

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alga cokelat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang sangat melimpah dan tumbuh secara alami di pesisir pantai Indonesia (Wijayanti, 2021). Alga cokelat *Padina australis* termasuk salah satu jenis rumput laut yang banyak ditemukan di perairan wilayah tropis (Hidayah, 2024). *Padina australis* merupakan alga cokelat yang tersebar di perairan laut, mulai perairan laut dangkal hingga laut dalam. Alga ini mempunyai bentuk lembaran atau filamen yang lebar dan berwarna cokelat transparan (Fadel dkk, 2022).

Padina australis mengandung berbagai senyawa, seperti fenol dan turunannya (flavonoid), β -karoten, diadinoksantin, diaktosantin, fukosantin, klorofil a dan klorofil c. Senyawa fukosantin diketahui memiliki aktivitas sebagai agen sitotoksik atau anti kanker, sementara senyawa fenol dan turunannya berperan sebagai antibakteri serta antioksidan (Handayani & Zuhrotun, 2017).

Selain itu, *Padina australis* mengandung berbagai jenis asam lemak diantaranya *Hexadecanoic acid, methyl ester, 9-octadecenoic acid, methyl ester, 1-tert-butoxy-5-trimethylsilyloxypentane, pentadecanoic acid, 14-methoxy-, methyl ester, stigmast-5-EN-3-OL, (3.Beta.,24S)-*, dan *Propanoic acid* (Khadijah, 2021). *Hexadecanoic acid, methyl ester* dilaporkan menunjukkan potensi sebagai antibakteri, hal ini dipengaruhi oleh struktur, bentuk, dan fungsi panjang rantai karbon (Shaaban, 2021). Adapun *14-methoxy-, methyl ester* yang berperan sebagai biomarker untuk artitis reumatoid (Pubchem, 2025). Sedangkan, *stigmast-5-EN-3-OL, (3.Beta.,24S)-*, memiliki aktivitas antiinflamasi dan efek penurunan kolesterol, serta digunakan dalam kosmetik (Biosynth®, 2025).

Berbagai jenis senyawa volatil juga ditemukan dalam rumput laut, salah satunya *Padina australis*. Senyawa volatil merupakan molekul dengan tekanan uap tinggi, hidrofilitas sedang, dan berat molekul yang relatif rendah. Jenis senyawa volatil yang ditemukan meliputi hidrokarbon, keton, aldehida, alkohol, asam karboksilat, ester, senyawa terhalogenasi, serta kelompok senyawa seperti furan, pirazina, piridina, amina, serta senyawa volatil lainnya (Casais, 2013).

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) merupakan metode ekstraksi yang menggunakan prinsip kavitasi akustik untuk memproduksi gelombang spontan (kavitasi) dalam fase cair dibawah titik didihnya dan akan merusak dinding sel sehingga pelarut dapat masuk kedalam sampel (Marlina Kristina *et al.*, 2022). Metode UAE memiliki kelebihan yaitu dapat meningkatkan penetrasi cairan menuju dinding sel dan membutuhkan waktu yang relatif singkat (Kanifah *et al.*, 2015). Rendemen ekstrak yang menggunakan sistem UAE cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi konvensional. Berdasarkan penelitian Adhiksana (2017) menyatakan bahwa rendemen menggunakan metode *ultrasonic* dibandingkan dengan menggunakan



upakan tahap kedua pemisahan senyawa. Fraksinasi adalah teknik kelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolarannya. asasi digunakan dua pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak akan terpisah

berdasarkan kepolarannya. prosedur pemisahan ini yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama senyawa dalam ekstrak dan golongan yang lainnya (Pratiwi *et al.*, 2016).

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan suatu proses kromatografi gas yang digunakan secara bersamaan dengan spektrometri massa (Hotmian *et al.*, 2021). Teknik GC-MS adalah teknik pemisahan sampel yang dilakukan melalui kromatografi gas dan diikuti dengan analisis menggunakan spektrometri masa, teknik ini memiliki sensitivitas yang tinggi sehingga memungkinkan pemisahan senyawa yang tercampur dan analisis dalam berbagai kadar atau konsentrasi yang rendah (Diva Candraningrat *et al.*, 2021). Teknik ini digunakan untuk menganalisis berbagai komponen dalam senyawa yang berbentuk gas dan tetap stabil pada suhu tinggi, kemudian diidentifikasi melalui massa molekulnya (Rahmawati *et al.*, 2023). Analisis GC-MS dapat memberikan informasi yang penting pada komponen senyawa yang bersifat volatil, non-ionik, stabil termalnya, dan berat molekul yang relatif rendah. Senyawa seperti terpenoid, flavonoid, fenol, dan asam lemak merupakan komponen senyawa yang mudah dianalisis GC-MS (Doughari, 2012).

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memfraksinasi serta mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam alga cokelat *Padina australis* dengan menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectometry* (GC-MS).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu:

Mengapa perlu dilakukan fraksinasi dan analisis metabolit sekunder dari *Padina australis* menggunakan metode GC-MS?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini yaitu: untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Padina australis* serta mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Padina australis* dengan menggunakan alat *Gas Chromatography-Mass Spectometry* (GC-MS).



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat gelas (Pyrex®), cawan porselen, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) (Shimadzu QP2010®), klem, kolom fraksinasi, oven *herbs dryer*, pompa, *rotary evaporator* (Heidolph®), statif, dan timbangan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alga cokelat *Padina australis*, aluminium foil, etil asetat, n-Heksan, kertas saring, metanol, toluene, dan gas helium.

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel alga cokelat *Padina australis* diambil dari Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan, lalu dilakukan sortasi basah dengan air mengalir yang bertujuan untuk memisahkan pengotor dan substrat yang masih melekat, kemudian sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dilanjutkan menggunakan oven *herbs dryer* dengan suhu 50°C. sampel kering kemudian dilakukan perajangan lalu disimpan untuk tahap selanjutnya

2.2.2 Ekstraksi Sampel

Sampel diekstraksi dengan menggunakan metode *ultrasonic*. Metode ini dilakukan dengan menggunakan bantuan alat sonikator selama 30 menit. Simplisia yang diekstraksi ditimbang sebanyak 300 g dalam 3000 ml pelarut metanol.

2.2.3 Penguapan Pelarut

Penguapan pelarut dilakukan dengan bantuan alat *rotary evaporator* dengan suhu tidak melebihi 60°C dengan kecepatan 150 rpm. Setelah selesai, sampel kemudian disimpan untuk proses selanjutnya.

2.2.4 Fraksinasi

Ekstrak yang telah didapatkan kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) dimana fase diamnya yang berupa silika gel di mampatkan dalam kolom menggunakan n-Heksan, diikuti dengan pompa vakum. Kemudian dimasukkan ekstrak yang sebelumnya diserbukkan menggunakan silika gel, lalu dielusi dengan menggunakan n-Heksan (100 %), n-Heksan: etil asetat dengan gradien konsentrasi yang berbeda-beda yakni 90:10, 80:20, 65:35, 50:50, 20:80 dan metanol (100%) sebanyak 50 ml yang dibantu dengan kondisi vakum. Fraksi-fraksi yang diperoleh di kumpulkan dalam wadah sesuai eluen yang digunakan, lalu disimpan untuk



2.3. Analisis Metabolit Sekunder Menggunakan GC-MS

2.3.1 Kondisi Kromatografi

Instrumen GC-MS diatur dengan suhu injector 250°C menggunakan metode splitless, dengan tekanan 76,9 kPa serta laju alir gas 14 mL/menit dalam rasio 1:10. Suhu pada sumber ion adalah 200°C dan pada *interface* 280°C. Waktu *solvent cut* berlangsung selama 3 menit, dengan rentang deteksi antara 400-700 m/z. kolom yang digunakan adalah SH-Rxi 5Sil MS, dengan panjang 30 m dan diameter dalam 0,25 mm. suhu awal kolom diatur pada 70°C dan ditahan selama 2 menit, lalu dinaikkan hingga 200°C dengan kecepatan 10°C/menit dan suhu akhirnya diatur pada 280°C menggunakan waktu tahan 9 menit beserta laju 50°C/menit sehingga total waktu analisis yang diperlukan yaitu 50 menit.

2.3.2 Pengumpulan dan Analisis Data

Data kromatogram yang diperoleh dari analisis GC-MS akan dianalisis serta dibandingkan dengan database *National Institute of Standards and Technology* (NIST) dan Wiley 9. NIST adalah sebuah aplikasi perangkat lunak yang digunakan untuk mengembangkan pustaka spektrum massa, yang dirancang untuk identifikasi suatu senyawa dengan menyediakan referensi spectrum massa untuk instrumen GC-MS melalui ionisasi electron, serta instrumen LC/MS/MS menggunakan spektrometri massa tandem dan menyediakan indeks retensi fasa gas untuk GC (Anonim, 2024). Sementara itu, Wiley digunakan sebagai database spectrum GC-MS yang digunakan untuk mengidentifikasi jenis metabolit atau senyawa berbeda selama proses identifikasi (Anonim, 2024).

