

**ISOLASI SENYAWA FUCOXANTHIN DARI ALGA
COKLAT SPESIES *Sargassum Sp.* ASAL
KABUPATEN TAKALAR**

**ISOLATION OF FUCOXANTHIN COMPOUNDS FROM
BROWN ALGAE SPECIES *Sargassum Sp.* FROM
TAKALAR DISTRICT**

**ASMARIA
N011 19 1129**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI SENYAWA FUCOXANTHIN DARI ALGA COKLAT SPESIES
Sargassum Sp. ASAL KABUPATEN TAKALAR**

**ISOLATION OF FUCOXANTHIN COMPOUNDS FROM BROWN ALGAE
SPECIES *Sargassum Sp.* FROM TAKALAR DISTRICT**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**ASMARIA
N011 19 1129**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

ISOLASI SENYAWA FUcoxANTHIN DARI ALGA COKLAT SPESIES

Sargassum cinereum ASAL KABUPATEN TAKALAR

ASMARIA

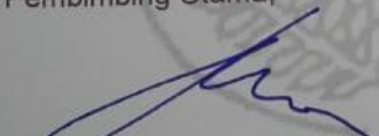
N011 19 1129

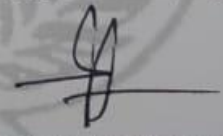
UNIVERSITAS HASANUDDIN

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc., Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19750925 200112 1 002

Pada tanggal 09 Maret 2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI SENYAWA FUcoxANTHIN DARI ALGA COKLAT SPESIES *Sargassum cinereum* ASAL KABUPATEN TAKALAR

ISOLATION OF FUcoxANTHIN COMPOUNDS FROM BROWN ALGAE SPECIES *Sargassum cinereum* FROM TAKALAR DISTRICT

Disusun dan diajukan oleh:

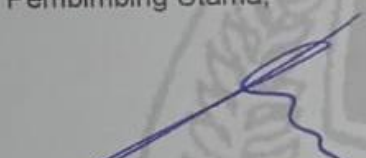
**ASMARIA
N011 19 1129**

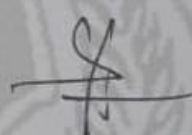
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Studi Farmasi fakultas Farmasi universitas Hasanuddin Pada tanggal 01 Maret 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

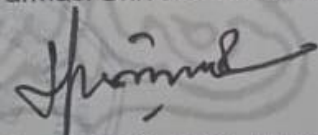
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19750925 200112 1 002.

Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt
NIP. 198601162 201012 2 009



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

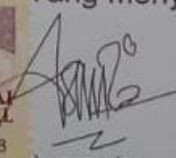
Nama : Asmaria
Nim : N011 19 1129
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Isolasi Senyawa Fucoxanthin dari Alga Coklat Spesies *Sargassum Sp.* Asal Kabupaten Takalar" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 09 Maret 2023

Yang menyatakan,




Asmaria
N011191129

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah swt, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada

1. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Prof. Subehan, M.Pharm.Sc.,Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas membimbing, mengarahkan, memberikan motivasi, meluangkan waktu serta tenaga kepada penulis dalam penelitian hingga penyusunan skripsi.
2. Bapak Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. dan Bapak Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. Selaku penguji atas saran dan masukan yang diberikan kepada penulis baik untuk penelitian maupun penulisan skripsi
3. Dekan dan wakil dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala bentuk fasilitas yang diberikan kepada penulis

4. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan masukan dan bantuan selama proses studi hingga penyelesaian skripsi penulis
5. Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu, motivasi, dan segala bentuk dukungan lainnya selama proses studi hingga penyelesaian skripsi
6. Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Laboratorium Farmasetika, dan seluruh staf Fakultas Farmasi yang telah memberikan fasilitas dan ilmu selama proses studi, penelitian hingga penyelesaian skripsi.
7. Ibunda dan adik tercinta, Ibu Hasnah dan Muhammad Anjas yang senantiasa mendoakan, mendukung, membantu dan memberikan motivasi dengan sangat ikhlas kepada penulis mulai dari studi hingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi.
8. Teman-teman penelitian alga coklat asal Kabupaten Takalar, Putri Ardinasrayanti, Rabihul Fauziah dan Fitrah Prana Mulya yang telah membantu dalam penelitian maupun penyusunan skripsi
9. Teman-teman Until Jannah (Wahda, Ara, Ucha, Amel, Aulia, Nadiyah, Pebbi, Alya, Salwa, Atikah, Finsyani, Yusnita dan Rabihul) dan teman dekat (Gustia, Icha, Endang dan Kiki) atas semua dukungan dan motivasi yang diberikan
10. Angkatan 2019 (DEXIGEN), SEROJA kelas C, Korps Asisten Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, BEM-KEMAFAR UH, dan UKM CRITIS atas semua ilmu dan pengalaman yang diberikan.

11. Serta pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.

Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar, 09 Maret 2023

Asmaria

ABSTRAK

ASMARIA. *Isolasi Senyawa Fucoxanthin dari Alga Coklat Spesies Sargassum Sp. Asal Kabupaten Takalar (Dibimbing oleh Muhammad Raihan dan Prof. Subehan).*

Sargassum Sp. merupakan salah satu spesies alga coklat yang ditemukan di Kabupaten Takalar provinsi Sulawesi Selatan. Salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada *Sargassum Sp.* yaitu fucoxanthin. Fucoxanthin berasal dari biosintesis karotenoid dengan struktur yang unik dan memiliki manfaat di bidang kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi fucoxanthin dari *Sargassum Sp.* yang berasal dari Kabupaten Takalar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstraksi (maserasi), partisi ekstraksi cair-cair, kromatografi cair vakum, kromatografi kolom konvensional, kromatografi lapis tipis, kromatografi lapis tipis preparatif, spektrofotometri Uv-Vis dan FTIR. Hasil yang diperoleh yaitu isolat sebanyak 90 mg memiliki nilai Rf 0,38 dan warna yang sama dengan baku pembandingan. Panjang gelombang maksimal isolat yaitu 447 nm. Gugus fungsi isolat terdiri dari OH (3346,61 cm^{-1}); CH (2945,40; 2831,60; 2594,34; 2522,98 cm^{-1}); C=C=C (2044,61 cm^{-1}); C=O (1761,20 cm^{-1}); C=C (1454,38; 1419,66 cm^{-1}); dan CO (1114,89; 1030,02 cm^{-1}). Hasil Penelitian menunjukkan bahwa isolat yang diisolasi memiliki karakteristik KLT, Spektrofotometri UV-Vis dan FTIR yang mirip dengan senyawa fucoxanthin.

Kata kunci: *Sargassum Sp.*, Fucoxanthin, Isolasi, KLT, Spektrofotometri UV-Vis, FTIR

ABSTRACT

ASMARIA. *Isolation of Fucoxanthin Compounds from Brown Algae Sargassum Sp. Species from Takalar District (Supervised by Muhammad Raihan and Prof. Subehan).*

Sargassum Sp. is a brown alga found in Takalar District, South Sulawesi province. One of the secondary metabolites found in *Sargassum Sp.* is fucoxanthin. Fucoxanthin is derived from carotenoid biosynthesis with a unique structure and has health benefits. This study aims to isolate fucoxanthin from *Sargassum Sp.* originating from Takalar District. The methods used in this study were extraction (maceration), liquid-liquid extraction partition, vacuum liquid chromatography, conventional column chromatography, thin-layer chromatography, preparative thin-layer chromatography, Uv-Vis spectrophotometry, and FTIR. The results obtained were 90 mg of had an Rf value of 0,38 and the same color as the fucoxanthin standard. The maximum wavelength is 447 nm. The isolate functional group consists of OH (3346.61 cm^{-1}); CH (2945.40; 2831.60; 2594.34; 2522.98 cm^{-1}); C=C=C (2044.61 cm^{-1}); C=O (1761.20 cm^{-1}); C=C (1454.38; 1419.66 cm^{-1}); and CO (1114.89; 1030.02 cm^{-1}). The results showed that the isolated had similar TLC, spectrophotometry UV-Vis and FTIR characteristics to the fucoxanthin compound.

Keywords : *Sargassum Sp.*, Fucoxanthin, Isolation, TLC, UV-Vis Spectrophotometry, FTIR

DAFTAR ISI

| | |
|---------------------------------|-------|
| UCAPAN TERIMA KASIH | vi |
| ABSTRAK | ix |
| ABSTRACT | x |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xviii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| I.1 Latar Belakang | 1 |
| I.2 Rumusan Masalah | 3 |
| I.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| II.1 Uraian Tanaman | 4 |
| II.1.1 Klasifikasi | 4 |
| II.1.2 Morfologi Tanaman | 4 |
| II.1.3 Kandungan Senyawa | 5 |
| II.2.4 Aktivitas Farmakologi | 5 |
| II.2 Ekstraksi | 6 |
| II.3 Ekstraksi Cair-Cair | 7 |
| II.4 Metode Kromatografi | 8 |
| II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis | 8 |

| | |
|--|----|
| II.4.2 Kromatografi Cair Vakum | 10 |
| II.4.3 Kromatografi Kolom Konvensional | 11 |
| II.4.4 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif | 12 |
| II.5 Fucoxanthin | 13 |
| II.6 Spektrofotometri UV-VIS | 15 |
| II.7 Spektroskopi Fourier Transform Infrared | 16 |
| II.8 Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance | 18 |
| II.8.1 Proton-NMR | 18 |
| II.8.2 Carbon-NMR | 19 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 20 |
| III.1 Alat dan Bahan | 20 |
| III.2 Metode Penelitian | 20 |
| III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel | 20 |
| III.2.2 Ekstraksi Sampel | 20 |
| III.2.3 Penguapan Pelarut | 21 |
| III.2.4 Partisi Ekstrak | 21 |
| III.2.5 Fraksinasi | 21 |
| III.2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) | 23 |
| III.2.7 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dan Purifikasi | 23 |
| III.3 Karakterisasi | 23 |
| III.3.1 Analisis Spektrofotometri UV-VIS | 23 |
| III.3.2 Analisis Gugus Fungsi Fucoxanthin FTIR <i>Spectroscopy</i> | 24 |
| BAB IV PEMBAHASAN | 25 |

| | |
|---|----|
| IV.1 Ekstraksi dan Partisi | 25 |
| IV.2 Fraksinasi | 27 |
| IV.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif | 29 |
| IV.4 Spektrofotometri UV-Vis | 31 |
| IV.5 Spektroskopi FTIR | 31 |
| BAB V PENUTUP | 33 |
| V.1 Kesimpulan | 33 |
| V.2 Saran | 33 |
| DAFTAR PUSTAKA | 35 |
| LAMPIRAN | 41 |
| Lampiran 1. Skema Kerja | 41 |
| Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian | 42 |
| Lampiran 3. Hasil Karakterisasi Spektrofotometri UV-Vis | 44 |
| Lampiran 4. Hasil Karakterisasi Spektroskopi FTIR | 45 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Spesies alga coklat dan konsentrasi fucoxanthin | 14 |
| 2. ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa fucoxanthin | 19 |
| 3. Perbandingan eluen KCV | 22 |
| 4. Hasil FTIR isolat fucoxanthin <i>Sargassum Sp.</i> | 33 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. <i>Sargassum Sp.</i> | 4 |
| 2. Ilustrasi analit dan eluen pada lempeng KLT | 9 |
| 3. Alat KCV | 11 |
| 4. Simulasi kromatografi kolom | 12 |
| 5. KLTP | 12 |
| 6. Struktur fucoxanthin dan metabolitnya (fucoxanthinol) | 13 |
| 7. Spektrofotometri UV-Vis | 15 |
| 8. Daerah spektrum tengah | 17 |
| 9. Rangkaian alat NMR | 18 |
| 10. Profil KLT UV 254 (a) dan UV 366 (b) hasil partisi A= ekstrak larut etil asetat; B= baku fucoxanthin ; C= Ekstrak larut air. Dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1). | 26 |
| 11. Profil KLT hasil fraksinasi dengan KCV ekstrak larut etil asetat pada lampu UV 254 (a) dan UV 366 (b) yang dibandingkan dengan baku fucoxanthin =B. Dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1). | 27 |
| 12. Profil KLT (A) fraksi nomor 6-7; (B) baku fucoxanthin; (C) campuran <i>spiking</i> . Dielusi dengan fase gerak n-heksan: etil asetat (1:1) | 28 |

| | |
|--|----|
| 13. Profil KLT hasil fraksinasi dengan KK ekstrak larut etil asetat pada lampu UV 254 (a) dan UV 366 (b). Dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1). | 29 |
| 14. Profil KLTP fucoxanthin (a) dan profil KLT hasil pemurnian senyawa fucoxanthin menggunakan KLTP pada UV 254 (b) dan UV 366 (c).). Dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1). | 30 |
| 15. Profil KLT Isolat Fucoxanthin (A) dan baku fucoxanthin (B) pada lampu UV 366 (a), UV 254 (b), dan penyemprotan dengan H ₂ SO ₄ (c). Dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1) | 30 |
| 16. Spektrum FTIR Senyawa Fucoxanthin dari <i>Sargassum Sp.</i> | 31 |
| 17. Struktur kimia senyawa fucoxanthin | 32 |
| 18. Sampel <i>Sargassum Sp.</i> | 41 |
| 19. Penimbangan sampel | 41 |
| 20. Maserasi | 41 |
| 21. Penyaringan ekstrak | 41 |
| 22. Penguapan ekstrak | 41 |
| 23. Partisi ekstrak | 41 |
| 24. Fraksinasi KCV | 41 |
| 25. Fraksinasi KK | 42 |
| 26. Identifikasi KLT | 42 |

| | |
|--|----|
| 27. Isolasi dengan KLTP | 42 |
| 28. Karakterisasi Spektrofotometri UV -Vis | 42 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Skema kerja | 40 |
| 2. Dokumentasi penelitian | 41 |
| 3. Hasil karakterisasi spektrofotometri UV-vis | 43 |
| 4. Hasil karakterisasi spektroskopi FTIR | 44 |
| 5. Determinasi Tanaman | 45 |

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Alga coklat (*Phaeophyceae*) merupakan salah satu jenis makroalga yang memiliki potensi biodiversitas hayati laut serta dapat memberikan nilai tambah dalam bidang farmasi, kosmetika dan pangan (Gazali et. a, 2018). Di Indonesia terdapat 134 spesies alga coklat yang telah teridentifikasi, 8 diantaranya terdapat di Kabupaten Takalar Provinsi Sulawesi Selatan. Spesies tersebut antara lain *Padina australis*, *Padina boergesenii*, *Sargassum swartzii*, *Sargassum tenerrium*, *Sargassum prismaticum*, *Sargassum cinereum*, *Sargassum polycystum*, dan *Sargassum vulgare* (Tillad, 2018; Awaliah, 2017).

Alga coklat menghasilkan berbagai jenis metabolit sekunder antara lain yaitu laminarin, fucoidan, dan fucoxanthin (Xuan Cuong, 2020; Sulistiyani et al., 2021; Wang et al., 2021). Fucoxanthin adalah pigmen berwarna coklat kekuningan merupakan 70% dari karotenoid yang terdapat dalam alga coklat (Habeebullah et al., 2018; Peng et al., 2011). Senyawa ini memiliki struktur unik karena adanya ikatan *allenic*, 9 ikatan rangkap terkonjugasi, dan *5,6-monoepoxide* obligasi (Sulistiyani et al., 2021; Zhang et al., 2015) dan beberapa gugus fungsi oksigenik seperti epoksi, hidroksil, karbonil serta karboksil. Struktur molekul fucoxanthin yang mirip neoxanthin, dinoxanthin dan peridinin berbeda dengan karotenoid lain seperti β -karoten, sehingga memiliki aktivitas biologis

tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan (Peng et al., 2011; Miyashita et al., 2020); Zailanie, 2017).

Fucoxanthin menunjukkan aktivitas antioksidan 13,5 kali lebih besar dibandingkan α -tokoferol, hal ini berkaitan dengan kemampuan fucoxanthin dalam menangkap radikal bebas sehingga dapat menghindari kerusakan sel akibat stres oksidatif (Nursid, 2012; Foo et al., 2017; Maeda et al., 2018; Zeng et al., 2018). Fucoxanthin memiliki aktivitas antiproliferatif dalam berbagai jenis sel kanker, seperti kanker payudara (Padua et al., 2015), paru-paru (Ming et al., 2021), kolorektal, limfoma, leukimia, dan sarcoma (Méresse et al., 2020). Selain itu, fucoxanthin juga memiliki aktivitas antiinflamasi (Heo et al., 2012), antiobesitas, antidiabetes (Gammone and D'Orazio, 2015; Miyashita et al., 2020), antibakteri dan antiacne (Renhoran et al., 2017).

Fucoxanthin pertama kali diisolasi dari alga coklat jenis *Fucus*, *dictyota*, dan *Laminaria* oleh Willstatter dan Page pada tahun 1914 (Peng et al., 2011). Seiring berjalannya waktu fucoxanthin banyak diisolasi dari spesies alga coklat lain, sebagai contoh pada *Alaria crassifolia*, *Eisenia bycylis*, *Sargassum horneri*, *Cystoseira hakodatensis* (Airanthi, Hosokawa and Miyashita, 2011a), *Laminaria japonica*, *Sargassum fusiforme* (Xiao et al., 2012), *Padina tetrastromatica* (Raguman et al., 2018), *Sargassum plagyophyllum*, *Turbinaria turbinata* (Jaswir et al., 2013) dan *Undaria pinnatifida* (Fung, Hamid and Lu, 2013), *Padina australis* (Jaswir et al., 2011), *Sargassum polycystum* (Sulistiyani et al., 2021), dan *Sargassum*

cinereum (Narayani et al., 2016). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa fucoxanthin dari alga coklat spesies *Sargassum Sp.* yang berasal dari Kabupaten Takalar. Dengan demikian, dapat dilaporkan senyawa fucoxanthin yang terdapat pada alga coklat asal Kabupaten Takalar.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah senyawa fucoxanthin dari ekstrak *Sargassum Sp.* asal Kabupaten Takalar dapat diisolasi?

I.3 Tujuan Penelitian

Melakukan isolasi senyawa fucoxanthin dari ekstrak *Sargassum Sp.* asal Kabupaten Takalar

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi

- Kingdom : Plantae
Divisio : Ochrophyta
Class : Phaeophyceae
Ordo : Fucales
Famili : Sargassaceae
Genus : *Sargassum*
Species : *Sargassum Sp.* (Kasanah *et al.*, 2021)



Gambar 1. *Sargassum Sp.* (Kasanah *et al.*, 2021)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Secara morfologi, *Sargassum Sp.* memiliki talus yang ramping yang dapat mencapai 100 cm dengan warna coklat atau hijau tua. Cabang utama berbentuk silindris, licin dan tidak berduri dengan ukuran panjang 20 cm dan lebar 1,5 cm. Bagian atas cabang sekunder dikelilingi cabang

sekunder yang lebih ramping. Organ reproduksi membentuk percabangan agak silindris dan memanjang. Memiliki filoid berselaput yang berbentuk lembaran oval memanjang dengan panjang 2-3 cm, lebar 3 mm, meruncing di pangkalnya, ujung bergerigi dengan *Cryptostomata* tampak jelas. Vesikel berbentuk bulat dengan diameter 4 mm dan pada umumnya memiliki lender pada bagian apeks. Spesies ini dapat tumbuh dengan baik pada batu karang (Firdaus, 2011; Devi, 2017; Kasanah et al., 2021).

II.1.3 Kandungan Senyawa

Kandungan komponen fitokimia yang terdapat pada *Sargassum Sp.* antara lain yaitu amino, komponen fenolik, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin dan tanin. Selain itu, terdapat juga komponen anorganik seperti cadmium, kalsium, kromium, tembaga, besi, magnesium, nikel, seng, pospor, potassium, dan sodium (Devi, et. al., 2017). Selain itu, terdapat kandungan senyawa bioaktif seperti alginat, laminarin, fucoidan, floroglucinol, bromofenol, oxiplin, glikoprotein dan fucoxanthin (Sulistiyani et al., 2021; Pádua et al., 2015).

II.2.4 Aktivitas Farmakologi

Metabolit sekunder *Sargassum Sp.* memiliki aktivitas farmakologi antara lain yaitu sebagai antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas (DPPH, FRAP dan FIC) antialergi, antijamur, antibakteri, antivirus, antiacne, antiinflamasi, antikoagulan, antimelanogenik, inhibitor sel kanker (payudara, paru-paru kolorektal, limfoma, leukemia, dan sarcoma),

antidiabetes dengan cara peningkatan sekresi insulin, antiobesitas melalui regulasi energi, serta memiliki aktivitas hepatoprotektif dan neuroprotektif (Rohim, 2019; Oliyaei et al., 2021; Pádua et al., 2015; Liu et al., 2012).

II.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa bioaktif dari bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Zhang, 2018). Tujuan ekstraksi adalah untuk memperoleh senyawa bioaktif yang sudah diketahui, senyawa yang belum diketahui, senyawa-senyawa dengan struktur yang sama, memperoleh semua metabolit sekunder dari tanaman sebagai penanda kimia (Endarini, 2016). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi yaitu pelarut yang digunakan, suhu, ukuran partikel, dan durasi ekstraksi (Zhang, 2018).

Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada sifat senyawa dan bagian tanaman yang akan diekstraksi. Adapun teknik ekstraksi yang baik yaitu mampu mengekstraksi senyawa bioaktif yang diinginkan, mudah dilakukan, cepat, harga terjangkau, tidak merusak lingkungan serta dapat diperoleh hasil yang konsisten meskipun dilakukan secara berulang (Mukhriani, 2014; Zhang, 2018). Secara umum, metode ekstraksi terbagi menjadi 2 yaitu metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern (Endarini, 2016). Metode konvensional merupakan teknik ekstraksi yang telah lama ditemukan dan masih digunakan hingga sekarang, contohnya yaitu maserasi, infusa, dekokta, perkolasi dan sokhletasi. Sedangkan metode non konvensional adalah teknik ekstraksi

yang baru ditemukan, contohnya yaitu *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), *Microwave Assisted Extraction* (MAE), dan *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) (Tambun, 2021).

II.3 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair (ECC) merupakan metode pemisahan senyawa dari campuran senyawa dalam bentuk larutan dengan menggunakan suatu pelarut. Tahap pertama dalam ECC yaitu pencampuran senyawa yang akan diekstraksi dengan pelarut yang sesuai, setelah pencampuran tahap selanjutnya adalah proses pemisahan sehingga terbentuk dua fase. Prinsip ECC didasarkan pada suhu dan tekanan yang konstan, sehingga terjadi distribusi senyawa-senyawa dengan kepolaran yang berbeda membentuk 2 fase yang tidak saling bercampur. Keadaan tersebut disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi pada keadaan setimbang atau disebut dengan koefisien distribusi (partisi) (Nasyanka, 2020).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ECC antara lain yaitu pengocokan, waktu ekstraksi dan perbandingan pelarut dengan jumlah sampel. Hal-hal yang penting untuk diperhatikan dalam pemilihan pelarut untuk ECC adalah selektivitas, distribusi koefisien dan densitas (Patel, 2019). Alat yang digunakan untuk proses ECC disebut corong pisah. Bentuk corong pisah seperti kerucut dan terdapat kran pada bagian bawah yang dapat dibuka dan ditutup berfungsi sebagai tempat keluarnya senyawa yang dipisahkan (Nasyanka, 2020).

II.4 Metode Kromatografi

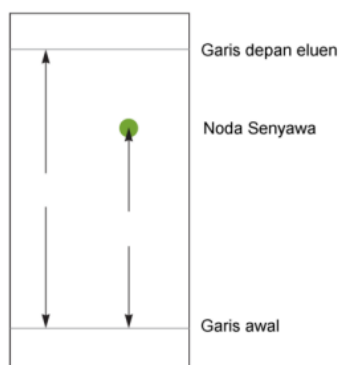
Kromatografi merupakan teknik untuk memisahkan campuran senyawa menjadi komponen-komponennya. Setiap jenis kromatografi memiliki mekanisme kerja yang sama, yaitu adanya fase diam (padatan atau cairan yang dilapiskan pada padatan) dan fase gerak (cair atau gas). Prinsip pemisahan menggunakan kromatografi yaitu berdasarkan partisi diferensial antara fase gerak dan fase diam. Fase gerak berfungsi untuk melarutkan campuran senyawa dan menarik komponen senyawa melewati fase diam. Setiap komponen campuran bergerak dengan kecepatan yang berbeda, sehingga terjadi pemisahan antara komponen-komponen. Jenis-jenis kromatografi antara lain yaitu kromatografi lapis tipis, kromatografi cair vakum, kromatografi Kolom, Kromatografi lapis tipis preparative dll (Kumar et al., 2013).

II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi yang fase diam berupa padatan yang dibuat lapisan tipis di atas plat datar dan fase gerak berupa cairan. Dalam KLT fase diam disebut sebagai *sorbent* sedangkan fase gerak sebagai *solvent* yang berfungsi untuk membawa zat terlarut (*solute*) (Santiago and Strobel, 2013). Prinsip KLT berdasarkan pada distribusi senyawa antara antara fase diam dan fase gerak sesuai dengan aturan kelarutan "*like dissolves like*". Semakin mirip polaritas senyawa dengan fase gerak, maka semakin cepat senyawa tersebut bergerak naik melalui fase diam. Sebaliknya senyawa yang kurang larut

dalam fase gerak akan tertahan pada fase diam karena afinitasnya tinggi (Kumar et al., 2013)

Senyawa yang muncul pada lempeng KLT disebut sebagai noda. Noda yang berwarna dapat diamati secara langsung atau diamati dibawa sinar UV 366 dan UV 254. Namun, tidak semua jenis senyawa dapat berfluoresensi pada sinar UV, sehingga diperlukan metode lain untuk mengamati noda pada lempeng KLT. Penampakan noda dapat dilakukan dengan menyemprotkan atau mencelupkan pereaksi penampakan noda. Contoh pereaksi yang sering digunakan yaitu uap iodium, uap asam nitrat, dragendorff, asam aldehida dll (Wulandari, 2011).



Gambar 2. Ilustrasi analit dan eluen pada lempeng KLT (Wulandari, 2011)

Pada lempeng KLT, identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan antara nilai R_f yang diperoleh dengan nilai R_f standar. Nilai R_f dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain yaitu volume dan komposisi fase gerak, dimensi dan jenis ruang, kelembaban, sifat dan ukuran lempeng, kondisi kesetimbangan, arah aliran fase gerak, serta metode persiapan sampel KLT sebelumnya. Nilai R_f dihitung dengan

membagi antara jarak tempuh senyawa (noda) dengan jarak tempuh fase gerak (eluen) (Bele, 2011; Wulandari, 2011)

Rumus menghitung nilai Rf yaitu:

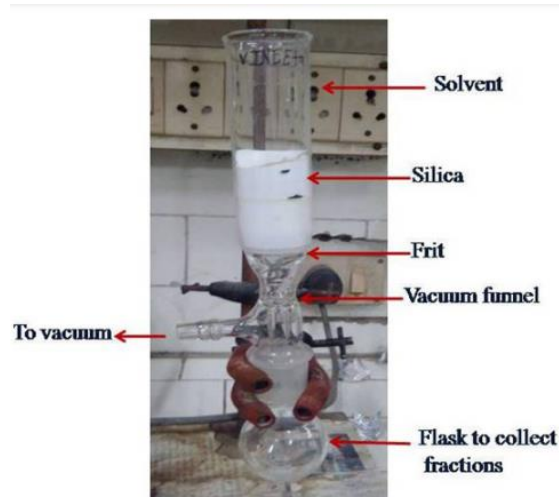
$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{jarak tempuh noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

II.4.2 Kromatografi Cair Vakum

Kromatografi Cair Vakum (KCV) adalah teknik kromatografi kolom yang digunakan untuk fraksinasi awal ekstrak secara cepat. Prinsip KCV sama dengan KLT pada umumnya yaitu adsorpsi dan partisi, namun pada KCV digunakan bantuan pompa vakum untuk mempercepat pemisahan (Irianti *et al.*, 2021). Sistem elusi yang digunakan dalam KCV adalah elusi gradien, yaitu perbandingan fase gerak berubah-ubah selama proses elusi. Adsorben yang digunakan pada KCV disebut silika gel H (bebas pengikat), tetapi juga dapat digunakan adsorben lain seperti aluminium oksida (Maurya *et al.*, 2018). Ukuran partikel fase diam pada KCV yaitu 40-63 μm . kecepatan pergerakan senyawa dipengaruhi oleh sifat dan polaritas pelarut, afinitas fase diam, ukuran partikel dan luas permukaan fase diam, serta tekanan dan suhu serta (Kumari, 2011)

Kolom KCV memiliki beberapa ukuran tergantung dari jumlah sampel yang akan diisolasi. Kolom dapat digunakan berulang kali untuk pemisahan yang sama dengan cara mencuci kolom terlebih dahulu secara menyeluruh menggunakan metanol. Sampel yang dapat dalam bentuk cair maupun padat, jika dalam bentuk padat terlebih dahulu dilarutkan dengan

pelarut non polar (Maurya *et al.*, 2018). Kelebihan metode KCV yaitu senyawa dapat tertarik secara sempurna dengan waktu yang lebih cepat karena bantuan vakum. Kerugian metode KCV yaitu senyawa dapat bercampur karena pemisahan kurang sempurna (Irianti *et al.*, 2021).

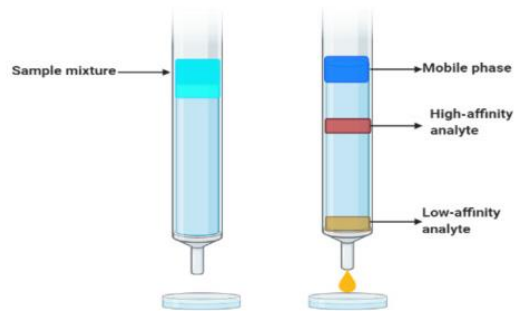


Gambar 3. Alat KCV (Maurya *et al.*, 2018)

II.4.3 Kromatografi Kolom Konvensional

Kromatografi kolom konvensional (KK) merupakan teknik kromatografi kolom yang sama prinsipnya sama dengan KCV. Perbedaannya yaitu pada KK tidak terdapat pompa vakum dan ukuran fase diamnya lebih besar (63-250 μm). Kolom berupa tabung panjang yang berukuran 20-50 cm dengan diameter 4 mm. Eluen yang dipilih berdasarkan polaritasnya dengan sistem elusi isokratik (Menggunakan pelarut tunggal) (Kumari, 2011). Kelebihan penggunaan KK yaitu dapat digunakan untuk sampel yang sangat kecil, proses pemisahan lebih sempurna dibandingkan KCV, murah dan sederhana. Kekurangan metode

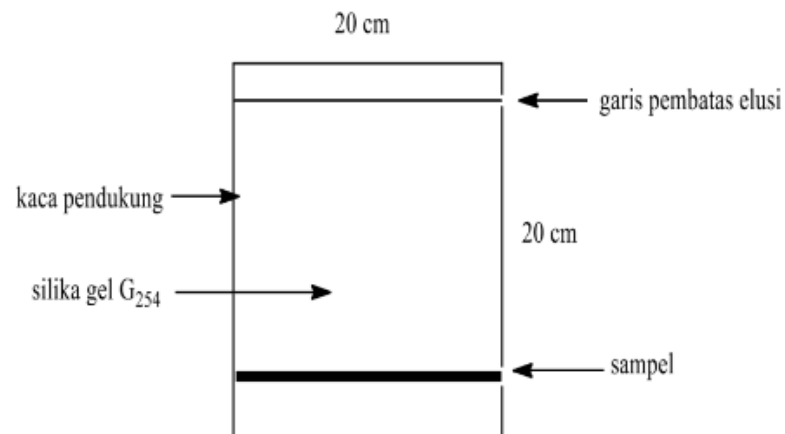
ini yaitu membutuhkan kemampuan persiapan teknik manual dan waktu yang lama (Irianri *et al.*, 2021).



Gambar 4. Simulasi kromatografi kolom (Kumari, 2011)

II.4.4 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

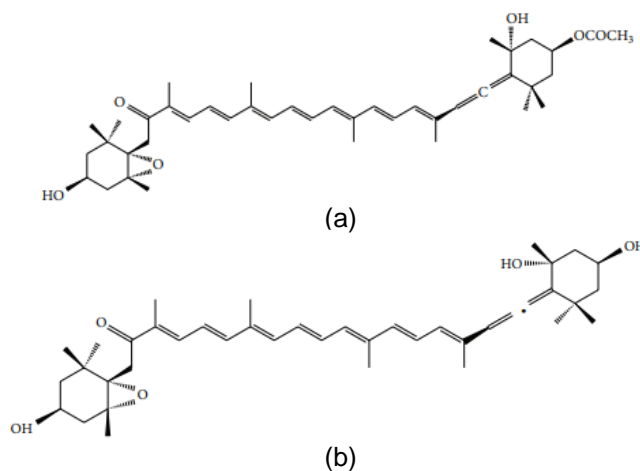
Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) merupakan metode kromatografi yang bertujuan untuk memurnikan senyawa. Metode ini dapat cocok digunakan untuk sampel dengan jumlah senyawa 2-3, sehingga pemisahan senyawa dapat terjadi secara maksimal (Saidi *et al.*, 2018). Prinsip pemisahan KLTP berdasarkan perbedaan daya serap dan daya partisi serta sifat kepolaran senyawa bioaktif yang bergerak mengikuti kepolaran eluen. Setiap senyawa bioaktif bergerak dengan kecepatan yang berbeda melalui absorben sehingga terjadi pemisahan (Irianti *et al.*, 2021).



Gambar 5. KLTP (Saidi *et al.*, 2018)

II.5 Fucoxanthin

Fucoxanthin adalah pigmen berwarna coklat jingga dan merupakan karotenoid spesifik yang terdapat pada alga coklat (*Phaeophyceae*). Fucoxanthin berasal dari biosintesis karotenoid yang berperan penting pada proses fotosintesis bersama dengan klorofil a dan c (Peng *et al.*, 2011). Fucoxanthin memiliki struktur yang unik yaitu adanya ikatan alenik dan 5,6 monoepoksida yang membedakan dengan karotenoid lainnya (Sulistiyani *et al.*, 2021). Fucoxanthin memiliki aktivitas yang bermanfaat dalam bidang kesehatan, utamanya sebagai antioksidan. Fucoxanthin memiliki kemampuan yang baik dalam menangkal radikal DPPH dan ABTS hingga 90,3%. Fucoxanthin dan metabolitnya (fucoxanthinol dan halocynthiaxanthin) menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi atau sama dengan α -tokoperol (Xia *et al.*, 2013). Selain sebagai antioksidan fucoxanthin telah dilaporkan sebagai antikanker, antiinflamasi, antiobesitas dan neuroprotektif (Kim and Pangestuti, 2011).



Gambar 6. Struktur fucoxanthin dan metabolitnya (fucoxanthinol) (Zhang *et al*, 2015)

Fucoxanthin termasuk golongan karotenoid xantofil yang diisolasi pertama kali pada tahun 1914 oleh Willstatter dan Page dari *Fucus*, *Laminaria* dan *Dictyota* (Peng *et al.*, 2011). Fucoxanthin menghasilkan dua metabolit utama yaitu fucoxanthinol dan amarouciaxanthin A. Dalam saluran pencernaan fucoxanthin dihidrolisis menjadi fucoxanthinol, selanjutnya fucoxanthinol diubah menjadi amarouxiathanin A (Zhang *et al.*, 2015). Seperti karotenoid lainnya, kestabilan fucoxanthin dapat dipengaruhi oleh cahaya, oksigen, temperature dan pH (Aman *et al.*, 2005). Fucoxanthin murni menghasilkan 3 puncak utama yaitu bentuk trans dengan dua isomer. Rasio trans dan cis dapat berubah dengan adanya peningkatan temperatur (Zhang *et al.*, 2015).

Tabel 1. Spesies alga coklat dan konsentrasi fucoxanthin

| Spesies Alga Coklat | Kadar fucoxanthin | Refrensi |
|----------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| <i>Alaria crassifolia</i> | 4,13 mg/100g | (Airanthi <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Cystoseira hakodatensis</i> | 152,86 mg/100g | (Airanthi <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Eisenia bicyclis</i> | 41,41 mg/100g | (Airanthi <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Sargassum Hornerri</i> | 109,27 mg/100g | (Airanthi <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Kjellmaniella crassifolia</i> | 19,78 mg/100g | (Airanthi <i>et al.</i> , 2011) |

| | | |
|-------------------------------|----------------|------------------------------------|
| <i>Dictyota coriacea</i> | 6.42 mg/g | (Heo <i>et al.</i> , 2010) |
| <i>Fucus serratus</i> | 8,2 mg/100 g | (Habeebullah <i>et al.</i> , 2018) |
| <i>Fucus vesiculosus</i> | 15 mg/100 g | (Habeebullah <i>et al.</i> , 2018) |
| <i>Laminaria digitata</i> | 10 mg/100 g | (Habeebullah <i>et al.</i> , 2018) |
| <i>Laminaria Japonica</i> | 5,13 mg/100 g | (Xiao <i>et al.</i> , 2012) |
| <i>Padina tetrastrumatica</i> | 2 mg/100 g | (Sangeetha <i>et al.</i> , 2010) |
| <i>Padina australis</i> | 0,07 mg/100 g | (Jaswir <i>et al.</i> , 2011) |
| <i>Sargassum cinereum</i> | 0,38mg/g | (Narayani <i>et al.</i> , 2016) |
| <i>Sargassum polycystum</i> | 0,01 mg/100 g | (Sulistiyani <i>et al.</i> , 2021) |
| <i>Sargassum fusiforme</i> | 2,12 mg/100 g | (Xiao <i>et al.</i> , 2012) |
| <i>Undaria pinnatifida</i> | 109,3 mg/100 g | (Xiao <i>et al.</i> , 2012) |

II.6 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri merupakan pengukuran secara kuantitatif dari intensitas radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu menggunakan dektektor. Detektor membaca hasil interaksi yang ditampilkan dalam bentuk spektrum. Spektrofotometri UV-Vis merupakan instrumen yang menggabungkan antara spektrofotometri UV dan Visible, karena menggunakan dua sumber cahaya yaitu cahaya ultraviolet dan cahaya visible (Nazar, 2018).

Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet (180-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) yang dapat diserap oleh sampel. Radiasi kedua sinar tersebut menyebabkan elektron dalam sampel mengalami eksitasi dalam gugus fungsi yang disebut kromofor. Eksitasi elektron dicatat dalam bentuk spektrum yang dinyatakan dalam bentuk panjang gelombang atau absorbansi. Semakin mudah suatu elektron tereksitasi maka semakin

besar nilai panjang gelombang yang terbaca dan semakin banyak elektron yang tereksitasi maka semakin tinggi absorbansinya (Pratiwi et al., 2022).



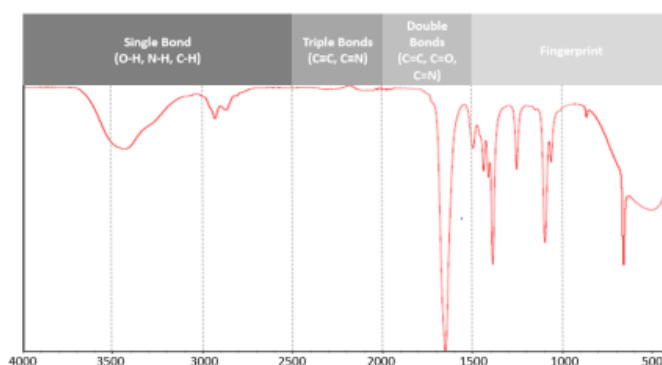
Gambar 7. Spektrofotometri UV-Vis (Nazar, 2018)

Jenis sampel yang dapat digunakan untuk pengukuran spektrofotometri UV-Vis harus berupa larutan, gas atau uap. Jika dalam bentuk larutan, sampel harus dalam keadaan bening. Sedangkan syarat pelarut yang digunakan yaitu melarutkan sampel dengan sempurna, tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi, tidak berwarna, tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan dalam bentuk murni (Pratiwi et al., 2022).

II.7 Spektroskopi Fourier Transform Infrared

Fourier Transform Infrared (FTIR) merupakan instrumen non-destruktif yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa dan menganalisis campuran senyawa. Pada spektrum elektromagnetik, area inframerah memiliki panjang gelombang $14000-10\text{ cm}^{-1}$, sehingga terbagi menjadi tiga bagian yaitu IR jauh dengan panjang gelombang $400-10\text{ cm}^{-1}$ berfungsi untuk berfungsi untuk analisis molekul dengan atom-atom berat misalnya senyawa anorganik, IR sedang dengan panjang gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$ berfungsi untuk analisis gugus fungsi molekul,

dan IR dekat dengan panjang gelombang $14000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ yang dapat membaca vibrasi *overtone* (Sari and Fajri, 2018). IR sedang merupakan spektrum yang banyak digunakan dalam analisis sampel, namun IR jauh dan dekat juga penting untuk memberikan informasi lebih jauh terkait sampel yang dianalisis (Nandiyanto et al., 2019).

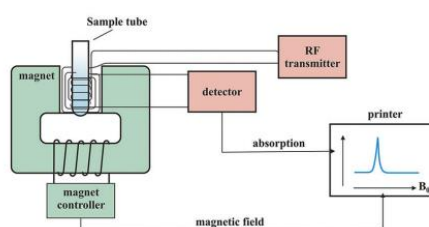


Gambar 8. Daerah spektrum tengah (Nandiyanto et al., 2019)

Prinsip pengukuran menggunakan FTIR yaitu adanya interaksi sampel dengan radiasi inframerah. Akibat radiasi tersebut, Molekul yang terdapat pada sampel mengalami transmisi energi, sehingga terjadi vibrasi molekul dalam sampel (Nandiyanto et al., 2019). FTIR dapat digunakan untuk analisis senyawa organik baik secara kualitatif (identifikasi gugus fungsional) maupun kuantitatif (menentukan konsentrasi analit). Sampel dapat dianalisis menggunakan (Sari and Fajri, 2018). FTIR dapat digunakan untuk sampel dalam bentuk cairan, larutan, pasta, serbuk, maupun gas. Kelebihan FTIR yaitu relatif sensitif, memberikan akurasi yang baik dan dapat dilakukan dalam waktu yang singkat (Fan et al., 2012).

II.8 Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance

Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) merupakan instrumen analisis yang digunakan menentukan struktur inti komponen senyawa organik seperti hidrogen, karbon, fosfor dan nitrogen. Prinsip kerja NMR yaitu molekul ditempatkan dalam dalam bidang magnet kemudian inti molekul akan beresonansi pada frekuensi tertentu sehingga terbentuk 12.



Gambar 9. Rangkaian Alat NMR (Zia *et al.*, 2019)

II.8.1 Proton-NMR

Proton-NMR (¹H-NMR) dapat memberikan informasi tentang atom hidrogen yang terdapat dalam senyawa, baik mengenai jumlah maupun lingkungannya (Zia *et al.*, 2019). Resonansi yang ditunjukkan oleh spektrum H-NMR menunjukkan kandungan hydrogen yang terdapat dalam molekul. Frekuensi dari resonansi tersebut disebut sebagai “pergeseran kimia”. Syarat pelarut yang digunakan untuk analisis H-NMR yaitu inert dan tidak mengandung proton, pelarut yang digunakan terbatas pada deuterikloroform, deuteroceton, deuterium oksida dan tetraklorida. Dibutuhkan 5-10 mg sampel untuk analisis NMR senyawa organik (Nasyanka *et al.*, 2020).

II.8.2 Carbon-NMR

Carbon-NMR (^{13}C -NMR) merupakan instrumen yang signifikan untuk analisis atom karbon dalam senyawa organik, yaitu informasi struktur kimia senyawa. ^{13}C adalah isotop karbon yang memiliki bilangan kuantum spin $\frac{1}{2}$ yang dapat terdeteksi oleh ^{13}C -NMR. Magnet yang digunakan pada teknik ini pada umumnya berdiameter 10 mm dengan jangkauan lebih besar dibandingkan dengan ^1H -NMR. ^{13}C -NMR dapat digunakan untuk mengetahui komposisi molekul yang berbeda serta dapat memverifikasi kemurnian obat (Zia *et al.*, 2019).

Tabel 2. ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa fucoxanthin (Zhao *et al.*, 2022)

| Posisi Atom | ^1H NMR | ^{13}C -NMR |
|-------------|------------------|-------------------------|
| 1 | | 25,89; C |
| 2 | 1,42; 1,61; m | 47,17; CH ₂ |
| 3 | 3,80; m | 64,42; CH |
| 4 | 1,77; 2,29; m | 41,74; CH ₂ |
| 5 | | 66,31; C |
| 6 | | 67,26; c |
| 7 | 2,59; 3,65; d | 40,91; CH ₂ |
| 8 | | 198,02; C=O |
| 9 | | 134,63; C |
| 10 | 7,14; d | 139,26; CH |
| 11 | 6,64; m | 123,49; CH |
| 12 | 6,70; d | 145,18; CH |
| 13 | | 138,20; C |
| 14 | 6,40; d | 136,77; CH |
| 15 | 6,56; d | 129,54; CH |
| 16 | 1,02; s | 25,16; CH ₃ |
| 17 | 0,95; s | 28,24; CH ₃ |
| 18 | 1,21; s | 21, 26; CH ₃ |
| 19 | 1,94; s | 11,94; CH ₃ |
| 20 | 1,98; s | 12,88; CH ₃ |
| 1' | | 35,27; C |
| 2' | 1,49; 2,07; m | 45,56; CH ₂ |
| 3' | 5,37; m | 68,20; CH |
| 4' | 1,67; 2,33; m | 45,36; CH ₂ |
| 5' | | 72,80; C |
| 6' | | 117,60; C |
| 7' | | 202,49; C |

| | | |
|-----|---------|------------------------|
| 8' | 6,05; s | 103,49; CH |
| 9' | | 132,63; C |
| 10' | 6,12; d | 128,64; CH |
| 11' | 6,74; d | 125,81; CH |
| 12' | 6,34; d | 137,81; CH |
| 13' | | 135,22; C |
| 14' | 6,26; d | 132,29; CH |
| 15' | 6,78; m | 132,65; CH |
| 16' | 1,34; s | 29,31; CH ₃ |
| 17' | 1,25; s | 31,36; CH ₃ |
| 18' | 1,37; s | 32,20; CH ₃ |
| 19' | 1,81; s | 14,13; CH ₃ |
| 20' | 1,98; s | 13,03; CH ₃ |
| 21' | | 170,66; C=O |
| 22' | 2,03; s | 21,54; CH ₃ |