

DISTRIBUSI PIGMEN KAROTENOID PADA KEPITING *Grapsus* sp DENGAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

(Distribution of Carotenoid Pigments in *Grapsus* sp Crab Using Thin Layer Chromatography Method)

M.Ridha Abdi Abdullah^{1*}, Darus Saadah J. Paransa¹, Desy M.H. Mantiri¹, Esther Deilayani Angkow¹, Ping A. Angmalisang¹, Jopyy D. Mudeng²

1. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
2. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

*e-mail : ridhaabdullah637@gmail.com

Crustaceans are marine organisms with their own uniqueness, because their colorful visualization and recycling of trees can change skin. The specificity of the color of the crustaceans also attracts attention when cooking, which changes color to red. This phenomenon occurs because of the dyes contained by crustaceans and known as pigments. In general marine organisms referred to as crustaceans contain carotenoid pigments of various types and types. Carotenoid pigments are natural dyes (biochromes) commonly found in crustaceans. In previous studies showed that the determination of the type of pigment can be done using Thin Layer Chromatography (TLC) method. TLC is a fast and easy way to separate compounds in a sample. This method makes it easy for small-scale analysis because it only requires very few ingredients and the time required is very short, therefore to find out the distribution of carotenoid pigments in *Grapsus* sp crabs in this study using the TLC method. The results obtained from this study found that the distribution of carotenoid pigments in crabs Female sperm capsules were distributed in the type of pigment β -carotene, β -cryptoxanthine, astaxanthine and astacene type pigment, which were distributed to the carapace, epidermal layer, hepatopancreas and gonads of *Grapsus* sp. crabs.

Keywords: Carotenoids, Thin Layer Chromatography, *Grapsus* sp

Krustasea merupakan organisme laut dengan keunikan tersendiri, karena visualisasinya yang beraneka warna dan dalam daur hidupnya organisme ini dapat berganti kulit. Kekhasan warna yang dimiliki oleh krustasea juga menarik perhatian pada saat dimasak yakni berubah warna menjadi merah. Fenomena ini terjadi karena adanya zat warna yang dikandung oleh krustasea dan dikenal sebagai pigmen karotenoid. Pada umumnya organisme laut termaksud krustasea memiliki kandungan pigmen karotenoid dengan jenis dan tipe yang beragam. Pigmen karotenoid merupakan pewarna alami (biokrom) yang umumnya terdapat pada krustasea. Pada penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penentuan jenis pigmen dapat dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan cara cepat dan mudah untuk pemisahan senyawa pada suatu sampel berdasarkan polaritas. Metode ini memudahkan untuk analisis skala kecil karena hanya memerlukan bahan-bahan yang relatif sedikit dan juga waktu yang cukup singkat, maka dari itu untuk mengetahui distribusi pigmen karotenoid pada kepiting *Grapsus* sp dalam penelitian ini menggunakan metode KLT. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini ditemukan bahwa distribusi pigmen karotenoid pada kepiting *Grapsus* sp betina adalah jenis pigmen β -karoten, β -kriptoksantin, astaksantin dan pigmen tipe astasen, yang terdistribusi pada organ karapas, lapisan epidermis, hepatopankreas dan gonad dari kepiting *Grapsus* sp.

Kata kunci : Karotenoid, Kromatografi Lapis Tipis, *Grapsus* sp

PENDAHULUAN

Krustasea merupakan organism laut dengan keunikan tersendiri, karena visualisasinya yang memiliki warna yang menarik dan siklus hidup organism ini dapat berganti kulit. Kekhasan warna yang dimiliki oleh cangkang krustasea akan berubah warna menjadi merah pada saat dimasak. Perubahan warna yang tampak pada saat pemanasan, disebabkan ikatan antara senyawa protein dan karotenoid mengalami proses denaturasi sehingga terputus antara senyawa protein dan senyawa karotenoid. Menurut Mantiri *et al.* (2004) karotenoid adalah pigmen utama yang terdapat pada lapisan epidermis dan karapas krustasea adalah pigmen astaksantin yang berwarna merah. Pigmen astaxantin ditemukan pada krustasea *Homarus gammarus* sejak stadium embrio sampai larva, (Mantiri *et al.*, 1996). Ableson and Simon (1992) menyatakan bahwa krustasea memiliki kandungan pigmen karotenoid yang terdiri dari golongan karoten dan xantofil, xantofil memiliki jenis pigmen yang beragam. Hasil penelitian Paransa *et al.* (2002), menemukan pigmen jenis β -Karoten pada ekstrak pigmen total kepiting *Grapsus albolineatus* (Lamarck) betina yang ditangkap dari pesisir pantai Kalasey. Selanjutnya pada hasil penelitian Paransa (2005), ekstrak total organ karapas dari sampel kepiting *G. albolineatus* (Lamarck) Jantan yang ditangkap pada pesisir pantai Malalayang, Kota Manado mengandung jenis pigmen astaksantin. Thamin *et al.* (2006) menemukan pigmen jenis Astaksantin Diester, Astaksantin Monoester dan pigmen Astaksantin Bebas pada ekstrak pigmen total organ karapas dari kepiting *G. albolineatus* (Lamarck) jantan dan telah ditemukan pada lobste *H. gammarus* (Mantiri *et al.*, 1995). Pada hasil penelitian di atas, penentuan jenis pigmen pada tersebut di atas, pemisahan jenis pigmen menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berdasarkan polaritas. Menurut Stahl (1985), metode KLT merupakan cara cepat dan mudah untuk pemisahan senyawa pada suatu sampel. Metode ini memudahkan untuk analisis skala kecil karena hanya memerlukan bahan-bahan yang sangat sedikit dan waktu yang dibutuhkan sangat

singkat, oleh karena itu, untuk mengetahui distribusi pigmen karotenoid pada kepiting *Grapsus* sp dalam penelitian ini menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis.

METODE PENELITIAN

Lokasi yang dijadikan sebagai tempat pengambilan sampel adalah perairan berbatu Desa Manggatasik Kecamatan Tombariri Kabupaten Minahasa Propinsi Sulawesi Utara. Sampel yang telah diperoleh dari lokasi penelitian kemudian dibawa ke laboratorium Bioteknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT Manado untuk di lakukan penanganan sampel yang meliputi identifikasi sampel, ekstraksi, analisis jenis pigmen dengan metode KLT, identifikasi jenis pigmen, serta pengamatan jenis pigmen yang terdistribusi pada tiap organ kepiting *Grapsus* sp.

Penanganan sampel

Pengambilan sampel kepiting *Grapsus* sp. dilakukan pada malam hari dengan menggunakan alat bantu penerangan berupa senter, dan wadah untuk mengumpulkan sampel. Pengambilan sampel dilakukan secara langsung dengan tangan. Proses selanjutnya adalah identifikasi sampel berdasarkan panduan (Majchacheep 1989). Sampel kepiting *Grapsus* sp kemudian dibedah untuk diambil organ dalam seperti lapisan epidermis, hepatopankreas, gonad, dan hemocyanin, serta organ luar seperti karapas. Selanjutnya dilakukan ekstraksi pada tiap organ dengan larutan organik.

Ekstaksi

Proses ekstraksi yang dilakukan menurut Mantiri, (1997). Setiap organ kepiting yang diperoleh digerus sampai jaringan berwarna putih. Khusus pada organ karapas, direndam dengan HCL selama tiga menit. Masing masing organ yang telah digerus, ditambahkan larutan aseton sebanyak 10 ml, kemudian disaring dan ditampung ke dalam labu pemisah. Kemudian ditambahkan larutan petroleum eter, diamkan sampai terjadi pemisahan. Setelah terjadi pemisahan, lapisan bagian

bawah dibuang dan lapisan bagian atas diambil sebagai ekstrak pigmen total.

Analisis Jenis Pigmen

Pigmen total pada tiap organ kemudian di analisis jenis pigmen berdasarkan polaritas menggunakan metode pemisahan Kromatografi Lapis Tipis dengan menggunakan fase diam berupa plat silika gel Tipe 60 dan fase gerak (larutan pengembang) PE : Aseton dengan perbandingan 80 : 20 (Mantiri, *et al.*, 1995). Plat silika gel sebagai fase diam dipanaskan terlebih dahulu selama 24 jam. Selanjutnya dibuat garis horizontal untuk spot awal, serta garis akhir sebagai batas larutan pengembang naik. Sampel pigmen total ditotolkan pada garis awal. Setelah sampel ditotolkan, masukan kromatogram ke dalam camber yang berisi larutan pengembang PE: Aseton (80:20). Setelah larutan pengembang naik sampai ke batas akhir, kemudian angkat plat kromatogram dari camber. Apabila sudah terjadi pemisahan di atas plat kromatogram, hitung nilai Rf (*Retention factor*) untuk mengetahui batas migrasi pigmen. Perhitungan nilai Rf berdasarkan perhitungan matematis (Rohman 2009). Hasil fraksi yang terbentuk di atas plat kromatogram diisolasi berdasarkan lapisan yang terbentuk dan dilarutkan dengan aseton sebanyak 2 ml. Hasil isolasi fraksi-fraksi tersebut, kemudian diserap dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 380-550 nm. Bentuk kurva dan serapan maksimum pada tiap fraksi yang diperoleh dapat menunjukkan jenis pigmennya berdasarkan buku panduan Britton *et al.* (1995) dan Britton *et al.* (2004). Distribusi pigmen karotenoid dari organ-organ *Grapsus* sp. dapat dilihat pada dokumentasi plat kromatogram (Gambar 1).

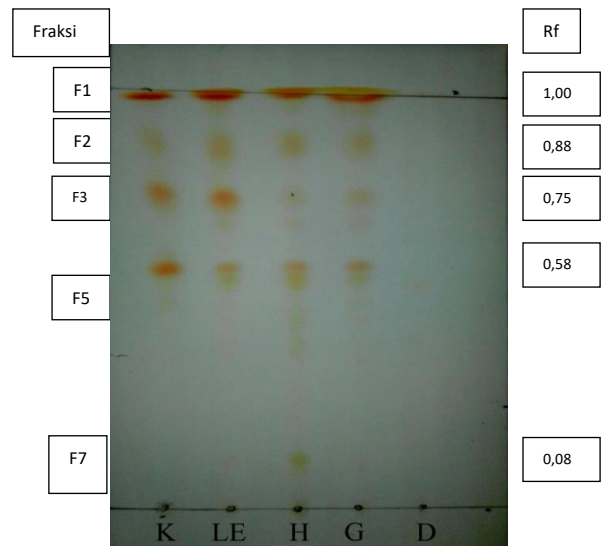
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel kepiting yang ditangkap di pesisir pantai Mangatasik Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara memiliki

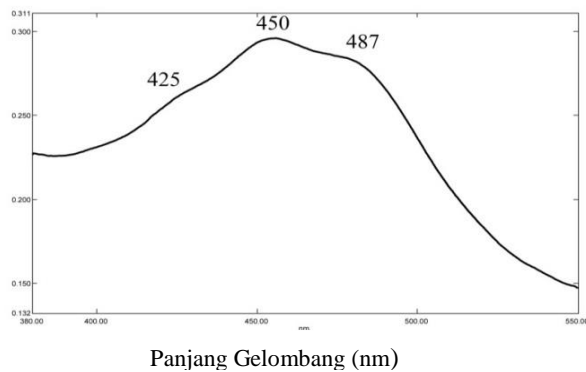
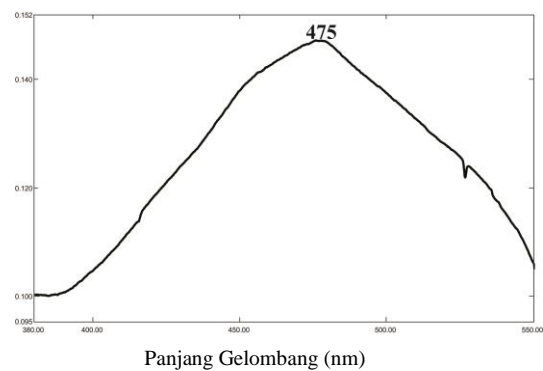
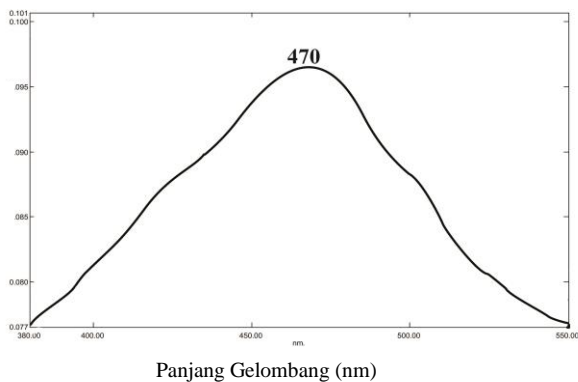
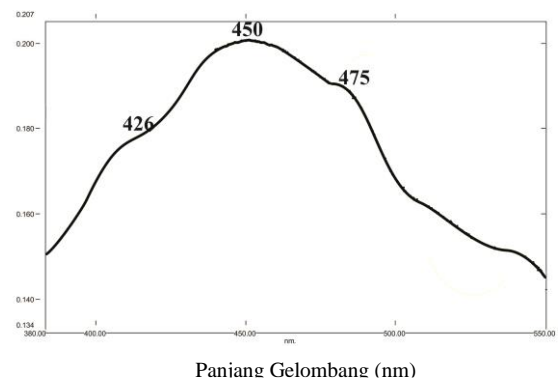
ciri-ciri pada karapas berbentuk konveks sirkular dengan ukuran lebar 4 cm dan lebih lebar dari pada panjang karapas. Pada bagian anterior di antara mata terbagi atas empat lobes. Pada pasangan kaki jalan yang pertama adalah yang paling pendek dengan barisan setae yang tampak pada batas ventral dari kaki jalannya. Pada permukaan dorsal tampak garis longitudinal berwarna ungu kemerahan. Ciri ciri sampel seperti ini menurut Majchacheep (1989), teridentifikasi sebagai *Grapsus* sp. (Lamarck) dan berjenis kelamin betina. Untuk mengetahui distribusi pigmen dari masing-masing organ pada tiap organ kepiting *Grapsus* sp. (Lamarck) betina, selanjutnya diekstraksi untuk diperoleh pigmen total, kemudian difraksinasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis larutan pengembang PE : Aseton perbandingan (80:20).

Analisis Jenis Pigmen pada Ekstrak Pigmen Total Organ Kepiting *Grapsus* sp. (Lamarck) Betina.

Hasil pemisahan pigmen dengan KLT pada tiap organ kepiting *Grapsus* sp. (Lamarck) betina yang menghasilkan 7 fraksi (Gambar 1). Hasil serapan maksimum spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Kromatogram pemisahan pigmen pada ekstrak tiap organ kepiting *Grapsus* sp. (Lamarck) betina.

Fraksi 1 pigmen β – Karoten.Fraksi 2 pigmen β – Kriptoksantin.

Fraksi 3 pigmen Akstaksantin

Fraksi 5 pigmen Astasen

Gambar 2. Hasil serapan maksimum spektrofotometer fraksi 1 – fraksi 5 yang teridentifikasi.

Kromatogram pada Gambar 1. menunjukkan terjadinya pemisahan senyawa dari ekstrak pigmen total. Hasil migrasi membentuk fraksi-fraksi berdasarkan polaritas senyawa. Menurut Landrum (2010), pigmen karotenoid merupakan senyawa yang bersifat non polar dari hasil ekstrak pelarut organik (metanol, etanol, aseton). Perbedaan polaritas antara plat silika gel dengan senyawa pigmen akan megakibatkan migrasi senyawa pigmen naik ke atas plat silika gel. Hasil serapan maksimum spektrofotometer yang membentuk kurva dengan satu atau lebih puncak, digunakan untuk identifikasi jenis pigmen (Britton *et al.*, 1995). Seperti pada (Gambar 2) di atas, menunjukkan puncak pada kurva dapat digunakan untuk identifikasi jenis pigmen.

Fraksi 1

Pada fraksi 1 pada plat silika gel, berwarna oranye, dengan nilai R_f 1,00 dan hasil serapan maksimum spektrofotometer pada panjang gelombang 425-450-487 nm (Gambar 2). Hasil kromatogram dan hasil serapan maksimum spektrofotometer menurut Britton *et al.* (1995) teridentifikasi sebagai jenis pigmen β -Karoten. Makalalag *et al.* (2017) juga menemukan pigmen jenis β -Karoten pada fraksi 1 dari ekstrak pigmen total kepiting *G.albolineatus* (Lamarck) betina yang ditangkap dari perairan Desa Tanawangko. Britton *et al.* (2004) menyatakan bahwa β -Karoten secara umum ditemukan pada fraksi 1, hal ini dikarenakan β -Karoten memiliki sifat non polar sehingga mampu bermigrasi naik ke atas dari plat silika gel yang bersifat polar.

Fraksi 2

Fraksi 2 (Rf 0.88) berwarna oranye di atas plat silika gel memiliki puncak serapan maksimum spektrofotometer pada panjang gelombang 426, 450, 475 nm. Menurut Britton *et al.* (1995). hasil dari pemisahan KLT dan serapan maksimum spektrofotometer teridentifikasi sebagai jenis pigmen β -Kriptosantin. Landrum (2010) menyatakan bahwa β -Kriptosantin masih berkaitan dengan β -Karoten, karena metabolisme pigmen β -Karoten menerima gugus hidroksi pada siklik sebelah kiri sehingga terbentuklah pigmen β -Kriptosantin.

Fraksi 3

Fraksi ke-3 tampak berwarna kemerahan di atas plat silika gel dengan nilai migrasi senyawa pada Rf 0,75 dan hasil serapan spektrofotometer terbentuk satu puncak pada panjang gelombang 470 nm. Menurut Britton *et al.* (1995) pada panjang gelombang tersebut teridentifikasi sebagai jenis pigmen Astaksantin.

Hasil penelitian Thamin *et al.* (2006), pada ekstrak pigmen total dari organ karapas dan Lapisan epidermis kepiting *G. albolineatus* jantan dari pesisir pantai Malalayang Dua, Kota Manado teridentifikasi mengandung pigmen astaksantin monoester, astaksantin diester dan astaksantin bebas. Paransa (2005) jenis pigmen astaksantin di temukan pada kepiting *G.albolinetaus* jantan. Pigmen astaksantin ditemukan dari hasil pemisahan jenis pigmen dengan menggunakan dua jenis pengembang yaitu Petroleum eter dan Aseton dengan perbandingan 80:20 dan perbandingan 95:5. Pada hasil penelitian Paransa and Abdullah (2007), pigmen astaksantin ditemukan pada organ karapas, lapisan edipermis, hepatopankreas, hemocyanin dan gonad dari kepiting bakau *Scylla serrata* (forkal,1775) jantan yang di tangkap pada pesisir perairan Likupang. Menurut Landrum (2010), astaksantin merupakan jenis pigmen mayor yang terdapat pada krustasea terutama pada bagian karapas dan lapisan epidermis. Selain kepiting, kandungan pigmen akstaksantin juga terdapat pada alga, seperti penelitian hasil Fretes *et al.* (2012), menemukan kandungan pigmen astaksantin

pada alga merah spesies *Kappaphycus alvarezii*.

Fraksi 5

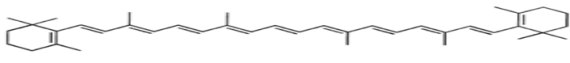
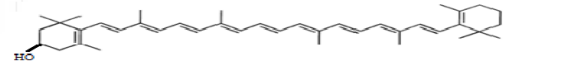


Fraksi 5 (Rf) 0,58 berwarna orange di atas plat silika gel, dan memiliki hasil serapan maksimum spektrofotometer membentuk 1 puncak pada panjang gelombang 475 nm fraksi ke lima teidentifikasi sebagai pigmen Tipe astacen. Hasil analisis jenis pigmen dengan metode Kromatografi Lapis Tipis pada fraksi ke 5 ini serupa dengan penelitian Makalalag *et al.* (2017), dimana jenis pigmen astasen ditemukan pada fraksi ke 3 dengan serapan maksimum spektrofotometer pada panjang gelombang 448 nm. Penelitian yang dilakukan Makalalag *et al.* (2017) menggunakan larutan pengembang yang bersifat non polar yaitu PE dan Aseton dengan perbandingan (95:5) dan berbeda dengan pengembang yang digunakan pada penelitian ini. Hasil penelitian Waworuntu (2003) juga pigmen tipe Astasen pada fraksi ke 3 ditemukan dari hasil ekstrak saponifikasi.

Distribusi Pigmen Karotenoid pada Tiap Organ Kepiting *Grapsus* sp. (Lamarck) Betina

Untuk mengetahui distribusi pigmen pada tiap organ karapas (K), lapisan epidsampel (LE), hepatopankreas (H), gonad (G), dan hemocyanin (D) kepiting *Grapsus* sp (Lamarck) betina dapat dilihat dari fraksi yang terbentuk pada plat kromatogram (Gambar 1). Pada tiap organ yang terbentuk fraksi adalah organ yang terdistribusi pigmen karotenoid.

Jenis pigmen yang terkandung pada ekstrak Pigmen Total kepiting tiap organ kepiting *Grapsus* sp (Lamarck) betina dari pesisir perairan pantai yang berbatu di desa Manggatasik Kabupaten Minahasa Sulawesi Utara terdistribusi pada organ karapas (K), lapisan epidermis (LE), hepatopankreas (H) dan gonad (G). Distribusi jenis pigmen dengan membentuk satu jalur metabolisme tampak pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Distribusi pigmen pada tiap organ dari kepiting *Grapsus sp* (Lamarck) betina.

Struktur Pigmen	Jenis Pigmen	Organ yang Terdistribusi Pigmen				
		K	LE	H	G	D
	β -karoten	*	*	*	*	
	β -kriptosantin	*	*	*	*	
	Astaksantin	*	*	*	*	
	Tipe astacen	*	*	*	*	
Keterangan : * adalah distribusi pigmen pada tiap organ kepiting <i>Grapsus sp</i> (Lamarck) Betina.						

Berdasarkan tabel 1, pada organ karapas, lapisan epidermis, hepatopankreas dan gonad terdistribusi pigmen jenis β -karoten, β -kriptosantin, astaksantin dan Tipe astacen. Pigmen β -karoten menerima gugus hidroksil pada satu sisinya sehingga terbentuk pigmen β -kriptosantin. Pigmen kriptosantin terdapat pada organ yang sama dengan jenis pigmen β -karoten. Pigmen β -kriptosantin menerima gugus karbonil pada rantai siklik sebelah kiri dan pada rantai siklik sebelah kanan menerima gugus karbonil dan gugus hidroksil secara bersamaan sehingga terbentuk pigmen mayor astaksantin. Terbentuknya pigmen astacen yang dikandung oleh spesies yang digunakan pada penelitian ini, dimana ikatan rangkap pada rantai siklik mengalami perpindahan dalam proses metabolismenya. Pada organ hemocyanin tidak ditemukan fraksi, hal ini diasumsikan bahwa kandungan pigmen telah tersebar pada organ organ yang membutuhkan jenis pigmennya (Britton *et al.*, 1995).

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Jenis pigmen yang teridentifikasi pada kepiting *Grapsus sp*. (Lamarck) betina dengan metode KLT ditemukan jenis pigmen β -karoten, β -

kriptosantin, astaksantin dan pigmen astacen. Distribusi jenis pigmen β -karoten, β -kriptosantin, astaksantin dan astacen terdistribusi pada karapas, lapisan epidermis, hepatopankreas, dan gonad.

DAFTAR PUSTAKA

- Abelson, N. J., Simon, M.I. 1992. Methods In Enzymology. Academic Press Limited, 3 : 213
- Britto, G., Jensen, L.S., Pfander, H. 1995. *Carotenoids*. Volume 1B Spectroscopy. Pengamon Press. University of Liverpool United Kindom.
- Britton, G. 1995. Carotenoids. Isolation and analysis. Vol 1 A. Britton G. Jensen S.L., Pafander, H. 2004. Carotenoids (Handbook) Pengamon Press. University of Liverpool United Kindom
- Landrum, J.T. 2010. Carotenoids Physical, Chemical, and Biological Fuction and Properties. CRC Press. New York.
- Marthen, P.I., Bennet. 1993. A Coral Reef Hand Book : A Guide To The Geology, Flora And Fauna Of The Great Barrier Reef. Published by surrey beatty sons pty limited Australia.
- Majchacheep, S. 1989. Marine Animal Of Thailand. Published By Prae Pittaya. Thailand.
- Mantiri, D.M.H., Nègre-Sadargues, G. Charmantier., Trilles J.C., Milicua G.R.,

- Castillo. 1996. Nature and Metabolism of Carotenoid Pigments during the Embryogenesis of the European Lobster *Homarus gammarus* (Linne, 1758). *Journal of Comparative Biochemistry and Physiology*, 3 (115) : 237-241.
- Mantiri, D.H.M. 1997. These. Nature, Localization et Metabolisme des Carotenoides et des Complexes Carotenoproteiques au Cours de L'Evolution Embryonnaire et Larvaire du Homard Europeen *Homarus gammarus*. Universite De Droit, D' Economie et des Sciences D' Aix Marseille.
- Mantiri, D.M.H., Nègre-Sadargues, G., Milicua J.C.G., Castillo, R. 2004. The Carotenoproteins During Embryogenesis and Larval Development of the European Lobster *Homarus Gammarus*. *Journal of Crustacean Biology*, 24 (4) : 592-602
- Makalalag, S., Paransa J.S.D., Mantiri, D.M.H. 2017. Penentuan Kandungan Pigmen Karotenoid pada Kepiting *Grapsus albolineatus* (Lamarck) Betina dari Perairan pesisir Pantai Tanawangko. *Jurnal pesisir dan Laut Tropis*, 3 (1) :1-9
- Paransa, D.S.J., Mantiri, D.M.H., Korompis, F. 2002. Penentuan Kandungan Pigmen Karotenoid Pada Kepiting *Grapsus alboneatus* (Lamarck) Betina Berdasarkan Beda Larutan Pengembang Pada Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 1 (3) : 1 – 10.
- Paransa, D.S.J. 2005. Pemurnian Jenis Pigmen Karotenoid Pada Kepiting *Grapsus albolineatus* (Lamarck) Jantan. *Jurnal Warta – Wiptek Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT Manado*.
- Paransa, D.S.J., Abdullah, Z. 2007. Isolasi Pigmen Karotenoid Pada Ekstrak Kepiting Bakau *Scylla serrata*. *Jurnal Warta- Wiptek*.
- Rohman, A. 2009. Kromatografi untuk Analisis Obat. Edisi Pertama-Graha Ilmu.
- Stahl, E. 1985. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Penerbit ITB Jl. Genesa Bandung.
- Thamin A. Umar C. Paransa, D.S.J. 2006. Analisis Pigmen dan Aktivitas Antibakteri In Vitro Pigmen Astaksantin Kepiting *Grapsus albolineatus* Lamarck Jantan. *Jurnal Perikanan*, 8(2):1-8.
- Wowaruntu, Eva S. 2003. Isolasi Ekstrak Pigmen Xantofil Pada Lapisan Epidermis Kepiting *Grapsus albolineatus* (Lamarck) Jantan Menggunakan Prinsip Saponifikasi. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT Manado.