

**IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIRADIKAL BEBAS  
PADA RUMPUT LAUT *Sargassum ringgoldianum***

**I M. Dira Swantara, A. A. Bawa Putra, dan I P. Surya Udayana**

*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

---

**ABSTRAK**

Telah dilakukan identifikasi senyawa aktif antiradikal bebas dari rumput laut *Sargassum ringgoldianum*. Ekstraksi metabolitnya dilakukan dengan cara maserasi menggunakan campuran pelarut etanol dan asam asetat dengan perbandingan 9:1 dan dihasilkan 7,02 gram ekstrak pekat dari 230 gram serbuk sampel. Ekstrak pekat ini memiliki persentase peredaman radikal bebas sebesar 66,50% pada menit ke-5 dan 78,77% pada menit ke-60. Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan cara partisi, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kolom. Partisi dilakukan menggunakan petroleum eter, kloroform, etil asetat serta air hingga didapatkan ekstrak petroleum eter yang memiliki persentase peredaman radikal bebas paling besar yaitu 76,21% pada menit ke-5 dan 91,16% pada menit ke-60. Terhadap ekstrak petroleum eter dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 dengan fase gerak campuran petroleum eter : aseton (7:3) yang menghasilkan lima fraksi (F<sub>A</sub>, F<sub>B</sub>, F<sub>C</sub>, F<sub>D</sub>, dan F<sub>E</sub>). Fraksi yang paling aktif sebagai antiradikal bebas yaitu fraksi B dengan persentase peredaman sebesar 62,77% pada menit ke-5 dan 92,19% pada menit ke-60, aktivitas ini setara dengan 93,06% dibandingkan aktivitas peredaman radikal bebas vitamin E. Fraksi B selanjutnya diidentifikasi menggunakan paduan kromatografi gas-spektroskopi massa sehingga teridentifikasi enam senyawa yaitu: etil miristat, dibutil ftalat, etil palmitat, metil isostearat, dioktil ftalat, dan 3 $\beta$ -bromokolest-5-ena.

Kata kunci : identifikasi, antiradikal bebas, rumput laut *Sargassum ringgoldianum*, kromatografi gas-spektroskopi massa

**ABSTRACT**

The identification of antiradical compounds from *Sargassum ringgoldianum* seaweed has been conducted. Its metabolite extraction was carried out by maceration using ethanol and acetic acid mixture with ratio 9:1. It produced 7,02 gram crude extract from 230 grams of sample pollen. This crude extract has free-radical reduction activity of 66,50% at the fifth minute and 78,77% at the sixtieth minute. Separation and purification were carried out by partition, thin layer chromatography, and column chromatography. Partition was accomplished using petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and also water. Petroleum ether extract had the highest free-radical reduction percentage, of 76,21%, which was obtained on the fifth minute, and 91,16% on the sixtieth minute. The petroleum ether extract was further separated with column chromatography, using stationary phase of silica gel 60 and mobile phase of a mixture of petroleum ether : acetone (7:3) and produced five fractions (F<sub>A</sub>, F<sub>B</sub>, F<sub>C</sub>, F<sub>D</sub>, dan F<sub>E</sub>). The most active fraction with antiradical activity was fraction B with percentage of free-radical reduction of 62,77% on the fifth minute and 92,19% on the sixtieth minute. This activity equals 93,06% of the antiradical activity of vitamin E. Fraction B was identified to consist of six compounds : ethyl myristate; dibutyl phthalate; ethyl palmitate; methyl isostearate; dioctyl phthalate; and 3 $\beta$ -bromo cholest-5-ene.

Keywords : identification, antiradical, *Sargassum ringgoldianum* seaweed, gas chromatography-mass spectrometer

## PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah penderita penyakit degeneratif di Indonesia, memotivasi para peneliti pangan dan gizi Indonesia untuk mengeksplorasi senyawa-senyawa antioksidan yang berasal dari sumber alami. Tingginya keanekaragaman kekayaan alam yang dianugerahkan Tuhan kepada bangsa Indonesia, merupakan potensi yang sangat berharga dan bermanfaat untuk kesehatan masyarakatnya (Ardiansyah, 2007).

Antioksidan merupakan senyawa yang bertindak sebagai zat antibodi dari senyawa-senyawa berbahaya bagi makhluk hidup (Ardiansyah, 2007). Menurut Indriani (2009), senyawa antioksidan dapat mengurangi akumulasi produk radikal bebas, menetralkan racun, dan mencegah penyakit genetik. Senyawa antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan umumnya berupa senyawa fenolik (tokoferol, flavonoid, dan asam fenolat), senyawa nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino, dan amina), atau karotenoid seperti asam askorbat.

Untuk tetap melindungi makhluk hidup dari ancaman radikal bebas, maka antioksidan alami harus terus dicari karena antioksidan alami teruji aman dan tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan sekitar. Selain sumber alam yang berasal dari daratan, pencarian senyawa antioksidan alami juga dapat digali dari potensi sumberdaya hayati kelautan (Aristina dan Susilo, 2004).

Rumput laut merupakan salah satu sumber bahan alam hayati lautan yang sangat berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan dan banyak digunakan sebagai suplemen kesehatan. Rumput laut mengandung vitamin, mineral, asam amino, dan enzim, sehingga dipercaya dapat membersihkan tubuh dari ancaman radikal bebas (Putra, 2008). Banyak penelitian yang memuat hasil kajian senyawa antiradikal bebas yang berasal dari rumput laut telah dilaporkan pada forum-forum publik, salah satunya adalah astasantin yang tergolong senyawa karoten. Menurut Lowlor dan O'Brien (1995) astasantin memiliki keefektifan 1000 kali lebih tinggi sebagai antiradikal bebas dibandingkan dengan vitamin E. Selain itu, penelitian-penelitian antiradikal bebas dari

berbagai rumput laut dari genus *Sargassum* seperti *Sargassum micracanthum*, *Sargassum siliquastrum*, *Sargassum boveanum*, dan *Sargassum muticum*, telah dilakukan di negara-negara seperti Jepang, Korea, Iran, dan Perancis. Hasil penelitian menunjukkan semua ekstrak *Sargassum micracanthum*, *Sargassum siliquastrum*, *Sargassum boveanum*, dan *Sargassum muticum* dari berbagai pelarut memberikan peredaman absorbansi larutan DPPH di atas 50% atau bersifat sebagai antiradikal bebas (Iwashima, *et al.*, 2005; Cho, *et al.*, 2007; Zahra, *et al.*, 2007; Le Lann, *et al.*, 2008).

Beberapa spesies rumput laut dari kelas alga coklat seperti *Dictyota dichotoma*, *Dictyota apiculata*, *Hormophysa sp.*, *Hydroclathrus clathatus*, *Padina Australis*, *Sargassum siliquosum*, *Sargassum aquifolium*, *Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornata*, dan *Turbinaria conoides* tersebar luas di perairan Indonesia dari perairan Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara, hingga Kepulauan Maluku (Sediadi, 2000). Di pulau Bali, khususnya pantai di daerah Pekutatan di Kabupaten Jembrana banyak tumbuh dan dibudidayakan spesies alga coklat *Sargassum ringgoldianum*. Berdasarkan uji pendahuluan aktivitas antiradikal bebas terhadap ekstrak kasar dari rumput laut *Sargassum ringgoldianum* menunjukkan hasil peredaman radikal bebas pada menit ke-5 sebesar 66,50% dan menit ke-60 sebesar 78,77%.

Dilihat dari banyaknya rumput laut *Sargassum ringgoldianum* yang tumbuh dan dibudidayakan di pulau Bali, serta belum ditemukannya penelitian yang mengisolasi kandungan kimia yang aktif sebagai antiradikal bebas pada *Sargassum ringgoldianum*, maka pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa antiradikal bebas dari rumput laut *Sargassum ringgoldianum*.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: rumput laut *Sargassum ringgoldianum*, etanol teknis, metanol p.a,

petroleum eter (teknis dan p.a), aseton p.a, kloroform teknis, etil asetat teknis, *n*-heksana teknis, silika gel 60, plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub>, kristal DPPH (Difenilpikril hidrazil), HCl, pereaksi NaOH 10%, pereaksi Wilstatter, pereaksi Bate-Smith dan Metcalfe, pereaksi Wagner, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, dan pereaksi feri(III) klorida 1%.

### Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, blender, ayakan, neraca elektronik, erlenmeyer, gelas beker, labu ukur, kain kasa, kertas saring, aluminium foil, penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*), pipet volume, pipet tetes, pipet mikro, statif, klem statif, corong pisah, seperangkat alat KLT dan kromatografi kolom, lampu UV, botol vial, alat spektrofotometer UV-Vis, dan seperangkat alat kromatografi gas-spektroskopi massa.

### Cara Kerja

Rumput laut *Sargassum ringgoldianum* diiris tipis, lalu dikeringkan dengan cara dikering-anginkan di udara terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung agar kandungan senyawa pada sampel tidak rusak. Setelah kering, digerus atau dihaluskan sampai berbentuk serbuk halus, kemudian diayak. Sampel dalam bentuk serbuk diambil  $\pm 250$  gram, dimaserasi dengan campuran pelarut etanol dan asam asetat dengan perbandingan 9:1. Setiap 24 jam ekstrak tersebut disaring dan diganti pelarutnya dan dilakukan secara berulang. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) sehingga menghasilkan ekstrak kasar (*crude extract*). Terhadap ekstrak kasar ini dilakukan uji aktivitas peredaman radikal bebasnya.

Ekstrak kasar dilarutkan dalam  $\pm 100$  mL air kemudian dipartisi dengan petroleum eter (3 x 25 mL). Ekstrak petroleum eter (EP) dikumpulkan dan residunya (ekstrak air) dipartisi kembali dengan kloroform (3 x 25 mL) kemudian ekstrak kloroform (EK) dikumpulkan. Terakhir ekstrak air dipartisi dengan etil asetat (3 x 25 mL). Ekstrak etilasetat (EE) dan ekstrak air

(EA) dikumpulkan. Keempat ekstrak (EP, EK, EE, dan EA) diuapkan dengan penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) sehingga diperoleh ekstrak EP, EK, EE, dan EA. Keempat ekstrak ini diuji aktivitas peredaman radikal bebasnya terhadap DPPH. Ekstrak yang memperlihatkan aktivitas antiradikal bebas yang paling baik selanjutnya dipisahkan menggunakan kromatografi kolom.

Sebelum pemisahan dengan kromatografi kolom, terlebih dahulu dilakukan kromatografi lapis tipis untuk mencari eluen terbaik yang digunakan pada kromatografi kolom. Pemilihan eluen dilakukan dengan cara mencoba-coba berbagai sistem pelarut dengan kepolaran yang berbeda. Kecepatan alir eluen pada kromatografi kolom diatur sedemikian rupa sehingga kecepatan alir sekitar 1 mL/menit. Eluat ditam-pung setiap 3 mL pada botol vial yang telah disediakan. Proses kromatografi kolom dihenti-kan setelah semua metabolit diperkirakan keluar dari kolom. Setelah itu, masing-masing eluat pada botol vial diuji dengan KLT penggabungan menggunakan eluen yang sesuai, kemudian plat KLT dideteksi nodanya. Eluat yang menunjukkan pola noda yang sama digabungkan sehingga diperoleh beberapa fraksi. Semua fraksi yang diperoleh, diuji aktivitas antiradikal bebasnya, sehingga menghasilkan fraksi yang paling aktif. Fraksi yang paling aktif ini diuji golongan senyawanya dan diidentifikasi menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk kering sampel sebanyak 230 gram dimaserasi dengan campuran pelarut etanol dan asam asetat (9:1) dan diperoleh ekstrak kasar sebanyak 7,02 gram. Ekstrak kasar *Sargassum ringgoldianum* diuji aktivitas peredaman radikal bebasnya terhadap DPPH. Uji ini dilakukan dengan menggunakan senyawa DPPH yang memiliki kadar 40 mg/L dengan konsentrasi sampel yaitu 8000 ppm. Hasil uji aktivitas peredaman radikal bebas pada ekstrak kasar tersebut memiliki potensi yang sangat baik sebagai antiradikal bebas. Hal ini dapat dilihat dari persentase peredamannya yaitu sebesar

66,50% pada menit ke-5 dan 78,77% pada menit ke-60. Suatu bahan dikatakan aktif sebagai peredam radikal bebas jika memiliki persentase peredaman lebih besar atau sama dengan 50% (Djarmiko, 1998).

### Partisi

Masing-masing ekstrak hasil partisi yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) sehingga diperoleh ekstrak petroleum eter yang berwarna coklat sebanyak 3,31 gram, ekstrak kloroform yang berwarna kuning kecoklatan sebanyak 1,13 gram, ekstrak etil asetat yang berwarna kuning sebanyak 0,64 gram, dan ekstrak air yang berwarna kuning muda sebanyak 0,97 gram.

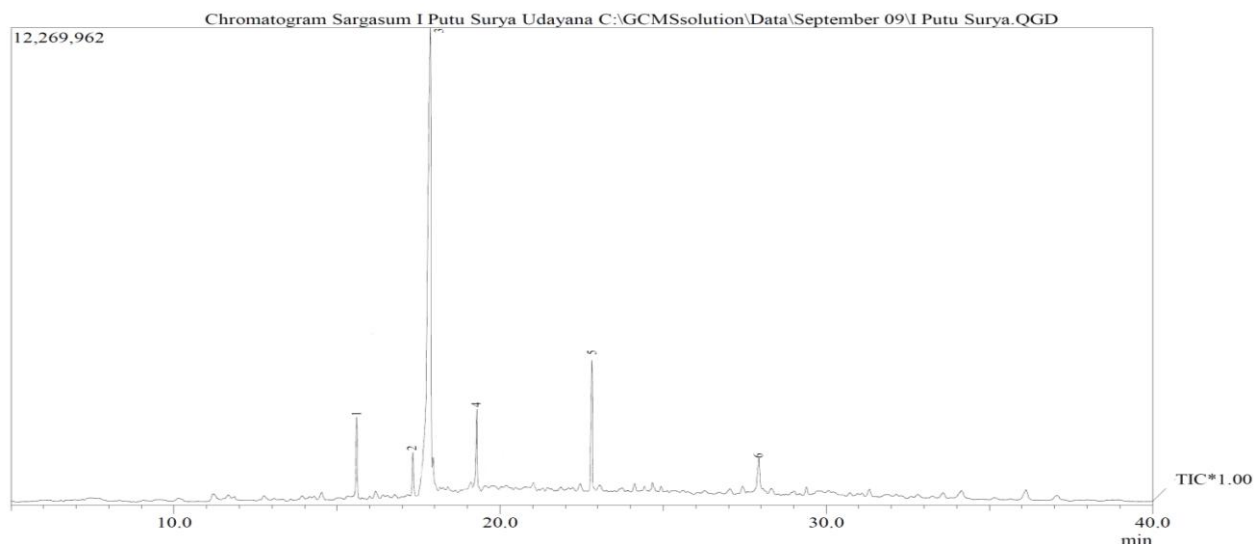
Keempat ekstrak hasil partisi selanjutnya diuji aktivitas peredaman radikal bebasnya terhadap DPPH. Besarnya aktivitas peredaman radikal bebas pada keempat ekstrak tersebut

ternyata memiliki persentase peredaman melebihi 100%. Nilai 100% berarti peredaman total dan pengukuran pun perlu diulangi dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya (Djarmiko, 1998), maka keempat ekstrak tersebut diencerkan sebanyak lima kali sehingga konsentrasinya menjadi 1600 ppm.

Berdasarkan hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa keempat ekstrak petroleum eter, kloroform, etil asetat, dan ekstrak air bersifat aktif sebagai peredam radikal bebas. Namun, ekstrak petroleum eter memiliki persentase peredaman paling besar pada menit ke-60 yaitu sebesar 91,16% sedangkan ekstrak kloroform sebesar 51,63%, ekstrak etil asetat sebesar 53,02%, dan ekstrak air sebesar 52,09%. Oleh karena itu, ekstrak petroleum eter bersifat aktif sebagai peredam radikal bebas yang paling baik sehingga tahap kerja selanjutnya hanya dilakukan terhadap ekstrak petroleum eter.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas peredaman radikal bebas fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom

Fraksi (F)	Waktu (menit)	Uji	Absorbansi (A)			A Hitung 517 nm	Peredaman (%)
			497 nm	517 nm	537 nm		
A	5	DPPH	0,751	0,831	0,680	0,1155	47,19
		Sampel	0,469	0,493	0,395	0,061	
	60	DPPH	0,752	0,827	0,682	0,11	53,18
		Sampel	0,371	0,388	0,302	0,0515	
B	5	DPPH	0,797	0,829	0,724	0,0685	62,77
		Sampel	0,709	0,698	0,636	0,0255	
	60	DPPH	0,792	0,821	0,722	0,064	92,19
		Sampel	0,700	0,669	0,628	0,005	
C	5	DPPH	0,797	0,829	0,724	0,0685	48,91
		Sampel	0,710	0,705	0,630	0,035	
	60	DPPH	0,792	0,821	0,722	0,064	72,66
		Sampel	0,650	0,615	0,545	0,0175	
D	5	DPPH	0,751	0,831	0,680	0,1155	44,16
		Sampel	0,464	0,504	0,415	0,0645	
	60	DPPH	0,752	0,827	0,682	0,11	45,00
		Sampel	0,383	0,411	0,318	0,0605	
E	5	DPPH	0,751	0,831	0,680	0,1155	42,42
		Sampel	0,470	0,508	0,413	0,0665	
	60	DPPH	0,752	0,827	0,682	0,11	53,64
		Sampel	0,387	0,401	0,313	0,051	



Gambar 1. Kromatogram fraksi B

Tabel 2. Data waktu retensi dan kelimpahan kromatogram kromatografi gas serta senyawa yang diduga dari fraksi B

Puncak	Waktu retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Senyawa yang diduga
1	15,525	5,38	Etil miristat
2	17,392	3,64	Dibutil ftalat
3	17,492	71,24	Etil palmitat
4	19,033	6,92	Metil isostearat
5	22,717	8,90	Dioktil ftalat
6	27,833	3,92	3 $\beta$ -bromo-kolest-5-ena

### Kromatografi kolom

Pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan eluen campuran petroleum eter : aseton (7:3), dengan fase diam silika gel 60 (70-230 mesh ASTM). Pemisahan komponen-komponen ekstrak petroleum eter dengan kromatografi kolom menghasilkan 105 botol eluat. Eluat-eluat yang diperoleh dideteksi nodanya menggunakan kromatografi lapis tipis. Eluat-eluat yang mempunyai pola noda yang sama kemudian digabungkan sehingga menghasilkan lima fraksi.

Kelima fraksi (F<sub>A</sub>, F<sub>B</sub>, F<sub>C</sub>, F<sub>D</sub>, dan F<sub>E</sub>) yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas antiradikal bebasnya. Untuk menyamakan perlakuan, sehubungan dengan pengukuran persen peredaman radikal bebas pada ekstrak petroleum eter yang sebelum dipisahkan dengan kromatografi kolom, maka pengukuran persen peredaman radikal bebas pada fraksi hasil kromatografi kolom juga diencerkan sebanyak

lima kali sehingga konsentrasinya menjadi 1600 ppm. Adapun rangkuman hasilnya disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji aktivitas peredaman radikal bebas terhadap kelima fraksi, fraksi B memiliki persentase peredaman radikal bebas paling tinggi pada menit ke-60 yaitu sebesar 92,19 %. Oleh sebab itu, tahap kerja selanjutnya hanya dilakukan terhadap fraksi B yang paling aktif sebagai antiradikal bebas.

### Identifikasi Isolat Aktif

Uji fitokimia terhadap fraksi B yang paling aktif sebagai peredam radikal bebas menunjukkan adanya kandungan senyawa dari golongan ester dan steroid.

Hasil identifikasi fraksi B dengan kromatografi gas-spektroskopi massa disajikan pada Gambar 1. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan adanya enam puncak dengan waktu retensi dan kelimpahan seperti pada Tabel

2. Tiap puncak hasil GC, dianalisis dengan MS dan dibandingkan dengan *data base* yang ada.

Hasil identifikasi dengan kromatografi gas-spektroskopi massa terhadap fraksi B menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi B berasal dari golongan ester dan steroid. Namun senyawa golongan ester tidak dapat diuji kandungannya dalam fraksi B sebab pada penelitian ini hanya dilakukan uji fitokimia terhadap senyawa golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid/steroid, saponin, dan asam fenolat. Senyawa steroid seperti 3 $\beta$ -bromo-kolest-5-ena kemungkinan bersifat antiradikal bebas karena senyawa tersebut mengandung gugus bromo dan ikatan rangkap.

### SIMPULAN

1. Persentase peredaman radikal bebas dalam isolat aktif bersifat antiradikal bebas pada rumput laut *Sargassum ringgoldianum* sebesar 92,19%, aktivitas ini setara dengan 93,06% aktivitas peredaman radikal bebas vitamin E.
2. Isolat aktif bersifat antiradikal bebas diduga mengandung enam senyawa yaitu: etil miristat, dibutil ftalat, etil palmitat, metil isostearat, dioktil ftalat, dan 3 $\beta$ -bromo-kolest-5-ena.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada ibu Ida Ayu Gede Widihati, S.Si., M.Si., Ibu Ir. Ni Gusti Ayu Made Dwi Adhi Suastuti, M.Si., dan Bapak Drs. I Wayan Suirta, M.Si. atas saran dan masukannya.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, 2007, Antioksidan Alami, <<http://ardiansyah.multiply.com/14>>, 28 Mei 2009
- Aristina, D. dan Susilo, T. B., 2004, Jambu Mete Sebagai Antioksidan, <<http://www.edukasi.com/> 2004/12/21/jambu-mete-sebagai-antioksidan/>, 28 Nopember 2008
- Cho, S. H., Kang, S. E., Cho, J. Y., Kim, A. R., Park, S. M., Hong, Y. K., and Ahn, D. H., 2007, The Antioxidant Properties of Brown Seaweed (*Sargassum siliquastrum*) Extract, *Journal of Medicinal Food*, 10 (3) : 479-485
- Djatmiko, S., 1998, *Seminar Nasional Tumbuhan Obat XII*, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
- Indriani, H., 2009, Senyawa-senyawa Antioksidan, <<http://suarakarya.online.com/news.html>>, 28 Mei 2009
- Iwashima, M., Mori, J., Matsunaga, T., Hayashi, K., Shinoda, D., Saito, H., and Sankawa, U., 2005, Antioxidant and Antiviral Activities of Plastoquinones from The Brown Alga *Sargassum micracanthum* and a New Chromene Derivative Converted from The Plastoquinones, *Journal Biology Pharmacy*, 28 (2) : 374-377
- Le Lann, K., Jegou, C., Stiger-Pouvreau, V., 2008, Effect of Different Treatments on Total Phenolic Content and Antioxidant Activities in Two *Sargassacean* Species: Comparison of The Frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and The Cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R.Ross, *Journal of Phycology*, 56 (4) : 238-245
- Lowlor, S. M. and O'Brien, M. N., 1995, Astaxanthin: Antioxidant Effect in Chicken Embryo Fibroblast, *J. Nuts. Res.*, 15 : 1695-1704
- Putra, E.S., 2008, Rumput Laut Lezat dan Menyehatkan, <<http://www.indonesia.go.id/index.php?content&id=6606&Itemid=696>>, 28 Nopember 2008
- Sediadi, A., 2000, *Rumput Laut Komoditas Unggulan*, Penerbit PT. Grasindo, Jakarta
- Zahra, R., Mehrnaz, M., Farzaneh, V., and Kohzad, S., 2007, Antioxidant Activity of Extract from a Brown Alga *Sargassum boveanum*, *Journal of Biotechnology*, 6 (24) : 2740-2745