

**PEMISAHAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA STEROID ALGA MERAH  
(*Eucheuma cottonii*) FRAKSI ETIL ASETAT PERAIRAN WONGSOREJO-  
BANYUWANGI DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN  
LC-MS/MS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ISMA MARDANENI**  
**NIM. 13630039**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2017**

**PEMISAHAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA STEROID ALGA MERAH  
(*Eucheuma cottonii*) FRAKSI ETIL ASETAT PERAIRAN WONGSOREJO-  
BANYUWANGI DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN  
LC-MS/MS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ISMA MARDANENI**  
**NIM. 13630039**

Diajukan Kepada:  
• **Fakultas Sains dan Teknologi**  
**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**  
**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**  
**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI**  
**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**2017**

**PEMISAHAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA STEROID ALGA MERAH  
(*Eucheuma cottonii*) FRAKSI ETIL ASETAT PERAIRAN WONGSOREJO-  
BANYUWANGI DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN  
LC-MS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ISMA MARDANENI**  
NIM. 13630039

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 25 September 2017

Pembimbing I

**A. Ghanaim Fasya, M.Si, M.Si**  
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II

**Nur Aini, M.Si**  
NIDT. 19840608 20160801 2 070

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia



**Amaliah Hayati, M.Si**  
NIP. 19790620 200604 2 002

**PEMISAHAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA STEROID ALGA MERAH  
(*Eucheuma cottonii*) FRAKSI ETIL ASETAT PERAIRAN WONGSOREJO-  
BANYUWANGI DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN  
LC-MS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ISMA MARDANENI**  
NIM. 13630039

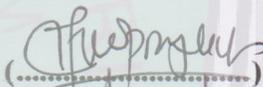
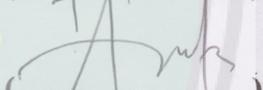
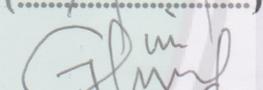
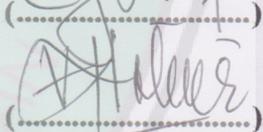
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 31 Agustus 2017

**Penguji Utama : Dr. Anton Prasetya, M.Si**  
NIP. 19770925 200604 1003

**Ketua Penguji : Suci Amalia, M.Sc**  
NIP. 19821104 200901 2 007

**Sekretaris Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si**  
NIP. 19820616 200604 1 002

**Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si**  
NIDT. 19840608 20160801 2 070

()  
()  
()  
()

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia



**Kamariah Hayati, M.Si**  
NIP. 19790620 200604 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Isma Mardaneni

NIM : 13630039

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Fraksi Etil Asetat Perairan Wongsorejo-Banyuwangi dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 20 September 2017  
Yang membuat pernyataan,



Isma Mardaneni  
NIM. 13630039

## PERSEMBAHAN

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Bismilahirrohmanirrohim...

- Saya persembahkan skripsi ini untuk orang tua saya yang mana telah memberikan segalanya untuk saya baik lahir maupun batin dari saat lahir hingga saya mampu untuk berdiri sendiri. Ucapan terima kasih tidak akan pernah cukup untuk membalas kebaikan Ibu dan Ayah, oleh karena itu saya persembahkan skripsi ini untuk Ibu dan Ayah.
- Untuk kedua saudara saya (Erry Hananta dan Nur Aini Khosimah) terima kasih untuk dukungannya selama ini yang telah banyak memberi saran dan kritikan untuk saya kedepannya. Semoga kami semua dapat meraih kesuksesan bersama dan memberikan tempat yang terbaik bagi orang tua dan diri kita masing-masing.
- Dan juga saya persembahkan untuk sahabat saya (Ayie Yulianisa, Hutami Mayrisdian, Faizzatul Hasanah, Muchtarina Maulidia, Ria Rosidah dan Zulfa Nur Aini), teman satu tim (Ira, Etika dan Badrus), teman-teman organik (Halimah, Hafis, Mba Pipit, Kumairoh, Anik dsb), chingu-ya (Ayu dan Ariska), teman ngerumpi (Fitri, Diasy, Melinda), teman lintas jurusan (Darmawan Afrizoen dan Roby Permana) serta oppa-oppa dari **BangTan 방탄소년단** (Taehyung, Namjoon, Jungkook, Jimin, Suga, Hoseok dan Jin) yang telah membantu dan mendukung saya dalam proses penyelesaian skripsi sehingga darah, keringat dan air mata tumpah semua pada skripsi ini.
- Teman-teman kimia angkatan 2013 khususnya kelas A, tanpa ada kalian perkuliahan tidak akan terasa menyenangkan. Terima kasih sudah saling menjaga dan melengkapi satu sama lain dan mohon maaf jika ada salah baik perkataan maupun perilaku selama kita bersama. Semoga kedepannya kita dapat bertemu kembali dalam keadaan sehat walafiat dan kesuksesan selalu menyertai kita.

**“I’d rather die than to live without passion”**

~V~

## KATA PENGANTAR



Segala puji bagi Allah SWT karena atas rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Fraksi Etil Asetat Perairan Wongsorejo-Banyuwangi dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS.”**. Sholawat serta salam senantiasa tercurakan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi kita semua.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT Yang Maha Kuasa lagi Maha Pemurah yang telah memberikan hamba hidup di dunia ini dengan segala takdir yang telah ditetapkan atas ridho-Nya.
2. Ayahanda dan Ibunda tercinta serta kakak dan adik penulis yang senantiasa memberikan doa dan restunya dalam menuntut ilmu dan menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Ibu Nur Aini, M.Si selaku pembimbing dan Ibu Suci Amalia, M.Sc selaku konsultan serta Bapak Dr. Anton Prasetya, M.Si selaku penguji terimakasih atas bimbingannya sampai terselesainya skripsi.
4. Seluruh dosen, admin dan laboran jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu pengetahuan, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
5. Teman-teman seperjuangan yang melakukan penelitian organik bahan alam terima kasih telah menjadi teman saat menjalani penelitian

6. Rekan-rekan Jurusan Kimia angkatan 2013 kimia A khususnya dan semua mahasiswa Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah berjuang bersama sama, yang memberikan motivasi, informasi, dan masukan terhadap penulis.
7. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Bapak Prof. H. Mudjia Raharjo, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Ibu Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si., selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat penelitian ini baik dalam teknik penyajian materi maupun pembahasan. Demi kesempurnaan skripsi ini, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat serta dapat menambah ilmu pengetahuan bagi kita semua. Amin.

Malang, 2 Oktober 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.4 Batasan Masalah .....	7
1.5 Manfaat Penelitian .....	8
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
2.1 Alga merah <i>E. cottonii</i> .....	9
2.2 Ekstrak Alga merah <i>E. cottonii</i> .....	11
2.3 Hidrolisis glikosida .....	12
2.4 Ekstraksi cair-cair.....	14
2.5 Steroid .....	15
2.5.1 Uji fitokimia senyawa steroid .....	16
2.6 Kromatografi lapis tipis .....	17
2.6.1 Kromatografi lapis tipis analitik (KLTA).....	17
2.6.2 Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP).....	18
2.6.3 Kromatografi lapis tipis dua dimensi (KLT dua dimensi).....	19
2.7 Penampakan noda pada UV-366 nm KLT .....	19
2.8 Identifikasi senyawa steroid .....	20
2.8.1 Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis .....	20
2.8.2 Identifikasi dengan LC-MS/MS .....	21
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
3.1 Waktu dan tempat penelitian.....	26
3.2 Alat dan Bahan.....	26
3.2.1 Alat .....	26
3.2.2 Bahan .....	26
3.3 Rancangan penelitian .....	27
3.4 Tahapan penelitian .....	27

3.5	Prosedur penelitian.....	28
3.5.1	Uji taksonomi.....	28
3.5.2	Preparasi sampel.....	28
3.5.3	Penentuan kadar air secara thermogravimetri.....	29
3.5.4	Ekstraksi maserasi, hidrolisis, dan partisi alga merah <i>E.cottonii</i> .....	29
3.5.5	Identifikasi steroid dengan uji reagen.....	30
3.5.6	Pemisahan steroid menggunakan KLTA, KLTP dan KLT dua dimensi.....	30
3.5.7	Identifikasi steroid hasil pemisahan menggunakan UV-Vis.....	32
3.5.8	Identifikasi steroid hasil pemisahan menggunakan LC-MS/MS.....	32
3.6	Analisis Data.....	33
<b>BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN.....</b>		<b>34</b>
4.1	Uji taksonomi.....	34
4.2	Preparasi sampel.....	34
4.3	Penentuan kadar air.....	36
4.4	Ekstraksi alga merah <i>E. cottonii</i> .....	37
4.5	Hidrolisis dan partisi.....	39
4.6	Uji fitokimia senyawa steroid.....	40
4.7	Pemisahan senyawa steroid menggunakan KLT.....	42
4.7.1	Pemisahan senyawa steroid menggunakan KLTA.....	42
4.7.2	Pemisahan senyawa steroid menggunakan KLTP.....	45
4.7.3	Pemisahan senyawa steroid menggunakan KLT dua dimensi.....	47
4.8	Identifikasi senyawa steroid menggunakan UV-Vis.....	48
4.9	Identifikasi senyawa steroid menggunakan LC-MS/MS.....	49
4.10	Pemanfaatan alga merah <i>E. cottonii</i> dalam perspektif islam.....	55
<b>BAB V PENUTUP.....</b>		<b>60</b>
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran.....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>61</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>70</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Alga merah <i>E. cottonii</i> .....	10
Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan <i>O</i> -glikosida .....	14
Gambar 2.3 Struktur dasar steroid .....	15
Gambar 2.4 Struktur jenis-jenis steroid dan fragmentasinya .....	16
Gambar 2.5 Pemisahan menggunakan KLT dua dimensi.....	20
Gambar 2.6 Senyawa steroid pada tumbuhan paku <i>Christella arida</i> ekstrak etil asetat.....	22
Gambar 2.7 Hasil identifikasi steroid dari alga coklat menggunakan APCI positif mode LC-MS/MS.....	24
Gambar 2.8 Hasil kromatogram LC-MS/MS ekstrak alga merah <i>Pamaria sp</i> ..	25
Gambar 4.1 Preparasi alga merah <i>E. cottonii</i> .....	35
Gambar 4.2 Hasil pengulangan maserasi alga merah <i>E. cottonii</i> .....	38
Gambar 4.3 Hasil fitokimia alga merah <i>E. cottonii</i> menggunakan reagen <i>Liemberman Burchard</i> .....	41
Gambar 4.4 Profil KLTA fraksi etil asetat ekstrak metanol dari alga merah <i>E.cottonii</i> menggunakan eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (17:3) .....	44
Gambar 4.5 Spektrum UV-Vis isolat steroid 2 hasil KLTP .....	49
Gambar 4.6 Kromatogram LC-MS/MS isolat steroid 2 hasil KLTP .....	51
Gambar L7.1 Profil KLTA eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (18:2).....	83
Gambar L7.2 Profil KLTA eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (17:3).....	84
Gambar L7.3 Profil KLTA eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (16:4).....	84
Gambar L7.4 Profil KLTA eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (15:5).....	85
Gambar L7.5 Profil KLTA eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (14:6).....	86
Gambar L8.1 Profil KLTP eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (17:3) .....	87
Gambar L9.1.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 1 KLTP .....	88
Gambar L9.1.2 Ilustrasi Hasil Hasil KLT dua dimensi isolat 1 KLTP.....	88
Gambar L9.2.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 2 KLTP .....	89
Gambar L9.2.2 Ilustrasi Hasil Hasil KLT dua dimensi isolat 2 KLTP.....	89
Gambar L9.3.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 3 KLTP .....	90
Gambar L9.3.2 Ilustrasi Hasil Hasil KLT dua dimensi isolat 3 KLTP.....	99
Gambar L9.4.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 4 KLTP .....	91
Gambar L9.4.2 Ilustrasi Hasil Hasil KLT dua dimensi isolat 4 KLTP.....	91
Gambar L9.5.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 5 KLTP .....	92
Gambar L9.5.2 Ilustrasi Hasil Hasil KLT dua dimensi isolat 5 KLTP.....	92
Gambar L11.1 Uji kadar air .....	96
Gambar L11.2 Hidrolisis menggunakan HCl 2 M .....	96
Gambar L11.3 Partisi menggunakan pelarut etil asetat <i>p.a</i> .....	97
Gambar L11.4 Uji Fitokimia.....	97

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian .....	70
Lampiran 2 Skema Kerja .....	71
Lampiran 3 Data Taksonomi.....	76
Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air.....	77
Lampiran 5 Perhitungan Randemen .....	80
Lampiran 6 Perhitungan dan Pembuatan Larutan.....	81
Lampiran 7 Hasil KLTA dan Perhitungan $R_f$ .....	83
Lampiran 8 Hasil KLTP dan Perhitungan $R_f$ .....	87
Lampiran 9 Hasil KLT Dua Dimensi dan Perhitungan $R_f$ .....	88
Lampiran 10 Data UV-Vis Steroid Alga Merah ( <i>Eucheuma cottonii</i> ) .....	93
Lampiran 11 Dokumentasi.....	96



## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil KLTA fraksi etil asetat ekstrak metanol <i>E. cottonii</i> .....	43
Tabel 4.2 Hasil KLTP fraksi etil asetat menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (17:3) .....	46
Tabel 4.3 Uji pola pemisahan isolat steroid dengan KLT dua dimensi .....	48
Tabel 4.4 Ion steroid yang terdeteksi oleh LC-MS/MS .....	50
Tabel 4.5 Hasil identifikasi senyawa steroid tim <i>E. cottonii</i> Banyuwangi UIN Malang angkatan 2013.....	54
Tabel L7.1 Hasil KLTA <i>n</i> -heksana:etil asetat (18:2).....	83
Tabel L7.2 Hasil KLTA <i>n</i> -heksana:etil asetat (17:3).....	84
Tabel L7.3 Hasil KLTA <i>n</i> -heksana:etil asetat (16:2).....	84
Tabel L7.4 Hasil KLTA <i>n</i> -heksana:etil asetat (15:5).....	85
Tabel L7.5 Hasil KLTA <i>n</i> -heksana:etil asetat (14:6).....	86
Tabel L8.1 Hasil <i>R<sub>f</sub></i> KLTP dengan eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (17:3).....	87
Tabel L9.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 1 .....	88
Tabel L9.2 Hasil KLT dua dimensi isolat 2 .....	89
Tabel L9.3 Hasil KLT dua dimensi isolat 3 .....	90
Tabel L9.4 Hasil KLT dua dimensi isolat 4 .....	91
Tabel L9.5 Hasil KLT dua dimensi isolat 5 .....	92

## ABSTRAK

Mardaneni, I. 2017. **Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Fraksi Etil Asetat Perairan Wongsorejo-Banyuwangi dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si; Konsultan: Suci Amalia, M.Sc.

---

**Kata kunci:** Alga merah (*Eucheuma cottonii*), steroid, kromatografi lapis tipis, LC-MS/MS

Alga merah *Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis makro alga yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Ekstrak *E. cottonii* banyak manfaat diantaranya yaitu sebagai antibakteri, antioksidan, antikanker, dan senyawa toksik yang berkaitan berasal dari senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Salah satu senyawa aktif pada *E. cottonii* yaitu steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa steroid yang terkandung dalam tanaman *E. cottonii* beserta identifikasinya.

Penelitian dilakukan dengan mengekstraksi *E. cottonii* menggunakan metanol. Ekstrak pekat metanol dihidrolisis menggunakan HCl dan dipartisi menggunakan etil asetat. Hasil partisi kemudian diuji fitokimia senyawa steroid dan dipisahkan dengan KLT. Isolat steroid KLTP dilihat pola pemisahan dengan KLT dua dimensi. Hasil isolat dengan pemisahan terbaik diidentifikasi dengan spektrometer UV-Vis dan LC-MS/MS. Hasil penelitian menunjukkan eluen terbaik pemisahan menggunakan KLT yaitu *n*-heksana:etil asetat (17:3). Pola pemisahan isolat steroid terbaik dengan KLT dua dimensi yang diduga senyawa tunggal adalah isolat 2. Identifikasi isolat 2 senyawa steroid hasil pemisahan menggunakan UV-Vis diperoleh panjang gelombang 203 dan 284 nm. Hasil LC-MS/MS yang diperoleh yaitu 397, 395, 369, 383, dan 367 m/z yang menunjukkan senyawa steroid jenis  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, kampesterol, dan desmosterol.

## ABSTRACT

Mardaneni, I. 2017. **Separation and Identification of Steroid Compound Fraction Ethyl Acetate Red Algae (*Eucheuma cottonii*) Wongsorejo Marine-Banyuwangi with Thin Layer Chromatography and LC-MS/MS Method**. Essay. Chemistry Department. Science and Technology Faculty of State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Sc; Supervisor II: Nur Aini, M.Si; Consultant : Suci Amalia, M. Sc.

---

**Keyword:** Red algae (*Eucheuma cottonii*), steroid, thin layer chromatography, LC-MS/MS

Red algae (*Eucheuma cottonii*) is the kind of macro-algae that many cultivated in Indonesia. *E. cottonii* extract can use as an antioxidant, antibacterial, anticancer and toxic compounds. The benefits from active compounds contained inside of *E. cottonii*. The purpose of this study to determine the type of steroid compound contained in the plant and the identify.

The study was conducted with *E. cottonii* extraction using methanol. The methanol extract hydrolyzed using HCl and partitioned using ethyl acetate. The partition extract were tested for phytochemical steroid compound and separated by TLC. Isolate steroid from TLCP were seen separation pattern with two dimensional TLC. The best isolate were identified by UV-Vis and LC-MS/MS Spectrometers. The result of the study showed the best eluen that separation using TLC is *n*-hexane:ethyl acetate (17:3). The best separation pattern with two dimensional TLC is isolate 2. Identification of isolate 2 of steroid compound using UV-Vis obtained the wavelenght 203 and 284 nm. The result of LC-MS/MS obtained were 397, 395, 369, 383, and 367 m/z that indicating the type of steroid compound were  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, and desmosterol.

## الملخص

مرديني، ع. ٢٠١٧. الفصل والتحديد المركبات الستيرويد الطحالب الحمراء (*Eucheuma cottonii*) في جزء الإيثيل الخلات المائية ونغسوريجو بانيووانجي مع اللوني الطبقة الرقيقة و اللوني السائل الطيف الكتلي. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة الإسلاميه الحكوميه مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: أ. غنائم فشى، الماجستير، والمشرفة الثانية: نور عيني، الماجستير

**الكلمات الرئيسية:** الطحالب الحمراء (*Eucheuma cottonii*)، الستيرويد، اللوني الطبقة الرقيقة ، اللوني السائل الطيف الكتلي

الطحالب الحمراء (*Eucheuma cottonii*) هي نوع من الطحالب الكلي التي تزرع في اندونيسيا. استخراج *Eucheuma cottonii* لديه فوائد عديدة مثل مضاد للجراثيم، المضادة للأكسدة، مضاد للسرطان، والمركبات السامة. الفوائد المستمدة من المركبات النشطة الواردة فيها. واحدة من المركبات النشطة هي الستيرويد. الستيرويد هي مركبات التي تستخدم على نطاق واسع في المجال الصحي، واحدة منها كما المركبات المضادة للسرطان. وهكذا، يهدف هذا البحث إلى تحديد نوع مركبات الستيرويد الواردة في النبات *Eucheuma cottonii* والتعريفها

وقد أجري هذا البحث مع إعداد *Eucheuma cottonii* الذي يستمر مع استخراج مع الميثانول. استخراج الميثانول مركزة تحلل باستخدام حمض الهيدروكلوريك وتقسيم باستخدام الإيثيل خلات. تختبر النتائج مركبات الستيرويد وتفصل مع الكيمياء النباتي الستيرويد، اللوني الطبقة الرقيقة. العزلة الستيرويد الستيرويد، اللوني الطبقة الرقيقة إعدادي تُنظَرُ نمط الفصل مع الستيرويد، اللوني الطبقة الرقيقة ثنائي الأبعاد. نتائج العزلات مع أفضل الانفصال التي تحدها مع مَطَيافِ الأشعة فوق البنفسجية البصرية و اللوني السائل الطيف الكتلي.

وأظهرت نتائج البحث ان أفضل شاطئ الفصل بطريقة الستيرويد، اللوني الطبقة الرقيقة: يعنى ن الهكسان: الإيثيل الخلات (١٧:٣). أفضل نمط الفصل الستيرويد مع الستيرويد، اللوني الطبقة الرقيقة ثنائي الأبعاد الذان ينظران مركب واحد يتم يعنى عزلات الثانية. تحديد العزلات الثانية المركب الستيرويد يعنى نتائج الفصل باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية البصرية التي حصلت الطول الموجي بقدرة ٢٠٣ و ٢٨٤ نانومتر، ونتائج اللوني السائل الطيف الكتلي التي حصلت عليها يعنى ٣٩٧، ٣٩٥، ٣٦٩، ٣٨٣ و ٣٦٧ م / ض مما يدل على مركب الستيرويد النوع من  $\beta$ -سيستوستيرول، ستيغماستيرون، فوكوستيرول، كامفستيرول، وديزموستيرول

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar belakang

Sumber daya alam yang dimiliki Indonesia jumlahnya dapat dikatakan melimpah, Indonesia dikenal sebagai negara maritim dan terbesar di dunia dengan garis pantai terpanjang kedua setelah Kanada sekitar 95,191 km (Nursid, Wikanta, dan Susilowati, 2013), sehingga tidak perlu diragukan lagi bahwa laut nusantara memang menyimpan mega potensi sumber daya hayati dan non hayati. Laut merupakan lambang dari kesuburan sekaligus kemakmuran karena mempunyai potensi sumber daya alam yang tidak ternilai harganya. Laut mempunyai peranan penting dalam kehidupan manusia (Hefni, 2010). Dalam surat an Nahl ayat 14 Allah SWT berfirman :

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حَبًا وَلَبَسُونََهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ (١٤)

Artinya: “Dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur.” (QS.16:14)”

Lafadz **سَخَّرَ الْبَحْرَ** berdasarkan tafsir Adhwal’ul Bayan menyebutkan bahwa Allah SWT menurunkan kepada hambanya laut sebagai sumber daya alam yang mempunyai banyak manfaat yang dapat digunakan oleh hambanya (Asy-Syaunqity, 2007). Sedangkan menurut tafsir Nurul Qur’an bahwa laut mempunyai peran penting dalam kehidupan manusia. Air laut adalah sumber uap, awan dan hujan. Kedalaman laut memberikan manusia makanan lezat berupa ikan-ikan, dan

permukaan airnya menyediakan sarana transportasi paling murah bagi pengangkutan barang dan penumpang. Semua manfaat ini menjadi mungkin berkat kebijaksanaan dan kekuasaan Allah, dan manusia tak punya peran apapun dalam menjadikan semua itu (Faqih, dkk., 2005). Salah satu sumber kekayaan laut yang dapat dimanfaatkan adalah alga atau rumput laut.

Alga dapat dibedakan dari bentuk morfologinya yaitu makroalga dan mikroalga. Makroalga atau yang sering disebut rumput laut, secara tradisional telah lama digunakan sebagai bahan makanan kaya akan mineral, elemen makro dan elemen mikro lainnya (Yunus, Arisandi, & Abida, 2009). Rumput laut biasanya dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan tepung agar-agar, karaginan dan alginat (Horan, 2013). Alga memiliki beberapa jenis yang dapat dibedakan berdasarkan morfologinya. Alga merah (*Rhodophyceae*) merupakan salah satu jenis rumput laut yang dapat menyediakan sumber bahan alam dalam jumlah yang melimpah dan mudah untuk dibudidayakan.

Perkembangan penelitian dewasa ini dalam eksplorasi dan eksploitasi sumber daya alam cenderung dikembangkan ke arah laut karena sebagian besar sumber daya alamnya belum dimanfaatkan secara maksimal. Biota laut merupakan produsen senyawa bioaktif terbesar diantara biota lainnya dan beberapa organisme laut menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan biota darat. Senyawa metabolit sekunder ini diantaranya yaitu triterpenoid, alkaloid, steroid, polifenol dan sebagainya. Metabolit sekunder dari laut inilah yang selama dua dekade belakangan ini diminati secara luar biasa ekstensif sebagai sumber farmasi baru yang alami (Dali, 2011; Hefni, 2010)

Penelitian Sharo, dkk. (2013) tentang uji toksisitas dan identifikasi senyawa ekstrak *Eucheuma cottonii* menyatakan bahwa salah satu senyawa yang dominan terdapat dalam alga jenis alga merah (*Rhodophyceae*) yaitu senyawa steroid. *E. cottonii* merupakan salah satu jenis alga merah yang mengandung senyawa steroid, senyawa bioaktif tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder yang cukup penting dalam bidang fitofarmaka. Beberapa jenis senyawa steroid yang digunakan dalam dunia obat-obatan antara lain estrogen merupakan jenis steroid hormon seks yang digunakan untuk kontrasepsi sebagai penghambat ovulasi, progesterin merupakan steroid sintetik digunakan untuk mencegah keguguran dan uji kehamilan, glukokortikoid sebagai anti inflamasi, alergi, demam, leukemia dan hipertensi serta kardenolida merupakan steroid glikosida jantung digunakan sebagai obat diuretik dan penguat jantung (Ikalinus, dkk., 2015).

Berbagai manfaat dari alga merah *E. cottonii* di bidang fitofarmaka ini selanjutnya dilakukan penelitian lebih lanjut oleh para peneliti pada berbagai bidang diantaranya seperti penelitian (Laksmiani, N. P. L, dkk., 2014) tentang uji kompatibilitas karaginan sebagai media tumbuh mikroba dengan daya kompatibel setara dengan agar komersial, (Abu Bakar, dkk., 2016) melakukan penelitian *E. cottonii* sebagai anti kanker payudara. (Andriani, dkk., 2015) melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri alga merah *E. cottonii* pada beberapa bakteri, daya hambat terbesar diperoleh pada ekstrak metanol dengan konsentrasi 4%. (Swantara & Parwata, 2011) mengkaji senyawa antioksidan pada rumput laut sekitar Bali dihasilkan bahwa senyawa yang paling aktif bersifat antioksidan yaitu senyawa steroid jenis kolesterol dan kolesta-4,6-diene-3 $\beta$ -ol dengan persentase

keaktifan sebesar 90,09 %. Penelitian yang dilakukan oleh Afif, dkk. (2015) tentang toksisitas alga merah *E. cottonii* menyebutkan bahwa ekstrak 1-butanol mengandung metabolit sekunder diantaranya alkaloid dan steroid dengan nilai  $LC_{50}$  70,32 ppm.

Menurut Ranganayaki, dkk. (2013) bahwa senyawa steroid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba karena dapat merusak dinding sel yang mana memiliki sifat mudah larut dalam lipid sehingga dapat lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif. Sedangkan menurut Kordi (2010) bahwa rumput laut banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai obat luar, salah satunya sebagai bahan antiseptik alami. Hal ini dapat dibuktikan pada penelitian (Fard, dkk., 2011) alga merah *E. cottonii* dapat digunakan sebagai penyembuh luka, sifat penyembuh luka diperoleh dari ekstrak etanol *E. cottonii* dengan efektivitas penyembuhan lebih baik daripada madu.

Penelitian (Siregar, dkk., 2012) dalam uji fitokimia pada 12 ekstrak rumput laut dan menunjukkan bahwa senyawa yang dominan adalah golongan steroid. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri tersebut.

Berbagai penelitian steroid dalam berbagai bidang seperti yang telah dijelaskan diatas telah menjadi bahan penelitian yang perlu dikaji kembali untuk mengisolasi steroid. Penelitian dalam pemisahan dan identifikasi senyawa steroid menggunakan alga merah (*E. cottonii*) fraksi etil asetat perairan Wongsorejo Banyuwangi dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) belum pernah

dilakukan sebelumnya. Perbedaan tempat, metode dan pelarut mempengaruhi jenis dan randemen dari senyawa metabolit sekunder, maka penelitian tersebut perlu dikaji kembali.

Penelitian yang telah dilakukan (Afif, dkk., 2015) bahwa mengekstraksi *E. cottonii* dapat dilakukan dengan metode maserasi menggunakan metanol dan randemen ekstrak kasar metanol sebesar 16,97 %; 16,25 % (Mardiyah, 2013); 14,8 % (Khoiriyah, dkk., 2014). Senyawa metabolit sekunder seringkali berikatan dengan senyawa gula (glikon) yang mana bersifat polar, sehingga digunakan pelarut metanol (polar) dalam ekstraksi maserasi. Kemudian dihidrolisis dengan HCl 2 M selama 2-3 jam untuk memaksimalkan dalam memisahkan antara senyawa metabolit sekunder (aglikon) dengan gula (glikon), selanjutnya dipartisi dengan etil asetat. Penelitian (Andriani, dkk., 2015) melakukan skrining fitokimia terhadap fraksi etil asetat pada alga merah (*E. cottonii*), dari penelitian tersebut dihasilkan nilai randemen yang paling besar diantara fraksi yang lain yaitu sebesar 7,17% ; fraksi n-heksan, petroleum eter, kloroform berturut-turut sebesar 2,50%; 3,44% dan 1,90%. Dari hasil ini dapat diasumsikan bahwa senyawa metabolit sekunder paling banyak terlarut dalam pelarut etil asetat yang lebih bersifat semipolar. Hal ini didukung oleh penelitian (Shofiatun, 2012) bahwa ekstrak metanol dan etil asetat teripang mengandung senyawa saponin, steroid dan triterpenoid.

Senyawa steroid selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA), kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dan kromatografi lapis tipis dua dimensi (KLT dua dimensi). Menurut penelitian (Susetyo, 2015) dalam mengelusi ekstrak metanol fraksi etil asetat alga merah *E. cottonii* yang

dipisahkan dengan berbagai perbandingan eluen terbaiknya yaitu *n*-heksana : etil asetat dan menghasilkan 9 noda pada KLTA, sebagian besar noda berwarna ungu, hijau, jingga dan biru setelah disemprot reagen dengan nilai faktor retardasi (*R<sub>f</sub>*) yang diduga steroid adalah perbandingan (17:3) sebesar 0,94. Hasil eluen terbaik tersebut dipakai untuk KLTP dan menghasilkan isolat 1,3,4,6 dan 7. Hasil isolat selanjutnya diuji pola pemisahannya menggunakan KLT dua dimensi. Dugaan senyawa steroid dari hasil isolat terdapat pada isolat 6 dengan nilai *R<sub>f</sub>* sebesar 0,82. Nilai *R<sub>f</sub>* digunakan sebagai nilai perbandingan relatif antara sampel dan dapat dijadikan acuan dalam membandingkan nilai *R<sub>f</sub>* dengan nilai *R<sub>f</sub>* standar.

Fraksi etil asetat dan isolat steroid yang diperoleh akan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis) dan LC-MS/MS untuk mengetahui jenis steroid yang terdapat pada *E. cottonii*. Bauzidi, dkk., (2014) melakukan penelitian pada alga coklat *Cystoseira foeniculacea* dengan hasil deteksi steroid golongan fukosterol. Menurut penelitian Machado, dkk. (2004) tentang kandungan steroid pada alga merah *Palmaria sp.* menunjukkan adanya golongan desmosterol dan fukosterol. Lopez, dkk. (2011) meneliti kandungan steroid pada beberapa rumput laut, salah satunya alga merah (*Rhodophyceae*) dengan memunculkan sinyal pada steroid jenis desmosterol, kampesterol, kolesterol, fukosterol,  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol.

Berbagai manfaat dari aktivitas golongan senyawa steroid tersebut, mengindikasikan perlunya untuk mengisolasi dan mengidentifikasi steroid fraksi etil asetat hasil hidrolisis metanol alga merah *E. cottonii* perairan Wongsorejo Banyuwangi.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil pemisahan senyawa steroid alga merah *E. cottonii* fraksi etil asetat menggunakan metode KLT analitik, KLT preparatif dan KLT dua dimensi?
2. Bagaimana hasil identifikasi isolat steroid alga merah *E. cottonii* fraksi etil asetat menggunakan LC-MS/MS?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil pemisahan senyawa steroid alga merah *E. cottonii* fraksi etil asetat dengan menggunakan metode KLT analitik, KLT preparatif dan KLT dua dimensi.
2. Mengetahui hasil identifikasi isolat steroid alga merah *E. cottonii* fraksi etil asetat menggunakan LC-MS/MS.

## 1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah alga merah *E. cottonii* yang berasal dari pantai Wongsorejo, Banyuwangi.
2. Metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi dilanjutkan hidrolisis asam dan partisi menggunakan pelarut etil asetat.
3. Uji golongan senyawa steroid menggunakan pereaksi Liemberman Burchard.
4. Pemisahan steroid alga merah *E. cottonii* menggunakan metode KLTA, KLTP dan KLT dua dimensi.
5. Identifikasi senyawa steroid menggunakan UV-Vis dan LC-MS/MS.

### 1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat tentang senyawa aktif golongan steroid yang terkandung dalam alga merah *E. cottonii* fraksi etil asetat, serta pemisahan senyawa steroid dengan menggunakan metode KLT dan identifikasinya menggunakan UV-Vis dan LC-MS/MS. Pemisahan ini diharapkan dapat mempermudah pengkajian lebih lanjut tentang elusidasi struktur senyawa steroid alga merah *E. cottonii* dan pemanfaatannya dalam bidang kesehatan.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

Alga atau yang sering disebut rumput laut merupakan salah satu hasil perikanan yang memiliki nilai ekonomi tinggi di Indonesia. Hal ini telah dibudidayakan di beberapa wilayah perairan Indonesia seperti Lombok, Banyuwangi dan sebagainya. Alga memiliki banyak pigmen dan salah satunya alga merah yang memiliki pigmen merah fikoretrin yang memancarkan warna oranye dan pigmen biru fikosianin yang memancarkan warna merah tua (Atmadja, 2007). Dalam surat An-Nahl ayat 14 Allah SWT berfirman :

﴿ وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ﴾

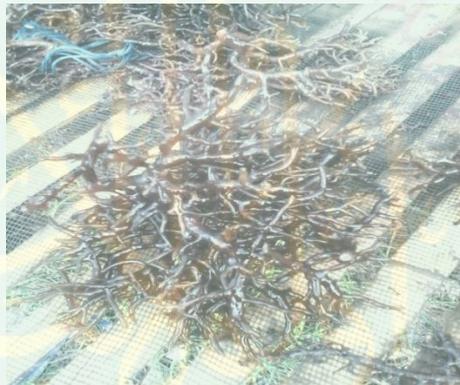
Artinya :

*Dan dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi dengan berlain-lainan warnanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda bagi kaum yang mau mengambil pelajaran.*

Lafadz *مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ* memiliki arti bahwa makhluk hidup memiliki bermacam-macam warna. Menurut tafsir Nurul Qur'an menjelaskan bahwa berbagai warna yang ada di alam merupakan tanda kekuasaan dan kebijaksanaan Allah SWT yang berguna bagi kepentingan manusia. Allah SWT menyatakan bahwa makhluk-makhluk yang diciptakan-Nya untuk manusia di bumi ini juga dijadikan tunduk kepada manusia. Mereka terdiri dari berbagai penampilan, memakan beragam makanan, memiliki pasangan dan bermacam-macam tempat berlindung (habitat) untuk kelangsungan hidup (Faqih, dkk., 2005). Alga merah jenis *E. cottonii* merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki warna merah.

*E.cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk fraksi kappa-karaginan. *Eucheuma* salah satu genus dari kelompok rumput laut merah yaitu dari Famili *Solieracea*. Klasifikasi *Eucheuma* adalah sebagai berikut (Doty, 1985):

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Rhodophyta  
 Kelas : Rhodophyceae  
 Ordo : Gigartinales  
 Famili : Solieracea  
 Genus : *Eucheuma*  
 Spesies : *Eucheuma alvarezii* (*E.cottonii*)



Gambar 2.1 Alga merah (*E. cottonii*)

Ciri fisik *E. cottonii* adalah mempunyai thallus silindris, permukaan licin, *cartilogeneus*. Keadaan warna tidak selalu tetap, kadang-kadang berwarna hijau, hijau kuning, abu-abu atau merah. Perubahan warna sering terjadi hanya karena faktor lingkungan. Kejadian ini merupakan suatu proses adaptasi kromatik yaitu penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan (Aslan, 1998).

Penampakan *thalli* bervariasi mulai dari bentuk sederhana sampai kompleks. Duri-duri pada *thallus* runcing memanjang, agak jarang-jarang dan tidak bersusun melingkari *thallus* (Gambar 2.1). Percabangan ke berbagai arah dengan batang-batang utama keluar saling berdekatan ke daerah basal (pangkal). Tumbuh melekat ke substrat dengan alat perekat berupa cakram. Cabang pertama dan kedua tumbuh dengan membentuk rumpun yang rimbun dengan ciri khusus mengarah ke arah datangnya sinar matahari (Atmadja, 1996).

## 2.2 Ekstrak Kasar Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

Ekstraksi awal yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi yang memiliki prinsip yaitu pengikatan atau pelarutan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam bentuk serbuk dalam suatu pelarut pada suhu kamar yang terlindung dari cahaya (Muhimmah, 2011). Keuntungan dari metode ini terletak pada proses perendaman, dinding serta membran sel sampel tumbuhan akan pecah akibat perbedaan tekanan udara dan konsentrasi larutan antara di dalam dan diluar sel. Hal itu mengakibatkan metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organik (Afif, dkk., 2015).

Pemilihan metode maserasi dikarenakan senyawa sejenis steroid, triterpenoid dan alkaloid rentan terhadap panas sehingga tidak bagus menggunakan metode soxhlet (Hukmah, 2007). Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi yaitu pemilihan pelarut, syarat-syarat pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, tidak higroskopis, kemudahan untuk diuapkan, derajat polaritas dan harga pelarut (Lenny, 2006).

Metanol merupakan pelarut universal dan memiliki kelebihan yang lebih dibandingkan pelarut yang lain diantaranya seperti tidak menyebabkan pembekakan sel, menghambat kerja enzim, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, mengendapkan protein dan melarutkan hampir semua senyawa organik (baik polar, semi polar maupun non polar), sehingga menghasilkan bahan aktif yang optimal (Lenny, 2006). Menurut Sastrohamidjojo (1985) menyebutkan bahwa *E. cottonii* dapat larut dalam methanol dan klorofom, hal ini sesuai dengan karakteristik senyawa steroid yang dapat bersifat polar maupun non polar. Pemilihan pelarut ini juga didasarkan pada koefisien dielektrik metanol sebesar 33,60 dengan tingkat kepolaran dan kelarutan lebih tinggi dibandingkan pelarut lain (Mulyono, 2006).

Hasil ekstraksi *Eucheuma cottonii* menggunakan pelarut metanol didapatkan sebesar 16,97 % (Afif, dkk., 2015); 20,7% (Andriani, dkk., 2015), dan sampel rumput laut (*Caulerpa sp*, *Eucheuma sp*, *Glacilaria sp* dan *Sargassum sp*) hasil penelitian Siregar, dkk., (2012) menunjukkan bahwa berat ekstrak dari larutan etil asetat berkisar antara 0,55 g sampai 2,85 g, sedangkan dari larutan metanol berkisar antara 2,19 g sampai 10,64 g. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa sampel rumput laut banyak mengandung senyawa polar golongan alkaloid, triterpenoid/steroid, flavonoid dan tannin.

### **2.3 Hidrolisis Glikosida**

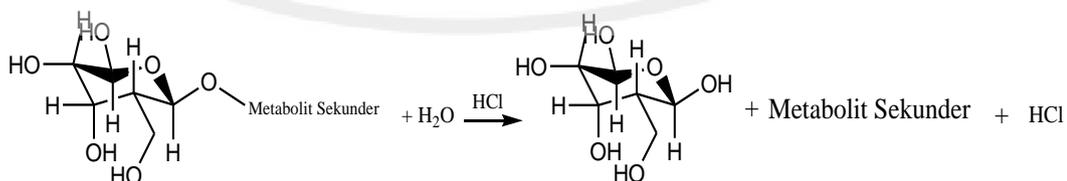
Senyawa organik dalam tanaman umumnya berbentuk glikosida yakni senyawa yang terdiri atas gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar, maupun non

polar. Senyawa metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon (Saifudin, dkk., 2006). Hidrolisis merupakan suatu reaksi yang terjadi antara air dengan suatu senyawa hingga membentuk reaksi kesetimbangan (Mulyono, 2006).

Senyawa-senyawa metabolit sekunder umumnya nonpolar dan dapat ikut terekstrak dalam pelarut polar golongan alkohol karena berikatan dengan gugus gula (Harbone, 1987). Adanya perubahan struktur ke bentuk glikosida, menyebabkan suatu senyawa mengalami perubahan sifat fisika, kimia, dan aktivitas biologi yang berbeda dimana senyawa tersebut akan bersifat lebih polar dan lebih cepat diabsorpsi. Jika dalam suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosidanya maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar (Saifudin, dkk., 2006).

Pemutusan ikatan glikosida dapat dilakukan dengan memanaskan larutan dengan air dan sedikit asam, dimana reaksi ini dikatalisis oleh asam encer dan ester dipanaskan dibawah refluks dengan sebuah asam encer seperti asam hidroklorat encer, asam klorida atau asam sulfat encer (Saifudin, dkk., 2006).

Hidrolisis dilakukan untuk memutuskan ikatan glikosida pada senyawa organik. Dugaan reaksi yang terjadi pada saat proses hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Lailah, 2014)

Menurut penelitian Nihlati (2008) menyebutkan bahwa glikosida (polar) dapat dihidrolisis menggunakan HCl 2 M dengan menghasilkan aglikon yang bersifat non polar dan glukosa yang bersifat polar.

#### **2.4 Ekstraksi Cair-Cair**

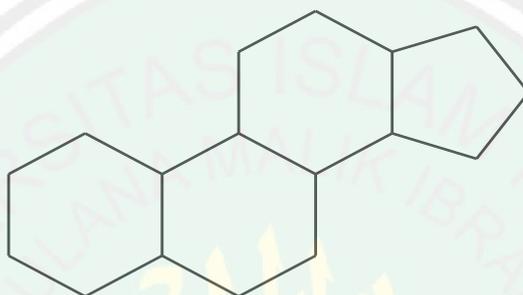
Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, yakni sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Pemilihan pelarut yang baik yaitu memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Khopkar, 2008). Kelebihan dari metode ini adalah dapat memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik dan waktu ujinya cepat (waktu total ekstraksi pendek) (Guenther, 2006). Adapun syarat-syarat agar pemisahan analit dapat dilakukan dengan baik yaitu kedua campuran tidak saling campur dan analitnya lebih larut dalam pelarut pengestraknya daripada dalam pelarut asalnya (Afriyanti, dkk., 2013).

Hasil penelitian (Andriani, dkk., 2015) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak metanol *E.cottonii* menghasilkan randemen terbesar dari beberapa pelarut yaitu sekitar 7,17 % dan filtrat berwarna hijau pekat.

#### **2.5 Steroid**

Steroid adalah senyawa golongan triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren. Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk

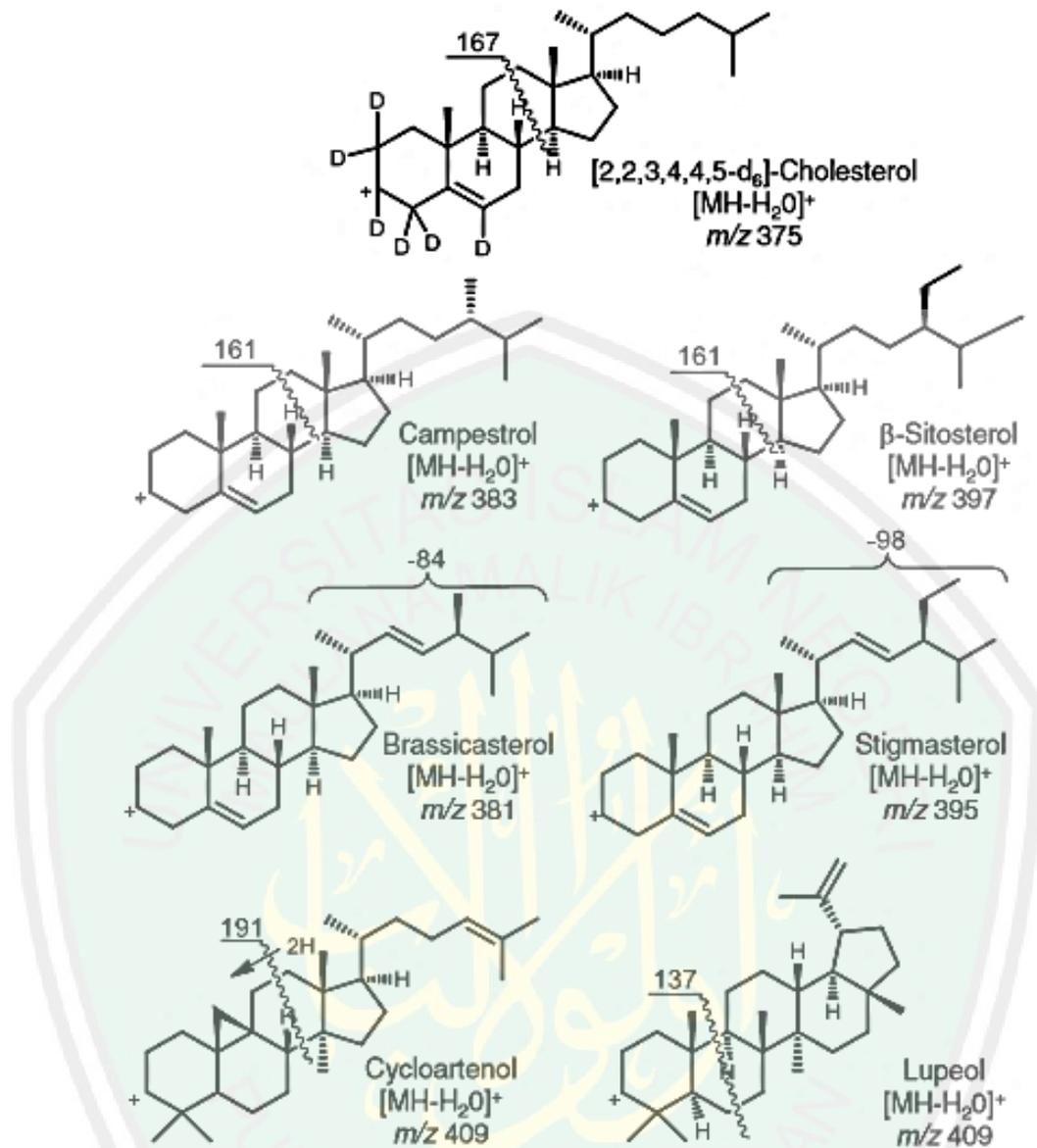
hidup, steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol (Robinson, 1995). Menurut Sinulingga (2011) steroid memiliki gugus metil yang berada pada C10 dan C13, rantai samping alkil dapat juga berada pada C17. Struktur dasar steroid dapat dilihat pada Gambar 2.3.



1,2-siklopentenoperhidrofenantren

Gambar 2.3 Struktur dasar steroid (Kristanti, dkk., 2008)

Menurut Lopez, dkk. (2011) beberapa alga memiliki jenis steroid yang bermacam-macam diantaranya kampesterol,  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, desmosterol, fukosterol, dan kolesterol. Jenis-jenis steroid serta fragmentasinya dapat dilihat pada Gambar 2.4. Penelitian yang dilakukan (Siregar, dkk., 2012), bahwa dengan menggunakan fraksi *n*-heksana, metanol dan etil asetat menunjukkan adanya senyawa steroid yang terkandung di dalamnya dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan, biru dan cincin hijau.



Gambar 2.4 Struktur jenis-jenis steroid dan fragmentasinya (Mo, dkk., 2013)

### 2.5.1 Uji Fitokimia Senyawa Steroid

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan golongan senyawa aktif pada suatu sampel (tanaman, hewan) berupa senyawa metabolit sekunder di dalamnya. Secara umum metodenya merupakan reaksi pengujian warna (*spot test*) dengan suatu pereaksi warna dan pemisahannya (Kristanti, dkk., 2008). Uji

steroid dilakukan dengan menambahkan sejumlah ekstrak dengan kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dengan perbandingan 1:3 (pereaksi Liemberman-Burchard) (Lestari, 2012).

## 2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

### 2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

KLTA dilakukan untuk mengetahui eluen terbaik. Pemisahan senyawa steroid dengan KLTA menggunakan 2 variasi eluen yaitu *n*-heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan. Pemilihan eluen etil asetat dan *n*-heksana ini didasarkan sifat kepolarannya yang sama dengan senyawa steroid yaitu semi polar dan non polar. Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan menggunakan lembaran kaca atau plastik yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben yang melibatkan dua fase yaitu fase diam (padatan atau cairan) dan fase gerak (eluen atau pelarut atau gas pembawa yang *inert*). Gerakan fase ini mengakibatkan terjadi migrasi diferensial komponen-komponen dalam sampel (Rohman dan Gandjar, 2007). Pemisahan yang baik ditandai dengan banyaknya noda yang dihasilkan, noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda yang satu dengan yang lainnya jelas (Harbone, 1987).

Media pemisahannya adalah lapisan dengan ketebalan sekitar 0,1 sampai 0,3 mm dan berukuran 8x2 inci. Zat padat yang umum digunakan adalah alumina, gel silika dan selulosa (Kristanti, dkk., 2008).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga *R<sub>f</sub>*. *R<sub>f</sub>* merupakan nilai yang menyatakan derajat retensi suatu komponen fase diam. Harga *R<sub>f</sub>* didefinisikan sebagai berikut :

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{Jarak pelarut yang mengelusi}} \dots\dots\dots(2.1)$$

Harga-harga  $R_f$  untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga  $R_f$  standar. Faktor yang mempengaruhi gerakan noda dan harga  $R_f$  diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya serta jumlah cuplikan yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 1996). Pemisahan yang baik mempunyai harga  $R_f$  antara 0,15-0,2 cm antara noda 1 dengan lainnya (Rohman, 2007).

### 2.6.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

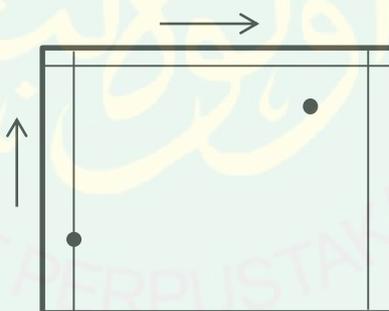
Pemisahan steroid dari KLTA berupa hasil eluen terbaiknya akan dilanjutkan pada KLT preparatif untuk memisahkan campuran senyawa dari sampel dalam jumlah besar (gram) berdasarkan fraksinya, selanjutnya fraksi tersebut dikumpulkan menjadi satu dan digunakan untuk analisa berikutnya (Sastrohamidjojo, 2005). Penggunaan KLT preparatif ini dilakukan dengan sampel ditotolkan dalam lempeng dengan lapisan yang besar lalu dideteksi. Waktu pengembangan perlu diperhatikan agar senyawa yang berkontak dengan penyerap tidak terlalu lama berinteraksi, karena akan menyebabkan senyawa tersebut dapat mengurai kembali. Bercak yang mengandung analit yang diinginkan selanjutnya dikerok dan dilakukan analisis lebih lanjut (Rohman dan Gandjar, 2007).

Ningsih, dkk., Susetyo., Setiawan (2015) melakukan penelitian tentang pemisahan dan identifikasi senyawa steroid pada fraksi *n*-heksana alga merah menggunakan berbagai macam eluen dan menghasilkan pemisahan terbaik pada eluen *n*-heksana dan etil asetat (17:3).

### 2.6.3 Kromatografi Lapis Tipis Dua dimensi (KLT 2D)

KLT dua dimensi disebut juga KLT dua arah yang merupakan salah satu metode yang dapat memungkinkan pemakaian fase diam yang lebih luas dalam memisahkan campuran yang mengandung banyak komponen. KLT dua dimensi ini bertujuan untuk mengetahui kemurnian isolat sampel dengan meningkatkan resolusi sampel ketika komponen-komponen senyawa memiliki karakteristik kimia dan harga  $R_f$  yang hampir sama (Rohman dan Gandjar, 2007).

KLT dua dimensi dapat dilakukan dengan penotolan sampel di salah satu sudut lapisan lempeng tipis dan mengembangkannya sebagaimana dapat dengan eluen pertama. Kemudian lempeng dipindahkan dari chamber yang menggunakan eluen kedua sehingga pengembangan dapat terjadi pada arah kedua yang tegak lurus dengan arah pengembangan yang pertama (Rohman dan Gandjar, 2007). Proses pemisahan KLT dua dimensi dapat dilihat pada Gambar 2.5



Gambar 2.5 Pemisahan menggunakan KLT dua dimensi (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 2.7 Penampakan noda pada UV-366 nm pada KLT

Hasil bercak yang disinari UV-366 nm akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Proses penampakan noda dikarenakan adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom yang ada

pada noda tersebut. Cahaya tampak yang berfluoresensi adalah emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula bersamaan terlepasnya energi, sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Sudarmadji, 1996).

## **2.8 Identifikasi senyawa steroid**

### **2.8.1 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis**

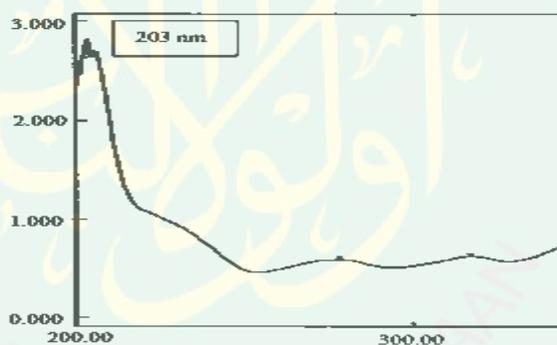
Prinsip dari spektrofotometer UV-Vis adalah adanya transisi elektronik suatu molekul yang disebabkan oleh peristiwa absorpsi energi berupa radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai oleh molekul tersebut (Rohman dan Gandjar, 2007). Absorpsi radiasi oleh sampel diukur oleh detektor pada berbagai panjang gelombang dan diinformasikan ke perekam untuk menghasilkan spektrum. Spektrum ini akan memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Hendayana, 2004).

Penerapan spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak (UV-Vis) kebanyakan diterapkan pada senyawa organik yang didasarkan pada transisi  $n-\pi^*$  ataupun  $\pi-\pi^*$  dan karenanya memerlukan kehadiran gugus kromofor dalam molekul itu. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum (sekitar 200 hingga 700 nm) yang praktis digunakan dalam eksperimen (Day and Underwood, 1999).

Menurut penelitian Nursyid, dkk. (2013) pada beberapa ekstrak alga coklat diantaranya *T. decurrens*, *P. australis*, dan *H. triquetra* diuji dengan UV-Vis menghasilkan panjang gelombang 226, 267, dan 447 nm. Berdasarkan panjang gelombang tersebut mengindikasikan adanya senyawa fukosantin. Shu, dkk.

(1999) melaporkan bahwa tidak semuanya alga coklat mengandung fukosantin, melainkan mengandung senyawa-senyawa steroid teroksigenasi yang tergolong senyawa fukosterol. Oliveira, dkk. (2015) melakukan penelitian tentang aktivitas biologi dari ekstrak rumput laut *Padina biorgesenni* dan *Sargassum stenophyllum*, dan berhasil mengidentifikasi senyawa steroid jenis fukosterol berada pada panjang gelombang 290–310 nm.

Penelitian yang dilakukan Aprelia dan Suyatno (2013) tentang senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan paku *Christella arida* ekstrak etil asetat, menghasilkan senyawa steroid jenis  $\beta$ -sitosterol yang ditunjukkan pada panjang gelombang 203 nm. Spektrum UV-Vis senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Senyawa steroid pada tumbuhan paku *Christella arida* ekstrak etil asetat (Aprelia dan Suyatno, 2013)

### 2.8.2 Identifikasi Steroid Menggunakan LC-MS/MS

LC-MS/MS merupakan pemisahan kromatografi cair (HPLC) dengan analisis massa spektrometri. Alat ini memiliki hasil data baik kuantitatif maupun kualitatif diantaranya untuk mengidentifikasi senyawa yang tidak diketahui, menentukan struktur senyawa dengan mengamati fragmentasinya dan menghitung

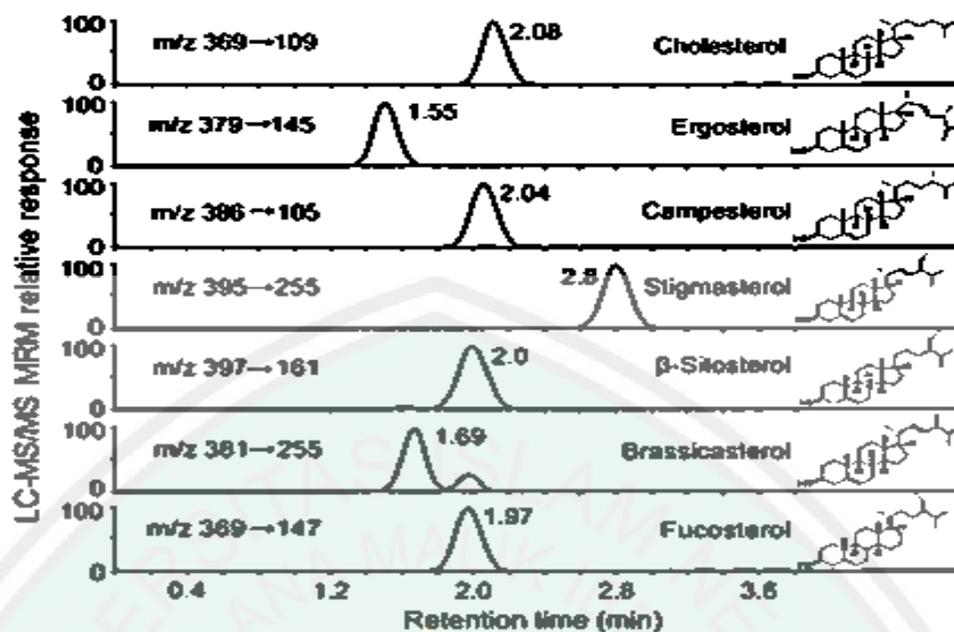
jumlah senyawa dalam sampel. Menurut Michael (2008) LC-MS/MS memiliki beberapa kelebihan dibandingkan alat lain, yaitu :

1. Alat dapat diaplikasikan secara luas tidak terbatas untuk molekul yang bersifat volatil, sangat polar dan persiapan sederhana tanpa *derivitisasi*.
2. Pengujian berbeda dapat dikembangkan dengan fleksibilitas yang tinggi dengan waktu analisa yang singkat.
3. Hasil analisa sangat khas dan spesifik dari adanya spektrometer massa yang tandem dengan alat.
4. Data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh karena seleksi ion yang cepat dengan banyak parameter.

MS (*Spektrometer massa*) bekerja dengan mengionkan molekul dan memilih berdasarkan rasio fragmentasi ( $m/z$ ). Beberapa komponen yang harus terdapat dalam MS yaitu sumber ion dan analisis massa. Komponen tersebut memiliki berbagai jenis yang akan disesuaikan berdasarkan kepolaran senyawa serta kelebihan dan kekurangan masing-masing. Sumber ion yang digunakan pada penelitian yaitu sumber ion jenis Ionisasi Kimia Tekanan Atmosfer (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization/APCI*), menurut pedoman Agilent Tech (2011) metode ini menggunakan eluen yang disemprotkan melalui pemanas bersuhu tinggi (200–400° C) pada tekanan atmosfer. Cairan akan menguap karena adanya uap panas yang timbul dari pemanas. Fase gas pelarut yang dihasilkan akan terionisasi dan ion-ionnya akan mentransfer muatan pada molekul analit. Ion dari analit akan melewati pipa kapiler menuju spektrometer massa. APCI biasanya digunakan pada kromatografi fase normal karena analit yang digunakan merupakan fasa normal.

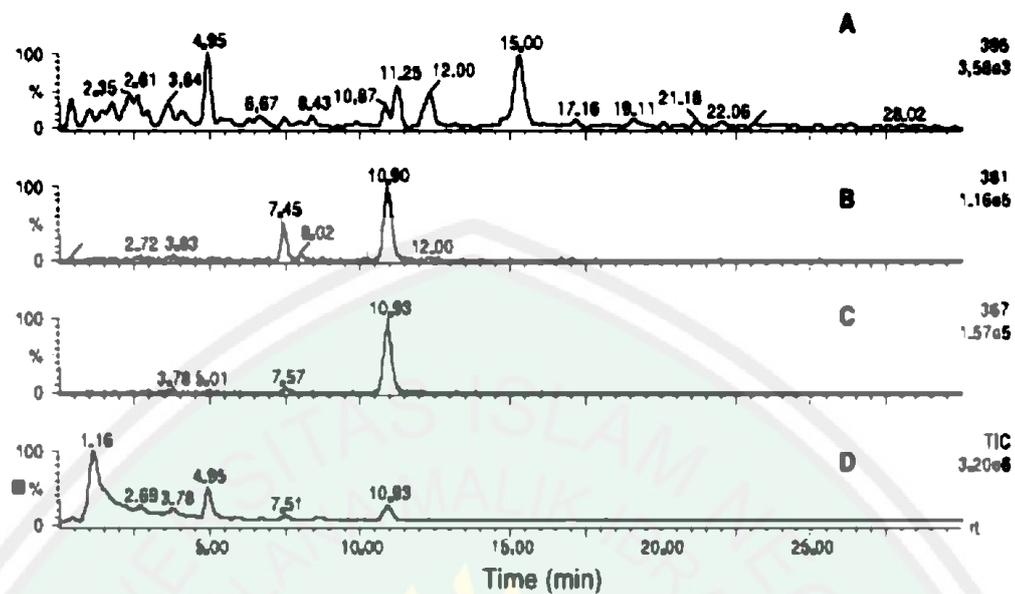
Proses identifikasi steroid menggunakan LC-MS/MS dengan dilengkapi APCI mode positif sebagai sumber ionisasi. Menurut Diaz (2006) APCI dapat menganalisa  $m/z$  dengan range 70-1000. Sistem LC menggunakan alliance 2695 lengkap dengan *autosampler*, *degasser*, dan pemanas kolom. Sistem MS menggunakan ZQ 2000 *single quardropole*. Sehingga diperoleh data dengan menggunakan *software* MassLynx 4.0. Kolom yang digunakan adalah C<sub>18</sub> 150 x 2,1 mm dengan fase gerak asetonitril/air (0,01% asam asetat) dengan laju alir 0,5 mL/menit.

Ion yang dihasilkan kemudian menuju pipa kapiler dan menuju penganalisa masa. LC-MS/MS digunakan untuk menganalisa senyawa yang sangat nonpolar dengan laju alir rendah. Penganalisa masa yang digunakan yaitu analisa massa *Quandropole*, metode ini terdiri atas empat batang paralel yang diatur dalam persegi yang ditengah persegi dialirkan ion analit. Bidang ini digunakan untuk menentukan rasio massa dari senyawa yang dianalisa dapat melewati bagian filter dengan waktu tertentu. Hasil identifikasi steroid yang telah dilakukan Pereira, dkk. (2016) dengan alga coklat sebagai sampel menggunakan metode APCI menunjukkan 7 puncak senyawa dengan *retention time* yang berbeda. Puncak yang dihasilkan beberapa diantaranya merupakan senyawa kampestrol dengan  $m/z$  383,  $\beta$ -sitosterol  $m/z$  397, brassikasterol dengan  $m/z$  381, stigmasterol dengan  $m/z$  395, fukosterol dengan  $m/z$  369, kolesterol dengan  $m/z$  369, dan ergosterol dengan  $m/z$  379. Hasil kromatogram steroid alga coklat dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Hasil identifikasi senyawa steroid dari alga coklat menggunakan APCI positif mode LC-MS/MS (Pereira, dkk., 2016).

Menurut penelitian Machado, dkk. (2004) telah melakukan penelitian pada beberapa jenis rumput laut diantaranya *Himanthalia elongata*, *Undaria pinnatifida*, *Laminaria ochroleuca*, *Porphyra sp*, dan *Palmaria sp*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh beberapa steroid yang terkandung didalamnya yaitu desmosterol yang paling dominan dan terdapat golongan *24-ethylenecholesterol*, fukosterol, kolesterol dan kampesterol. Hasil identifikasi LC-MS/MS alga merah *Palmaria sp* dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Hasil kromatogram LC-MS/MS ekstrak alga merah *Palmaria sp* dengan (A)  $m/z$  395 (B)  $m/z$  381 (C)  $m/z$  367 dan (D) mode scan penuh (Machado, dkk., 2004).

## BAB III

### METEDOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai dengan April 2017 di Laboratorium Kimia Organik, Layanan dan Instrumen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar, oven, kertas saring, neraca analitik, desikator, cawan penguap, ayakan 60-250 mesh, erlenmeyer tutup, *hot plate*, *magnetic stirrer*, corong pisah, pengaduk gelas, pH meter, corong *Buchner*, gunting, spatula, alumunium foil, penyaring *Buchner*, *shaker*, *rotary evaporator*, beaker glass, tabung reaksi, corong gelas, pipet ukur, bola hisap, labu ukur, lemari asap, pipet tetes, pipa kapiler, plat KLT G<sub>254</sub>, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis dan UHPLC-MS/MS merk ACCELLA type 1250 dan MS/MS triple Q (*Quadrupole*) spektrometer massa TSQ QUANTUM ACCESS MAX.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan obyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah jenis *E. cottonii* yang diambil dari perairan pantai Wongsorejo, Banyuwangi, *aquades*,

metanol *p.a*, *n*-heksana *p.a*, etil asetat *p.a*, HCl 2 N, Na-bikarbonat jenuh, kloroform dan asam asetat anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu alga merah *E. cottonii* yang telah dibersihkan dengan cara dicuci dan dikeringkan dalam oven serta dilakukan penentuan kadar air. Selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol. Ekstrak *E. cottonii* pekat yang dihasilkan dihirolisis dengan HCl 2 M. Setelah itu dipartisi dengan etil asetat. Kemudian digunakan reagen Liemberman-Buchard untuk diuji fitokimianya. Kemudian dipisahkan steroid dengan metode KLTA untuk mengetahui eluen terbaik dalam memisahkan senyawa. Selanjutnya dipisahkan lagi dengan metode KLTP untuk mendapatkan hasil isolat yang lebih banyak dan KLT dua dimensi untuk mendapatkan senyawa steroid dengan pemisahan yang lebih baik, kemudian diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan LC-MS/MS.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

- Tahap I : Uji taksonomi alga merah *E. cottonii*.
- Tahap II : Preparasi sampel.
- Tahap III : Penentuan kadar air.
- Tahap IV : Ekstraksi alga merah *E. cottonii* dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol *p.a*.

- Tahap V :Hidrolisis asam dan partisi menggunakan etil asetat *p.a.*
- Tahap VI :Identifikasi senyawa steoid dengan penambahan reagen.
- Tahap VII :Pemisahan steroid menggunakan KLTA untuk mencari eluen terbaik.
- Tahap VIII :Pemisahan steroid menggunakan KLTP untuk mendapatkan isolat.
- Tahap IX :Pemisahan steroid menggunakan KLT dua dimensi untuk mengetahui pola pemisahan terbaik.
- Tahap X :Identifikasi isolat KLTP menggunakan UV-Vis dan LC-MS/MS.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Uji Taksonomi**

Uji taksonomi alga merah (*E. cottonii*) dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

#### **3.5.2 Preparasi Sampel**

Alga merah jenis *E. cottonii* segar sebanyak 70 Kg dibersihkan dengan cara dicuci, dipotong-potong untuk memperbesar luas permukaan sampel dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 37-38 °C sekitar satu minggu hingga berwarna hitam dan rapuh. Kemudian dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan sampel dalam bentuk serbuk. Serbuk *E. cottonii* diayak menggunakan ayakan 60-90 mesh.

### 3.5.3 Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri

Penentuan kadar air yaitu dipanaskan cawan penguap dalam oven bersuhu 105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Kemudian dipindahkan cawan penguap pada desikator sekitar 10 menit. Setelah itu ditimbang untuk mengetahui massa dari cawan penguap. Kemudian 5 gram *E. cottonii* ditimbang dan dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105 °C selama 15 menit. Selanjutnya dipindahkan sampel ke desikator selama 10 menit dan kemudian ditimbang (AOAC, 1984). Perlakuan ini diulangi sampai diperoleh berat konstan. Kadar air dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.1

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3.1)$$

Dengan adalah  $a$  adalah bobot cawan kosong,  $b$  adalah bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan, dan  $c$  adalah bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

Faktor koreksi dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.2

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}} \quad \dots\dots\dots (3.2)$$

Kadar air terkoreksi dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.3

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{kadar air} - \text{faktor koreksi} \quad \dots\dots\dots (3.3)$$

### 3.5.4 Ekstraksi Maserasi, Hidrolisis, dan Partisi Alga Merah (*E. cottonii*)

Alga Merah *E. cottonii* sebanyak 100 gram ditimbang dan dilarutkan dalam metanol 500 mL. Selanjutnya dihomogenkan sampel dengan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Kemudian ekstrak disaring menggunakan corong Buchner dan residu dimaserasi lagi sebanyak tiga kali dengan pelarut. Selanjutnya disaring dan filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu. Filtrat

ekstrak kasar dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* (Andriani, dkk., 2015). Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan Persamaan 3.4

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.4)$$

Sebanyak 5 gram ekstrak pekat yang diperoleh dihidrolisis dengan penambahan 10 mL asam klorida (HCl) 2 M, dihomogenkan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang. Hasil hidrolisis ditambahkan dengan natrium bikarbonat sampai pH netral, selanjutnya dipartisi dengan 25 mL etil asetat. Kemudian lapisan fase air diambil dan partisi dengan 25 mL etil asetat sebanyak tiga kali pengulangan. Lapisan fasa organik yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (Susetyo, 2015). Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung randemennya.

### 3.5.5 Identifikasi Senyawa Steroid dengan Uji Reagen

Fraksi etil asetat *E. cottonii* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL anhidrida asetat. Campuran ini kemudian ditambahkan 1-2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> melalui dinding tabung reaksi. Hasil identifikasi steroid akan menunjukkan warna hijau kebiruan (Indrayani, dkk., 2006).

### 3.5.6 Pemisahan Steroid menggunakan KLTA, KLTP dan KLT Dua Dimensi

Pemisahan dengan KLT Analitik digunakan plat silika gel GF<sub>254</sub> dengan ukuran 1 x10 cm<sup>2</sup> yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven bersuhu 100-105 °C selama 30 menit. Isolat fraksi etil asetat *E. cottonii* ditotolkan pada dua titik sebanyak 5 totalan dan 10 totalan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler. Selanjutnya dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing fase gerak berbagai variasi pelarut yaitu *n*-heksana : etil asetat. Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Plat hasil elusi dikeringkan dan noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm (Bawa, 2009). Fase gerak yang digunakan dalam pemisahan steroid yaitu *n*-heksana : etil asetat dengan perbandingan (18:2), (17:3), (16:4), (15:5) dan (14:6). Setelah itu plat KLT disemprot dengan reagen Liemberman-Burchard, diamati plat KLTA yang sudah kering pada lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm dan dihitung nilai *R<sub>f</sub>* (Imamah, 2015).

Bagian perlakuan KLTP sama dengan KLTA, akan tetapi berbeda pada penggunaan ukuran plat dan perlakuan selanjutnya. Hasil eluen terbaik pada KLTA selanjutnya digunakan pada KLTP. Kemudian plat disemprot reagen Liemberman-Burchard, noda dikerok dan dilarutkan dengan etil asetat kemudian disentrifugasi. Filtrat didekantasi dan disimpan. Isolat KLTP diuji pola pemisahannya dengan KLT dua dimensi menggunakan plat silika gel ukuran 10 x 10 cm<sup>2</sup>, isolat ditotolkan dan dielusi dengan fase gerak pertama benzena : etil asetat (3:2) dan fase gerak kedua *n*-heksana : etil asetat (4:1) Setelah mencapai batas atas elusi, plat diangkat dan dikeringkan selama 10-15 menit dan diamati di

bawah lampu UV-366. Plat diputar 90° dan diletakkan dalam bejana yang berisi fase gerak kedua. Noda akan terpisah sepanjang dibagian bawah lempeng, lalu dielusi kembali, dikeringkan, dan diamati dibawah sinar UV-366 nm (Susetyo, 2015).

### 3.5.7 Identifikasi Senyawa hasil pemisahan menggunakan UV-Vis

Isolat sampel dengan pemisahan terbaik kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan dianalisis pada panjang rentang gelombang 200–800 nm, sehingga akan diperoleh spektrum dan panjang gelombang maksimum (Susetyo, 2015).

### 3.5.8 Identifikasi Steroid menggunakan LC-MS/MS

Hasil isolat senyawa steroid KLTP diidentifikasi menggunakan LC-MS/MS. LC-MS/MS atau UHPLC merk ACCELLA type 1250 buatan *thermo scientific* dengan kolom berspesifikasi (50 mm x 2.1 x 1,9  $\mu\text{m}$ ). LC-MS/MS ini terdiri dari pompa *quartener*, *autosampler thermostatic* dengan program *x-calibur* 2.1 dan *degasser vakum*. Fasa geraknya adalah 0,1 % asam format dalam air (fasa A) dan 0,1 % asam format dalam asetonitril (fase B). Eluen diatur secara gradien linier 100% (A): 0% (B) sampai 0% (A) : 100% (B) yang diatur selama 5 menit dengan laju alir 500  $\mu\text{L}/\text{menit}$ . Volume yang diinjeksikan 2  $\mu\text{L}$ . Kemudian kolom dikontrol pada suhu 30°C, dan *kompartmenten autosampler* 10°C.

MS/MS triple Q (*Quadrupole*) spektrometer massa TSQ QUANTUM ACCESS MAX dari *Thermo Finnigan* dengan APCI (*Atmospheric Pressure*

*Chemica Ionization*) sebagai sumber ionisasi dan dikendalikan oleh *software* TSQ Tune dengan mode positif. Ion APCI dikondisikan menggunakan arus 4  $\mu\text{A}$ , suhu penguapan 250 °C, suhu kapiler 300°C, *heat gas pressure 45 arbitrary units*, dan *Aux gas pressure 15 arbitrary units*.

### 3.6 Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan memperhatikan pola pemisahan dan penampakan noda pada kromatogram dari eluen yang digunakan. Analisa senyawa steroid dilakukan dengan memperhatikan bentuk umum spektrum UV-Vis dan didukung dari intepretasi kromatogram LC-MS/MS. Hasil identifikasi dapat digunakan untuk menentukan jenis senyawa steroid yang terdapat dalam alga merah (*E. cottonii*) perairan Wongsorejo, Banyuwangi.

## **BAB IV**

### **PEMBAHASAN**

#### **4.1 Uji Taksonomi**

Uji taksonomi dilakukan untuk mengetahui jenis alga merah (*Rhodophyceae*) yang digunakan dalam penelitian. Hal ini dikarenakan alga merah memiliki berbagai macam jenis, diantaranya *Euclima cottoni*, *Euclima spinosum*, *Gracillaria gigas*, *Gracillaria verrucosa*, *Gelidium rigidum*, *Sargassum polycystum* dan *Galaxaura oblongata* (Anggadiredja, dkk., 2010). Berdasarkan hasil uji taksonomi, alga merah yang digunakan dalam penelitian merupakan alga merah jenis *Euclima cottoni* yang diperoleh dari pantai Wongsorejo, Banyuwangi. Hasil uji taksonomi dapat dilihat pada Lampiran 3.

#### **4.2 Preparasi Sampel**

Sampel utama dalam penelitian ini yaitu alga merah *E. cottoni* yang diperoleh dari pantai Wongsorejo, Banyuwangi. Preparasi sampel terdiri dari beberapa tahap diantaranya, pencucian, pengeringan dan penyerbukkan sampel. Pencucian sampel dilakukan untuk membersihkan sampel dari kotoran yang menempel pada alga, selanjutnya dilakukan pengeringan yang bertujuan untuk menurunkan kadar air yang terkandung pada sampel dan untuk mempermudah dalam proses penyimpanan. Proses pengeringan sampel dilakukan dengan cara diangin-anginkan tanpa menggunakan pemanasan sinar matahari selama 30 hari dengan suhu ruang antara 35–38 °C. Pengeringan tanpa menggunakan pemanasan

matahari ini dilakukan agar senyawa aktif yang diinginkan tidak mengalami kerusakan akibat suhu yang tinggi. Hasil dari preparasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Preparasi alga merah *E. cottonii* (a) sebelum dikeringkan (b) setelah dikeringkan (c) setelah dihaluskan.

Proses penghalusan atau penyerbukkan sampel dilakukan dengan tujuan memperluas permukaan sampel sehingga memudahkan kontak antara sampel dengan pelarut pada saat proses maserasi. Menurut Voight (1995) semakin kecil bentuk sampel maka luas permukaannya akan semakin besar sehingga kontak yang terjadi antara sampel dengan pelarut akan semakin besar, maka proses ekstraksi akan semakin cepat. Sampel dalam bentuk serbuk dengan tingkat penghalusan yang tinggi, kemungkinan terjadinya kerusakan sel-sel akan semakin besar sehingga memudahkan pelarut mengambil kandungan yang terdapat dalam sampel. Pembuatan serbuk sampel dilakukan menggunakan ayakan 60-90 mesh,

dimana serbuk yang diambil diantara ayakan 60-90. Hal ini dikarenakan dengan rentang tersebut, serbuk yang dihasilkan akan memiliki ukuran yang hampir sama.

#### 4.3 Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam sampel *E. cottoni*. Hal ini perlu dilakukan karena tinggi rendahnya kadar air akan mempengaruhi konsentrasi dan kepolaran pelarut yang digunakan pada saat maserasi. Menurut Khoiriyah, dkk. (2014) menyatakan kadar air yang rendah dapat mempermudah proses penarikan zat aktif dalam sampel karena pelarut mudah menembus dinding sel sampel tanpa adanya gangguan dari molekul air. Kadar air dalam sampel sangat berpengaruh terhadap daya simpannya, karena erat kaitannya dengan aktivitas mikrobiologi selama sampel tersebut disimpan. Menurut Baraja (2008) kadar air dalam sampel harus seminimal mungkin agar kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme dapat diminimalkan serta mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalamnya.

Penentuan kadar air pada penelitian ini menggunakan metode pengeringan (Thermogravimetri). Prinsip dari metode ini yaitu adanya pemanasan dan penimbangan menggunakan oven pada temperatur 105 °C sampai diperoleh berat konstan. Selisih antara berat sampel sebelum dan sesudah pemanasan menunjukkan jumlah air yang terkandung dalam sampel.

Hasil penentuan kadar air sampel basah alga merah *E. cottoni* sebesar 89,28 % dan pada sampel kering sebesar 5,07 %. Kadar air pada alga kering lebih kecil dari pada alga basah, hal ini disebabkan pada alga kering telah kehilangan

beberapa persen kadar air akibat penguapan. Kadar air kering pada alga telah menunjukkan hasil yang baik. Menurut Cahyono, dkk. (2011) kadar air kering tidak boleh lebih dari 10% karena akan menyebabkan mikroorganisme tumbuh dan mempengaruhi reaksi enzimatik sehingga mempercepat proses pembusukan.

#### 4.4 Ekstraksi Alga Merah *Eucheuma cottoni*

Pemisahan senyawa metabolit sekunder pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi memiliki beberapa kelebihan diantaranya yaitu prosesnya mudah, murah dan tidak memerlukan perlakuan yang lain seperti pemanasan yang dapat merusak senyawa metabolit sekunder di dalamnya. Proses ekstraksi ini menurut Rosyidah, dkk. (2010) akan memecah dinding sel karena adanya perbedaan tekanan dari luar dan dalam sel yang menyebabkan metabolit sekunder di dalam sitoplasma akan ikut terbawa keluar sel bersama pelarut.

Ekstraksi maserasi ini dilakukan dengan cara perendaman serbuk sampel dengan pelarut metanol *p.a* selama 24 jam dan dikocok menggunakan *shaker* berkecepatan 120 rpm untuk mempercepat proses ekstraksi. Proses ekstraksi ini dilakukan sampai larutan dari berwarna hijau pekat menjadi hijau bening dengan pengulangan tiga kali maserasi. Pengulangan tiga kali untuk mengetahui bahwa senyawa aktif dalam sampel telah terekstrak secara maksimal dalam pelarut. Hasil dari pengulangan tiga kali dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil pengulangan maserasi alga merah *E. cottonii* (a) hari ke-1 (b) hari ke-2 (c) hari ke-3.

Hasil maserasi berupa larutan yang disaring menggunakan corong *Buchner*, penggunaan corong *Buchner* ini lebih mudah digunakan dan efisien. Hal ini sesuai dengan prinsip kerja corong *Buchner* menurut Khamdinal (2009) yaitu memisahkan endapan dari pelarutnya dengan cara menghisap udara dan tekanan dalam *Buchner* dengan menggunakan *pump Buchner* sehingga tekanan di dalam lebih kecil dari pada tekanan yang diluar sehingga filtrat lebih cepat menetes ke bawah dan akan menghasilkan residu yang lebih banyak.

Pemekatan filtrat dari proses penyaringan digunakan *vacuum rotary evaporator*, dimana memiliki pompa vacum yang dapat memberi tekanan sehingga pelarut mendidih pada suhu yang lebih rendah dan pelarut dapat diperoleh kembali. Menurut Heryudi, dkk. (2015) proses pemekatan filtrat pelarut metanol ini menggunakan suhu 40 °C dengan tekanan sekitar 500 *Ampere* sehingga tidak akan merusak senyawa aktif akibat panas dari titik didihnya.

Hasil dari pemekatan berupa ekstrak kental metanol alga merah (*E. cottonii*) dengan randemen yang dihasilkan sebesar 13,93 %. Sedangkan penelitian Abu Bakar, dkk. (2016) randemen yang diperoleh untuk ekstrak metanol dari *E.*

*cottonii* daerah utara Borneo Malaysia sebesar 10,1 % dari 100 gram sampel. Perbedaan hasil randemen terjadi menurut Chithra dan Chandra (2014) dikarenakan habitat yang berbeda akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan jumlah yang berbeda. Hasil randemen yang berbeda menurut Djagal, dkk. (2010) juga dapat dilihat dari pengaruh umur panen, penelitian tersebut menggunakan sampel *E. cottonii* yang berumur 30, 45, dan 60 hari. Berdasarkan penelitian tersebut bahwa sampel yang berumur 45 hari lebih banyak menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Hal ini dikarenakan pada umur panen 30 hari kemungkinan kebutuhan tumbuhan akan nutrisi sebagai penyusun jaringan terjadi secara intensif, sedangkan pada umur panen 60 hari dimungkinkan karena kemampuan tumbuhan untuk menghasilkan nutrisi sudah menurun dan senyawa yang dihasilkan juga sedikit.

#### **4.5 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol dengan Pelarut Etil Asetat**

Ekstrak pekat metanol dihidrolisis menggunakan HCl 2 M sebagai katalis dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam pada suhu ruang. Dilakukan selama 1 jam pada suhu ruang agar ekstrak pekat dapat tercampur dan memutuskan ikatan gula dengan menghasilkan senyawa gula dengan maksimal. Hasil hidrolisis yang didapat selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat sampai pH netral. Penambahan natrium bikarbonat untuk menetralkan pH agar reaksi hidrolisis dapat berhenti. Hal ini dikarenakan reaksi hidrolisis berjalan secara bolak-balik sehingga perlu adanya pemberhentian supaya tidak

kembali menjadi reaktan. Reaksi yang terjadi saat hidrolisis glikosida ditunjukkan pada Gambar 2.2.

Hidrolisat yang telah diperoleh dipartisi (ekstraksi cair-cair) dengan pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat bersifat semi polar yang dapat memisahkan senyawa dengan kepolaran yang sama dari hasil hidrolisis. Senyawa yang bersifat polar (fase air) seperti gula (glikon) akan terekstrak begitu juga senyawa yang bersifat selain polar akan terekstrak pada pelarut etil asetat (fase organik).

Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sampai fase organik berubah menjadi bening yang dapat diasumsikan bahwa senyawa bersifat semipolar hingga nonpolar dapat terdistribusi secara maksimal pada pelarut etil asetat. Fase organik yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 40 °C. Hasil pemekatan atau ekstrak etil asetat (*E. cottonii*) ditimbang dan diperoleh randemen sebesar 21,12 % dari ekstrak metanol yang digunakan. Menurut penelitian Andriani, dkk. (2015) randemen terbesar yang dihasilkan dari beberapa pelarut yaitu randemen fraksi etil asetat. Tae-Hyung, dkk. (2013) melakukan partisi pada alga coklat dengan pelarut etil asetat, butanol, *n*-heksana, kloroform dan air. Hasil yang paling banyak dimiliki oleh fraksi etil asetat sebesar 263,27 mg/Kg. Berdasarkan randemen tersebut dapat diasumsikan bahwa senyawa steroid larut pada pelarut etil asetat.

#### **4.6 Uji Fitokimia Senyawa Steroid**

Senyawa steroid yang terdapat dalam ekstrak etil asetat alga merah (*E. cottonii*) dianalisis senyawanya dengan tes uji warna dari pereaksi. Identifikasi

steroid dalam penelitian ini menggunakan uji reagen Liemberman-Burchard (anhidrida asetat- $H_2SO_4$  pekat) yang memberikan warna biru kehijauan (Setyowati, 2014).

Hasil identifikasi steroid pada sampel memberikan hasil positif yaitu terbentuknya cincin warna hijau. Uji fitokimia senyawa steroid dilakukan dengan menambahkan kloroform untuk melarutkan senyawa steroid dalam sampel. Sampel yang telah larut ditambahkan asam asetat anhidrat untuk proses asetilasi gugus hidroksil yang membentuk turunan asetil. Hal ini dikarenakan gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya ditambahkan dengan  $H_2SO_4$  untuk membentuk garam dan perpanjangan konjugasi terjadi karena proses dehidrasi. Menurut Arsianti (2016) uji fitokimia senyawa steroid ekstrak etil asetat alga merah (*E. cottonii*) dengan reagen Liemberman-Burchard menunjukkan hasil yang positif yaitu terbentuknya cincin berwarna biru kehijauan. Hasil uji fitokimia alga merah *E. cottonii* menggunakan reagen Liemberman-Burchard dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil fitokimia alga merah *E. cottonii* menggunakan reagen Liemberman-Burchard.

## 4.7 Pemisahan Steroid menggunakan KLT

### 4.7.1 Pemisahan Steroid menggunakan KLTA

Hasil uji fitokimia pada fraksi etil asetat menunjukkan bahwa alga merah *E.cottonii* positif mengandung senyawa steroid. Pemisahan steroid diperkuat dengan metode KLT. Metode KLT adalah metode yang pemisahannya didasarkan pada perbedaan distribusi dua fasa diam dan fasa gerak. KLT Analitik ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa steroid.

Pemisahan senyawa steroid fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak metanol alga merah dengan KLTA dilakukan dengan menjenuhkan eluen *n*-heksana:etil asetat pada beberapa eluen terbaik diantaranya (18:2), (17:3), (16:4), (15:5) dan (14:6) selama 1 jam. Plat yang digunakan ukuran 10x10 cm diaktivasi pada suhu 100 °C untuk menghilangkan kandungan air pada plat agar pemisahan senyawa tidak dipengaruhi oleh adanya air. Sampel ditotolkan dan dielusi sampai garis batas elusi. Identifikasi hasil kromatografi dilakukan penyinaran pada lampu UV 366 nm. Noda yang tampak ditandai dan nilai *R<sub>f</sub>* dihitung berdasarkan masing-masing noda. Penggunaan beberapa pelarut diharapkan mampu memisahkan senyawa steroid yang terdapat dalam ekstrak alga merah *E.cottonii* dengan baik.

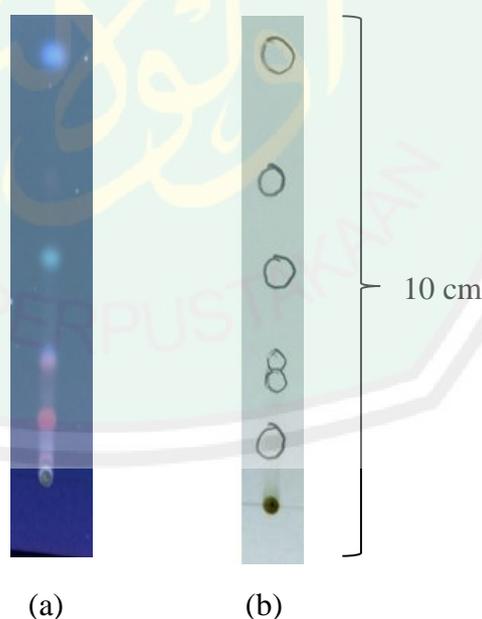
Berdasarkan lima eluen campuran yang digunakan untuk memisahkan senyawa steroid pada fraksi etil asetat menunjukkan hasil noda dari KLTA dengan nilai *R<sub>f</sub>* yang dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil KLTA fraksi etil asetat ekstrak metanol *E. cottonii* menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat

No	Fase Gerak	Jumlah Noda	<i>R<sub>f</sub></i>	Warna Noda	Dugaan senyawa
1	18:2	6	0,5	Biru	Steroid
			0,275	Merah	Triterpenoid
			0,225	Hijau	Steroid
			0,125	Ungu	Triterpenoid
			0,075	Merah	Triterpenoid
			0,025	Merah	Triterpenoid
2	17:3	6	0,825	Biru	Steroid
			0,612	Merah	Triterpenoid
			0,475	Hijau	Steroid
			0,337	Biru	Steroid
			0,3	Merah	Triterpenoid
			0,225	Merah	Triterpenoid
3	16:4	6	0,837	Biru	Steroid
			0,7	Merah	Triterpenoid
			0,537	Hijau	Steroid
			0,362	Merah	Triterpenoid
			0,337	Merah	Triterpenoid
			0,287	Merah	Triterpenoid
4	15:5	12	0,925	Biru	Steroid
			0,887	Merah	Triterpenoid
			0,775	Hijau	Steroid
			0,737	Merah	Triterpenoid
			0,637	Merah	Triterpenoid
			0,512	Ungu	Triterpenoid
			0,437	Merah	Triterpenoid
			0,362	Merah	Triterpenoid
			0,287	Merah	Triterpenoid
			0,212	Merah	Triterpenoid
			0,075	Merah	Triterpenoid
			0,037	Jingga	Triterpenoid
5	14:6	7	0,935	Biru	Steroid
			0,734	Hijau	Steroid
			0,696	Ungu	Triterpenoid
			0,637	Merah	Triterpenoid
			0,512	Merah	Triterpenoid
			0,475	Ungu	Triterpenoid
			0,287	Merah	Triterpenoid

Berdasarkan Tabel 4.1 tersebut, variasi eluen (17:3) merupakan eluen terbaik yang didasarkan pada penelitian Susetyo (2015) dan Anam (2015) yang telah melakukan variasi eluen untuk memisahkan senyawa dari fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak metanol alga merah *E. spinosum*. Eluen yang baik adalah yang menghasilkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan lainnya jelas (Harbone, 1987).

Nilai  $R_f$  hasil variasi eluen *n*-heksana:etil asetat (17:3) menunjukkan adanya 6 noda dengan 3 noda yang diduga senyawa steroid. Noda yang dihasilkan tidak berekor dan jarak antara spot satu dan lainnya jelas. Hasil KLT Analitik untuk variasi (17:3) tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Profil KLTA fraksi etil asetat ekstrak metanol dari alga merah *E.cottonii* menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (17:3) (a) setelah disinari UV 366 nm (b) tanpa disinari UV 366 nm

Perbedaan nilai  $R_f$  dari masing-masing isolat terjadi karena perbedaan struktur dan kepolaran senyawa terhadap fasa gerak dan fasa diam. Senyawa yang memiliki nilai kepolaran yang besar maka senyawa tersebut lebih tertahan dalam fasa diam sehingga memiliki nilai  $R_f$  yang kecil. Sedangkan senyawa yang memiliki nilai kepolaran yang kecil maka senyawa tersebut kurang bertahan dalam fasa diam sehingga nilai  $R_f$  dari senyawa tersebut besar.

#### 4.7.2 Pemisahan Steroid menggunakan KLTP

Senyawa steroid dapat dipisahkan dari hasil fraksi alga merah *E. cottonii* dengan pelarut etil asetat menggunakan kromatografi lapis tipis. Pemisahan menggunakan KLTP ini dilakukan untuk mendapatkan isolat dalam jumlah banyak yang akan digunakan dalam pemisahan dan identifikasi senyawa steroid pada KLT dua dimensi, spektrofotometri UV-Vis dan LC-MS/MS serta. Penggunaan metoda KLTP dilakukan dengan penotolan fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak metanol *E. cottonii* pada sepanjang garis di salah satu sisi plat. Menurut Handayani (2008) pemisahan menggunakan KLTP lebih baik daripada menggunakan KLTA, hal ini dapat dilihat dari lamanya kontak senyawa dengan eluen yang digunakan atau semakin besar kontak dengan eluen maka pemisahan senyawanya semakin baik.

Fasa gerak yang digunakan yaitu perbandingan fasa gerak hasil eluen terbaik dari pemisahan KLTA yaitu (17:3). Sedangkan fase diam yang digunakan yaitu plat alumunium berlapis silika yang dapat berpendar dalam sinar *ultraviolet*. Plat yang digunakan untuk KLTP yaitu plat GF<sub>254</sub> berukuran 10x20 cm. Pada

proses sebelum elusi, plat yang digunakan diaktivasi terlebih dahulu untuk menghilangkan kadar air yang akan mengganggu elusi. Kemudian campuran eluen dijenuhkan selama 1 jam untuk mempercepat jalannya elusi. Fraksi etil asetat ditotolkan pada sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis tepi. Hasil penotolan kemudian dielusi dengan pelarut yang digunakan.

Setelah elusi mencapai titik batas atas elusi dihentikan, kemudian muncul noda-noda hasil pemisahan dan diidentifikasi menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. Hasil pemisahan senyawa steroid pada KLTP ditunjukkan pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil KLTP fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak metanol alga merah *E. cottonii* menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (17:3)

Noda ke-	<i>R<sub>f</sub></i>	Warna noda	Dugaan senyawa
1	0,872	Hijau	Steroid
2	0,777	Biru	Steroid
3	0,594	Hijau	Steroid
4	0,555	Merah	Triterpenoid
5	0,394	Hijau	Steroid
6	0,277	Biru	Steroid
7	0,222	Merah	Triterpenoid
8	0,194	Ungu	Triterpenoid
9	0,133	Ungu	Triterpenoid
10	0,066	Merah	Triterpenoid
11	0,033	Merah	Triterpenoid

Hasil noda pemisahan menggunakan KLTP terdapat 5 senyawa steroid yang berada pada isolat 1, 2, 3, 5 dan 6. Isolat steroid pada umumnya memiliki nilai *R<sub>f</sub>* yang besar, hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur dan distribusi senyawa pada fasa diam dan fasa gerak yang digunakan. Hasil isolat yang diduga senyawa steroid tersebut kemudian dilihat pola pemisahannya dengan KLT dua

dimensi setelah diperoleh noda tunggal, lalu diidentifikasi menggunakan UV-Vis dan LC-MS/MS.

#### 4.7.3 Uji Pola Pemisahan Isolat Steroid dengan KLT Dua Dimensi

Isolat steroid hasil KLT Preparatif diuji pola pemisahannya pada KLT dua dimensi menggunakan plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> dengan ukuran 10x10 cm. Isolat yang diduga senyawa steroid dari KLTP sebelumnya dilarutkan dengan pelarut etil asetat dan disentrifuge untuk mengendapkan silika sehingga filtrat yang diambil tidak bercampur dengan silika tersebut. Filtrat yang diambil diuapkan dengan gas N<sub>2</sub> untuk menghilangkan pelarut pada senyawa steroid. Senyawa yang diduga steroid dilarutkan dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi tertentu. Selanjutnya senyawa steroid ditotolkan pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi lalu dielusi dengan satu sistem fase gerak sehingga campuran terpisah menurut jalur yang sejajar dengan salah satu sisi.

Menurut Rohman (2007) penggunaan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda secara berurutan dapat memisahkan analit dengan tingkat polaritas yang berbeda. Setelah dielusi plat diangkat dan dikeringkan, diputar 90° kemudian dielusi dengan sistem fase gerak kedua. Bercak noda atau komponen yang dihasilkan dari pengembangan pertama akan terelusi dan dapat terpisah dimana saja di dalam plat.

Eluen pengembang yang digunakan pada KLT dua dimensi yaitu kombinasi eluen pertama adalah benzena:etil asetat (3:2) dan fase gerak kedua adalah *n*-heksana:etil asetat (4:1). Penggunaan eluen pengembang yang berbeda

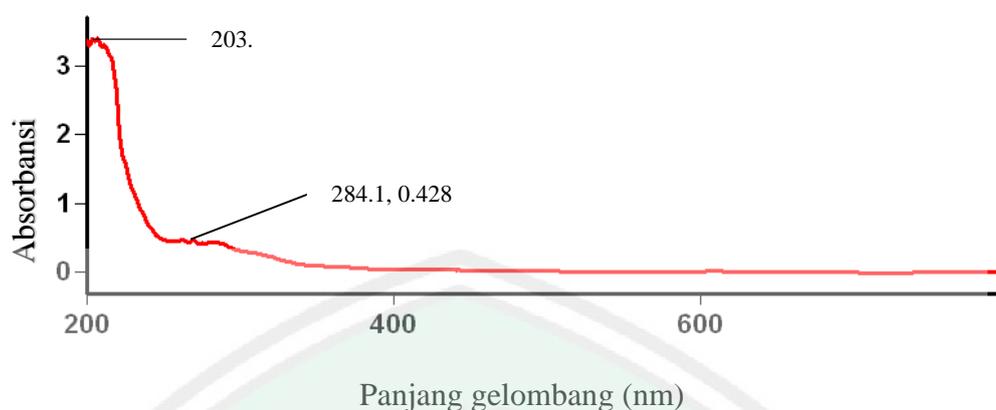
dimaksudkan agar senyawa steroid dapat terelusi pada berbagai eluen pada satu kesatuan yaitu membentuk senyawa tunggal. Hasil uji pola pemisahan isolat steroid dengan KLT dua dimensi dapat dilihat pada Tabel 4.3. Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bercak noda yang berbeda-beda. Akan tetapi, pada isolat 2 proses elusi fase gerak pertama dan kedua konsisten menghasilkan 1 bercak noda yang diduga senyawa steroid dengan warna biru terang. Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa isolat 2 merupakan isolat dengan pola pemisahan yang baik dan diindikasikan terdapat senyawa tunggal didalamnya.

Tabel 4.3 Uji pola pemisahan isolat steroid dengan KLT dua dimensi

Isolat	Eluen 1	<i>R<sub>f</sub></i>	Eluen 2	<i>R<sub>f</sub></i>
	Warna noda		Warna noda	
1	Biru	0,65	Biru	0,637
	Biru	0,487	Hijau	0,475
2	Biru	0,975	Biru	0,962
	Biru	0,837	Biru	0,9
3	Hijau	0,562	Hijau	0,862
	Biru	0,5	Biru	0,887
5	Biru	0,975	Biru	0,862
	Biru	0,962	Biru	0,65
6	Hijau	0,95	Hijau	0,612
	Biru	0,987	Biru	0,625
	Biru		Hijau	0,637

#### 4.8 Identifikasi senyawa steroid menggunakan UV-Vis

Hasil isolat dari KLT preparatif yaitu isolat 2 yang telah diuji kemurnian dengan KLT dua dimensi selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil identifikasi, diperoleh serapan pada panjang gelombang 203 dan 284 nm yang disajikan pada Gambar 4.5



Gambar 4.5 Spektrum UV-Vis isolat steroid 2 hasil KLTP

Hasil serapan panjang gelombang yang diperoleh adalah 203 dan 284 nm. Panjang gelombang 203 nm tersebut menunjukkan adanya senyawa steroid jenis  $\beta$ -sitosterol dan terdapat ikatan C=C tidak terkonjugasi dengan transisi  $\pi$ - $\pi^*$ . Hal ini sesuai dengan penelitian Aprelia dan Suyatno (2013) dengan melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan paku *Critella arida* dan diperoleh serapan pada panjang gelombang 203 nm. Sedangkan pada panjang gelombang 284 nm berdasarkan penelitian Susilawati, dkk. (2010) dengan melakukan isolasi dan identifikasi senyawa steroid dari daun rimbang memberikan serapan panjang gelombang 281 nm yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dengan transisi  $n$ - $\pi^*$ .

#### 4.9 Identifikasi senyawa steroid menggunakan LC-MS/MS

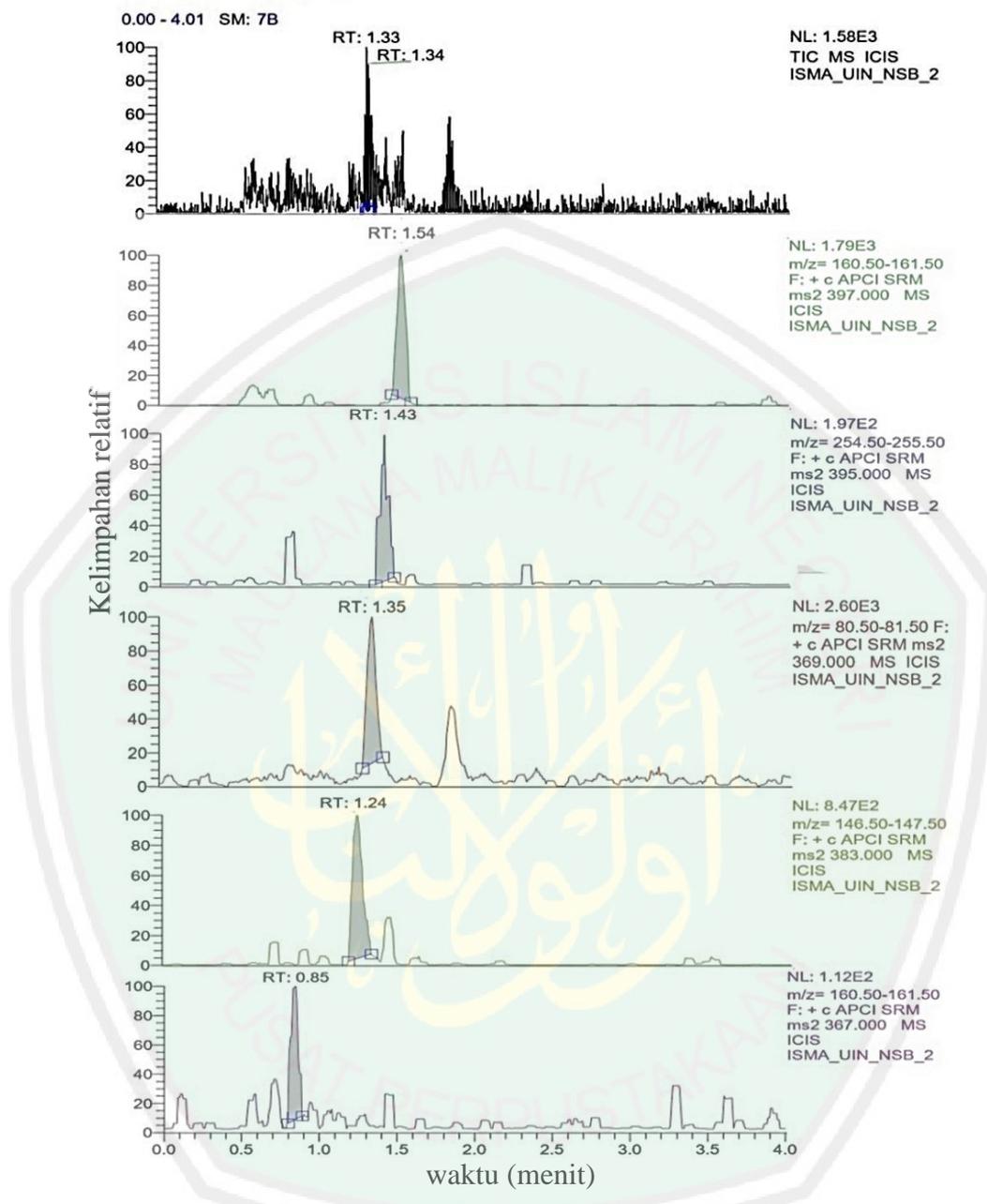
Identifikasi metabolit sekunder senyawa steroid pada alga merah *E.cottonii* dengan LC-MS/MS yang mana memisahkan senyawa berdasarkan distribusi kepolaran senyawa terhadap fasa diam dan fasa gerak yang digunakan dan berat

serta struktur molekul. Looi, dkk. (2013) menyatakan bahwa LC-MS/MS adalah teknik yang banyak digunakan untuk berbagai aplikasi yang memiliki sensitivitas dan spesifikasi sangat tinggi. LC-MS/MS yang digunakan pada penelitian ini yaitu UHPLC-MS/MS dengan tingkat sensitivitas yang tinggi, hal ini dikarenakan HPLC yang digunakan menggunakan tenaga ultra dengan detektor ganda yaitu MS/MS. Sehingga akan menghasilkan beberapa  $m/z$  diantaranya yaitu massa induk (*parent mass*) dan massa anak (*daughter mass*) atau massa ion hasil pecahan dari massa induk. Hasil identifikasi LC-MS/MS merupakan data berbentuk kromatogram yang menunjukkan puncak dan waktu retensi ( $R_t$ ) serta data nilai  $m/z$ . Berdasarkan kromatogram yang diperoleh, hasil pemisahan steroid dari isolat 2 fraksi etil asetat hasil KLTP dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Menurut Khalaf, dkk. (2011) senyawa steroid tersebut berada pada kondisi ionisasi sehingga semua senyawa kehilangan satu molekul air dan ion yang terdeteksi oleh spektrometer selalu berbentuk  $[M-H_2O+H]^+$  untuk massa induk (*parent mass*) sedangkan massa anak (*daughter mass*) akan terdeteksi sebagian dari massa induk. Berikut hasil ion-ion steroid yang terdeteksi dengan LC-MS/MS disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Ion steroid yang terdeteksi oleh LC-MS/MS

Steroid	Waktu retensi (menit)	Massa ( $m/z$ )			
		M	M-H <sub>2</sub> O	M-H <sub>2</sub> O+H <sup>+</sup>	Daughter mass
$\beta$ - sitosterol	1,54	414	396	397	160,5-161,5
Stigmasterol	1,43	412	394	395	254-255
Fukosterol	1,35	386	368	369	80,5-81,5
Kampesterol	1,24	400	382	383	146,5-147,5
Desmosterol	0,85	384	366	367	160,5-161,5



Gambar 4.6 Kromatogram LC-MS/MS isolat steroid 2 hasil KLTP

Berdasarkan hasil identifikasi pada Tabel 4.4 ionisasi steroid dapat terjadi proses fragmentasi. Menurut Mo, dkk (2013) yang mengacu pada pelabelan deuterium dan prinsip kimia organik, semua fragmentasi steroid pada LC-MS/MS

terjadi pemutusan rantai pada cincin D dan apabila terdapat ikatan c=c pada cincin B maka terjadi pemutusan pada cincin C. Pola ion fragmentasi struktur massa induk (*parent mass*) dan massa anak (*daughter mass*) dari steroid dapat dilihat pada Gambar 2.4

Hasil  $m/z$  yang diperoleh dapat dibuktikan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Lopez, dkk. (2011) pada 18 makrolaga di semenanjung Portugis termasuk alga merah jenis *Rhodophyta* menyatakan bahwa alga merah jenis tersebut mengandung beberapa jenis steroid diantaranya yaitu  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, dan kampesterol dengan retensi waktu 18, 16, 12 dan 14,5 menit. Pereira, dkk. (2016) mengidentifikasi steroid pada alga coklat dan terdeteksi beberapa steroid diantaranya yaitu  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, dan kampesterol dengan berat molekul sebesar 397, 395, 369, dan 383  $m/z$ . Machado, dkk. (2004) meneliti steroid pada beberapa jenis rumput laut termasuk alga merah *Palmaria sp* yang menghasilkan puncak pada waktu retensi 10,93 menit dengan berat molekul 367  $m/z$  yaitu steroid jenis desmosterol.

Senyawa steroid yang terdeteksi tersebut juga muncul pada beberapa jenis alga yang lain dan tumbuhan tingkat tinggi. Penelitian Machado, dkk. (2004) pada alga coklat *Undaria pinnatifida sp* memunculkan puncak senyawa steroid jenis desmosterol dan fukosterol. Abdel-Aal, dkk. (2015) mendeteksi steroid pada alga hijau *Spirogyra longata* dan menghasilkan puncak pada senyawa steroid jenis stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, kampesterol dan ergosterol. Steroid pada tumbuhan tingkat tinggi menurut penelitian Khalaf, dkk. (2011) pada tumbuhan akar *Glycyrrhiza glabra* dan Mo, dkk. (2013) pada minyak tumbuhan memunculkan

puncak steroid yaitu steroid jenis stigmasterol, kampesterol,  $\beta$ -sitosterol dan ergosterol. Berdasarkan hal tersebut maka dapat diketahui bahwa sebagian besar senyawa steroid yang terkandung pada tumbuhan tingkat rendah dan tingkat tinggi yaitu jenis  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, kampesterol, desmosterol dan ergosterol. Kazlowska, dkk. (2013) mendeteksi senyawa steroid pada ekstrak alga merah *Porphyra dentata* dan senyawa yang terdeteksi pada alga tersebut yaitu steroid jenis kolesterol,  $\beta$ -sitosterol dan kampesterol dengan presentase kelimpahan sebesar 15, 55 dan 30 %. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa steroid jenis  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, desmosterol dan kampesterol memiliki jumlah kelimpahan yang paling banyak dibandingkan jenis yang lain, sehingga pada penelitian ini menggunakan standar jenis steroid tersebut.

Hasil pemisahan yang baik senyawa steroid dapat dilihat dari bentuk puncak yang dihasilkan, puncak pada retensi waktu 1,54 menit dengan berat molekul 397  $m/z$  merupakan senyawa yang pemisahannya cukup baik. Puncak tersebut merupakan puncak senyawa  $\beta$ -sitosterol dengan menunjukkan puncak yang tunggal/ lurus, sedangkan puncak dengan retensi waktu 1,35 dan 1,24 menghasilkan puncak yang lurus akan tetapi disekitar puncak yang terbaik terdapat puncak yang lain. Hal ini mengindikasikan senyawa tersebut belum sepenuhnya terpisah dengan sempurna dan menunjukkan adanya senyawa steroid jenis lain yang bercampur. Puncak pada retensi waktu 1,43 dan 0,85 tidak menunjukkan puncak yang lurus dan masih terdapat banyak puncak kecil

disekitarnya, sehingga dapat diasumsikan bahwa senyawa tersebut masih terkandung senyawa steroid yang lain dan senyawa lain selain steroid.

Kepolaran senyawa steroid dapat diketahui dari waktu retensi yang didapatkan, yaitu semakin rendah waktu retensi maka semakin polar senyawa tersebut begitu juga sebaliknya. Berdasarkan waktu retensi dari hasil penelitian, senyawa steroid diurutkan dari yang polar hingga sedikit polar (non polar) yaitu steroid jenis desmosterol, kampesterol, fukosterol, stigmasterol dan  $\beta$ -sitosterol.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tim *E. cottonii* Banyuwangi UIN Maliki Malang angkatan 2013 untuk alga merah *E. cottonii* dapat digunakan untuk perbandingan dalam menentukan hasil identifikasi senyawa steroid pada berbagai fraksi yang ditunjukkan pada Tabel 4.5. Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa senyawa steroid yang terkandung pada alga merah *E. cottonii* dalam berbagai fraksi yaitu  $\beta$ -sitosterol.

Kazlowska, dkk. (2013) melakukan penelitian dengan menginjeksikan senyawa steroid jenis  $\beta$ -sitosterol dan kampesterol dari ekstrak alga merah *Porphyra dentata* pada tikus dan dapat mengurangi penyebaran penyakit kanker payudara. Menurut Woyeongo, dkk. (2009) menjelaskan bahwa makanan yang mengandung fitosterol seperti  $\beta$ -sitosterol sendiri maupun kombinasi dengan kampesterol dapat menghambat sel kanker, angiogenesis dan sebagainya.

Tabel 4.5 Hasil identifikasi senyawa steroid alga merah *E. cottonii* Banyuwangi menggunakan berbagai fraksi yang berbeda dengan LC-MS/MS

Steroid	Fraksi			
	Metanol hasil hidrolisis *	n-butanol**	Etil esetat	Petroleum eter***
$\beta$ -sito sterol	✓	✓	✓	✓
Stigma sterol	-	✓	✓	✓
Fuko Sterol	✓	-	✓	-
Kampe Sterol	-	✓	✓	✓
Desmo Sterol	-	-	✓	-
Kole Sterol	-	-	-	-

Keterangan :

\*Lutfiyah (2017)

\*\*Ratnasari (2017)

\*\*\*Baderos (2017)

#### 4.10 Pemanfaatan Alga Merah (*E. cottonii*) dalam Perspektif Islam

Penelitian ini mengkaji mengenai isolasi salah satu senyawa kimia yaitu senyawa steroid yang terkandung di dalam alga merah. Berdasarkan ayat-ayat Al-qur'an, Allah SWT sering kali menyeru manusia untuk memperhatikan dan merenungkan ciptaan-ciptaan-Nya yang amat menakjubkan. Agar senantiasa manusia selalu berfikir dan menjadi hamba Allah yang tunduk dan patuh dihadapan Allah SWT. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Qs. Ali Imran ayat 190-191 yaitu :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ  
يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا  
خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya :

“*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi*” (Qs. Ali ‘Imran: 190-191).

Manurut tafsir Ibnu Kasir lafadz *إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ* menjelaskan tentang kekuasaan dan kebesaran Allah SWT yang menciptakan alam beserta isinya seperti hewan dan tumbuhan. Tidak ada segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah menjadi sesuatu yang sia-sia, melainkan Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Sedangkan lafadz *لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ* “terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal” ini menjelaskan tentang akal manusia yaitu akal-akal yang sempurna lagi memiliki kecerdasan, karena dengan akal manusia dapat mengetahui segala sesuatu secara langsung dan jelas untuk merenungi tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Ad-Dymasyqy, 2000). Ayat tersebut seperti yang dilansir oleh Lajnah (2015) menyebutkan bahwa manusia sejak dulu sudah tergugah nalurinya untuk tahu lebih banyak keadaan alam semesta dan segala isinya, termasuk Bumi. Berkembangnya dunia sains dan teknologi dewasa ini, para peneliti sedikit demi sedikit telah membuka rahasia alam semesta.

Salah satu ciptaan atau karunia Allah SWT kepada umat manusia yang ada di muka bumi adalah aneka ragam tumbuhan dengan segala macam manfaatnya. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam Qs. Asy-Syu'araa ayat 7:

﴿أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ﴾

Artinya :

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Qs. . Asy-Syu'araa:7)

Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat bagi makhluk hidup. Berdasarkan tafsir Al-Mishbah lafadz **زَوْجٍ** menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan bumi yang didalamnya banyak terdapat tumbuhan yang baik, yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit (Shihab, 2002). Salah satu tumbuhan yang telah Allah SWT ciptakan ialah Alga merah *E. cottonii*. Alga merah *E. cottonii* dapat dijadikan bahan makanan dan obat-obatan karena mengandung senyawa aktif seperti steroid. Steroid merupakan senyawa golongan triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren dengan gugus metil pada C10, C13 dan C17. Steroid memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai senyawa penghambat tumbuhnya sel kanker (Kazlowska, dkk., 2013), antioksidan (Swantara dan Parwata, 2011), toksisitas (Afif, dkk., 2015) dan sebagainya.

Alga merah *E. cottonii* merupakan bagian dari jenis rumput laut yang memiliki beraneka ragam kandungan senyawa metabolit sekunder. Apabila

senyawa metabolit sekunder tersebut di analisis lebih lanjut maka senyawa tersebut pasti memiliki kadar dan ukuran. Sebagaimana dengan Firman Allah SWT dalam surat Al-Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya :

“*Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (Al-Qamar: 49)

Menurut tafsir Ibnu Kasir lafadz بِقَدَرٍ ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menentukan atau memberi ukuran/kadar masing-masing makhluk-Nya dan memberi petunjuk kepada makhluk-Nya. Menurut tafsir Jalalain juga menjelaskan ayat tersebut dimana Allah SWT menciptakan segala sesuatu menurut ukuran. Semua makhluk telah ditetapkan kadarnya dalam segala hal (Ad-Dymasyqy, 2000). Berdasarkan hasil penelitian, senyawa steroid yang diperoleh tersebut memiliki beraneka ragam jenis yang dapat dilihat dari gugus fungsi dan strukturnya serta kelimpahannya dalam Alga merah *E. cottonii* diantaranya yaitu steroid jenis kampesterol,  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol dan desmosterol, berdasarkan hal tersebut senyawa steroid yang didapatkan paling banyak dalam alga merah *E. cottoni* adalah steroid jenis fukosterol. Sesuai dengan ayat tersebut maka gugus fungsi, struktur dan NL atau sensitivitas senyawa steroid dalam sampel dapat dikategorikan sebagai ukuran serta berbeda metode juga akan mempengaruhi kadar/ukuran yang dihasilkan. Ayat tersebut juga mendasari para peneliti dalam melakukan penelitian, dimana menentukan ukuran merupakan hal

yang sangat penting karena segala sesuatu yang diteliti akan lebih efisien dalam pemanfaatannya.

Al-Qur'an dalam ayat-ayatnya pada hakikatnya telah memberikan banyak petunjuk kepada manusia salah satunya dalam hal menguak rahasia alam lewat penelitian-penelitian para ilmuwan. Penelitian yang telah dilakukan sampai saat ini merupakan salah satu bentuk dari penafsiran terhadap ayat-ayat Al-Qur'an secara praktis untuk membantu umat manusia dalam mengembangkan teknologi demi kelangsungan hidup di masa depan.



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

1. Eluen terbaik hasil pemisahan senyawa steroid dari fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak metanol alga merah *E. cottonii* menggunakan KLT adalah eluen *n*-heksana : etil asetat (17:3). Hasil pemisahan steroid pada KLTP menunjukkan 5 noda yang diduga senyawa steroid. Isolat steroid diuji pola pemisahan dengan KLT dua dimensi dan menunjukkan adanya noda tunggal berwarna biru yang diduga terkandung senyawa tunggal pada isolat 2.
2. Hasil analisis senyawa steroid dari alga merah *E. cottonii* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan LC-MS/MS, menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 203 dan 284 nm dengan dugaan senyawa steroid  $\beta$ -sitosterol. Isolat diuji dengan LC-MS/MS memunculkan beberapa *m/z* diantaranya yaitu 397, 395, 369, 383, dan 367 *m/z* yang menunjukkan adanya senyawa steroid jenis  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, kampesterol dan desmosterol. Berdasarkan hasil UV-Vis dan LC-MS/MS menunjukkan adanya kesamaan hasil dugaan steroid yang terkandung dalam alga merah *E. cottonii*.

#### 5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan menganalisis isolat menggunakan teknik lain dari LC-MS/MS untuk mengetahui kadar steroid pada alga merah *E. cottonii* secara menyeluruh.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aal, E.I., Haroon, A.M., Mofeed, J. 2015. Sucecessive Solvent Extraction and GC-MS Analysis for the Evaluation of the Phytochemical Conctituents of the Filamenteous Green Alga *Spirogya Longata*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 4(1): 233-246.
- Abu Bakar, Nurul'ain., Tengku Azmi Tengku Ibrahim., Noraijratul Asikin Mohamad Shalan., Suhaila Mohamed. 2016. Change in Rats Breast Tumor Ultrasonic and Immune and Messenger RNA Response Caused by Dietary Seaweed (*Kappaphycus alvarezzii*) Extract. *Journl of Microscopy and Ultrastructure*, JMAU, 5(113): 1-12.
- Ad-Dymasyqy, Al-Imam. A. F. I. I. K. 2000. *Tafsir Ibnu Kasir Juz 4 Ali Imran 92- An-Nisa 23*. Bandung: Penerbit Sinar Baru Agensindo.
- Afif, Sholeh., Fasya, A.G., Ningsih, R. 2015. Extraction Toxicity Assay and Identification of Active Compounds of Red Algae (*Eucheuma cottonii*) from Sumenep Madura. *ALCHEMY*, 4( 2): 101-106.
- Afriyanti, L. 2013. *Ekstraksi Pelarut Distribusi Asam Etanoat Diantara Dietil Eter dan Air*. Malang : Universitas Negeri Malang.
- Andriani, Z., Fasya, A.G., Hanapi, A. 2015. Antibacterial Activity of the Red Algae (*Eucheuma cottonii*) Extract from Tanjung Coast, Sumenep Madura. *ALCHEMY*, 4(2): 93-100.
- Anggadiredja, J. T., Zاتمika A., Purwoto H, Dan Istini, S. 2010. *Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- AOAC. 1984. *Official Methods Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemist*, Inc. Washington Dc.
- Aprelia, F., dan Suyatno. 2013. Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Paku *Christella arida* dan Uji Pendahuluan Sebagai Antikanker. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(3): 93-99.
- Arsianti, A., Fatmawati, F., Wibisono, L.K., Kusmardi., Aizah, N.N., Putrianingsih, R., Murniasih, T., Rasyid, A., Pangestuti, R. 2016. Phytochemical Composition and Anticancer Activity of Seaweeds Ulva Lactuca and *Eucheuma cottonii* Agains Breast MCF-7 and Colon HCT-116 Cells. *Asian Journal of Pharmateutical and Clinical Research*, 9(6): 115-119.
- Aslan, L. M. 1998. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta : Kanisius.

- Atmadja, W. S, Kadi, A., Sulistijo dan Rachmaniar. 1996. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Atmadja, W. S, Kadi, A., Sulistijo dan Rachmaniar. 2007. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Badrus, A. 2017. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Perairan Wongsorejo-Banyuwangi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS. *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus Elastica Noies ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi Diterbitkan*. Surakarta: Fakultas Farmasi UMM Surakarta.
- Bawa. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.) *Jurnal Kimia*, 3(2): 117-124.
- Bouzidi, Naima., Yannick Viano., Annick Ortalo-Magne, Halima, Seridi., Zahia Allice., Yasmina, Daghbouche., Gerald, Culioli., Mohammed El Hattab. 2014. Sterol From the Brown Alga *Cystosseria foeniculacea*: Degradation of Fucosterol into Saringosterol epimers. *Arabian Journal of Chemistry*. 50(1): 20-25.
- Cahyono, B., Muhammad D.K.H dan Leenawaty L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) Terhadap Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*, 13(3): 165-171.
- Chitra, R dan Chandra, S. 2014. Phytochemical Variation and Genetic Diversity of *G. Corticata* and *K. alvarezii* From Different Environment. *International Journal of Research in BioScience*, 3(2): 1-5.
- Dali, S., H. Natsir., H. Usman., dan A. Ahmad. 2011. Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein Alga Merah *Gelidium amansii* Dari Perairan Cikoang Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15(1): 203-204.
- Day, R.A. A.L. Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta : Erlangga.
- Diaz, B C, A. Segura Carretero, A. Fernandez-Gutierrez, A. Belmonte Vega, A. Garrido Frenich, J.L. Martinez Vidal, J. Duran Martos. 2007. Separation and Determination of Sterol in Olive Oil by HPLC-MS. *Food Chemistry*. 2(1): 593-598.

- Djagal, W. M., Medho, M. S., Haryadi. 2010. Pengaruh Umur Panen Rumput Laut *Eucheuma cottonii* terhadap Sifat Fisik, Kimia, dan Fungsional Karagenan. *Jurnal Agritech*, 30(4): 212-217.
- Doty, M.S. 1985. *Eucheuma alvarezii* sp. nov. (Gigartinales, Rhodophyta) From Malaysia. In: *Taxonomy of Economic Seaweeds with Reference to some Pacific and Caribbean species*. (Abbott, I.A. & Norris, J.N. Eds). La Jolla: California Sea Grant College Program [Report T-CSGCP-011].
- Faqih, A. K dan Tim Ulama. 2005. *Tafsir Nurul Quran: Sebuah Tafsir Sederhana Menuju Cahaya Al-Quran*. Jakarta: Al-Huda
- Ghasemi, Samaneh Fard., Rosalina Tan Roslan Tan., Ajwad Awad Mohammad., Goh Yong Meng., Sharifah Kharidah Syed Muhammad., Karim Alwan Al-Jashamy., and Suhaila Mohamed. 2011. Wound Healing Properties of *Eucheuma cottonii* Extracts in Sprague-Dawley Rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 52(7): 6374-6380.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri. Jilid 1*. Terjemahan Ketaren S. Jakarta: UNJ.
- Handayani D., N. Sayuti dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Anti bakteri Epidioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosianigrans*, Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia :Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan K. Padmawinata& I. Sudiro. Bandung: ITB.
- Hefni, Effendy. 2010. *Menguak Potensi Kimia Bahan Alam dari Laut* Dosen Departemen Manajemen Sumber daya Perairan, FPIK-IPB Pubdate: 18/10/10.
- Hendayana. 2004. *Kimia Analisis Instrumen*. Semarang: IKIP.
- Heryudi, J. J. S., Kepel, B. J., Siagian, K. V. 2015. Uji Minimum Inhibitor Concentration (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, 3(2): 374-379.
- Horan, M., Montolalu, R. I., Suwetja, I. K. 2013. Karakteristik Fisika Kimia Karagenan Rumput Laut Jenis *Kappaphycus alvarezii* pada Umur Panen yang Berbeda di Perairan Desa Tihengo Kabupaten Gorontalo Utara. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(1): 7-12.

- Hukmah, S. 2007. Aktiitas Antioksidan Katekin dari Teh Hijau (*Camelia sintesis O.K. var. Assamica (mast)*) Hasil Ekstraksi dengan Variasi Pelarut dan Suhu. *Skripsi*. Malang: UIN Malang.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Setiasih, N. L. E. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1): 71-79.
- Indrayani, L., Soetjipto, H dan Sihasale, L. 2006. Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L Vahl*) Terhadap Larva Udang *Artemiasalina Leach* Berk Penel Hayati, 12(1): 57-61.
- Kazlowska, K., Lin, H. T. V., Chang, S. H., Tsai, G. J. 2013. In Vitro an In Vivo Anticancer Effects of Sterol Fraction from Red Algae *Porphyra dentata*. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(1): 1-10.
- Khalaf, I., Corciovia, A., Vlase, L., Ivanescu, B., Lazar, D. 2011. LC/MS Analysis of Sterolic Compound from *Glycyrrhiza Glabra*. *Journal STUDIA UBB CHEMIA*, 3(1): 97-102.
- Khamidinal. 2009. *Teknik Laboratorium Kimia*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Khoiriyah, M., Fasya, A.G., Nashichuddin, A., Rachmawati, A. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Rumpun Laut Jenis *Eucheuma spinosum* Perairan Madura Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lathality Test*). *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.
- Kordi, K. M. G. 2010. *Kiat Sukses Budidaya Rumpun Laut di Laut dan di Tambak*. Yogyakarta: ANDI.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008 *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: UNAIR Press.
- Lailah, N. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*. *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Quran. 2015. *Jasad Renik dalam Perspektif AL-Qur'an dan Sains*. Jakarta: LIPI.

- Laksmiani, N. P. L., Suchiptha, K. R., Widjaja, I N., Ramona, Yan. 2016. Uji Kompatibilitas Karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dengan Agar Komersial sebagai Pemasat (Solidfier) Media Penumbuh Mikroba. *Jurnal Farmasi Udayana*, 5(1): 40-45.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoid dan Steroid*. Sumatera Utara :Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa Pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Jakarta: FMIPA Farmasi UI.
- Lopez, Graciliana., Sousa, Carla., Bernardo, Joao., Andrade, P.B., Valentao, P. 2011. Sterol Profiles in 18 Macroalgae of the Portugese Coast. *Journal Phycol*, 5(47): 1210-1218.
- Looi, C. Y. Moharram, B., Paydar, M., Wong, Y. L., Leong, K.H., Mohamad, K., Arya, K., Wong, W. F., Mustafa, M. R. 2013. Induction of Apoptosis in Melanoma A375 Cells by a Chloroform Fraction of *Centratherum anthelminticum* (L.) Seeds Involves NF-kappa B, p53 and Bcl-2-controlled Mitochondrial Signaling Pathways. *Journal BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(166): 1-14.
- Lutfiyah, E. N. 2017. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Perairan Wongsorejo-Banyuwangi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS. *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Machado, S., Hernandez, Lopez., Losada, Paseiro dan Cervantez, Lopez. 2004. An HPLC Method for the Quantification of Sterol in Edible Seaweeds. *Biomedical Chromatography*. Universidad de Santiago de Compostela. 18(1): 183-190.
- Mardiyah, U. A. Ghanaim, F. Begum F dan Suci, A. 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *ALCHEMY*, 3(1): 39 – 46.
- Mardiyah, U., Fasya, A.G., Fauziyah, B., Amalia, S. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antibakteri Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dari pesisir Laut Banyuwangi. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- M. Jalaluddin Al-Fandy. 1995. *Al-Quran tentang Alam Semesta*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Mo, Shunyan., Dong, Linlin dan Hurst, W Jeffrey. 2013. Quantitative Analysis of Phytosterol in Edible Oils Using APCI Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry. *Journal Lipids*, 48(1): 949-956.
- Muhimmah, AA. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan n-heksana Rumpun Laut Merah (*Eucheumacottoni*) Pesisir pantai Lobuk Madura Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta : PT BumiAksara.
- Ningsih, E.M.A., Fasya, A. G., Adi, T. K., Hanapi, A. 2015. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid pada Fraksi N-heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nursid, M., Wikanta, T., Susilowati, R. 2013. Aktivitas Antioksidan, Sitotokisitas dan Kandungan Fukosantin Ekstrak Rumpun Laut Coklat dari Pantai Binuangeun, Banten. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 8(1): 73-84.
- Nihlati, I., Abdul, R., Triana, H. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata (roxb)* dengan Metode Penangkap DPPH (*1,1-difenil-2-pikrihidrazil*). *Skripsi* diterbitkan. Yogyakarta: universitas Gajah Mada.
- Oliveira, N.M., Meira, C.I.C., Aguiar, R.M., De Oliveira, D.M., Moura, C.W.N, Filho, S.A.V. 2015. Biological Activities of Extracts from *Padina biorgesenni* and *Sargassum stenophyllum*, Seaweeds Naturally Found In Baia De Todos Os Santos, Brazil. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(1): 349-353.
- Pereira, C. M. P., Nunes, C. F. P., Villeila, L. Z., Streit, N. M., Dias, D., Gomes, C. B., Colepicolo, P. 2016. Ekstraksi dan Identifikasi Sterol pada Makroalga Coklat dari Antartika dan Identifikasi dengan Kromatografi Cair yang digabungkan dengan Spektrometri Massa Tandem. *Journal Appl Phycol*, DOI 10.1007/s10811-016-0905-5.

- Poncomulyo, T., M. Hertidan K. Lusi. 2006. *Budi Daya dan Pengolahan Rumput Laut*. PT. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Primer, A. 2001. Agilent Technology the HP LC/MSD System has been Design and Manufactured under a quality system that has been registered to ISO 9001. *Hewleat Packard Published*.
- Ranganayaki, P., Susmitha, S., Vijayaraghavan, R. 2014. Study Metabolic Compound of *Kappaphycus alvarezzi* and its in vitro analysis of anti-inflammatory activity. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(10): 157-166.
- Ratnasari, I. 2017. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Perairan Wongsorejo-Banyuwangi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan LC-MS/MS. *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka pelajar.
- Rohman, A. dan Gandjar, I. G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Saifudin, A, Suparti, Fuad, AnangdanDa'I, M. 2006. *Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun Catharanthusroseus (L) G. Dan Berbunga Merah*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Saleh, C. 2011. Isolasi Senyawa Steroid Dari Kulit Batang Tumbuhan Maja (*Aegle marmelos (L) Correa*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*.
- Sastohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi, Edisi Ketiga*. Yogyakarta: Liberti.
- Setiyawan, M. I., Ningsih, R., Syarifah, U., Adi, T. K. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Euchema spinosum*) Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dan Identifikasi Menggunakan FT-IR. *Skripsi tidak diterbitkan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi., Mulyani, B., Rahmawati, C. P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr*) Varietas Petruk. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 9(7):31-36.

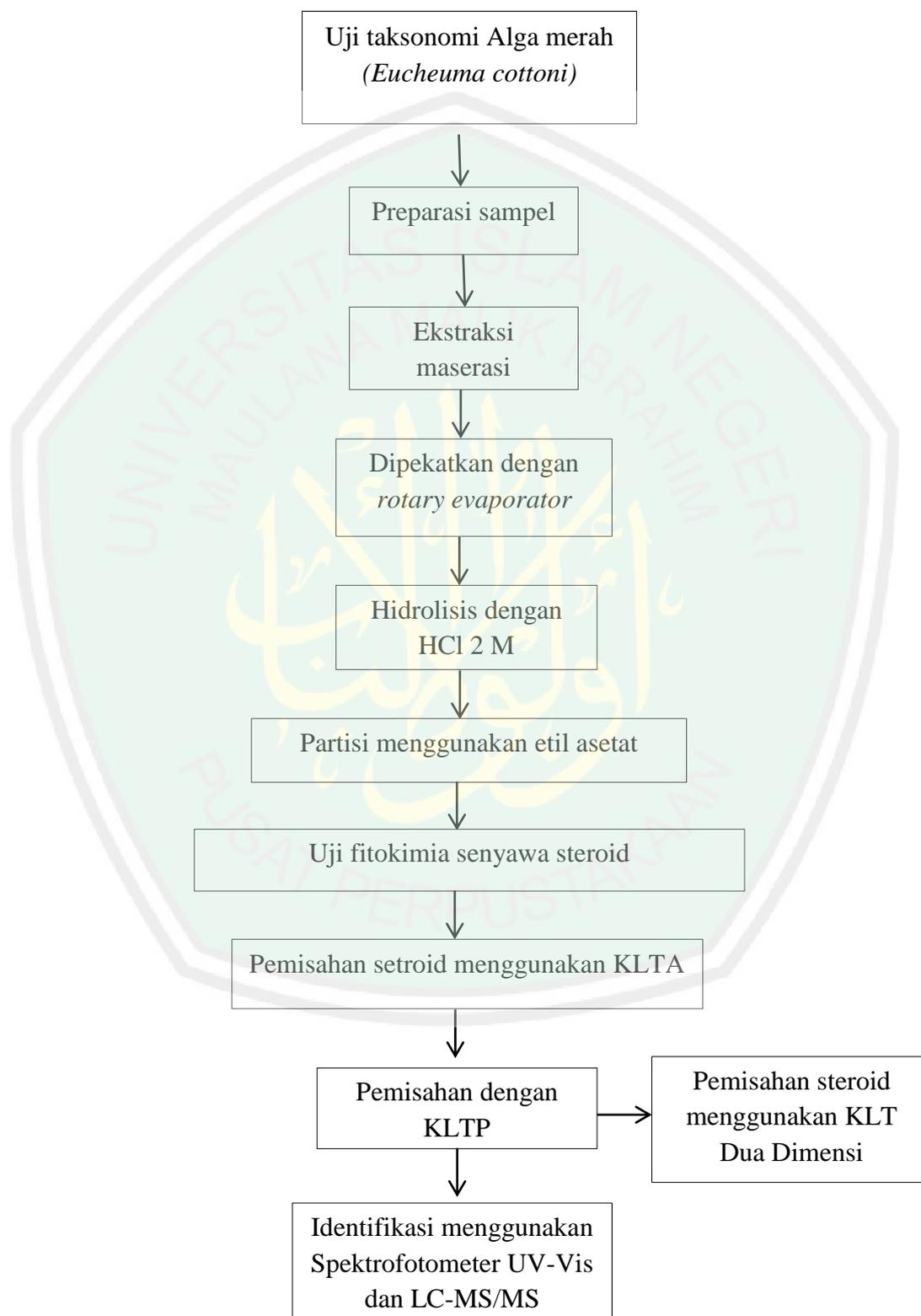
- Sharo, N.M., Ningsih, R., Nasichuddin, A., Hanapi, A. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Euclima cottonii*) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal ALCHEMY*, 2(3): 170-177.
- Sheu, J.H., Wang, G.H., Sung, P.J., and Duh, CY. 1999. New cytotoxic oxygenated fucosterols from the brown alga *Turbinaria conoides*. *J. National Product*, 62(2): 224–227.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al Mishbab Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* Vol. 7,8-10. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Shofiatun, N. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sinulingga, S. 2011. *Metode Penelitian*. Medan : USU Press.
- Siregar, A.W., Sabdoni, A., Pringgenis, D. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal Of Marine Research*, 1(2): 152-160.
- Susilawati, I, H., Limra,W. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Rimbang (*Solanum torvum*). Riau: Jurusan PMIPA FKIP Universitas Riau Pekanbaru.
- Sudarmadji. 1992. *Prosedur Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Penerbit Liberty.
- Susetyo, Ellyca. 2015. Isolasi Golongan Senyawa Triterpenoid Fraksi Etil (*Aucheuma Spinosum*) Hasil Ekstrak Metanol dan Identifikasi menggunakan FTIR. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Swantara, I.M.D., Parwata, I.M.O.A. 2011. *Kajian Senyawa Antioksidan Pada Rumput Laut Dari Pantai Sekitar Bali*. Bali: Universitas Udayana.
- Syanqithi. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan, Penerjemah Fathurazi*. Jakarta: Pustaka Azam.
- Tae-Hyung, K., Tae-Wan, K., Choong-Gon, K dan Nyun-Ho, P. 2013. Antioxidant Activity of Various Solvent Fractions from Edible Brown Alga, *Eisenia bicyclis* and Its Active Compound. *Journal of Food Science*, 78(5): 679-684.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: UGM Press.

- T.A.Woyengo,V.R.Ramprasath,andP.J.H.Jones. 2009. Anticancer Effects of Phytosterols. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(7): 813–820.
- Yoo, M.S., Shin, J.S., Choi, H.E., Cho, Y.W., Bang, M.H., Baek, N.I and Lee, K.T. 2012. Fucosterol isolated from *Undaria Pinnatifida* Inhibits Lipopolysaccharide induced Production of Nitric Oxide and Pro Inflammatory Cytokines via the Inactivation of Nuclear Factor- $\kappa$ B and p38 mitogen-activated Protein Kinase in RAW264.7 Macrophages. *Food Chemistry*, 135(3): 10-17.
- Yunus. 2009. Daya Hambat Ekstrak Metanol Rumpun Laut (*Eucaema spinosum*) Terhadap Bakteri *Aeromonashydrophilia*. *Jurnal Kelautan*, 2(2): 99-105.



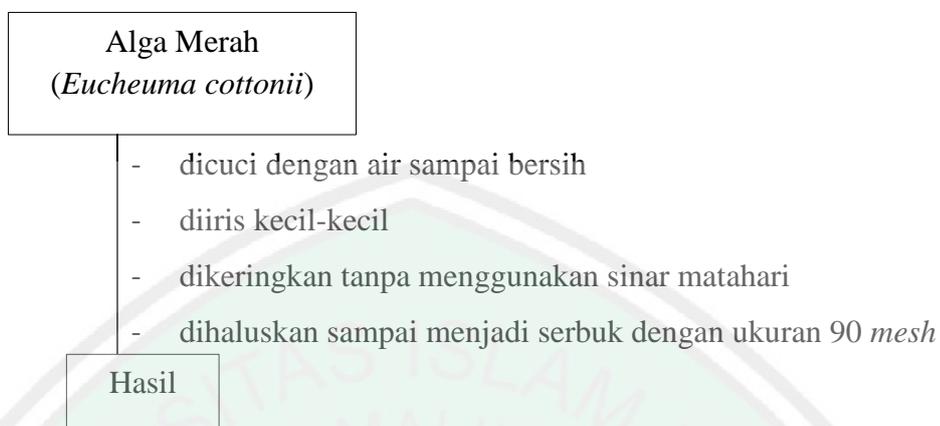
## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Rancangan Penelitian

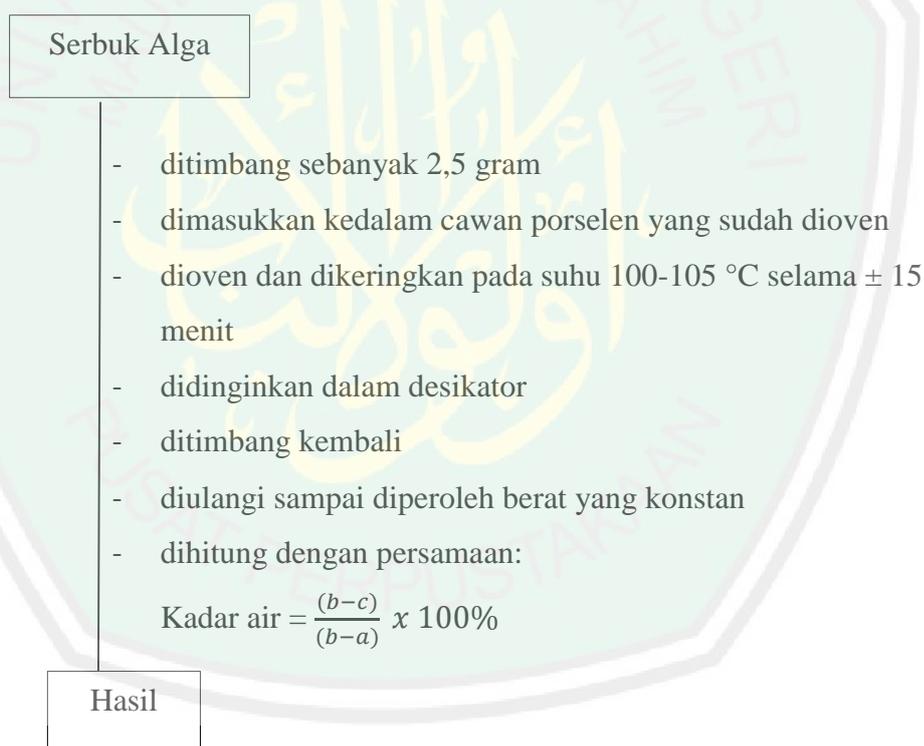


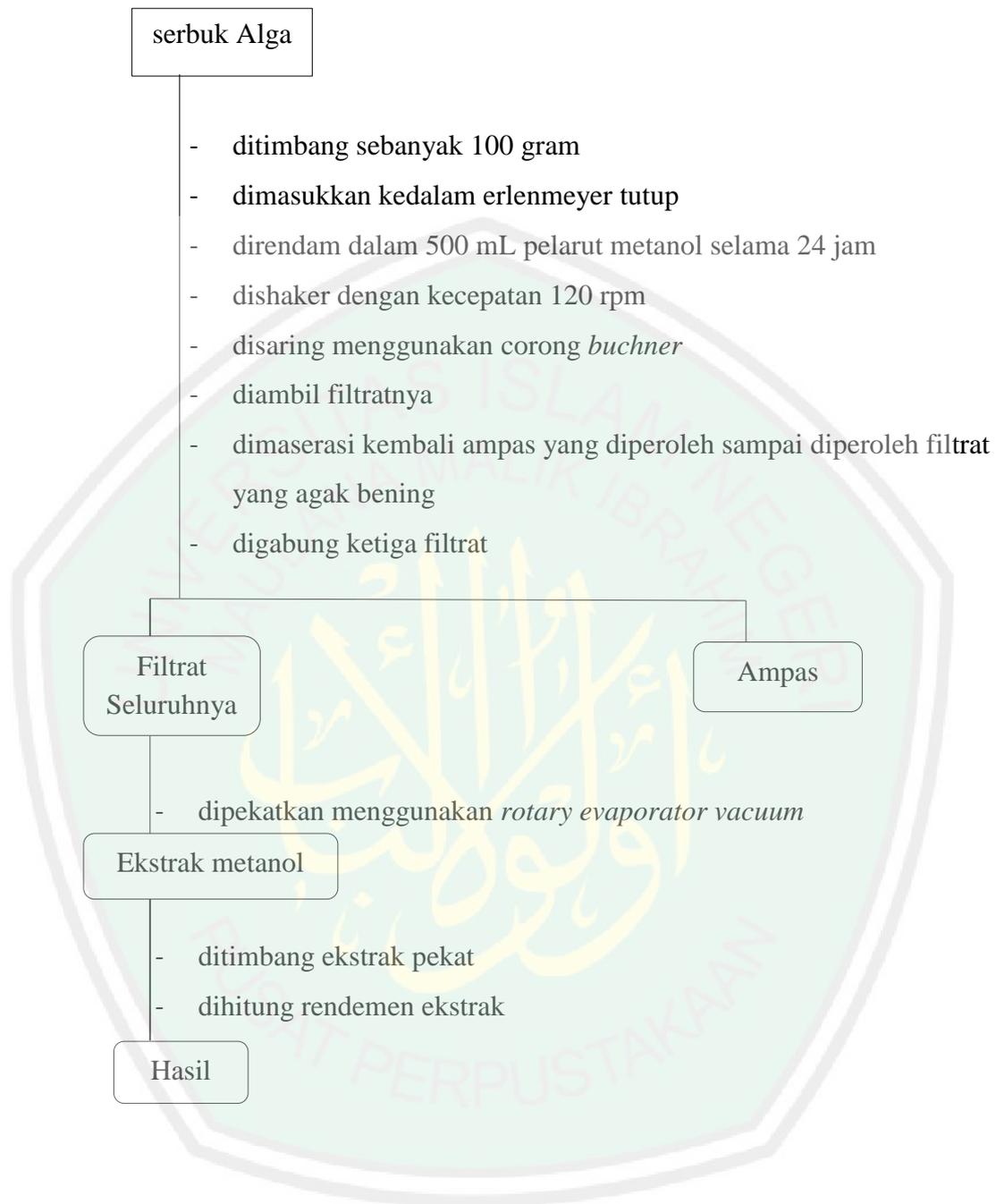
## Lampiran 2. Skema Kerja

### 1. Preparasi Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)



### 2. Penentuan Kadar Air



3. Ekstraksi Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

## 4. Hidrolisis dan ekstraksi cair-cair ekstrak pekat metanol



## 5. Uji Fitokimia Senyawa Steroid

Ekstrak etil  
asetat

- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform
- ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat
- ditambahkan 1-2 mL asam sulfat pekat pada dinding tabung
- diamati warna yang terbentuk

Hasil

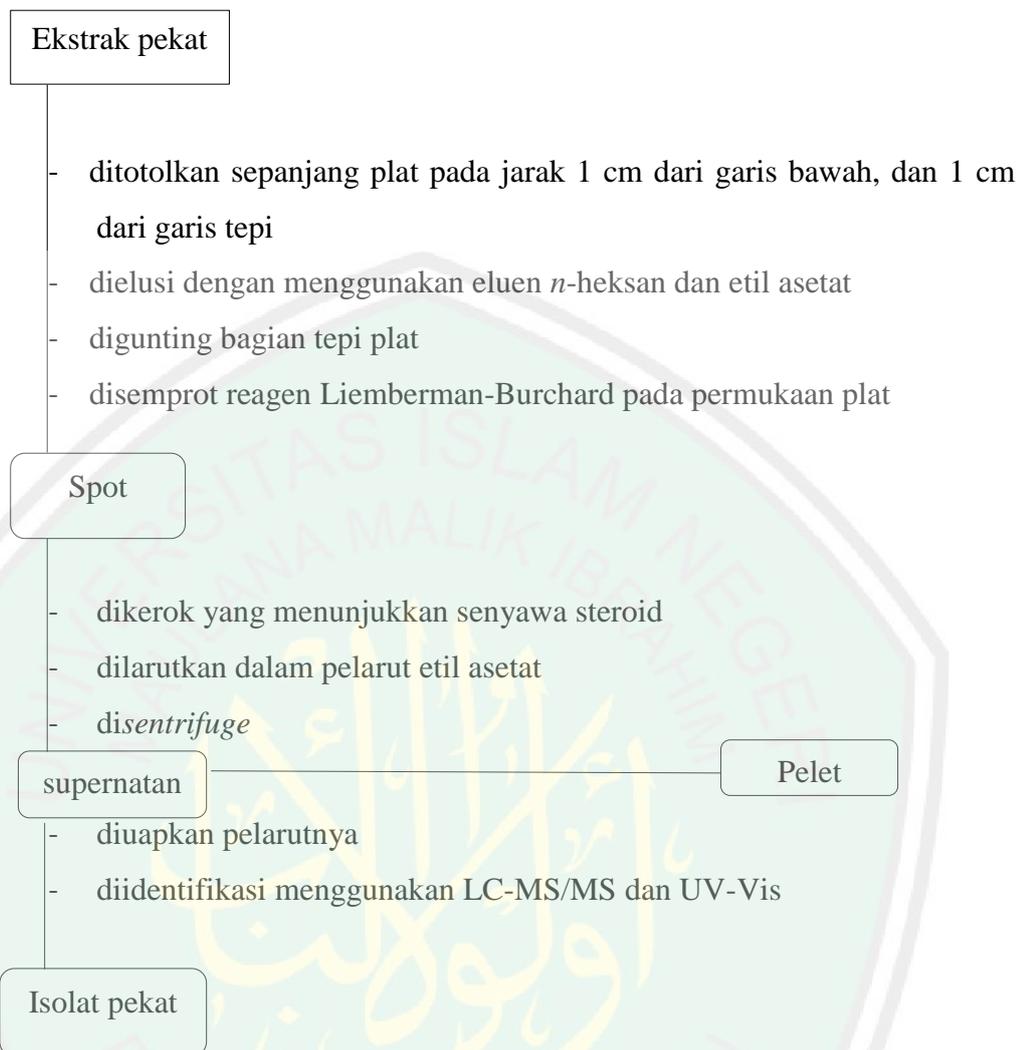
## 6. Pemisahan Senyawa Steroid dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Ekstrak  
sampel

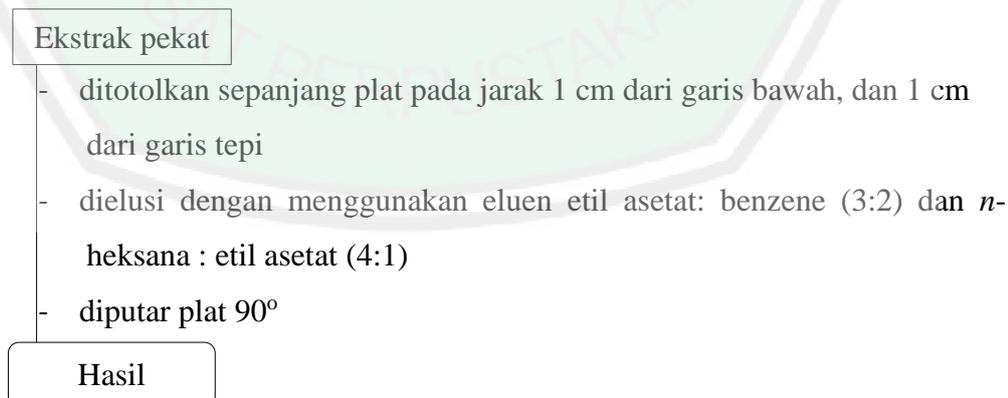
- diaktifkan plat KLTA di dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit
- dibuat garis batas atas dan bawah plat
- ditotolkan ekstrak pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat
- dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing eluen
- dihentikan elusi setelah fasa gerak mencapai garis batas atas (1 cm dari tepi atas plat)
- diperiksa noda dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm
- diamati masing-masing hasil nodanya

Hasil

## 7. Pemisahan senyawa steroid dengan KLT Preparatif



## 8. Pemisahan senyawa steroid dengan KLT 2 Dimensi



### Lampiran 3. Data Taksonomi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS MIPA  
JURUSAN BIOLOGI  
Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia, Telp-fax : +62-341-575841  
<http://biologi.ub.ac.id>

#### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0187/Takso.Identifikasi/03/2016

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Fitroh Annisaul Mubarakah (NIM 13630074)  
Khumairo Nur Fitri (NIM 13630077)  
Etika Nurul Luthfiah (NIM 13630025)  
Dwi Anik Rahmawati (NIM 13630049)  
Ariska Purwaning Tyas (NIM 13630046)  
Ira Ratnasari (NIM 13630024)  
Ahmad Baderos (NIM 13630021)  
Isma Mardaneni (NIM 13630039)  
Achmad Zaky Farid Rahmawan (NIM 13630018)

Instansi : Jurusan Kimia, Fakultas SAINTEK, UIN Maliki Malang

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Plant Resources of South East Asia. 15 Cryptogems: ALGAE Prosea Foundation Bogor (Von Raine, W.F.P & Trono G.C., 2002), halaman 150-153, diidentifikasi sebagai:

Familia : Solieraceae  
Genus : *Eucheuma*  
Species : *Eucheuma cottonii* (Weber van Bosse)  
Nama lokal : Alga Merah

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 4 Agustus 2016

Kepala Laboratorium

#### Lampiran 4. Perhitungan Uji Kadar Air Alga Merah *Eucheuma cottonii*

##### 4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah Kering

Tabel L4.1.1 Pengukuran berat cawan sampel konstan setelah dikeringkan

Ulangan	Berat cawan kosong		
	Cawan 1 (g)	Cawan 2 (g)	Cawan 3 (g)
Ulangan 1	53,9958	58,5793	19,1462
Ulangan 2	53,9960	58,5793	19,1459
Ulangan 3	53,9960	58,5793	19,1459

Tabel L4.1.2 Pengukuran berat cawan dan sampel alga merah kering sampai konstan

Ulangan	Berat cawan kosong + sampel serbuk alga merah		
	Cawan 1 (g)	Cawan 2 (g)	Cawan 3 (g)
Sebelum dioven	54,9959	59,5793	20,1460
Ulangan 1	54,9610	59,5458	20,1021
Ulangan 2	54,9517	59,5379	20,0852
Ulangan 3	54,9486	59,5355	20,0849
Ulangan 4	54,9486	59,5355	20,0849

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \text{a. Kadar air cawan 1} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{54,9959 - 54,9486}{54,9959 - 53,9960} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0473}{0,9999} \times 100 \% \\ &= 4,730 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. Kadar air cawan 2} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{59,5793 - 59,5355}{59,5793 - 58,5793} \times 100 \% \\ &= \frac{0,0438}{1} \times 100 \% \\ &= 4,38 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. Kadar air cawan 3} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{20,1460-20,0849}{20,1460-19,1459} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,0611}{1,0001} \times 100 \% \\
 &= 6,10 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{➤ Kadar air rata-rata} &= \left( \frac{4,730 + 4,38 + 6,01}{3} \right) \% \\
 &= \frac{15,21}{3} \% \\
 &= 5,07 \%
 \end{aligned}$$

#### 4.2 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah Basah

Tabel L4.2.1 Pengukuran berat cawan sampel konstan setelah dikeringkan

Ulangan	Berat cawan kosong		
	Cawan 1 (g)	Cawan 2 (g)	Cawan 3 (g)
Ulangan 1	53,9833	61,0447	54,6260
Ulangan 2	53,9834	61,0448	54,6261
Ulangan 3	53,9834	61,0448	54,6261

Tabel L4.2.2 Pengukuran berat cawan dan sampel alga merah basah sampai konstan

Ulangan	Berat cawan kosong + sampel serbuk alga merah		
	Cawan 1 (g)	Cawan 2 (g)	Cawan 3 (g)
Sebelum dioven	54,9843	62,0471	55,6233
Ulangan 1	54,5678	61,7763	55,2879
Ulangan 2	54,2765	61,4560	54,9241
Ulangan 3	54,0894	61,1560	54,7303
Ulangan 4	54,0894	61,1560	54,7303

$$\begin{aligned}
 \text{d. Kadar air cawan 1} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{54,9843-54,0894}{54,9843-53,9834} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,8949}{1,0009} \times 100 \%
 \end{aligned}$$

$$= 89,4 \%$$

**e. Kadar air cawan 2**

$$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

$$= \frac{62,0471-61,1560}{62,0471-61,0448} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,8911}{1,0023} \times 100 \%$$

$$= 88,9 \%$$

**f. Kadar air cawan 3**

$$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

$$= \frac{55,6233-54,7303}{55,6233-54,6261} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,8930}{0,9972} \times 100 \%$$

$$= 89,55 \%$$

➤ **Kadar air rata-rata**

$$= \left( \frac{89,4 + 88,9 + 89,55}{3} \right) \%$$

$$= \frac{267,8657}{3} \%$$

$$= 89,28 \%$$

## Lampiran 5. Perhitungan Hasil Randemen

### 5.1 Hasil Randemen Ekstrak Metanol Alga Merah *E. cottonii*

Berat sampel serbuk = 100 gram

Berat ekstrak pekat =  $\frac{\text{Berat ekstrak sampel}}{\text{Berat sampel serbuk}} \times 100\%$

$$= \frac{13,932}{100} \times 100\%$$

$$= 13,93 \%$$

### 5.2 Hasil Randemen Ekstrak Hasil Partisi dengan etil asetat Alga Merah *E. cottonii*

Berat sampel serbuk = 100 gram

Berat ekstrak kasar metanol = 15,587 gram

Berat ekstrak kasar yang dipartisi = 5 gram

Berat ekstrak kasar hasil partisi = 1,056 gram

Berat ekstrak pekat =  $\frac{\text{Berat ekstrak kasar hasil partisi}}{\text{Berat ekstrak kasar yang dipartisi}} \times 100\%$

$$= \frac{1,056}{5} \times 100\%$$

$$= 21,12 \%$$

## Lampiran 6. Pembuatan Larutan dan Reagen

### 1. Pembuatan Larutan HCl 2 M

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,267 \text{ g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37\%$$

$$\text{BM HCl} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\ &= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl} \times 10}{\text{BM HCl pekat}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{37\% \times 12,67 \text{ g/mL}}{36,5 \text{ g/mol}} \\ &= 12,84 \text{ N} \end{aligned}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,84 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 15,6 \text{ mL}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah diambil larutan HCl 37% sebanyak 15,6 mL. dimasukkan kedalam labu takar 100 mL yang telah terisi akuades 15 mL. kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

### 2. Pembuatan Larutan NaHCO<sub>3</sub> Jenuh

Kelarutan NaHCO<sub>3</sub> sebesar 9,99 gr dalam 100 mL aquades. Sehingga untuk membuat larutan NaHCO<sub>3</sub> jenuh digunakan NaHCO<sub>3</sub> dengan berat > 9,99 gr (sampai terdapat endapan padatan yang tidak larut). Lalu disaring larutan tersebut untuk memisahkan residu dan filtrat sehingga didapatkan larutan NaHCO<sub>3</sub> jenuh.

### 3. Pembuatan Reagen *Liemberman Burchad*

Reagen liberman burchard dibuat dengan cara dipipet sebanyak 5 mL asam asetat anhidrat dan 5 mL asam sulfat konsentrat, kemudian ditambahkan secara hati-hati melalui dindingnya ke dalam 50 mL etanol *p.a* dalam keadaan dingin (Wagner, 2001).



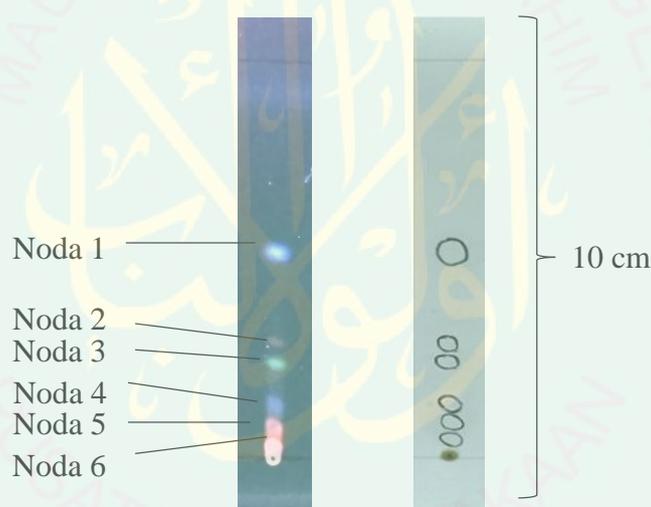
**Lampiran 7.** Hasil KLTA dan perhitungan  $R_f$ Contoh Perhitungan Nilai  $R_f$  Hasil KLTA

Nilai  $R_f$  fraksi etil asetat dapat dihitung menggunakan rumus dibawah ini :

$$R_f = \frac{\text{Jarak spot (cm)}}{\text{Jarak pelarut yang mengelusi (cm)}}$$

$$R_f \text{ fraksi etil asetat} = \frac{4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,5$$

Nilai  $R_f$  steroid fraksi dan isolat etil asetat untuk yang lain dapat dihitung dengan cara yang sama seperti perhitungan tersebut.

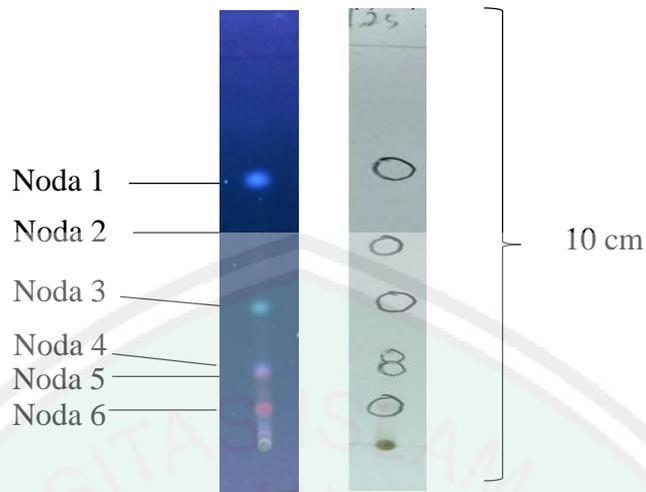
A. Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (18:2)

Gambar L7.1 Profil KLTA menggunakan eluen *n*-heksana: etil asetat (18:2)

Tabel L7.1 Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (18:2)

Noda	$R_f$
1	0,5
2	0,275
3	0,225
4	0,125
5	0,075
6	0,025

B. Hasil LTA *n*-heksana: etil asetat (17:3)

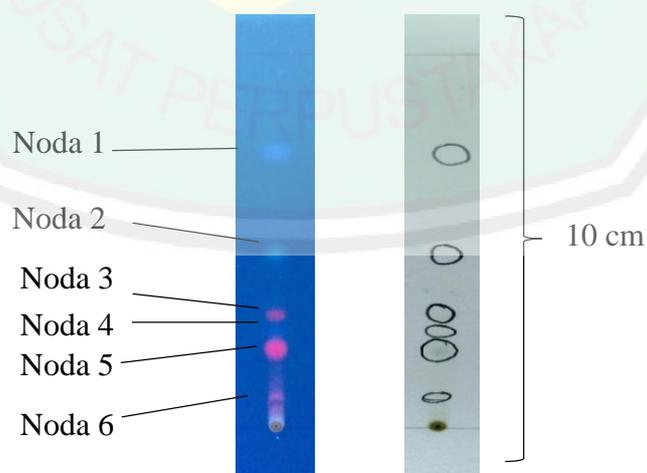


Gambar L7.2 Profil KLTA menggunakan eluen *n*-heksana: etil asetat (17:3)

Tabel L7.2 Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (17:3)

Noda	<i>R<sub>f</sub></i>
1	0,825
2	0,612
3	0,475
4	0,337
5	0,3
6	0,225

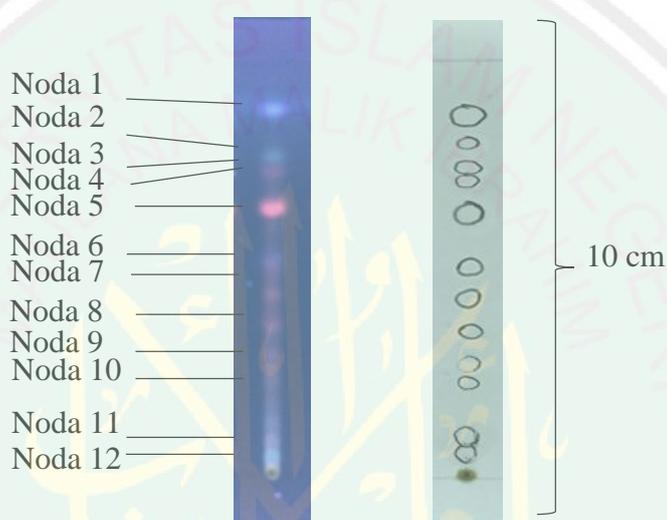
C. Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (16:4)



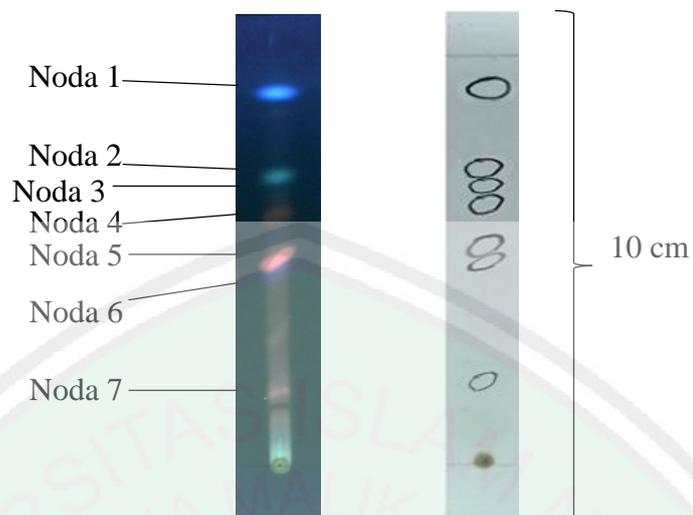
Gambar L7.3 Profil KLTA menggunakan eluen *n*-heksana: etil asetat (16:4)

Tabel L7.3 Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (16:4)

Noda	<i>R<sub>f</sub></i>
1	0,837
2	0,7
3	0,537
4	0,362
5	0,337
6	0,287

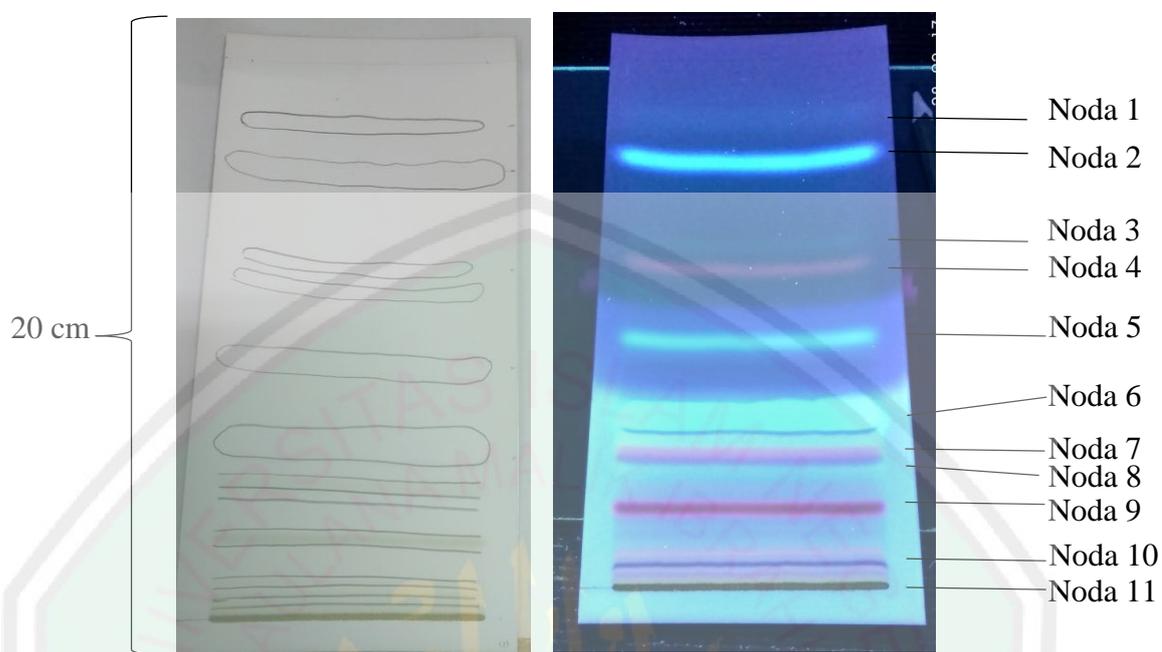
D. Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (15:5)Gambar L7.4 Profil KLTA menggunakan eluen *n*-heksana: etil asetat (15:5)Tabel L7.4 Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (15:5)

Noda	<i>R<sub>f</sub></i>
1	0,925
2	0,887
3	0,775
4	0,737
5	0,637
6	0,512
7	0,437
8	0,362
9	0,287
10	0,212
11	0,075
12	0,037

E. Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (14:6)Gambar L7.5 Profil KLTA menggunakan eluen *n*-heksana: etil asetat (14:6)Tabel L7.5 Hasil KLTA *n*-heksana: etil asetat (14:6)

Noda	<i>R<sub>f</sub></i>
1	0,937
2	0,734
3	0,696
4	0,637
5	0,512
6	0,475
7	0,287

**Lampiran 8.** Hasil KLTP dan perhitungan  $R_f$



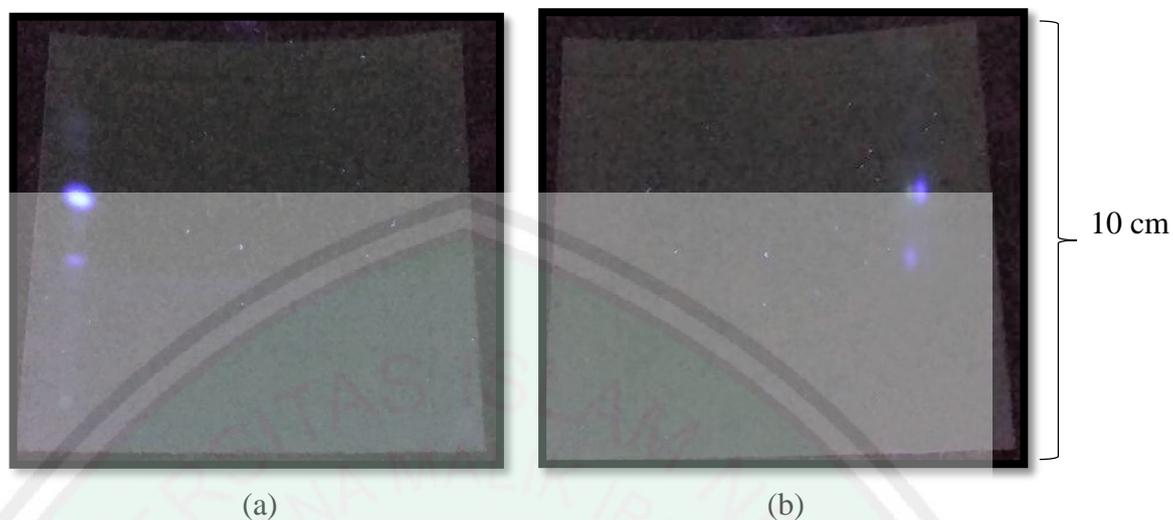
Gambar L8.1 Profil KLTP fraksi etil asetat dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (17:3)

Tabel L8.1 Hasil Perhitungan  $R_f$  fraksi etil asetat dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (17:3)

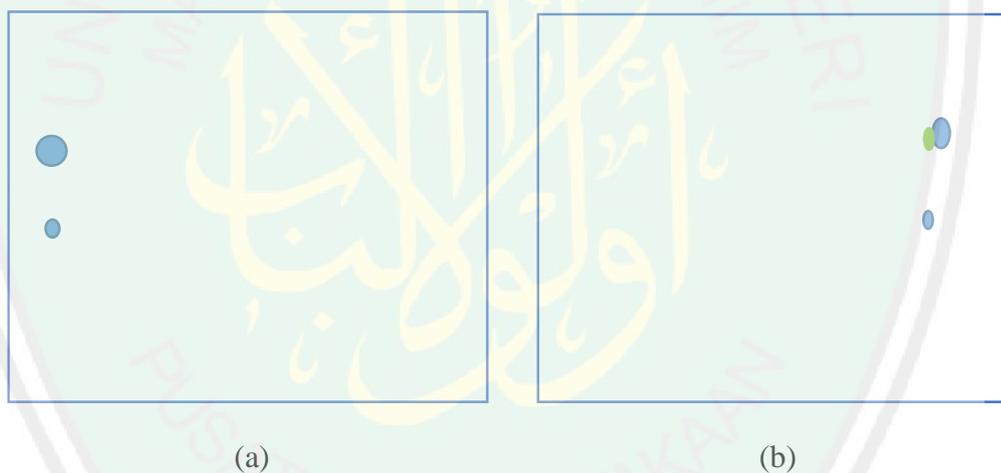
Noda	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
$R_f$	0,872	0,777	0,594	0,555	0,394	0,277	0,222	0,194	0,133	0,066	0,333

**Lampiran 9.** Hasil KLT Dua dimensi dan Perhitungan  $R_f$

**9.1 Isolat 1**



Gambar L9.1.1 Isolat 1 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

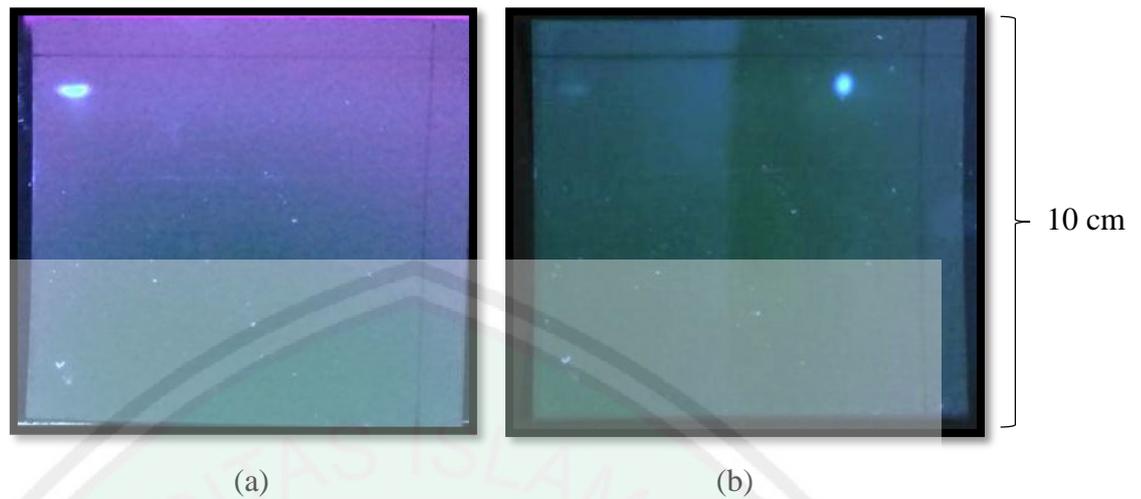


Gambar L9.1.2 Ilustrasi isolat 1 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

Tabel L9.1 Hasil KLT dua dimensi isolat 1

<b>Benzena:etil asetat (3:2)</b>		<b><i>n</i>-heksana:etil asetat (4:1)</b>	
<b>Noda</b>	<b><math>R_f</math></b>	<b>Noda</b>	<b><math>R_f</math></b>
1	0,65	1	0,637
		2	0,475
2	0,487	3	0,375

## 9.2 Isolat 2



Gambar L9.2.1 Isolat 2 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

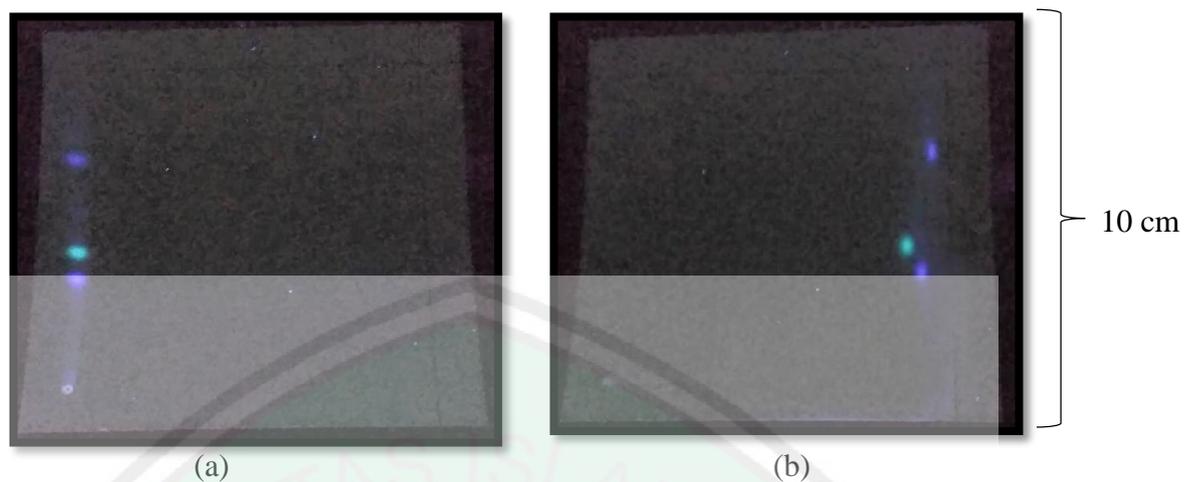


Gambar L9.2.2 Ilustrasi isolat 2 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

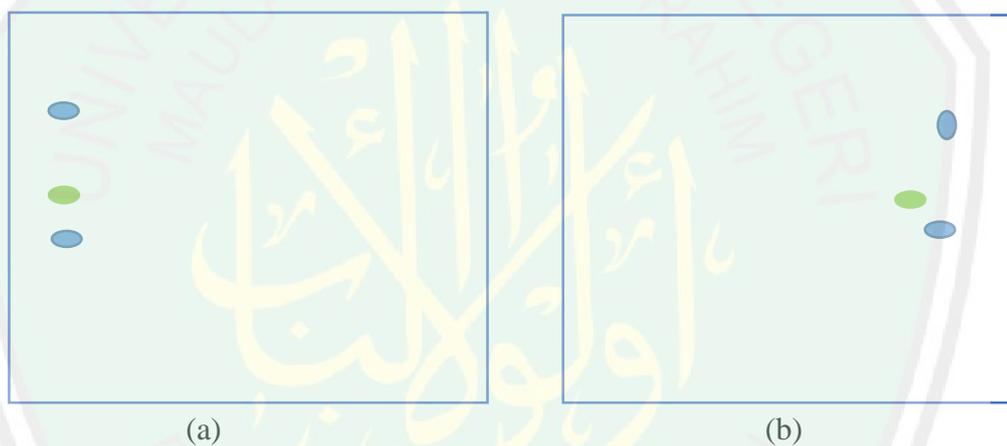
Tabel L9.2 Hasil KLT dua dimensi isolat 2

Benzena:etil asetat (3:2)		<i>n</i> -heksana:etil asetat (4:1)	
Noda	<i>R<sub>f</sub></i>	Noda	<i>R<sub>f</sub></i>
1	0,975	1	0,962

### 9.3 Isolat 3



Gambar L9.3.1 Isolat 3 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

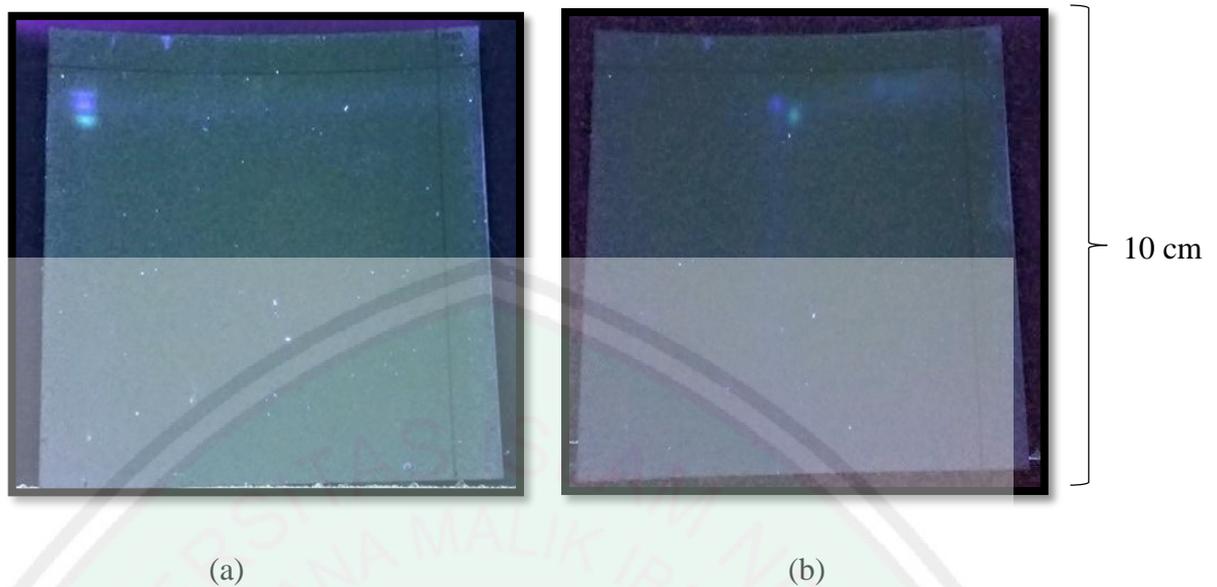


Gambar L9.3.2 Ilustrasi isolat 3 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

Tabel L9.3 Hasil KLT dua dimensi isolat 3

Benzena:etil asetat (3:2)		<i>n</i> -heksana:etil asetat (4:1)	
Noda	<i>R<sub>f</sub></i>	Noda	<i>R<sub>f</sub></i>
1	0,837	1	0,9
2	0,562	2	0,862
3	0,5	3	0,887

### 9.4 Isolat 4



Gambar L9.4.1 Isolat 4 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)



Gambar L9.4.2 Ilustrasi isolat 4 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

Tabel L9.4 Hasil KLT dua dimensi isolat 4

<b>Benzena:etil asetat (3:2)</b>		<b><i>n</i>-heksana:etil asetat (4:1)</b>	
<b>Noda</b>	<b><i>R<sub>f</sub></i></b>	<b>Noda</b>	<b><i>R<sub>f</sub></i></b>
1	0,975	1	0,862
2	0,962	2	0,65
3	0,95	3	0,612

## 9.5 Isolat 5



Gambar L9.5.1 Isolat 5 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

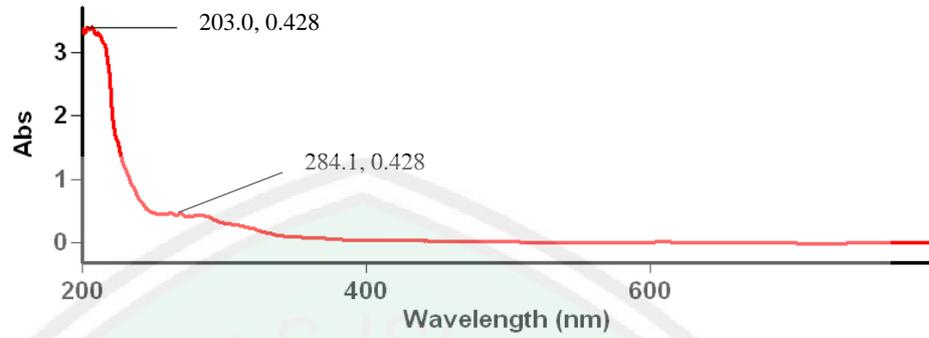


Gambar L9.5.2 Ilustrasi isolat 5 hasil KLTP (a) benzena:etil asetat (3:2) (b) *n*-heksana:etil asetat (4:1)

Tabel L9.5 Hasil KLT dua dimensi isolat 5

<b>Benzena:etil asetat (3:2)</b>		<b><i>n</i>-heksana:etil asetat (4:1)</b>	
<b>Noda</b>	<b><i>R<sub>f</sub></i></b>	<b>Noda</b>	<b><i>R<sub>f</sub></i></b>
1	0,987	1	0,625
		2	0,637

**Lampiran 10. Data UV-Vis Steroid Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)**



**Scan Analysis Report**

Report Time : Thu 20 Apr 02:29:14 PM 2017  
Method:  
Batch: D:\Isma Mardaneni\Lamdha Maks Steroid (20-04-2017).DSW  
Software version: 3.00(339)  
Operator: Rika

**Sample Name: Steroid**

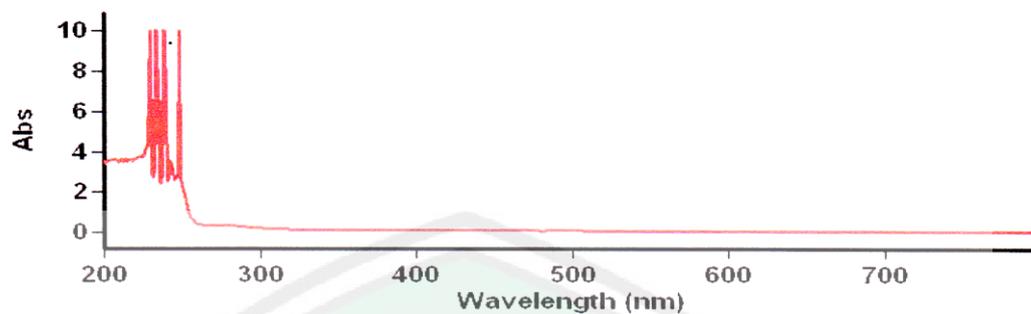
Collection Time 4/20/2017 2:29:48 PM

Peak Table  
Peak Style Peaks  
Peak Threshold 0.0100  
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
609.0	0.014
284.1	0.428
269.0	0.474
263.0	0.467
213.0	3.283
211.0	3.311
207.1	3.410
203.0	3.393

## 10.1 Data UV-Vis Steroid Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

### 10.1.1 Pelarut Etil Asetat



#### Scan Analysis Report

Report Time : Thu 08 Jun 01:55:42 PM 2017  
 Method:  
 Batch: D:\Ira Ratnasari\Lamdha Maks Etil Asetat (08-06-2017).DSW  
 Software version: 3.00(339)  
 Operator: Rika

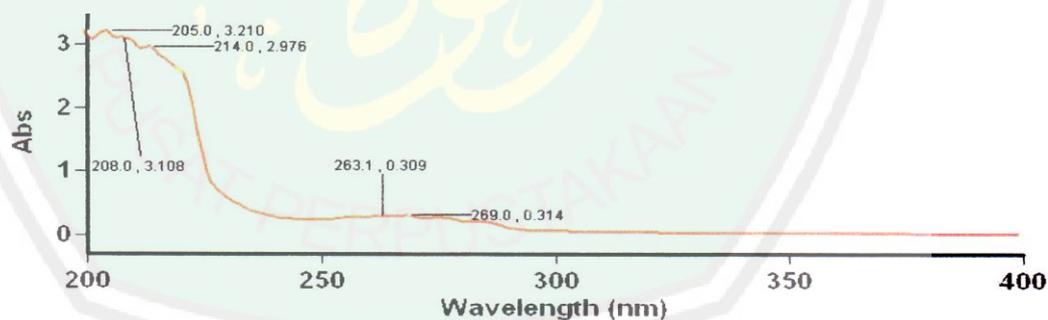
#### Sample Name: Etil Asetat

Collection Time 6/8/2017 1:55:49 PM

Peak Table  
 Peak Style Peaks  
 Peak Threshold 0.0100  
 Range 799.9nm to 200.0nm

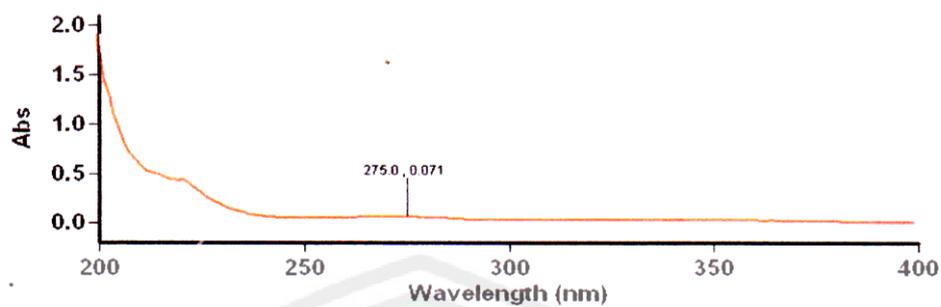
Wavelength (nm)	Abs
616.0	0.089
249.1	10.000
242.9	3.516
240.0	10.000
235.0	10.000
229.9	10.000
224.0	3.773
216.9	3.586
214.0	3.643
212.1	3.667
208.0	3.660
205.0	3.598

### 10.1.2 Pelarut Etanol



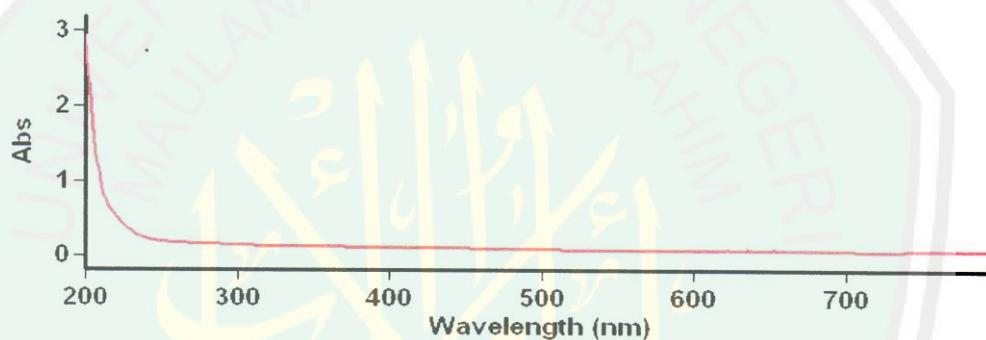
Wavelength (nm)	Abs
623.0	0.005
269.0	0.314
263.1	0.309
214.0	2.976
208.0	3.108
205.0	3.210

### 10.1.3 Pelarut *n*-heksana



Wavelength (nm)	Abs
635.0	0.001
275.0	0.071

### 10.1.4 Pelarut Metanol



#### Scan Analysis Report

Report Time : Thu 08 Jun 01:52:28 PM 2017  
 Method:  
 Batch: D:\Ira Ratnasari\Lamda Maks Metanol (08-06-2017).DSW  
 Software version: 3.00(339)  
 Operator: Rika

#### Sample Name: Metanol

Collection Time 6/8/2017 1:52:33 PM

Peak Table  
 Peak Style Peaks  
 Peak Threshold 0.0100  
 Range 799.9nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
653.1	0.094

**Lampiran 11. Dokumentasi Gambar**

11. 1 Uji Kadar Air



Gambar L11. 1 Uji kadar air

11.2 Proses Hidrolisis



(a)



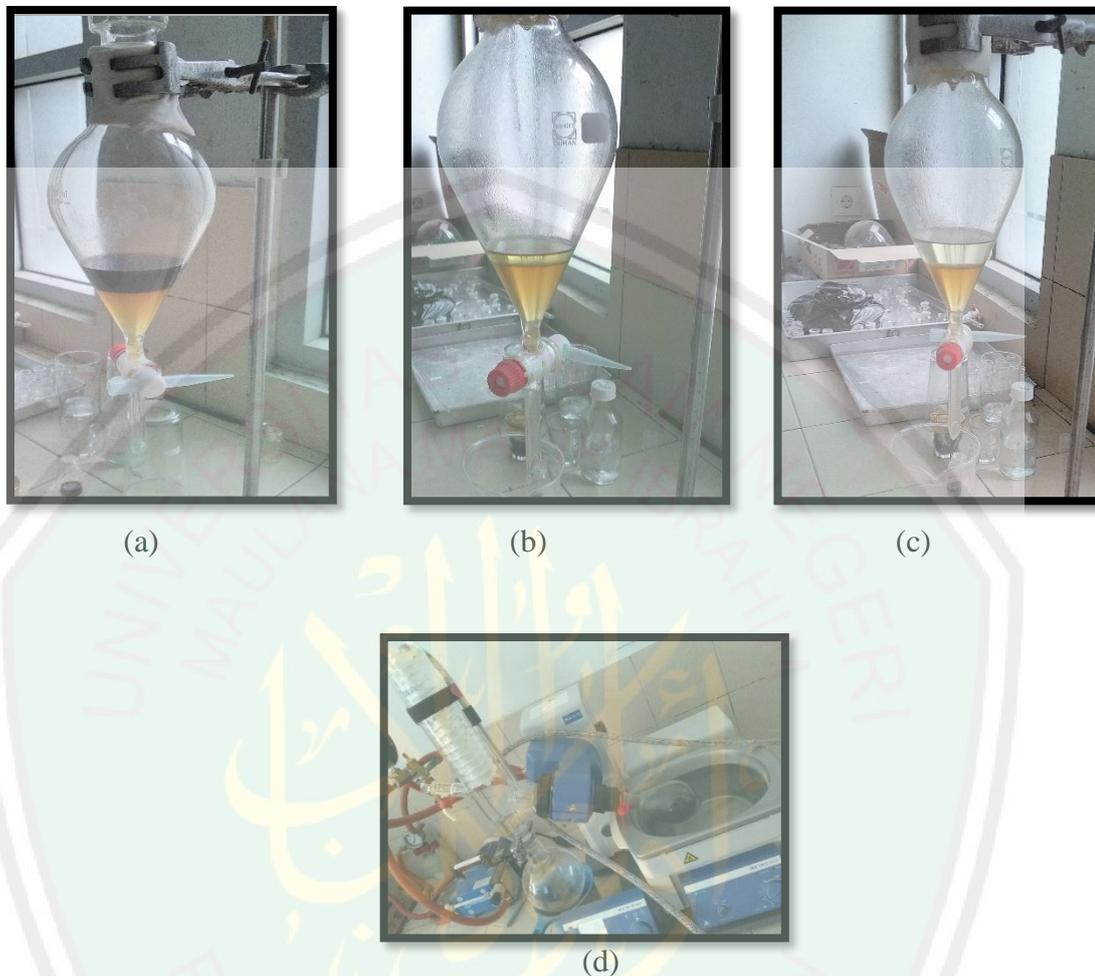
(b)



(c)

Gambar L11. 2 (a) sebelum 1 jam (b) setelah 1 jam dan penambahan natrium bikarbonat (c) pengecekan pH

### 11. 3 Proses Partisi dengan pelarut Etil Asetat

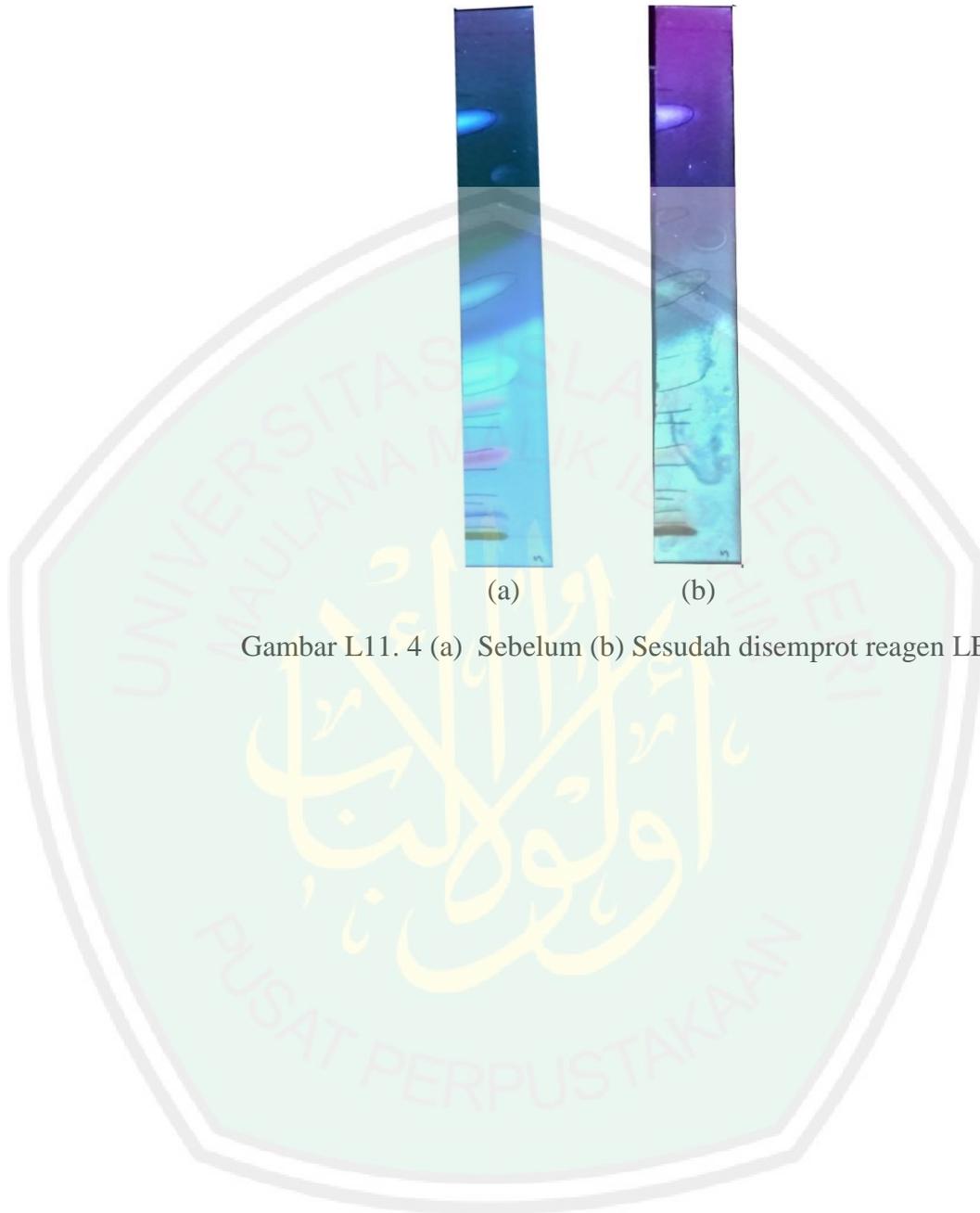


Gambar L11. 3 (a) Partisi ke-1 (b) Partisi ke-2 (c) Partisi ke-3 (d) Pemekatan Fase organik (Ekstrak Etil Asetat)

### 11. 4 Uji Fitokimia



Gambar L11. 4 (a) Sebelum (b) Sesudah ditambahkan reagen LB



Gambar L11. 4 (a) Sebelum (b) Sesudah disemprot reagen LB



KEMENTERIAN AGAMA RI  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN KIMIA

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933  
 www.uin-malang.ac.id Email: info uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama : ISMA. MARDANENI  
 NIM : 13630039  
 Judul Skripsi : PEMISAHAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA STEROID  
 ALGA MERAH (Eucheuma cottonii) FRAKSI ETIL ASETAT  
 PERAIRAN WONGSOREJO - BANYUWANGI DENGAN METODE  
 KLT DAN LC-MS  
 Pembimbing Utama : A. Ghanaim, Fasya, M. Si  
 Pembimbing Agama :  
 Konsultan : Suci Amalia, M. Sc

No.	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (Ditulis Tangan)	Penanda Tangan (Pembimbing)
1	7-09-16	penentuan judul umum		Ghuf
2	19-09-16	penentuan judul khusus		Ghuf
3	22-08-16	BAB I		Ghuf
4	25-08-16	BAB I		Ghuf
5	09-09-16	BAB II		Ghuf
6	19-09-16	BAB II		Ghuf
7	23-09-16	BAB III	ditambah LC-MS	Ghuf
8	16-10-16	BAB I, II, III		Ghuf
9	18-10-16	BAB I, II, III		Ghuf
10	07-11-16			Ghuf
11				Ghuf
12			proposal.ole	Ghuf
13	09-05-17	Bab 1.5		Ghuf
14				Ghuf
15				Ghuf
16				Ghuf

