

UJI FOTOSTABILITAS TiO₂-KLOORIFIL DARI MIRKOALGA (*Chlorella* sp.)

Rahmi Pratiwi^{1*}, Nelly Wahyuni¹, Andi Hairil Alimuddin¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*email: pratiwi_mipakimia10@yahoo.co.id

ABSTRAK

Klorofil merupakan pigmen utama yang terdapat pada mikroalga (*Chlorella* sp.). Pigmen klorofil mudah terdegradasi akibat suhu, oksigen dan cahaya. Penambahan TiO₂ diketahui dapat meningkatkan fotostabilitas klorofil karena selain sebagai fotoprotektor, TiO₂ merupakan bahan semikonduktor yang umum digunakan dalam sel surya tersensitasi pewarna. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan fotostabilitas pigmen klorofil dari mikroalga (*Chlorella* sp.) dengan cara mengembangkannya pada titanium dioksida (TiO₂) melalui proses imobilisasi. Interaksi antara klorofil dan TiO₂ sebelum dan setelah imobilisasi, dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer inframerah (IR). Uji fotostabilitas TiO₂-klorofil dilakukan menggunakan sinar UV selama 12 jam secara kontinu dan penurunan konsentrasi klorofil akibat fotodegradasi dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektra IR menunjukkan bahwa imobilisasi TiO₂-klorofil ditandai dengan terjadinya penurunan signifikan puncak 3417,86 cm⁻¹ akibat ikatan hidrogen antara gugus amina (-NH) dengan gugus (TiO), penurunan pada puncak 1712,79 cm⁻¹ karena interaksi antara gugus karbonil (C=O) dengan gugus (TiO), dan adanya serapan pita Ti-O-O pada puncak 678,94 cm⁻¹. Uji fotostabilitas menunjukkan bahwa TiO₂-klorofil memiliki stabilitas yang lebih tinggi dibandingkan klorofil murni. Hal ini ditandai dengan nilai konstanta degradasi TiO₂-klorofil lebih kecil dibandingkan dengan absorbansi klorofil murni setelah iradiasi kontinu selama 12 jam. Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa imobilisasi pigmen klorofil pada TiO₂ mampu meningkatkan fotostabilitas pigmen klorofil.

Kata kunci: fotostabilitas, imobilisasi, klorofil, titanium dioksida (TiO₂)

PENDAHULUAN

Mikroalga (*Chlorella* sp.) merupakan salah satu famili *Chlorellaceae* dari ordo *Chlorococcales*. Mikroalga memiliki satu pigmen utama yaitu klorofil (0,5%-1% berat kering) dan dua pigmen pelengkap yaitu karotenoid (rata-rata 0,1-0,2% berat kering) dan fikobiliprotein/fikobilin (Sedjati *et al.*, 2012; Handayani dan Ariyanti, 2012).

Dalam proses fotosintesis, klorofil berperan sebagai penangkap cahaya, transfer energi dan dalam konversi cahaya serta dapat menyerap panjang gelombang maksimum antara 400-700 nm (Gross, 1991). Sifat ini menyebabkan klorofil memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai fotosensitizer. Potensi pemanfaatan klorofil secara *in vitro* telah banyak diteliti, misalnya sebagai fotosensitizer pada terapi kanker dan pada sel surya tersensitasi pewarna (Limantara *et al.*, 2009; Sulaeman *et al.*, 2007).

Namun demikian, klorofil dilaporkan mudah terdegradasi akibat adanya cahaya atau oksigen. Kurniawan *et al.* (2013) melaporkan bahwa klorofil yang diberi perlakuan pencahayaan memiliki kecepatan penurunan yang lebih tinggi daripada klorofil yang disimpan dalam keadaan gelap. Socaciu (2008) juga melaporkan bahwa degradasi klorofil-a akan membentuk senyawa yang mempunyai warna hijau yaitu klorofilid-a dan pada tahap selanjutnya akan menjadi senyawa tidak berwarna. Selain itu Hermawan *et al.*, (2010) menambahkan bahwa klorofil sangat mudah terdegradasi dengan membentuk feofitin karena hilangnya Mg pada rantai klorofil.

Usaha untuk meningkatkan fotostabilitas klorofil telah dilakukan, salah satunya adalah mengembankan klorofil dalam matriks padat. Barazzouk *et al.* (2012) telah mengembankan klorofil-a pada nanopartikel emas dan melaporkan bahwa fotodegradasi klorofil-a berlangsung lambat dengan kehadiran nanopartikel emas daripada

klorofil yang tidak diembankan. Pada penelitian ini dilakukan imobilisasi klorofil pada titanium dioksida. Selain sebagai fotoprotektor, titanium dioksida merupakan bahan semikonduktor yang umum digunakan dalam sel surya tersensitasi pewarna, Imobilisasi klorofil pada titanium dioksida diharapkan dapat meningkatkan fotostabilitas klorofil.

Penelitian ini difokuskan pada uji fotostabilitas klorofil dan klorofil yang diimobilisasi dengan titanium dioksida akibat iradiasi UV. Laju degradasi klorofil diamati secara spektrofotometri dengan membandingkan perbedaan absorbansi sebelum dan setelah proses iradiasi.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah neraca analitis, sentrifugasi, evaporator, kolom kromatografi, lampu ultraviolet (UV C Philips 15 Watt), spektrofotometer UV-Vis (Varian Carry 50) dan spektrofotometer FT-IR 8201PC Shimadzu dan alat-alat gelas.

Sampel yang digunakan adalah mikroalga basah *Chlorella* sp. dan titanium dioksida (TiO₂) proanalisa (Merck). Bahan kimia yang digunakan adalah akuades (H₂O), aseton (CH₃COCH₃), *n*-heksan, natrium sulfat anhidrat (Na₂SO₄), urea, NPK, TSP (*triple super phosphate*), plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), silika gel Si-60, dan gas N₂.

b. Prosedur Kerja

Kultur Mikroalga (*Chlorella* sp.)

Preparasi mikroalga dilakukan dengan mengadopsi metode Amini dan Sugiyono (2008) dimana kultur awal *Chlorella* sp. dilakukan di dalam 3 buah botol kaca 0,5 L dengan metode pengenceran. Media yang digunakan adalah air laut bersalinitas 10-35 ppt. Kemudian diberikan nutrisi atau pupuk, yaitu pupuk anorganik yang merupakan pupuk buatan, urea 150 ppm, NPK 10 ppm, dan TSP 3 ppm. Kultur dilakukan dengan pencahayaan dari lampu polikromatik 15 Watt dan aerasi. Mikroalga yang telah dikultur dipanen menggunakan metode sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit agar memperoleh pellet mikroalga.

Ekstraksi Pigmen Klorofil

Ekstraksi pigmen klorofil dilakukan dengan memodifikasi penelitian Christina *et al.*, (2008). Sebanyak 3 gram pelet dilarutkan dalam 30 mL campuran pelarut metanol dan aseton dengan perbandingan 7:3 (v/v). Ekstrak disaring dengan kertas saring, kemudian filtrat dipartisi dalam corong pisah menggunakan *n*-heksan. Lapisan atas ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat lalu disaring. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian dikeringkan dengan gas N₂.

Isolasi dan Karakterisasi Pigmen Klorofil

Isolasi dan karakterisasi pigmen klorofil dilakukan dengan memodifikasi penelitian Christina *et al.*, (2008). Ekstrak kasar klorofil selanjutnya dilakukan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel-60 dan fase gerak *n*-heksan dan aseton dengan perbandingan 7:3 (v/v). Masing-masing fraksi ditampung dalam botol sampel, kemudian dikeringkan dengan gas N₂. Dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis.

Imobilisasi TiO₂-klorofil

Dibuat sebanyak 25 mL larutan klorofil (0,02 mmol/L) dalam aseton dan ditambahkan titanium dioksida sebanyak 0,25 gr sedikit demi sedikit dan diaduk selama 24 jam dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu dikeringkan dengan gas N₂. Imobilisasi pigmen dilakukan diruangan tertutup dengan pencahayaan hijau. Produk imobilisasi dikarakterisasi dengan spektrofotometer IR.

Uji Fotostabilitas TiO₂-klorofil

Dibuat 25 mL klorofil dan TiO₂-klorofil dalam pelarut aseton. Sumber sinar berasal dari iradiasi sinar UV C Merck Philips 15 Watt. Pengamatan dilakukan setiap jam selama 12 jam secara kontinu dengan mengukur absorbansi maksimu masing-masing spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-700 nm. Perubahan spektra absorpsinya sebelum dan sesudah iradiasi kemudian diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui laju penurunan konsentrasi pigmen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur Mikroalga (*Chlorella* sp.)

Pengamatan pertumbuhan mikroalga dilihat setiap harinya, dari hari pertama hingga hari kesepuluh. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kepekatan warna kultur mikroalga berubah pada saat hari ke lima sampai kesepuluh. Semakin pekat warna yang dihasilkan oleh mikroalga diasumsikan semakin banyak biomassa (pelet) yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Widiyanto *et al* (2014), yang melaporkan bahwa kepadatan mikroalga yang ditumbuhkan dalam air laut meningkat 3 kali lipat dalam sehari. Hal ini berarti bahwa mikroalga yang ditumbuhkan akan meningkat menjadi 30 kali lipat daripada kultur awal. Kultur mikroalga yang telah dipanen kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol dan aseton (7:3) (V/V) ini bertujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar dari pigmen klorofil.



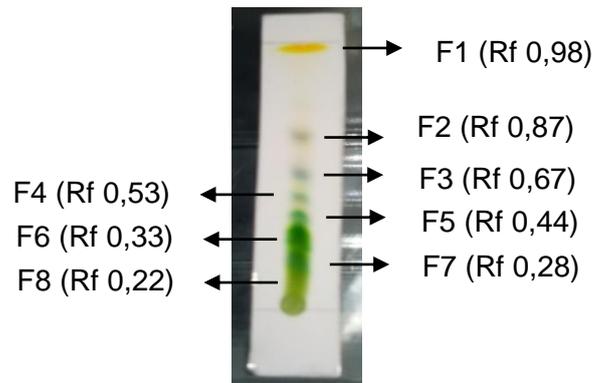
Gambar 1. Kultur Mikroalga (*Chlorella* sp.)

Isolasi dan Karakterisasi Pigmen Klorofil dari Mikroalga (*Chlorella* sp.)

Sebelum dilakukan proses isolasi, terlebih dahulu dilakukan kromatografi lapis tipis (KLT) tujuannya adalah untuk mengetahui komposisi pigmen yang terkandung didalam ekstrak kasar. Komposisi pigmen dianalisa berdasarkan warna dan nilai Rf dari setiap spot yang terbentuk (Jonshon, 2007).

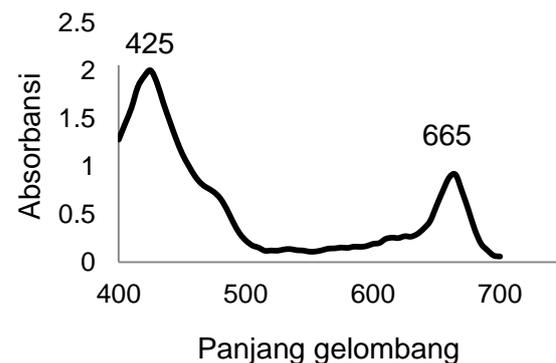
Berdasarkan hasil KLT menggunakan perbandingan eluen aseton dan *n*-heksan (3:7) (V/V) terdapat delapan spot yang dihasilkan. Menurut Heriyanto dan Limantara (2006) klorofil memiliki rentang nilai Rf dari 0,42 hingga 0,64. Sehingga dapat diketahui bahwa spot ketiga hingga keenam merupakan pigmen klorofil. Hasil KLT ini juga dapat memberikan informasi bahwa perlu dilakukan pemisahan komponen

dengan menggunakan kromatografi kolom agar diperoleh pigmen klorofil.



Gambar 2. KLT ekstrak kasar klorofil

Eluat yang ditampung, kemudian dihilangkan pelarutnya dan dikeringkan dengan gas N_2 . Fraksi pigmen klorofil yang diperoleh kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis (Gambar 3).



Gambar 3. Spektra UV-Vis klorofil dari kromatografi kolom

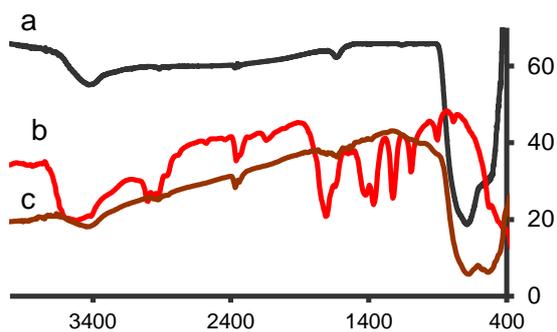
Gambar 3 menunjukkan spektrum khas klorofil karena adanya dua puncak pada panjang gelombang 425 nm dan 665 nm. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Barazzouk *et al* (2012) yang mengatakan bahwa, dengan pelarut aseton pigmen klorofil memiliki panjang gelombang maksimum pada daerah biru 423 nm dan daerah merah 665 nm. Klorofil yang diperoleh kemudian digunakan untuk proses imobilisasi dengan TiO_2 dan diuji fotostabilitasnya.

Imobilisasi Pigmen Klorofil pada Titanium Dioksida (TiO_2)

Proses imobilisasi berlangsung diruangan tertutup dengan pencahayaan hijau. Hal ini bertujuan untuk menghindari degradasi pigmen klorofil. Sebagaimana

yang telah diketahui bahwa sejumlah ikatan rangkap terkonjugasi yang dimiliki klorofil menyebabkan pigmen ini dapat menyerap berbagai jenis cahaya namun tidak untuk cahaya hijau.

Produk imobilisasi dikarakterisasi menggunakan metode spektrofotometri IR untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung di dalam sampel sebelum dan setelah terjadinya proses imobilisasi. Gugus fungsional memiliki serapan yang khas pada panjang gelombang atau bilangan gelombang (Fessenden dan Fessenden, 1986).



Gambar 4. Spektra inframerah TiO₂ (a), klorofil (b) dan TiO₂-klorofil (c)

Gambar 4 membuktikan bahwa telah terjadi proses imobilisasi antara klorofil dengan TiO₂. Hal ini ditunjukkan terjadinya penurunan intensitas puncak 3417,86 cm⁻¹ akibat terjadinya ikatan hidrogen antara gugus amina (-NH) pada struktur klorofil dengan gugus (-TiO) pada struktur kimia TiO₂ dan pada puncak 1712,79 cm⁻¹ karena adanya ikatan lain yang mungkin terjadi antara gugus karbonil (-C=O) pada struktur klorofil dengan gugus (-TiO) pada struktur kimia TiO₂.

Selain itu, pada spektrum TiO₂-klorofil (c) muncul serapan pada panjang gelombang 678,94 cm⁻¹ dimana pada serapan ini mengidentifikasi adanya serapan pita (Ti-O-O), sedangkan pada spektrum klorofil sebelum imobilisasi pada TiO₂ serapan ini tidak teramati. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa klorofil telah berinteraksi dengan TiO₂. Ikatan-ikatan tersebut dapat terjadi baik pada pori-pori maupun pada permukaan TiO₂.

Uji Fotostabilitas TiO₂-klorofil

Uji fotostabilitas bertujuan untuk mengetahui perubahan serapan atau absorbansi yang menginformasikan

kemampuannya dalam menyerap energi serta mengetahui laju degradasi klorofil dan pengaruh TiO₂ terhadap laju degradasi klorofil. Degradasi ditandai dengan berkurangnya absorbansi klorofil setelah diiradiasi. Hal ini disebabkan karena energi yang tinggi dari sinar UV mampu memutuskan ikatan-ikatan rangkap pada molekul-molekul organik (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Pada penelitian ini, kemampuan proteksi klorofil terhadap sinar UV ditentukan berdasarkan waktu yang diperlukan untuk terjadinya degradasi pigmen hingga absorbansi maksimum pada spektrum absorpsi sudah tidak teramati. Pigmen klorofil dalam pelarut aseton diiradiasi secara kontinu selama 12 jam karena waktu ini absorbansi maksimum pada spektra sudah tidak teramati. Hasil penelitian ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Barazzouk *et al* (2012) yang melaporkan bahwa terjadi penurunan absorbansi maksimum setelah klorofil diiradiasi oleh sinar UV selama 12 jam.

Tabel 1 dan 2 merupakan hasil uji fotostabilitas di dua panjang gelombang maksimum, yaitu 425 nm dan 665 nm terhadap sinar UV selama 12 jam secara kontinu menggunakan analisis spektrofotometer UV-Vis. Kemampuan fotostabilitas pigmen setelah diiradiasi dengan sumber sinar UV dapat ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang dihasilkan dari analisis spektrofotometer UV-Vis. Semakin besar nilai absorbansi maka semakin besar pula kemampuan fotostabilitas pigmen terhadap sinar UV. Sehingga dapat dikatakan terjadi peningkatan fotostabilitas.

Tabel 1. Absorbansi Klorofil dan TiO₂-klorofil

Waktu	Absorbansi pada panjang gelombang 425 nm	
	Klorofil	TiO ₂ -klorofil
1	2,022	2,101
2	2,003	2,070
3	1,989	2,027
4	1,873	1,929
5	1,742	1,879
6	1,601	1,730
7	1,683	1,643
8	1,509	1,553
9	1,503	1,491
10	1,405	1,356
11	1,317	1,266
12	1,134	1,236

Tabel 2. Absorbansi Klorofil dan TiO₂-klorofil
Absorbansi

Waktu	pada panjang gelombang 665 nm	
	Klorofil	TiO ₂ -klorofil
1	0,955	0,997
2	0,836	0,948
3	0,822	0,869
4	0,806	0,799
5	0,675	0,717
6	0,522	0,638
7	0,416	0,542
8	0,307	0,439
9	0,259	0,416
10	0,183	0,331
11	0,099	0,246
12	0,056	0,169

Tabel 3. Nilai Konstanta degradasi terhadap absorbansi maksimum klorofil dan TiO₂-klorofil

Keterangan	Konstanta Degradasi	
	λ 425 nm	λ 665 nm
Klorofil	0,057 jam ⁻¹	0,295 jam ⁻¹
TiO ₂ -klorofil	0,054 jam ⁻¹	0,167 jam ⁻¹

Tabel 3 merupakan nilai konstanta yang dihitung menggunakan reaksi orde satu. Berdasarkan nilai tersebut bahwa degradasi TiO₂-klorofil lebih kecil dibandingkan dengan klorofil. Hal ini disebabkan karena TiO₂ dapat melindungi klorofil dari pancaran sinar UV secara langsung. Pada proses imobilisasi klorofil diharapkan tidak hanya menempel atau melekat pada permukaan TiO₂ tetapi juga masuk kedalam pori-pori TiO₂ sehingga pada saat iradiasi, TiO₂ yang terlebih dahulu menyerap sinar. Meskipun energi sinar UV mampu memutuskan ikatan kovalen pada molekul klorofil namun tidak cukup mampu untuk memutuskan ikatan ionik pada molekul TiO₂. Syafaruddin (1994) mengatakan bahwa energi ikatan ionik jauh lebih besar daripada energi ikatan kovalen sehingga untuk memutuskan ikatan ionik juga dibutuhkan energi yang lebih tinggi. Sehingga pada saat iradiasi nilai absorbansi TiO₂-klorofil lebih tinggi daripada klorofil. Semakin tinggi nilai absorbansi semakin lama pula waktu yang dibutuhkan oleh pigmen klorofil untuk terdegradasi. Dengan kata lain peran sebagai protektor UV.

KESIMPULAN

Pengembangan klorofil pada TiO₂ dapat meningkatkan fotostabilitas dari klorofil.

Pengembangan ditandai dengan terjadinya ikatan hidrogen antara gugus amina (-NH) pada struktur klorofil dengan gugus (-TiO) pada struktur TiO₂ dan adanya ikatan lain yang mungkin terjadi antara gugus karbonil (-C=O) pada struktur klorofil dengan gugus (-TiO) pada struktur kimia TiO₂. TiO₂-klorofil memiliki stabilitas lebih tinggi dibandingkan klorofil murni setelah diiradiasi selama 12 jam secara kontinu.

DAFTAR PUSTAKA

Amini, S. dan Sugiyono. 2008. *Penelitian Mikroalgae Laut Jenis Spirulina plantensis dan Nannochloropsis Sebagai Sumber Biodisel*. Jakarta. Peneliti Balai Besar Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan Perikanan

Barazzouk, S., Bekale, L., and Hotchandani, S. 2012. *Enhanced Photostability of Chlorophyll-a using Gold Nanoparticles as an Efficient Photoprotector*. J. Material Chemistry. 22:25316-25324

Christina, R., H. Kristopo dan . Limantara. 2008. *Photodegradation and Antioxidant Activity of Chlorophyll a from Spirulina (Spirulina sp.) Powder*. Ind. J. Chem. 8 (2) : 236-241

Fessenden, R.J dan Fessenden, J.S, 1986, *Kimia Organik*, Edisi ke 3, Jilid 1, Erlangga, Jakarta

Gross, J. 1991. *Pigment in Fruits*. Academic Press. Hebrew University og Jerusalem, Israel.

Handayani, A. N. dan Ariyanti. D. 2012. *Potensi Mikroalga Sebagai Sumber Biomassa dan Pengembangan Produk Turunannya*. J. Teknik 33(2) ISSN 0852-1679

Heriyanto dan L. Limantara, 2006, *Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan Talipuri Cuscuta australis R.Br. dan Cassytha filiformis L.* Makara, Sains, 10(2) : 69-75

Hermawan, R , Hayati, E.K, Budi, US. 2010. *Effect of Temperature, pH on Total Concentration and Color Stability Anthocyanins Compound Extract Reselle Calyx (Hibiscus sabdariffa)*. J. Alchemy 2(1), hal 104-157

Johnson, R, 2007, *Identification of Leaf Pigment*. Colby. J. Res. Meth, 9:8-10.

- Kurniawan, M, P., Ma'aruf, W, F., Agustini, T, W. 2013. *Pengaruh Penambahan $MgCO_3$ dan $NaHCO_3$ dengan Perbedaan Pencahayaan Terhadap Stabilitas Pigmen Klorofil-a Mikroalga *Chlorella Vulgaris**. J. Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan 2(3): 25-33
- Limantara, L., Koehler, P., Wilhelm, B., Porra, R, J., and Shceer, H. 2006. *Photostability of Bacteriochlorophyll a and Derivatives: Potential Sensitizers for Photodynamic Tumor Therapy*. J. Photochemistry and Photobiology 82: 770-780.
- Sasri, R, 2012, Imobilisasi dan Karakterisasi Fotostabilitas Pigmen Bixin pada Kaolinit Teraktivasi Asam Klorida (HCL), Universitas Tanjungpura, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Pontianak, (Skripsi).
- Sedjati, S., Yudiati, E dan Suryono. 2012. *Propil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut Spirulina sp. dan Potensinya sebagai Pewarna Alami*. J. Ilmu Kelautan, 17(3): 176-181
- Socaciu, C. 2008. *Food Colorants : Chemical and Functional Properties*. University of Agricultural Science and Veterinary Medicine Cliy-Napoca, Romania.
- Sulaeman, U., Ruyani, K., Riapanitra. 2007. *Fotoreduksi Cd (II) Menggunakan Katalis TiO_2 dengan Sensitizer Klorofil yang Diaktivasi Sinar Matahari*. J. Molekul 2(1): 17-22
- Syarifuddin, 1994, *Ikatan Kimia*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Widiyanto, A, Susilo, B, dan Yulianingsih, R, 2014, *Studi Kultur Semi-Massal Mikroalga *Chlorella* sp pada Area Tambak dengan Air Payau (Di Desa Rayunggumuk, Kec. Glagah Kab, Lamongan)*. J. Bioproses Komoditas Tropis. 2 (1).