

**UJI TOKSISITAS DAN FITOKIMIA EKSTRAK KASAR METANOL,
KLOOROFORM DAN *n*-HEKSANA ALGA COKLAT *SARGASSUM VULGARE*
DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA**

Miftahul Jannah, Ahmad Hanapi, A. Ghanaim Fasya

Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Sargassum vulgare is a brown algae (*Phaeophyceae*) specific in Kapong beach Pamekasan Madura, suspected of secondary metabolic compound. This compound may be bioactive compounds that can be used in the medical world pharmacology. This research aims to know the toxicity level and its active compound *Sargassum vulgare*'s.

Extraction of active compound in *Sargassum vulgare* done by maceration method uses methanol, chloroform, and *n*-hexane as solutions. Each extract was tested of its toxicity to shrimp larval *Artemia salina* L. *A. Salina* mortality data analyzed by probit Minitab 16 analysis to know the LC₅₀ value of each extract. After that, the researcher identifies the classes of active compound by reagent test and continued by KLTA.

The result of research shows that the toxicity and crude methanol extracts, chloroform and *n*-hexane test to shrimp larval *S. Salina* L. obtains LC₅₀ successive value at 139,098 ppm, 39, 6343 ppm and 39, 8759 ppm. Phytochemical test result shows that methanol extract, chloroform, and *n*-hexane is a steroid. The results were confirmed by using KLTA's best eluent. For methanol extract eluent, *n*-hexane:ethyl acetate (7:3) create 5 spots by Rf 0,075-0,875 value. Chloroform extract, *n*-hexane:acetone (7:3) create 18 spots by Rf 0,037-0,975. Thus *n*-hexane eluent, *n*-hexane:ethyl acetate (7:3) create 8 spots by Rf 0,05-0,962 value.

Keywords: Brown algae (*Sargassum vulgare*), toxicity, phytochemical test and KLTA.

ABSTRAK

Sargassum vulgare merupakan spesies alga coklat (*Phaeophyceae*) yang khas dari pantai Kapong Pamekasan Madura, yang diduga memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia farmakologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas dan golongan senyawa aktif pada *Sargassum vulgare*.

Ekstraksi senyawa aktif *Sargassum vulgare* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, kloroform dan *n*-heksana. Masing-masing ekstrak diuji toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* L. Data kematian *A. salina* dianalisis dengan analisis probit Minitab 16 untuk mengetahui nilai LC₅₀ masing-masing ekstrak. Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa aktif dengan uji reagen dan dilanjutkan dengan KLTA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana terhadap larva udang *S. salina* L. diperoleh nilai LC₅₀ secara berturut-turut sebesar 139,098 ppm, 39,6343 ppm dan 39,8759 ppm. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana adalah steroid. Hasil ini diperkuat dengan KLTA menggunakan eluen terbaik, untuk ekstrak metanol eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 5 spot dengan nilai Rf 0,075-0,875. Ekstrak kloroform eluen *n*-heksana:aseton (7:3) menghasilkan 18 spot dengan nilai Rf 0,037-0,975. Dan ekstrak *n*-heksana eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 8 spot dengan nilai Rf 0,05-0,962.

Kata Kunci: Alga coklat (*Sargassum vulgare*), toksisitas, uji fitokimia dan KLTA.

I. PENDAHULUAN

Pantai Indonesia memiliki potensi alga yang sangat tinggi, tercatat sedikitnya terdapat 555 jenis alga. Kelompok umumnya yaitu alga biru, alga hijau, alga merah dan alga coklat. *Sargassum vulgare* merupakan salah satu golongan alga coklat. Makro alga jenis ini belum dimanfaatkan dan dibudidayakan. Menurut Asmad (2012) dalam Alfiaturrahmah (2013), menurut para penduduk dan nelayan pantai Kapong Pamekasan Madura, keberadaan *S. vulgare* di pantai tersebut sangat melimpah. Berdasarkan informasi tersebut alga coklat *S. vulgare* perlu ditingkatkan potensinya dengan cara diteliti guna mengetahui kandungan senyawa bioaktif khususnya yang berpotensi sebagai senyawa obat.

Skrining awal untuk pengujian bahan alam dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* L. sering digunakan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman, karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Ledenberg, 1992). Uji toksisitas dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik karena ada kaitannya antara uji toksisitas dengan uji sitotoksik jika harga LC_{50} toksisitas akut lebih kecil dari 1000 ppm (Meyer, *et al.*, 1982).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas dan golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak *S. vulgare*. Sehingga diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai bioaktivitas toksisitas alga coklat jenis *Sargassum vulgare*, sehingga dapat dimanfaatkan di bidang farmakologi.

II. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah hot plate, pisau, blender, oven, timbangan analitik, kaca arloji, cawan penguap, tabung reaksi,

pengaduk kaca, pipet tetes, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 10 mL, pipet ukur 1 mL, pipet mikro, penjepit, gelas beaker 100 mL, bola hisap, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 100 mL, desikator, corong kaca, corong *Buchner*, *aluminium foil*, kertas saring, labu ukur 10 mL, plat silika GF₂₅₄, lampu penerang, *vacum rotary evaporator*, *shaker*.

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga coklat jenis (*Sargassum vulgare*), metanol p.a, kloroform p.a, *n*-heksana p.a, DMSO, ragi roti, air laut, etil asetat, HCl 37 %, HCl 1N, HCl 2 %, metanol 50 %, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrida, aseton, FeCl₃ 1 %, gelatin, pereaksi Mayer dan Dragendorff, serbuk logam Mg, NaCl, pereaksi Liberman-Burchard, aquades, air.

1. Uji Taksonomi

Uji taksonomi alga coklat *S. vulgare* dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Pengembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.

2. Preparasi Sampel

Bahan yang digunakan adalah alga coklat *Sargassum vulgare*, dibersihkan dengan cara dicuci pada air mengalir kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 38 °C selama 24 jam dan dihaluskan menggunakan blender hingga halus Serbuk *S. vulgare* diayak menggunakan ayakan yang berukuran 60-100 mesh.

3. Uji Kadar Air

Cawan kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C kemudian didinginkan dalam desikator selama ± 15 menit. Setelah dingin berat cawan kosong ditimbang. Sampael sebanyak 5 gram dimasukkan dalam cawan dan ditimbang. Kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama ± 30 menit. Setelah kering, didinginkan dalam desikator selama ± 15 menit. Ditimbang kembali cawan berisi sampel. Kadar air dihitung berdasarkan persamaan berikut:

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

Keterangan:

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

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

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

4. Penentuan Kadar Garam

Sampel *S. vulgare* dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 10 mL akuades dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Ekstraksi diulangi sebanyak 6 kali. Kemudian disaring menggunakan penyaring corong *buchner*. Garam yang sudah terekstrak ke dalam pelarut akuades diukur kadarnya menggunakan alat salinometer.

5. Ekstraksi Senyawa Aktif

Serbuk *S. vulgare* sebanyak 100 g dimaserasi dengan menggunakan 300 mL pelarut metanol dan dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* selama 3×24 jam dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*), selanjutnya disaring. Ampas yang tersisa dimaserasi kembali sampai diperoleh filtrat bening (senyawa terekstrak semua). Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 5 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama, setelah itu dilakukan penyaringan. Kelima filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu (Halimah, 2010). Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap 100 g sampel alga yang diekstrak menggunakan pelarut kloroform dan *n*-heksana.

Ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, setelah itu dialiri gas N_2 . Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya dengan persamaan:

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

6. Uji Sitotoksik terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach

a. Penetasan Larva Udang

Media penetasan berupa air laut yang ditempatkan di wadah bersekat dengan pencahayaan sinar lampu pijar/neon. Telur *Artemia salina* L. sebanyak 2,5 mg dimasukkan dalam air laut tersebut. Kemudian diaerasi dalam waktu \pm 48 jam. larva udang yang telah menetas siap digunakan sebagai hewan uji (Juniarti, 2009).

b. Uji Toksisitas (Rita, et al., 2008)

Konsentrasi masing-masing sampel dibuat konsentrasi berbeda yakni 5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 0 ppm sebagai kontrol. Ekstrak pekat metanol, kloroform dan *n*-heksana, masing-masing dibuat larutan stok 10000 ppm dengan cara ditimbang ekstrak pekat 100 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya sebanyak 10 mL. selanjutnya dipipet masing-masing dari larutan stok sebanyak 5 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L, 150 μ L dan 200 μ L. Kemudian dimasukkan kedalam gelas vial, dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Kemudian ditambahkan 100 μ L dimetil sulfoksida (DMSO), setetes larutan ragi roti, dan air laut sampai volumenya 10 mL. dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia Salina* L.

Pada kontrol dibuat dengan dimasukkan 2 mL air laut, 100 μ L dimetil sulfoksida, dan 1 tetes larutan ragi roti ke dalam gelas vial, kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya 10 mL. dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia Salina* L. pengamatan uji toksisitas untuk mengetahui nilai LC_{50} dengan menghitung larva udang *Artemia Salina* L. yang mati setelah 24 jam dari perlakuan. Kemudian dihitung larva udang yang mati dengan rumus berikut.

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{jumlah artemia yang mati}}{\text{jumlah artemia yang diuji}} \times 100\%$$

7. Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia kandungan golongan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat metanol, kloroform dan *n*-heksana dari *S. vulgare* dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, triterpenoid,

steroid, saponin, dan tanin (Indrayani, *et al.*, 2006).

- **Uji Alkaloid (Kristanti, *et al.*, 2008)**

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

- **Uji Flavonoid**

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid.

- **Uji Triterpenoid dan Steroid (Kristanti, *et al.*, 2008)**

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

- **Uji Saponin (Harborne, 1987)**

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

- **Uji Tanin**

Uji dengan FeCl₃

Ekstrak *S. vulgare* ditambahkan dengan 3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau

kehitaman atau biru tinta, maka mengandung tanin.

Uji dengan Larutan Gelatin

Ekstrak *S. vulgare* sebanyak 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin

8. Uji Fitokimia dengan KLTA

Pemeriksaan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder secara kualitatif pada ekstrak *S. vulgare*, dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KITA) terhadap senyawa yang positif dari hasil uji reagen.

9. Analisis Data .

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji LC₅₀ menggunakan analisis probit pada program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95 %.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Taksonomi

Hasil uji taksonomi menunjukkan bahwa makroalga yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri yaitu bentuk agak gepeng, licin, batang utama silindris, percabangan selang-seling, mempunyai kantong udara, dan daunnya memanjang lurus pinggirnya bergelombang. Berdasarkan ciri-ciri tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel memiliki ciri-ciri yang sama dengan alga coklat jenis *Sargassum vulgare* Tjondronegoro, *et al.*, (1989).

Preparasi Sampel

Alga coklat *S. vulgare* dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pasir maupun lumpur yang menempel pada tallusnya, kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 38 °C. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama.

S. vulgare yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender

dan diayak untuk memperluas permukaan bahan sehingga mempermudah pada tahap ekstraksi, interaksi antara pelarut dengan sampel yang diekstraksi menjadi lebih efektif dan hasil ekstrak yang diperoleh maksimal (Sembiring, dkk., 2006). Dari 5 Kg sampel basah *S. vulgare* diperoleh serbuk kering *S. vulgare* sebanyak 400 gram.

Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui persentase kandungan air yang terdapat di dalam sampel. Hasil persentase kadar *S. vulgare* pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1 Hasil persentase kadar *S. vulgare*

| Alga Coklat (<i>Sargassum vulgare</i>) | Kadar Air % | Kadar Air Terkoreksi % |
|---|----------------|------------------------------|
| Sampel basah | 83,7970 | 77,6254 |
| Sampel kering | 10,4697 | 9,3528 |

Kadar air pada *S. vulgare* basah sebesar 77,6254 %. Astwan, *et al.*, (2001) menyatakan bahwa kandungan air rumput laut segar berkisar 80-90 % dan setelah pengeringan menjadi 10-20 %. Sedangkan kadar air *S. vulgare* kering sebesar 9,3528 %. Menurut Winarno (2002) kadar air yang baik adalah kurang dari 10 %, karena pada tingkat kadar air tersebut waktu simpan sampel akan relatif lebih lama dan terhindar dari pencemaran yang disebabkan mikroba. Oleh karena itu, *S. vulgare* kering yang dihasilkan dapat dilakukan penyimpanan dalam selang waktu yang cukup lama.

Analisis Kadar Garam

Analisis kadar garam dilakukan untuk mengetahui kadar garam yang terdapat pada sampel. Hasil uji kadar garam *S. vulgare*, pada penelitian ini sebesar 15,6 ppt. Menurut Pitoyo (2004) *Artemia salina* akan menetas dalam waktu 24-36 jam pada salinitas 15-35 ppt. Matthew (1982) yang menyatakan bahwa paparan salinitas antara 22,7 dan 33 ppt ada pengaruh meski tidak signifikan pada sampel mikroalga terhadap perkembangan

embrio normal. Sehingga dari kedua pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa kadar garam pada sampel tidak mempengaruhi tingkat kematian pada larva udang *Artemia salina* L.

Ekstraksi Maserasi

Proses ekstraksi maserasi dilakukan dengan menggunakan variasi pelarut (metanol, kloroform dan *n*-heksana). Untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder sesuai dengan kepolarannya. Hasil rendemen dari masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2 Hasil rendemen dari masing-masing ekstrak

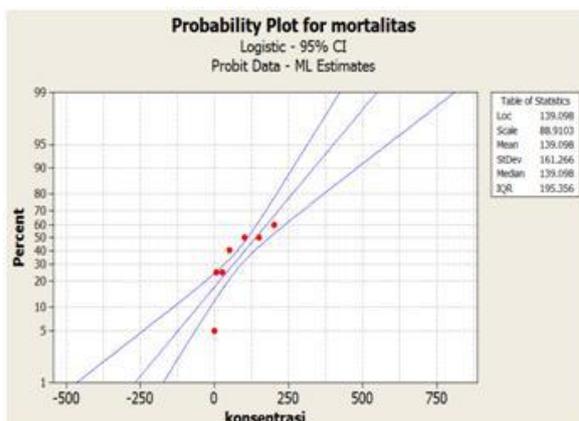
| Pelarut | Warna Ekstrak Pekat | Rendemen (%) (b/b) |
|-------------------|--------------------------|-----------------------|
| Metanol | Hijau Pekat Kehitaman | 3,39 |
| Kloroform | Hijau Pekat Kehitaman | 1,1596 |
| <i>n</i> -Heksana | Hijau Pekat | 0,4228 |

Nilai rendemen ekstrak metanol lebih besar dari kloroform dan *n*-Heksana, hal ini kemungkinan disebabkan karena pada *S. vulgare* banyak mengandung senyawa polar, selain itu diduga senyawa yang terkandung di dalam ekstrak *S. vulgare* masih berbentuk glikosida, sehingga akan lebih larut ke dalam pelarut polar. Keberadaan senyawa-senyawa yang masih berbentuk glikosida sangat mempengaruhi jumlah rendemen hasil ekstraksi, karena umumnya senyawa metabolit sekunder yang terikat pada gula akan terekstrak pada pelarut polar.

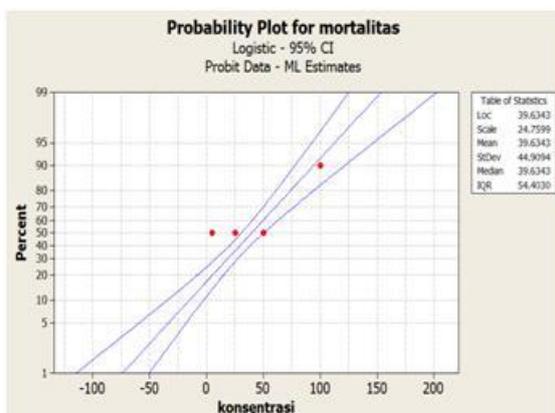
Uji Toksisitas Ekstrak *S. vulgare* dengan Larva Udang *A. salina* Leach

Hasil pengamatan mortalitas *Artemia salina* L. dalam uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT diperoleh presentase mortalitas hewan uji dari masing-masing konsentrasi ekstrak yang diujikan. Berdasarkan data tersebut dilakukan perhitungan dan analisa probit dengan program Minitab 16 dilakukan untuk mengkalkulasi rata-rata mortalitas

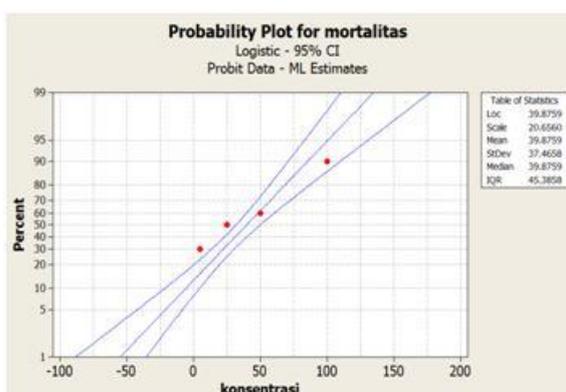
dan konsentrasi untuk mendapatkan nilai LC₅₀ secara statistika dengan tingkat kepercayaan 95 %. kurva mortalitas larva udang *Artemia salina* L. terhadap masing-masing ekstrak akar rumput bambu ditunjukkan pada Gambar 1, 2 dan 3.berikut.



Gambar 1. Grafik Uji Toksisitas (LC₅₀) Ekstrak Metanol



Gambar 2. Grafik Uji Toksisitas (LC₅₀) Ekstrak kloroform



Gambar 3. Grafik Uji Toksisitas (LC₅₀) Ekstrak *n*-Heksana

Berdasarkan kurva mortalitas masing-masing ekstrak pelarut, diperoleh nilai LC₅₀ sebagaimana pada tabel berikut:

Tabel 3 Nilai LC₅₀ pada berbagai pelarut

| Ekstrak | LC ₅₀ (ppm) |
|-------------------|------------------------|
| Metanol | 139,098 |
| Kloroform | 39,6343 |
| <i>n</i> -Heksana | 39,8759 |

Mayer, *et al.*, (1982) menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan, jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Dari pernyataan tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* bersifat toksik terhadap larva udang *A. salina* L. karena memiliki nilai LC₅₀ < 1000 ppm.

Identifikasi Golongan Senyawa Aktif

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder suatu sampel. Hasil kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* adalah steroid. Ditunjukkan pada Tabel berikut:

Tabel 4. Hasil kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* adalah steroid

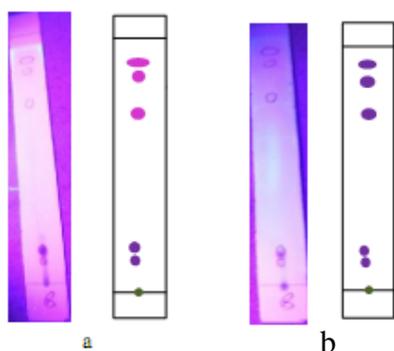
| Golongan senyawa aktif | Hasil uji reagen pada masing-masing ekstrak | | |
|------------------------|---|-----------|-------------------|
| | Metanol | Kloroform | <i>n</i> -Heksana |
| Alkaloid | - | - | - |
| Flavonoid | - | - | - |
| Saponin | - | - | - |
| Tanin | - | - | - |
| Steroid | +++ | +++ | +++ |
| Triterpenoid | - | - | - |

Keterangan:

- +++ =kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
- ++ =mengandung senyawa (warna cukup pekat)
- + =mengandung senyawa (sedikit berwarna)
- =tidak mengandung senyawa

Pemisahan Senyawa dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil identifikasi golongan senyawa steroid menggunakan KLT pada ekstrak metanol *S. vulgare* dengan menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (7:3) ditunjukkan sebagaimana pada Gambar 4 dan Tabel 5. Penelitian sebelumnya penelitian Handayani, dkk (2008) golongan senyawa steroid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Liberman-Burchard dengan terbentuknya bercak noda hijau. Menurut Syamsudin (2007) golongan senyawa steroid setelah disemprot dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV λ_{366} menghasilkan warna biru, ungu sampai coklat.



Gambar 4 Hasil KLT senyawa steroid *n*-heksana:etil asetat (7:3)

Keterangan:

- a. Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sebelum disemprot reagen Liberman-Burchard
- b. Hasil pengamatan dengan UV 366 nm setelah disemprot reagen Liberman-Burchard

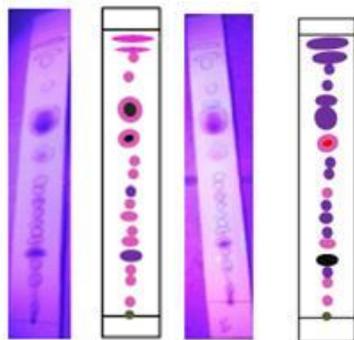
Tabel 5. Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak metanol *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3)

| Rf | Warna noda dibawah sinar UV pada λ 366 nm | | Dugaan senyawa |
|-------|---|----------------------|----------------|
| | Sebelum disemprot LB | Setelah disemprot LB | |
| 0,075 | Ungu | Ungu | Steroid |
| 0,112 | Ungu | Ungu | Steroid |
| 0,675 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,825 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,875 | Merah muda | Ungu | Steroid |

Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid dari ekstrak *S. vulgare* kloroform dengan menggunakan eluen *n*-Heksana:Aseton (7:3) menunjukkan pemisahan yang terbaik, sebagaimana pada Gambar 5 dan Tabel 6. Menurut Syamsudin (2007) yang menyatakan bahwa eluen *n*-Heksana:Aseton (7:3) merupakan eluen yang baik dalam memisahkan senyawa steroid yang menghasilkan warna biru, ungu sampai coklat, setelah disemprot dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV λ_{366} yang diduga merupakan golongan senyawa steroid. Hayati (2012) senyawa steroid setelah disemprot LB terbentuk bercak noda ungu, merah muda dan hijau.

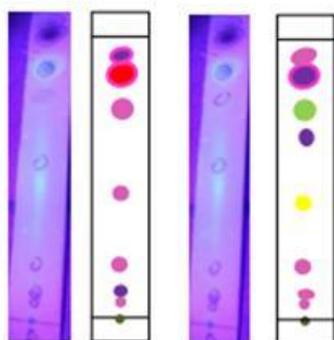
Tabel 6. Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Aseton (7:3).

| Rf | Warna noda dibawah sinar UV pada λ 366 nm | | Dugaan senyawa |
|-------|---|-------------------------|----------------|
| | Sebelum disemprot LB | setelah disemprot LB | |
| 0,037 | Merah muda | Merah muda | Steroid |
| 0,125 | Merah muda | Merah muda | Steroid |
| 0,162 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,2 | Ungu | Hitam | - |
| 0,237 | Merah muda | Merah muda | Steroid |
| 0,262 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,3 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,325 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,362 | Ungu | Merah muda | Steroid |
| 0,412 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,437 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,537 | Merah muda | Merah muda | Steroid |
| 0,662 | Merah muda tengah hitam | Merah muda tengah merah | Steroid |
| 0,725 | Merah muda tengah hitam | Ungu | Steroid |
| 0,787 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,9 | Merah muda | Ungu | Steroid |
| 0,925 | ungu | Ungu | Steroid |
| 0,975 | Orange muda | Ungu | Steroid |



Gambar 5 Hasil KLT senyawa steroid *n*-heksana:aseton (7:3)

Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid dari ekstrak *S. vulgare* *n*-heksana dengan menggunakan eluen *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3) menunjukkan pemisahan yang terbaik, sebagaimana pada Gambar 6 dan Tabel 7. Pada penelitian Handayani, dkk (2008) golongan senyawa steroid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Liberman-Burchard dengan terbentuknya bercak noda hijau. Hayati (2012) senyawa steroid setelah disemprot LB terbentuk bercak noda ungu, merah muda dan hijau. Menurut Syamsudin (2007) golongan senyawa steroid setelah disemprot dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV λ_{366} menghasilkan warna biru, ungu sampai coklat.



Gambar 5 Hasil KLT senyawa steroid *n*-heksana:aseton (7:3)

Tabel 7. Data penampakan noda senyawa steroid dari KLT ekstrak *n*-heksana *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3).

| Rf | Warna noda dibawah sinar UV pada λ 366 nm | | Dugaan senyawa |
|-------|---|------------------------|----------------|
| | Sebelum disemprot LB | Setelah disemprot LB | |
| 0,05 | Merah muda | Merah muda | Steroid |
| 0,075 | Ungu | Merah muda | Steroid |
| 0,162 | Merah muda | Merah muda | Steroid |
| 0,462 | Merah muda | Kuning | - |
| 0,687 | - | Ungu | Steroid |
| 0,787 | Merah muda | Hijau | Steroid |
| 0,912 | Merah muda tengah merah | Merah muda tengah ungu | Steroid |
| 0,962 | Merah muda tengah ungu | Merah muda | Steroid |

IV. PENUTUP

Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil uji toksisitas Ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *Sargassum vulgare* diperoleh nilai LC_{50} dari ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* secara berturut turut sebesar 139,098 ppm, 39,6343 ppm dan 39,8759 ppm.
2. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* mengandung senyawa golongan steroid. Hasil pemisahan KLTA untuk ekstrak metanol eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 5 spot. Ekstrak kloroform eluen *n*-heksana:aseton (7:3) menghasilkan 18 spot. Dan ekstrak *n*-heksana eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 8 spot.

Saran

Diperlukan pemisahan lebih lanjut untuk memisahkan senyawa aktif dengan Kromatografi kolom. Hasil isolat diidentifikasi dengan instrumen LC-MS

V. DAFTAR PUSTAKA

- Alfiaturrahmah. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Kloroform dan *n*-heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* Asal Pantai Kapong Pamekasan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN malang.
- Asmad. 2012. Wawancara komunikasi. *Kelimpahan alga coklat jenis Sargassum vulgare di Pantai Kapong Kabupaten Pamekasan*. 17 Maret 2012.
- Astawan, M., Muchtadi, D., Tutik, W., 2001. Pemanfaatan Rumput Laut pada Berbagai Makanan Jajanan Untuk Mencegah Timbulnya Defisiensi Iodium dan Penyakit Degeneratif. Laporan Penelitian. Bogor: IPB.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Handayani, D., Sayuti, N. dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epidioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*, Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.
- Harborne. J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinta dan Iwang Soediro. Bandung. Penerbit ITB.
- Hayati, E.K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa Dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.). *molekul*, Vol. 7. N0.1. hal:20-32.
- Juniarti. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *Jurnal Kimia Fakultas Kedokteran Universitas YARSI Jakarta*. Vol 13, No 1: 50-54.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M. dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Ledenberg, J. 1992. *Encyclopedia of Microbiology*, Volume Academic Press Inc, Rockefeller University, New York.
- Matthew P. Coglianesi. 1982. *The Effects of Salinity on Copper and Silver Toxicity to Embryos of the Pacific Oyster*. California Department of Fish and Game, Marine Bioassay Laboratory, 2201 Garden Road, Monterey, California.
- Meyer, B.N., Fergini, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nicholas, D.E. dan Mc Laughin, J.L. 1982. *Brine Shrimp; a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. Plant Medica.
- Pitoyo, Ahmad. 2004. perikanan-nusantara.blogspot.com/artemia.html diakses pada Maret 2014.
- 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.
- Syamsudin, Tjokrosonto, S., Wahyuno, S dan Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplasmodium dari dua fraksi Ekstrak *n*-heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Gracinia parvifoli* Miq.). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18 (4), 210-215.

Tjondronegoro dan Dewi, P. 1989. *Botani Umum II*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.

Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.