

**LAPORAN**  
**PRAKTIKUM FISILOGI TUMBUHAN**  
**PIGMEN FOTOSINTETIK**

**OLEH :**

**NAMA** : TOMI ANUGRAH PRATAMA  
**NO.BP** : 07 133 022  
**KELOMPOK** : VII  
**ANGGOTA KELOMPOK** :  
1. RURY MAKHZUNI (07133011)  
2. GUSNIMAR (07133048 )  
3. DESRININGSIH (07133051)  
4. RESYA DEWI S. (05133054)  
5. RESTI AYU P. (07133066)  
**ASISTEN** : RANTIH FADHLYA ARDI



**LABORATORIUM FISILOGI TUMBUHAN**  
**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS ANDALAS**  
**PADANG, 2009**

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Fotosintesis adalah suatu proses yang hanya terjadi pada tumbuhan yang berklorofil dan bakteri fotosintetik, dimana energi matahari (dalam bentuk foton) ditangkap dan diubah menjadi energi kimia (ATP dan NADPH). Energi kimia ini akan digunakan untuk fotosintesa karbohidrat dari air dan karbon dioksida. Jadi, seluruh molekul organik lainnya dari tanaman disintesa dari energi dan adanya organisme hidup lainnya tergantung pada kemampuan tumbuhan atau bakteri fotosintetik untuk berfotosintesis. (Devlin, 1975).

Klorofil adalah pigmen hijau fotosintetis yang terdapat dalam tanaman, Algae dan Cynobacteria. nama "chlorophyll" berasal dari bahasa Yunani kuno : choloros= green (hijau), and phyllon= leaf (daun). Fungsi klorofil pada tanaman adalah menyerap energi dari sinar matahari untuk digunakan dalam proses fotosintetis yaitu suatu proses biokimia dimana tanaman mensintesis karbohidrat (gula menjadi pati), dari gas karbon dioksida dan air dengan bantuan sinar matahari. (Subandi, 2008).

Klorofil merupakan pigmen hijau tumbuhan dan merupakan pigmen yang paling penting dalam proses fotosintesis. Sekarang ini, klorofil dapat dibedakan dalam 9 tipe : klorofil a, b, c, d, dan e. Bakteri klorofil a dan b, klorofil chlorobium 650 dan 660. klorofil a biasanya untuk sinar hijau biru. Sementara klorofil b untuk sinar kuning dan hijau. Klorofil lain (c, d, e) ditemukan hanya pada alga dan dikombinasikan dengan klorofil a. bakteri klorofil a dan b dan klorofil chlorobium ditemukan pada bakteri fotosintesis. (Devlin, 1975).

Klorofil pada tumbuhan ada dua macam, yaitu klorofil a dan klorofil b. perbedaan kecil antara struktur kedua klorofil pada sel keduanya terikat pada protein. Sedangkan perbedaan utama antar klorofil dan heme ialah karena adanya atom magnesium (sebagai pengganti besi) di tengah cincin porfirin, serta samping hidrokarbon yang panjang, yaitu rantai fitol. (Santoso, 2004).

Kloroplas berasal dari proplastid kecil (plastid yang belum dewasa, kecil dan hampir tak berwarna, dengan sedikit atau tanpa membran dalam). Pada umumnya proplastid berasal hanya dari sel telur yang tak terbuahi, sperma tak berperan disini. Proplastid membelah pada saat embrio berkembang, dan berkembang menjadi kloroplas ketika daun dan batang terbentuk. Kloroplas muda juga aktif membelah, khususnya bila organ mengandung kloroplas terpajan pada cahaya. Jadi, tiap sel daun dewasa sering mengandung beberapa ratus kloroplas. Sebagian besar kloroplas mudah dilihat dengan mikroskop cahaya, tapi struktur rincinya hanya bias dilihat dengan mikroskop elektron. (Salisbury dan Ross, 1995).

Struktur klorofil berbeda-beda dari struktur karotenoid, masing-masing terdapat penataan selang-seling ikatan kovalen tunggal dan ganda. Pada klorofil, sistem ikatan yang berseling mengitari cincin porfirin, sedangkan pada karotenoid terdapat sepasang rantai hidrokarbon yang menghubungkan struktur cincin terminal. Sifat inilah yang memungkinkan molekul-molekul menyerap cahaya tampak demikian kuatnya, yakni bertindak sebagai pigmen. Sifat ini pulalah yang memungkinkan molekul-molekul menyerap energi cahaya yang dapat digunakan untuk melakukan fotosintesis. Persamaan antara spektrum tindakan fotosintesis dan spektrum absorpsi klorofil menunjukkan bahwa dalam proses itu pigmen yang paling penting ialah klorofil. Akan tetapi kedua spektrum itu tidak sama. Energi diserap oleh karotenoid diteruskan klorofil a, disini energi digunakan dalam fotosintesis. Klorofil b mempunyai fungsi yang sama. (Santoso, 2004).

Klorofil akan memperlihatkan fluoresensi, berwarna merah yang berarti warna larutan tersebut tidak hijau pada cahaya yang diluruskan dan akan merah tua pada cahaya yang dipantulkan. (Noggle dan Fritz, 1979).

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrofotometer dan fotometer akan menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang energi secara relatif. Jika energi tersebut ditransmisikan maka akan ditangkap oleh klorofil yang terlarut tersebut. Pada fotometer filter sinar dari panjang gelombang yang diinginkan akan diperoleh dengan berbagai filter yang punya spesifikasi melewati banyaknya panjang gelombang tertentu. (Noggle dan Fritz, 1979).

Sel penutup memiliki klorofil di dalam selnya sehingga dengan bantuan cahaya matahari akan sangat berpengaruh buruk pada klorofil. Larutan klorofil yang dihadapkan pada sinar kuat akan tampak berkurang hijaunya. Daun-daun yang terkena langsung umumnya akan tampak kekuning-kuningan, salah satu cara untuk dapat menentukan kadar klorofil adalah dengan metoda spektrofotometri (Dwijiseputro, 1981).

Semua klorofil atau karotenoid terbenam atau melekat pada molekul protein oleh ikatan nonkovalen. Secara keseluruhan, pigmen-pigmen kloroplas meliputi separuh dari kandungan kandungan lipida total pada membran tilakoid, sisanya adalah galaktolipida dan sedikit fosfolipida. Sterol sangat jarang dijumpai pada membran tilakoid. (Lakitan, 1993).

Beberapa karotenoid pada membran tilakoid juga mengirim energi eksitesinya ke pusat reaksi yang sama dengan klorofil. Secara in vitro, pigmen-pigmen yang berwarna kuning ini hanya menyerap cahaya biru dan ungu. Cahaya hijau, kuning, jingga dan merah dipantulkan oleh kedua pigmen ini. Kombinasi panjang gelombang yang dipantulkan oleh kedua pigmen karotenoid ini tampak berwarna kuning. Ada bukti yang menunjukkan bahwa beta-karoten lebih efektif dalam mentransfer energi ke kedua pusat reaksi dibanding lutein atau pigmen xanthofil yang disebut fucoxanthofil adalah sangat efektif dalam mentransfer energi. Di samping berperan sebagai penyerap cahaya, karotenoid pada tilakoid juga

berperan untuk melindungi klorofil dari kerusakan oksidatif oleh O<sub>2</sub>, jika intensitas cahaya sangat tinggi. (Lakitan, 2007).

Sejak tipe-tipe atom atau molekul yang sedikit berbeda pada tingkat energinya, yang substansi menyerap cahaya dengan suatu karakteristik panjang gelombang yang berbeda. Ini biasanya ditunjukkan selama penyerapan sinar pada tiap gelombangnya. Sebagai contoh, klorofil a sangat kuat pada panjang gelombang 660 nm pada sinar merah dan paling rendah pada panjang gelombang 430 nm pada sinar biru. Ketika gelombang itu berpindah maka sinar yang ada di sebelah kiri adalah sinar hijau yang bisa kita lihat. (Guilmond and Hopkins, 1983).

Daun dari kebanyakan spesies menyerap lebih dari 90 % cahaya ungu dan biru, demikian pula untuk cahaya jingga dan merah. Hampir seluruh penyerapan ini dilakukan oleh pigmen-pigmen pada kloroplas. Pada membran tilakoid, setiap foton dapat mengeksitasi satu elektron dari pigmen karotenoid atau klorofil. Klorofil berwarna hijau merupakan bukti bahwa pigmen ini tidak efektif untuk menyerap cahaya hijau. Cahaya hijau oleh klorofil dipantulkan atau diteruskan. Penyerapan relatif untuk setiap panjang gelombang oleh pigmen dapat diukur dengan spektrofotometer. (Lakitan, 2007).

## **1.2. Tujuan Praktikum**

Tujuan dari praktikum ini adalah untuk mempelajari dan memberikan latihan cara penggunaan spektrofotometer dan menentukan kadar klorofil daun.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

Pada proses fotosintesa, terjadi penangkapan energi cahaya oleh zat hijau daun untuk pembentukan bahan organik. Fotosintesa hanya terjadi pada tanaman yang memiliki sel-sel hijau termasuk pada beberapa jenis bakteri. (Darmawan dan Baharsyah, 1983).

Aksi dari cahaya hijau dan kuning yang menyebabkan fotosistem pada tumbuhan tingkat tinggi dan penyerapan panjang gelombang ini oleh daun sebenarnya relatif tinggi, lebih tinggi dari yang ditampakkan pada spektrum serapan klorofil dan karotenoid. Tetapi, bukan berarti bahwa ada pigmen lain yang berperan menyerap cahaya tersebut. Alasan utama mengapa spektrum aksi lebih tinggi dari spektrum serapan adalah karena cahaya hijau dan kuning yang tidak segera diserap akan dipantulkan berulang-ulang di dalam sel fotosintetik sampai akhirnya diserap oleh klorofil dan menyumbangkan energi untuk fotosintesis. (Lakitan, 2007).

Laju fotosintesis berbagai spesies tumbuhan yang tumbuh pada berbagai daerah yang berbeda seperti gurun kering, puncak gunung, dan hutan hujan tropika, sangat berbeda. Perbedaan ini sebagian disebabkan oleh adanya keragaman cahaya, suhu, dan ketersediaan air, tapi tiap spesies menunjukkan perbedaan yang besar pada kondisi khusus yang optimum bagi mereka. Spesies yang tumbuh pada lingkungan yang kaya sumberdaya mempunyai kapasitas fotosintesis yang jauh lebih tinggi daripada spesies yang tumbuh pada lingkungan dengan persediaan air, hara, dan cahaya yang terbatas. (Salisbury dan Ross, 1995).

Laju fotosintesis ditingkatkan tidak hanya oleh naiknya tingkat radiasi, tapi juga oleh konsentrasi  $\text{CO}_2$  yang lebih tinggi, khususnya bila stomata tertutup sebagian karena kekeringan. (Salisbury dan Ross, 1995).

Sifat cahaya sebagai partikel biasanya diekspresikan dengan pernyataan bahwa cahaya menyerpa sebagai foton (photon) atau kuantum, yang merupakan suatu paket diskrit dari energi, dimana masing-masing dikaitkan dengan panjang gelombang tertentu. Energi dalam tiap foton berbanding terbalik dengan panjang gelombang. Cahaya biru dan ungu dengan panjang gelombang yang lebih pendek memiliki lebih banyak foton energetik dibanding cahaya merah atau jingga dengan gelombang yang lebih panjang. (Lakitan, 2007).

Di dalam kloroplas ditemukan DNA, RNA, ribosom, dan berbagai enzim. Semua molekul ini sebagian besar terdapat di stroma, tempat berlangsungnya transkripsi dan

translasi. DNA kloroplas (genom) terdapat dalam 50 atau lebih lingkaran jalur ganda melilit dalam tiap plastid. Berbagai gen plastid menyandi semua molekul RNA-pemindahan (sekitar 30), dan molekul RNA-ribosom (empat) yang digunakan oleh plastid untuk translasi. Kira-kira 85 gen seperti ini menyandi protein yang terlibat dalam transkripsi, translasi, dan fotosintesis. Tapi, sebagian besar protein disandi oleh gen nukleus. (Salisbury dan Ross, 1995).

Warna daun berasal dari klorofil, pigmen warna hijau yang terdapat di dalam kloroplas. Energi cahaya yang diserap klorofil inilah yang menggerakkan sintesis molekul makanan dalam kloroplas. Kloroplas ditemukan terutama dalam sel mesofil, yaitu jaringan yang terdapat di bagian dalam daun. Karbon dioksida masuk ke dalam daun, dan oksigen keluar, melalui pori mikroskopik yang disebut stomata. (Campbell, dkk, 2002).

Antara klorofil a dan klorofil b mempunyai struktur dan fungsi yang berbeda, dimana klorofil a di samping bias menyerap energi cahaya, klorofil ini juga bias merubah energi cahaya dan tidak bisa merubahnya menjadi energi kimia dan energi itu akan ditransfer dari klorofil b ke klorofil a. Klorofil b ini tidak larut dalam etanol tapi dapat larut dalam ester, dan kedua jenis klorofil ini larut dalam senyawa aseton (Devlin, 1975).

Fotosintesis hanya berlangsung pada sel yang memiliki pigmen fotosintetik. Di dalam daun terdapat jaringan pagar dan jaringan bunga karang, pada keduanya mengandung kloroplast yang mengandung klorofil/pigmen hijau yang merupakan salah satu pigmen fotosintetik yang mampu menyerap energi cahaya matahari. (Subandi, 2008).

Cahaya putih mengandung semua warna spektrum kasat mata dari merah-violet, tetapi seluruh panjang gelombang umumnya tidak diserap dengan baik secara merata oleh klorofil. Adalah mungkin untuk menentukan bagaimana efektifnya setiap panjang gelombang (warna) diserap dengan menggunakan suatu larutan klorofil dengan cahaya monokromatik (cahaya berwarna satu). (Kimball, 2000).

Dilihat dari strukturnya, kloroplas terdiri atas membran ganda yang melingkupi ruangan yang berisi cairan yang disebut stroma. Membran tersebut membentuk suatu sistem membran tilakoid yang berwujud sebagai suatu bangunan yang disebut kantung tilakoid. Kantung-kantung tilakoid tersebut dapat berlapis-lapis dan membentuk apa yang disebut grana. Klorofil terdapat pada membran tilakoid dan perubahan energi cahaya menjadi energi kimia berlangsung dalam tilakoid, sedang pembentukan glukosa sebagai produk akhir fotosintesis berlangsung di stroma. (Subandi, 2008).

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan klorofil antara lain gen, bila gen untuk klorofil tidak ada maka tanaman tidak akan memiliki klorofil. Cahaya, beberapa tanaman dalam pembentukan klorofil memerlukan cahaya, tanaman lain tidak memerlukan cahaya. Unsur N, Mg, Fe merupakan unsur-unsur

pembentuk dan katalis dalam sintesis klorofil. Air, bila kekurangan air akan terjadi desintegrasi klorofil. (Subandi, 2008).

Semua tanaman hijau mengandung klorofil a dan klorofil b. Klorofil a terdapat sekitar 75 % dari total klorofil. Kandungan klorofil pada tanaman adalah sekitar 1% basis kering. Dalam daun klorofil banyak terdapat bersama-sama dengan protein dan lemak yang bergabung satu dengan yang lain. Dengan lipid, klorofil berikatan melalui gugus fitol-nya sedangkan dengan protein melalui gugus hidrofobik dari cincin porifin-nya. Rumus empiris klorofil adalah  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$  (klorofil a) dan  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$  (klorofil b). (Subandi, 2008).

### III. PELAKSANAAN PRAKTIKUM

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Praktikum pigmen fotosintetik ini dilaksanakan pada hari Rabu tanggal April 2009 di laboratorium fisiologi tumbuhan Universitas Andalas.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada percobaan ini adalah spektronik 20 Bausch and Lomb, lumpang porselin, kertas saringan, sentrifuge, erlenmeyer, cuvet, saringan Buchner, pisau, koin, gunting, kertas kromatografi, penggaris, dan benang. Sedangkan bahan yang digunakan adalah daun tanaman *Bougenvillia spectabilis*, aseton 80 %, larutan kromatografi campuran petroleum eter dan aseton (9 : 1 atau 7 : 3).

#### 3.3 Cara kerja

##### Percobaan a. Penentuan kadar klorofil dengan spektrofotometer

Ditimbang daun segar sebanyak 0,5 gram. Dirajang kecil-kecil lalu digerus dengan aseton 80 % sebanyak 50 mL sampai ampas putih. Ekstrak dimasukkan ke dalam gelas ukur dan dicukupkan 25 mL dengan penambahan aseton 80 %. Larutan disentrifuge selama 15 menit dan supernatan dipindahkan ke dalam kuvet. Dilakukan pengukuran nilai absorban dengan spektrofotometer 20 Bausch and Lomb dengan panjang gelombang 645 nm dan 663 nm. Dihitung kandungan klorofil dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Klorofil total} = [20,2 (D645) + 8,02 (D663)] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Klorofil a} = [12,7 (D663) - 2,69 (D645)] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Klorofil b} = [22,9 (D645) - 4,68 (D663)] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

##### Percobaan b. Pemisahan pigmen fotosintesis metode kromatografi kertas

Disiapkan kertas saring ukuran 2 x 17 cm dengan 1 cm di bagian bawah dibuat meruncing dan diujung atasnya dier benang dan diberi garis batas pelarut naik maksimal 15 cm dari















