

ISOLASI SENYAWA ALKALOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) SERTA ANALISA DENGAN SPEKTROFOTOMETER UV-Vis DAN FTIR

SKRIPSI

Oleh:
MUFADAL
NIM. 10630051

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
2015

ISOLASI SENYAWA ALKALOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) SERTA ANALISA DENGAN SPEKTROFOTOMETER UV-Vis DAN FTIR

SKRIPSI

**Oleh:
MUFADAL
NIM. 10630051**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 9 Januari 2015**

Pembimbing I

Pembimbing II

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

**Tri Kustono Adi, M.Sc
NIP. 19710311 200312 1 002**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**

**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

ISOLASI SENYAWA ALKALOID DARI ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) PERAIRAN SUMENEP MADURA MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN ANALISA DENGAN SPEKTROFOTOMETER UV-Vis DAN FTIR

SKRIPSI

Oleh:
MUFADAL
NIM. 10630051

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 5 Januari 2015

Penguji Utama : Rachmawati Ningsih, M.Si ()
NIP. 19630210 198912 1 002

Ketua Penguji : Diana Chandra Dewi, M.Si ()
NIP. 19630502 198703 1 005

Sekretaris Penguji : Suci Amalia, M.Sc ()
NIP. 19821104 200901 2 007

Anggota Penguji : Tri Kustono Adi, M.Sc ()
NIP. 19710311 200312 1 002

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil ‘alamin. Puji Syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Karya ini penulis persembahkan untuk:

Kedua orang tua penulis (Bapak Samak dan Ibu Saliyah) yang senantiasa memberikan do'anya dan berjuang lahir dan batin demi mengantarkan kesuksesan penulis.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Mufadal
NIM : 10630051
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Isolasi Senyawa Alkaloid dari Alga merah (*Eucheuma cottonii*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Serta Analisa dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

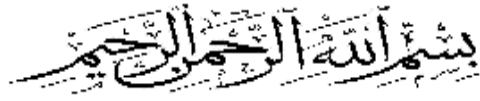
menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar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

Malang, 9 Januari 2015

Yang membuat pernyataan,

Mufadal
NIM. 10630051

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum wr.wb

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi Senyawa alkaloid dari Alga merah (*Eucheuma cottonii*) Perairan Sumenep Madura Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Serta Analisa dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR”** ini dengan baik, walaupun masih terdapat banyak kekurangan.

Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah mengantar kita dari zaman jahiliyah menuju zaman syar'iyah yakni agama Islam.

Penulisan skripsi ini tidak akan mendapatkan hasil yang maksimal tanpa adanya bimbingan, bantuan, dorongan serta do'a dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Suci Amalia, M.Sc dan A. Ghanaim Fasya, M.Si, selaku dosen pembimbing skripsi yang dengan sabar telah meluangkan waktunya untuk menerima konsultasi dan senantiasa memberikan bimbingan dan mengarahkan dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Tri Kustono Adi, M.Sc, selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan banyak arahan dan bimbingan hingga terselesaikannya skripsi ini.

6. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu yang telah diberikan dan bimbingannya.
7. Kedua orang tua penulis, Bapak Samak dan Ibu Saliyah yang tidak henti-hentinya memberikan dukungan baik moril dan materiil sehingga penulis terus semangat mengerjakan skripsi ini.
8. Teman-teman mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang angkatan 2010 yang telah memberikan motivasi, semangat dan pengalaman berharga saat menuntut ilmu bersama.
9. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang turut mendukung kelancaran penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, karena itu kritik dan saran yang membangun sangat dibutuhkan dan diharapkan oleh penulis sehingga dapat dijadikan sebagai bahan evaluasi skripsi ini. Penulis berharap dengan segala kerendahan hati semoga skripsi ini dapat diterima dan bermanfaat khususnya bagi penulis dan pembaca pada umumnya.

Wassalamu'alaikum wr.wb

Malang, Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga (Rumput Laut) Merah.....	8
2.2 Alga merah <i>Eucheuma cottonii</i>	10
2.3 Teknik Pemisahan Senyawa aktif Alga merah <i>Eucheuma cottonii</i>	12
2.3.1 Ekstraksi.....	12
2.3.2 Kromatografi Lapis Tipis	16
2.4 Kandungan Alkaloid Sebagai Senyawa Aktif Alga Merah <i>Eucheuma cottonii</i>	19
2.4.1 Alkaloid.....	19
2.4.2 Klasifikasi Alkaloid	21
2.5 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	22
2.6 Analisa Senyawa Alkaloid	25
2.6.1 Analisa Senyawa Alkaloid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	25
2.6.2 Analisa Senyawa Alkaloid Menggunakan Spektrofotometer FTIR....	26
BAB III METODOLOGI	
3.1 Pelaksanaan Penelitian	29
3.2 Alat dan Bahan	29
3.2.1 Alat Penelitian.....	29
3.2.2 Bahan Penelitian	29
3.3 Rancangan Penelitian	30
3.4 Tahapan Penelitian	30
3.5 Cara Kerja	31
3.5.1 Preparasi Sampel.....	31
3.5.2 Analisis Kadar Air.....	31
3.5.3 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Alga Merah <i>Eucheuma Cottonii</i>	32
3.5.4 Uji Fitokimia	33

3.5.5 Uji Toksisitas Alkaloid dengan Larva Udang <i>A. salina Leach</i>	33
3.5.5.1 Penetasan Larva Udang	33
3.5.5.2 Uji Toksisitas	33
3.5.6 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis	35
3.5.6.1 KLT Analitik	35
3.5.6.2 KLT Preparatif	36
3.5.7 Analisa Senyawa Alkaloid	37
3.5.7.1 Analisa dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	37
3.5.7.2 Analisa dengan Spektrofotometer FTIR	37
3.7 Analisis Data	37
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel.....	38
4.2 Analisis Kadar Air	39
4.3 Ekstraksi Maserasi <i>Eucheuma cottonii</i>	40
4.3.1 Ekstraksi Senyawa Alkaloid <i>E. cottonii</i>	42
4.4 Uji Fitokimia Ekstrak Alkaloid dengan Uji Reagen	44
4.5 Uji Toksisitas Ekstrak Alkaloid <i>E. cottonii</i> Menggunakan Larva Udang <i>A. salina Leach</i>	45
4.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis	48
4.6.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik.....	48
4.6.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	51
4.7 Analisa Senyawa Alkaloid dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR	52
4.7.1 Analisa Hasil Spot 3 dengan Rf 0,15	53
4.7.2 Analisa Hasil Spot 9 dengan Rf 0,78	54
4.8 Pemanfaatan Biota Laut dalam Perspektif Islam	56
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran.....	60
 DAFTAR PUSTAKA	 61
 LAMPIRAN	 67

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Unsur-unsur Mikro dalam Alga Merah.....	10
Tabel 2.2 Pelarut Organik dan Sifat Fisiknya	15
Tabel 2.3 Serapan Maksimal Beberapa Senyawa Alkaloid Indol pada UV-Vis.....	26
Tabel 2.4 Absorpsi Inframerah Gugus-gugus Fungsi Hasil Fraksinasi Ekstrak Pekat Alkaloid.....	28
Tabel 4.1 Kadar Air Sampel <i>E. cottonii</i>	39
Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak alkaloid <i>E. cottonii</i>	44
Tabel 4.3 Persentase Mortalitas <i>A. Salina</i> L pada Ekstrak Alkaloid <i>E. cottonii</i>	47
Tabel 4.4 Hasil KLTA ekstrak alkaloid dengan 10 variasi eluen	49
Tabel 4.5 Data Penampak Noda dari KLT Analitik Senyawa Alkaloid Ekstrak Alkaloid Alga Merah <i>E. cottonii</i> dengan Eluen Terbaik Etil asetat : metanol : air (6:4:2)	50
Tabel 4.6 Data penampak noda dari KLT preparatif alkaloid ekstrak alkaloid alga merah <i>E. cottonii</i> dengan eluen etil asetat : metanol :air (6:4:2).....	51
Tabel 4.8 Analisa Senyawa Alkaloid pada Spot 9	55



DAFTAR GAMBAR

2.1	Alga Merah <i>Eucheuma cottonii</i>	11
2.2	Struktur Senyawa Alkaloid	20
4.1	Dugaan Reaksi Alkaloid dengan Asam Kuat.....	42
4.2	Dugaan Reaksi Alkaloid dengan NH ₄ OH.....	43
4.3	Dugaan Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Mayer.....	45
4.4	Dugaan Reaksi Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorf.....	45
4.5	Hasil KLTA Senyawa Alkaloid dengan Eluen Etil asetat : Metanol : Air	49
4.6	Spektra UV-Vis spot tiga (Rf 0,15).....	53
4.7	Spektra UV-Vis spot Sembilan (Rf 0,15).....	54
4.8	Spektra FTIR Spot Sembilan	55



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	67
Lampiran 2. Skema Kerja	68
Lampiran 3. Pembuatan Larutan	73
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air	76
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen	79
Lampiran 6. Data Kematian Larva dan Perhitungan LC ₅₀ Uji toksisitas Ekstrak Alkaloid <i>Eucheuma cottonii</i>	80
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian	81



ABSTRAK

Mufadal. 2015. **Isolasi Senyawa Alkaloid dari Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Serta Analisa dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR**

Pembimbing I: Suci Amalia, M.Sc; Pembimbing II: Tri Kustono Adi, M.Sc; Konsultan: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Kata kunci : Alga merah (*Eucheuma cottonii*), Alkaloid, KLT, UV-Vis, FTIR

Alga merah (*Eucheuma cottonii*) merupakan alga multiseluler yang diduga mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid. Isolasi senyawa golongan alkaloid dilakukan terhadap ekstrak etanol alga merah (*Eucheuma cottonii*) yang bertujuan untuk mengetahui eluen terbaik dalam memisahkan alkaloid, sifat toksik dan golongan senyawa alkaloid.

Ekstraksi senyawa aktif (*Eucheuma cottonii*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95 %. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan senyawa alkaloid dengan ekstraksi asam basa. Sifat toksik dari ekstrak alkaloid diperoleh dari data persen mortalitas metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLTA dan KLTP serta analisa dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis diketahui bahwa eluen terbaik pemisahan senyawa alkaloid dari ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) adalah eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2). Hasil uji toksisitas ekstrak alkaloid memiliki sifat toksik terhadap larva udang *A. salina* L dengan nilai persen mortalitas sebesar 30 % dan 60 % untuk konsentrasi 10 ppm dan 100 ppm. Hasil analisa dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR senyawa alkaloid dalam alga merah (*Eucheuma cottonii*) merupakan alkaloid indol dengan panjang gelombang 284 nm, 290 nm, 337 nm yang mempunyai gugus fungsi OH, N-H, C=C, C-O, dan C-H Aromatis

ABSTRACT

Mufadal, 2015. **The Isolation of Alkaloid Compound from Red Algae (*Euchema cottonii*) Using Thin Layer Chromatography and Analysis Using UV-VIS Spectrophotometer and FTIR.**

Supervisor I :Suci Amalia, M.Sc; Supervisor II : Tri Kustono Adi, M.Sc;
Consultant : A. GhanaimFasya, M.Si

Keywords : *Red algae (Eucheuma cottonii), alkaloid, thin layer chromatography, UV-VIS, FTIR*

Red algae (*Euchema cottonii*) a multicellular algae, is suspected to be containing the secondary metabolism compounds, alkaloid. The study aim to know the best eluent in separating of alkaloid, toxicity and the group of alkaloid compound.

Extraction of the (*Euchema cottonii*) active compound was conducted through of alkaloid maceration method using ethanol solution 95%. Followed by acid base extraction. The toxicity of the extract obtained was determined using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) methods. The separation and the analysis was carried out by TLC, UV-VIS, and FTIR.

The research showed that the best eluent for TLC separation alkaloid from algae was ethyl acetate : methanol : water (6:4:2). The extract toxicity assain is *A.salina L* was 30 % (10 ppm) and 60 % (100 ppm). Analysis using UV-VIS spectrophotometer and FTIR showed that alkaloid compound has an indole alkaloid. The λ max was 284 nm, 290 nm, and 337 nm. Whereas the functional groups are OH, N-H, C=C, C-O and C-H aromatic.

خلاصة

مفضل. ٢٠١٥. عزل مركبات أشباه استخلص الأحمر الطحالب ايبو جيوما قطني باستخدام اللوني طبقة رقيقة وتحليل مباني مقياس الطيف الضوئي UV-vis و FTIR. المشرفة الأول: سوجي أماليا، ماجستير. المشرف الثاني: تري كوسطنا حادي، ماجستير. مستشار: أحمد غنائم فشا، ماجستير

كلمات البحث: الطحالب الحمراء (ايبو جيوما قطني)، استخلص، TLC، UV-vis، FTIR

الأحمر الطحالب ايبو جيوما قطني ويعتقد على الطحالب الحمراء متعددة الخلايا لاحتواء المركبات من المركبات الثانوية مثل استخلص. فعلت عزل المركبات استخلص ضد الايثانول المستخلص من الطحالب الحمراء ايبو جيوما قطني الذي يهدف إلى تحديد أفضل شاطئ في فصل استخلص، والخصائص السمية لهذا الصنف من المركبات واستخلص.

استخراج نشط ايبو جيوما قطني المركبات يوكيما به طريقة النقع باستخدام الايثانول ٩٥٪. استخراج الحصول عليها عن طريق فصل المركبات قلويد مع استخراج الحمضي القاعدي، واختبار استخراج استخلص سميتها لبيانات وفيات. ساليينا ساليينا اليرقات الأرتيميا الروبيان تم تحليلها لتحديد طبيعة استخراج قلويد السامة التي أظهرتها وفيات في المئة. وعلاوة على ذلك، وفصل مع KLTA و KLTP والتحليل قام به UV-vis و FTIR

الفصل من قبل طبقة رقيقة اللوني ويمكن رؤية أن أفضل شاطئ لفصل استخلص من أحمر استخراج الطحالب من ايبو جيوما قطني هو شاطئ حالات الإيثيل: الميثانول: الماء (٦ : ٤ : ٢). نتائج اختبارات السمية استخراج قلويد من الطحالب الحمراء ايبو جيوما قطني لها الخواص السامة لليرقات الروبيان أرتمي ساليينا ليح مع تظاهر فيات قيمة في المئة بنسبة ٣٠٪ و ٦٠٪ لتراكيزات من ١٠ ppm و ١٠٠ ppm. ونتائج التحليل التي كتبها UV-vis و FTIR استخلص الواردة في الطحالب الحمراء ايبو جيوما قطني استخلص الإندول مع طول موجة من ٢٨٤ نانومتر، ٢٩٠ نانومتر و ٣٣٧ نانومتر والتي لديها مجموعة وظيفية OH، NH، C=C، CO، و CH عطري

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah berfirman dalam surat an Nahl/16 ayat 14

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى
الْفُلَّكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۗ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

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.

Makna dari firman Allah SWT *sakhkhara al-bahra* menerangkan bahwa laut juga ditundukkan sebagai sumber daya alam yang tak ternilai harganya. Laut adalah lambang dari kesuburan sekaligus kemakmuran. Di laut terdapat beranekaragam potensi sumber daya alam yang dapat diperbaharui (*renewable resources*) seperti ikan, udang, kepiting, rumput laut dan lain sebagainya serta potensi sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui (*unrenewable resources*) seperti gas dan minyak bumi, mineral dan aneka bahan tambang serta energi ramah lingkungan (Asy-Syanqithi, 2007).

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki 17.504 pulau dan garis pantai lebih dari 81.000 Km dengan luas perairan laut sekitar 5,8 juta Km² (75% dari total wilayah Indonesia). Hal ini menjadikan Indonesia memiliki keanekaragaman hayati laut yang cukup besar. Keanekaragaman ini memberi peluang untuk lebih memanfaatkan biota laut Indonesia dalam pencarian senyawa bioaktif yang baru khususnya sebagai sumber obat dari bahan alam laut (Astuti *et al.*, 2005).

Salah satu sumber daya alam laut yang dapat dimanfaatkan adalah rumput laut. Rumput laut adalah nama umum dalam dunia perdagangan yang digunakan untuk menyebutkan kelompok alga laut yang hidup di laut. Alga merupakan salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Selain dapat digunakan sebagai bahan makanan, minuman dan obat-obatan, beberapa hasil olahan alga seperti agar-agar, alginat dan karaginan merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri (Istini dan Suhaimi, 1998).

Para ahli menggolongkan rumput laut menjadi 5 kelompok yaitu: Cyanophyta (alga biru), Chlorophyta (alga hijau), Chrysophyta (alga keemasan), Phaeophyta (alga coklat), Rhodophyta (alga merah). Dari kelima jenis alga tersebut, potensi yang banyak dimanfaatkan adalah jenis Rhodophyta (alga merah) dengan berbagai jenis di antaranya *Eucheuma spinosum*, *Eucheuma edule*, dan *Eucheuma cottonii* (Junaedi, W, 2004).

Jenis alga merah yang telah banyak diteliti salah satunya adalah *Eucheuma cottonii* dimana manfaatnya antara lain sebagai bahan makanan manusia, pakan ternak, bahan pembuatan pupuk, bahan obat dan antibiotik (Rasyid, 2004). Alga merah *Eucheuma cottonii* banyak ditemukan di daerah pantai Jumiang Pamekasan, pantai Tanjung Sumenep dan daerah-daerah lain di perairan Madura. Hampir seluruh hasil produksi alga merah yang jumlahnya mencapai puluhan ton pertahun diekspor dan sebagian besar dijadikan bahan makanan (Hayati, dkk., 2006).

Eucheuma cottonii merupakan alga merah multiseluler (bersel banyak) yang diduga memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid (Khurniasari, 2004). Menurut Afif (2012)

berdasarkan nilai LC_{50} yaitu pada ekstrak metanol 194,40 ppm, pada ekstrak 1-butanol 70,32 ppm, pada ekstrak etil asetat 143,41 ppm, pada ekstrak kloroform 303,66 ppm, pada ekstrak petroleum eter 195,28 ppm, dan pada ekstrak n-heksana 634,97 ppm dapat diketahui bahwa 1-butanol lebih memiliki potensi dalam bioaktivitas terhadap *Artemia salina* Leach. Penelitian Muhibah (2012) *Eucheuma cottonii* juga berpotensi sebagai antibakteri dengan ditunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki daya hambat terbaik terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Daya hambat terbaik terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 5 % dengan rata-rata diameter 6,167 mm dan *E. coli* pada konsentrasi 5 % dengan rata-rata diameter 5,333 mm. Potensi bioaktivitas yang dimiliki alga merah *Eucheuma cottonii* ini dapat digunakan sebagai acuan bahwa tanaman ini berpotensi di bidang farmakologi sebagai tanaman obat. Potensi bioaktivitas ini berdasarkan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam alga merah.

Afif (2012) menyatakan bahwa alga merah *Eucheuma cottonii* menggunakan ekstrak metanol mengandung golongan senyawa flavonoid, steroid, dan alkaloid. Fraksi butanol mengandung golongan senyawa steroid dan alkaloid. Fraksi etil asetat mengandung golongan senyawa triterpenoid, steroid, dan alkaloid. Fraksi kloroform mengandung golongan senyawa flavonoid, triterpenoid, dan alkaloid. Fraksi petroleum eter mengandung golongan senyawa triterpenoid, dan ekstrak n-heksana mengandung golongan senyawa triterpenoid dan alkaloid. Hasil analisis uji fitokimia dengan menggunakan pereaksi Mayer menyatakan bahwa senyawa alkaloid positif terbanyak pada fraksi etil asetat dan kloroform.

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiosperm. Lebih dari 20 % spesies angiosperm mengandung alkaloid. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang.

Penelitian Abraham (2013) menyatakan ekstrak daun pulai dengan menggunakan pelarut etanol kemudian difraksinasi menggunakan dietil eter, amonium hidroksida, dan kloroform menghasilkan ekstrak alkaloid. Senyawaan aktif yang positif terdapat dalam ekstrak kasar alkaloid daun pulai berdasarkan hasil uji fitokimia dengan reagen dan diperkuat dengan analisis kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) diduga aktif dalam menghambat pertumbuhan parasit *Toxoplasma gondii* senyawa yang positif ialah golongan senyawa alkaloid. Alkaloid juga bersifat sitotoksik dengan ditunjukkan ekstrak alkaloid dari daun binahong mempunyai nilai LC_{50} sebesar 85,583 ppm (Kusrini, 2013).

Ekstraksi alkaloid dari tumbuhan dapat dilakukan dengan pelarut alkohol yang bersifat asam lemah (HCl 1 M atau asam asetat 10 %) karena alkaloid bersifat basa, kemudian diendapkan dengan amonia pekat, selanjutnya dilakukan ekstraksi pelarut (ekstraksi cair-cair) (Harbone, 1987). Pemisahan senyawa golongan alkaloid dengan KLT dapat menggunakan beberapa variasi eluen. Eluen-eluen yang akan digunakan adalah eluen yang memang khusus memisahkan senyawa-senyawa alkaloid. Eluen ini diambil dari penelitian-penelitian tentang

pemisahan senyawa alkaloid. Komposisi dari masing-masing eluen akan digunakan sudah cukup mewakili dari kepolaran senyawa alkaloid.

Diah (2012) menyatakan bahwa eluen kloroform : aseton (1:3) dapat memisahkan ekstrak umbi dan daun ubi jalar ungu yang isolatnya positif mengandung alkaloid dengan menghasilkan lima noda yang mempunyai intensitas warna kuat yaitu merah keunguan. Marliana (2007) menyatakan bahwa pemisahan senyawa alkaloid dengan variasi eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) serta pereaksi penyemprot reagen Dragendorff menunjukkan adanya alkaloid jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan dalam ekstrak. Berdasarkan uraian pemisahan senyawa alkaloid pada penelitian yang dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa hasil dari perbedaan setiap komposisi eluen yang digunakan akan menghasilkan pemisahan yang berbeda pula. Oleh karena itu, pada penelitian ini, peneliti ingin mengkaji eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa alkaloid.

Pada penelitian ini, ekstrak etanol 95 % yang dihasilkan dari metode ekstraksi maserasi merupakan ekstrak aktif dari alga merah *Eucheuma cootonii* yang bersifat semi polar. Pemisahan senyawa alkaloid yang terkandung dalam ekstrak etanol 95 % dilakukan dengan menggunakan KLT dengan berbagai variasi eluen dan reagen pereaksi yang sesuai dengan tujuan pencarian eluen terbaik. Uji toksisitas ekstrak kasar alkaloid yang telah dipisahkan akan dilakukan dengan metode BSLT, untuk analisa senyawa alkaloid tersebut digunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil ekstraksi senyawa alkaloid dari alga merah *Eucheuma cottonii*?
2. Eluen terbaik apakah yang dapat memisahkan senyawa alkaloid dari alga merah *Eucheuma cottonii* dengan KLT?
3. Bagaimana hasil analisa isolat hasil KLTP alkaloid alga merah *Eucheuma cottonii* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui hasil ekstraksi senyawa alkaloid dari alga merah *Eucheuma cottonii*.
2. Mengetahui eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa alkaloid dari alga merah *Eucheuma cottonii* dengan KLT.
3. Menganalisa isolat hasil KLTP alkaloid alga merah merah *Eucheuma cottonii* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah alga merah *Eucheuma cottonii* berasal dari perairan Sumenep, Madura.
2. Ekstraksi alkaloid dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 95 %, ekstraksi asam basa dan dilanjutkan dengan pemisahan dengan KLT.
3. Teknik pemisahan senyawa alkaloid dari alga merah menggunakan kromatografi lapis tipis.
4. Instrumen yang digunakan untuk identifikasi senyawa alkaloid pada alga merah adalah spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan tanaman alga merah sebagai alternatif dalam rangka pemberdayaan atau usaha pembuatan obat-obatan, sehingga mempermudah pengkajian lebih lanjut tentang aktifitas dan pemanfaatan senyawa alkaloid dalam berbagai bidang, terutama bidang industri dan kesehatan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga (Rumput Laut) Merah

Alga (jamak *Algae*) adalah biota laut yang umumnya tumbuh melekat pada substrat tertentu, tidak mempunyai akar, batang maupun daun sejati tetapi hanya menyerupai batang yang disebut *thallus*. Alga tumbuh dengan mendekati dirinya pada karang lumpur, pasir, batu dan tumbuhan lain secara spesifik (Anggadiredja, dkk., 2006). Susunan tubuh alga umumnya bersel banyak (*multiseluler*), tetapi ada juga yang bersel tunggal (*uniseluler*) dan sering juga membentuk filamen (benang) (Hidayat, 2006).

Proses metabolisme alga memerlukan kesesuaian faktor-faktor fisika dan kimia perairan seperti gerakan air, suhu, kadar garam, nutrisi atau zat hara seperti nitrat dan fosfat, dan pencahayaan sinar matahari. Pada masa pertumbuhannya, zat hara diserap dari media air melalui *thallus*, sedangkan proses fotosintesis berlangsung dengan bantuan sinar matahari yang menembus ke perairan di tempat pertumbuhannya (Aslan, 1998). Setiap jenis alga mempunyai perbedaan dalam proses metabolismenya.

Alga merah merupakan salah satu hasil perikanan yang penting di Indonesia. Alga merah mempunyai nilai ekonomi tinggi dibandingkan jenis alga yang lain karena mengandung karaginan dan agar. Jenis-jenis alga merah antara lain *Gracilaria gigas*, *Gracilaria salicornia*, *Gracillaria verrucosa*, *Amphiroa rigida*, *Hypnea asperi*, *Eucheuma denticulatum*, *Eucheuma edule*, *Kappaphycus*

alvarezii, *Eucheuma spinosum*, *Laurencia elata*, *Gelidiumlatifolium* dan lain sebagainya.

Perkembangbiakan dari alga merah umumnya secara vegetatif (tidak melalui proses perkawinan) yaitu dengan fragmentasi, sporik dan gametik. Kelompok tumbuhan ini mempunyai peranan yang sangat besar di lingkungan laut, karena hanya merekalah yang dapat menghasilkan oksigen yang sangat dibutuhkan oleh semua penghuni laut (Hidayat, 2006).

Alga kelompok merah memiliki pigmen fikoeertrin (*phycoerethrin*) dan fikosianin (*phycocyanin*) yang struktur dasarnya pirol dan berprotein. Fikoeertrin adalah pigmen yang berwarna merah cerah dan memancarkan warna oranye, sedangkan fikosianin berwarna biru dan memancarkan warna merah tua. Alga merah mempunyai sifat adaptik kromatik, yaitu mempunyai penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan sehingga pada kenyataan di alam, alga merah menunjukkan variasi warna lain seperti pirang, violet, merah tua, merah muda, coklat, kuning dan hijau (Aslan, 1998). Fikosianin merupakan salah satu dari tiga pigmen (klorofil, fikosianin dan karotenoid) yang mampu menangkap radiasi yang tersedia dari matahari paling efisien. Fikosianin bermanfaat dalam proses fotosintesis karena merupakan prekursor bagi klorofil dan hemoglobin dengan kandungan magnesium dan besi (Suhartono, 2000 dalam Arlyza, 2005). Adapun kandungan unsur-unsur mikro dalam alga merah terdapat dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan unsur-unsur mikro dalam alga merah

Komponen	Jumlah (%)
Air	27,8
Karbohidrat	33,3
Protein	5,4
Lemak	8,60
Abu	22,25
Cl	1,5-3,5
K	1,0-2,2
Na	1,0-7,9
Mg	0,3-1,0
S	0,5-1,8
Si	0,2-0,3
P	0,2-0,3
Ca	0,4-1,5
Fe	0,1-0,15
I	0,1-0,15
Br	0,005

Sumber : Winarno, 1990

2.2 Alga Merah *Euclidean cottonii*

Menurut Doty (1986), *Euclidean cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk fraksi kappa-karaginan. Maka jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii*.

Kingdom : Plantae

Divisi : Rhodophyta

Kelas : Rhodophyceae

Ordo : Gigartinales

Famili : Solieracea

Genus : *Euclidean*

Species : *Euclidean alvarezii* (*Euclidean cottonii*)

Nama daerah '*cottonii*' umumnya lebih dikenal dan biasa dipakai dalam dunia perdagangan nasional maupun internasional.



Gambar 2.1 Alga merah *Eucheuma cottonii*

Alga merah *Eucheuma cottonii* merupakan tanaman yang jauh di bawah laut yang diciptakan oleh Allah yang mempunyai banyak manfaat, karena Allah menciptakan segala sesuatu tidak sia-sia dan main-main sebagaimana Firman Allah SWT:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَعِبِينَ ﴿٣٨﴾

Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya dengan bermain-main” (Q.S. al Dhukhaan [44]: 38)

Abdushshamad (2003), menyatakan bahwa semua makhluk yang ada di alam semesta ini Allah ciptakan tidak semata-mata hanya untuk melengkapi isi langit dan bumi. Tapi Allah menciptakan segala sesuatu untuk memberikan manfaat bagi semua makhlukNya. Manusia diperintahkan untuk menuntut ilmu agar mereka mempelajari segala yang telah Allah ciptakan. Pada masa yang serba canggih seperti saat ini, seiring dengan kemajuan teknologi manusia dapat mempelajari manfaat ciptaan Allah dengan mudah, tidak terkecuali dalam bidang penelitian bahari kelautan.

Semua biota laut yang Allah ciptakan khususnya dalam laut mempunyai manfaat yang sangat besar untuk diteliti. Sehingga dari surat ad Dukhan ayat 38 menjelaskan bahwa manusia sebagai *khalifah* di bumi dianjurkan untuk mengkaji atau meneliti semua ciptaan Allah salah satunya potensi alga merah sebagai antikanker dan juga untuk mengetahui bahwa karunia Allah SWT di dunia ini sangat banyak dan besar.

2.3 Teknik Pemisahan Senyawa Aktif Alga Merah *E. cottonii*

2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu dan jenis pelarut yang digunakan. Hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut adalah daya melarutkan, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

Metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, soxhletasi, penggodokan (refluks), ekstraksi cair-cair (partisi) dan ekstraksi ultrasonik. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dan ekstraksi cair-cair (partisi). Maserasi merupakan proses pengambilan komponen target yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu (4-10 hari). Prinsip dari ekstraksi maserasi (padat-cair) ini adalah bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat

farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendamen tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) disertai dengan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan, dan filtratnya diuapkan dengan evaporator sehingga diperoleh filtrat yang pekat (Voight, 1995).

Menurut Nur dan Adijuwana (1989), pada proses maserasi, pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Voight (1995) mengatakan, kelebihan dari metode maserasi yaitu sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas karena metode ini dilakukan tanpa proses pemanasan. Kelemahan metode ini antara lain membutuhkan waktu yang cukup lama dan menggunakan jumlah pelarut yang banyak sehingga tidak efektif dan efisien.

Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (senyawa polar akan terbawa dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa dalam pelarut yang semipolar, dan senyawa nonpolar

akan terbawa dalam pelarut nonpolar), lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok untuk memperluas area permukaan kontak di antara kedua pelarut sehingga pendistribusian zat terlarut di antara keduanya dapat berlangsung dengan baik. Lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair, dan komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan (Khopkar, 2008).

Metode ekstraksi tergantung pada polaritas senyawa yang akan diekstrak. Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Prinsip kelarutan yang dipakai adalah *like dissolve like* artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Khopkar 2008). Pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi adalah pelarut polar (untuk melarutkan garam alkaloid, glikosida dan bahan penyamak) dan pelarut non polar (untuk melarutkan minyak atsiri) (Nur dan Adijuwana, 1989).

Pemilihan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa yang terkandung didalam sampel dalam pelarut tersebut. Umumnya pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling disukai dan banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder. Salah satu pelarut alkohol yang digunakan untuk ekstraksi maserasi ini adalah etanol (Lenny, 2006).

Menurut Hardiningtyas (2009), senyawa aktif yang dapat diekstrak dari suatu sampel tergantung pada tingkat kepolaran pelarut yang dipakai. Senyawa yang terikat pada pelarut polar antara lain alkaloid, asam amino, polihidroksi steroid dan saponin. Sedangkan senyawa yang terikat pada pelarut semi polar antara lain peptida dan depsipeptida. Dan senyawa yang terikat pada pelarut non polar antara lain hidrokarbon, asam lemak dan terpen.

Tabel 2.2 Pelarut organik dan sifat fisiknya (Nur dan Adijuwana, 1989)

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih (°C)	Konstanta Dielektrik	Polaritas*	Massa jenis (g/mL)
Etanol	CH ₃ -CH ₂ -OH	79	30	4,3	0,789
Metanol	CH ₃ -OH	65	33	5,1	0,791
Air	H-O-H	100	80	10,2	1,000
Heksana	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	69	2,0	0,1	0,655
Dietil eter	CH ₃ CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃	35	4,3	2,8	0,713
Kloroform	CHCl ₃	61	4,8	4,1	1,498
Etil asetat	CH ₃ -C(=O)-O-CH ₂ -CH ₃	77	6,0	4,4	0,894

Sumber: Sampietro dkk., 2008

Konstanta dielektrik (ϵ) merupakan salah satu ukuran kepolaran pelarut yang mengukur kemampuan pelarut untuk menyaring daya tarik elektrostatik antara isi yang berbeda. Meskipun air mempunyai konstanta dielektrik paling besar (paling polar), namun penggunaannya sebagai pelarut pengekstrak jarang digunakan karena mempunyai beberapa kelemahan seperti menyebabkan reaksi fermentatif (mengakibatkan perusakan bahan aktif lebih cepat), pembengkakan sel dan larutannya mudah dikontaminasi.

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Etanol (CH₃CH₂OH) adalah pelarut yang mempunyai gugus karboksil (alkohol) dan karbonil (keton) termasuk

dalam pelarut polar. Etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak senyawa aktif dalam sampel yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Etanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu $78,3^{\circ}\text{C}$ sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan. Selain itu, etanol juga tidak terlalu beracun dan berbahaya sehingga cenderung aman (Sudarmadji dkk., 2003). Sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Luo dkk, (2010) dalam mengekstraksi alkaloid dari daun pulai dengan pelarut etanol secara maserasi sebagai anti inflamasi menghasilkan rendemen 32 %, kemudian ekstrak pekatnya diteruskan dengan fraksinasi dengan etil asetat, petroleum eter dengan hasil rendemen masing-masing 3,4 %, 2,6 % dan fraksi air 20,8 %.

2.3.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya. Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar yang digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi, penjerapan) (Hendayana, 2006).

Gritter dkk, (1991) menyatakan bahwa kromatografi lapis tipis (KLT) pada hakikatnya melibatkan 2 peubah yaitu sifat fasa diam atau sifat lapisan dan sifat fasa gerak atau campuran pelarut pengembang. Fasa diam dapat berupa

serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap, penyangga atau lapisan zat cair. Pada penelitian ini digunakan fasa diam berupa silika gel yang mampu menjerap senyawa yang akan dipisahkan. Fasa gerak dapat berupa hampir segala macam pelarut atau campuran pelarut, sebagaimana dalam penelitian ini digunakan campuran pelarut yang efektif untuk memisahkan masing-masing komponen senyawanya yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

Lapisan tipis (plat silika gel F₂₅₄) yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tak warna pada plat yang telah dikembangkan. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar (lampu UV). Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik berbagai jenis, sinar UV akan mengeksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi (Gritter dkk., 1991).

Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat menggunakan harga R_f (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan, yaitu:

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga R_f berjangka antara 0,00 – 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Harga R_f dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap, jenis eluen dan jumlah cuplikan (Sastrohamidjojo, 1991).

Kusrini (2013) memperoleh eluen terbaik untuk memisahkan senyawa alkaloid dari isolasi daun tempuyung yakni menggunakan eluen etil asetat : etanol

: n-heksana (2:1:30) dan penyemprot Dragendorff. Dimana pada penelitiannya diperoleh 6 noda dengan 4 macam warna. Noda warna merah kecoklatan diwakili nilai Rf antara lain 0,2 ; 0,34 dan 0,56. Noda warna merah kekuningan nilai Rf 0,68. Noda warna biru kehijauan memiliki nilai Rf 0,46 dan noda warna biru terang memiliki Rf 0,77. Semua warna yang dihasilkan dilakukan pengamatan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm.

Lestari (2012) menggunakan eluen kloroform : metanol (8:3) lalu disemprot dengan pereaksi Dragendorff untuk mengidentifikasi alkaloid dari ekstrak n-butanol daun sidaguri, menghasilkan noda dengan Rf 0,59 yang berwarna coklat jingga dengan latar belakang kuning. Sedangkan Arifin, dkk. (2006), mendeteksi alkaloid pada ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr menggunakan eluen etil asetat : metanol : air (100:13,5:10) dan penyemprot Dragendorff menghasilkan noda dengan Rf 0,83 yang berwarna jingga dibawah sinar UV 366 nm.

Penelitian Marlina (2007) menggunakan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) memberikan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya noda berwarna coklat (Rf = 0,80), setelah plat KLT disemprot dengan pereaksi Dragendorff sedangkan larutan Yohimbin sebagai pembanding berwarna jingga (Rf = 0,69). Apabila tanpa pereaksi kimia, timbul noda berwarna biru terang fluoresens di bawah lampu UV 365 nm dengan harga Rf = 0, 87. Menurut Wagner (1996), alkaloid positif bila timbul noda berwarna coklat atau jingga setelah penyemprotan Dragendorff. Bila tanpa pereaksi kimia, di bawah lampu UV 365 nm, alkaloid akan berfluoresens biru, biru-hijau atau ungu.

2.4 Kandungan Alkaloid Sebagai Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma cottonii*

Biota laut umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung hewan laut tersebut dari gangguan hama penyakit untuk hewan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

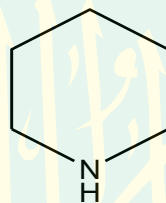
Alga merah *Eucheuma cottonii* juga mempunyai potensi sebagai antikanker. Untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam tanaman maka dilakukan pengujian fitokimia. Dalam uji fitokimia ini, yang diketahui bukanlah nama dari senyawa tersebut melainkan golongan dari senyawa tersebut. Uji fitokimia dipilih karena sederhana, cepat, peralatan yang dibutuhkan minimal dan selektif untuk mengetahui golongan.

2.4.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan terbesar dari senyawaan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang biasanya merupakan bagian dari sistem siklik. Alkaloid yang mengandung cincin heterosiklik biasanya disebut alkaloid sejati, sedangkan yang tidak mengandung cincin heterosiklik disebut protoalkaloid, keduanya diturunkan dari asam amino. Alkaloid yang tidak diturunkan dari asam amino baik heterosiklik ataupun bukan disebut pseudoalkaloid atau alkaloid terpenoid (Suradikusumah, 1989 dalam Mulyana, 2002).

Alkaloid umumnya tidak larut dalam air dan larut dalam eter atau kloroform dan pelarut nonpolar lainnya. Alkaloid basa yang bereaksi dengan asam

akan membentuk garam yang larut dalam air (Amelio, 1990 dalam Yunita 2012). Alkaloid umumnya berada dalam bentuk garamnya dan larut dalam air. Melalui penarikan alkaloid dengan larutan asam, alkaloid dapat diidentifikasi langsung dengan satu atau lebih pereaksi pengendap. Namun, senyawa alkaloid dengan struktur nitrogen heterosiklik, amin oksida dan alkaloid kuartener tidak dapat terdeteksi dengan pereaksi pengendap. Hal ini akan menghasilkan negatif palsu pada pengujian alkaloid dengan pereaksi pengendap (Farnsworth, 1966 dalam Andriyani, 2011). Contoh struktur senyawa alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan memakai pelarut atau pereaksi kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam siliko tungstat 5 %, asam tanat 5 %, dan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) (Robinson, 1995). Penelitian yang telah dilakukan Misra dkk, (2011) yaitu ekstrak dari berbagai variasi tumbuhan pulau daun, kulit batang dan akar dengan menggunakan etil asetat menunjukkan adanya alkaloid.

Ekstraksi alkaloid dari tumbuhan dapat dilakukan dengan pelarut alkohol yang bersifat asam lemah (HCl 1 M atau asam asetat 10 %) karena alkaloid

bersifat basa, kemudian diendapkan dengan amonia pekat. Selanjutnya dilakukan ekstraksi pelarut (ekstraksi cair-cair) (Harbone, 1987). Sebagaimana Luo (2010) yang mengekstraksi alkaloid dari ekstrak etanol daun pulai dengan cara refluks menggunakan pelarut etanol kemudian dipartisi dengan HCl 1 % dalam pelarut petroleum eter, etil asetat kemudian dibasakan dengan NH_4OH .

Identifikasi alkaloid dapat dilakukan dengan pengujian warna (fitokimia) dan KLT dengan beberapa pengembang dimana plat disemprot dengan penampak bercak alkaloid (Harbone, 1987). Uji fitokimia alkaloid dilakukan dengan menambahkan HCl 1 % pada sejumlah ekstrak. Larutan yang diperoleh dapat diuji dengan reagen Meyer (kalium tetraiodomerkurat), Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), Wagner (iodium dalam kalium iodida). Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan pereaksi Meyer), endapan merah, jingga (dengan pereaksi Dragendorf), dan endapan coklat (dengan pereaksi Wagner) (Saxena, dkk., 2012).

2.4.2 Klasifikasi Alkaloid

Telah banyak usaha untuk mengklasifikasikan alkaloid. Sistem klasifikasi yang paling banyak diterima menurut Hegnauer antara lain alkaloid sesungguhnya, protoalkaloid, dan pseudoalkaloid (Sastrohamidjojo, 1996).

a. Alkaloid sesungguhnya

Alkaloid sesungguhnya adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktifitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa, lazim mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik, diturunkan dari asam amino, biasanya terdapat dalam tanaman sebagai garam asam organik. Beberapa perkecualian terhadap aturan tersebut adalah kolkhisin dan asam aristolokhat yang

bersifat bukan basa dan tidak memiliki cincin heterosiklik dan alkaloid quartener, yang bersifat agak asam dari pada bersifat basa (Sastrohamidjojo, 1996).

b. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan amina yang relatif sederhana dalam nitrogen asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklis. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Pengertian “amin biologis” sering digunakan untuk kelompok ini. Contoh meskalin, ephedin, dan N,N-dimetiltriptamin(Sastrohamidjojo, 1996).

c. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam kelas ini, yaitu alkaloid stereoidal dan purin (Sastrohamidjojo, 1996).

2.5 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan atau menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa. Kadar racun suatu zat kimia salah satunya dapat dinyatakan dengan LC_{50} (*Lethal Concentration-50*). Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Oleh karena itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk menguji ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas. Salah satu organisme yang sangat sesuai untuk uji toksisitas adalah *brine shrimp* (Lenny, 2006).

BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metode ini digunakan sebagai *bioassay-guided fractionation* dari bahan alam, karena

mudah, cepat, murah, dan cukup *reproducible*. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari skrining awal dengan metode BSLT diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba, *immunosuppressive*, *antifeedant* dan residu pestisida (Colegate dan Molyneux, 2007).

Jenis *Brine Shrimp* (udang laut) yang biasa digunakan untuk uji toksisitas adalah *A. salina*. Klasifikasi *A. salina* adalah sebagai berikut (Mudjiman, 1985):

Kerajaan : Animalia
Divisi : Arthropoda
Subdivisi : Crustacea
Kelas : Branchiopoda
Bangsa : Anostraca
Suku : Artemiidae
Marga : Artemia L.
Jenis : *Artemia salina* Leach

A. salina sering digunakan sebagai hewan uji toksisitas. Telur *A. salina* dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada suhu 23 °C maka ia akan menetas dalam 1-2 hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat hanya berupa immobilisasi ke dalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. Immobilisasi ini sudah dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *A. salina*. LC₅₀ diperoleh dengan ekstrapolasi kurva

(Soemirat, 2005). Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa pada *A. salina* Leach adalah kematiannya (Meyer, *et al.*, 1982).

Meyer, *et al* (1982) menggolongan toksisitas atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya untuk harga LC_{50} dibedakan menjadi:

- a. Toksik ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ mL}$)
- b. Tidak toksik ($LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ mL}$)

Meyer *et al* (1982) menyatakan bahwa senyawa uji dikatakan toksik jika harga LC_{50} lebih kecil dari $1000 \mu\text{g/ mL}$. Penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai LC_{50} masing-masing ekstrak dengan ketentuan (Zuhud, 2011):

- $LC_{50} < 10$ ppm aktivitas tinggi sebagai sitotoksik
- $LC_{50} > 10 < 50$ ppm aktif sebagai sitotoksik
- $LC_{50} > 50 < 100$ ppm aktif sedang sebagai sitotoksik
- $LC_{50} > 100$ ppm tidak aktif sebagai sitotoksik

Penetasan telur dilakukan dengan memasukkan telur *A. salina* Leach ke dalam air laut sambil diaerasi untuk mengontakkan dengan udara selama 48 jam. Proses penetasan *A. salina* Leach ada beberapa tahapan yaitu tahap hidrasi, pecahnya cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga telur yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya yaitu tahap pecahnya cangkang yang disusul dengan tahap pecahnya payung yang terjadi beberapa saat sebelum naupli (larva) keluar dari cangkang (Farihah, 2006).

Berdasarkan penelitian Kusrini (2013) dapat diketahui bahwa senyawa alkaloid mempunyai potensi dalam bioaktivitas terhadap larva udang *A. salina* dengan ditunjukkan ekstrak etanol dan alkaloid total daun binahong mempunyai nilai LC_{50} masing-masing sebesar 4,593 ppm dan 85, 583 ppm.

2.6 Analisa Senyawa Alkaloid

2.6.1 Analisa Senyawa Alkaloid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektroskopi UV-Vis adalah absorpsi sinar UV-Vis oleh molekul/atom yang disebabkan promosi elektron dari keadaan elektronik dasar ke keadaan tereksitasi. Spektrum yang diabsorpsi oleh suatu senyawa adalah sejumlah sinar yang diserap oleh satu senyawa pada panjang gelombang tertentu. Untuk senyawa berwarna akan memiliki satu atau lebih penyerapan spektrum yang tertinggi di daerah spektrum tampak (400-700 nm). Spektrum yang terserap pada ultra violet (200-400 nm) dan daerah nampak terjadi karena adanya perubahan energi elektron terluar dari molekul yang disebabkan adanya ikatan atau bukan ikatan. (Sudarmadji, 1996).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV-Vis tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektrum UV-Vis dari senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi elektron diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Tetapi dalam praktek, UV-Vis digunakan terbatas pada system terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 2001).

Kusrini (2013) menyatakan bahwa hasil identifikasi isolat noda tunggal alkaloid menggunakan spektrofotometer UV-Vis menyatakan bahwa isolat

tersebut mempunyai panjang gelombang maksimum (λ_{\max}) sebesar 265 nm sampai 275 nm yang diindikasikan bahwa senyawa tersebut termasuk dalam alkaloid indol. Menurut (Nassel, 2008) terbentuknya dua buah serapan yang berdekatan menunjukkan ciri khas dari senyawa alkaloid indol. Selain adanya serapan pada 265 nm dan 275 nm, juga menunjukkan adanya serapan pada 311 nm yang disebabkan adanya pengaruh gugus karboksilat, kemudian adanya serapan pada 406 nm yang disebabkan pengaruh ikatan C=C terkonjugasi dalam senyawa tersebut, serta pada serapan 540 disebabkan serapan keseluruhan dari senyawa tersebut. Beberapa serapan maksimal beberapa senyawa alkaloid indol dapat dilihat pada tabel 2.3

Tabel 2.3 Serapan maksimal beberapa senyawa alkaloid indol pada Spektrofotometer UV-Vis (Widi dan Indriati, 2007).

No	Jenis Alkaloid	Panjang Gelombang (nm)
1	Lerchein	218, 270, 282, dan 290
2	18-Dehidrookrolifuanin	226 dan 282
3	Isosimonantin	247 dan 305
4	1,2,6,7-Tetrahydroindolo[2,3-a] quinolizines	224, 282, dan 291
5	d,1-18,19,20,21-Tetrahydropseudo yohimbone	225, 275, dan 400

2.6.2 Analisa Senyawa Alkaloid Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) pada dasarnya adalah sama dengan spektrofotometer IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar inframerah melewati sampel. Spektrofotometer IR dispersi menggunakan prisma (*grating*) sebagai pengisolasi radiasi, sedangkan spektrofotometer FTIR menggunakan interferometer yang dikontrol secara otomatis dengan komputer. Jika sinar inframerah dilewatkan melalui sampel senyawa organik, maka terdapat sejumlah

frekuensi yang diserap dan ada yang diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Serapan cahaya oleh molekul tergantung pada struktur elektronik dari molekul tersebut. Molekul yang menyerap energi tersebut terjadi perubahan energi vibrasi dan perubahan tingkat energi rotasi (Suseno dan Firdausi 2008). Spektrofotometer FTIR dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif (Hayati, 2007).

Spektroskopi inframerah adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada penyerapan sinar inframerah. Fungsi utama dari spektroskopi inframerah adalah untuk mengenal struktur molekul (gugus fungsional). Spektroskopi inframerah adalah grafik dari persentasi transmitansi dengan panjang gelombang atau penurunan frekuensi. Tiap lekukan yang disebut gelombang atau puncak menunjukkan adsorpsi dari radiasi inframerah oleh cuplikan pada frekuensi tersebut (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Kusrini (2013) menyatakan bahwa hasil analisis isolat alkaloid menggunakan spektrofotometer FTIR menghasilkan puncak-puncak vibrasi dengan serapan pada panjang gelombang $3464,15\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari vibrasi ulur gugus N-H, selain itu didukung pula dengan adanya serapan pada panjang gelombang $1597,06\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi tekuk gugus N-H. Adanya serapan pada panjang gelombang $3549,02\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan vibrasi ikatan O-H. Vibrasi ikatan ini diduga merupakan vibrasi gugus alkohol yang didukung dengan munculnya serapan kuat pada bilangan gelombang $1049,28\text{ cm}^{-1}$ dari vibrasi ulur C-O alkohol. Adanya vibrasi pada bilangan gelombang $1373,32\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan dari C-N. Selain itu pada daerah gelombang $1610,35\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan vibrasi ikatan C=C aromatis terkonjugasi. Serapan kuat pada daerah panjang gelombang $1743,65\text{ cm}^{-1}$ diduga

karena adanya gugus fungsi C=O karboksilat. Rentangan C-H alifatik asimetri dan simetri ditunjukkan pada panjang gelombang 2985,81 cm^{-1} dan 2908,65 cm^{-1} , hal ini berasal dari gugus CH₂ (Socrates, 1994). Adanya C-H alifatik diperkuat dengan adanya serapan pada panjang gelombang 1442,75 cm^{-1} yang merupakan serapan dari C-H alifatik bending dan pada panjang gelombang 1242,16 cm^{-1} adalah serapan vibrasi ulur dari C-H keluar bidang. Kemudian pada bilangan gelombang 786,96 cm^{-1} , 848,68 cm^{-1} dan 933,55 cm^{-1} merupakan substitusi orto, para dan meta pada cincin aromatik.

Murtadlo (2013) menyatakan bahwa dalam ekstrak daun lempuyung menunjukkan bahwa isolat kemungkinan termasuk senyawa golongan alkaloid. Data spektrum FTIR memberikan bilangan gelombang sebesar 3448,72 cm^{-1} (vibrasi ulur OH), 1627,92 cm^{-1} (vibrasi ulur C=N) yang diperkuat dengan serapan 1103,28 cm^{-1} (vibrasi tekuk C-N yang simetri dengan vibrasi ulur C-O), 2924,09 cm^{-1} dan 2854,65 cm^{-1} (vibrasi ulur C-H alifatik), 1472,67 cm^{-1} dan 1347,4 cm^{-1} (gugus C-H), 1720,50 cm^{-1} (vibrasi ulur C=C terkonjugasi), 749,67 cm^{-1} (C-H alifatik keluar bidang).

Tabel 2.4 Absorpsi inframerah gugus-gugus fungsi hasil fraksinasi ekstrak pekat alkaloid.

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang	Jenis Serapan
-C-H	2800-3000	Uluran
	1360-1385	Tekukan
-N-H	3200-3400	Uluran
	1620	Tekukan
C-N	800-1100	Tekukan
C=O	1720-1745	Tekukan
C-O	1140-1180	Tekukan
Benzena o-disubstitusi	720-760	Tekukan
-C-H	1420-1460	Uluran
H-C-H	1340-1380	Tekukan

Sumber : Pavia *et al*, 1996

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Februari-April 2014.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan 80-100 mesh, oven, mortar, blender, kertas saring, neraca analitik, desikator, cawan penguap, erlenmeyer tutup, *hot plate*, *magnetic stirrer*, corong pisah, pengaduk gelas, pH meter, spatula, gunting, *aluminium foil*, penyaring *buchner*, *shaker*, *rotary evaporator*, beaker glass, corong gelas, tabung reaksi, pipet ukur, bola hisap, labu ukur, lemari asam, pipet tetes, pipa kapiler, plat KLT GF₂₅₄, *great chamber*, lampu UV, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis merk varian cary 50 conc dan spektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah *E.cottonii* yang berasal dari perairan Sumenep, Madura. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: akuades, pelarut etanol p.a, gas N₂, H₂SO₄ 2 %, dietil eter, DMSO, ragi roti, air laut, ammonium hidroksida 25 % (NH₄OH 25 %), kloroform p.a, aseton p.a, n-heksana p.a, HCl 1 %, reagen Dragendroff, reagen Mayer, etil asetat p.a, dan metanol p.a.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan penelitian eksperimental laboratorik. Sampel alga merah *E. cottonii* diambil, dibersihkan dengan cara dicuci, dikeringkan dalam oven dengan suhu 38 °C, dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dengan blender lalu diayak menggunakan ayakan 80-100 mesh hingga diperoleh serbuk yang halus. Selanjutnya ditentukan kadar airnya. Sejumlah serbuk sampel diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95 % sampai diperoleh filtrat yang pucat. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator vakum* pada suhu 40 °C dan dialiri gas N₂. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi alkaloid. Hasil fraksinasi alkaloid diuji fitokimia dengan menggunakan reagen. Selanjutnya dilakukan pemisahan terhadap senyawa alkaloid dengan KLT analitik dengan berbagai campuran eluen dan reagen pereaksi yang digunakan. Eluen yang memberikan pemisahan paling baik akan digunakan dalam pemisahan dengan KLT preparatif. Isolat hasil KLT preparatif akan dilakukan uji toksisitas dengan menggunakan larva udang *A. salina* Kemudian dilanjutkan analisa golongan senyawa alkaloid dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrometer FTIR untuk mengetahui jenis senyawa golongan alkaloid.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel
2. Uji kadar air
3. Ekstraksi senyawa alkaloid alga merah *E. cottonii*

4. Uji fitokimia ekstrak alkaloid dengan uji reagen
5. Uji toksisitas dengan menggunakan larva udang *A. Salina*
6. Analisa senyawa alkaloid dengan KLT analitik
7. Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT preparatif
8. Analisa golongan alkaloid
 - a) Analisa dengan spektrofotometer UV-Vis
 - b) Analisa dengan spektrofotometer FTIR
9. Analisa data.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Alga merah *E. cottonii* segar dicuci dengan air terlebih dahulu. Alga merah *E. cottonii* yang sudah bersih dilakukan proses pengeringan pada suhu 38 °C selama 24 jam, kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan mesin penghalus dan blender, disaring menggunakan ayakan 80-100 mesh.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada semua bagian Alga merah *E. cottonii*. Sebelumnya cawan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel Alga merah kering dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui berat konstan. Sampel yang sudah dipotong kecil-kecil diambil 5 gram dan dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100-105 °C selama ± 15 menit untuk menghilangkan kadar air dalam tubuh Alga merah, kemudian sampel disimpan dalam desikator ± 10 menit

dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven \pm 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dalam alga merah dihitung menggunakan Persamaan 3.1 :

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \quad (\text{AOAC, 1984}) \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan+sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan+sampel setelah dikeringkan

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

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

3.5.3 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Alga Merah *E. cottonii* (Berkov dkk., 2007)

Serbuk alga merah *E. Cottonii* ditimbang sebanyak 50 gram. Kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 95 % sebanyak 250 mL selama 24 jam. Pengadukannya dibantu dengan *shaker* selama 3 jam, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 95 % sebanyak 250 mL dengan perlakuan yang sama sampai diperoleh filtrat tidak berwarna. Selanjutnya disaring sampai diperoleh residu (ampas) dan filtrat, kemudian residu dibuang. Ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vakum* pada suhu 40 °C dan dialiri gas N₂. Ekstrak pekat yang didapat dilarutkan kembali dalam H₂SO₄ 2 % sebanyak 50 mL kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam corong pisah 500 mL dan ditambah 15 mL dietil eter untuk menghilangkan lemak. Selanjutnya fraksi dietil eter dibuang, dan fraksi air dibasakan dengan NH₄OH 25 % sampai pH 9-10 dan diekstraksi dengan 15 mL kloroform sampai tidak berwarna. Ekstrak alkaloid kasar dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* dan dihitung rendemennya :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel kering}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

Hasil yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji fitokimia, uji toksisitas dan pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis.

3.5.4 Uji Fitokimia

0,5 gram ekstrak alkaloid ditambahkan 5 mL HCL 1 %, setelah itu disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi dua dan dimasukkan ke dalam tabung. Filtrat 1 ditambah 2-3 tetes reagen Dragendorff, sedangkan filtrat 2 ditambah 2-3 tetes pereaksi Mayer.

3.5.5 Uji Toksisitas Alkaloid dengan Larva Udang *A. salina* Leach

3.5.5.1 Penetasan Larva Udang

Telur udang *A. salina* 2,5 mg dimasukkan dalam wadah penetasan yang berisi air laut sebanyak 250 mL dan diaerasi. Wadah atau bejana diberi sekat menjadi 2 bagian, bagian terang diberi cahaya lampu neon dan gelap dengan cara ditutup dengan kertas aluminium *foil* (Juniarti, 2009). Telur akan menetas setelah ± 48 jam dan akan menuju daerah terang melalui sekat dan siap digunakan sebagai target uji toksisitas.

3.5.5.2 Uji Toksisitas (Rita *et al.*, 2008)

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 5 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Botol disiapkan untuk pengujian, dimana dalam hal ini membutuhkan 8 botol dan 3 botol sebagai kontrol. Isolat hasil KLT preparatif ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya sebanyak 10 mL. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet sebanyak 100 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL

air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan air laut sampai tanda batas (volumenya menjadi 10 mL), kemudian dikocok. Konsentrasi larutan menjadi 100 ppm. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan dilakukan pengamatan selama 24 jam terhadap kematian larva udang.

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah kontrol media (DMSO tanpa isolat). Kontrol media dibuat dengan cara dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dikocok sampai dapat larut dalam air laut. Kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL. Selanjutnya larutan kontrol dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang ke dalam botol vial yang telah berisi larutan kontrol.

Kontrol pelarut dibuat dengan 200 μ L pelarut etanol dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian diuapkan sampai kering. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan air laut sampai tanda batas (volumenya menjadi 10 mL), kemudian dikocok. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan dilakukan pengamatan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Larutan kontrol dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

3.5.6 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

3.5.6.1 KLT Analitik

Pada pemisahan dengan KLT analitik digunakan plat silika gel GF₂₅₄ yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60-70 °C selama 10 menit. Masing-masing plat dengan ukuran 1x10 cm. Ekstrak alkaloid alga merah *E. cottonii* ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan beberapa campuran fase gerak. Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya. Selanjutnya dengan memperhatikan bentuk noda pada berbagai larutan pengembang ditentukan perbandingan larutan pengembang yang paling baik untuk keperluan preparatif. Pengembang dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa alkaloid adalah sebagai berikut:

- a. Kloroform : Aseton (1:3) dengan reagen Dragendorf menghasilkan 5 noda (Diah, 2012).
- b. Etil Asetat : Etanol : n-heksan (2:1:30) dengan reagen Dragendorf menghasilkan 5 noda (Kusrini, 2013).
- c. Kloroform : Etanol (9:1) dengan reagen Dragendorf menghasilkan 4 noda (Ekasari *et al.*, 2005).
- d. Etil asetat : Metanol : Air (6:4:2) dengan reagen Dragendorf menghasilkan 6 noda (Marliana, 2007).
- e. Aseton : Metanol (9:1) dengan reagen Dragendorf menghasilkan 5 noda (Lusiana, 2009).

- f. Metanol : kloroform (0,5:9,5) dengan reagen Dragendorf menghasilkan noda berwarna jingga (Widodo, 2007).
- g. Kloroform : n-heksana (2:1) dengan menggunakan reagen Dragendorf menghasilkan noda berwarna jingga (Susilaningsih, 2007).
- h. Kloroform : metanol (9:1) dengan reagen Dragendorf menghasilkan noda berwarna jingga (Barus, dkk., 2010).
- i. N-heksana : etil asetat : etanol (30:2:1) dengan reagen Dragendorf menghasilkan noda berwarna biru (Murtadlo, 2013).
- j. Kloroform : aseton : metanol (20:3:2) dengan reagen Dragendorf menghasilkan noda berwarna biru (Murtadlo, 2013).

Bercak noda yang dihasilkan pada masing-masing plat KLT selanjutnya dihitung nilai Rf-nya. Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik selanjutnya digunakan untuk KLT preparatif.

3.5.6.2 KLT Preparatif

Pada pemisahan dengan KLT preparatif digunakan plat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran 10 x 10 cm. Ekstrak pekat hasil ekstraksi ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT analitik. Noda-noda pada permukaan diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya.

Noda yang diduga merupakan senyawa golongan alkaloid dikerok kemudian dilarutkan dalam 5 ml pelarut etanol 95 % selanjutnya disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya.

3.5.7 Analisa Senyawa Alkaloid

3.5.7.1 Analisa dengan spektrofotometer UV-Vis

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif yang diduga senyawa alkaloid dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 2 ml isolat dimasukkan ke dalam kuvet hingga sepertiganya dan dianalisis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm, data disimpan. Spektra yang terbentuk diamati dan dicatat panjang gelombang serta absorbansi pada puncak yang terbentuk.

3.5.7.2 Analisa dengan Spektrofotometer FTIR

Isolat hasil KLT preparatif yang diduga senyawa alkaloid kemudian diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000. Isolat ditetaskan pada pellet KBr, dikeringkan kemudian dianalisis dengan spektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000 pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

3.5.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yaitu dengan memperhatikan pola pemisahan dan penampakan noda pada kromatogram, dari berbagai jenis eluen yang digunakan. Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan memperhatikan bentuk umum spektrum UV-Vis sampel dalam etanol 95 %. Identifikasi juga didukung dari spektrum FTIR untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang menyusun suatu struktur senyawa.

Data uji toksisitas yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji LC_{50} menggunakan analisis probit pada program MINITAB 14 dengan tingkat kepercayaan 95 %.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah semua bagian dari alga merah jenis *Eucheuma cottonii* yang diperoleh dari petani rumput laut perairan Sumenep Madura. Sampel *E. Cottonii* dicuci kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 38 °C. Proses pengeringan ini bertujuan untuk menghasilkan hasil ekstraksi yang maksimal.

Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan alat penggiling, hal tersebut dilakukan karena sifat fisik sampel yang dikelilingi serat-serat talus sehingga sampel kering *E. Cottonii* sangat sulit dihaluskan dengan blender. Proses penghalusan sampel dilakukan agar luas permukaan semakin besar sehingga interaksi zat cairan ekstraksi semakin optimal. Selain itu sampel dengan tingkat penghalusan yang tinggi memungkinkan terjadinya kerusakan sel-sel semakin besar sehingga memudahkan pengambilan bahan kandungan langsung oleh bahan pelarut (Octavia, 2009). Serbuk yang telah halus selanjutnya dilakukan pengayakan dengan ayakan 80-100 mesh, hal ini bertujuan untuk memaksimalkan dalam memperkecil variasi ukuran. Sehingga diperoleh serbuk halus ukuran yang relatif sama dan seragam. Dari 8 Kg sampel basah *E. cottonii* menghasilkan 250 gram serbuk Sampel kering *E. cottonii*.

4.2 Analisis Kadar Air

Sampel serbuk *E. cottonii* dianalisis kadar airnya untuk mengetahui kadar air suatu sampel pada tumbuhan yang akan digunakan. Penetapan kadar air suatu sampel dapat dilakukan dengan berbagai cara, bergantung pada sifat bahannya. Proses analisis kadar air pada penelitian ini dilakukan dengan metode pengeringan (*thermogravimetri*) menggunakan oven pemanas pada suhu 105 °C hingga berat sampel konstan. Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang diuapkan. Pada penelitian ini, analisis kadar air sampel *E. cottonii* dilakukan tiga kali pengulangan dengan tujuan agar diperoleh data yang akurat. Adapun hasil kadar air sampel *E. cottonii* segar dan dalam bentuk kering, dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan perhitungannya ditunjukkan pada Lampiran 4.

Tabel 4.1 Kadar air sampel *Euheuma cottonii*

Alga Merah (<i>Euheumaa cottonii</i>)	Kadar Air %	Kadar Air Terkoreksi %
Sampel basah	91,35	79,79
Sampel kering	8,07	6,99

Sampel *E. cottonii* basah mengandung kadar air sebesar 91,35 %, dikarenakan kadar air dari sampel basah masih sangat tinggi maka dilakukan pengeringan terhadap sampel. Sehingga sampel serbuk *E. cottonii* kering mengandung kadar air sebesar 8,07 %. Sampel tersebut telah memenuhi standart aturan penyimpanan yang aman terhadap pertumbuhan jamur ataupun mikroba. Hal ini sesuai dengan pernyataan Puspita (2009) jika kadar air yang terkandung kurang dari 11 % maka kestabilan optimum bahan akan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi. Angka kadar air yang terkandung pada

sampel *E. Cottonii* yang telah dijelaskan menunjukkan bahwa sampel yang akan dianalisis mempunyai kadar air cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi karena semakin rendah kadar air suatu sampel maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif. Menurut Sulistijowati dan Gunawan (2001) bahwa kadar air maksimum yang disyaratkan agar proses ekstraksi dapat berjalan lancar yaitu sebesar 11 %.

4.3 Ekstraksi Maserasi *Eucheuma cottonii*

Penelitian ini menggunakan ekstraksi maserasi (perendaman) dengan pelarut etanol 95 %. Prinsip dari metode maserasi adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan sampel yang diekstrak dengan demikian distribusi pelarut organik yang secara terus-menerus ke dalam sel tumbuhan yang mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel, sehingga senyawa aktif metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terambil dan masuk dalam pelarut organik (Djarwis, 2004).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut. Kemudian pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel, menyebabkan larutan yang terpekat didesak keluar. Metode maserasi dipilih agar senyawa yang terkandung dalam sampel tidak rusak akibat pemanasan, selain itu metode maserasi mudah dilakukan, sederhana, dan murah (Yustina, 2008).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 95 %. Penggunaan etanol 95 % dikarenakan alkaloid yang terdapat dalam tumbuhan

bersifat basa, sehingga untuk melarutkannya digunakan pelarut organik yang bersifat asam lemah (Harborne, 1987).

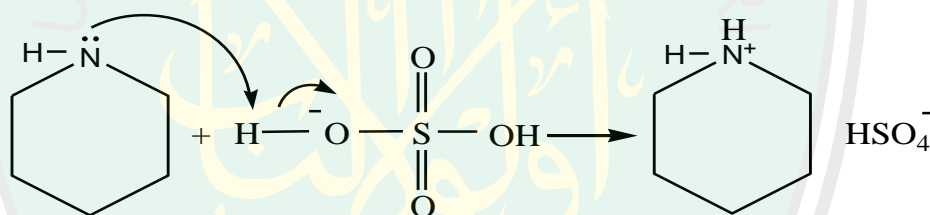
Serbuk *E. cottonii* ditimbang sebanyak ± 100 gr dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer tutup 1000 mL. Kemudian serbuk *E. cottonii* direndam dengan etanol 95 % sebanyak 300 mL selama 24 jam dengan pengocokan menggunakan *shaker* kecepatan 120 rpm selama 3 jam. Proses ekstraksi dihentikan ketika warna dari filtrat menjadi pucat. Hal itu menandakan bahwa senyawa aktif yang terdapat dalam sampel sudah terekstrak secara sempurna. Maserat yang diperoleh disaring dengan menggunakan corong *Buchner* untuk memisahkan filtrat dan residunya, dimana residu akan tertahan pada kertas saring yang berfungsi sebagai filter.

Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator vaccum*. Prinsip dari alat ini terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut akan menguap terlebih dahulu sebelum mencapai titik didihnya. Pelarut yang menguap di bawah titik didihnya disebabkan adanya pompa vakum, dimana pompa vakum berfungsi untuk menurunkan tekanan. Penurunan tekanan menyebabkan titik didih pelarut menjadi turun sehingga pelarut akan lebih mudah menguap.

Proses pemekatan dihentikan saat pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu alas bulat. Ekstrak pekat dialiri dengan gas N_2 untuk menghilangkan sisa pelarut yang mungkin masih tersisa dalam ekstrak pekat. Hasil ekstraksi maserasi serbuk *E. Cottonii* diperoleh rendemen ekstrak pekat etanol 95 % sebesar 3,60 %. Hasil ekstrak pekat etanol 95 % yang diperoleh selanjutnya dilakukan ekstraksi senyawa alkaloid dengan menggunakan metode ekstraksi asam-basa.

4.3.1 Ekstraksi Senyawa Alkaloid *E. cottonii*

Ekstraksi alkaloid dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair secara asam-basa yang bertujuan untuk memisahkan senyawa polar dan senyawa non polar, dimana ekstrak terpisah dari pelarut yang pertama (media pembawa) dan terdistribusi ke dalam pelarut yang kedua (media ekstraksi). Ekstrak pekat etanol diambil sebanyak 3,5 gram dan dilakukan penambahan H_2SO_4 2 % sampai pH larutan menjadi 2-3. Penambahan H_2SO_4 untuk memberikan suasana asam, sehingga alkaloid membentuk garam alkaloid dan kelarutannya dalam air semakin besar (Robinson, 1995). Amina ketika bereaksi dengan asam kuat akan membentuk garam alkilamonium. Reaksi antara alkaloid dengan asam dapat dilihat pada reaksi berikut:

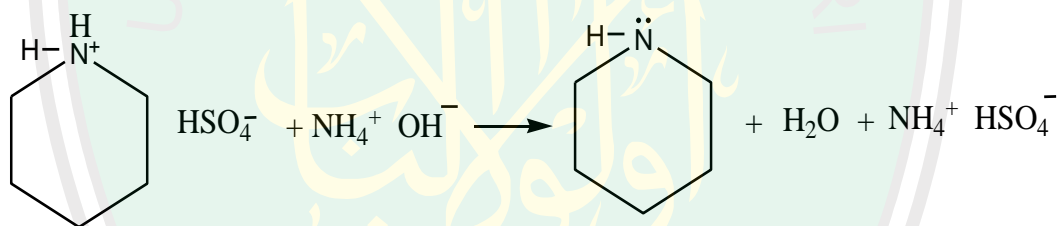


Gambar 4.1 Dugaan reaksi alkaloid dengan asam kuat

Setelah proses pengasaman, dilakukan pemisahan ekstrak yang tidak larut dengan menggunakan kertas saring. Garam alkaloid yang dihasilkan dipartisi di dalam corong pisah dengan menggunakan dietil eter sebanyak 20 mL. Setelah penambahan dietil eter dilakukan pengocokan secara searah agar dietil eter dan larutan asam mengalami kontak yang sempurna. Corong pisah dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yang tidak saling bercampur, dimana lapisan atas merupakan lapisan dietil eter berwarna hijau dan lapisan bawah adalah lapisan asam yang berwarna bening. Penambahan dietil eter ini berfungsi untuk mengambil senyawa lemak dan senyawa lilin yang terdapat pada garam alkaloid

(larutan asam). Ekstraksi dengan dietil eter ini dilakukan sebanyak 3 kali agar senyawa yang sifatnya mirip dengan dietil eter terambil secara sempurna.

Lapisan asam yang terkumpul menjadi satu selanjutnya dilakukan proses pembasaan dengan menggunakan NH_4OH 25 % sampai terbentuk endapan dan pH larutan berkisar 9-10. Penambahan NH_4OH bertujuan untuk membebaskan alkaloid dari garamnya sehingga terbentuk alkaloid bebas. Berdasarkan pernyataan Robinson (1995) serta Hart, dkk, (2003) bahwa reaksi amina dengan asam kuat menghasilkan garam amina, dimana amina tersebut dapat dibebaskan dari garamnya dengan cara melakukan pembasaan dengan basa lemah seperti NH_4OH . Reaksi pembasaan amina dengan basa lemah dapat dilihat pada reaksi berikut :



Gambar 4.2 Dugaan reaksi alkaloid dengan NH_4OH

Setelah dilakukan penambahan basa, selanjutnya larutan diekstraksi dengan menggunakan kloroform 15 mL sebanyak 5 kali ekstraksi. Penambahan kloroform berfungsi untuk menarik alkaloid yang sudah bebas dari garamnya. Hal itu dikarenakan alkaloid bebas mudah larut dalam pelarut organik sedangkan garam alkaloid tidak larut. Setelah penambahan kloroform dilakukan pengocokan agar terjadi kontak dan proses distribusi alkaloid bebas dalam kloroform semakin cepat. Didiamkan corong pisah sampai terbentuk dua lapisan yang tidak saling campur. Lapisan atas merupakan lapisan air dan lapisan bawah merupakan lapisan organik (kloroform). Lapisan kloroform diambil dan dikumpulkan menjadi satu

dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator vacum* sampai pelarutnya (kloroform) terpisah. Hasil ekstraksi alkaloid dari ekstrak etanol 95 % *E. cottonii* didapat rendemen sebesar 2 %. Ekstrak pekat alkaloid yang dihasilkan kemudian dilakukan uji fitokimia dan uji toksisitas serta pemisahan senyawa alkaloid dengan menggunakan KLTA dan KLTP.

4.4 Uji Fitokimia Ekstrak Alkaloid dengan Uji Reagen

Uji fitokimia merupakan uji secara kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu sampel. Uji fitokimia dilakukan dengan cara mereaksikan ekstrak dengan suatu sampel tertentu. Hasil uji fitokimia ekstrak alkaloid *E. cottonii* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak alkaloid *E. cottonii*

Golongan Senyawa	Reagen	Hasil Reaksi Warna	Ket
Alkaloid	Dragendorf	Endapan jingga	++
	Mayer	Endapan putih	+

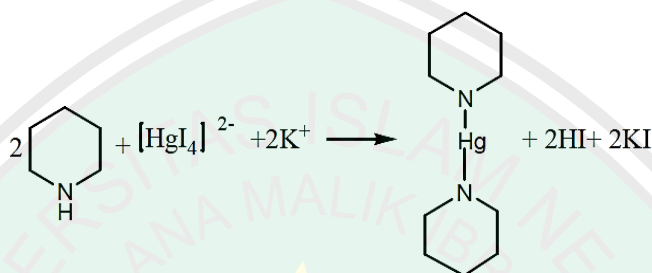
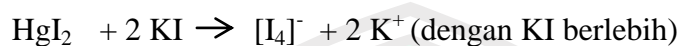
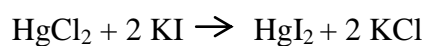
Keterangan : Tanda + : terkandung senyawa (sedikit berwarna)

Tanda ++ : kandungan senyawa lebih banyak (warna lebih pekat)

Tanda - : tidak terkandung senyawa (sedikit berwarna)

Berdasarkan uji fitokimia, dapat diketahui bahwa ekstrak alkaloid *E.cottonii* positif mengandung alkaloid. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan pereaksi Meyer), endapan jingga (dengan pereaksi Dragendorf) (Saxena, dkk., 2012). Endapan terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Selanjutnya tujuan penambahan HCl 2 % dalam uji alkaloid adalah untuk mengekstrak alkaloid karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

Secara umum terbentuknya endapan menunjukkan kesanggupan alkaloid untuk bergabung dengan logam yang memiliki berat atom tinggi seperti merkuri, bismut (Sastrohamidjojo, 2001). Adapun dugaan reaksi pada uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan 4.4.

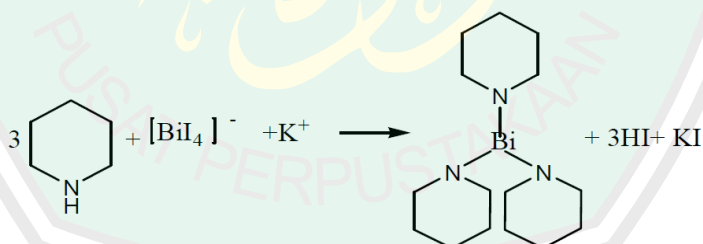


*Kompleks logam dengan alkaloid
(endapan putih atau kekuning-kuningan)*

Gambar 4.3 Dugaan reaksi alkaloid dengan pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)



(Kalium tetraiodobismutat)



*Kompleks logam dengan alkaloid
(endapan merah, jingga)*

Gambar 4.4 Dugaan reaksi alkaloid dengan pereaksi Dragendroff (Lutfillah, 2008).

4.5 Uji Toksisitas Ekstrak Alkaloid *E. cottonii* Menggunakan Larva Udang *A. salina* Leach

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang

bersifat toksik dari bahan alam dengan menggunakan hewan coba *A. salina L.* Menurut McLaughlin, *et al.*, (1998) *A. salina L* dapat digunakan sebagai hewan uji karena organisme ini dapat bereaksi pada dosis rendah. Senyawa dengan bioaktif tinggi dalam dosis rendah dapat berfungsi sebagai farmakologi sedangkan dalam dosis tinggi dapat bersifat racun. Daya toksisitas suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva *A. salina L* dengan parameter *lethal concentration 50* (LC₅₀).

Pada penelitian ini ekstrak alkaloid dibuat larutan stok 10000 ppm. Variasi ekstrak yang digunakan adalah 10 ppm, 100 ppm dan kontrol 0 ppm. Adanya variasi konsentrasi ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari variasi konsentrasi ekstrak alkaloid terhadap kematian larva udang *A. salina L.* Kontrol yang digunakan pada penelitian ini ada dua, yakni kontrol pelarut dan kontrol media (DMSO tanpa ekstrak alkaloid). Penggunaan kontrol ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pelarut dan DMSO terhadap kematian larva udang *A.salina L*, sehingga dapat diketahui bahwa kematian larva udang *A. salina L* bukan dikarenakan kontrol, akan tetapi diakibatkan oleh ekstrak alkaloid.

Larutan uji dibuat dari larutan stok 10000 ppm dengan memipet ekstrak alkaloid 10 µL dan 100 µL dan dimasukkan ke dalam botol vial. Selanjutnya diuapkan pelarutnya sampai kering, setelah pelarutnya mengering ditambah 100 µL DMSO dan 2 µL air laut. DMSO berfungsi sebagai surfaktan, hal itu dikarenakan DMSO merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan ujung hidrofobik sehingga dapat melarutkan ekstrak dengan air laut.

Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam botol vial yang berisi ekstrak yang telah larut dengan air laut. Kemudian ditambahkan setetes larutan

ragi roti sebagai sumber makanan dari larva udang dan ditambahkan air laut sampai volume 10 mL, dan dilakukan pengamatan selama 24 jam.

Hasil pengamatan kematian *A. salina L* setelah 24 jam pada ekstrak alkaloid *E. cottonii* diperoleh persen nilai kematian (persentase mortalitas) seperti pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Persentase mortalitas *A. salina L* pada ekstrak alkaloid *E. cottonii*

No	Konsentrasi (ppm)	Persen Mortalitas
1	10	30 %
2	100	60 %

Berdasarkan tabel 4.3, dapat diketahui bahwa konsentrasi 10 ppm menghasilkan persen mortalitas sebesar 30 %, sedangkan pada konsentrasi 100 ppm menghasilkan persen mortalitas sebesar 60 %. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak alkaloid, maka semakin besar pula persen mortalitas yang dihasilkan. Disamping itu, pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi senyawa alkaloid memiliki sifat lebih toksik terhadap hewan uji. Hasil penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Oratmangun (2014) tentang uji toksisitas ekstrak tanaman tulang yang didalamnya mengandung alkaloid menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak yang lebih besar, persen mortalitas juga semakin besar, dimana pada konsentrasi ekstrak 50 ppm persen mortalitasnya sebesar 10 %, sedangkan pada konsentrasi ekstrak 100 ppm menghasilkan persen mortalitas sebesar 23 %.

Berdasarkan uraian tersebut, dapat diduga bahwa ekstrak alkaloid *E. cottonii* memiliki sifat toksik terhadap larva udang *A. salina L*. Akan tetapi belum sampai diketahui pada konsentrasi berapa ekstrak alkaloid dapat membunuh

separuh dari hewan uji. Hal ini dikarenakan sampel ekstrak alkaloid *E. cottonii* tidak mencukupi untuk dilakukan penentuan nilai LC₅₀.

4.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

4.6.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Berdasarkan hasil uji fitokimia dengan menggunakan reagen, ekstrak alkaloid positif mengandung senyawa alkaloid. Untuk memperkuat hasil tersebut maka dilakukan pemisahan dengan kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fasa gerak/eluen dan fasa diam/adsorben). Fase diam pada plat yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1 cm x 10 cm GF₂₅₄ (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam-amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika GF₂₅₄ diaktifasi terlebih dahulu pada suhu 105 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007).

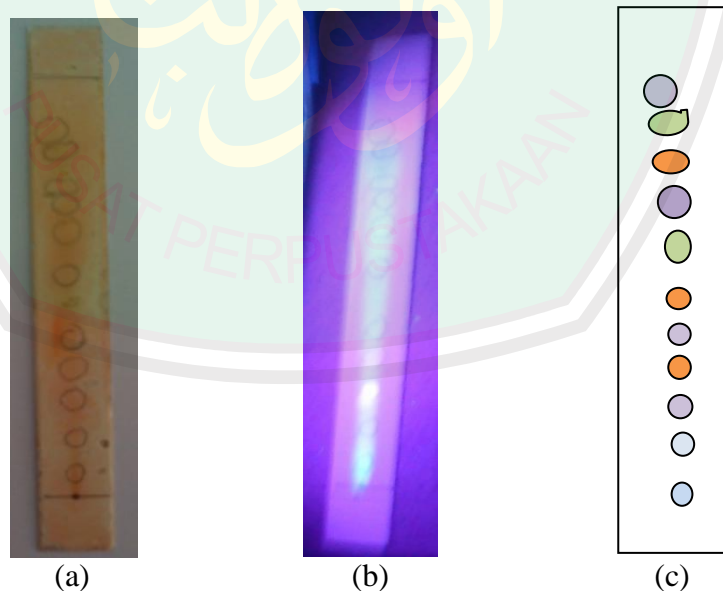
Pemisahan senyawa alkaloid dengan kromatografi lapis tipis analitik bertujuan untuk mencari eluen terbaik dalam memisahkan senyawa alkaloid. Eluen yang digunakan diambil dari penelitian terdahulu yang telah mengidentifikasi dari berbagai ekstrak. Noda KLT yang dihasilkan dideteksi dengan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm, hal ini bertujuan untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluorosensi terang pada dasar yang berfluorosensi seragam (Gritter, 1991). Hasil pengamatan dari pemisahan senyawa alkaloid ekstrak alkaloid alga

merah *E.cottonii* dengan menggunakan 10 variasi eluen yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 4.4:

Tabel 4.4 Hasil KLTA ekstrak alkaloid dengan 10 variasi eluen

No	Campuran Eluen	Jumlah Noda	Keterangan
1	Kloroform : aseton (1:3)	6	Noda jelas
2	Etil asetat : etanol : n-heksan (2:1:30)	3	Noda jelas
3	Kloroform : etanol (9:1)	3	Noda jelas
4	Etil asetat : metanol : air (6:4:2)	11	Noda jelas
5	Aseton : metanol (9:1)	3	Noda tailing
6	Metanol : kloroform (0,5:9,5)	12	Noda menumpuk
7	Kloroform : n-heksana (2:1)	3	Noda jelas
8	Kloroform : metanol (9:1)	3	Noda jelas
9	n-Heksana : etil asetat : etanol (30:2:1)	3	Noda jelas
10	Kloroform : aseton : metanol (20:3:2)	7	Noda jelas

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat diketahui bahwa variasi eluen etil asetat : metanol : air (6 : 4 : 2) merupakan eluen yang mampu memisahkan dengan baik dengan jumlah noda yang cukup banyak dan pemisahannya jelas seperti yang disajikan pada Gambar 4.5:



Gambar 4.5 Hasil KLTA senyawa alkaloid dengan eluen etil asetat : metanol :air (6:4:2)

Keterangan: a. Hasil KLT analitik sebelum diamati di bawah lampu UV
 b. Pengamatan dibawah sinar UV pada λ 366 nm
 c. Ilustrasi Gambar b

Tabel 4.5 Data penampak noda dari KLT analitik senyawa alkaloid ekstrak kasar alkaloid alga merah *E.cottonii* dengan eluen terbaik etil asetat : metanol : air (6:4:2) pada panjang gelombang 366 nm

Fase Gerak	Nomor Noda	Warna Noda	Nilai Rf
Etil asetat : Metanol :Air (6:4:2) (Marliana, 2012)	1	Biru pudar	0,05
	2	Biru pudar	0,13
	3	Ungu	0,22
	4	Jingga	0,3
	5	Ungu	0,37
	6	Jingga	0,51
	7	Hijau	0,61
	8	Ungu	0,67
	9	Jingga	0,72
	10	Hijau	0,81
	11	Ungu	0,85

Dari Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa variasi eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) menghasilkan 11 spot yang terpisah dengan cukup baik, dimana setiap spot memiliki nilai Rf yang berbeda. Spot yang dihasilkan pada plat dapat menggambarkan jumlah senyawa yang terdapat pada ekstrak, sedangkan nilai Rf pada spot menunjukkan tingkat kepolaran dari senyawa yang telah dipisahkan. Spot yang memiliki nilai Rf kecil menunjukkan senyawa lebih terdistribusi pada fase diamnya sedangkan spot yang memiliki nilai Rf besar menunjukkan senyawa lebih terdistribusi pada fase geraknya. Dari 11 spot yang dihasilkan, ekstrak diduga positif mengandung alkaloid. Marliana (2007) menyatakan bahwa pemisahan senyawa alkaloid dengan variasi eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) dengan pereaksi penyemprot reagen Dragendorff menunjukkan adanya alkaloid jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan dalam ekstrak. Sebelas spot yang terbentuk diperkirakan senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak kasar alkaloid. Pada spot dengan Rf 0,72 menunjukkan warna jingga pada plat, hal ini diduga pada spot tersebut mengandung senyawa alkaloid. Widi dan

Indriati (2007) menyatakan alkaloid yang terdapat dalam batang kayu kuning setelah uji identifikasi dengan KLT mempunyai nilai Rf berkisar $\pm 0,78$.

4.6.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik pada KLT analitik selanjutnya dipakai pada pemisahan dengan KLT preparatif. KLT preparatif merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa dalam jumlah besar. Hasil pemisahan KLT preparatif hampir sama dengan KLT analitik, hanya berbeda pada jumlah ekstrak yang ditotolkan dan ukuran plat KLT yang digunakan. Ukuran plat yang digunakan pada KLT preparatif 10 x 10 cm. Ekstrak alkaloid hasil ekstraksi ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dikering anginkan dan dielusi dengan eluen terbaik pada KLT analitik. Pada pemisahan ini penotolan dilakukan sampai 4 kali totalan. Hasil pemisahan dengan KLT preparatif dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) dapat dilihat pada tabel 4.6:

Tabel 4.6 Data penampak noda dari KLT preparatif ekstrak alkaloid alga merah *E.cottonii* dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2)

Fase Gerak	Nomor Noda	Warna Noda	Nilai Rf
Etil asetat : Metanol : Air (6:4:2) (Marliana, 2012)	1	Hijau	0,06
	2	Ungu	0,11
	3	Jingga	0,15
	4	Ungu	0,18
	5	Ungu	0,37
	6	Ungu	0,46
	7	Hijau	0,52
	8	Hijau	0,7
	9	Jingga	0,78
	10	Ungu	0,83
	11	Ungu	0,9

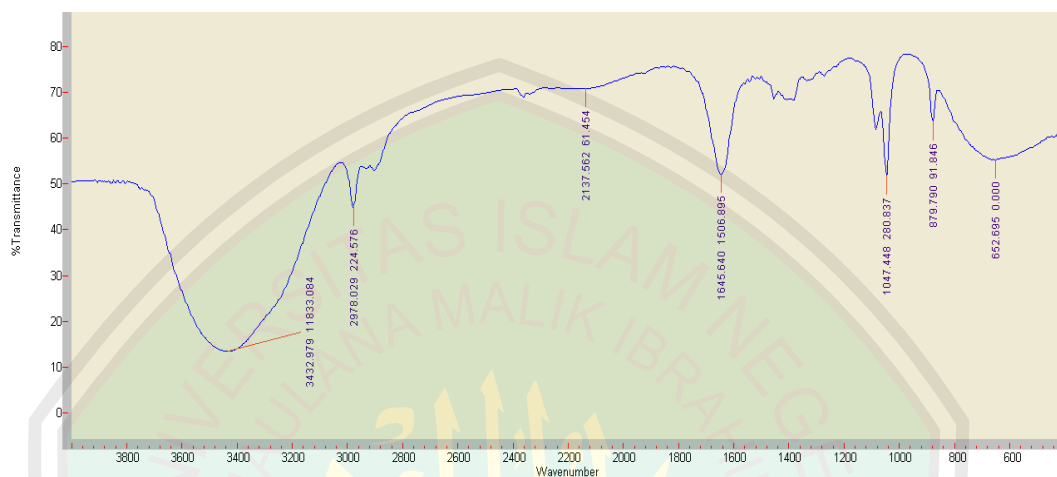
Berdasarkan Tabel 4.6 dugaan sementara yang didapat dari hasil pemisahan dengan KLT preparatif, senyawa alkaloid diduga terkandung pada spot

3 dengan Rf 0,15 dan spot 9 dengan Rf 0,78. Seperti halnya pada KLT analitik, hasil pemisahan dengan KLT preparatif juga menghasilkan 11 spot, akan tetapi terdapat perbedaan warna noda dan nilai Rf yang dihasilkan pada KLT preparatif, dan dari 11 spot yang dihasilkan hanya terdapat dua spot yang diduga kuat merupakan senyawa alkaloid. Sementara spot-spot yang lain tidak menampilkan ciri khas dari senyawa alkaloid namun ikut terpisah pada saat ekstraksi. Keikutsertaan senyawa alkaloid tersebut dimungkinkan karena adanya kesamaan sifat dengan pelarut yang digunakan, dalam arti pelarut tersebut tidak hanya melarutkan senyawa selain alkaloid tetapi semua senyawa yang mempunyai kesamaan sifat dengan pelarut tersebut juga ikut terekstrak. Selain adanya senyawa lain yang ikut terekstrak, hasil KLT analitik dan KLT preparatif terdapat perbedaan nilai Rf. Hal ini mungkin dikarenakan faktor lingkungan yang mempengaruhi kejenuhan dari campuran eluen berbeda ataupun kepekatan dari ekstrak yang dipakai pada KLT analitik dan KLT preparatif juga berbeda. Spot 3 dan spot 9 hasil pemisahan dengan KLT preparatif dikerok dan dilarutkan dengan menggunakan kloroform, setelah itu dilakukan analisa dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

4.7 Analisa Senyawa Alkaloid dengan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

Hasil kromatogram memberikan dugaan sementara senyawa alkaloid yang ada pada spot 3 dan spot 9. Oleh karena itu, untuk memastikan dugaan tersebut dan menentukan serapan maksimum serta gugus fungsi senyawa golongan alkaloid yang terkandung pada spot 3 dan spot 9 diperlukan tambahan data spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu

alkohol. Serapan pada bilangan gelombang $2137,562\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C. Dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $879,790\text{ cm}^{-1}$ dan $652,695\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya tekukan CH aromatis. Spektra FTIR dari spot 9 dapat dilihat pada gambar 4.8.



Gambar 4.8. spektra FTIR spot 9

Tabel 4.8 Analisa senyawa alkaloid pada spot 9

Bilangan Gelombang (cm^{-1})		Intensitas	Kemungkinan Gugus Fungsi
Alkaloid	Tabel korelasi (Pustaka)		
3432,979	3400-3450 (Silverstein., dkk 1991)	Melebar	O-H
2978,029	2800-3000 (Silverstein., dkk 1991)	Sedang-tajam	C-H <i>stretching</i>
2137,562	2150 (Silverstein., dkk 1991)	Lemah	C=C
1645,640	1680-1550 (Silverstein., dkk 1991)	Sedang-tajam	N-H <i>bending</i>
1047,448	1049,28 (Kusrini, 2013)	Sedang-tajam	C-O alkohol
879,790	650-1000 (Creswell, 2005)	Lemah	C-H aromatis
652,695	650-1000 (Creswell, 2005)	Lemah	C-H aromatis

Berdasarkan interpretasi spektra hasil analisis dengan UV-Vis dan FTIR didapat dugaan bahwa senyawa pada isolat 9 merupakan alkaloid indol yang memiliki karakteristik gugus fungsi ikatan rangkap terkonjugasi, O-H, N-H, C=C, C-O, dan C-H aromatis yang strukturnya tidak beda jauh dari senyawa alkaloid indol yang memiliki gugus aromatik, serta gugus C-O di luar struktur induknya.

4.8 Pemanfaatan Biota Laut dalam Perspektif Islam

Segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di alam semesta ini tidak ada yang sia-sia. Manusia sebagai makhluk yang paling sempurna diantara makhluk yang lain diperintahkan untuk mengkaji dan menelaah apa yang terkandung dalam firman-firmanNya sehingga manusia dapat memanfaatkan kekayaan alam dengan sebagaimana mestinya. Salah satu nikmat yang diberikan Allah SWT adalah kekayaan laut yang memiliki keanekaragaman hayati seperti terumbu karang, berbagai macam jenis ikan, rumput laut dan lain sebagainya.

Allah berfirman dalam Surat Faathir ayat 12 :

وَمَا يَسْتَوِي الْبَحْرَانِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ سَائِغٌ شَرَابُهُ وَهَذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ وَمِن كُلِّ تَأْكُلُونَ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ فِيهِ مَوَاحِرَ لَتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۗ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٢﴾

Artinya: “Dan tiada sama (antara) dua laut; yang ini tawar, segar, sedap diminum dan yang lain asin lagi pahit. dan dari masing-masing laut itu kamu dapat memakan daging yang segar dan kamu dapat mengeluarkan perhiasan yang dapat kamu memakainya, dan pada masing-masingnya kamu Lihat kapal-kapal berlayar membelah laut supaya kamu dapat mencari karunia-Nya dan supaya kamu bersyukur” (Q.S. Faathir (35) :12).

Makna dari firman Allah SWT dalam surat Faathir (35) : 12 yaitu mengenai kandungan kekayaan laut yang melimpah. Abu Ja'far Muhammad bin Jarir Ath-Thabari menjelaskan bahwa *تَأْكُلُونَ لَحْمًا طَرِيًّا* maksudnya adalah dari setiap lautan itu kita dapat memakan daging yang segar, yaitu ikan yang berasal dari laut yang tawar airnya, dan dari laut yang asin serta pahit rasanya. Beberapa contoh dari daging segar yang dapat kita makan diantaranya yaitu ikan, udang dan lain sebagainya. Pada lafadz *تَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا* maksudnya yaitu mutiara dan marjan yang dikeluarkan dari laut yang asin serta pahit airnya. Menurut Qurthubi

(2009) perhiasan adalah suatu hak yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia. Pengeluaran perhiasan dari laut yang dikenal berupa garam. Air laut mengandung kadar garam yang banyak sehingga memungkinkan alga merah *E.cottonii* tumbuh dengan baik.

Allah SWT memberikan kita karunia besar di laut untuk kita manfaatkan sebaik-baiknya dan mengkajinya untuk kemaslahatan umat. Salah satu karunia ini adalah kelimpahan rumput laut di Indonesia. Laut merupakan laboratorium yang dapat dijadikan sarana untuk pendidikan dan penelitian. Salah satu cara untuk mensyukuri kelimpahan ini ialah dengan dilakukannya pengkajian manfaat rumput laut menurut sains untuk meningkatkan taraf kehidupan manusia, hal ini ditujukan untuk menambah khazanah keilmuan kita mengenai kebesaran Allah SWT.

Rumput laut merupakan makanan laut yang halal untuk dikonsumsi, sebagaimana dalam firman Allah SWT dalam surat al Maidah ayat 96:

أَحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَعًا لَكُمْ وَلِلسَّيَّارَةِ وَحُرِّمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ مَا
 دُمْتُمْ حُرْمًا وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ ﴿٩٦﴾

Artinya: “Dihalalkan bagimu binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan; dan diharamkan atasmu (menangkap) binatang buruan darat, selama kamu dalam ihram. dan bertakwalah kepada Allah yang kepada-Nyalah kamu akan dikumpulkan”. (QS. al Maidah (05) :96)

Dalam surat al Maidah ayat 96 Lafadz صَيْدٌ menurut Ibnu Abu Talhah ialah hewan laut yang ditangkap dalam keadaan segar. Kekayaan yang berupa “binatang buruan laut”. Sedangkan menurut Ibnu Abbas yang dimaksud dengan صَيْدٌ ialah hewan laut yang ditangkap dalam keadaan hidup-hidup. Kekayaan laut

yang kedua yaitu *makanan* (yang berasal) *dari laut*. Lafadz **وَطَعَامُهُ** dalam surat al Maidah (05) : 96, menurut Sufyan Ibnu Uyaynah ialah semua makanan yang ada di dalam laut bermanfaat bagi manusia (Abdullah, 2007). Kedua kekayaan laut ini halal dan baik untuk dikonsumsi maupun dijadikan obat. Dari lafadz **وَطَعَامُهُ** dapat disimpulkan bahwa rumput laut termasuk makanan yang ada di dalam laut yang dapat kita konsumsi secara baik dan halal.

Penelitian ini mengkaji tentang bagaimana potensi bioaktivitas dari senyawa alkaloid yang terkandung dalam rumput laut *E. cottonii*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa alkaloid yang terkandung dalam *E. cottonii* memiliki potensi bioaktivitas sebagai tanaman obat. Hal tersebut ditunjukkan dengan persen mortalitas tiap konsentrasi dari ekstrak alkaloid *E. cottonii* sebesar 30 % pada konsentrasi 10 ppm dan 60 % pada konsentrasi 100 ppm.

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui pula bahwa Allah menumbuhkan dari berbagai macam tumbuhan yang baik, yaitu subur dan bermanfaat, seperti halnya *E. cottonii* yg memiliki nilai toksik. Berbeda dengan tumbuhan lainnya yang ada di daratan, *E. cottonii* memiliki kehidupan yang mungkin bisa dikatakan ekstrim. Hal tersebut dikarenakan *E. cottonii* hidup di laut. Ketika berbicara tentang lautan, maka imajinasi kita akan menerawang bahwa laut memiliki gelombang pasang yang besar, ketika siang hari terik panasnya luar biasa, ketika malam hari gelapnya tidak terkira dan suhunya pun sangat dingin. Akan tetapi dibalik kehidupan laut yang sangat ekstrim tersebut *E. cottonii* dapat tumbuh dengan baik. Bahkan *E. cottonii* memiliki nilai toksik terhadap larva udang *A.salina L* dengan diberikan senyawa yang dapat melindungi kehidupannya dari ancaman lingkungan sekitar dan pembunuh terhadap mikroorganisme yang dapat

merugikan makhluk hidup lain seperti pada penelitian yang telah dilakukan. Berdasarkan ungkapan-ungkapan di atas dapat memberikan penguatan jiwa manusia untuk mengambil pelajaran dari segala ciptaan Allah SWT terutama tumbuh-tumbuhan, karena Allah SWT menciptakan semua yang ada di dunia ini tidaklah sia-sia dari yang kecil hingga besar. Makhluk hidup (hewan, tumbuhan dan lain-lain) semuanya dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu mau berfikir.



BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstraksi senyawa alkaloid dari alga merah *E. cottonii* menghasilkan ekstrak berwarna coklat dengan rendemen 2 % dan nilai persen mortalitas pada konsentrasi 10 ppm dan 100 ppm masing-masing sebesar 30 % dan 60 %.
2. Eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa alkaloid dari ekstrak alga merah *E. cottonii* adalah eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2).
3. Hasil analisa dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR senyawa alkaloid yang terkandung dalam alga merah *E. cottonii* diduga merupakan alkaloid indol dengan panjang gelombang 284 nm, 290 nm, 337 nm yang mempunyai gugus fungsi OH, N-H, C=C, C-O, dan C-H Aromatis.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memisahkan senyawa alkaloid menggunakan metode yang lain seperti ekstraksi soxhlet, identifikasi senyawa alkaloid menggunakan instrumen C-NMR dan H-NMR untuk mengetahui jenis golongan dan struktur alkaloid yang terkandung dalam alga merah *E. cottonii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, 2007. *Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir Jilid 5*. Penerjemah M. Abdul Ghafur dan Abu Ihsan al-Astsari. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Abdushshamad, M. K. 2003. *Mukjizat Ilmiah dalam Al-Qur'an*. Jakarta: Akbar Media Eka Sarana
- Abraham, A. 2013. Uji Antitoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid dari Daun Pulau (*Alstonia scholaris*, (L) R. BR) terhadap Mencit (*Mus musculus*) Balb/C yang Terinfeksi *Toxoplasma Gondii* Strain RH. *Skripsi* Tidak diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulan Malik Ibrahim Malang
- Afif, S. 2012. Ekstraksi, Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah *Eucheuma cottonii* dari Perairan Sumenep. *Skripsi* Tidak diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulan Malik Ibrahim Malang
- Andriyani Ari. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman Yang digunakan Sebagai Obat Antidiabetes. *Skripsi* diterbitkan. Jakarta: Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Indonesia
- Anggadiredja, J. T., Zalnika, A., Purwoto, H., & Istini, S. 2006. *Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya. Guether, E.. 1987. *Minyak Atsiri*. Jakarta :Universitas Jakarta
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2006. *Official Method of Analysis*. Ed ke-18. Washington DC: Assosiation of Official Analytical Chemistry
- Arifin, H., Anggraini, N., Dian, H., dan Rasyid, R. 2006. *Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia cumini Merr. Jurnal*. Jakarta: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas
- Arlyza, I. 2005. Phycocyanin dari Mikroalga Bernilai Ekonomis Tinggi Sebagai Produk Industri, *Oseana Vol XXX No. 3: 27-36*.
- Aslan, M dan Laode. 1998. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Astuti, P., Alam, G., Hartati, M.S., Sari, D., dan Wahyuono, S. 2005. Uji Sititoksik Senyawa Alkaloid dari Spons *Petrosia* sp. Potensial Pengembangan sebagai Anti Kanker. *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 (1) 58-62, 2005
- Asy-Syanqithi.2007. *TafsirAdhwa'ul Bayan*. Jakarta: PustakaAzzam

- Berkov, S., Chilpa, R.R., Codina, C., Viladomat, F., and Bastida J. 2007. Revised NMR Data for Incartine: an Alkaloid from *Galanthus elwesii*. *Molecules*. 12. Hal: 1430-1435
- Colegate, S.M. and Molyneux, R.J. 2007. *Bioactive Natural Products: Determination, Isolation and Structural Determination Second Edition*. Francis: CRC Press
- Diah, D., dan Asih, P. 2012. Potensi Ekstrak Umbi dan Daun Ubi Jalar Ungu sebagai Inhibitor α -glukosidase. Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor. *Skripsi* diterbitkan. IPB
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta
- Doty, M.S. 1985. *Euclidean alvarezii sp.nov (Gigartinales, Rhodophyta) from Malaysia. Di dalam: Abbot IA, Norris JN (editors). Taxonomy of Economic Seaweeds*. California Sea Grant College Program
- Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Fuad, A., dan Hafid. 2005. Uji Antimalaria Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Daun *Cassia siamea* Pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei*. Fakultas Farmasi
- Fariyah. 2006. Toksisitas Ekstrk Daun Ficus Benjamina L terhadap *Artemia Salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Fessenden, R.J dan Fessenden, J.S. 1999. *Kimia Organik, Jilid 2*. Jakarta : Erlangga
- Gritter, R.J., Robbit, M. and Schwarting, S.E. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB
- Hardiningtyas, S.D. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Sarcophyton sp. yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu*. *Skripsi*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor

- Hart . H. Craine. L.E. and Hart.D.J. 2003. *Kimia Organik*. Edisi Kesebelas. Jakarta:Erlangga
- Hayati, N.A., Nurlita, P., Abdul, G., dan Febrianto. 2006. *Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma Alvarezii terhadap Artemia Salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker*. Surabaya: Insitut Teknik Sepuluh November (ITS)
- Hayati, E.K. 2007. *Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*. Malang: Universitas Islam Negeri (UIN) Malang
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya
- Hidayat, A. 2006. *Budidaya Rumput Laut*, Surabaya:Penerbit Usaha Nasional
- Istini dan Suhaimi. 1998. *Manfaat dan Pengelolaan Rumput Laut*. Jakarta : Lembaga Oseanologi Nasional
- Junaedi, W. 2004. *Rumput Laut, Jenis dan Morfologi*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pendidikan Dasar dan Menengah Kejuruan
- Juniarti. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius L.*). *Jurnal Kimia Fakultas Kedokteran Universitas YARSI Jakarta*. Vol 13, No 1: 50-54
- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press
- Khurniasari, D. W. 2004. Potensi antikanker Senyawa Bioaktif Ekstrak Kloroform Dan Metanol Makroalgae *Sargassum duplicatum J. Agardh*. Skripsi, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Jogjakarta. Jogjakarta
- Kusrini, Dewi., Muhammad, T.B.M., dan Fachriyah, E. 2013. Isolasi,Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) *Stenis*). *Jurnal Chemistry Vol 1. Jurusan Kimia FSM Universitas Diponegoro*. Semarang
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Medan: USU
- 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 Universitas Indonesia
- Luo, X.D., Jian, H.S., Xiang, H.C., Tao, F., Yun, L., Kun, W.J., and Yong, Z. 2010. Pharmacological evaluation of *Alstonia scholaris*: Anti-inflammatory and analgesic effects. *Journal of Ethnopharmacology*. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China

- Lusiana, H. 2009. Isolasi dan Uji Anti Plasmodium secara In Vitro Senyawa Alkaloid dari *Albertisia papuana* BECC. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. *Skripsi* diterbitkan. IPB
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji aktivitasnya sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*, 1 (1): 23-29
- Meyer, B. N, Ferrigni, N. R, Putnam, J. E, Jacobsen, L. B, Nichols, D. E, McLaughlin, J. L. 2009. *Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents*. *Planta Med* [serial online] 1982 May [cited 2009 January 22]; 45(5): 31-4
- Misra C.S, Kumar P, Lipin Dev M.S, Joel James, Arun Kumar T.V and Thankamani V. 2011. *A Comparative Study On Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Root of Alstonia Scholaris With The Roots, Leaves and Stem Bark*. *Phytochem. Pharmacol*. Vol. 1. No. 2: 77-82
- Mudjiman, A. 1985. *Makanan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Muhibah, S. R. N. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan Uji Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) dari Pantai Lobuk Madura. *Skripsi* Tidak diterbitkan
- Mulyana. 2002. Ekstraksi Senyawa Aktif Alkaloid, Kuinon, dan Saponin dari Tumbuhan Kecubung Sebagai Larvasida dan Insektisida Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi* Diterbitkan. Jurusan Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor
- Murtadlo, Y. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Semarang. Universitas Diponegoro
- Nassel, F.M. 2008. Isolasi Alkaloid Utama dari Yumbuhan *Lerchea Interrupta* Korth. Tenaga Fungsional. Jambi
- Nur MA, Adjuwana HA. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: ITB
- Oratmangun, S.A, dkk. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) Terhadap *Arthemisa salina* dengan Metode *Brine*

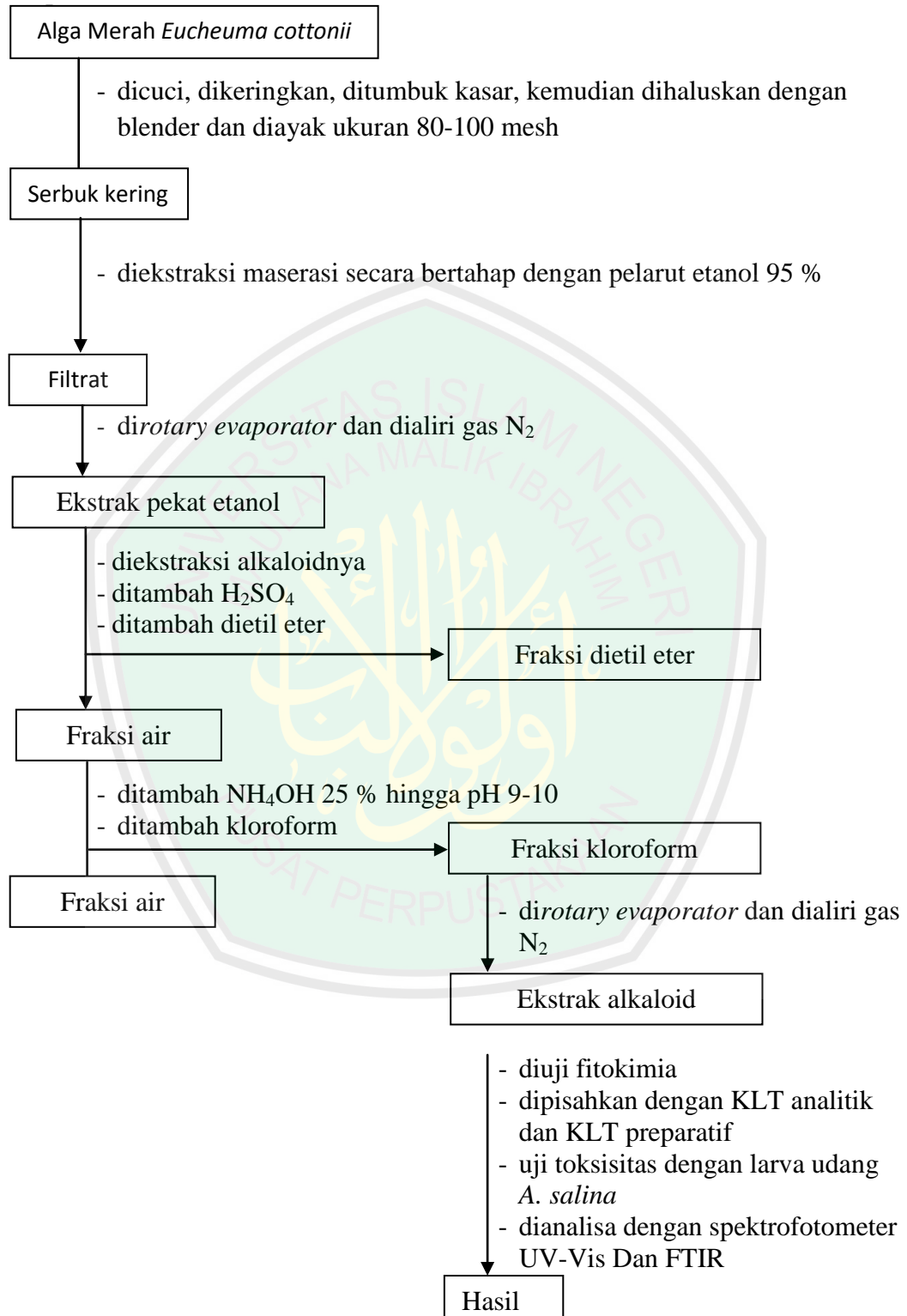
Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai Studi Pendahuluan Potensi Anti Kanker. Jurnal Ilmiah Farmasi-Unstrat Vol. 3 No. 3 ISSN 2302-2493

- Pavia, D.L *et al.* 1996. *Introduction To Spectroscopya Guide for Student of Organic Chemistry*. Washington: Washington University
- Qurthubi, S., I. 2009. *Tafsir Al Qurthubi. Jilid 14*. Penj. Hamid A.,Rosyadi D., Affandi M.Jakarta: Pustaka Azzam
- Rasyid, A. 2004. Berbagai Manfaat Algae, Oseana Vol XXIX No.3 : 9-15. [http // www.Oseanografi.lipi.go.id](http://www.Oseanografi.lipi.go.id)
- Rita,W.S., Suirta, I.W. dan Sabirin, A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi Sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (*Momordica carantia* L). *Jurnal Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana* 2(1), ISSN 1907-9850: 1-6
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Sastrohamidjojo. H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Sastrohamidjojo. H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: UGM Press
- Saxena, N., Shrivastava, P.N., and Saxena, C. 2012. *Preliminary Physico-Phytochemical Study of Stem Bark of Alstonia scholaris (L.) R. BR. – A Medicinal Plant*. Department of Botany, S. S. L. Jain P. G. College , Vidisha- 464 001, Madhya Pradesh, India
- Socrates, G. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequensies Tables and Charts*. New York. John Wiley and Sons
- Soemirat, J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Sudarmadji, S. 1996. *Teknik Analisis Biokimia*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Sudarmadji, S dan Gunawan, D. 2003. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A.Gray) Terhadap *Candida albicans* Serta Profil Kromatografinya.
- Sulistijowati, S dan Gunawan, D. 2001. *Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (Tithonia difersifolia A. Gray) Terhadap Candida albicans Serta Profil Kromatografinya*. Jakarta: Pusat Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan

- Suseno, J.E., dan Firdausi, K.S. 2008. Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi. *Berkala Fisika* Vol 11 No.1: 23-28
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandhi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press
- Widi, R.K., dan Indriati, T. 2007. Penjaringan dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava Merr*). *Jurnal Ilmu Dasar FMIPA Universitas Surabaya*. Vol 8, No 1 : 24-29
- Widodo, N. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
- Winarno, F.G. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*, Bogor
- Yunita. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens L.*) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif. *Skripsi* Diterbitkan. Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Indonesia
- Yustina. 2008. *Daya Antibakteri Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculumvulgare mill*) dan Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reinwardtii bl*)*http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/yustina.pdf. (diunduh tanggal 01 Desember 2013)
- Zuhud, Ervival. 2011. *Kanker Lenyap Berkat Sirsak*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka

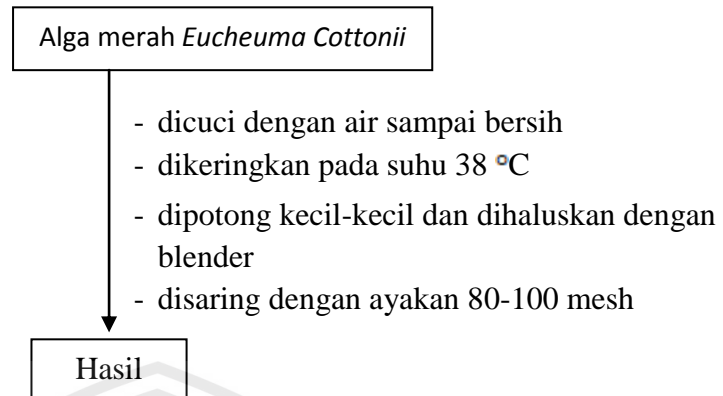
LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian

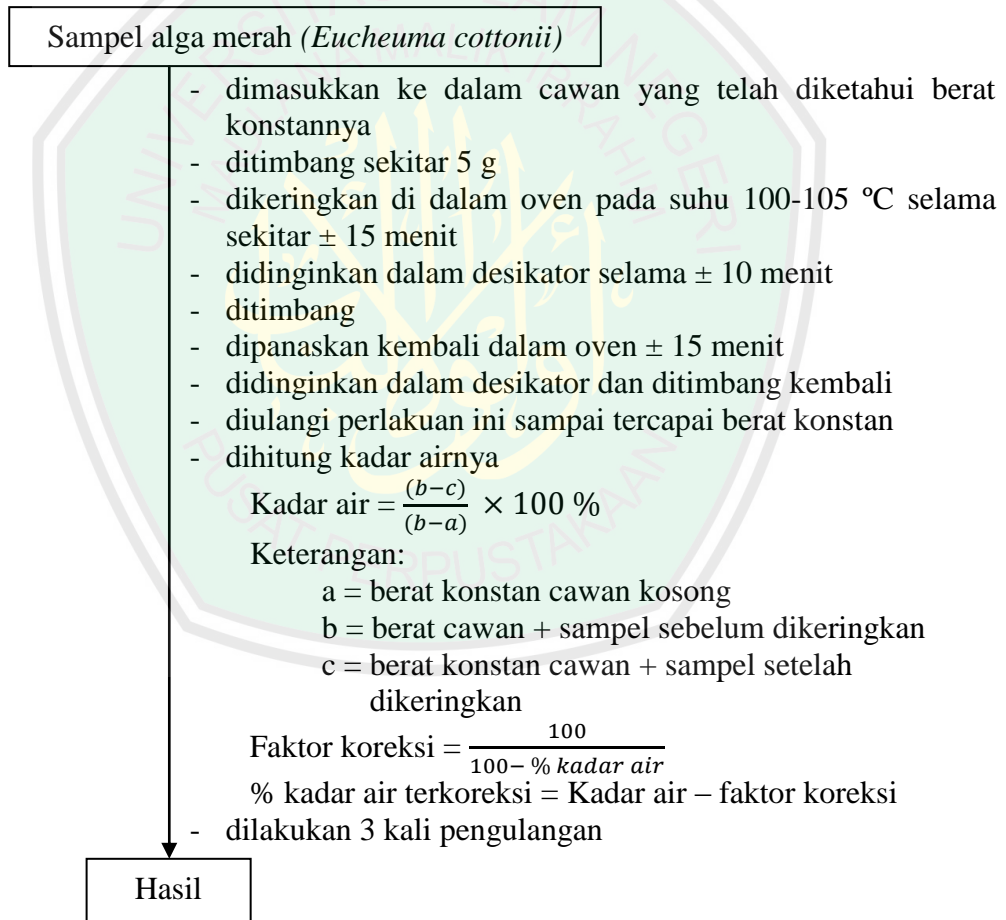


Lampiran 2 Skema Kerja

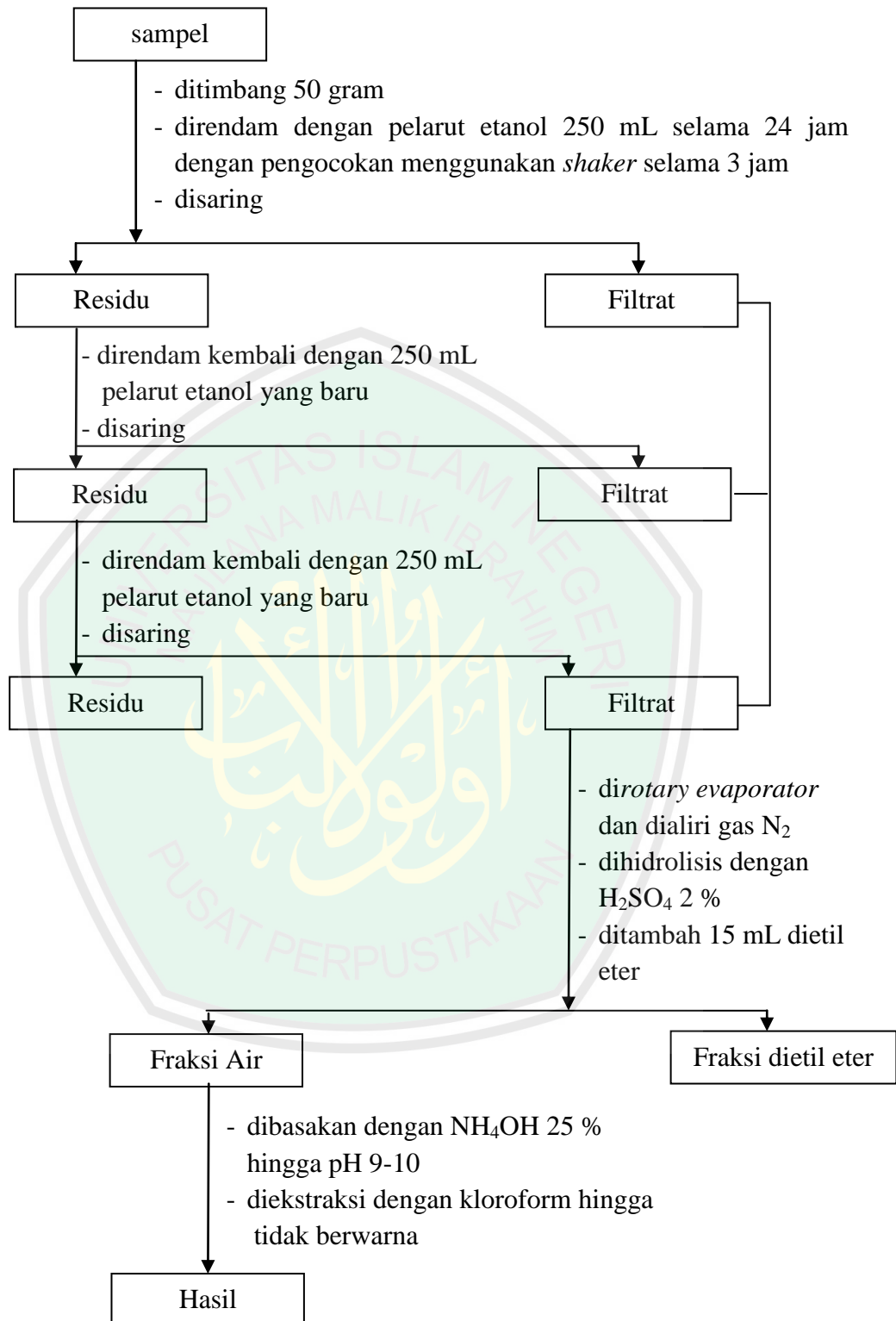
L.2.1 Preparasi Sampel



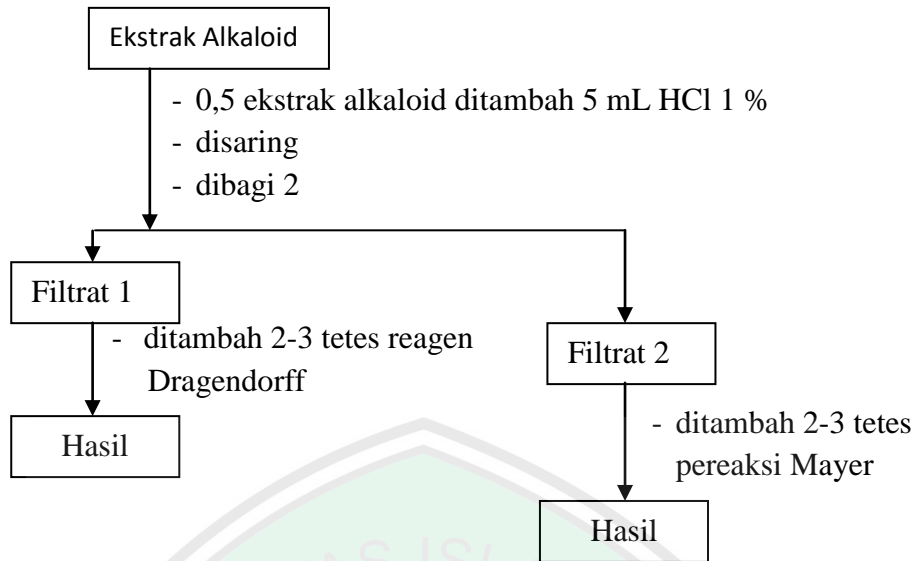
L.2.2 Analisis kadar air



L.2.3 Ekstraksi Alkaloid

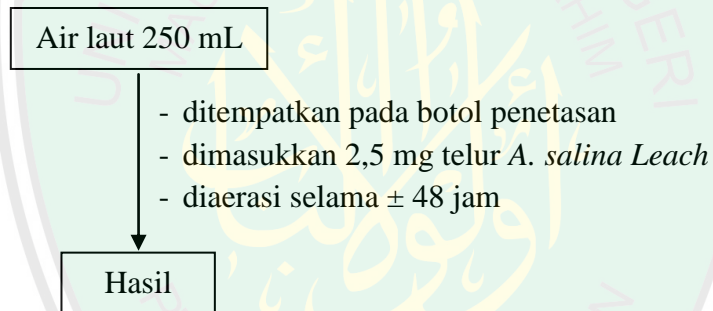


L.2.4 Uji Fitokimia

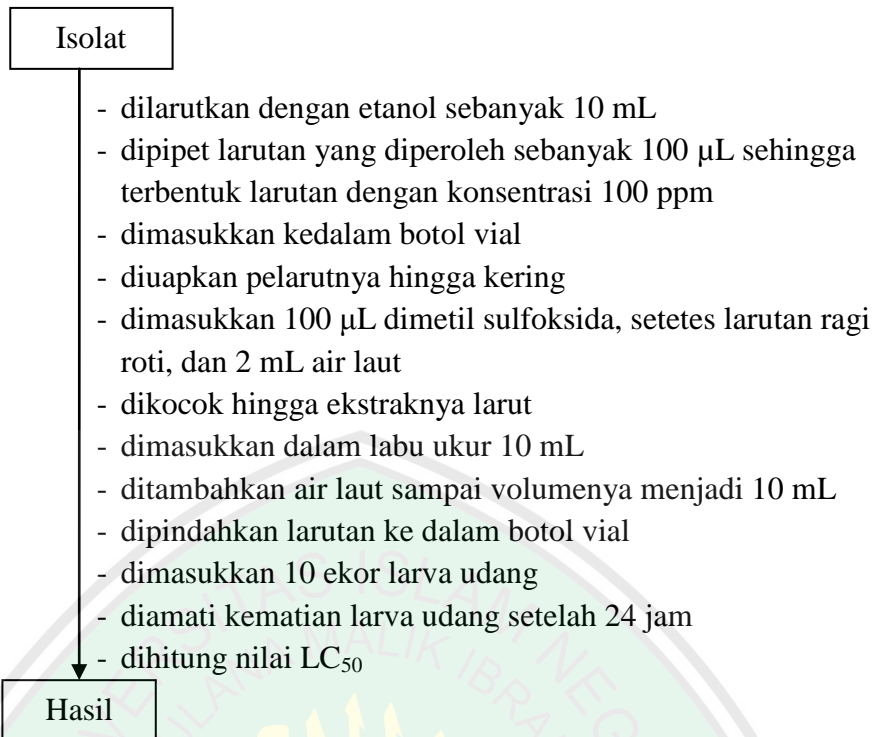


L.2.5 Uji Toksisitas Alkaloid dengan Larva Udang *A. salina* Leach

L.2.5.1 Penetasan Telur

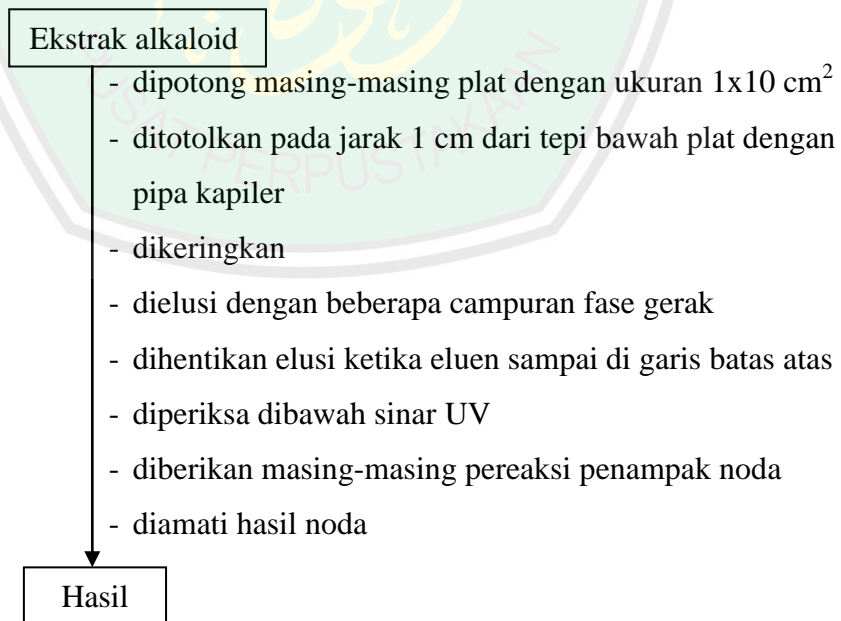


L.2.5.2 Uji Toksisitas

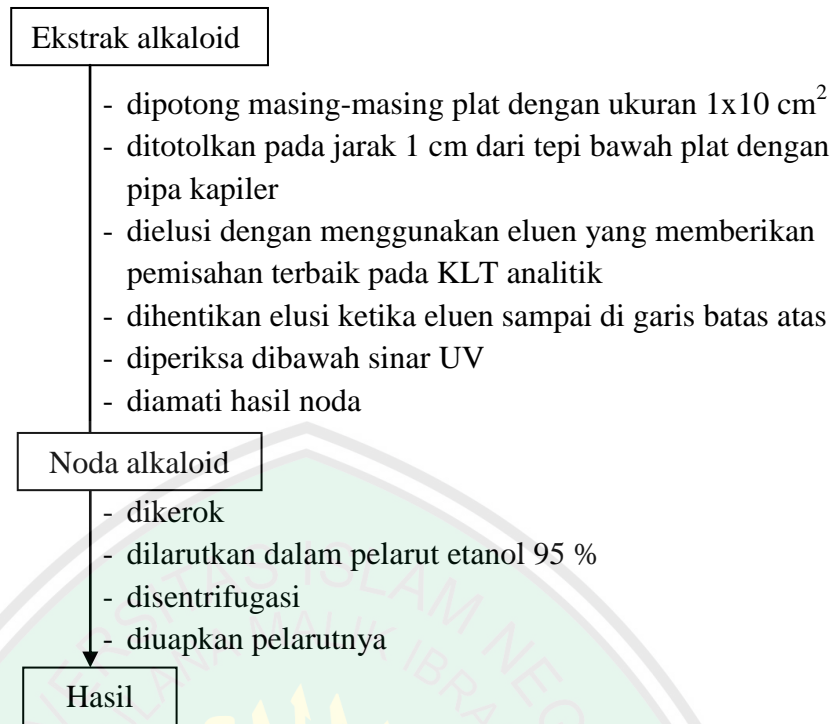


L.2.6 Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT

L.2.6.1 KLT Analitik

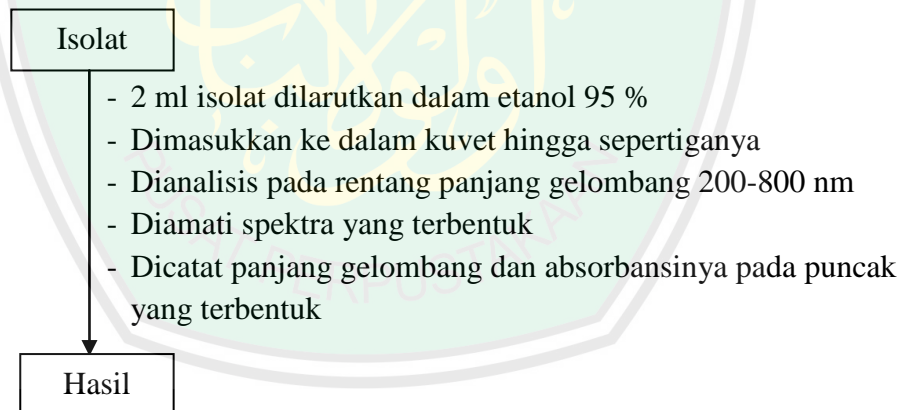


L.2.6.2 KLT Preparatif

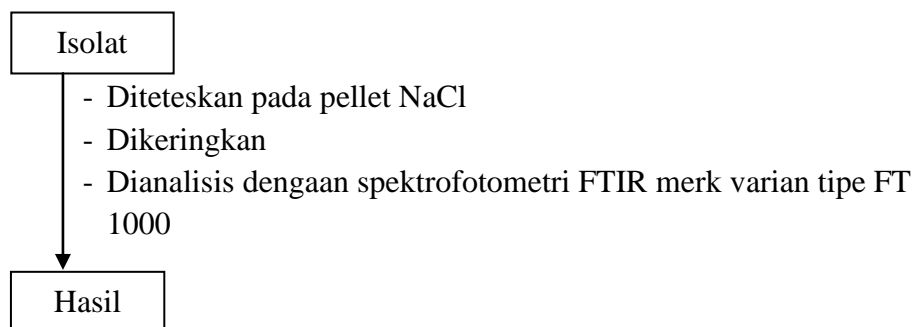


L.2.7 Analisa Senyawa Alkaloid

L.2.7.1 Analisa Senyawa Alkaloid dengan Spektrofotometer UV-Vis



L.2.7.2 Analisa senyawa Alkaloid dengan Spektrofotometer FTIR



Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Larutan

L3.1 Pembuatan HCl 1 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 1 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,27 \text{ mL}$$

Teknis Pembuatan:

Cara pembuatan larutan HCl 2 % adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL akuades. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

L.3.2 Pembuatan larutan H₂SO₄ 2 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$98 \% \times V_1 = 2 \% \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,04 \text{ mL}$$

Teknis Pembuatan:

Cara pembuatan larutan H₂SO₄ 50 % adalah dipipet larutan H₂SO₄ pekat 98 % sebanyak 2,04 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL akuades. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

L.3.3 Pembuatan Reagen Dragendorff

I. 0,6 gram bismuth subnitrat dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H₂O

II. 6 gram KI dalam 10 mL H₂O.

Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H₂O (Harborne, 1987).

Teknis Pembuatan:

Sebanyak 0,6 gram bismuth subnitrat ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang pertama. Kemudian dipipet sebanyak 10 mL H₂O dengan menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang kedua. Selanjutnya dipipet 2 ml HCl pekat dengan menggunakan pipet ukur 5 mL ke dalam beaker glass 25 mL yang kedua. Kemudian setelah bercampur, campuran larutan yang ada dalam beaker glass 25 mL yang kedua dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang pertama.

Sebanyak 6 gram KI ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Kemudian dipipet sebanyak 10 mL dengan menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL.

Selanjutnya dipipet sebanyak 15 mL H₂O dengan menggunakan pipet ukur 25 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL yang ketiga. Selanjutnya dipipet 7 mL HCl pekat dengan menggunakan pipet ukur 10 mL ke dalam beaker glass 25 mL yang ketiga. Kemudian setelah bercampur, campuran larutan yang ada dalam beaker glass 25 mL yang ketiga dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL.

L.3.4 Pembuatan Reagen Mayer

- | | |
|----------------------|------------|
| A. HgCl ₂ | 1,358 gram |
| Akuades | 60 mL |
| B. KI | 5 gram |
| Akuades | 10 mL |

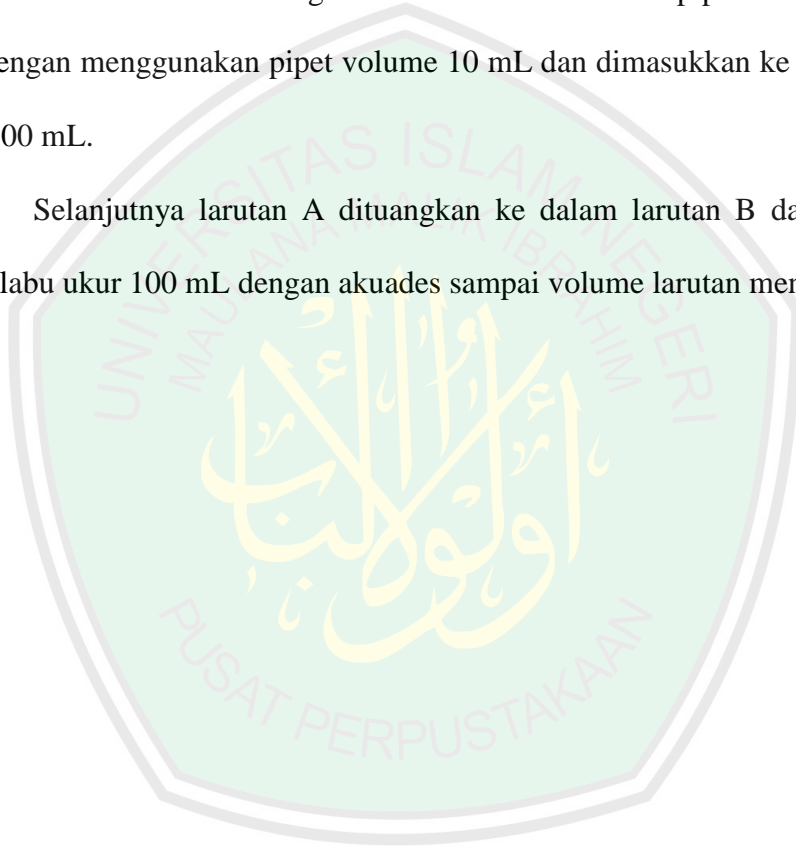
Cara membuatnya adalah dituangkan larutan A ke dalam larutan B, diencerkan dengan akuades sampai volume larutan menjadi 100 mL.

Teknis Pembuatan:

Larutan A: sebanyak 1,358 gram HgCl_2 ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian dipipet sebanyak 60 mL H_2O dengan menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL.

Larutan B: sebanyak 5 gram KI ditimbang dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian dipipet sebanyak 10 mL H_2O dengan menggunakan pipet volume 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL.

Selanjutnya larutan A dituangkan ke dalam larutan B dan diencerkan dalam labu ukur 100 mL dengan akuades sampai volume larutan menjadi 100 mL



Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air

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

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi}$$

Keterangan: a = berat cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum di oven
c = berat cawan + sampel

L.4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Segar

L.4.1.1 Pengukuran Berat Cawan Sampai Konstan

Pengulangan	Berat cawan kosong (gr)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	58,6612	57,4404	56,8877
Pengulangan 1	58,6571	57,4369	56,8840
Pengulangan 2	58,6557	57,4362	56,8831
Pengulangan 3	58,6557	57,4361	56,8830
Rata-rata berat konstan (gr)	58,6561	57,4364	56,8833

L.4.1.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Segar Sampai Konstan

Pengulangan	Berat cawan kosong + sampel segar (gr)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	63,6664	62,0841	61,8995
Pengulangan 1	59,0791	57,8548	57,3137
Pengulangan 2	59,0754	57,8536	57,3121
Pengulangan 3	59,0753	57,8536	57,3120
Rata-rata berat konstan (gr)	59,0766	57,854	57,3126

$$\begin{aligned} \text{a. Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(63,6664-59,0766)}{(63,6664-58,6561)} \times 100 \% \\ &= \frac{4,5898}{5,0103} \times 100 \% = 91,60 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(62,0841-57,854)}{(62,0841-57,4364)} \times 100 \% \\
 &= \frac{4,2301}{4,6477} \times 100 \% = 91,01 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(61,8995-57,3126)}{(61,8995-56,8833)} \times 100 \% \\
 &= \frac{4,5869}{5,0162} \times 100 \% = 91,44 \%
 \end{aligned}$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{91,60 \% + 91,01 \% + 91,44 \%}{3} = 91,35 \%$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100 \% - 91,35 \%} \\
 &= 11,56 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 91,35 \% - 11,56 \% \\
 &= 79,79 \%
 \end{aligned}$$

L.4.2 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering

L4.2.1 Pengukuran Berat Cawan Sampai Konstan

Pengulangan	Berat cawan kosong + sampel segar (gr)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	51,7745	55,0536	53,8135
Pengulangan 1	51,7739	55,0524	53,8132
Pengulangan 2	51,7736	55,0520	53,8128
Pengulangan 3	51,7736	55,0519	53,8127
Rata-rata berat konstan (gr)	51,7737	55,0521	53,8129

L.4.2.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering Sampai Konstan

Pengulangan	Berat cawan kosong + sampel segar (gr)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	56,7723	60,0505	58,9236
Pengulangan 1	56,3629	59,6994	58,4631
Pengulangan 2	56,3626	59,6992	58,4627
Pengulangan 3	56,3626	59,6991	58,4626
Rata-rata berat konstan (gr)	56,3627	59,6993	58,4628

$$\begin{aligned}
 \text{a. Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(56,7723-56,3627)}{(56,7723-51,7737)} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4096}{4,9986} \times 100 \% = 8,19 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(60,0505-59,6993)}{(60,0505-55,0521)} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,3512}{4,9981} \times 100 \% = 7,02 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\
 &= \frac{(58,9236-58,4628)}{(58,9236-53,8129)} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,4608}{5,1107} \times 100 \% = 9,01 \%
 \end{aligned}$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{8,19 \% + 7,02 \% + 9,01 \%}{3} = 8,07 \%$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100 \% - 8,07 \%}
 \end{aligned}$$

$$= 1,08 \%$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 8,07 \% - 1,08 \% \\
 &= 6,99 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5 Perhitungan Rendemen

L.5.1 Rendemen Ekstrak Etanol 95 % *E. cottonii*

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 89,2295 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 92,8314 gram

Berat ekstrak pekat = 3,60 gram

Berat sampel = 100 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{3,60 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 3,60 \%\end{aligned}$$

L.5.2 Rendemen Ekstrak Kasar Alkaloid *E. cottonii*

Diketahui:

Berat beaker glass kosong = 68,4145 gram

Berat beaker glass + ekstrak alkaloid = 68,4346 gram

Berat sampel = 100 gram

Berat ekstrak alkaloid yang diekstraksi = 3,52 gram

Berat ekstrak kasar alkaloid = 0,02

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak kasar alkaloid}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,02 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 0,005 \%\end{aligned}$$

**Lampiran 6. Data Kematian Larva dan Perhitungan Persen Mortalitas
Ekstrak Alkaloid *Eucheuma cottonii***

Konsentrasi	Jumlah artemia salina yang mati				% mortalitas terkoreksi
	I	II	III	Modus	
0*	0	0	0	0	0
00*	0	0	0	0	0
10	3	3	4	3	30
100	6	6	7	6	60

0* Kontrol DMSO

00* Kontrol Pelarut

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Modus}}{\text{Jumlah Hewan Uji}} \times 100\%$$

$$\% \text{ mortalitas (10 ppm)} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$\% \text{ mortalitas (100 ppm)} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60 \%$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah Hewan Uji}$$

Mortalitas	Jumlah Hewan	Konsentrasi
0	30	0*
0	30	00*
9	30	10
18	30	100

$$\text{Mortalitas 10 ppm} = \frac{30}{100} \times 30 = 9$$

$$\text{Mortalitas 100 ppm} = \frac{60}{100} \times 30 = 18$$

LAMPIRAN 7 Dokumentasi Penelitian

L.7.1 Preparasi Sampel *E. cottonii*



Gambar 1. Alga Merah
E.cottonii



Gambar 2. *E.cottonii*
setelah dikeringkan



Gambar 3. Serbuk
E.cottonii

L.7.2 Ekstraksi Maserasi



Gambar 4. Serbuk
E.cottonii saat di shaker



Gambar 5. Filtrat
E.cottonii



Gambar 6. Pemekatan
ekstrak etanol
E.cottonii



Gambar 7. Hasil
ekstrak pekat *E.cottonii*

L.7.3 Ekstraksi Alkaloid



Gambar 8. Campuran ekstrak pekat dengan H_2SO_4



Gambar 9. Larutan asam + dietil eter



Gambar 10. Pembasaan dengan NH_4OH 25 %



Gambar 11. Larutan Air



Gambar 12. Lapisan air + kloroform



Gambar 13. Fraksi Kloroform



Gambar 14. Ekstrak kasar Alkaloid

L.7.4 Hasil Uji Fitokimia (Uji Reagen) Ekstrak Kasar Alkaloid



Gambar 15. Positif Alkaloid dengan Reagen Dragendorf



Gambar 16. Positif Alkaloid dengan Reagen Mayer

L.7.5 Uji Toksisitas dengan Menggunakan Larva Udang *Arthemia Salina* L



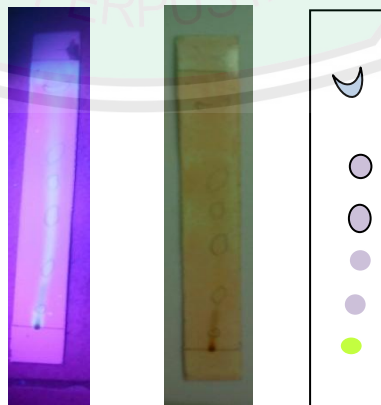
Gambar 17. Penetasan Telur



Gambar 18. Uji Toksisitas

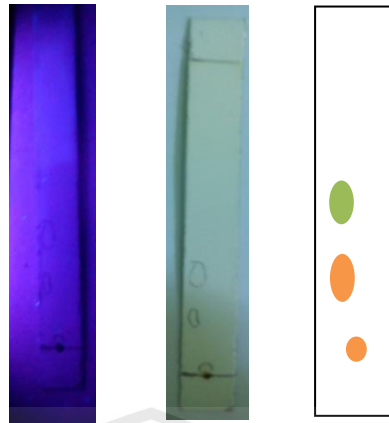
L.7.6 Hasil Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Analitik

a



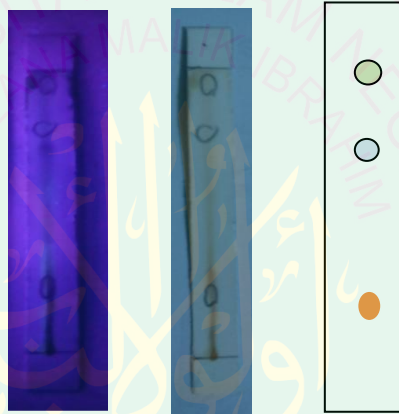
Gambar 19. pemisahan dengan eluen Kloroform : Aseton (1:3)

b.



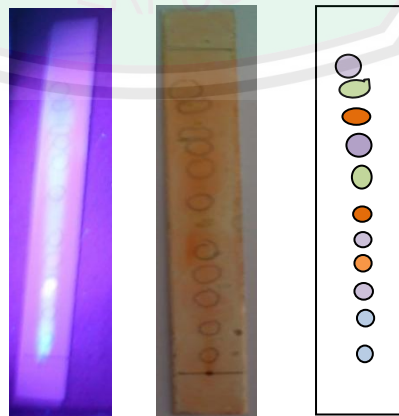
Gambar 20. Eluen etil asetat : metanol : n-heksan (2 : 1 : 30)

c.



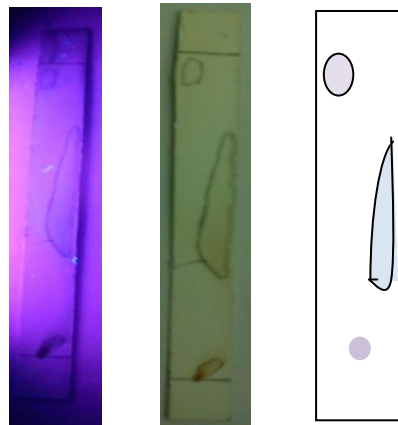
Gambar 21. Identifikasi dengan eluen klorofom : etanol (9 : 1)

d.



Gambar 22. Identifikasi dengan eluen etil asetat : metanol : air (6 : 4 : 2)

e.



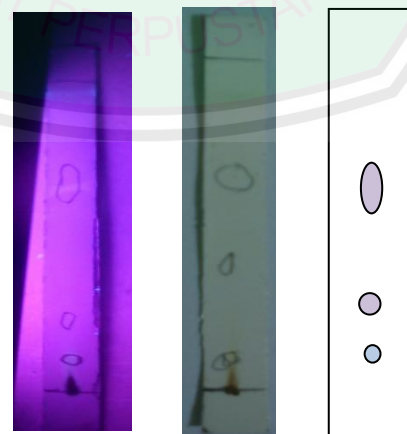
Gambar 23. Identifikasi dengan eluen aseton : metanol (9 : 1)

f



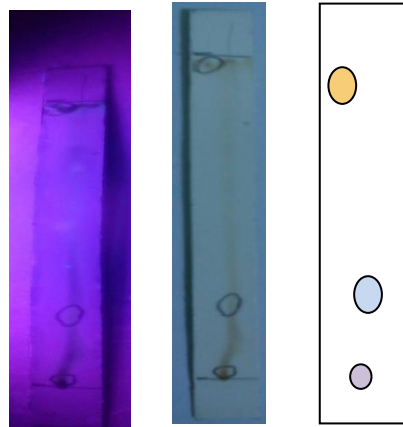
Gambar 24. Identifikasi dengan eluen metanol : kloroform (0,5 : 9,5)

g



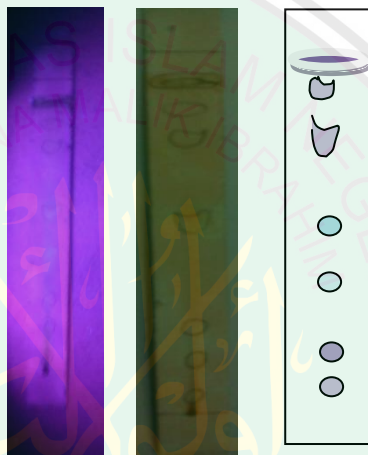
Gambar 25. Identifikasi dengan eluen kloroform : n-heksan (2 : 1)

h



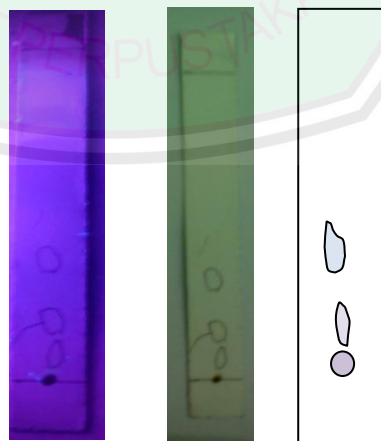
Gambar 26. Identifikasi dengan eluen kloroform : metanol (2 : 1)

i



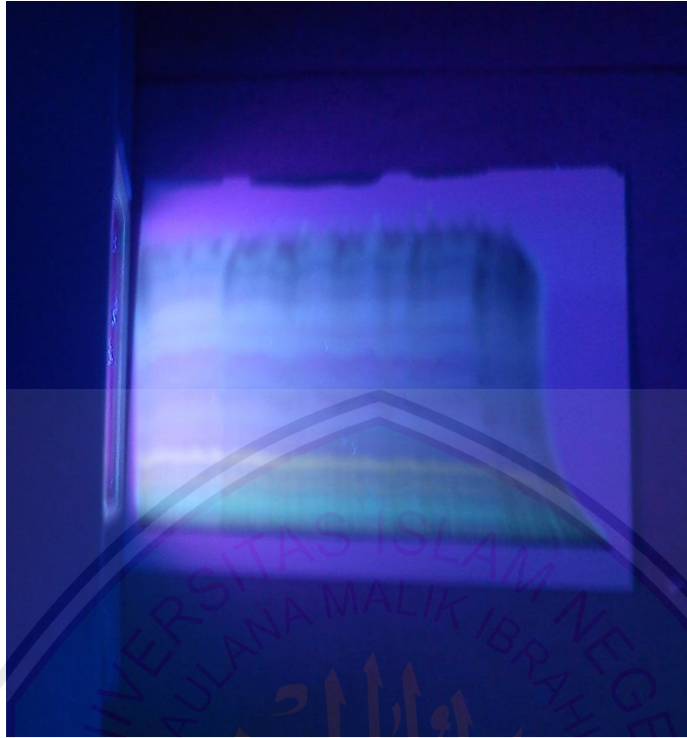
Gambar 27. Identifikasi dengan eluen kloroform : aseton : metanol (20 : 3 : 2)

j



Gambar 28. Identifikasi dengan eluen n-heksan : etil asetat : etanol (30 : 2 : 1)

L.7.7 Hasil Pemisahan dengan KLT Preparatif



Gambar 29. Pemisahan dengan KLT Preparatif