

**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN KAROTENOID RUMPUT LAUT (*Eucheuma cottonii*) YANG DIPEROLEH DI TAMBAK DAN DI LAUT SERTA POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIKANKER**



**YENI NOVITA SARI**

**H031201065**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN KAROTENOID RUMPUT LAUT  
(*Eucheuma cottonii*) YANG DIPEROLEH DI TAMBAK  
DAN DI LAUT SERTA POTENSINYA SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIKANKER**

**YENI NOVITA SARI  
H031201065**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN KAROTENOID RUMPUT LAUT  
(*Eucheuma cottonii*) YANG DIPEROLEH DI TAMBAK  
DAN DI LAUT SERTA POTENSINYA SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIKANKER**

YENI NOVITA SARI  
H031201065

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**SKRIPSI**

**EKSTRAKSI DAN ISOLASI PIGMEN KAROTENOID RUMPUT LAUT  
(*Eucheuma cottonii*) YANG DIPEROLEH DI TAMBAK  
DAN DI LAUT SERTA POTENSINYA SEBAGAI  
ANTIOKSIDAN DAN ANTIKANKER**

**YENI NOVITA SARI**  
**H031201065**

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Sains pada tanggal  
02 Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
pada



Program Studi Kimia  
Departemen Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:  
Pembimbing Utama

Prof. Dr. Ahyar Ahmad  
NIP. 196712311991031020

Mengetahui  
Ketua Program Studi,



Dr. Syarifuzah, M.Si  
NIP. 197202021999032002

**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI  
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Ekstraksi dan Isolasi Pigmen Karotenoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) yang Diperoleh Di Tambak dan Di Laut serta Potensinya sebagai Antioksidan dan Antikanker" adalah benar karya saya dengan arahan dari Prof. Dr. Ahyar Ahmad sebagai Pembimbing Utama. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 02-10-2024



*Yemi Novita Sari*  
YEMI NOVITA SARI  
H031201065

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Ekstraksi dan Isolasi Pigmen Karotenoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) yang Diperoleh Di Tambak dan Di Laut serta Potensinya sebagai Antioksidan dan Antikanker“. Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Bapak **Prof. Dr. Ahyar Ahmad** selaku dosen pembimbing yang dengan sabar memberikan motivasi dan arahan mulai dari awal penyusunan proposal penelitian sampai saat ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS** dan **Dr. Yusafir Hala, M.Si** selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak ilmu dan masukkan selama proses penyusunan tugas akhir ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada:

1. Ketua dan Sekretaris Departemen Kimia Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si** dan Ibu **Dr. Nur Umriani Permatasari, S.Si., M.Si** serta seluruh dosen, staf, dan pegawai atas bimbingan dan bantuan yang diberikan selama proses perkuliahan berlangsung.
2. Kepala Laboratorium Biokimia Ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah** yang telah memberikan izin pemakaian laboratorium sebagai tempat terlaksananya penelitian dan yang telah banyak membantu penulis selama penelitian berlangsung.
3. Kepala Laboratorium Kimia Organik Bapak **Drs. Fredryk Welliam Mandey, M.Sc** yang telah memberikan izin pemakaian laboratorium sebagai tempat terlaksananya penelitian dan Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) Kimia Organik Ibu **Kartini, S.P** yang telah banyak membantu penulis selama penelitian berlangsung.
4. Orang tua tercinta Bapak **Muhaimin** dan Ibu **Haniah**, dan kakak **Hardiansyah** yang telah merawat dan mendidik penulis dengan penuh kasih sayang. Senantiasa selalu memberikan dukungan serta doa tulus di setiap perjalanan hidup penulis.
5. Sahabat terbaik penulis **Dian Lutfiah Triutari** yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis serta memberikan waktu, dukungan, dan inspirasi kepada penulis.
6. Teman-teman penulis geng “**Ikan Hiu**” Nalar, Imel, Arya, Fiki, Qalbi, Harwan, Putri, Leony, Kadek, Alya sebagai teman berproses dan teman diskusi yang selalu kebersamai membantu penulis dari zaman MABA (mahasiswa baru) hingga MABA (mahasiswa semester akhir) dan teman-teman **ISOMER 2020** lainnya .
7. Teman-teman penulis **cabang biokimia, cabang organik, cabang anor**, dan semuanya yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang selalu kebersamai dan membantu penulis selama masa perkuliahan berlangsung.
8. Teman-teman **RUKOS** yang selalu menghibur penulis dalam proses mengerjakan skripsi.

9. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan dan dukungan kepada penulis.
10. Terutama kepada diriku sendiri **Yeni Novita Sari** yang sudah kuat dan mampu bertahan sampai detik ini. Terima kasih karena sudah berhasil melewati proses dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna karena keterbatasan pengalaman dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk saran, masukan, serta kritik dari dari berbagai pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga karya tulis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Penulis,

Yeni Novita Sari

## ABSTRAK

YENI NOVITA SARI. **Ekstraksi dan Isolasi Pigmen Karotenoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) yang Diperoleh Di Tambak dan Di Laut serta Potensinya sebagai Antioksidan dan Antikanker** (dibimbing oleh Prof. Dr. Ahyar Ahmad).

**Latar Belakang.** Kanker dikenal sebagai salah satu penyakit kronis yang paling umum dan mematikan di dunia. Menurut World Health Organization (WHO) sekitar 8,2 juta manusia di dunia meninggal akibat kanker setiap tahunnya. Radikal bebas adalah salah satu penyebab timbulnya beberapa jenis kanker secara tiba-tiba. Antioksidan telah terbukti efektif dalam pengobatan sel kanker karena dapat menyumbangkan elektron ke radikal bebas yang tidak berpasangan untuk mengurangi efek radikal bebas dari oksidasi. Rumput laut merupakan organisme fotosintetik yang sering terpapar sinar matahari dan oksigen tinggi yang dianggap sebagai pemicu terbentuknya radikal bebas dan oksidator yang kuat. **Tujuan.** Penelitian ini bermaksud untuk menguji perbandingan aktivitas antioksidan dan potensinya sebagai antikanker antara *E. cottonii* yang diperoleh di tambak dan di laut dari ekstrak total dan isolasi pigmen karotenoid. **Metode.** Ekstraksi *E. cottonii* yang diperoleh di laut dan di tambak dilakukan dengan metode maserasi dan dilanjutkan dengan proses isolasi pigmen karotenoid. Pigmen karotenoid diidentifikasi dengan uji KLT, FTIR, dan UV-Vis. Pengujian aktivitas ekstrak total dan isolasi pigmen karotenoid *E. cottonii* dilakukan dengan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). **Hasil.** Persen rendemen ekstrak I dan ekstrak II masing-masing, yaitu 4,72% dan 4,403%, serta persen rendemen hasil isolasi pigmen karotenoid I dan pigmen karotenoid II masing-masing, yaitu 3,307% dan 2,173%. Uji aktivitas antioksidan rumput laut memiliki  $LC_{50}$  paling kuat 582,68 mg/L. Hasil uji BSLT yang tergolong sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 1,85 ppm. **Kesimpulan.** Ekstrak dan pigmen karotenoid *E. cottonii* yang diperoleh dari laut memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dan berpotensi sebagai antikanker.

**Kata kunci:** antioksidan; BSLT; *Eucheuma cottonii*; FTIR; karotenoid; KLT, UV-Vis

## ABSTRACT

YENI NOVITA SARI. **Extraction and Isolation of Seaweed (*Eucheuma Cottonii*) Carotenoid Pigments Obtained in Ponds and at Sea and their Potential as Antioxidants and Anticancer** (supervised by Prof. Dr. Ahyar Ahmad).

**Background.** Cancer is recognised as one of the most common and deadly chronic diseases in the world. According to the World Health Organisation (WHO) about 8.2 million people in the world die from cancer every year. Free radicals are one of the causes of the sudden onset of several types of cancer. Antioxidants have been shown to be effective in the treatment of cancer cells because they can donate electrons to unpaired free radicals to reduce the effects of free radicals from oxidation. Seaweed is a photosynthetic organism that is often exposed to sunlight and high oxygen, which is considered a trigger for the formation of free radicals and a strong oxidising agent. **Objective.** This study aimed to examine the comparison of antioxidant activity and its potential as anticancer between *E. cottonii* obtained in ponds and at sea from total extract and carotenoid pigment isolation. **Methods.** Extraction of *E. cottonii* obtained at sea and in ponds was carried out by maceration method and continued with the carotenoid pigment isolation process. Carotenoid pigments were identified by KLT, FTIR, and UV-Vis tests. Total extract activity testing and isolation of *E. cottonii* carotenoid pigments were carried out by DPPH (2,2-diphenyl-1 picrylhydrazyl) and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) methods. **Results.** Percent yield of extract I and extract II are 4.72% and 4.403%, respectively. As well as the percent yield of carotenoid pigment isolation results I and carotenoid pigment II respectively, namely 3.307% and 2.173%. ABSLT test results are classified as highly toxic with an LC<sub>50</sub> value of 1.85 ppm. **Conclusion.** Extracts and carotenoid pigments of *E. cottonii* obtained from the sea have antioxidant activity that is classified as strong and has potential as an anticancer.

**Keywords:** antioxidant; BSLT; *Eucheuma cottonii*; FTIR; carotenoid; KLT, UV-Vis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
UCAPAN TERIMA KASIH .....	i
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Teori .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
BAB II METODE PENELITIAN.....	5
2.1 Bahan Penelitian .....	5
2.2 Alat Penelitian .....	5
2.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	5
2.4 Prosedur Penelitian.....	5
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....	9
3.1 Ekstraksi Rumput Laut ( <i>Eucheuma cottonii</i> ).....	9
3.2 Saponifikasi Karotenoid .....	9
3.3 Identifikasi Senyawa Pigmen dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	10
3.4 Analisis Panjang Gelombang Maks dengan Spektroskopi UV-Vis....	11
3.4 Identifikasi Gugus Fungsi dengan Spektroskopi FTIR.....	12
3.6 Uji Bioaktivitas Pigmen Karotenoid .....	15
3.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	15
3.6.2 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT .....	17
BAB IV KESIMPULAN .....	18

DAFTAR PUSTAKA .....	19
LAMPIRAN .....	24

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Perbandingan hasil rendemen (%) ekstrak rumput laut .....	9
2. Uji pendahuluan senyawa karotenoid .....	9
3. Perbandingan hasil rendemen (%) pigmen karotenoid .....	10
4. Hasil Interpretasi spektra FTIR senyawa karotenoid I.....	13
5. Hasil Interpretasi spektra FTIR senyawa karotenoid II.....	14
6. Perbandingan antioksidan ekstrak dan pigmen karotenoid .....	16
7. Nilai persen kematian dan LC <sub>50</sub> ekstrak dan pigmen karotenoid .....	17

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Struktur Senyawa Karotenoid.....	3
2. Hasil Uji Kemurnian Pigmen Karotenoid dengan Metode KLT .....	11
3. Hasil Identifikasi Pigmen Karotenoid dengan Spektro UV-Vis.....	12
4. Struktur Senyawa Karotenoid .....	12
5. Hasil Spektra FTIR Pigmen Karotenoid Pembanding .....	13
6. Hasil Spektra FTIR Pigmen Karotenoid I .....	13
7. Hasil Spektra FTIR Pigmen Karotenoid II .....	14

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Nomor</b>		<b>Halaman</b>
1.	Diagram Alir Penelitian .....	22
2.	Prosedur Penelitian .....	23
3.	Perhitungan Data Penelitian.....	28
4.	Hasil Data Penelitian .....	45
5.	Dokumentasi Penelitian.....	49

**DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN**

<b>Simbol/singkatan</b>	<b>Arti dan Penjelasan</b>
ACA	<i>Active Cutaneous Anaphylaxis</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Bioassay</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	<i>2,2- difenil-1-pikrihidrasil</i>
FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>
GLOBOCAN	<i>Global Burden of Cancer</i>
LC50	<i>Long Chain Triglyceride</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LC50	<i>Lethal Concentration 50</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet - Visible</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker dikenal sebagai salah satu penyakit kronis yang paling umum dan mematikan di dunia. Menurut World Health Organization (WHO) kanker merupakan penyebab kematian utama di seluruh dunia, sekitar 8,2 juta manusia di dunia meninggal akibat kanker setiap tahunnya (Putro et.al., 2023). Berdasarkan data dari Global Burden of Cancer (GLOBOCAN) yang diterbitkan oleh WHO, terdapat sekitar 18,1 juta kasus kanker baru dan 9,6 juta kasus kematian baru pada tahun 2018 dan diperkirakan prevalensi kanker akan terus meningkat, mencapai lebih dari 13,1 juta pada tahun 2030 (Pangribowo, 2019). Penyebab paling umum dari penyakit kanker adalah radikal bebas yang merusak sistem limfatik tubuh manusia. Radikal bebas adalah salah satu penyebab timbulnya beberapa jenis kanker secara tiba-tiba. Reaksi radikal bebas terjadi akibat dari senyawa stabil yang teroksidasi menghasilkan senyawa yang tidak stabil dan reaktif. Spesies reaktif ini memiliki potensi untuk berinteraksi dengan zat-zat lain di dalam tubuh, yang mengakibatkan kerusakan jaringan dan penyakit seperti kanker, penyakit alzheimer, reperfusi jantung, dan kelainan. Radikal bebas ini meliputi peroksida, hidroperoksida, dan lipid peroksil, yang dapat merusak DNA, protein, lipid, dan asam nukleat, serta dapat menyebabkan penyakit degeneratif (Hidayati et.al., 2017).

Senyawa antioksidan memiliki potensi untuk menghambat, atau mencegah oksidasi atau senyawa yang mudah teroksidasi oleh radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif. Antioksidan telah terbukti efektif dalam pengobatan sel kanker (Mulia et.al., 2016). Antioksidan adalah senyawa kimia yang menyumbangkan elektron ke radikal bebas yang tidak berpasangan untuk mengurangi efek radikal bebas dari oksidasi (Sukweenadhi et.al., 2020). Berbagai penelitian telah dilakukan dalam upaya mengidentifikasi senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Salah satu metode pengobatan alternatif adalah dengan mengeksplorasi zat aktif yang berasal dari organisme air. Indonesia dikenal sebagai negara dengan keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Terdapat banyak kekayaan alam berupa obat herbal yang belum diformulasikan dengan baik (Manningkas et.al., 2019). Di Indonesia, terdapat banyak jenis biota laut dan beberapa di antaranya memiliki nilai ekonomis yang sangat tinggi, seperti rumput laut. Rumput laut sendiri sudah banyak dibudidayakan oleh masyarakat, baik di perairan laut maupun di tambak. Rumput laut mengandung berbagai komponen yang dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan manusia. Rumput laut memiliki tiga pigmen utama yaitu klorofil (klorofil-a dan klorofil-d), karotenoid, dan fikobiliprotein (R-fikosianin, alofikosianin, dan fikoeritrin). Setiap bentuk pigmen memiliki keunggulan yang berbeda, khususnya dalam hal kesehatan (Nashiruddin et.al., 2022).

Rumput laut merupakan organisme fotosintetik yang sering terpapar sinar matahari dan oksigen tinggi, keduanya dianggap sebagai pemicu terbentuknya radikal bebas dan oksidator yang kuat. Radikal bebas dan oksidator memiliki potensi untuk mengubah struktur dan fungsi sel, tetapi faktanya sel pada rumput laut tidak

pernah mengalami masalah. Fenomena ini menunjukkan bahwa rumput laut memiliki mekanisme antioksidatif dan memiliki senyawa antioksidan (Sedjati et.al., 2017). *Euचेuma cottonii* adalah jenis rumput laut yang sangat berpotensi untuk dikembangkan karena 70% wilayah Indonesia adalah pesisir, sehingga sangat mendukung meningkatkan potensi budidaya jenis rumput laut ini (Minsas et.al., 2023). *E. cottonii* merupakan sumber bahan baku antioksidan. Pigmen karotenoid yang ditemukan dalam *E. cottonii* adalah bahan utama dalam produksi antioksidan alami (Amelia et.al., 2016). Berdasarkan informasi yang telah diuraikan, penelitian terhadap rumput laut (*E. cottonii*) yang dibudidayakan di laut dan di tambak terhadap uji aktivitas antioksidan dan potensi sebagai antikanker dari ekstrak total dan isolasi pigmen telah dilakukan. Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk mengisolasi senyawa pigmen karotenoid dari *E. cottonii* adalah metode saponifikasi dengan menggunakan basa kuat. Identifikasi hasil isolasi senyawa karotenoid dapat dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), penentuan panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis dan gugus fungsi dengan instrumen FTIR. Pengujian ekstrak total dan isolasi pigmen karotenoid dari rumput laut (*E. cottonii*) dilakukan dengan metode DPPH dan BSLT. Salah satu metode pengujian antioksidan yang umum, yaitu DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), karena metode tersebut sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Riskiana dan Vifta, 2021), serta untuk uji toksisitas digunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) (Farihah et.al., 2014).

## 1.2 Teori

### 1.2.1 Rumput Laut (*Euचेuma cottonii*)

Rumput laut dalam bahasa ilmiah dikenal dengan istilah alga. Rumput laut merupakan tanaman tingkat rendah. Ciri-ciri rumput laut yaitu tidak mempunyai akar, batang dan daun sejati tetapi memiliki talus yang menyerupai batang. Rumput laut tumbuh di alam dengan melekatkan dirinya pada karang, lumpur, pasir, dan batu. Selain benda mati, rumput laut juga dapat melekat pada tumbuhan lain secara epifitik. Rumput laut mengandung sumber karaginan, agar-agar dan alginat yang cukup tinggi (Prasetyowati dkk., 2008). Berdasarkan pigmen yang ada pada alga dapat dikelompokkan menjadi empat, yaitu *Rhodopyceae* (alga merah), *Phaeopyceae* (alga coklat), *Chlorophyceae* (alga hijau) dan *Cyanophyceae* (alga hijau biru). Rumput laut juga diketahui kaya akan nutrisi esensial, seperti enzim, asam nukleat, asam amino, mineral, trace elements khususnya yodium, dan vitamin A, B, C, D, E dan K. Selain itu, rumput laut juga bisa meningkatkan fungsi pertahanan tubuh, memperbaiki sistem peredaran darah dan sistem.

Rumput laut bermanfaat untuk makanan, obat dan bahan baku industri. *Euचेuma cottonii* (alga merah) memiliki kandungan agar yang biasanya digunakan dalam pembuatan makanan, farmasi dan industri (Ghufran, 2010). Rumput laut adalah sumber hayati bernilai ekonomi tinggi dan dimanfaatkan dalam industri pangan maupun non pangan seperti bidang farmasi dan kosmetik (Dwimayasanti dan Kurnianto, 2018). Faktor-faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan rumput laut antar lain adalah suhu, cahaya, salinitas, kekeruhan, arus, dan pH perairan.

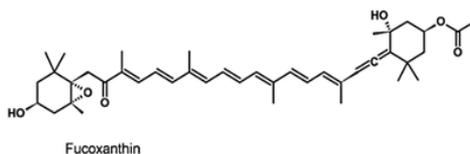
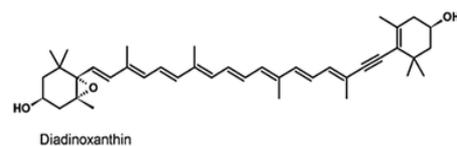
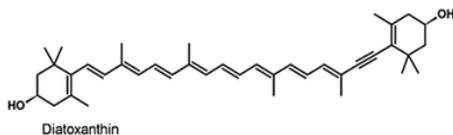
Adapun karakteristik rumput laut dari masing-masing kelas dapat dilihat pada tabel berikut ini:

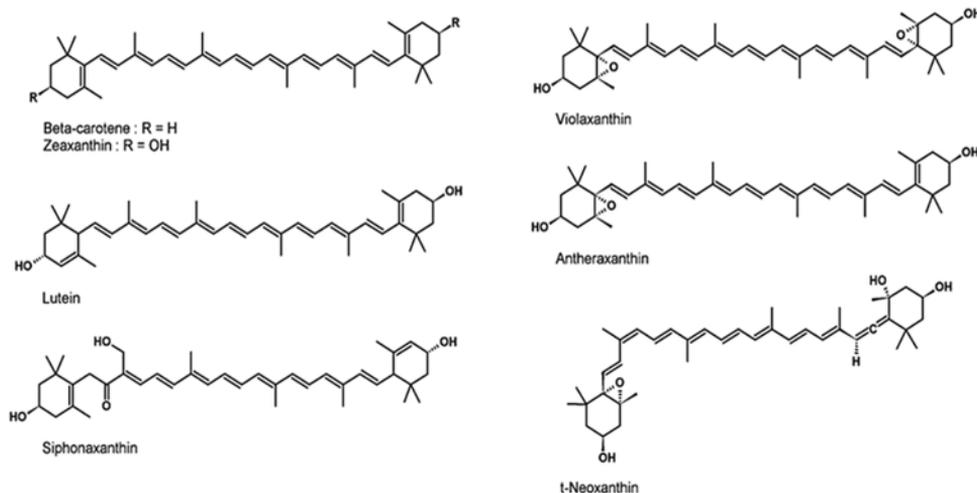
**Tabel 1.** Karakteristik rumput laut (Sahat, 2013).

Jenis Rumput Laut	Pigmen	Zat Penyusun Dinding Sel	Habitat
<i>Chrysophyta</i>	Karoten; xantofil	Silikon	Laut; air tawar
<i>Chloophyceae</i>	Klorofil <i>a</i> , klorofil <i>b</i> dan karotenoid (siponaxantina, siponein, lutein, violaxantin dan zeaxantin)	Selulosa	Air asin; air tawar
<i>Rodophyceae</i>	Klorofil <i>a</i> , klorofil <i>d</i> , karoten dan pikobiliprotein (pikoeritrin dan pikosianin)	CaCO <sub>3</sub> (kalsium karbonat), selulosa dan produk fotosintetik berupa karaginan, agar, fulcellaran dan porpiran.	Laut; sedikit di air tawar
<i>Phaeophyceae</i>	Klorofil <i>a</i> , klorofil <i>c</i> (c1 dan c2) dan karotenoid (fukoxantin, violaxantin dan zeaxantin)	Asam alginat	Laut

### 1.2.2 Karotenoid

Karotenoid suatu kelompok pigmen berwarna oranye, merah, atau kuning. Senyawa ini ditemukan tersebar luas dalam tanaman dan buah-buahan dan tidak diproduksi oleh tubuh manusia. Karotenoid tersebut adalah pewarna alami yang larut dalam lemak, metabolit sekunder dari jenis terpenoid berupa suatu poliisoprenoid panjang (terdiri atas 40 atom karbon/tetraterpen) yang mengandung ikatan rangkap dan tersusun dari rantai poliisoprena simetris terhadap pusat ikatan (Mueller dan Boehm, 2011). Kedua molekulnya mengandung cincin sikloheksena yang tersubstitusi (Wirahadikusumah, 1985).





**Gambar 1.** Struktur Senyawa Karotenoid (Coulumbier et.al., 2021)

Karotenoid dapat ditemukan dalam tumbuhan, beberapa jenis hewan, alga, bakteri dan jamur. Pigmen karotenoid pada tumbuhan mempunyai dua fungsi, yaitu sebagai pigmen pembantu dalam fotosintesis dan sebagai pewarna dalam bunga dan buah. Karotenoid merupakan pigmen yang berwarna kuning, oranye atau merah, sehingga dapat diidentifikasi melalui warnanya (Harborne, 1987).

### 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. mengetahui persen rendemen ekstrak dan kandungan pigmen karotenoid yang dihasilkan dari rumput laut (*Eucheuma cottonii*),
2. mengidentifikasi pigmen karotenoid yang didapatkan dari rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang diperoleh di tambak dan laut
3. menentukan perbandingan aktivitas antioksidan dari ekstrak total dan pigmen yang diisolasi pada rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang diperoleh di tambak dan laut,
4. menentukan perbandingan potensi rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang diperoleh di tambak dan laut sebagai antikanker dari ekstrak total dan pigmen yang diisolasi.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan yang tinggi antara rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang diperoleh di tambak dan di laut, serta besar potensi sebagai antikanker.

## **BAB II METODE PENELITIAN**

### **2.1 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu rumput laut (*Euचेuma cottonii*), n-heksana, metanol, natrium klorida (NaCl, Merck), larva udang *Artemia salina*, kalium hidroksida (KOH, Merck), natrium sulfat anhidrat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Merck), aseton (Merck), etil asetat (Merck), asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Merck), 2,2-diphenil-2-picryl hydrazil (DPPH), dimetil sulfoksida (DMSO, Merck), asam askorbat (Merck), akuades, plat kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel GF 254, dan kertas saring Whatman No. 42.

### **2.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium, bejana maserasi, corong pisah, *blender*, neraca analitik (Ohaus), *rotary evaporator* (Hanshin), plat tetes, oven, *shaker*, mikropipet, lampu pijar, aerator, corong Buchner, spektrofotometer FTIR (Shimadzu), dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

### **2.3 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Juli 2024 di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan.

### **2.4 Prosedur Penelitian**

#### **2.4.1 Preparasi Sampel**

Masing-masing sampel rumput laut (*Euचेuma cottonii*) diambil dari tambak dan laut sebanyak 5 kg dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran seperti pasir, garam, dan kontaminan makro lainnya. Kemudian dikering-anginkan dan dipotong kecil-kecil agar sampel lebih mudah untuk dihancurkan menggunakan blender hingga diperoleh sampel dalam bentuk serbuk.

#### **2.4.2 Ekstraksi Rumput Laut (*Euचेuma cottonii*)**

Sampel yang telah kering dipotong-potong kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia kering. Simplisia ditimbang sebanyak 500 g dan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer. Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:3 menggunakan n-heksan p.a dan direndam selama 3x24 jam, kemudian disaring hingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan kecepatan 60 rpm dan pada suhu 55 °C sampai seluruh pelarut menguap dan didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh digunakan untuk pengujian fitokimia, antioksidan, toksisitas, dan sitotoksitas.

### **2.4.3 Isolasi Senyawa Pigmen Karotenoid dengan Saponifikasi (Tanduk et.al., 2016)**

Kandungan lipid-lipid dan klorofil yang mungkin mengganggu kemudian dihilangkan dengan cara reaksi saponifikasi dengan larutan KOH/metanol 20%. Perbandingan 1:1 sampel dicampurkan dengan larutan saponifikasi. Setelah itu diaduk pelan dengan menggunakan shaker selama 30 menit. Selanjutnya, dicuci dengan akuades hingga pH kembali netral dan difraksinasi, lapisan n-heksana dipindahkan ke dalam erlemeyer dan dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat setelah itu ditambahkan metanol absolut dengan perbandingan 1:1 dan dibiarkan pada suhu kamar hingga dihasilkan ekstrak berbentuk pasta. Selanjutnya, pelarut diuapkan pada suhu kamar sehingga diperoleh ekstrak pigmen karotenoid berbentuk pasta berwarna kuning.

### **2.4.4 Identifikasi Senyawa Pigmen Karotenoid**

#### **2.4.4.1 Uji Pendahuluan (Haeria et.al., 2014)**

Ekstrak ditetaskan ke atas plat tetes setelah itu dibiarkan kering kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes asam sulfat pekat. Uji positif apabila dihasilkan cincin warna merah jingga.

#### **2.4.4.2 Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Sulistyaningrum, 2014)**

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pada  $5 \times 7,5$  cm plat silika gel  $5 \mu\text{L}$  pigmen karotenoid ditotolkan pada pelat KLT 1 cm di atas plat dasar dan dielus dengan pelarut campuran n-heksana/etil asetat (75:25 v/v), n-heksana/etil asetat (75:25 v/v), dan aseton/etil asetat (20:80 v/v).

#### **2.4.4.3 Analisis Panjang Gelombang Maksimum dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis**

Pigmen karotenoid yang diperoleh kemudian diidentifikasi panjang gelombang maksimumnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-600 nm. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada penyerapan sinar tampak oleh suatu molekul yang dapat menyebabkan eksitasi elektron dalam orbital molekul tersebut dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi.

#### **2.4.4.3 Identifikasi Gugus Fungsi dengan Spektroskopi FTIR**

Prinsip kerja spektrofotometer FTIR didasarkan pada besarnya frekuensi sinar infra merah yang diserap dengan tingkat energi tertentu. Apabila frekuensi tertentu diserap Ketika melewati sebuah senyawa yang diidentifikasi, maka energi dari frekuensi tersebut akan ditransfer ke senyawa tersebut. Molekul senyawa kompleks yang ditembak dengan energi dari sinar yang akan menyebabkan molekul tersebut mengalami vibrasi. Besarnya energi vibrasi tiap atom atau molekul berbeda tergantung pada atom-atom dan kekuatan ikatan sehingga dihasilkan frekuensi yang berbeda pula.

### 2.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Masrikhiyah, 2021)

Menurut Nursid et.al., (2013) bahwa uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode transfer elektron menggunakan DPPH sebagai radikal bebas. Analisis data pada uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi dari masing-masing sampel menggunakan rumus pada persamaan 1:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs. Kontrol Asam Askorbat} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol Asam Askorbat}} \times 100\% \quad (1)$$

Berdasarkan data persen (%) aktivitas antioksidan, maka nilai  $LC_{50}$  sampel dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan persen (%) aktivitas antioksidan. Rumus persamaan regresi yang digunakan dapat dilihat pada persamaan 2:

$$y = ax + b \quad (2)$$

Keterangan:

y : % perendaman DPPH (digunakan 50 untuk mengetahui 50 % LC)

x : konsentrasi sampel dalam satuan  $\mu\text{g/mL}$  (Nilai  $LC_{50}$ )

a,b : parameter regresi

#### 2.4.5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,40 mM

Padatan DPPH sebanyak 7 mg dilarutkan dalam 50 mL metanol sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,40 mM.

#### 2.4.5.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,40 mM dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 4 mL metanol, kemudian dibiarkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-550 nm kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum.

#### 2.4.5.3 Pengukuran Daya Antioksidan Sampel

Masing-masing sampel dan asam askorbat sebagai kontrol positif ditimbang sebanyak 0,1 g, kemudian dilarutkan dalam 0,1 L metanol hingga diperoleh sampel dengan konsentrasi sebesar 10.000 ppm. Larutan induk dipipet 0,25; 0,5; 1; 2; dan 4 mL ke dalam tabung reaksi berbeda untuk variasi konsentrasi berturut-turut 500; 1000; 2000; 4000; dan 8000 ppm, kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 0,40 mM kemudian dicukupkan volume larutan 5 mL dengan metanol, dan dihomogenkan. Larutan kontrol yang digunakan pada pengukuran ini adalah campuran 1 mL DPPH 0,40 mM dengan 4 mL metanol sedangkan pelarut metanol digunakan sebagai blanko. Larutan sampel, kontrol, serta blanko tersebut didiamkan pada tempat gelap selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH 0,40 mM.

Setelah nilai absorbansi masing-masing larutan diketahui, maka nilai persen (%) aktivitas antioksidan dan nilai LC<sub>50</sub> dari sampel dapat diketahui.

## 2.4.6 Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT (Kawung et.al., 2023)

### 2.4.6.1 Penyiapan Suspensi Larva *Artemia salina* Leach

Penetasan *A. salina* dilakukan dalam 3 L medium penetasan yang ditempatkan dalam wadah bersekat yang memiliki dua bagian, satu bagian diberi tutup gelap dan bagian lainnya dibiarkan terbuka. Sebanyak 100 mg telur dimasukkan dalam bagian wadah yang diberi tutup gelap. Selanjutnya telur dibiarkan menetas menjadi larva pada suhu kamar selama 2x24 jam dengan aerasi menggunakan pompa aquarium. Setelah menetas, larva akan bergerak menuju bagian wadah yang terbuka yang diberi sumber cahaya lampu. Untuk keperluan pengujian, larva dipindahkan dengan cara dipipet ke dalam cawan petri yang berisi air laut buatan. Dalam wadah baru tersebut dilakukan proses pemekatan dengan cara pengurangan volume air laut menggunakan pipet atau selang plastik kecil sampai didapatkan suspensi dengan kepekatan larva 10-15 ekor per 100 µL air laut buatan. Proses ini dilakukan di bawah cahaya lampu.

### 2.4.6.2 Pengukuran Toksisitas dengan Metode BSLT

Mula-mula dibuat larutan stok ekstrak rumput laut dalam larutan 1% dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi 2000 µg/mL. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi ekstrak sebesar 10; 20; 40; 80; 100; 200 µg/mL dari larutan stok tersebut dengan pengenceran menggunakan air laut steril. Sebagai kontrol, digunakan larutan DMSO 1 % dalam air laut steril tanpa ekstrak.

Sepuluh ekor larva *A. salina* dimasukkan ke dalam vial yang berisi ekstrak sampel dalam berbagai seri konsentrasi. Masing-masing perlakuan dan kontrol dilakukan tiga kali ulangan. Maksimal kematian larva *A. salina* pada kontrol tidak boleh melebihi 10 % dari total populasi uji. Selanjutnya, semua vial diinkubasikan di bawah lampu TL 15 watt selama 24 jam. Setelah diinkubasi, jumlah larva *A. salina* yang mati pada tiap vial dilihat dengan bantuan kaca pembesar dan dihitung untuk menentukan persentase kematiannya. Nilai *Lethal Concentration* (LC<sub>50</sub>) dihitung menggunakan analisis probit program MINITAB versi 13.2 dengan selang kepercayaan 95 %.

Parameter yang digunakan adalah jumlah *Artemia* yang mati 50 % dari total larva uji. Kemudian dihitung nilai LC<sub>50</sub> dengan memasukkan angka probit (50 % kematian larva uji). Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian, menggunakan rumus:

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \% \quad (3)$$

Dengan mengetahui kematian larva *Artemia salina*, kemudian dicari angka probit melalui tabel pada Lampiran 3 dan dibuat persamaan garis :  $y = bx + a$

Dimana,  $y$  = log konsentrasi, dan

$x$  = angka probit