

Identifikasi dan Fotodegradasi Pigmen Klorofil Rumput Laut *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh

LISIARD DIMARA^{1*}, HELENA TURIRIDAY², DAN TIEN N.B. YENUSI³

¹Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua

²Jurusan Perikanan Universitas Negeri Papua, Manokwari

³Mahasiswa Perikanan Pascasarjana, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah

Diterima: tanggal 07 Mei 2012 - Disetujui: tanggal 25 September 2012

© 2012 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Identification of chlorophyll compound of *Caulerpa racemosa* has been carried out using Thin Layer Chromatography (TLC) method. Four compound has been found namely xanthophyll, chlorophyll b, chlorophyll a, and phaeophytin. Xanthophyll was identified with the yellow spot on TLC plates which the R_f is 0,46. Chlorophyll b is yellow green spot with R_f is 0,61, the R_f of Chlorophyll a is 0,69 with the color is blue green, whereas phaeophytin is indicated as a black spot with the R_f 0,77. Volpi and UV light sources were used in this study, the volpi light radiation was caused chlorophyll extract degradation about 80,87% at Q_y of λ 663 nm, and the UV light source caused 72,27% degradation at λ 663 nm.

Key words: identification, photodegradation, chlorophyll, *Caulerpa racemosa*.

PENDAHULUAN

Rumput laut (ganggang) merupakan organisme fotosintetik tingkat rendah yang hidup di perairan laut, tidak memiliki organ akar, batang, dan daun yang membedakannya secara signifikan, seperti halnya pada tumbuhan tingkat tinggi di darat. Berdasarkan ekspresi pigmen yang terkandung di dalamnya, ganggang diklasifikasikan menjadi 3 kelompok familia, yaitu *Rhodophyceae* (ganggang merah), *Phaeophyceae* (ganggang coklat), dan *Chlorophyceae* (ganggang hijau).

Nurcahyanti & Martosupono (2009) melaporkan bahwa rumput laut mengandung senyawa-senyawa kimia seperti keraginan, protein, karbohidrat, lemak, dan serat kasar. Secara khusus dilaporkan Ahdyanti *et al.* (2008)

bahwa *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh mengandung kadar abu (16-20%), kadar air (18,2-28,7%), protein (10,7%), lemak (0,3%), serat (4,4-15,5%), dan karbohidrat (27,2%). *C. racemosa* adalah kelompok rumput laut hijau yang bersifat *edible* atau dapat dikonsumsi, sehingga oleh sebagian masyarakat telah memanfaatkannya sebagai bahan sayuran dan lalapan segar (Yenusi, 2011; Fithriani, 2009).

Pigmen klorofil yang terkandung di dalam *C. racemosa* telah memberikan karakteristik warna hijau pada jenis rumput laut ini, dan berperan penting dalam proses fotosintesis (Lakitan, 1993; Bacon, 2001; Campbell *et al.*, 2002). Selain fungsi fisiologis tersebut, klorofil telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami makanan dan minuman, bahan obat-obatan, sensitizer (terapi kanker), bioinsektisida, dan pewarna alami pada industri rumah tangga (Limantara, 2007). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa klorofil dan senyawa turunannya dapat berfungsi sebagai antioksidan,

*Alamat Korespondensi:

Jurusan Biologi FMIPA, Jln. Kamp Wolker, Kampus Baru
UNCEN-WAENA, Jayapura Papua. 99358
Telp: +62967572115, e-mail: lisiard_dmr@yahoo.co.id

antibakteri, dan anti mutagenik (Nurdin *et al.*, 2008; Dimara & Yenusi, 2011). Nurdin *et al.* (2008) melaporkan klorofil mampu menangkap radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) yang dihasilkan selama proses ootoksidasi minyak, sehingga dapat memutus rantai oksidasi.

Gross (1991) melaporkan, klorofil mudah terdegradasi oleh pengaruh eksternal seperti reaksi cahaya, panas, asam, dan oksigen, ataupun gabungan dari reaksi unsur-unsur tersebut. Oleh karena itu, kajian ini diarahkan pada identifikasi senyawa-senyawa turunan klorofil dan efek cahaya terhadap degradasi (*photodegradasi*) klorofil rumput laut *C. racemosa*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

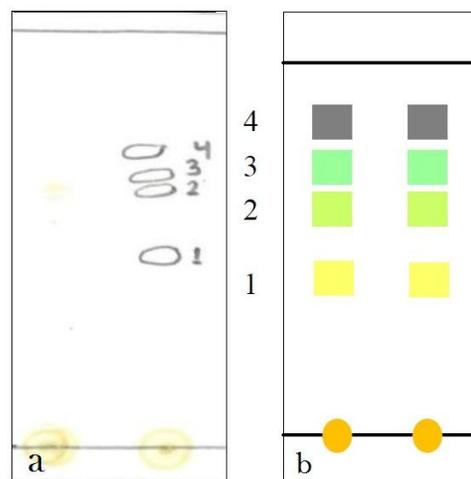
Penelitian berlangsung dari bulan Desember 2010 sampai Juni 2011. Pengambilan sampel dilakukan di wilayah perairan Pantai Abepura, Jayapura, sedangkan proses analisis dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih, dan di Laboratorium Pigmen Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana (UKSW) Salatiga.

Ekstraksi Pigmen Klorofil

Sampel segar ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 10 gram. Sampel tersebut dihaluskan menggunakan mortal, kemudian disaring (pemisahan) antara air dan selaput hijau sampel. Kemudian sampel tersebut ditambahkan CaCO_3 sebagai agen penetral. Proses ekstraksi menggunakan pelarut aseton dan methanol dengan perbandingan 3 : 7 (v/v). Hasil ekstrak disaring menggunakan kertas saring, residu diekstrak ulang dengan pelarut yang sama sampai semua pigmen terangkat (Kusmita, 2007).

Isolasi Pigmen Klorofil

Sampel ekstrak pekat dari hasil ekstraksi pigmen klorofil selanjutnya dipartisi menggunakan *dietil eter* dalam corong pisah. Apabila belum terjadi pemisahan antara pigmen



Gambar 1. Hasil identifikasi turunan klorofil *C. racemosa* menggunakan metode KLT (a), dan ilustrasi gambar (b).

dan pelarut, maka ditambahkan dietil eter atau larutan garam untuk membantu pemisahannya. Setelah diperoleh pemisahannya, lapisan larutan pigmen klorofil diambil dan dikeringkan menggunakan gas N_2 (Kusmita, 2007). Tahap ini menghasilkan isolasi ekstrak kasar klorofil yang siap digunakan sebagai sampel analisis (stok sampel).

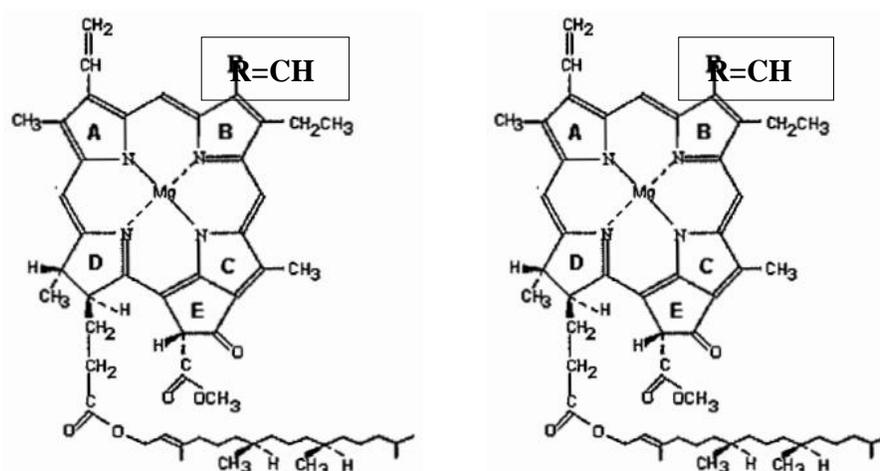
Kromatografi Lapis Tipis

Sampel dilarutkan menggunakan pelarut kloroform : etanol = 98 : 2 (v/v), kemudian dibercakkan pada pelat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) silika gel 60 F_{254} sebagai fase diam, dikeringkan, dimasukkan dalam bejana KLT dengan fase gerak kloroform : etanol = 98 : 2 (v/v). Pola pemisahan, warna bercak, dan nilai *retention factor* (R_f) masing-masing pigmen dicatat.

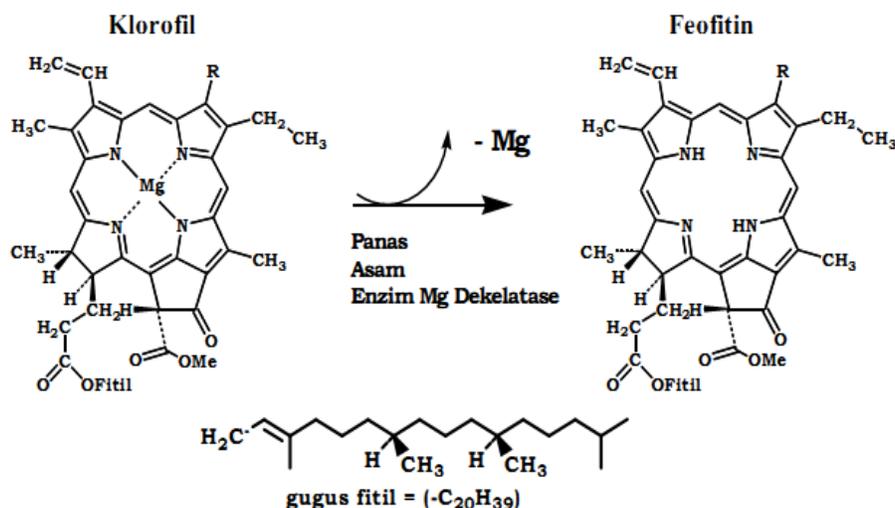
HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Senyawa Turunan Klorofil *C. racemosa*

Hasil identifikasi senyawa turunan pada sampel pigmen klorofil dengan menggunakan metode KLT berhasil diketahui 4 jenis senyawa tu-



Gambar 2. Struktur klorofil *a* (R=CH₃) dan klorofil *b* (R=CHO).



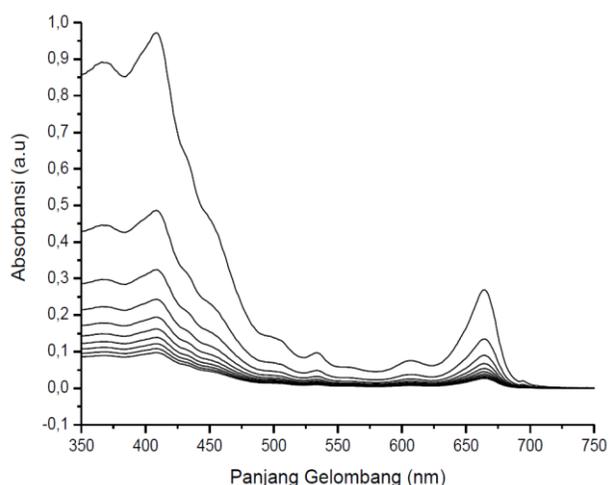
Gambar 3. Proses degradasi klorofil menjadi feofitin.

runan, yaitu xantofil, klorofil *b*, klorofil *a*, dan feofitin (Gambar 1).

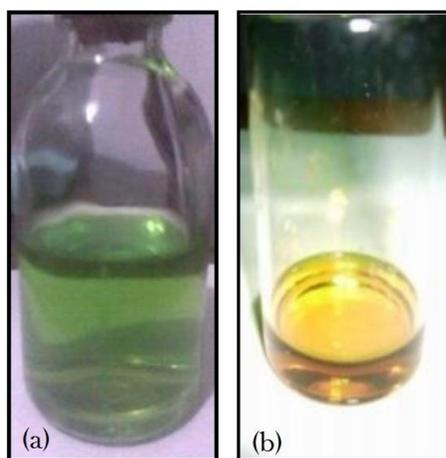
Bercak 1 pada pelat KLT berwarna kuning, memiliki nilai R_f sebesar 3/6,5 = 0,46, dan diidentifikasi sebagai xantofil. Di dalam tumbuhan hijau terkandung beberapa jenis pigmen utama seperti klorofil dan karotenoid. Pada sampel penelitian ini, xantofil diidentifikasi sebagai senyawa turunan karotenoid yang terkandung di dalam pigmen klorofil. Harborne (1996) melaporkan, umumnya xantofil memiliki senyawa turunan berupa monohidroksikarotena (misalnya lutein, rubixantin), hidroksikarotena

(zeaxantin), atau dihidroksiepoksikarotena (violaxantin).

Bercak/totol 2 berwarna hijau kuning, memiliki nilai R_f= 0,61, diidentifikasi sebagai klorofil *b*, dan bercak 3 berwarna hijau biru, memiliki nilai R_f sebesar 0,69 diidentifikasi sebagai klorofil *a*. Harborne (1996); Gross (1991); Bacon (2001) mengatakan di dalam tumbuhan sekurang-kurangnya terdapat 5 jenis klorofil, semuanya berstruktur dasar sama tetapi menunjukkan macam-macam sifat sesuai dengan rantai samping alifatik yang terikat pada inti porfirin. Pada Gambar 2, terlihat perbedaan struk-



Gambar 4. Spektrum serapan klorofil *C. racemosa* dalam pelarut aseton selama 18 jam radiasi menggunakan sinar volpi.



Gambar 5. Sampel klorofil sebelum diradiasi (a), dan setelah diradiasi (b) menggunakan sinar volpi selama 18 jam.

tur kimiawi klorofil *b* dengan klorofil *a*, karena klorofil *a* memiliki penyulih metil ($R = CH_3$), sedangkan klorofil *b* memiliki gugus aldehida yang terikat di kanan atas cincin pirol ($R = CHO$).

Bercak 4 berwarna hitam, memiliki nilai $R_f = 0,77$, dan diidentifikasi sebagai senyawa feofitin. Feofitin merupakan senyawa turunan klorofil yang pertama. Gross (1991), Budiyanto & Limantara (2008), Dhewi & Martosupono (2008) melaporkan bahwa perubahan warna material daun dari hijau biru ke hijau kecoklatan

Tabel 1. Absorbansi tertinggi klorofil di daerah Q_y pada panjang gelombang (λ) 663 nm selama 18 jam radiasi menggunakan sinar volpi.

Waktu (jam)	λ (nm)	Absorbansi Tertinggi di Daerah Q_y
0	663	0,269
2	663	0,134
4	663	0,089
6	663	0,067
8	663	0,053
10	663	0,044
12	663	0,038
14	663	0,033
16	663	0,029
18	663	0,026

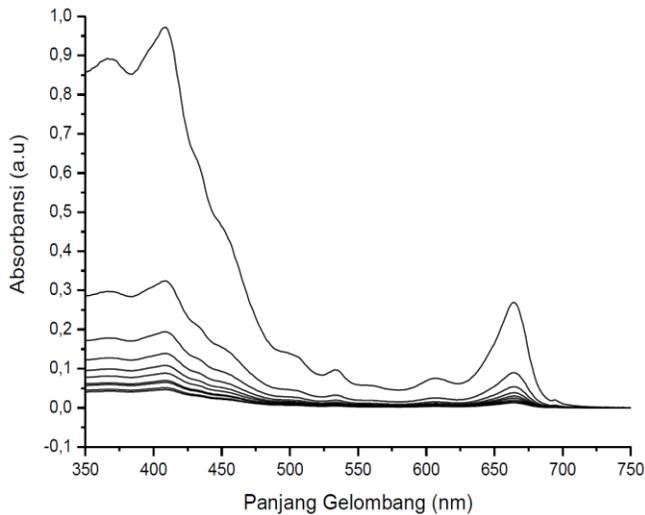
Tabel 2. Absorbansi tertinggi klorofil di daerah Q_y pada panjang gelombang (λ) 663 nm selama 18 jam radiasi menggunakan sinar UV.

Waktu (Jam)	λ (nm)	Absorbansi Tertinggi di Daerah Q_y
0	663	0,269
2	663	0,089
4	663	0,053
6	663	0,038
8	663	0,029
10	663	0,024
12	663	0,019
14	663	0,017
16	663	0,014
18	663	0,012

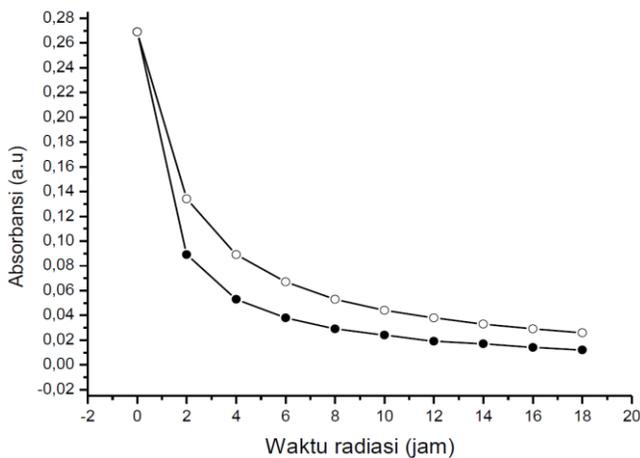
merupakan ekspresi dari adanya konversi warna klorofil menjadi feofitin akibat hilangnya inti atom magnesium (Mg) (Gambar 3). Perubahan tersebut dipengaruhi oleh reaksi panas, asam, reaksi enzimatik, maupun fermentasi. Feofitin pada umumnya dapat ditemukan juga pada jaringan tumbuhan (daun) yang mengalami pelayuan.

Fotodegradasi Klorofil Rumpuk Laut *C. racemosa*.

Salah satu faktor penyebab degradasi klorofil adalah efek cahaya (*fotodegradasi*). Proses terjadinya degradasi klorofil diawali dengan hilangnya inti atom magnesium (Mg) pada pusat molekul klorofil atau kehilangan bagian ekor (fitol). Klorofil yang kehilangan unsur magnesiumnya disebut feofitin, sedangkan yang



Gambar 6. Pola spektra serapan klorofil *C. racemosa* dalam pelarut aseton selama 18 jam radiasi menggunakan sinar UV.



Gambar 7. Kurva laju degradasi klorofil *C. racemosa* yang diradiasi menggunakan sinar UV (-♦-) dan Volpi (-◇-)

kehilangan ekornya disebut klorofilid. Kemudian jika feofitin kehilangan ekor fitol atau klorofilid kehilangan magnesiumnya, keduanya disebut feoforbite (Dhewi & Martosupono, 2008).

Radiasi Sinar Volpi

Pola spektra absorbansi pigmen klorofil *C. racemosa* yang diradiasi menggunakan sinar volpi selama 18 jam pada kisaran panjang gelombang 350–750 nm ditunjukkan pada gambar 4.

Radiasi sampel pigmen klorofil dilakukan selama 18 jam secara berkala, yaitu 2, 4, 6, 8, 10, 12,

14, 16, dan 18 jam. Pengukuran sampel dilakukan setiap 2 jam menggunakan Double Beam Spectrophotometer Shimadzu UV 200 pada panjang gelombang 350–750 nm. Perlakuan radiasi mempengaruhi konsentrasi atau volume dan komposisi sampel klorofil, sehingga menyebabkan penurunan dan pergeseran pada pita-pita/puncak-puncak serapan spektrum dari waktu 2 jam - 18 jam di daerah serapan Q_y pada panjang gelombang 663 nm (Gambar 4; Tabel 1). Kejadian semacam ini didukung oleh hasil kajian lain (Dimara, 2009) yang menerangkan bahwa, sifat atom Mg cenderung menyerap banyak energi primer, seperti cahaya merah yang dihasilkan oleh lampu daylight/volpi, karena pigmen klorofil efektif menyerap energi cahaya pada kisaran panjang gelombang 650–700 nm, sehingga mempengaruhi puncak-puncak serapan pada pola spektrumnya.

Peristiwa fotodegradasi akan mendorong terjadinya perubahan struktur molekul klorofil menjadi turunannya. Dimara (2009); Sajilata & Singhal (2006) melaporkan, apabila ekstrak klorofil diradiasi terus menerus dalam waktu lama dengan intensitas cahaya tinggi akan menyebabkan perubahan struktur kimia klorofil, dapat membentuk molekul baru yang lebih sederhana strukturnya, dan mampu mempengaruhi pigmen hijau menjadi oranye dan bening. Perubahan pigmen klorofil akibat cahaya disebut *photobleaching* (Gambar 5).

Radiasi Sinar Ultra Violet (UV)

Pola spektra absorbansi sampel pigmen klorofil yang diradiasi menggunakan sinar ultra violet (UV) selama 2–18 jam, pada panjang gelombang 350–750 nm diperlihatkan pada Gambar 6 di bawah ini.

Gambar 6 menunjukkan telah terjadi degradasi pigmen di daerah Q_y yang ditandai penurunan dan pergeseran puncak-puncak serapan yang jauh lebih cepat dibanding radiasi menggunakan sinar volpi. Pada waktu nol jam, puncak serapan pigmen di Q_y berada pada absorbansi 0,269 a.u, dan pada waktu radiasi 2 jam, klorofil terdegradasi dan turun sampai absorbansi 0,089 a.u, lebih besar dari nilai absorbansi pada

sampel yang diradiasi menggunakan sinar volpi, yaitu 0,0134 a.u. Sinar UV memberikan efek penurunan puncak serapan menuju panjang gelombang lebih pendek (*hipsokromik*). Serapan puncak-puncak tersebut nampak pada Tabel 2.

Gambar 7 menunjukkan terjadi laju degradasi yang berbeda terhadap serapan panjang gelombang sampel klorofil yang diradiasi menggunakan lampu volpi dan UV. Berdasarkan hasil analisis menggunakan persamaan regresi linier, yaitu $y = a + bX$, lampu volpi menyebabkan penurunan absorbansi sebesar 80,87% di daerah Q_y pada panjang gelombang 663 nm. Selanjutnya, sampel klorofil yang diradiasi menggunakan lampu UV menyebabkan laju degradasi sebesar 72,27%. Fakta ini didukung oleh da Costa *et al.* (2008) yang menerangkan bahwa faktor eksternal sangat mempengaruhi stabilitas klorofil seperti cahaya dan oksigen.

Indikator lain yang menunjukkan peristiwa fotodegradasi ialah perubahan warna pada sampel klorofil yang diradiasi, yaitu terjadi *photobleaching*. Semakin banyak waktu radiasi, semakin kecil konsentrasi pigmennya, dan semakin kecil pula nilai absorbansinya.

KESIMPULAN

Telah diidentifikasi senyawa turunan sampel ekstrak pigmen klorofil *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J.Agardh, yaitu xantofil, klorofil *b*, klorofil *a*, dan feofitin. Bercak 1 berwarna kuning, memiliki nilai $R_f = 0,46$, diidentifikasi sebagai xantofil. Bercak 2 berwarna hijau kuning, memiliki nilai $R_f = 0,61$, diidentifikasi sebagai klorofil *b*, bercak 3 berwarna hijau biru, memiliki nilai $R_f = 0,69$, diidentifikasi sebagai klorofil *a*, dan bercak 4 berwarna hitam, memiliki nilai R_f sebesar 0,77, dan diidentifikasi sebagai feofitin.

Lampu volpi dan UV yang digunakan untuk meradiasi sampel pigmen klorofil telah menyebabkan reaksi *fotodegradasi*. Radiasi lampu volpi menyebabkan laju degradasi sampel klorofil sebesar 80,87%, sedangkan lampu UV menyebabkan laju degradasi sampel klorofil

sebesar 72,27% di daerah Q_y pada panjang gelombang 663 nm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Yheni Dwiningsih yang telah membantu analisis sampel di Laboratorium Pigmen UKSW Salatiga, Jawa Tengah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahdyanti, S., S. Pia, N. Dwihandita, A.S. Pambayu, dan R.F. Luhur. 2008. *Kapsularisasi ekstrak anggur laut (Caulerpa racemosa) sebagai sumber antioksidan alami*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bacon, K. 2001. *Photosynthesis: photobiochemistry and photobiophysics*. Advances photosynthesis 10. Netherland, Kluwer Academic Publishers.
- Budiyanto, A.W., dan L. Limantara. 2008. Aktivitas biologis feofitin sebagai penunjang kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami*. Salatiga, 5 September 2008. Hlm: 117-129.
- Campbell, A.N., B.J. Recce, dan G.L. Michell. 2002. *Biologi*. Erlangga. Jakarta.
- da Costa, J.F., F. Karwur, dan L. Limantara. 2008. Pengaruh lutein dan agrigasi klorofil dalam fotostabilitas klorofil a. *Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami*. Salatiga, 5 September 2008. Hlm: 164-180.
- Dhewi, W.C., dan M. Martosupono. 2008. Potensi pigmen feofitin dalam teh hijau sebagai senyawa antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami*. Salatiga, 5 September 2008. Hlm: 109-116.
- Dimara, L., dan T.N.B. Yenusi. 2011. Uji aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak pigmen klorofil rumput laut *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J.Agardh. *Jurnal Biologi Papua*. 3(2): 53-58.
- Dimara, L. 2009. *Pengaruh cahaya dan pH terhadap stabilitas pigmen klorofil lamun (Thalasia hemprichii) pada kedalaman berbeda di laut Bandengan, Jepara*. [Tesis]. Universitas Kristen Satya Wacana. [Indonesia].
- Fithriani, D. 2009. *Potensi antioksidan Caulerpa racemosa di perairan Teluk Hurun Lampung*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gross, J. 1991. *Pigments in vegetables: Chlorophylls and carotenoids*. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

- Heriyanto, S. Hartini, dan L. Limantara. 2006. *Kandungan klorofil, feofitin, dan feoforbid sawi jabung (Brassica juncea (L.) Czern. & Coss.) selama proses pengolahan dan penyimpanan sayur asin*. Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.
- Kusmita, L. 2007. *Formulasi metode ekstraksi pigmen klorofil*. [Tesis]. Universitas Kristen Satya Wacana. [Indonesia].
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-dasar fisiologi tumbuhan*. PT. Raja Garindo Persada. Jakarta.
- Limantara, L. 2007. Klorofil: Pigmen kehidupan. *Bios-Majalah Biologi Populer*. 1(1): 2-10.
- Nurchayanti, A.D.R., dan M. Martosupono. 2009. Menggali kandungan nutrisi dan manfaat kesehatan dari sayuran rumput laut. *Bios-Majalah Biologi Populer*. 3(1): 5-10.
- Nurdin, A. Khomsan, S.A Marliyati, F. Anwar, C.M. Kusharto, dan D.R. Agungpriyono. 2008. *Pengaruh pemberian bubuk ekstrak Cu-turunan klorofil daun cincau (Premna oblongifolia Merr.) terhadap Pc profil lipid darah kelinci*. Media Gizi dan Keluarga. Program Studi Pendidikan Kimia, FPIK Universitas Tadulako. Palu.
- Sajilata dan Singhal. 2006. Isolation and stabilisation of natural pigments for food application. *Stewart Postharvest Review*. 5: 11.
- Yenusi, N.T.B. 2011. *Fotostabilitas ekstrak kasar pigmen klorofil rumput laut Caulerpa racemosa (Forsskal) J. Agardh di perairan pulau insumbrei supiori dan sampel dagangan di Pasar Youtefa Abepura*. [Skripsi]. Universitas Cenderawasih, Jayapura. [Indonesia].