung.ac.id

### Abstrak

Rumput laut coklat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat Indonesia. Warna rumput laut coklat berasal dari salah satu pigmen dominan yang terdapat dalam rumput laut ini yaitu fukosantin, yang bermanfaat sebagai anti-kanker dan anti-obesitas. Penelitian mengenai proses optimasi ekstraksi fukosantin pada rumput laut coklat belum banyak dilakukan, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan pelarut organik polar yang dapat mengekstrak fukosantin secara optimal. Fukosantin diekstraksi dari *Padina australis* Hauck menggunakan lima jenis pelarut organik polar, yaitu: aseton, asetonitril, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol dan metanol. Berdasarkan hasil analisis spektrometri, nilai absorbansi pada panjang gelombang serapan maksimum ( $\lambda_{\text{mak}}$ ) fukosantin dari spektra serapan ekstrak kasar pigmen, *Padina australis* Hauck yang diekstraksi dengan pelarut metanol memiliki nilai absorbansi relatif tinggi yaitu 0,9338 hampir sama ketika DMSO dan etanol digunakan sebagai pelarut ekstraksi. Hasil ini diperkuat oleh hasil analisis kandungan fukosantin dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dimana kandungan fukosantin mencapai 2,6049 mg/g berat kering dengan pelarut metanol dan kandungan fukosantin ini lebih tinggi 1,08-1,71 kali dibandingkan menggunakan pelarut organik polar lainnya. Kemurnian fukosantin dapat ditentukan berdasarkan nilai persentase luas puncak fukosantin (isomer cis dan trans fukosantin) terhadap luas dari seluruh puncak pigmen yang dapat dipisahkan pada kromatogram KCKT. Pelarut metanol memiliki nilai persentase luas puncak fukosantin relatif tinggi yaitu 60,11%. Berdasarkan hasil penelitian ini maka metanol merupakan pelarut yang terbaik untuk mengekstrak fukosantin dari *Padina australis* Hauck.

**Kata kunci:** pelarut organik polar, ekstraksi, kandungan fukosantin, *Padina australis* Hauck

### Abstract

Brown seaweed, is one of marine natural resources, grows naturally and abundantly at Indonesian coastal waters, and yet Indonesians have not utilized it optimally. The color of brown seaweed ascribes to one kind of dominant pigments that this seaweed contains, namely fucoxanthin. Fucoxanthin has potent beneficial effects on human health, such as anti-cancer and anti-obesity properties. However, the research concerning the optimization of fucoxanthin extraction on brown seaweed has not been much done. Therefore, the purpose of this research is to determine the polar-organic solvent that can optimally extract fucoxanthin. Fucoxanthin was extracted from *Padina australis* Hauck by using various polar-organic solvents (such as acetone, acetonitrile, dimethyl sulfoxide (DMSO), ethanol and methanol). The result of spectrometry analysis, absorbance values at maximum absorption wavelength ( $\lambda_{\text{mak}}$ ) of fucoxanthin from absorption spectra of pigment-crude extracts, showed that *Padina australis* Hauck extracted by methanol solvent has a relatively high absorbance value, i.e. 0.9338. This absorbance value was almost of the same value when DMSO and ethanol solvents are used as extraction solvent. This result supported the result of fucoxanthin content analysis by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), where fucoxanthin content was 2.6049 mg/g dry weight and this fucoxanthin content is 1.08-1.71 times higher when another polar-organic solvent was applied. The purity of fucoxanthin can be determined from area percentage of fucoxanthin peaks (cis and trans isomers fucoxanthin) toward the area of all pigments peaks that could be separated on HPLC chromatogram. Methanol solvent has a high area percentage value of 60.11%. Based on these experimental results, it can be claimed that methanol solvent is the best solvent for fucoxanthin extraction from brown seaweed *Padina australis* Hauck.

**Key words:** polar-organic solvent, extraction, fucoxanthin content, *Padina australis* Hauck

## Pendahuluan

Rumput laut coklat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang keberadaannya sangat melimpah dan tumbuh secara alami di perairan pantai Indonesia khususnya di perairan Madura, namun potensi ini belum dimanfaatkan secara optimal. Pada umumnya rumput laut coklat mengandung tiga jenis hidrokoloid, yaitu: agar-agar, alginat dan karagenan (Bixler & Porse, 2010) yang digunakan sebagai bahan baku dalam industri makanan, kosmetik dan obat-obatan (Gerasimenko et al., 2010).

Warna rumput laut coklat dipengaruhi oleh komposisi dan kandungan pigmen yang tersusun didalamnya, dimana komposisi pigmen dari masing-masing jenis rumput laut coklat berbeda. Hegazi et al. (1998) berhasil memisahkan 14 jenis pigmen dari *Padina pavonica* menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), sedangkan 27 jenis pigmen dipisahkan dari *Padina australis* (Limantara & Heriyanto, 2010). Pigmen penyusun pada rumput laut coklat berasal dari golongan klorofil dan turunannya, golongan karotenoid polar (ksantofil), serta golongan karotenoid non polar (karoten). Klorofil *a*, pigmen berwarna hijau kebiruan, merupakan pigmen utama dalam proses fotosintetik dari tumbuhan, termasuk didalamnya rumput laut coklat, sedangkan karotenoid hanya sebagai pigmen pelengkap. Haugan et al. (1995) dan Matsuno (2001) menyatakan bahwa fukosantin merupakan karotenoid utama yang terdapat dalam rumput laut coklat dan warna coklat pada rumput laut ini berasal dari fukosantin (Wehr, 2003).

Fukosantin menarik untuk diteliti karena bermanfaat bagi kesehatan manusia. Fukosantin memiliki kemampuan sebagai anti karsinogenik (Kim et al., 1998), anti peradangan (Kim et al., 2010b), melindungi sel terhadap bahan-bahan berbahaya (misal: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Heo et al., 2008) dan penangkal radikal bebas atau sebagai antioksidan (Sachindra et al., 2007; Sukoso et al., 2010). Fukosantin berperan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker pada hati (Liu et al., 2009), payudara (Teas, 1983), usus besar (Nakazawa et al., 2009), prostat (Nakazawa et al., 2009), paru-paru (Moreau et al., 2006), kelenjar getah bening (Yamamoto et al., 2011), lambung (Yu et al., 2010) dan sel darah putih atau leukimia (Kim et al., 2010a) melalui pengaruh mekanisme kematian sel terprogram (*apoptosis*). Fukosantin juga berfungsi sebagai antiobesitas dalam menghambat akumulasi lemak (Miyashita, 2009) dan anti-diabetes (Maeda et al., 2009). Lebih lanjut, fukosantin merupakan suplemen makanan kesehatan yang sangat baik dan

sebagai kandidat obat potensial dalam pencegahan kanker (Wang et al., 2005). Sebagai suplemen makanan kesehatan, fukosantin telah terbukti tidak memiliki sifat toksik (Kadekaru et al., 2008).

Proses ekstraksi karotenoid, pada umumnya, melalui tahapan penggerusan sampel segar dan diikuti oleh ekstraksi dengan pelarut yang dapat bercampur dengan air yaitu aseton atau etanol atau metanol (Delgado-Vargas et al., 2000; Mori et al., 2004). Fukosantin merupakan karotenoid dominan dan bersifat polar sehingga pelarut organik polar umum digunakan dalam proses ekstraksi rumput laut coklat, karena efisiensi proses ekstraksi sangat ditentukan oleh struktur kimia dari setiap karotenoid yang terdapat dalam sampel tersebut (Ishida et al., 2001). Ada beberapa pelarut organik polar yang sudah digunakan dalam ekstraksi fukosantin dari rumput laut coklat antara lain: aseton (Hegazi et al., 1998; Limantara & Heriyanto, 2010), aseton-metanol (Haugan et al., 1992; Haugan & Liaen-Jensen, 1992), etanol (Kanazawa et al., 2008; Roh et al., 2008), metanol (Kanazawa et al., 2008), DMSO (Seely et al., 1972; Wang et al., 2005), sedangkan Spektrofotometer UV-Tampak (Seely et al., 1972; Wang et al., 2005; Heriyanto et al., 2010) dan KCKT (Kanazawa et al., 2008; Roh et al., 2008; Limantara & Heriyanto, 2010) merupakan dua metode analitik yang biasa digunakan dalam penentuan kandungan fukosantin.

Meskipun penelitian fukosantin sudah banyak dilakukan namun proses optimasi ekstraksi fukosantin dari *Padina australis* Hauck dengan berbagai jenis pelarut organik polar, dimana lama waktu dan pengulangan ekstraksi, volume pelarut, serta metode penentuan kandungan fukosantin untuk setiap pengujian dibuat sama, belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang di atas maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan pelarut organik polar yang dapat mengekstrak fukosantin dari *Padina australis* Hauck secara optimal.

## Materi dan Metode

*Padina australis* Hauck, telah diidentifikasi oleh Pusat Penelitian Oseanografi - LIPI, diperoleh dari Desa Ponjuk, Pulau Talango, Sumenep, Madura. Penelitian dilakukan di laboratorium preparasi dan analisis Ma Chung Reseach Center for Photosynthetic Pigments (MRCPP), Universitas Ma Chung, Malang.

### Ekstraksi pigmen

Satu gram *Padina australis* Hauck dipotong kecil-kecil dan ditambah dengan CaCO<sub>3</sub> sebagai agen

penetrasi serta sodium L. askorbat sebagai antioksidan (seujung spatula kecil), kemudian ditumbuk sampai halus. Sampel diekstraksi dengan 10 mL pelarut organik polar, yaitu: aseton, asetonitril, DMSO, etanol, dan metanol, selama 20 menit (2 kali ekstraksi) dengan kecepatan 250 rpm (MR Hei-Standard, Heidolph) (Limantara & Heriyanto, 2010). Ekstrak pigmen yang diperoleh kemudian dipartisi dengan dietil eter dan etil asetat (1:1, v/v) dan ditambah dengan larutan saturasi garam serta air keran sampai terjadi pemisahan. Lapisan atas mengandung ekstrak pigmen ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Laborta 4010 digital, Heidolph) serta dikeringkan dengan gas argon (UHP).

### Analisa optimasi ekstraksi fukosantin

#### Spektroskopi

Ekstrak pigmen kering dilarutkan dengan 125 mL aseton, kemudian ekstrak pigmen diukur spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Tampak, UV-1700 (Shimadzu, Kyoto) pada panjang gelombang 300-800 nm dengan lebar kuvet adalah 1 cm.

#### KCKT

Kandungan fukosantin dianalisa dengan menggunakan KCKT LC-20AD (Shimadzu, Kyoto) yang dilengkapi dengan *photodiode array detektor* (PDA) SPD-M20A, kolom Shim-Pack VP-ODS C-18 (4,6 × 250 mm, diameter × panjang) dengan ukuran partikel silika 4,6 µm yang dilindungi oleh kolom pelindung (*guard column*) berdasarkan metode Hegazi et al. (1998) yang telah dimodifikasi. Ekstrak 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. 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) (Limantara & Heriyanto, 2010).

### Analisa data

Kandungan fukosantin dalam satuan mg/g berat kering dihitung berdasarkan luas puncak fukosantin (isomer *trans* dan *cis* fukosantin) dari kromatogram KCKT yang dideteksi pada panjang gelombang 450 nm melalui persamaan garis kurva standar fukosantin (Limantara dan Heriyanto, 2010) yang telah dimodifikasi ke dalam persamaan garis polinomial dengan derajat tiga menggunakan metode pencocokan kurva. Persamaan garis polinomial ini dibuat menggunakan *software* Plots32 (*software* Plots32 dibuat oleh Akifumi Ikehata, NFRI, Tsukuba, Jepang). Persamaan garis fukosantin standar antara

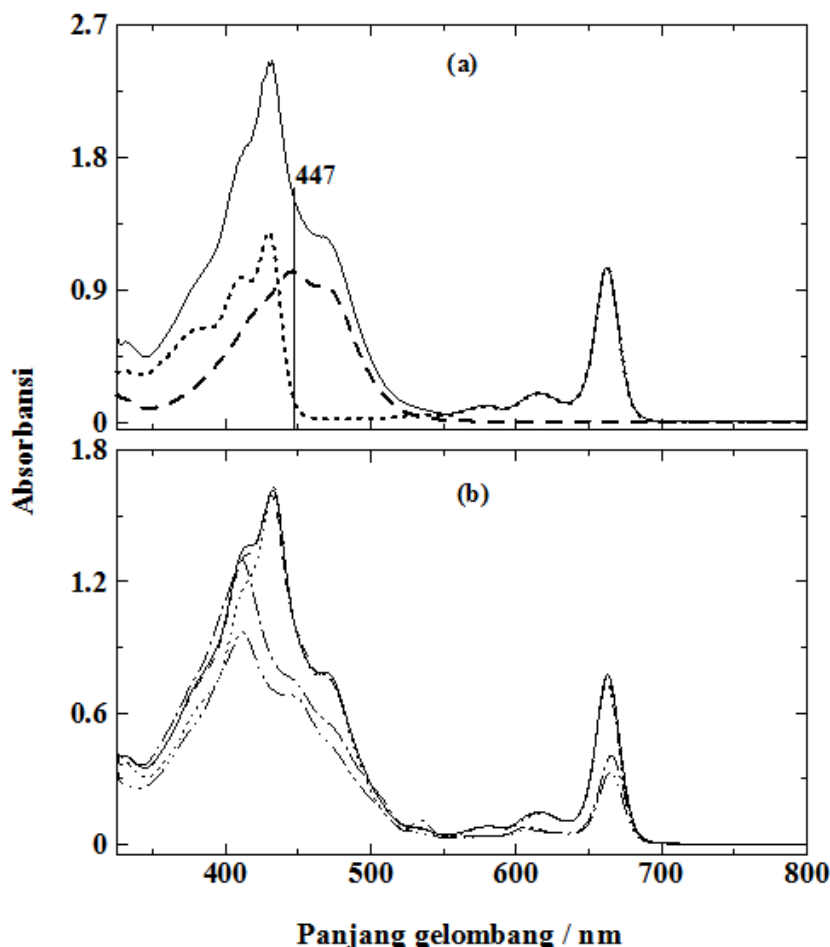
luas puncak fukosantin (X) dan kandungan fukosantin (Y) adalah sebagai berikut:  $Y = ((7,7090 \times 10^{-21} \times (X^3)) + (-2,9143 \times 10^{-13} \times (X^2)) + (9,6594 \times 10^{-6} \times (X)) - 6,9586)$

## Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian Limantara & Heriyanto (2010) menunjukkan bahwa *Padina australis* Hauck memiliki kandungan fukosantin tertinggi, yaitu 0,6368 mg/g berat basah, jika dibandingkan dengan 4 jenis rumput laut coklat lainnya, *Turbinaria conoides*, *Sargassum duplicatum*, *Sargassum polycystum* dan *Sargassum filipendula*, yang tumbuh di Pulau Talango, Madura yaitu 2,17 sampai 3,22 kali lipatnya, sehingga rumput laut yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini adalah *Padina australis* Hauck dalam kondisi segar, meskipun Haugan & Liaaen-Jensen (1989) menyatakan bahwa untuk mempercepat proses ekstraksi dan isolasi fukosantin lebih baik menggunakan rumput laut coklat yang sudah dikeringkan dan dibuat serbuk, namun kandungan ksantofil termasuk didalamnya fukosantin, akan mengalami penurunan jika rumput laut tersebut dikeringkan terlebih dahulu. Hasil penelitian ini menunjukkan proses pengeringan sampel akan menyebabkan fukosantin terdegradasi karena fukosantin sangat sensitif terhadap proses oksidasi (Terao, 1994) serta tidak stabil terhadap proses termal (Heriyanto & Limantara, 2010).

Spektra serapan klorofil a, fukosantin, campuran klorofil a dan fukosantin serta ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck yang diekstraksi dengan berbagai jenis pelarut organik polar dalam pelarut aseton ditunjukkan pada Gambar 1. Klorofil a dan fukosantin merupakan pigmen dominan pada rumput laut coklat (Indrawati et al., 2010) sehingga spektra serapan ekstrak kasar pigmen dari *Padina australis* Hauck (Gambar 1b) relatif sama dengan spektrum serapan campuran klorofil a dan fukosantin (Gambar 1a) meskipun berdasarkan komposisi pigmen, ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck terdiri atas 15 jenis pigmen golongan klorofil dan 12 jenis pigmen golongan karotenoid (Limantara & Heriyanto, 2010).

Spektrum serapan campuran klorofil a dan fukosantin berasal dari gabungan antara spektrum serapan klorofil a dan spektrum serapan fukosantin.  $\lambda_{\text{mak}}$  fukosantin yaitu pada 447 nm, sedangkan  $Q_y$  klorofil a pada 661 nm. Kedua puncak serapan tersebut tidak saling tumpang tindih antara kedua spektrum serapan, sehingga dapat digunakan dalam penentuan tinggi rendahnya kandungan fukosantin berdasarkan nilai absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$  fukosantin, sedangkan kemurnian fukosantin dapat ditentukan berdasarkan nilai rasio antara absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$



**Gambar 1.** Spektra serapan UV-Tampak (a) klorofil a (— · — ·), fukosantin (— · — ·), campuran fukosantin dan klorofil a (— · — ·) dan (b) ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck dengan berbagai jenis pelarut ekstraksi: metanol (— · — ·), etanol (— · — ·), DMSO (— · — ·), asetoneitril (— · — ·), dan aseton (— · — ·) dalam pelarut aseton.

**Tabel 1.** Nilai absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$  fukosantin dan nilai rasio antara absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$  fukosantin dan absorbansi  $Q_y$  klorofil a dari spektra serapan ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck yang diekstrak dengan berbagai jenis pelarut organik polar.

Serapan	Absorbansi				
	Metanol	Etanol	DMSO	Asetoneitril	Aseton
Fukosantin ( $\lambda_{\text{mak}}$ )	0,9388	0,9558	0,9396	0,7282	0,6676
Klorofil a (pita $Q_y$ )	0,7775	0,7632	0,7283	0,4046	0,3290
Nilai Rasio	1,3048	1,3285	1,4006	1,8519	2,0674

fukosantin dan absorbansi  $Q_y$  klorofil a dari spektra serapan ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck yang diekstrak dengan berbagai jenis pelarut organik polar diperlihatkan pada Tabel 1.

Nilai absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$  fukosantin dapat digunakan untuk memperkirakan kandungan fukosantin berdasarkan hukum *Lambert-Beer*, meskipun nilai absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$  tersebut tidak hanya berasal dari serapan fukosantin tetapi juga dari senyawa karotenoid lainnya. Berdasarkan nilai

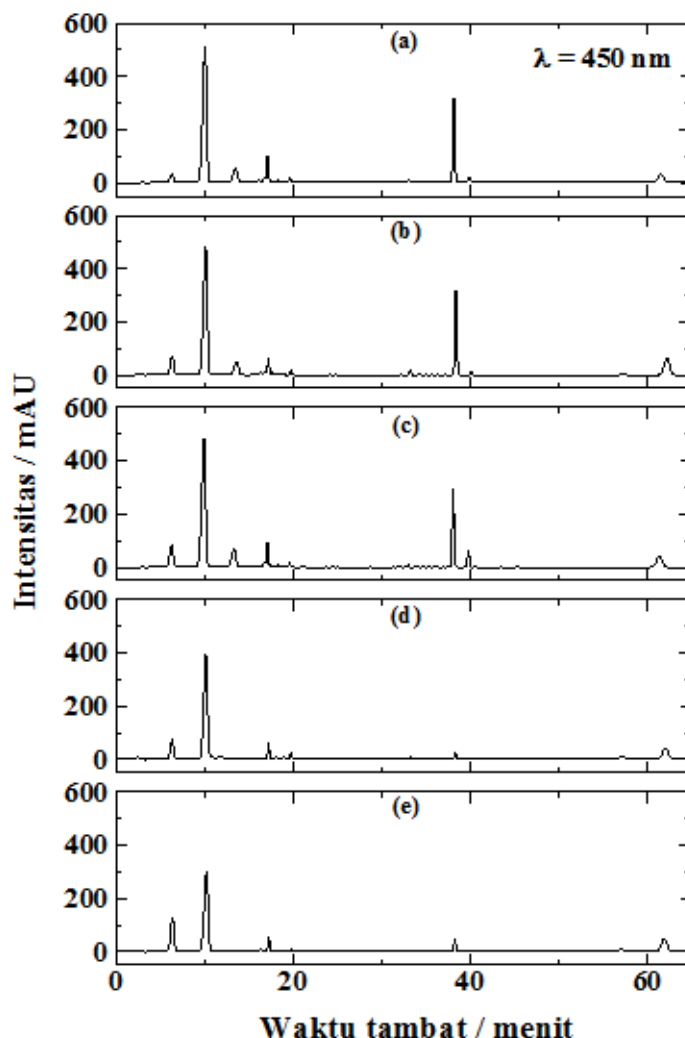
absorbansi pada  $\lambda_{\text{mak}}$  fukosantin, maka proses ekstraksi dengan pelarut etanol mampu mengekstrak fukosantin paling banyak diikuti oleh DMSO dan metanol, dimana ketiga pelarut ini memiliki absorbansi yang relatif hampir sama, sedangkan proses ekstraksi dengan pelarut aseton dan asetoneitril memiliki kemampuan untuk mengekstrak fukosantin yang lebih rendah kira-kira 0,77-0,83 kalinya. Kemurnian fukosantin dapat dilihat dari nilai rasio antara absorbansi fukosantin dan klorofil a, dimana pelarut metanol, etanol dan DMSO memiliki nilai rasio yang

lebih tinggi yaitu 2,0674 dan 1,8519, secara berturut-turut. Nilai rasio yang lebih tinggi menandakan pelarut tersebut dapat mengekstrak secara efisien golongan karotenoid khususnya fukosantin dibandingkan klorofil, namun perlu dipertimbangkan juga kuantitas fukosantin yang dapat diekstrak.

Hasil proses optimasi ekstraksi fukosantin berdasarkan analisa spektra serapan dapat diperkuat dan dikoreksi dengan hasil analisa KCKT, karena analisa KCKT dapat memisahkan setiap pigmen yang terdapat pada ekstrak kasar pigmen sehingga penentuan tinggi rendahnya kandungan fukosantin dan efisiensi proses ekstraksi fukosantin terhadap pigmen lain berdasarkan prosentase luas puncak dapat ditentukan dengan akurat. Kromatogram KCKT ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck yang diekstraksi dengan berbagai jenis pelarut organik

polar dapat dilihat pada Gambar 2. Sedangkan hasil analisa KCKT berupa waktu tambat, luas dan prosentase luas puncak fukosantin yang dideteksi pada panjang gelombang 450 nm serta kandungan fukosantin dari *Padina australis* Hauck dengan berbagai jenis pelarut ekstraksi dilihat pada Tabel 2.

Luas puncak dari 3 jenis fukosantin, yaitu all-trans fukosantin, 9'-cis fukosantin serta 13'- dan 13-cis fukosantin, digunakan dalam perhitungan prosentase luas puncak fukosantin dari seluruh puncak pigmen yang dapat dipisahkan pada kromatogram KCKT dan kandungan fukosantin berdasarkan persamaan garis fukosantin standar. Prosentase luas puncak fukosantin dengan pelarut ekstraksi metanol, etanol, DMSO, asetonitril, dan aseton adalah 60,11%; 52,83%; 54,05%; 65,13%; 54,28% secara berturut-turut, sedangkan urutan kandungan fukosantin (mg/g berat



**Gambar 2.** Kromatogram KCKT ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck yang diekstraksi dengan berbagai jenis pelarut organik polar yaitu (a) metanol, (b) etanol, (c) DMSO, (d) asetonitril dan (e) aseton (dideteksi pada panjang gelombang 450 nm).

**Tabel 2.** Luas dan persentase luas puncak fukosantin yang dideteksi pada panjang gelombang 450 nm serta kandungan fukosantin (mg/g berat kering) dari *Padina australis* Hauck pada berbagai jenis pelarut ekstraksi.

t <sub>R</sub> (menit)		10,14	16,82	17,25
Pigmen <sup>a</sup>		<i>trans</i> fukosantin	9'- <i>cis</i> fukosantin	13- dan 13'- <i>cis</i> fukosantin
λ <sub>mak</sub> (nm) <sup>b</sup>		450	445	443
Metanol	luas <sup>c</sup>	16557002	266078	1517742
	kandungan <sup>d</sup>		2,6049	
	% luas <sup>c</sup>		60,11	
Etanol	luas <sup>c</sup>	15233573	210557	932523
	kandungan <sup>d</sup>		2,3263	
	% luas <sup>c</sup>		52,83	
DMSO	luas <sup>c</sup>	15164121	281889	1471963
	kandungan <sup>d</sup>		2,4013	
	% luas <sup>c</sup>		54,05	
Asetonitril	luas <sup>c</sup>	12247969		821251
	kandungan <sup>d</sup>		1,8865	
	% luas <sup>c</sup>		65,13	
Aseton	luas <sup>c</sup>	9534058		781667
	kandungan <sup>d</sup>		1,5259	
	% luas <sup>c</sup>		54,28	

- a. Identifikasi isomer *trans* dan *cis* fukosantin berdasarkan hasil penelitian Heriyanto & Limantara (2010)
- b. Serapan maksimum setiap puncak fukosantin dalam pelarut yang digunakan pada analisa KCKT
- c. Luas dan persentase luas puncak isomer *trans* serta *cis* fukosantin dideteksi pada panjang gelombang 450 nm.
- d. Kandungan fukosantin dalam satuan mg/g berat kering.

kering) dari yang tertinggi sampai yang terendah adalah sebagai berikut: metanol (2,6049) > DMSO (2,4013) > etanol (2,3263) > asetonitril (1,8865) > aseton (1,5259).

Berdasarkan hasil analisa spektroskopi dan KCKT yaitu nilai absorbansi pada λ<sub>mak</sub> fukosantin dan kandungan fukosantin dari ekstrak kasar pigmen *Padina australis* Hauck menunjukkan bahwa pelarut metanol, etanol dan DMSO dapat mengekstrak fukosantin lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut asetonitril dan aseton, dan metanol merupakan pelarut yang dapat mengekstrak fukosantin paling tinggi. Hasil penelitian ini didukung oleh Kanazawa et al. (2008) dimana pelarut metanol dapat mengekstrak fukosantin dari rumput laut coklat *Laminaria japonica* tertinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya, seperti: aseton, 80% metanol, heksana, serta campuran heksana dan etanol (50:50, v/v), yaitu sebesar 19,1 mg/100 g berat basah sedangkan pelarut etanol memiliki kemampuan yang hampir sama dengan metanol. Das et al. (2005) menyatakan bahwa metanol dikenal menjadi pelarut terbaik untuk ekstraksi fukosantin dari rumput laut coklat segar. Metanol merupakan salah satu pelarut organik yang dapat bercampur dengan air dan secara umum digunakan dalam proses ekstraksi karotenoid serta klorofil dari sampel biologis (Schiedt & Liaaen-Jensen, 1995), misalnya: alga *Dunaliella salina* (Macias-Sanchez et al., 2009), sayuran (Gokmen et al., 2002) dan jus jeruk (Melendez-Martinez et al., 2003).

Penggunaan pelarut metanol untuk ekstraksi karotenoid dan klorofil ditemukan juga pada beberapa paten yang dikeluarkan oleh Amerika Serikat (U.S. Patent) (Kitaoka et al., 1997; Kagan & Braun, 2004; Hills, 1989; Van Keulen et al., 2010).

Selain itu, berdasarkan nilai rasio absorbansi serta persentase luas puncak fukosantin menunjukkan bahwa dengan pelarut metanol dapat mengekstrak fukosantin relatif optimal atau lebih efektif dibandingkan dengan pelarut organik polar lainnya seperti DMSO yang telah dikenal sebagai pelarut ekstraksi fukosantin. DMSO telah digunakan dalam proses ekstraksi fukosantin yang lebih efektif dibandingkan pelarut aseton, dimana dengan pelarut DMSO dapat mengekstrak fukosantin dari *Laminaria japonica* Aresch sebesar 0,0648 mg/g dengan kemurnian 0,63 sedangkan kandungan fukosantin dengan pelarut aseton relatif sama yaitu 0,0654 mg/g namun kemurnian fukosantin lebih rendah yaitu 0,26 (Wang et al., 2005). Seely et al. (1972) menggunakan pelarut DMSO dalam proses ekstraksi dari rumput laut coklat dalam penentuan kandungan fukosantin dan pigmen lainnya secara spektroskopi.

### Kesimpulan

Pelarut metanol dapat mengekstrak fukosantin dari *Padina australis* Hauck lebih optimal daripada etanol, DMSO, asetonitril dan aseton

## Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh dana dari hibah kompetensi tahun ke-2 (Nomor: 388/SP2H/PL/ Dit. Litabmas/IV/2011), DP<sub>2</sub>M Dikti yang telah diterima oleh penulis.

## Daftar Pustaka

- Bixler, H.J., & Porse, H. 2010. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *J. Appl. Phycol.*, DOI 10.1007/s10811-010-9529-3.
- Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R., & Paredes-Lopez, O. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 40: 173-289.
- Gerasimenko, N.I., Busarova, N.G., & Moiseenko, O.P. 2010. Seasonal Changes in the Content of Lipids, Fatty Acids, and Pigments in Brown Alga *Costaria costata*. *Russian J. Plant Physiol.*, 57(2): 205-211.
- Gokmen, V., Bahceci, S., & Acar, J. 2002. Liquid chromatographic method for the determination of chlorophylls, carotenoids, and their derivatives in fresh and processed vegetables. *J. Liquid Chromatography and Related Technol.*, 25(8): 1201-1213.
- Haugan, J.A., Aakermann, T., & Liaaen-Jensen, S. 1992. Isolation of Fucoxanthin and Peridinin. *Methods In Enzymology*, 213: 231-245.
- Haugan, J.A., Aakermann, T., & Liaaen-Jensen, S. 1995. *Example 2: macroalgae and microalgae*. In: Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (Eds.), *Carotenoid. Volume 1A: Isolation and Analysis*, pp. 215-226. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.
- Haugan, J.A., & Liaaen-Jensen, S. 1989. Improved isolation procedure for fucoxanthin. *Phytochemistry*, 28(10): 2797-2798.
- Haugan, J.A., & Liaaen-Jensen, S. 1992. Naturally Occurring Stereoisomers of Fucoxanthin. *Phytochemistry*, 31(4): 1359-1361.
- 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. *J. Chromatography A*, 829: 153-159.
- Heo, S.-J., Ko, S.-C., Kang, S.-M., Kang, H.-S., Kim, J.-P., Kim, S.-H., Lee, K.-W., Cho, M.-G., & Jeon, Y.-J. 2008. Cytoprotective effect of fucoxanthin isolated from brown algae *Sargassum siliquastrum* against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell damage. *Eur. Food Res. Technol.*, 228: 145-151.
- Heriyanto & Limantara, L. 2010. Photo-Stability and Thermo-Stability Studies of Fucoxanthin Isomerization. *Dalam: Leenawaty Limantara, Heriyanto & Eugenius Sadtono (Ed.). Proceeding of Natural Pigments Conference for South East Asia*, Ma Chung University, Malang, p: 73-78.
- Heriyanto, Zaelaniek, K., & Limantara, L. 2010. Studi Kandungan Fukosantin dari Lima Jenis Rumput Laut Coklat di Perairan Madura. *Dalam: Amir Husni, Suadi & Indah Istiqomah (Ed.). Prosiding SemNas Tahunan VII pada hasil penelitian perikanan & kelautan*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 24 Juli. PP-09, p. 1-8.
- Hills, C.B., 1989. Extraction of anti-mutagenic pigments from algae and vegetables. *U.S. Patent*, 4,851,339.
- Indrawati, R., Heriyanto, Limantara, L., & Susanto, A.B. 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. In: Leenawaty Limantara, Heriyanto & Eugenius Sadtono (Eds.). *Proceeding of Natural Pigments Conference for South East Asia*, Ma Chung University, Malang, p: 225-230.
- Ishida, B.K., Ma, J.C., Chan, B.G., Bartley, G.E., & Grossman, J.N. 2001. A modified method for simple, rapid HPLC analysis of lycopene isomers. *Acta Horti*, 542: 235-242.
- Kadekaru, T., Toyama, H., & Yasumoto, T. 2008. Safety Evaluation of Fucoxanthin purified from *Undaria pinnatifida*. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 55(6): 304-308.
- Kagan, M., & Braun, S. 2004. Processes for extracting carotenoids and for preparing feed materials. *U.S. Patent*, 6,818,239 B2.
- Kanazawa, K., Ozaki, Y., Hashimoto, T., Das, S.K.,

- Matsushita, S., Hirano, M., Okada, T., Komoto, A., Mori, N., & Nakatsuka, M. 2008. Commercial-scale Preparation of Biofunctional Fucoxanthin from Waste Parts of Brown Sea Algae *Laminalia japonica*. *Food Sci. Technol. Res.*, 14(6): 573-582.
- Kim, J.M., Araki, S., Kim, D.J., Park, C.B., Takasuka, N., Baba-Toriyama, H., Ota, T., Nir, Z., Khachik, F., Shimidzu, N., Tanaka, Y., Osawa, T., Uraji, T., Murakoshi, M., Nishino, H., & Tsuda, H. 1998. Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2-dimethylhydrazine initiation. *Carcinogenesis*, 19: 81-85.
- Kim, K.-N., Heo, S.-J., Kang, S.-M., Ahn, G., & Jeon, Y.-J. 2010a. Fucoxanthin induces apoptosis in human leukemia HL-60 cells through a ROS-mediated Bcl-xL pathway. *Toxicology in Vitro*, 24: 1648-1654.
- Kim, K.-N., Heo, S.-J., Yoon, W.-J., Kang, S.-M., Ahn, G., Yi, T.-H., & Jeon, Y.-J. 2010b. Fucoxanthin inhibits the inflammatory response by suppressing the activation of NF- $\kappa$ B and MAPKs in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *European J. Pharmacology*, 649: 369-375.
- Kitaoka, M., Tsubokura, A., & Kiyota, T. 1997. Process for extraction of carotenoids from bacterial cells. *U.S. Patent*, 5,591,343.
- Limantara, L., & Heriyanto. 2010. Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Coklat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Ilmu Kelautan*, 15(1): 23-32.
- Liu, C.-L., Huang, Y.-S., Hosokawa, M., Miyashita, K., & Hua, M.-L. 2009. Inhibition of proliferation of a hepatoma cell line by fucoxanthin in relation to cell cycle arrest and enhanced gap junctional intercellular communication. *Chemico-Biological Interactions*, 182: 165-172.
- Macias-Sanchez, M.D., Mantell, C., Rodríguez, M., de la Ossa, E.M., Lubian, L.M., & Montero, O. 2009. Comparison of supercritical fluid & ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*. *Talanta*, 77: 948-952.
- Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Murakami-Funayama, K., & Miyashita, K. 2009. Anti-obesity *Molecular Medicine Reports*, 2: 897-902.
- Matsuno, T. 2001. Aquatic animal carotenoids. *Fisheries Science*, 67: 771-783.
- Melendez-Martinez, A.J., Vicario, I.M., & Heredia, F.J. 2003. A routine high-performance liquid chromatography method for carotenoid determination in ultrafrozen orange juices. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4219-4224.
- Miyashita, K. 2009. The carotenoid fucoxanthin from brown seaweed affects obesity. *Lipid Technology*, 21: 186-190.
- Moreau, D., Tomasoni, C., Jacquot, C., Kaas, R., Le Guedes, R., Cadoret, J.-P., Muller-Feuga, A., Kontiza, I., Vagias, C., Roussis, V., & Roussakis, C. 2006. Cultivated microalgae and the carotenoid fucoxanthin from *Odontella aurita* as potent anti-proliferative agents in bronchopulmonary & epithelial cell lines. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22: 97-103.
- Mori, K., Ooi, T., Hiraoka, M., Oka, N., Hamada, H., Tamura, M., & Kusumi, T. 2004. Fucoxanthin and its metabolites in edible brown algae cultivated in deep seawater. *Mar. Drugs*, 2: 63-72.
- Nakazawa, Y., Sashima, T., Hosokawa, M., & Miyashita, K. 2009. Comparative evaluation of growth inhibitory effect of stereoisomers of fucoxanthin in human cancer cell lines. *J. Functional Foods*, 1: 88-97.
- Roh, M.-K., Uddin, M.S., & Chun, B.-S. 2008. Extraction of Fucoxanthin and Polyphenol from *Undaria pinnatifida* Using Supercritical Carbon Dioxide with Co-solvent. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13: 724-729.
- Sachindra, N.M., Sato, E., Maeda, H., Hosokawa, M., Niwano, Y., Kohno, M., & Miyasitha, K. 2007. Radical Scavenging and Singlet Oxygen Quenching Activity of Marine Carotenoid Fucoxanthin and Its Metabolites. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 8516-8522.
- Schiedt, K., & Liaaen-Jensen, S. 1995. *Chapter 5. Isolation and Analysis*. In: Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (Eds.), *Carotenoid. Volume 1A: Isolation and Analysis*, pp. 81-107. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.
- Seely, G.R., Duncan, M.J., & Vidaver, W.E. 1972. Preparative and analytical extraction of brown



- Preparative and analytical extraction of brown algae with dimethyl sulfoxide. *Marine Biology*, 12: 184-188.
- Sukoso, Zaelanie, K., Setiyawan, D.A., Heriyanto, & Limantara, L. 2010. Antioxidant activity study of fucoxanthin and crude pigment extracts from three species of brown algae. Editors: L. Limantara, Heriyanto & E. Sadtono. Proceedings of Natural Pigments Conference for South East Asia, Ma Chung University, Malang, p: 244-249.
- Teas, J. 1983. The dietary intake of *Laminaria*, a brown seaweed, and breast cancer prevention. *Nutr. Cancer*, 4: 217-222.
- Terao, J. 1994. Role of carotenoids in the antioxidant defense on human blood plasma. In: Asada, K., & Yoshikawa, T. (Eds.), *Frontiers of reactive oxygen species in biology and medicine*. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 329-332.
- Van Keulen, F., Carolas, A.L., Brito, M.L., & Ferreira, B.S. 2010. Production of high-purity carotenoids by fermenting selected bacterial strains. *U.S. Patents Application Publication*, 0145116 A1.
- Wang, W.-J., Wang, G.-C., Zhang, M., & Tseng, C.K. 2006. Isolation of Fucoxanthin from the Rhizoid of *Laminaria japonica* Aresch. *J. Integrative Plant Biology*, 47(8): 1009-1015.
- Wehr, J.D. 2003. Brown Seaweed. In: Wehr, J.D., & Sheath, R.G. *Freshwater Algae of North America*. p. 757-773. Academic Press, San Diego.
- Yamamoto, K., Ishikawa, C., Katano, H., Yasumoto, T., & Mori, N. 2011. Fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol, induce apoptosis of primary effusion lymphomas. *Cancer Letters*, 300: 225-234.
- Yu, R.-X., Yu, R.-T., Hu, X.-M., Xu, S.-Q., Jiang, Z.-J., & Yang, W. 2010. Effects of fucoxanthin on proliferation and apoptosis in human gastric 3 adenocarcinoma MGC-803 cells via JAK/STAT signal pathway. *European J. of Pharmacology*, 657(1-3): 10-19.