

Bidang Fokus : Pangan dan Pertanian

Laporan Akhir

**PENELITIAN FUNDAMENTAL
Tahun 1 dari 3 Tahun**



Judul :

**Karakterisasi Senyawa Antioksidan Rumput Laut
Eucheuma spinosum
Sebagai Pangan Fungsional dari Perairan Sulawesi Utara**

TIM PENELITI

**Dr. Ir. Lena J. Damongilala, M.Si NIDN:0021026203
Defny S. Wewengkang, SPIK.,MSc.,PhD. NIDN:0009127302
Ir. Fitje Losung, M.Si NIDN:0010026104**

**UNIVERSITAS SAM RATULANGI
MANADO
September 2017**

Dibiayai oleh

**Direktorat Riset & Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset & Pengembangan
Kementrian Riset, Teknologi, & Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan kontrak penelitian Tahun Anggaran 2017**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Karakterisasi Senyawa Antioksidan Rumput Laut
Euचेuma spinosum Sebagai Pangan Fungsional dari
Perairan Sulawesi Utara

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. Ir LENA JEANE DAMONGILALA, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi
NIDN : 0021026203
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan
Nomor HP : +6281244449462
Alamat surel (e-mail) : ldamongilala@yahoo.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : DEFNY SILVIA WEWENGKANG S.PIK.,MSc.,PhD
NIDN : 0009127302
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

Anggota (2)
Nama Lengkap : Ir. LOSUNG FITJE M.Si
NIDN : 0010026104
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 77,500,000
Biaya Keseluruhan : Rp 299,330,000



Mengetahui,
Ketua LPPM Unsrat

(Prof. Dr. Ir. Ineke F. M. Rumengan, M.Sc)
NIP/NIK 195711051984032001

Kota Manado, 8 - 9 - 2017
Ketua,

(Dr. Ir LENA JEANE DAMONGILALA, M.Si)
NIP/NIK 196202211988032002

Identitas dan Uraian Umum

IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian : Karakterisasi Senyawa Antioksidan Rumput Laut *Eucheuma spinosum* Sebagai Pangan Fungsional dari Perairan Sulawesi Utara

2. Tim Peneliti

| No | Nama | Jabatan | Bidang Keahlian | Instansi Asal | Alokasi Waktu (jam/minggu) |
|----|---|------------------|-----------------|---------------------------|----------------------------|
| 1 | Dr. Ir LENA JEANE DAMONGILALA M.Si | Ketua Pengusul | - | Universitas Sam Ratulangi | 12.00 |
| 2 | DEFNY SILVIA WEWENGKANG S.PIK.,MSc.,PhD | Anggota Pengusul | - | Universitas Sam Ratulangi | 10.00 |
| 3 | Ir. LOSUNG FITJE M.Si | Anggota Pengusul | - | Universitas Sam Ratulangi | 10.00 |

3. Objek Penelitian (jenis material yang akan diteliti dan segi penelitian):
Jenis material yang akan diteliti adalah rumput laut merah spesies *Eucheuma spinosum*
4. Masa Pelaksanaan
Mulai tahun: 2017
Berakhir tahun: 2019
5. Usulan Biaya DRPM Ditjen Penguatan Risbang
- Tahun ke-1: Rp99,500,000
- Tahun ke-2: Rp99,980,000
- Tahun ke-3: Rp99,850,000
6. Lokasi Penelitian (lab/studio/lapangan)
Penelitian Tahap I di laboratorium Penanganan dan Pengolahan Hasil Perikanan dan Biologi Molekuler dan Biofarmasitika Laut FPIK. Tahap II dan III di
7. Instansi lain yang terlibat (jika ada, dan uraikan apa kontribusinya)
Laboratorium Pelayanan dan penelitian Kimia Universitas Padjadjaran Bandung. Instansi ini berkontribusi dalam proses pelaksanaan uji-uji sampel *Eucheuma spinosum*. Kebutuhan alat dan bahan-bahan kimia tersedia memadai sehingga pelaksanaan penelitian berjalan lancar
8. Temuan yang ditargetkan (produk atau masukan untuk kebijakan)
1). Mendapatkan massa dan konsentrasi pelarut yang menghasilkan aktifitas antioksidan yang lebih tinggi melalui metode ekstraksi dengan beberapa konsentrasi pelarut metanol terhadap *Eucheuma spinosum* yang dibudidayai di perairan Sulawesi Utara. 2) Mendapatkan senyawa yang beraktifitas antioksidan melalui metode DPPH. 3) Mendapatkan karakteristik senyawa murni melalui proses isolasi. Struktur senyawa dan kemampuan dari isolat murni *Eucheuma spinosum* antiosidan berpotensi sebagai pangan fungsional. Metode yang digunakan yaitu ekstraksi dengan pelarut metanol diikuti tahap pemurnian dengan metode fraksinasi kromatografi kolom dan KLT dengan pengujian kualitatif antioksidan dengan metode kromatografi lapis tipis bioautografi. Tahapan penelitian yang direncanakan yaitu : Tahun I, ekstraksi rumput laut (*Eucheuma spinosum*) dan menguji aktifitas senyawa aktif antioksidan dengan metode DPPH IC50. Dan uji Fitokimia. Tahun kedua (II), isolasi senyawa aktif antioksidan dengan metode kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT) uji DPPH penghambatan radikal bebas hayati yang kaya bahan bioaktif. Tahun ketiga (III), Penentuan struktur senyawa murni dengan metode spektroskopi NMR, IR, dan UV, dan mengukur aktivitas antioksidan DPPH dari senyawa murni antioksidan, serta Menguji sifat antibakteri senyawa murni dengan metode difusi agar dengan cara sumur Kirby-Baurer.
9. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu (uraikan tidak lebih dari 50 kata, tekankan pada gagasan fundamental dan orisinal yang mendukung pengembangan iptek)
Hasil penelitian membuktikan bahwa senyawa bioaktif mempunyai aktivitas fisiologi-farmakologis sebagai antioksidan, antimicrobial, antikanker, anti-inflamatory, antipenuaan, dan anti-neurodegradasi. Ekstraksi dan pemurnian senyawa bioaktif dalam tumbuhan laut dilakukan sebagai upaya pemanfaatan untuk pengembangan dan meningkatkan ilmu dalam bidang pangan dan farmasi. Proses ekstraksi dengan berbagai konsentrasi pelarut metanol, pengujian fitokimia, dan karakterisasi struktur senyawa antioksidan, diharapkan tersedia antioksidan alami dan spesifik dari rumput laut khususnya *Eucheuma spinosum*. Kekayaan alam ini belum dieksplorasi secara sempurna. Salah satu kekayaan laut perairan Sulawesi Utara adalah rumput laut
10. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran (tuliskan nama terbitan berkala ilmiah internasional bereputasi, nasional terakreditasi, atau nasional tidak terakreditasi dan tahun rencana publikasi)
- Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI), ISSN 2303-2111. Rencana Publikasi pada Vol. 20, No.3 Oktober 2018. - International Journal of Chem Tech Research CODE (USA): IJCRGG ISSN. 0974-4290. Rencana Publikasi Tahun 2019.
11. Rencana luaran HKI, buku, purwarupa atau luaran lainnya yang ditargetkan, tahun rencana perolehan atau penyelesaiannya

-
- Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional, tahun ke-2 Target: draft
 - Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional, tahun ke-3 Target: reviewed
 - Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi, tahun ke-1 Target: draft
 - Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi, tahun ke-2 Target: draft
 - Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi, tahun ke-3 Target: accepted/published
 - Pemakalah dalam pertemuan ilmiah Nasional, tahun ke-2 Target: belum/tidak ada
 - Pemakalah dalam pertemuan ilmiah Internasional, tahun ke-3 Target: belum/tidak ada
 - Buku Ajar (ISBN), tahun ke-3 Target: draft
 - Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT), tahun ke-1 Target: Skala 2

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| HALAMAN PENGESAHAN | i |
| IDENTITAS DAN URAIAN UMUM | ii |
| RINGKASAN | iii |
| PRAKATA | iv |
| DAFTAR ISI | v |
| DAFTAR TABEL | vi |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN | 7 |
| BAB 4. METODE PENELITIAN | 11 |
| BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI | 13 |
| BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA | 15 |
| BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN | 19 |
| DAFTAR PUSTAKA | 20 |
| LAMPIRAN | 21 |
| Lampiran 1. Dokumentasi Produk Penelitian | |
| Lampiran 2. Sertifikat Pemakalah Seminar Nasional | |

RINGKASAN

Penelitian terdahulu dari rumput laut *Eucheuma spinosum* memiliki aktifitas antioksidan yang lebih tinggi dari jenis lain. **Tujuan jangka pendek** penelitian ini yaitu : 1) Mendapatkan ekstrak antioksidan jenis rumput *Eucheuma spinosum* yang diekstraksi dengan metode maserasi dan sokletasi dengan berbagai konsentrasi pelarut methanol 2) Mendapatkan senyawa yang beraktifitas antioksidan sebagai bahan pangan dan farmasi dari rumput laut. 3) Mendapatkan karakteristik senyawa murni melalui proses isolasi. **Urgensi** penelitian ini ialah mendapatkan struktur senyawa dan kemampuan dari isolat murni *Eucheuma spinosum* sebagai antiosidan yang berpotensi sebagai pangan fungsional. Metode yang digunakan yaitu ekstraksi dengan pelarut metanol ikuti tahap pemurnian dengan metode fraksinasi kromatografi kolom dan KLT dengan pengujian kualitatif antioksidan dengan metode kromatografi lapis tipis bioautografi. Tahapan penelitian yang direncanakan yaitu : Tahun I, ekstraksi rumput laut *Eucheuma spinosum* dan menguji aktifitas senyawa aktif antioksidan dengan metode DPPH IC₅₀. Uji BSLT. Tahun kedua (II), isolasi senyawa aktif antioksidan dengan metode kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT) uji DPPH penghambatan radikal bebas hayati yang kaya bahan bioaktif dan uji fitokimia. Tahun ketiga (III), Penentuan struktur senyawa murni dengan metode spektroskopi NMR, IR, dan UV, dan mengukur aktivitas antioksidan DPPH dari senyawa murni antioksidan, serta Menguji sifat antibakteri senyawa murni dengan metode difusi agar dengan cara sumur Kirby-Baurer. **Luaran** penelitian yaitu : Internasional journal of Chem Tech Research CODE(USA): IJCRGG ISSN.0974-4290 dan jurnal nasional terakreditasi Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI) ISSN 2303-2111, serta bahan ajar.

Keyword: Karakterisasi, antioksidan, antibakteri, *Eucheuma spinosum*.

BAB. 1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Antioksidan merupakan senyawa bioaktif yang sangat diperlukan sebagai bahan baku dalam berbagai sediaan makanan, sediaan farmasi, dan kosmetika. Keberadaan senyawa ini tersimpan dalam jaringan sel tumbuhan. Ekstraksi adalah cara yang dapat dilakukan untuk memisahkan senyawa bioaktif dengan menggunakan berbagai pelarut organik, karena bersifat sukar larut dalam air.

Rumput laut merupakan hasil laut yang dikenal dengan nama ilmiah *alga*, memiliki peran penting sebagai bahan pangan maupun bahan baku farmasi. Tanaman laut ini adalah salah satu sumber devisa Negara dan bagi masyarakat pesisir sebagai sumber pendapatan ekonomi. Komoditi laut ini sangat populer dalam perdagangan dunia karena pemanfaatan dalam kehidupan sehari-hari yang sangat luas. Sejauh ini produksi rumput laut Indonesia sebagai penyumbang utama produksi perikanan budidaya. Produksi rumput laut terus meningkat setiap tahun, mulai dari 2,574 juta ton pada tahun 2009. Target produksi rumput laut Indonesia Tahun 2010 sebanyak 3,082 juta ton melampaui target awal yang ditetapkan sebanyak 2,574 juta ton. Pemerintah melalui Kementerian Kelautan Perikanan menargetkan produksi rumput laut pada tahun 2011 sebanyak 3,504 juta ton. Menilik manfaat antioksidan dalam berbagai bidang dan makin meningkatnya permintaan luar negeri, maka penyediaan antioksidan perlu ditingkatkan dengan meningkatkan produksi *Eucheuma spinosum*. Selama ini penelitian terhadap rumput laut/alga laut masih terhadap pengolahan karagenan dan pigmen baik untuk industri maupun bahan ekspor.

Perairan Sulawesi Utara termasuk dalam wilayah Indonesia, memiliki keanekaragaman hayati yang kaya bahan bioaktif. Kekayaan alam ini belum dieksplorasi secara sempurna. Salah satu kekayaan laut perairan Sulawesi Utara adalah rumput laut (*alga*). Perairannya menyimpan potensi pengembangan budidaya rumput laut diantaranya, jenis *Eucheuma cottonii* dan *E. spinosum*. Rumput laut ini telah dibudidayakan pada beberapa lokasi antara lain pulau Nain, Likupang, Wori, Tumpaan, Lembean, Belang, Bitung dan Sangihe. Permasalahan dalam pemanfaatan alga laut *Eucheuma sp.* yang dibudidaya dari perairan Sulawesi Utara yaitu aktifitas, sifat, dan karakteristik dari senyawa antioksidannya, belum banyak di publikasi. Proses ekstraksi dengan berbagai konsentrasi pelarut organik, pengujian fitokimia, dan karakterisasi, diharapkan dapat menghasilkan senyawa antioksidan spesifik.

Penelitian rumput laut yang diekstraksi dari pelarut-pelarut organik telah dilakukan antara lain fraksinasi pada ekstrak metanol 60% dari rumput laut dengan heksan, etilasetat dan air, sehingga diperoleh fraksi heksan, etilasetat dan fraksi air. Hasil pengujian mendapatkan bahwa senyawa antioksidan sebagai komponen metabolit sekunder memiliki aktifitas yang berbeda-beda tergantung pada jenis rumput laut, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi, serta cara ekstraksi dan isolasi. Hasil penelitian terdahulu dari ekstraksi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *E. spinosum* terhadap berbagai konsentrasi pelarut metanol mendapatkan bahwa rumput laut *E. spinosum* memiliki aktifitas antioksidan yang lebih tinggi (Suryaningrum, 2006; Guedes *et al.*, 2011; Damongilala, 2014). Salah satu sumber antioksidan alami yang berasal dari laut adalah rumput laut. Hal ini diperkuat oleh penelitian Santoso *et al.*, (2004) Suryaningrum, (2006), Yuan and Walsh (2006), Chew *et al* (2007), Kumar *et al* (2008) dan Tao Wang *et al* ,(2009), yang melaporkan bahwa ekstrak rumput laut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, etil asetat, heksana, dan lain-lain mempunyai aktivitas`sebagai antioksidan yang ditunjukkan oleh kandungan fenol dan aktivitas antioksidan pada rumput laut tersebut melalui berbagai metode uji.

Penelitian aktivitas antioksidan khususnya yang bersumber dari rumput laut telah banyak dilakukan, namun untuk mendapatkan isolat murni yang berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri belum banyak dilaporkan. Metode pemisahan dan pemurnian kandungan senyawa spesifik tumbuhan dapat dilakukan dengan teknik kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis (KLT) sebagai metode pilihan (Harbone, 2007). Hal ini baru dilakukan pada tanaman darat, namun masih sangat kurang diterapkan pada tanaman laut khususnya rumput laut untuk mendapatkan isolat murni yang berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri.

Universitas Sam Ratulangi (UNSRAT) sebagai universitas terkemuka di Sulawesi Utara, telah menetapkan fokus Penelitian yaitu Kajian Pasifik (Pacific Studies). Hal ini sesuai dengan posisi Sulawesi Utara dengan perairannya dipengaruhi oleh lautan pasifik. UNSRAT dalam Rencana Induk Penelitian (RIP) untuk tahun 2011 -2016, telah menetapkan Program Penelitian Prioritas diantaranya menyangkut Kebaharian dan Kelautan (Lembaga Penelitian Unsrat, 2013). Berkaitan dengan penelitian prioritas institusi, penelitian menyangkut bagaimana mengekstraksi dan memurnikan senyawa bioaktif dalam tumbuhan laut sangat diperlukan sebagai upaya pemanfaatan untuk pengembangan dan meningkatkan ilmu dalam bidang pangan dan farmasi.

Hasil-hasil penelitian yang dipublikasikan membuktikan senyawa-senyawa antioksidan mempunyai aktivitas biologi lainnya. Antioksidan mempunyai aktivitas sebagai antimicrobial,

antifungi, antikanker, anti-inflammatory, antipenuaan, Antileishmanial, dan anti-neurodegradasi (Sabina and Aliya 2009 dan 2011; Venkatesh, 2011). Menilik manfaat antioksidan dalam berbagai bidang dan alasan-alasan diatas, maka penyediaan antioksidan perlu dilakukakan penelitian tentang Pemurnian Senyawa Bioaktif sebagai antioksidan dan Antibakteri rumput laut *Eucheuma spinosum*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Peta Jalan dan Uraian Kegiatan

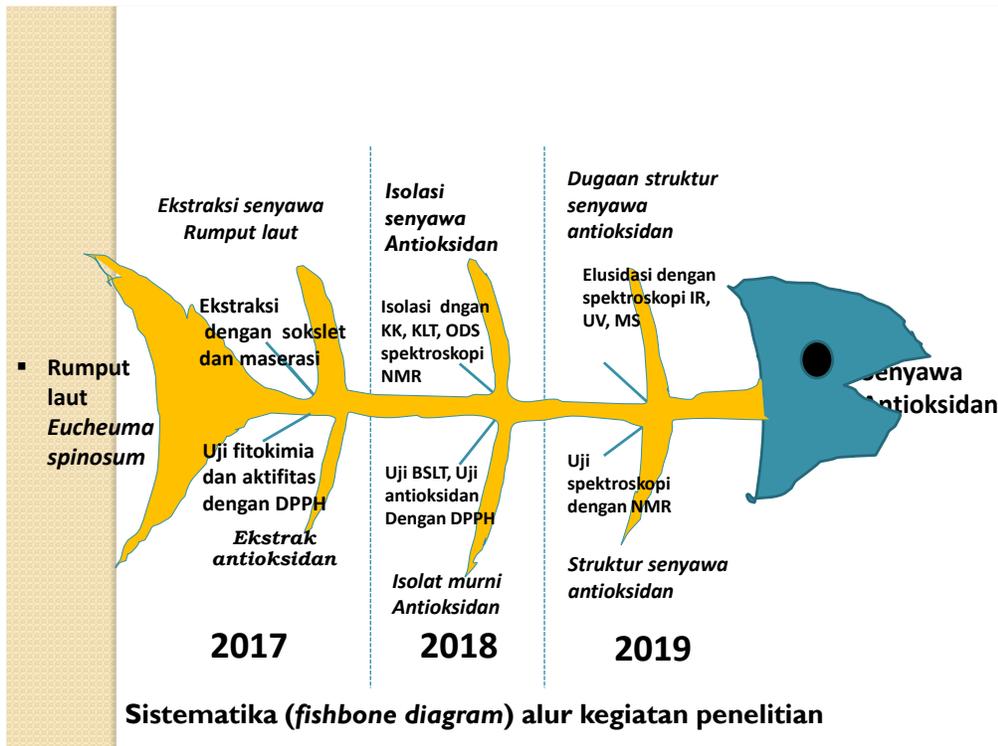
Tabel 1. *Roadmap* penelitian tentang Uji Aktifitas Antioksidan dan Antibakteri pada Rumput Laut *Eucheuma spinosum*.. yang sudah, sementara dan yang akan dilaksanakan oleh pengusul

| PETA JALAN PENELITIAN YANG SUDAH DAN YANG AKAN DILAKUKAN | | | | | |
|--|--|--|--|--|---|
| Tahun | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | Penelitian yang diusulkan |
| Judul | Ekstraksi Senyawa Antioksidan Alga <i>E.cotonii</i> dan <i>E.Spinosum</i> dengan pelarut Metanol | Uji Aktifitas Senyawa Antioksidan dengan metode FRAP, DPPH, Total Fenol dan Total Karotenoid dari Alga <i>E.cotonii</i> dan <i>E. Spinosum</i> | *Uji Fitokimia Ekstrak Metanol dari Alga <i>E. Spinosum</i> *Uji Aktifitas Senyawa Antioksidan Fraksi Etil-Asetat dari <i>E.spinosum</i> | *Penentuan Struktur Senyawa Murni Fraksi Etil-Asetat dari <i>E.spinosum</i> | Karakterisasi Senyawa Antioksidan RumputLaut <i>Eucheuma spinosum</i> Sebagai Pangan Fungsional dari Perairan Sulawesi Utara |
| Indikator | Nilai ekstrak alga <i>E.spinosum</i> pada konsentrasi pelarut metanol terbaik | Nilai Aktifitas Senyawa Antioksidan tertinggi dari uji yang dilakukan | 1. Mendapatkan senyawa bioaktif metabolit sekunder dari alga <i>E.spinosum</i> 2. Mendapatkan senyawa murni dari Alga <i>E.spinosum</i> | Mendapatkan informasi ilmiah struktur senyawa sebagai antioksidan dan beberapa isolat yang perlu diteliti lanjut | 1.Kandungan ekstrak terbanyak dari penggunaan 2 metode ekstraksi 2. Daya toksisitas ekstrak antioksidan rumput laut terhadap bahan uji 3. Senyawa antioksidan sebagai bahan pangan fungsional |
| Target | 1. Informasi ilmiah tentang jenis dan konsentrasi pelarut utk ekstraksi 2. Data senyawa hasil isolasi | 1. Informasi ttg Aktifitas Antioksidan dan antibakteri pada <i>E.spinosum</i> | 1. Informasi ilmiah senyawa bioaktif pada alga yg diisolasi dari <i>E.spinosum</i> 2. Informasi ilmiah isolat murni dari alga <i>E.spinosum</i> | Rekomendasi struktur senyawa antioksidan dan isolat murni dari alga <i>Eucheuma spinosum</i> | Rekomendasi metode yg terbaik dalam menghasilkan Massa ekstrak rumput laut dan kemampuan toksisitas ekstrak <i>E.spinosum</i> terhadap bahan uji |

Kegiatan Penelitian yang telah dilakukan

1. Damongilala, L.J., S.B. Widjanarko, E.Zubaidah, M.R.J. Runtuwene. 2013. Antioxidant Activity Against methanol Extraction of *Eucheuma cotonii* and *E.spinosum* Collected From Nort Sulawesi Waters, Indonesia.
2. Damongilala, L.J. 2013. Ekstraksi Senyawa Antioksidan Alga *Eucheuma cotonii* dan *E. spinosum* dari perairan Sulawesi Utara dengan menggunakan pelarut Metanol. Hibah Disertasi-DIKTI.
3. Damongilala, L.J., S. B. Widjanarko, E. Zubaidah, dan M.R.J. Runruwene. 2014. Karakteristik Senyawa Antioksidan Alga *Eucheuma cotonii* dan *E. spinosum* dari Perairan Pulau Nain Sulawesi Utara.

4. Damongilala, L.J. 2014. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Bioaktif Rumput Laut *Eucheuma spinosum*. Magang Penelitian. Development and Upgrading of Universities in Improving The Quality and Relevance of Higher Education in Indonesia. Laboratorium penelitian Kimia –FMIPA universitas Padjadjaran, Bandung.
5. Damongilala, L.J., Dikdik Kurnia, dan Eti Apriyanti 2014. Isolasi Senyawa Antioksidan pada Alga laut *Eucheuma spinosum*. Disampaikan pada Seminar Nasional MIPA kerjasama antara FMIPA Padjadjaran dengan MIPA-net Jatinangor- Bandung. Universitas Padjadjaran Bandung.
6. Damongilala, L.J. Ekstraksi Senyawa Antioksidan Rumput Laut *Eucheuma spinosum*. Prosiding Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Cabang Sulawesi Utara.



a. Kebaruan (Novelty)

Kebaruan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan Ekstrak senyawa rumput laut yang diambil dari perairan Sulawesi Utara. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan sokletasi menggunakan beberapa konsentrasi pelarut methanol.

2. Mendapatkan informasi kemampuan ekstrak senyawa dan isolat murni rumput laut hasil isolasi sebagai antioksidan. Proses isolasi ini dipandu dengan uji kualitatif penghambatan radikal bebas DPPH yaitu merendam hasil pemisahan senyawa pada KLT dalam larutan DPPH 0,05% selama 2 detik, diangkat dan dikeringkan, disimpan dalam ruang gelap selama 12 jam, selanjutnya dilihat dibawah sinar UV menghasilkan spot yang berwarna kuning menunjukkan adanya aktifitas antioksidan (Wang *et al.*, 2012).
3. Mendapatkan struktur senyawa murni antioksidan dari rumput laut *Eucheuma spinosum* dari perairan Sulawesi Utara melalui elusidasi dengan spektrofotomeneter NMR (H, C, C- dua dimensi yaitu HMQC, HMBC, COSY).

Pustaka Acuan

Biologi Rumput Laut *Eucheuma spinosum*

Rumput laut merupakan produk perikanan yang dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat-obatan. Tanaman laut ini kaya akan senyawa bioaktif, di antaranya serat pangan dan antioksidan. Jenis rumput laut yang banyak dibudidayakan ialah spesies *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum*. Ciri-ciri rumput laut *Eucheuma sp* ialah *thallus* dan cabang-cabangnya berbentuk silindris atau pipih, percabangannya tidak teratur dan kasar (sehingga merupakan lingkaran) karena ditumbuhi oleh *nodulla* atau *spine* untuk melindungi *gametan*. Ujungnya runcing atau tumpul berwarna coklat ungu atau hijau kuning. Spina *Eucheuma cottonii* tidak teratur menutupi *thallus* dan cabang-cabangnya. Permukaan licin, *cartilaginous*, warna hijau, hijau kuning, abau-abu atau merah. Penampakan *thallus* bervariasi dari bentuk sederhana sampai kompleks (Admadja, 1996; Mudeng, 2007). Luas areal budidaya rumput laut di Sulawesi Utara diperkirakan sebesar 13.500 ha. Spesies rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* sudah dibudidaya sejak tahun 1990-an di perairan Pulau Nain Sulawesi Utara (Mudeng, 2007; Gerung 2007).

Senyawa Antioksidan dan Aktifitasnya

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi, sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan (Dewanti, 2006; Cahyadi 2006). Sedangkan Sarastani

(2002), menyatakan bahwa antioksidan merupakan senyawa prinsipasi yang dapat menghambat terjadinya kerusakan oksidatif lipida namun tidak dapat memperbaiki produk pangan yang sudah teroksidasi. Antioksidan adalah zat yang dalam kadar rendah mampu menghambat oksidasi molekul target, sering disebut sebagai senyawa ajaib karena dapat menangkal penuaan dini dan beragam penyakit lainnya.

Kandungan antioksidan dalam bahan pangan sangat dibutuhkan tubuh, karena dapat menghambat terbentuknya radikal bebas yang menjadi sumber berbagai penyakit. Beberapa jenis antioksidan ditemukan pada rumput laut mengandung β dan γ -karoten, vitamin E, dan golongan fenol misalnya : lanosol, lanterol, candisin, dan tetrabromo fenol. Senyawa-senyawa ini diketahui berpotensi sebagai antioksidan (Keijito dan Kanjihiro, 1989; Matzukawa *et al.*, 1997). Rumput laut juga mengandung antioksidan untuk melindungi berbagai macam penyakit dan stres (Suryaningrum, 2006; Guedes *et al.*, 2011). Selain itu, rumput laut sangat lambat mengalami kerusakan, karena selnya memiliki mekanisme antioksidatif dan senyawa antioksidan (Shanab, 2007; Shahidi, 2009).

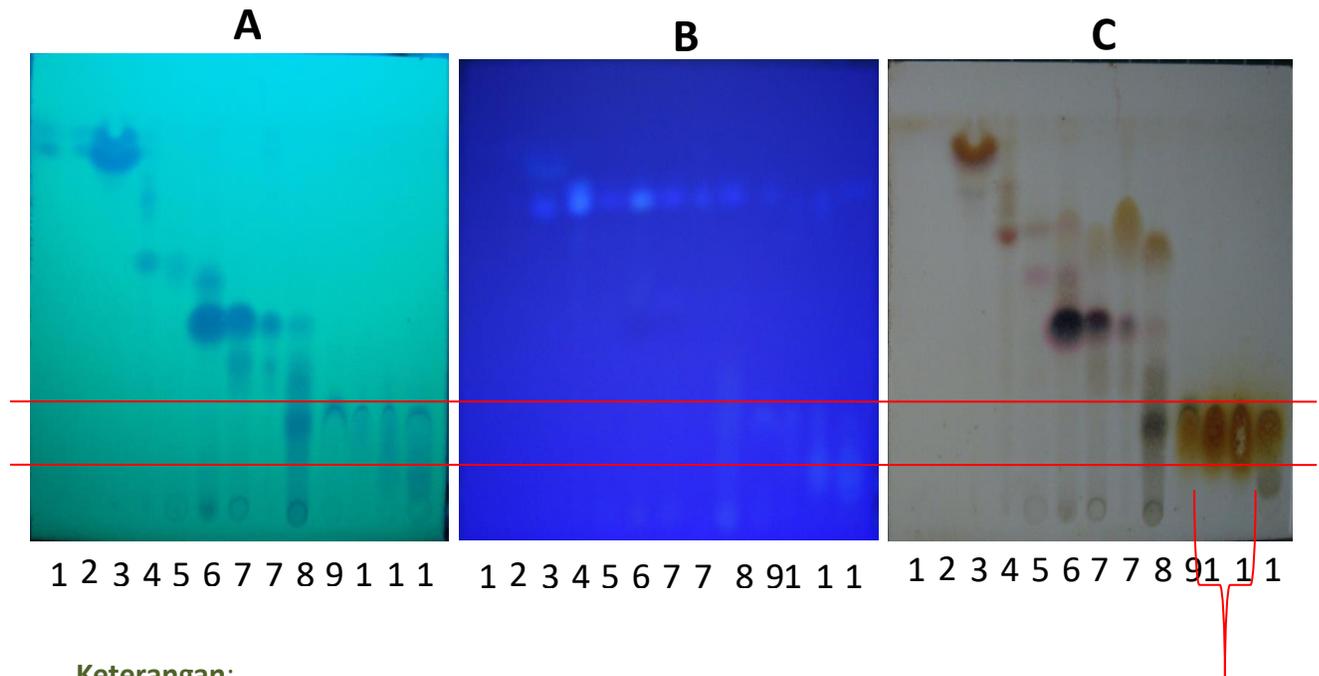
Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan sintesis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia sedangkan antioksidan alami adalah antioksidan dari hasil ekstraksi bahan alam. Selanjutnya menurut Pratt (1992) dalam Trilaksana (2003), antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari : a. senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan; senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan; senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan.

Senyawa bioaktif dalam bahan pangan saat ini telah mendapat perhatian besar, karena memberikan efek fisiologis yang menimbulkan adanya sifat fungsional. Senyawa ini dapat berasal dari pangan nabati maupun hewani (Dewanti, 2006, Shahidi, 2009). Santoso *dkk.* (2010), menyatakan bahwa alga laut yang tumbuh di perairan tropis, mendapat banyak paparan kuat dari sinar matahari. Kondisi ini menyebabkan tingginya jumlah senyawa reaktif radikal. Untuk melindungi atau menguranginya, maka alga laut mengubah metabolismenya dan menstimulasi pembentukan beberapa senyawa bioaktif. Dengan demikian diduga rumput laut mempunyai kandungan senyawa aktif, diantaranya antioksidan dan antibakteri dalam jumlah besar.

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mempertegas keberadaan komponen metabolit sekunder dalam bahan. Kemungkinan senyawa lain yang terdeteksi bersifat antibakteri. Untuk itu dilakukan juga uji antibakteri dengan metode difusi agar melalui cara sumur. Ekstrak rumput laut yang bersimbiosis, masing-masing diujikan pada bakteri patogen. Mula-mula media agar dituang dalam petri steril sampai menjadi dingin. Media yang berisi bakteri uji dituangkan di atasnya. Kemudian jika media sudah dingin dan mengeras, dibuatkan sumur-sumur dimana dimasukkan ekstrak uji dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya akan diamati adanya pembentukan daerah bening sekeliling sumur. Pengukuran dilakukan terhadap luas diameter daerah bening yang terbentuk dengan membandingkan pada diameter zona hambat antibiotik yang digunakan.

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antioksidan dan antibakteri dalam Rumput Laut

Pemurnian dan karakterisasi sifat antioksidan yang masih sangat langka dilakukan selama proses pemurnian adalah Uji aktifitas antioksidan secara kualitatif. Pengujian ini dilakukan dengan merendam hasil pemisahan senyawa pada KLT dalam larutan DPPH 0,05% selama 2 detik, lalu diangkat dan dikeringkan, kemudian disimpan dalam ruang gelap selama 12 jam. Selanjutnya pengamatan dilihat dibawah sinar UV menghasilkan spot yang berwarna kuning menunjukkan adanya aktifitas antioksidan (Wang *et al.* 2012). Gambar 1 memperlihatkan contoh hasil pengujian aktifitas antioksidan secara kualitatif. Pada KLT A menampakkan spot dibawah sinar UV 254 nm, KLT B menampakkan spot dibawah sinar UV 365 nm, dan KLT C menampakkan spot yang disemprotkan larutan H₂SO₄ 10% dalam etanol



Keterangan:

A: Dilihat di bawah sinar UV 254 nm

B: Dilihat di bawah sinar UV 365 nm

C: Disemprot dengan penampak noda H_2SO_4 10% dalam **etanol**

Gambar 1. Uji Sifat Antioksidan dengan KLT dalam Perendaman larutan DPPH

Hasil pemurnian senyawa antioksidan pada ekstrak dan fraksi dari rumput laut *Eucheuma spinosum* oleh Damongilala *et al.*, (2014), diperoleh suatu senyawa dengan rumus molekul yang diduga sebagai antioksidan. Karakteristik senyawa murni 3-(3-methoxyphenyl)propanal hasil isolasi pada fraksi etilasetat dari alga *Eucheuma spinosum* berbentuk cairan pekat, bersifat polar, larut dalam metanol. Sifat antioksidannya dibuktikan melalui pengukuran kuantitatif nilai penghambatan IC_{50} sebesar 87,97 mg/L dan berwarna kuning pada uji kualitatif DPPH. Lestario *dkk.* (2008) melaporkan aktifitas antioksidan dengan nilai penghambatan IC_{50} pada berbagai ekstrak alga *Gracilaria verrucosa* L. Nilai antioksidan standar BHT sebesar $84,15 \pm 3,82 \mu\text{g/ml}$ yang berarti aktifitas antioksidan senyawa murni meredam radikal DPPH hampir sama dengan BHT. Tamat *dkk.* (2007) melaporkan bahwa uji aktifitas antioksidan IC_{50} alga *Ulva reticulata* Forsskal terhadap ekstrak fraksi n-heksan, kloroform, dan fraksi air berturut-turut yaitu 980, 703, dan 366 $\mu\text{g/ml}$ dengan kontrol positif vitamin C dalam meredam radikal DPPH. Nilai IC_{50} sebagai

kontrol positif vitamin C sebesar 21 μ g/ml. Namun aktifitas ketiga fraksi ekstrak *Ulva reticulata* dibandingkan dengan vitamin C masih jauh lebih rendah. Antioksidan digunakan untuk melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), terutama lemak dan minyak. Efektif dalam mengurangi ketengikan oksidatif, dan polimerisasi tetapi tidak mempengaruhi hidrolisis. Selain itu, dapat pula digunakan untuk melindungi komponen-komponen lain seperti vitamin dan pigmen, yang juga banyak mengandung ikatan rangkap di dalam strukturnya. Penggunaan antioksidan secara berlebihan menyebabkan lemah otot, mual-mual, pusing, dan kehilangan kesadaran, sedangkan penggunaan dosis rendah secara terus-menerus menyebabkan tumor, kandung kemih, kanker sekitar lambung dan kanker paru-paru (Cahyadi, 2006).

Penentuan struktur senyawa antioksidan sangat penting sebagai bahan dasar sintesis obat-obatan khususnya penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas terhadap berbagai penyakit. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan struktur senyawa tersebut adalah mengkarakterisasi isolat murni yang dihasilkan melalui metode spektroskopi yaitu *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), Infra Red (IR) dan Ultra Violet (UV). Beberapa pengukuran fisikokimia tak ada yang lebih populer dari resonansi magnetik inti; NMR (*nuclear magnetic resonance*), karena penerapannya tidak terbatas pada senyawa organik sederhana, tetapi hingga ke biopolimer yang sangat kompleks seperti protein dan asam nukleat (Supratman, 2010). Selanjutnya dijelaskan bahwa dari spectrum H-NMR diperoleh informasi tentang jenis hidrogen, jumlah hidrogen dan lingkungan hidrogen dalam suatu senyawa, sedangkan C-NMR memberikan informasi tentang jumlah signal karbon dalam senyawa organik, pemecahan signal karbon yang tergantung dari jumlah atom hidrogen yang terikat (metin, metilena, metil dan karbon quartener, jenis karbon (sp , sp^2 , sp^3), dan jenis karbon quartener, serta lingkungan elektronik yang mempengaruhi pergeseran kimia dari masing-masing atom karbon pada molekul senyawa organik.

Bab 3. Tujuan Dan Manfaat Penelitian

a. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa antioksidan yang bermutu tinggi dari jenis rumput laut *Eucheuma spinosum* melalui pengujian aktifitas senyawa tersebut dengan menggunakan beberapa metode uji. **Target khusus** adalah

1. Mengetahui proses ekstraksi senyawa antioksidan dengan metode maserasi dan soksletasi pada berbagai konsentrasi pelarut organik yang mampu mengekstrak kandungan senyawa target secara optimal
2. Mendapatkan aktifitas antioksidan terbaik diantara kedua metode dengan berbagai fraksi pelarut yaitu heksan, etilasetat, dan air.
3. Mengetahui karakteristik secara fitokimiawi berbagai senyawa kimia murni yang diduga keberadaannya pada rumput laut *Eucheuma spinosum*
4. Memperoleh senyawa antioksidan dan antibakteri melalui isolasi dan pengujian BSLT, DPPH, dan uji antibakteri dengan bakteri uji.

b. Manfaat Luaran Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi pengembangan ilmu-ilmu dalam bidang pangan dan farmasi, terkait dengan masalah penyediaan bahan pangan yang layak dikonsumsi dan bahan baku obat-obatan. Secara khusus penelitian ini juga menghasilkan publikasi ilmiah dan buku ajar bagi para pengguna dan *stakeholders* lainnya dalam mengembangkan dan memberdayakan potensi petani nelayan secara optimal. Selain itu, hasil penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk teknologi pengolahan rumput laut di Provinsi Sulawesi Utara. Rencana penelitian ini terlihat dalam rencana target capaian tahun pada Tabel 1.

Tabel 1. Rencana Target Capaian Tahunan

| No | Jenis Kegiatan | | Indikator Capaian | | |
|----|-----------------------------|---------------|-------------------|------|------|
| | | | TS ¹ | TS+1 | TS+2 |
| 1 | Publikasi Ilmiah (Draft) | Internasional | | + | |
| | Publikasi Ilmiah (Draft) | Nasional | + | + | |
| 2 | Pemakalah dalam Temu Ilmiah | Internasional | | | + |
| | | Nasional | | + | |
| 3 | Buku Ajar (draft) | | | | + |

BAB. 4. METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan dalam proposal ini yaitu melakukan eksperimen di laboratorium untuk mendapatkan data hasil percobaan. Senyawa antioksidan sebagai target penelitian terikat dalam jaringan sel tanaman rumput laut. Untuk memisahkan dan mendapatkannya, maka metode ekstraksi menggunakan pelarut methanol dan etanol dengan teknik maserasi dan sokletasi digunakan untuk tujuan pemisahan senyawa antioksidan. Kedua metode dan pelarut ini dicobakan guna membandingkan seberapa besar kandungan senyawa antioksidan yang dihasilkan secara optimal. Selanjutnya dilakukan pengujian aktifitas senyawa target yang terkandung pada masing-masing ekstrak. Rencana penelitian dilaksanakan pada laboratorium Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk preparasi sampel dengan maserasi menggunakan pelarut dan laborotium Kimia Bahan Hayati Laut Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT. Kemudian pemisahan /partisi senyawa dalam fraksi dengan Kromatografi kolom dan Kromatografi lapis Tipis Selanjutnya dilakukan isolasi terhadap bahan penelitian Rumput Laut *Euचेuma spinosum* dengan metode DPPH, FRAP, Total Fenol, dan Fitokimia guna mendapatkan isolat murni antioksidan, uji toksisitas BSLT, uji sifat senyawa sebagai antibakteri, karakterisasi dan penentuan struktur senyawa yang dihasilkan.

Rencana penelitian pada Tahap pertama diharapkan mendapatkan senyawa aktif rumput laut *E.spinsum* yang beraktifitas antioksidan, meliputi : 1). Ekstraksi terhadap Rumput laut yang disampling dari perairan tempat budidaya untuk mendapatkan ekstrak kasar. 2). Melakukan isolasi senyawa aktif antioksidan dengan metode kromatografi kolom (KK) dan kromatografi lapis tipis untuk pemisahan senyawa hingga mendapatkan fraksi dan isolat murni mengikuti prosedur Harborne (2007).

Tahap kedua direncanakan mendapatkan struktur senyawa antioksidan dan sifat antibakteri dari isolat murni yang dihasilkan tahun pertama. Tahap ini melakukan karakterisasi untuk mendapatkan struktur senyawa antioksidan dengan metode spektroskopi, IR, UV. Pada tahun kedua diperoleh struktur senyawa murni antioksidan dan jurnal international bereputasi. Tahun ketiga direncanakan mengkarakterisasi sifat antioksidan dari fraksi dan isolat murni melalui uji DPPH sebagai penghambatan radikal bebas spektroskopi NMR (H, C, C dua dimensi yaitu HMQC, HMBC dan COSY) mengikuti Soepratman (2010). Luaran pada tahun ketiga adalah jurnal internasional.

Kegiatan penelitian ini dilakukan dilaboratorium Penelitian dan Pengembangan kimia Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran, Bandung dan Laboratorium Bioteknologi Kementrian Kelautan dan Perikanan-Petamburan, Jakarta.

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Penelitian ini telah dan sementara dilaksanakan sesuai tahapan prosedur pekerjaan yang dirancang. Persiapan sampel dikerjakan pada laboratorium Penanganan dan Pengolahan Hasil Perikanan PS-Teknologi Hasil Perikanan-UNSRAT. Sampel diambil dari lokasi budidaya rumput laut yaitu desa Sondaken Minahasa Selatan, propinsi Sulawesi Utara. Sesaat sampel tiba di Laborarium langsung dibersihkan dari berbagai kotoran yang menempel dengan air mengalir. Sampel bersih diletakkan dalam keranjang untuk ditiriskan. Kemudian dilakukan penimbangan sebanyak 500 g tiap bungkus sebagai bahan baku yang siap digunakan sebagai bahan uji penelitian. Selanjutnya dipotong-potong kecil agar senyawa yang terikat dalam jaringan sel dalam mudah dipisahkan dan terikat oleh pelarut dalam proses maserasi/perendaman dan sokletasi.

5.1 Hasil yang Dicapai

Keberadaan senyawa antioksidan terikat dalam jaringan sel bahan alam/tanaman. Proses pemisahan dapat dilakukan untuk menghasilkan senyawa target sesuai karakter dari sampel dan jenis pelarutnya. Ekstraksi adalah cara pemisahan senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan pelarut organik yang optimal. Data Hasil ekstraksi rumput laut *Eucheuma spinosum* yang dilakukan dengan teknik maserasi dan sokletasi masing-masing mendapatkan ekstrak pekat dan rendemen seperti dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Rumput laut *Eucheuma spinosum* dengan teknik maserasi dan sokletasi

| No Sampel | Berat Sampel(g) | Volume pelarut (mL) | Ekstrak pekat (g) | Rendemen (%) | Warna |
|-------------------|-----------------|---------------------|-------------------|--------------|-------------------|
| a. Metanol : | | | | | |
| 1. Maserasi (50) | 1647,6 | 6000 | 332,89 | 20,21 | kuning muda |
| 2. Maserasi (95) | 1648,4 | 6000 | 272,26 | 16,52 | Hijau |
| 3. Sokletasi (50) | 1648,2 | 6000 | 455,88 | 27,66 | kuning kecoklatan |
| 4. Sokletasi (95) | 1647,5 | 6000 | 301,15 | 18,28 | Hijau |
| b. Etanol : | | | | | |
| 1. Maserasi (50) | 1648,3 | 6000 | 650,05 | 39,43 | Kuning muda |
| 2. Maserasi (95) | 1648,5 | 6000 | 265,65 | 16,12 | Merah muda |
| 3. Sokletasi (50) | 1646,9 | 6000 | 325,21 | 19,75 | Merah muda |
| 4. Sokletasi(95) | 1647,2 | 6000 | 164,76 | 10,04 | Kuning Kecoklatan |

Berdasarkan hasil ekstraksi terhadap berbagai sampel ekstrak diatas, maka menghasilkan bahwa jumlah ekstrak, jenis dan konsentrasi pelarut yang digunakan bervariasi. Hasil ekstrak pekat dengan rendemen terbanyak didapatkan pada proses ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 50%. Hal ini kemungkinan karena RL merupakan tanaman air, dimana kandungan air dalam pelarut mudah terikat dengan senyawa etanol sehingga mampu bereaksi dengan senyawa dalam tanaman. Dengan demikian hampir semua kandungan senyawa dalam tanaman dapat diambil.

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak sampel rumput laut *E. spinosum* dapat ditunjukkan pada Tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Data Uji fitokimia berdasarkan golongan senyawa terhadap ekstrak sampel *E. spinosum*

| No | Golongan Senyawa | Jenis Ekstrak | | | |
|----|------------------|---------------|---------|---------|---------|
| | | MeOH 50 | MeOH 95 | EtOH 50 | EtOH 95 |
| 1 | Alkaloid | + | + | + | + |
| 2 | Steroid | + | + | + | + |
| 3 | Saponin | + | + | - | - |
| 4 | Terpenoid | - | + | - | - |
| 5 | Polyfenol | + | + | + | + |
| 6 | Flavonoid | + | + | + | + |

Pengujian fitokimia terhadap rumput laut *Eucheuma spinosum* dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari hasil maserasi dan soksletasi, kemudian ditambahkan dengan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak bahan yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harborne, 1987; Badarinath, *et al.*, 2010). Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada tabel 2.

Uji Aktifitas Antioksidan Metode DPPH

Data hasil uji aktifitas antioksidan terhadap ekstrak sampel rumput laut *E. spinosum* dengan metode DPPH ditunjukkan pada Tabel 4 sebagai berikut.

Tabel 4. Data Uji DPPH IC₅₀ ekstrak rumput laut *E. spinosum* yang di maserasi

| No | Jenis Sampel | Konsentrasi (ppm) | Nilai IC ₅₀ |
|----|---------------------|------------------------|------------------------|
| 1 | Ekstrak Metanol 50% | 50, 100, 150, 200, 250 | 223,305 |
| 2 | Ekstrak Metanol 95% | 50, 100, 150, 200, 250 | 238,128 |
| 3 | Ekstrak Etanol 50% | 50, 100, 150, 200, 250 | 113,882 |
| 4 | Ekstrak Etanol 95% | 50, 100, 150, 200, 250 | 97,522 |

Data hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut segar yang menggunakan pelarut metanol dan etanol dengan konsentrasi masing-masing menghasilkan Nilai IC₅₀ tertinggi pada ekstrak yang menggunakan pelarut etanol. Aktivitas antioksidan dari rumput laut *Eucheuma spinosum* menggunakan dua jenis pelarut yaitu metanol dan etanol ditandai dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan besarnya aktifitas antioksidan dalam konsentrasi larutan sampel untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Hasil pengujian aktifitas antioksidan dengan DPPH yang memiliki IC₅₀ (Nilai *Inhibition Concentration* dari aktifitas antioksidan terkecil, berarti memiliki aktifitas antioksidan besar). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 50% dengan maserasi menghasilkan nilai IC₅₀ terkecil yaitu 97, 522 ppm . Hal ini berarti dengan penggunaan pelarut etanol pada konsentrasi 50% aktifitas penghambatan sangat besar dan baik bagi sampel.

Menurut Damongilala (2014) Hasil analisis data penghambatan radikal bebas DPPH terhadap ekstrak rumput laut *E. spinosum* dalam berbagai kondisi sampel menunjukkan bahwa pada semua kondisi sampel *Eucheuma sp* terdapat perbedaan nilai DPPH ($p < 0,05$) pada konsentrasi pelarut metanol. *Eucheuma spinosum* segar memiliki nilai DPPH tertinggi di antara keempat sampel yaitu *Eucheuma spinosum* segar, kering dan *Eucheuma cottoni* segar, kering pada kondisi sampel, yaitu sebesar $75,27 \pm 0,29$ % pada konsentrasi pelarut metanol 60% menunjukkan bahwa kemampuan menangkal radikal DPPH dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi ekstrak.

5.2 Luaran Yang Dicapai

1. Hasil penelitian sudah dipresentasikan dalam Seminar Nasional MIPAnet tanggal 24-26 Agustus Tahun 2017 di Manado, dengan Judul : Aktifitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Rumput Laut *Eucheuma spinosum* .

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Penelitian ini sudah selesai dilaksanakan sekitar 90%. Diantaranya data tentang jumlah massa ekstrak yang sangat berkaitan dengan ketersediaan bahan sebagai sampel uji. Oleh sebab itu tahapan penelitian akan dilanjutkan untuk uji antioksidan, uji BSLT, dan antibakteri dalam sisa waktu yang ada.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat disimpulkan sementara yaitu :

- Rumput laut *Eucheuma spinosum* mengandung cukup banyak senyawa antioksidan yang berpotensi sebagai bahan pangan dan bahan baku farmasi. Hal ini dibuktikan dengan hasil **rendemen** masing-masing jenis sampel dihasilkan tertinggi pada ekstrak sampel etanol 50% yang dilakukan masaerasi sebesar **39,26%** .
- Hasil uji fitokimia terhadap sampel ekstrak rumput laut *E. spinosum* menunjukkan positif golongan senyawa metabolit sekunder adalah : Alkaloid, steroid, polyphenol, dan Flavonoid.
- Luaran yang dijanjikan di tahun pertama yaitu draft jurnal nasional sudah terpenuhi bahkan untuk luaran yang dipresentasikan adalah janji untuk usulan tahun kedua .

7.2 Saran

Penelitian aktifitas antioksidan rumput laut *E. spinosum* khususnya berkaitan dengan ekstraksi dan isolasi senyawa murni sangat penting dilanjutkan, mengingat bahan baku yang dihasilkan adalah bahan alam sumber bahan pangan yang bermanfaat baik bagi kesehatan dan sebagai bahan baku obat-obatan dalam bidang farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Cahyadi, W. 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara
- Chew, Y.L., Y.Y. Lim, M. Omar, K.S. Khoo. 2008. Antioxidant activity of Three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT 41 (2008) : 1067 – 1072.
- Cox. N., Abu-Ghannam N and S. Gupta., 2010. An Assesment of the Antioxidant and Antimicrobial Activity of Six Species Edible Fresh Seaweed. International Food Research Journal, 17:205 – 220.
- Damongilala, L.J., S.B.Widjanarko, E. Zubaidah and M.R.J. Runtuwene. 2013. Antioxidant Activity Against Methanol Extraction of *Eucheuma cottonii* and *Eucheuma spinosum* Collected From Nort Sulawesi Waters, Indonesia. Journal Food Science and Quality Management. ISSN 2224-6088. Vol. 17, 2013.
- Damongilala, L.J. 2013. Ekstraksi Senyawa Antioksidan Alga *Eucheuma cottonii* dan *E. spinosum* dari perairan Sulawesi Utara dengan menggunakan pelarut Metanol .Hibah Disertasi. DIKTI.
- Damongilala, L.J. 2014. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Bioaktif rumput Laut *Eucheuma spinosum*. Magang Penelitian. Development and Upgrading of Universities in Improving The Quality and Relevance of Higher Education in Indonesia. Laboratorium penelitian Kimia –FMIPA universitas Padjadjaran, Bandung.
- Damongilala, L.J., S. Timbowo. 2016. Pengembangan Ekstrak Antioksidan Rumput Laut *Eucheuma spinosum* Sebagai Pangan Fungsional untuk Skala industri. Riset Unggulan Universitas (RUU). Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Dangeubun, J.L. 2007. Studi Komunitas dan Etnobotani Makrofit di Perairan Pesisir Kabupaten Maluku Tenggara dan Kepulauan-kepulauan Aru, Provinsi Maluku. Tesis. Universitas Sam Ratulangi Program Pasca Sarjana. Manado.
- Darmawan. A, Sundowo. A, Tajriah. S, dan Artanti. N. Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol Beberapa Jenis Benalu. Pusat Penelitian Kimia – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Kawasan PUSPIPTEK. Serpong – Tangerang.
- Dean, J.R. 1998. Extraction Methods For Enviromental Analysis. John Willey and Sons Ltd. New York.
- Lembaga Penelitian Universitas Sam Ratulangi. 2013. Rencana Induk Penelitian Universitas Sam Ratulangi 2011 – 2016.

- Gerung, G.S. 2002. Seaweeds Resources of Indonesia. Artikel ilmiah. Sam Ratulangi University, Faculty of Fisheries and Marine Science. Manado.
- Gerung, G.S. 2007. Study on Environment and Trials Cultivation of *Kappaphycus* and *Euचेuma* in Nain Island, Indonesia. Faculty of Fisheries and Marine Science Sam Ratulangi University, Manado.
- Goiris, K., K. Muylaert, I. Fraeye, I. Foubert, J.D. Brabanter and L.D. Cooman. 2012. Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *J.Appl Phycol.* DOI 10.1007/s10811-012-9804-6.
- Guedes, A.C., H.M. Amaro and F.X. Malcata. 2011. Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drugs.* ISSN 1660-3397.
- Sabina, H. and R. Aliya. 2009. Seaweed As A New Source of Flavone, Scutellarein 4-Methylether. *Pakistan Journal Botany.*,41(4): 1927-1930.
- Venkatesh R., S. Shanhti, K. Rajapandian, S. Elamathi, S. Thenmozhi, and N. Radha. 2011. Preliminary studi on Antixanthomonas activity, Phytochemical analysis, and Characterization of Antimicrobial compounds From *Kappaphycus alvarezii*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* ISSN-0974-2441. Vol. 4, Issue 3. P 46 – 51.
- Supratman, U. 2010. Elusidasi Senyawa Organik, metode spektroskopi untuk penentuan struktur senyawa organik. Widya Padjadjaran. Bandung.
- Suryaningrum, D.T, T. Wikanta., dan H. Kristiani. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Rumput Laut *Halymenia harvenya* da *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Pascapanen an Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.* Vol I No I. Hal. 51-63.
- Wang J., Young-De Yue, F. Tang and Jia Sun. 2012. TLC Screening for Antioxidant activity of Extract from Fifteen Bamboo Species and Identification of antioxidant Flavone Glycosides from Leaves of Bambusa. *Textilis McClure. Molecules.* ISSN 1420-3049. www.mdpi.com/journal/molecules. Vol. 17:12297-12311
- Widyaningsih, T. D. 2006. Pangan Fungsional Makanan untuk Kesehatan. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Winarsi, 2007. Antioksidan Alami dan Radikal bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta.
- Winarti, Sri. 2010. Makanan Fungsional. Yokyakarta. Penerbit Graha Ilmu.
- Yoshie, S.T., Hsieh. Y.P., and T. Zusuki., 2003. Distribution of Flavonoid and Relatet Compounds From Seaweeds in Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries.* Vol. 89, pp.16.
- Yuan. V.Y and N.A. Walsh. , 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of extract from a variety of edible seaweed. *Food and Chemical Technology* 44, 1144-1150.
- Yusa, I. K. S. A. 2000. Telaah Kandungan Pigmen Selama Pertumbuhan Alga Merah *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty Dari Perairan Pesisir Pulau Nain. Skripsi. Universitas Sam Ratulangi, Fakultas Perikanan, progran Studi Ilmu Kelautan. Manado.

Zailanie, K. 2011. Studi Kandungan dan Identifikasi Fucoxantin Alga Coklat Dari Desa Padike Kecamatan Talango, Kepulauan Madura. Disertasi. Program Doktor Ilmu Pertanian, Minat Teknologi Hasil Perikanan. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.

Lampiran 1. Justifikasi Anggaran Penelitian

1. Honorarium

| Honor | Honor /Jam (Rp) | Waktu(jam/ minggu) | Minggu | Honor/tahap (RP) | | |
|----------------|-----------------|--------------------|--------|------------------|--------------|--------------|
| | | | | I | II | III |
| Pelaksana | 30.000.- | 12 | 25 | 9.000.000.- | 9.000.000.- | 9.000.000.- |
| Teknisi Lab | 17.500.- | 10 | 20 | 3.000.000.- | 3.500.000.- | 3.500.000.- |
| Analisis Data | 17.500.- | 10 | 20 | 3.000.000.- | 3.500.000.- | 3.500.000.- |
| SUB TOTAL (Rp) | | | | 16.000.000.- | 16.000.000.- | 16.000.000.- |

2. Peralatan Penunjang dan Bahan Habis Pakai

Peralatan Penunjang

| Material | Justifikasi pemakaian | Kwantitas | | | Harga Satuan | Harga Peralatan Penunjang (Rp) | | |
|--------------------|-----------------------|-----------|-----|-----|--------------|--------------------------------|-----------|-----------|
| | | I | II | III | | I | II | III |
| Sampling kit | | 3x | 3x | 3x | 1.000.000 | 1.000.000 | 1.000.000 | - |
| Evaporator | sewa | 12x | 12x | | 200.000 | 2.400.000 | - | 2.400.000 |
| Mikro Pipet | sewa | 10x | 10x | 10x | 200.000 | 2.000.000 | - | 1.000.000 |
| Spektrofotometr | sewa | 10x | 5x | 5x | 250.000 | 2.500.000 | 1.250.000 | 1.250.000 |
| Lampu Ultra | sewa | 10x | 5x | 5x | 100.000 | 1.000.000 | 1.000.000 | - |
| Spray dryer | sewa | 5 x | 5x | | 250.000 | 1.250.000 | 1.250.000 | - |
| Kolom Kromatografi | sewa | 10x | | | 150.000 | 1.500.000 | 1.500.000 | 1.500.000 |
| NMR | sewa | | | 5x | 450.000 | | | 2.250.000 |

Bahan Habis Pakai

| Material | Justifikasi Pemakaian | Kwantitas | Harga Satuan | Harga Bahan Habis terpakai (Rp) | | |
|---------------------------------|-----------------------|--------------|--------------|---------------------------------|-----------|------------|
| | | | | Thn 1 | Thn 2 | Thn 3 |
| Rumput Laut | Habis pakai | 30 kg | 15.000 | 4.500.000 | - | - |
| Metanol Teknis | Habis pakai | 200 ltr | 17.000 | 3.400.000 | - | - |
| Aquades | Habis pakai | 50 lt | 12.000 | 600.000 | 250.000 | |
| n-Heksana | Habis pakai | Kemasan 5 lt | 750.000 | 3.250.000 | 3.250.000 | |
| Etanol | Habis pakai | 5 lt | 500.000 | 2.500.000 | 2.500.000 | |
| H ₂ SO ₄ | Habis pakai | 2.5 lt | 400.000 | 1.000.000 | 1.000.000 | |
| DPPH | Hbs t pakai | 5 gr | 1.000.000 | 5.000.000 | 5.000.000 | |
| Silika gel untuk kolom (KK) | Habis terpakai | 1 kg | 2.750.000 | 2.750.000 | 2.750.000 | |
| Octadesilxylan (ODS) untuk (KK) | Hbs t pakai | 10 g | 600.000 | 6.000.000 | - | |
| KLT Silika gel | Hbs t pakai | 500g | 2.500.000 | 2.500.000 | 2.500.000 | |
| KLT ODS | Hbs t pakai | 1 box | 3.600.000 | 3.600.000 | - | |
| 1paket uji spektroskopik NMR | Hbs t pkai | 5 sampel | 5.000.000 | | | 25.000.000 |
| Bahan untuk spektroskopik IR | Habis terpakai | 10 sampel | 450.000 | | | 4.500.000 |

| Bahan untuk spektroskopi UV | Habis pakai | 10 sampel | 450.000 | | | 4.500.000 |
|---|------------------------|-----------|-------------------|----------------------|------------|-------------|
| Bahan untuk spektroskopi MS | Habis terpakai | 5 sampel | 450.000,- | | | 2.250.000,- |
| Bahan untuk pengujian anti sel bakteri S.Aureus | Habis terpakai | 5 sampel | 3.000.000,- | - | 15.000.000 | |
| Bahan untuk pengujian anti sel Bakteri E.colli | Habis terpakai | 5 sampel | 3.000.000,- | - | 15.000.000 | |
| Bahan Untuk Antibiotik | Habis terpakai | 5 sampel | 3.000.000.- | | 15.000.000 | |
| SUB TOTAL (RP) | | | | | 33.100.000 | 59.400.000 |
| 3. Perjalanan | | | | | | |
| Material | Justifikasi perjalanan | Kwantitas | Harga Satuan | Biaya/tahun (Rp) | | |
| | | | | Thn 1 | Thn 2 | Thn 3 |
| Perjalanan Ke | | | | | | |
| Transportasi Lokal | Survey | 3x | 100.000. | 300.000 | 900.000 | 900.000 |
| Manado-Pulau Nain | Survey/sampling | 3 x | 100.000. | 300.000 | | |
| Transportasi lokal | Analisis | 10x | 50.000 | 500.000 | 1.000.000 | |
| Manado- Bandung | Analisis | 2x PP | 3.500.000 | 7.000.000 | | 7.000.000 |
| Manado-Jakarta | Analisis | 1x PP | 3.000.000 | | | 3.000.000 |
| Akomodasi & konsumsi | | 10x | 1.500.000 | 5.000.000 | 5.000.000 | 5.000.000 |
| SUB TOTAL (RP) | | | | 12.400.000 | 7.800.000 | 15.900.000 |
| 4. Lain-lain | | | | | | |
| Kegiatan | Justifikasi | Kwantitas | Harga/satuan (Rp) | Biaya/Tahun (Rp) | | |
| | | | | Thn 1 | Thn 2 | Thn 3 |
| Sewa alat/ruang lab | | 1 | 2.500.000 | 2.500.000 | 2.500.000 | 2.500.000 |
| Laporan | Laporan | 10 | 250.000 | 2.500.000 | 2.500.000 | 5.000.000 |
| Publikasi di Jurnal | Jurnal | 2 | 5.000.000 | 7.000.000 | 7.000.000 | 7.000.000 |
| Seminar | Seminar | 2 | 2.500.000 | 5.000.000 | 5.000.000 | 5.000.000 |
| Bahan Ajar | | | | | | 10.000.000 |
| SUB TOTAL (Rp) | | | | 16.000.000 | 16.000.000 | 29.500.000 |
| TOTAL ANGGARAN YANG DIPERLUKAN TIAP TAHUN (RP) | | | | 77.500.000 | 99.980.000 | 99.850.000 |
| TOTAL ANGGARAN YANG DIPERLUKAN SELURUH TAHUN(Rp) | | | | 277.330.000,- | | |

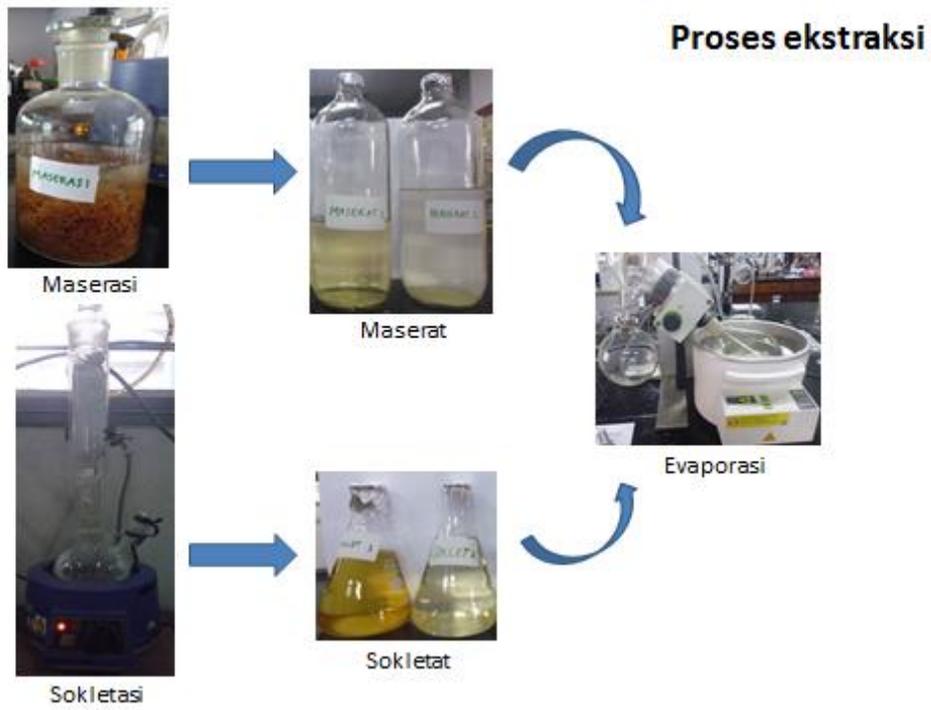
Lampiran 2. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian



Rumput Laut *Eucheuma spinosum*



Ekstraksi dengan Maserasi/Perendaman sampel dalam berbagai konsentrasi pelarut





Proses Evaporasi



Sampel Ekstrak



Uji Antioksidan Metode DPPH

Lampiran 3. Data Hasil Uji Aktifitas Antioksidan RL *E. spinosum*

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan ekstrak Metanol 50% alga merah *Eucheuma spinosum*

| Konsentrasi | Abs dan Ulangan | | % Inhibisi | | Rata-rata % inhibisi |
|-------------|-----------------|-------|------------|--------|-------------------------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| 50 ppm | 0,656 | 0,640 | 21,531 | 23,444 | 22,487 |
| 100 ppm | 0,603 | 0,611 | 27,870 | 26,913 | 27,391 |
| 150 ppm | 0,537 | 0,543 | 35,765 | 35,047 | 35,406 |
| 200 ppm | 0,437 | 0,442 | 47,727 | 47,129 | 47,428 |
| 250 ppm | 0,371 | 0,382 | 55,622 | 54,306 | 54,964 |

Control DPPH Metanol Abs: 0,836

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan ekstrak Metanol 95% alga merah *Eucheuma spinosum*

| Konsentrasi | Abs dan Ulangan | | % Inhibisi | | Rata-rata % inhibisi |
|-------------|-----------------|-------|------------|--------|-------------------------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| 50 ppm | 0,611 | 0,605 | 26,913 | 27,631 | 27,272 |
| 100 ppm | 0,585 | 0,595 | 30,023 | 28,827 | 29,425 |
| 150 ppm | 0,554 | 0,540 | 33,732 | 35,406 | 34,569 |
| 200 ppm | 0,503 | 0,449 | 39,832 | 40,311 | 40,071 |
| 250 ppm | 0,355 | 0,365 | 57,535 | 56,339 | 56,937 |

Control DPPH Metanol Abs: 0,836

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan ekstrak Etanol 50% alga merah *Eucheuma spinosum*

| Konsentrasi | Abs dan Ulangan | | % Inhibisi | | Rata-rata % inhibisi |
|-------------|-----------------|---|------------|---|-------------------------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |

| | | | | | |
|---------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 50 ppm | 0,472 | 0,453 | 39,719 | 42,145 | 40,932 |
| 100 ppm | 0,409 | 0,415 | 47,765 | 46,998 | 47,381 |
| 150 ppm | 0,366 | 0,379 | 53,256 | 51,596 | 52,426 |
| 200 ppm | 0,305 | 0,324 | 61,047 | 58,174 | 59,610 |
| 250 ppm | 0,295 | 0,276 | 62,324 | 64,750 | 63,537 |

Control DPPH Etanol Abs : 0,783

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan ekstrak Etanol 95% alga merah *Eucheuma spinosum*

| Konsentrasi | Abs dan Ulangan | | % Inhibisi | | Rata-rata % inhibisi |
|-------------|-----------------|-------|------------|--------|----------------------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| 50 ppm | 0,455 | 0,435 | 41,890 | 44,444 | 43,167 |
| 100 ppm | 0,392 | 0,385 | 49,936 | 50,830 | 50,383 |
| 150 ppm | 0,329 | 0,335 | 57,982 | 57,215 | 57,598 |
| 200 ppm | 0,273 | 0,285 | 65,134 | 63,601 | 64,367 |
| 250 ppm | 0,239 | 0,228 | 69,476 | 70,881 | 70,178 |

Control DPPH Etanol Abs : 0,783

Lampiran 4. Draft jurnal

Full Paper :

Aktifitas Antioksidan dan Uji Fitokimia Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma spinosum* dari Perairan Sulawesi Utara

Oleh :

Lena J. Damongilala¹, Fitje Losung², Defny S. Wewengkang³

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan¹, PS. Ilmu Kelautan,

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

PS. Farmasi-F.MIPA³ Universitas Sam Ratulangi

E-mail : ldamongilala@yahoo.com

Abstrak

Eucheuma spinosum termasuk rumput laut (RL) spesies alga merah yang sudah dibudidayakan dan digunakan sebagai bahan pangan sumber karagenan dan antioksidan. Senyawa antioksidan sangat diperlukan tubuh karena kemampuannya untuk menangkal radikal bebas yang menjadi sumber dari berbagai jenis penyakit. Senyawa antioksidan sebagai komponen metabolit sekunder memiliki aktifitas yang berbeda-beda. Selama ini penelitian terhadap alga laut masih sangat terbatas, hanya terhadap karagenan dan pigmen baik untuk industri maupun bahan ekspor. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan metode ekstraksi yang menghasilkan massa ekstrak dan aktifitas antioksidan terbaik, serta mengetahui berbagai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut *E.spinsum*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tahap ekstraksi menggunakan metanol, dengan membandingkan cara *maserasi* (*m*) dan *sokletasi* (*s*). Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak methanol cair berwarna bening-kekuningan. Selanjutnya ekstrak tersebut dipekatkan dengan *rotaryevaporator*. Dengan *maserasi* terhadap RL kering (147,6 g) diperoleh massa ekstrak kental sebanyak *m*=4,18 g, sedangkan dengan *sokletasi* terhadap RL kering (147,8 g) diperoleh massa ekstrak kental sebanyak *s*=5,18 g. Ekstrak metanol hasil sokletasi lebih banyak dibandingkan dengan maserasi. Untuk mengetahui komponen senyawa dalam kedua ekstrak tersebut, dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom fase normal dengan pelarut *n-hexan-etilasetat* gradient 10%. Diperoleh dugaan bahwa fraksi yang mengandung **senyawa antioksidan** adalah fraksi *m-13* dan fraksi *s-8 s/d s-14*. Fraksi-fraksi ini memberikan **warna kuning** ketika dicelupkan ke dalam larutan DPPH. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut, dilakukan pengujian fitokimia. Hasil uji fitokimia diperoleh senyawa-senyawa : fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan saponin.

Kata kunci : *Eucheuma spinosum*, antioksidan, fitokimia, maserasi, sokletasi

Antioxidant Activity and Phytochemical test of Red Algae *Eucheuma spinosum* Extract from North Sulawesi Waters

Abstract

Eucheuma spinosum are marine red algae species already cultured and used as food for their carrageenan and antioxidant. Antioxidant compounds are much needed by human body, for their role in inhibiting the formation of free radicals that are the source of various diseases. As secondary metabolites component, antioxidant

compounds have different activities. Presently, the studies on marine algae are still limited on the carrageenan content and pigments, either for the industry or export.

The objectives of this research are to compare extraction methods which are able to produce extract mass and to find out the best antioxidant activity, also to know various secondary metabolites in algae *E. spinosum*. Methods in this research are extraction stages using methanol, to compare maceration method (m) and Soxhlet method (s). The result of extraction is liquid extract with yellow-transparent color. By rotary evaporator result concentrated extract mass m = 4.18 g for maceration dry marine red algae (147.6 g), and concentrated extract mass s = 5.18 g for Soxhlet dry marine algae (147.8 g). Methanol extract by Soxhlet higher than maceration. To know the component of compounds in extracts, using separation by Column Chromatography (CC) normal phase, with *n*-hexane-ethyl acetate solvents gradient 10%. The compounds indicated as an antioxidant are fraction m-13 and fraction s-8 up to s-14. These fractions have yellow color if immersed in DPPH solvent. To know the compounds categories in fractions used phytochemical test. By phytochemical test obtained compounds : phenolics, flavonoids, triterpenoids, and saponins.

Keywords : antioxidant, *Eucheuma spinosum*, maceration, Soxhlet, , phytochemical.