

EKSTRAKSI KLOORIFIL DAN KAROTENOID DENGAN KONSENTRASI PELARUT YANG BERBEDA PADA LAMUN (*Enhalus acoroides*) DI PERAIRAN LAUT JAWA

Insani Artati Zendrato, Fronthea Swastawati, Romadhon^{*}

Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang Jl. Prof. Soedarto,SH, Semarang

ABSTRAK

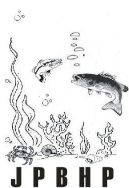
Lamun *Enhalusacoroides* memiliki pigmen seperti klorofil dan karotenoid yang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Penelitian ini bertujuan mengetahui karakteristik pigmen klorofil dan karotenoid dari pengaruh lingkungan. Materi yang digunakan adalah lamun *E.acoroides* dari perairan Karimunjawa dan pulau Panjang, Jepara. Ekstraksi menggunakan pelarut aseton pada konsentrasi berbeda (90%, 95% dan 100%) dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter yang diuji adalah penurunan pigmen terhadap sinar matahari, oksidator dan kondisi penyimpanan. Perbedaan konsentrasi pelarut berbeda nyata ($P < 0.05$) terhadap klorofil a dan karotenoid. Aseton 90% dan 95% tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) terhadap klorofil b. Hasil uji KLT didapatkan nilai Rf klorofil a 0,55, klorofil b 0,41, dan karotenoid 0,98 dari Rf literatur 0,44, 0,32, 0,95. Kandungan pigmen *E.acoroides* dari perairan Karimunjawa yaitu klorofil a 10.70 $\mu\text{g/ml}$, klorofil b 4.52 $\mu\text{g/ml}$, dan karotenoid 2.84 $\mu\text{g/ml}$, dari perairan pulau Panjang yaitu klorofil a 8.35 $\mu\text{g/ml}$, klorofil b 3.42 $\mu\text{g/ml}$ dan karotenoid 2.70 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji penurunan pigmen terhadap pengaruh lingkungan, menunjukkan bahwa semakin lama pigmen terpapar oleh kondisi lingkungan maka kandungan pigmen juga semakin menurun.

Kata kunci: Lamun *E. acoroides*, Ekstraksi, Karotenoid, Klorofil, Pigmen.

ABSTRACT

Seagrass *Enhalusacoroides* has pigments such as chlorophyll and carotenoids that can be used as natural dyes. The aim of this research was to find out the characteristic pigments chlorophyll and carotenoid contained in *E. acoroides* from environmental influences. The material used was the seagrass *E. acoroides* from Karimunjawa waters and Pulau Panjang waters, Jepara. Extraction using acetone solvents at different concentrations (90%, 95% and 100%) with Completely Randomized Design (CRD). The parameters tested was impairment pigment chlorophyll a and carotenoids to sunlight, oxidizing and storage conditions. The different solvents concentrations affected significantly ($P < 0.05$) on chlorophyll a and carotenoids of both waters. Acetone 90% and 95% were not affected significantly ($P > 0.05$) on chlorophyll b of both waters. KLT test with Rf value chlorophyll a 0,55, chlorophyll b 0,41, and carotenoids 0,98 which literature Rf value 0,44, 0,32, 0,95. *E. acoroides* pigment content from Karimunjawa waters was chlorophyll a 10.70 $\mu\text{g/ml}$, 4:52 chlorophyll b $\mu\text{g/ml}$, and carotenoids 2.84 $\mu\text{g/ml}$, while from pulau Panjang waters was chlorophyll a

*Penulis penanggungjawab



8.35 µg/ml, chlorophyll b 3.42 µg/ml and carotenoids 2.70 µg/ml. The test results decreased pigment to environmental influences, showed that the longer a pigment exposed by environmental conditions, pigment content also decreased.

Key words: Seagrass *E. acoroides*, Extraction, Carotenoids, Chlorophyll, Pigment.

PENDAHULUAN

Luas padang lamun yang terdapat di perairan Indonesia mencapai sekitar 30.000 km² (Kiswara dan Winardi, 1994). *E. acoroides* merupakan salah satu jenis lamun di perairan Indonesia yang umumnya hidup di sedimen berpasir atau berlumpur. *E. acoroides* merupakan satu dari berbagai jenis tumbuhan akuatik lainnya yang dapat dimanfaatkan dibidang pakan dan kesehatan.

Klorofil merupakan zat warna hijau alami yang umumnya terdapat dalam daun sehingga sering disebut zat hijau daun (Gross 1991). Kemampuan klorofil dan beberapa senyawa turunannya banyak digunakan sebagai pewarna makanan, penghilang aroma yang kurang sedap pada tubuh, antioksidan, dan kanker Tasseti *et al.*, (1997). Karotenoid adalah kelompok pigmen yang berwarna kuning, oranye, merah oranye. Karotenoid terdapat dalam kloroplas (0,5%) bersama-sama dengan klorofil (9,3%), terutama pada bagian permukaan atas daun, dekat dengan dinding sel palisade (Winarno, 2002).

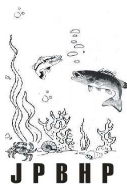
Penelitian tentang pigmen klorofil dan karotenoid dari lamun *E. acoroides* masih sangat sedikit dipelajari. Untuk mengoptimalkan pemanfaatan lamun *E. acoroides* diperlukan penelitian terhadap pigmen pada lamun ini. Kandungan pigmen dalam *E. acoroides* diduga dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Kandungan pigmen yang didapatkan dari lamun ini dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Sehingga timbul permasalahan apakah konsentrasi pelarut yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kandungan pigmen yang dihasilkan?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi pelarut yang optimal untuk ekstraksi *E. acoroides*; Jenis pigmen yang terkandung dalam *E. acoroides*; Karakteristik pigmen klorofil dan karotenoid *E. acoroides* secara kuantitatif dan kualitatif dari perairan yang berbeda.

METODOLOGI PENELITIAN

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Enhalus acoroides* yang diambil dari perairan Karimunjawa dan pulau Panjang. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah aseton dan etanol.

Tahap pertama adalah mengekstrak lamun dengan pelarut aseton dan etanol untuk mendapatkan pelarut terbaik. Selanjutnya lamun di ekstraksi dengan pelarut terbaik dengan konsentrasi berbeda (90%, 95% dan 100%).



Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian Laboratoris dengan rancangan percobaan tahap 1 dan 3 menggunakan uji deskriptif dan tahap 2 menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Pengambilan sampel di Pulau Karimunjawa dan Pulau Panjang, Jepara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2013 di Laboratorim Kimia Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penelitian Tahap I

Hasil penelitian tahap I didapatkan bahwa ekstrak aseton mempunyai kandungan klorofil a, klorofil b dan karotenoid yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol sehingga dapat dikatakan bahwa pelarut aseton lebih optimal dalam mengekstrak pigmen dari sampel. Kandungan klorofil dan karotenoid dari pelarut aseton dan etanol dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kandungan klorofil dan karotenoid dari pelarut aseton dan etanol

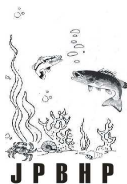
Perairan	Spot	Klorofil a ($\mu\text{g/ml}$)		Klorofil b ($\mu\text{g/ml}$)		Karotenoid ($\mu\text{g/ml}$)	
		1	2	1	2	1	2
Karimunjawa	1	7.24	9.40	2.92	4.30	2.23	2.77
	2	7.05	9.05	2.42	4.27	2.43	2.76
	3	7.41	9.19	2.45	4.36	2.41	2.74
Rata-rata		7.23 \pm 0.18	9.21 \pm 0.17	2.59 \pm 0.28	4.31 \pm 0.04	2.36 \pm 0.10	2.76 \pm 0.01
Pulau Panjang	1	5.75	8.41	2.68	3.77	2.18	2.70
	2	5.60	8.26	1.71	3.20	2.58	2.73
	3	5.73	8.37	2.29	3.29	2.34	2.70
Rata-rata		5.69 \pm 0.07	8.35 \pm 0.07	2.23 \pm 0.48	3.42 \pm 0.30	2.37 \pm 0.20	2.71 \pm 0.01

2. Penelitian Tahap II

Hasil penelitian tahap II dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa aseton 90% optimal mengekstrak pigmen *E. acoroides* dari perairan Karimunjawa dan aseton 95% optimal mengekstrak pigmen perairan pulau Panjang, Jepara.

Tabel 2. Kandungan Klorofil dan Karotenoid dari konsentrasi pelarut yang berbeda

Perairan	Spot	Klorofil a ($\mu\text{g/ml}$)			Klorofil b ($\mu\text{g/ml}$)			Karotenoid ($\mu\text{g/ml}$)		
		90%	95%	100	90%	95%	100	90%	95%	100



				%			%			%
Karimun jawa	1	10.82	9.40	7.91	4.83	4.30	2.79	2.83	2.77	2.59
	2	10.71	9.06	7.78	4.44	4.27	2.60	2.83	2.76	2.58
	3	10.58	9.20	7.80	4.31	4.36	2.67	2.85	2.74	2.57
Rata-rata		10.70	9.21	7.83	4.52	4.31	2.69	2.84	2.76	2.58
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.12	0.17	0.06	0.27	0.04	0.09	0.01	0.01	0.00
Pulau Panjang	1	7.62	8.41	7.19	2.19	3.77	1.95	2.54	2.69	2.41
	2	7.55	8.26	7.16	2.11	3.19	1.92	2.49	2.73	2.42
	3	7.60	8.37	7.14	2.18	3.29	1.90	2.52	2.70	2.41
Rata-rata		7.59	8.35	7.16	2.16	3.42	1.93	2.51	2.70	2.42
		±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0.03	0.07	0.02	0.04	0.30	0.02	0.02	0.01	0.00

Hasil uji normalitas pengujian kandungan klorofil a, klorofil b dan karotenoid perairan pulau Karimunjawa dan pulau Panjang, Jepara menunjukkan bahwa data menyebar normal.

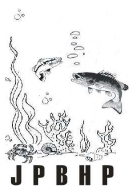
Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi pelarut klorofil a pulau Karimunjawa dan pulau Panjang berbeda nyata dimana Sig (0.000) < 0.05. Klorofil b perairan pulau Karimunjawa antara aseton 90% dengan aseton 95% tidak berbeda nyata (Sig (0.333) > 0.05) dan berbeda nyata (Sig (0.000) < 0.05) antara aseton 90% dengan aseton 100% dan aseton 95% dengan aseton 100%, sedangkan klorofil b perairan pulau Panjang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara aseton 90% dengan aseton 100% dan aseton 95% dengan aseton 100% dimana Sig (0.000) < 0.05 dan tidak berbeda nyata antara aseton 90% dengan aseton 95% (Sig (0.330) > 0.05). Hasil uji karotenoid pulau Karimunjawa dan pulau Panjang menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi pelarut berbeda nyata dimana Sig (0.000) < 0.05.

Berdasarkan penelitian tahap II dapat disimpulkan bahwa konsentrasi pelarut aseton yang mendapatkan pigmen klorofil a, klorofil b dan karotenoid lebih tinggi untuk pulau Karimunjawa adalah 90% dan 95% untuk perairan pulau Panjang. Maka untuk penelitian selanjutnya konsentrasi yang digunakan 90% untuk pulau Karimunjawa dan 95% untuk pulau Panjang.

3. Penelitian Tahap 3

3.1. Analisis kualitatif: kromatografi lapis tipis

Hasil dari KLT tersebut menghasilkan 3 spot pada sampel *E. acoroides*. Titik (spot) yang dihasilkan adalah titik 1 (hijau kebiruan) klorofil a, titik 2 (hijau kuning) klorofil b, titik 3 (orange/kuning) merupakan karotenoid. Data ini sesuai dengan deskripsi Gross (1991), yang menyatakan bahwa klorofil a



berwarna hijau biru, klorofil b hijau kuning dan karotenoid berwarna kuning, orange, merah.

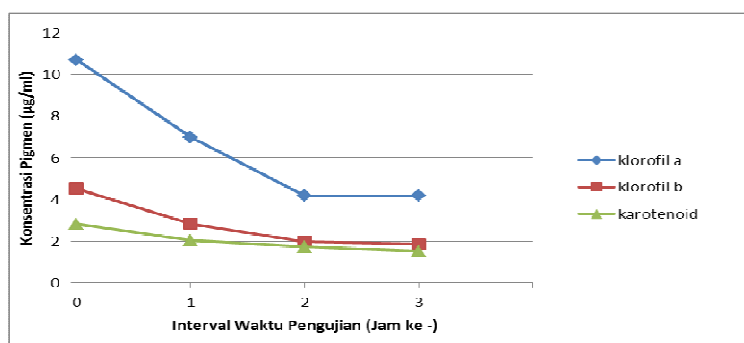
Fraksi yang pertama pada sampel *E. acoroides* memiliki nilai Rf sebesar 0,55 (klorofil a). Fraksi kedua memiliki nilai Rf r 0,41(klorofil b). Fraksi ketiga memiliki nilai Rf 0,98(karotenoid). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Heriyanto dan Limantara (2006), yang memperoleh nilai Rf untuk klorofil b dan klorofil a dan karotenoid sebesar 0,47 dan 0,66, 0,88.

3.2. Pengujian tren penurunan pigmen

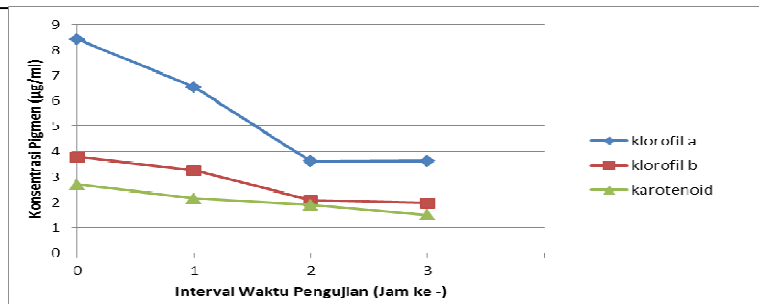
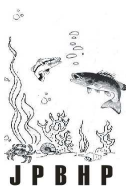
3.2.1. Pengaruh sinar matahari

Hasil pengamatan kandungan klorofil a, klorofil b dan karotenoid terhadap sinar matahari dapat dilihat pada grafik dibawah ini. Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa terjadi penurunan kandungan klorofil a, klorofil b dan karotenoid karena adanya sinar matahari. Persentase penurunan kadar klorofil a, klorofil b pengaruh sinar matahari perairan Karimunjawa sebesar 60.65%,54,64% dan untuk Pulau Panjang sebesar 56.59%,47,74%. Penurunan ini membuktikan bahwa klorofil a dan klorofil b berpengaruh terhadap sinar matahari. Secara visual penurunan kandungan pigmen ini dapat dilihat dengan semakin pudarnya larutan ekstrak dari warna hijau menjadi bening (tidak berwarna). Gross (1991) menjelaskan bahwa perubahan warna pada pigmen menunjukkan terjadinya degradasi akibat terpapar pada cahaya dengan intensitas tinggi dan dalam waktu yang cukup lama.

Persentase penurunan kadar karotenoid pengaruh sinar matahari dari perairan Karimunjawa adalah sebesar 46,28% dan untuk Pulau Panjang sebesar



Gambar 1. Tren Penurunan Pigmen Terhadap Pengaruh Sinar Matahari Perairan Karimunjawa



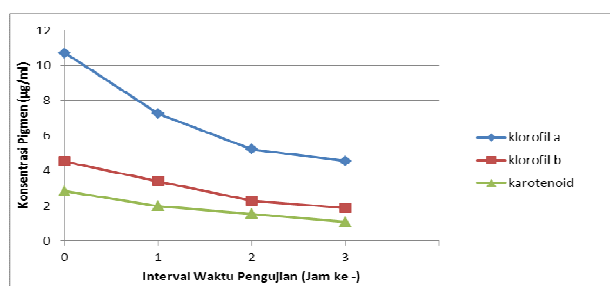
Gambar 2. Tren Penurunan Pigmen Terhadap Pengaruh Sinar Matahari Perairan pulau Panjang, Jepara.

44.60%. Belitz *et al.*, (2009) mengatakan bahwa stabilitas karotenoid berkaitan dengan keberadaan ikatan rangkap dan ikatan tidak jenuh dalam struktur molekul karotenoid, menyebabkan mudah pisah akibat degradasi oksidatif oleh zat kimia, ezim, suhu, oksigen, dan cahaya.

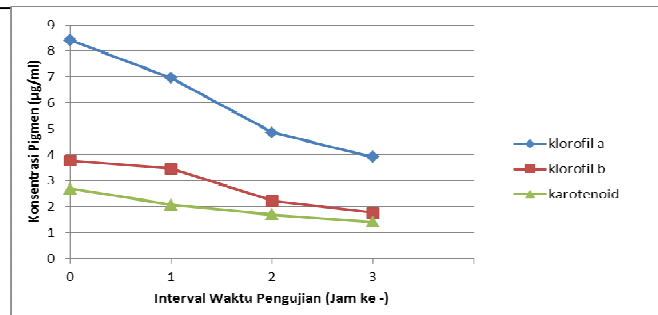
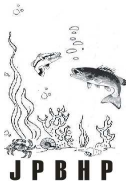
3.2.2. Pengaruh Oksidator

Persentase penurunan kadar klorofil a pengaruh oksidator pada perairan Karimunjawa adalah sebesar 57,47% dan untuk Pulau Panjang sebesar 53,50%. Persentase penurunan kadar klorofil b pengaruh oksidator perairan Karimunjawa adalah sebesar 58,40% dan untuk Pulau Panjang sebesar 53,11%. Hasil penurunan kadar klorofil ini membuktikan bahwa ekstrak pigmen klorofil a dan klorofil b lamun *E. acoroides* berpengaruh terhadap oksidator. Persentase penurunan kadar karotenoid pengaruh oksidator perairan Karimunjawa adalah sebesar 62,19% dan untuk Pulau Panjang sebesar 47,58%.

Secara visual penurunan kandungan pigmen ini dapat dilihat dengan semakin pudarnya larutan ekstrak dari warna hijau menjadi tidak berwarna. Dijelaskan oleh Hanum (2000) bahwa adanya oksidator dalam larutan menyebabkan kation flavium yang berwarna merah kehilangan proton dan berubah menjadi karbinol yang tidak memberi warna.



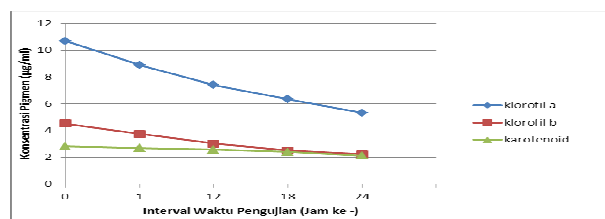
Gambar 3. Tren Penurunan Pigmen Terhadap Pengaruh Oksidator Perairan Karimunjawa.



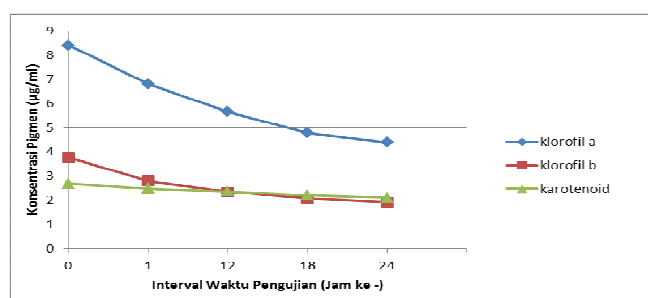
Gambar 4. Tren Penurunan Pigmen Terhadap Pengaruh Oksidator Perairan pulau Panjang.

3.2.3. Pengaruh kondisi penyimpanan

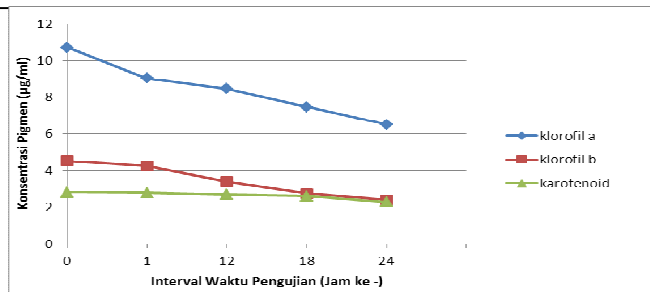
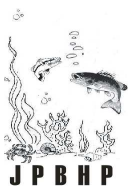
Penurunan kadar pigmen pada penyimpanan suhu ruang lebih cepat jika dibandingkan dengan suhu dingin (3 °C). Hal ini dapat dilihat dari persentase penurunan kadar klorofil a pada perairan Karimunjawa penyimpanan suhu ruang sebesar 50.18% sedangkan persentase penurunan pada suhu ruang pulau



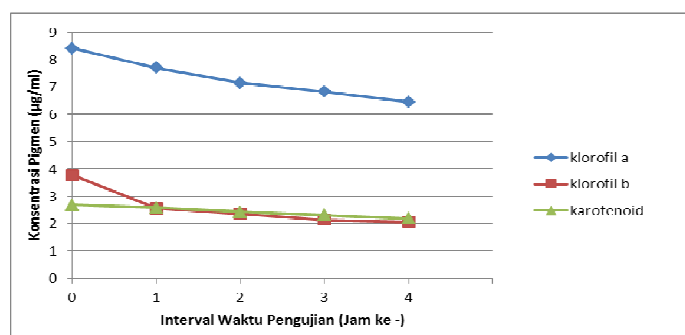
Gambar 5. Tren Penurunan Pigmen Pengaruh Penyimpanan Suhu Ruang Perairan Karimunjawa



Gambar 6. Tren Penurunan Pigmen Pengaruh Penyimpanan Suhu Ruang Perairan pulau Panjang



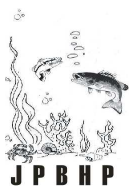
Gambar 7. Tren Penurunan Pigmen Pengaruh Penyimpanan Suhu Dingin (3 °C) Perairan Karimunjawa.



Gambar 7. Tren Penurunan Pigmen Terhadap Pengaruh Penyimpanan Suhu Dingin (3 °C) Perairan pulau Panjang.

Panjang sebesar 47.68%. Penurunan kadar klorofil a penyimpanan suhu dingin perairan Karimunjawa sebesar 39.25% dan perairan pulau Panjang sebesar 23.30%. Penurunan kandungan klorofil b pada suhu dingin terjadi lebih lambat daripada suhu ruang. Persentase penurunan kadar klorofil b sampel perairan Karimunjawa penyimpanan suhu ruang adalah sebesar 50.22% dan pulau Panjang sebesar 49.33%, sedangkan sampel penyimpanan suhu dingin sebesar 46.46% (Karimunjawa) dan sebesar 45.62%..

Persentase penurunan kadar karotenoid sampel penyimpanan suhu ruang untuk perairan Karimunjawa adalah 24,73% dan untuk Pulau Panjang sebesar 22,30%, sedangkan sampel suhu dingin perairan Karimunjawa sebesar 19,08% dan Pulau Panjang sebesar 18,58%. Penyimpanan pada suhu dingin lebih baik daripada suhu ruang sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak *E. acoroides* yang mengandung klorofil dan karotenoid cenderung lebih baik pada kondisi suhu penyimpanan dingin, hal tersebut dapat dilihat dari persentase penurunan pigmen suhu dingin relatif lebih rendah dibandingkan dengan suhu ruang.



KESIMPULAN

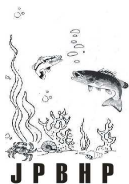
1. Lamun *E. acoroides* dari perairan Karimunjawa dan Pulau Panjang mempunyai pigmen alami berupa klorofil dan karotenoid;
2. Konsentrasi pelarut mempengaruhi kandungan pigmen *E. acoroides* dari perairan pulau Karimunjawa pulau Panjang, Jepara; dan
3. Penurunankarakter pigmen klorofil dan karotenoid dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan, sinar matahari dan oksidator,dari pengujian secara kuantitatif diketahui bahwa kandungan pigmen *E. acoroides*perairan pulau Karimunjawa lebih tinggi dibandingkan perairan pulau Panjang. Secara kualitatif pigmen *E. acoroides* yang berasal dari pulau Panjang lebih bagus daripada perairan Karimunjawa.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan pengaruh pH terhadap karakteristik pigmen;
2. Perlu dilakukan penelitian untuk menentukan kestabilan berapa lama warna pigmen memudar;
3. Pengujian karakteristik pigmen sebaiknya diuji dengan lama waktu lebih dari sehari.
4. Pengambilan lokasi sampling sebaiknya tidak di dekat dermaga kapal.

DAFTAR PUSTAKA

- Azkab, Husni. 2006. Ada Apa dengan Lamun?.[Jurnal]. Oseana Vol. 31. No. 3, 2006 : 45 – 55.
- Belitz HD, Grosch W, and Schieberle P. 2009.Food Chemistry. 4th Revised and Extended ed. Springer-Verlag Heidelberg, Berlin
- Gross, J. 1991. Pigment inVegetable: Chlorophylls and Carotenoids. Von Nonstrad Reinhold, New York.
- Hanum, T. (2000) Ekstraksi dan Stabilitas Zat Pewarna Alam dari Katul Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*). Buletin Teknologi dan Industri Pangan XI (1) : 17 – 23.



-
- Heriyanto, dan L. Limnataru. 2006. Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan Taliputri *Cuscuta australis* r.br. dan *Cassytha filiformis* L. Jurnal sains, Vol. 10 (2): 69-75.
- Hosikian, Aris., Su Lim, Ronald Hali, dan Michael K. Danquah. 2010. Chlorophyll Ekstraktion From Microalgae : A Review on The Process Engineering Aspects. International Journal of Chemical Engineering. Vol. 2010 : 1-11.
- Kiswara, W. 1992. Vegetasi Lamun (Seagrass) di Rataan Terumbu Pulau Pari, Pulau-pulau Seribu, Jakarta. Oseanologi Indonesia 25: 31-49.
- Samsudin, A.M., dan Khoiruddin. 2009. Ekstraksi, Filtrasi Membran dan Uji Stabilitas Zat Warna dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*). Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Tasseti V, Hajri A, Sowinska M, Evrard S, Heisel F, Cheng LQ, Miche JA, Marescaux J, & Aprahamian. 1997. In vivo laser-induced fluorescence imaging of a rat pancreatic cancer with pheophorbide-a. Photochem-Photobiol. 65 (6): 997-1006.
- Winarno, F.G. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.