

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Padina australis* merupakan spesies alga laut dari divisi *Phaeophyta* (alga cokelat) yang pada umumnya tersebar di perairan laut, mulai perairan laut dangkal hingga perairan dalam. Alga ini memiliki bentuk lembaran atau filamen yang lebar yang berwarna cokelat transparan (Franklin *et al.*, 2017). Secara umum, kandungan kimia yang telah teridentifikasi dalam *Padina australis* meliputi *fucoxanthin* sebesar 0,6368 mg/g berat basah, serta pigmen karotenoid seperti beta karoten, *diadinoxanthin*, *diatoxanthin*, *fucoxanthin*, klorofil a, dan klorofil c. (Handayani & Zuhrotun, 2017). Selain itu, Brotosudarmo *et al* (2018) melaporkan *P.australis* mengandung 4 pigmen warna utama yang dominan, seperti klorofil a (211,75  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), beta karoten (14,57  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), *fucoxanthin* (97,26  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), dan *zeaxanthin* (1,82  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

Warna rumput laut cokelat dipengaruhi oleh pigmen alami yang terdapat di dalamnya. Pigmen ini adalah molekul khusus yang dapat memunculkan warna dengan cara menyerap cahaya matahari dan memantulkannya pada panjang gelombang tertentu (Prangdimurti, 2007). Pigmen yang terkandung pada rumput laut cokelat terdiri dari golongan klorofil yang berperan dalam proses fotosintesis dan karotenoid yang berfungsi sebagai pigmen pelengkap (Limantara & Heriyanto, 2010).

Senyawa *fucoxanthin* sebagai pigmen karotenoid utama yang dihasilkan oleh rumput laut cokelat dicirikan dengan adanya ikatan alenik, gugus fungsi epoksi, hidroksi, dan karbonil (D'Orazio *et al.*, 2012; Peng *et al.*, 2011). *Fucoxanthin* memiliki warna yang bervariasi dari jingga hingga kecokelatan (Fretes *et al.*, 2012). Bioaktivitas rumput laut cokelat salah satunya ditentukan oleh kandungan *fucoxanthin*. *Fucoxanthin* dilaporkan memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antikanker, antidiabetes dan anti obesitas (Lin *et al.*, 2016).

*Fucoxanthin* adalah senyawa turunan xantofil yang bersifat polar, sehingga diperlukan pelarut polar untuk mengekstraknya. Beberapa contoh pelarut polar yang umum digunakan antara lain etanol, metanol, dan aseton (Wati *et al.*, 2020). Di sisi lain, beta karoten termasuk dalam kelompok senyawa karoten yang hanya terdiri dari atom hidrogen dan karbon sehingga sifatnya lebih non polar. Senyawa karoten dapat dibedakan dari struktur ujung dari rantai poliena (Syukri, 2021).

Berdasarkan uraian di atas pada penelitian ini dilakukan uji penetapan kadar *fucoxanthin* dan beta karoten hasil fraksinasi dari ekstrak *Padina australis* yang menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel.



ah

kadar *fucoxanthin* dan beta karoten pada hasil fraksinasi dari *alis* yang dianalisis secara spektrofotometri UV-Visibel?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sebaran kadar *fucoxanthin* dan beta karoten pada hasil fraksinasi dari ekstrak *Padina australis* yang dianalisis secara spektrofotometri UV-Visibel.



## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas (Pyrex®), *chamber*, ElisaReader, labu tentukur, lampu UV 254 nm, lampu UV 366 nm, oven, pipa kapiler, *rotary evaporator* (Heidolph®), kolom fraksinasi, timbangan analitik (*Sartorius*®), *water bath*, *96 well plate*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alga cokelat (*Padina australis*), *aquadest*, beta karoten, etanol, etil asetat, *fucoxanthin*, lempeng KLT silika gel G60 F254, metanol, metanol pro analisis, n-heksan, silika.

#### 2.2 Prosedur Penelitian

##### 2.2.1 Penyiapan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa alga cokelat (*Padina australis*) yang diperoleh dari Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Kemudian dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel dan ditiriskan pada wadah untuk dikeringkan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven selama 1 x 24 jam dengan suhu sekitar 150°C.

##### 2.2.2 Ekstraksi sampel

Sampel *Padina australis* diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi dilakukan dengan menimbang 300 g simplisia dan direndam dengan metanol sebanyak 3000 mL selama 3 x 24 jam dengan pengadukan beberapa kali. Hasil maserasi kemudian disaring dan filtrat dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 60°C dan kecepatan 150 rpm hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dihitung % rendemen ekstrak kental alga cokelat (*Padina australis*).

##### 2.2.3 Fraksinasi sampel

Ekstrak *Padina australis* difraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum (KCV). Ekstrak dikemas dengan cara 6 g ekstrak ditambahkan dengan 6 g silika gel sebagai adsorben, diaduk rata hingga terbentuk serbuk. Kolom fraksinasi diisi dengan silika gel 20 g dan dielus dengan n-heksan hingga silika gel terdistribusi merata dalam kolom. Ekstrak yang telah dikemas kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan didistribusikan secara merata di atas silika gel. Selanjutnya dielus dengan n-heksan : etil asetat dalam rasio 100:0; 90:10, 80:20, 65:35, etanol 100% masing-masing sebanyak 50 mL. Fraksi-fraksi untuk analisis selanjutnya.



### 2.3 Analisis Kualitatif

Pemisahan fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen n-heksan : etil asetat (3:2) dengan menggunakan pembanding larutan *fucoxanthin* dan beta karoten murni dan diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Fraksi-fraksi yang memiliki pola Rf yang sama digabung dan fraksi tersebut digunakan untuk analisis selanjutnya.

### 2.4 Analisis Kuantitatif

#### 2.4.1 Pembuatan larutan stok fraksi *Padina australis*

Larutan stok fraksi *Padina australis* konsentrasi 1000 µg/mL dibuat dengan cara ditimbang seksama 10 mg fraksi dan dilarutkan dengan metanol hingga 10 mL dalam labu tentukur.

#### 2.4.2 Pembuatan larutan stok *fucoxanthin* dan beta karoten

Larutan stok *fucoxanthin* dan beta karoten konsentrasi 1000 µg/mL dibuat dengan menimbang 1 mg *fucoxanthin* dan beta karoten standar. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan pelarut metanol. Larutan disonikasi selama 2 menit hingga *fucoxanthin* dan beta karoten larut. Larutan tersebut kemudian diencerkan hingga 10 ppm dengan cara dicuplik 10 µL larutan stok 1000 µg/mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol hingga 1 mL.

#### 2.4.3 Pembuatan kurva baku *fucoxanthin* dan beta karoten

Lima seri pengenceran dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 µg/mL disiapkan dari larutan induk dengan menggunakan pelarut metanol hingga mencapai volume yang ditentukan. Kemudian diukur serapannya dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang yang sesuai dan ditentukan persamaan regresi linearnya.

#### 2.4.4 Pengukuran penetapan kadar *fucoxanthin* dan beta karoten dengan fraksi

Larutan baku *fucoxanthin*, beta karoten dan fraksi *P.australis* serta blangko dibuat dengan cara dicuplik sesuai yang tertera pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**. Kemudian masing-masing ditambahkan metanol sesuai yang tertera di tabel yang sama. Setelah itu diukur absorbansinya menggunakan instrumen ElisaReader pada panjang gelombang 450 nm untuk *fucoxanthin* dan beta karoten. Masing-masing larutan uji dibuat sebanyak 3 replikasi pada *microplate 96-Well Plate*.



an volume larutan *fucoxanthin*, pelarut dan fraksi A-E

Konsentrasi (µg/mL)	Volume sampel uji (µL)	Volume metanol (µL)	Volume fraksi (µL)
1	20	180	-
2	40	160	-
3	60	140	-

	4	80	120	-
	5	100	100	-
Metanol (Blangko)	-	-	200	-
Fraksi <i>P.australis</i> (A-C)	FA-FC 500	-	100	100
Fraksi <i>P.australis</i> (D)	FD 600	-	80	120
Fraksi <i>P.australis</i> (E)	FE 550	-	90	110

**Tabel 2. Perbandingan volume larutan beta karoten, pelarut dan fraksi A-E**

Identitas sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Volume sampel uji ( $\mu\text{L}$ )	Volume metanol ( $\mu\text{L}$ )	Volume fraksi ( $\mu\text{L}$ )
Beta karoten	1	20	180	-
	2	40	160	-
	3	60	140	-
	4	80	120	-
	5	100	100	-
Metanol (Blangko)	-	-	200	-
Fraksi <i>P.australis</i> (A-E)	300	-	140	60

## 2.5 Analisis Data

Data masing-masing hasil pengujian yang telah dikumpulkan, selanjutnya diolah menggunakan software GraphPad® metode *One Way Anova* dengan melihat nilai signifikan ( $p < 0,05$ ).

