



THE CHARACTERIZATION OF SIMPLISIA, ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CHEMICAL CONSTITUENS FROM THALLUS *Turbinaria decurrens* Bory

Irma Sari

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala
Darussalam, Banda Aceh, 23111
Email: imazolin@gmail.com

Abstract. The characterization of simplisia, phytochemical screening, extraction, isolation and identification of chemical constituents from thallus *Turbinaria decurrens* Bory have been carried out. The examination of simplisia characteristics gave the water soluble extract the value of 10.59%, ethanol soluble extract valued at 0.93%, total ash valued at 15.64%, the acid insoluble ash value 0.79% and the water content valued at 8.66%. The result of phytochemical screening showed that there was triterpens/steroids present. The extraction process was carried out by percolation and then was separated by liquid vacuum column chromatography. Then by preparative thin layer chromatography isolate B₁ was obtained. The analysis of isolate B₁ by infra red spectrophotometry showed hydroxyl, aliphatic C-H bond, C=O bond, double bond of C=C, C=O bond, C-H bond of CH₃ and CH₂, were present. Ultra violet spectrophotometry exhibited a maximum absorption at 242 nm and mass spectrometric fragmentation pattern exhibited that the molecular weight of isolate B₁ was 394, it was suspected ergosta -4,7,22 -trien -3 one.

Keyword : *Turbinaria decurrens* Bory, Isolation, Steroid

I. PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai daerah perairan yang cukup luas, kira-kira 2/3 dari luas wilayahnya terdiri dari lautan, di dalamnya terkandung sumber daya alam yang cukup banyak dan potensial sebagai obat-obatan atau bahan makanan untuk mencegah penyakit degeneratif seperti rumput laut [1]. Rumput laut mengandung senyawa-senyawa kimia seperti klorofil, pigmen fikobilin yang terdiri dari fikoeritrin dan fikosianin, karotenoida, steroida, triterpenoida, vitamin, mineral-mineral, fenol, asam lemak dan lipid [2]. Rumput laut dari kelas alga coklat mengandung fukosterol sebagai sterol utama, sterol lainnya adalah kolesterol, 22-dehidroksikolesterol, dermosterol dan ergosterol. Sterol dari rumput laut ini dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan hormone sintesis seperti hormon seksual. Alga coklat dalam bentuk *raw material* banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan, makanan ternak, dan pupuk. Sebagai makanan dalam bentuk *raw material* dimanfaatkan sebagai sayuran. Di Indonesia yang

dimanfaatkan sebagai sayuran adalah ala merah yaitu jenis *Euchema*, namun sekarang ini beberapa daerah mulai mencoba memanfaatkan jenis lainnya termasuk alga coklat *Sargassum*, *Turbinaria*, dan *Padina*. Pemanfaatan sebagai bahan makanan ini kemungkinan besar karena kandungan besi serta iodium dan *trace element* lainnya yang sangat bermanfaat bagi kesehatan [3]. *Turbinaria decurrens* Bory merupakan salah satu jenis rumput laut yang termasuk dalam Phaeophyta. Habitatnya terdapat di pantai Lampuuk, Banda Aceh, dengan populasi yang cukup banyak. Rumput laut ini dikenal dengan nama Jamrud oleh penduduk setempat dan dimanfaatkan sebagai sayuran. Spesies ini merupakan penghasil iodium dan alginat [4]. Ditinjau dari segi potensial ekonomi *Turbinaria decurrens* Bory belum banyak dimanfaatkan walaupun sebenarnya rumput laut ini memiliki potensi serta peluang yang cukup besar untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam keperluan industri farmasi. Berdasarkan hal diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap spesies *Turbinaria decurrens* Bory yang meliputi

pemeriksaan terhadap karakterisasi simplisia, penapisan fitokimia dan isolasi golongan senyawa kimia dari rumput laut kelas Phaeophyceae, spesies *Turbinaria decurrens* Bory. Diharapkan dari penelitian ini diperoleh data yang lebih lengkap mengenai penapisan fitokimia, karakterisasi simplisia dan karakterisasi golongan senyawa kimia dari *Turbinaria decurrens* Bory.

II. METODOLOGI

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat-alat gelas laboratorium, alat kromatografi cair vakum, blender (National), *chamber*, eksikator, mikroskop (Olympus), neraca analitik (Mettler Toledo), neraca kasar (Ohaus), oven listrik (Fisher Scientific), penguap vakum putar (Buchi 461), perkolator, seperangkat alat penetapan kadar air, spektrofotometer IR (FTIR-8201 PC Shimadzu), spektrofotometer UV (Ati Unicam), spectrometer massa (Fisons Instrumens MD 800), tanur, tangas air. Bahan-bahan yang digunakan adalah talus dari *Turbinaria decurrens* Bory, bahan kimia yang digunakan berkualitas pro analisis kecuali dinyatakan lain, alfa naftol, air suling, amil alcohol, ammonia pekat, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat, asam klorida pekat, antimon klorida, besi (III) klorida, etanol, eter, etil asetat, isopropanol, kalium iodide, methanol, natrium hidroksida, natrium sulfat anhidrat, n-heksana, plat pra lapis silika gel GF₂₅₄, serbuk magnesium, silika gel 60 H, timbal (II) asetat, toluena.

Sampel yang digunakan adalah rumput laut yang diambil dari pantai Lampuuk, Banda Aceh. Sampel segar diambil dengan cara mencabutnya dari batu karang tempat ia menempel. Determinasi tumbuhan dilakukan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanografi LIPI, Jakarta. Pengolahan sampel dilakukan pertama kali adalah dengan membersihkan rumput laut dari pengotoran dan sisa-sisa karang yang menempel dengan cara dicuci dengan air ledeng sampai bersih lalu ditiriskan, kemudian disebarkan di atas kertas perkamen sehingga airnya terserap. Sampel ditimbang sebagai berat basah 19,280 kg, kemudian sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka. Bahan kering (simplisia) ditimbang sebagai berat kering 1,920 kg. Simplisia selanjutnya diserbuk menggunakan blender. Pemeriksaan Makroskopik dilakukan terhadap simplisia dengan cara mengamati warna, bentuk, ukuran dan tekstur talus *Turbinaria decurrens* Bory

dan mengamati warna, bentuk, ukuran dan tekstur talus *Turbinaria decurrens* Bory. Pemeriksaan Mikroskopik dilakukan terhadap talus segar dengan cara mengirisnya secara melintang dan membujur. Masing-masing diletakkan di atas kaca objek yang telah ditetesi dengan larutan kloralhidrat dan ditutupi dengan *cover glass* kemudian dilihat di bawah mikroskop. Pemeriksaan mikroskopik terhadap serbuk talus *Turbinaria decurrens* Bory dengan cara meneteskan larutan kloralhidrat di atas kaca objek, lalu ditaburi dengan serbuk talus dan ditutup dengan *cover glass* kemudian dilihat fragmen di bawah mikroskop.

Untuk penetapan kadar air dilakukan prosedur sebagai berikut: sebanyak 200 ml toluen dan 2 ml air suling dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu didestilasi selama 2 jam. Setelah itu, toluen dibiarkan mendingin selama 30 menit, dan dibaca volume air pada tabung penerima dengan ketelitian 0,05 ml. Kemudian ke dalam labu tersebut dimasukkan 5 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama, labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur lebih kurang 2 tetes tiap detik sampai sebagian besar air terdestilasi, kemudian kecepatan tetesan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendingin dibilas dengan toluen. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. Selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen.

Untuk penetapan kadar sari larut air dilakukan prosedur sebagai berikut: sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam air suling sampai 1 liter) dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Sejumlah 20 ml filtrat pertama diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

Untuk penetapan kadar sari larut etanol dilakukan prosedur sebagai berikut: Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan, dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat

sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol. Sejumlah 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

Untuk penetapan kadar abu total dilakukan sebagai berikut: sebanyak 2 gram serbuk simplisia yang telah digerus dan ditimbang seksama dimasukkan dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipijar perlahan-lahan sampai arang habis, pijaran dilakukan pada suhu 600°C selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara. Abu yang diperoleh dalam penetapan kadar abu tidak larut asam dididihkan dalam 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan dengan disaring melalui kertas saring yang telah diketahui beratnya lalu sisa dipanaskan, didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

Penapisan Fitokimia [5]

1. Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk tes alkaloid. Diambil 3 tabung reaksi, lalu masing-masing dimasukkan 0,5 ml filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Alkaloida positif jika terjadi endapan atau kekeruhan.

2. Pemeriksaan Glikosida

Sebanyak 3 g serbuk simplisia disari dengan 30 ml campuran etanol 96% dengan air (7:3) direfluks selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Kemudian diambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air suling dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran kloroform dan isopropanol (3:2), dilakukan berulang sebanyak 3 kali. Kumpulan sari air diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Larutan sisa digunakan untuk percobaan. Sebanyak 0,1 ml larutan percobaan

dimasukkan dalam tabung reaksi dan diuapkan diatas penangas air. Pada sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi Molish. Kemudian secara perlahan-lahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuk cincin warna ungu pada batas antara kedua cairan menunjukkan adanya ikatan gula. Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia direbus dalam air, kemudian didinginkan lalu disaring. Pada filtrat ditambahkan Fehling A dan Fehling B (1:1), kemudian dipanaskan. Terbentuknya endapan warna merah bata menunjukkan adanya gula pereduksi.

3. Pemeriksaan Glikosida Antrakinin

Sebanyak 0,2 g serbuk simplisia ditambahkan 5 ml asam sulfat 2 N, dipanaskan sebentar setelah dingin ditambahkan 10 ml benzen, dikocok dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan dan disaring lalu dikocok lapisan benzene dengan 2 ml natrium hidoksida 2 N, didiamkan. Lapisan air berwarna merah dan lapisan benzen tidak berwarna menunjukkan adanya antrakinin.

4. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin.

5. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditambahkan 10 ml metanol, direfluks selama 10 menit, disaring panas melalui kertas saring. Filtrat diencerkan dengan 10 ml air. Setelah dingin ditambahkan 5 ml eter minyak tanah, dikocok hati-hati, lalu didiamkan sebentar. Kemudian diambil lapisan metanol, diuapkan pada suhu 40°C, sisanya dilarutkan dalam 5 ml etil asetat, disaring.

Filtratnya digunakan untuk flavonoida dengan cara berikut:

- Sebanyak 1 ml filtrat diuapkan sampai kering, sisa dilarutkan dalam 2 ml etanol 96% lalu ditambah serbuk 2,5 g serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2N, didiamkan selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat, jika dalam waktu 2-5 menit terjadi warna merah intensif menunjukkan adanya flavonoid.
- Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan sampai kering, sisa dilarutkan dalam 1 ml etanol 96%, ditambah 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat,

jika terjadi warna kuning jingga menunjukkan adanya flavonoid.

6. Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dididihkan selama 3 menit dalam 100 ml air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1% (b/v), jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

7. Pemeriksaan Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 20 ml *n*-heksan selama 2 jam, disaring, filtrat diuapkan dan sisanya ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Jika terbentuk warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru ungu atau biru hijau menunjukkan adanya triterpenoid/steroid.

Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 1,5 kg talus yang telah dibuat menjadi serbuk simplisia diekstraksi dengan menggunakan metode perkolasi menggunakan pelarut aseton. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 50 °C. Selanjutnya ekstrak kental aseton dicampur dengan air hangat lalu diekstraksicair-cair dengan pelarut *n*-heksan. Fraksi *n*-heksan yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C. Terhadap ekstrak *n*-heksan dilakukan KLT untuk memantau komponen-komponen yang terdapat dalam ekstrak dengan menggunakan plat pra lapis silika gel GF₂₅₄ dan sebagai eluen adalah campuran *n*-heksan:etil asetat dengan perbandingan (90:10), (80:20), (70:30). Plat disemprot dengan penampak bercak asam sulfat 50% dalam metanol, kemudian plat dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 5 menit, warna diamati. Dari hasil KLT diperoleh eluen yang menghasilkan pemisahan noda paling baik yaitu eluen dengan perbandingan *n*-heksan:etil asetat(70:30).

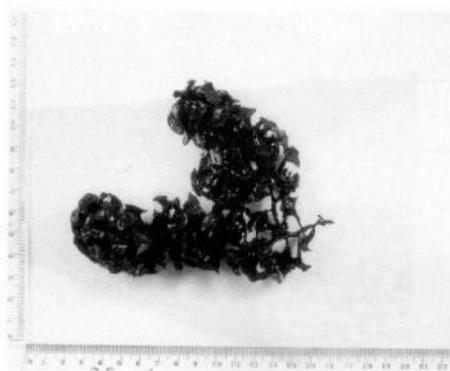
Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksan dipisahkan dengan kromatografi cair vakum. Kolom yang digunakan adalah corong Buchner kaca masir, lalu dimasukkan silika gel 60 H yang dikemas dalam keadaan kering, alat vakum dihidupkan untuk memperoleh kerapatan kemasan kolom. Ekstrak kental *n*-heksan yang sebelumnya telah dicampur dengan silika gel dimasukkan pada bagian atas kolom. Kemudian sampel dielusi dengan pelarut mulai dari kepolaran rendah lalu kepolarannya

ditingkatkan perlahan-lahan (pelarut landaian) *n*-heksan:etil asetat (100:0), (90:10), (70:30), (60:40), (50:50), (40:60), (30:70), (20:80), (10:90), (0:100)), dan kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Terhadap fraksi yang mengandung senyawa triterpen/steroid dilanjutkan pemisahan menggunakan KLT preparatif dengan fase diam silika gel GF₂₅₄, eluen *n*-heksan-etil asetat (70:30) dan penampak bercak pereaksi Liberman Burchard.

Terhadap Isolat yang diperoleh dilakukan uji kemurnian dengan KLT dua arah menggunakan eluen I *n*-heksan:etil asetat (60:40), eluen II *n*-heksan:etil asetat (50:50) dan penampak bercak pereaksi Liberman Burchard. Analisis isolat menggunakan spektrofotometri Ultra Violet, Infra Merah dan spektrometri massa.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

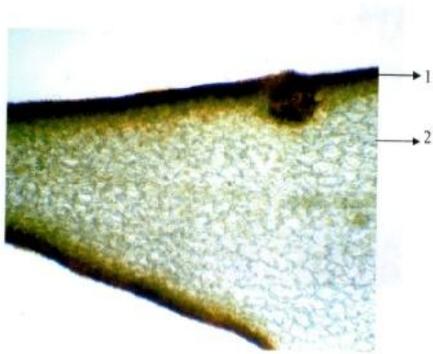
Hasil identifikasi yang dilakukan oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi – LIPI Jakarta terhadap rumput laut yang diteliti adalah jenis *Turbinaria decurrens* Bory, divisi Phaeophyta, kelas Phaeophyceae, ordo Fucales, family Sargassaceae dan genus *Turbinaria*. Pemeriksaan karakteristik tumbuhan segar dari talus *Turbinaria decurrens* Bory secara makroskopik diperoleh talus berwarna kuning coklat gelap, identitas batang silindris, tegak dan kasar (Gambar 1). Tinggi mencapai 14 cm. Bentuk “daun” menyerupai kerucut segitiga dengan panjang 11-17 mm dengan tekstur yang lunak seperti daging dan dasar “daun” menempel pada batang [6].



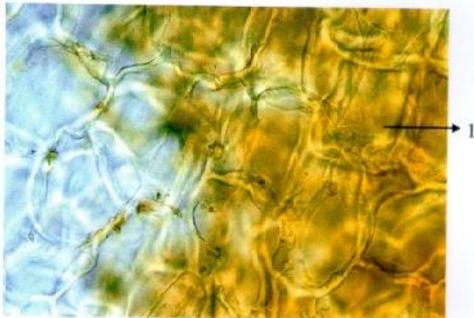
Gambar 1 Talus segar *Turbinaria decurrens* Bory

Pemeriksaan karakteristik tumbuhan segar secara mikroskopik dari talus *Turbinaria decurrens* Bory pada irisan penampang melintang terlihat adanya sel epidermis yang

mengandung pigmen dan sel-sel parenkim berbentuk segi empat tidak beraturan (Gambar 2).



Gambar 2 (1) Sel Epidermis (2) Sel Parenkim (perbesaran 10x10)



Gambar 3 (1) Sel parenkim berisi pigmen warna coklat (perbesaran 10x40)



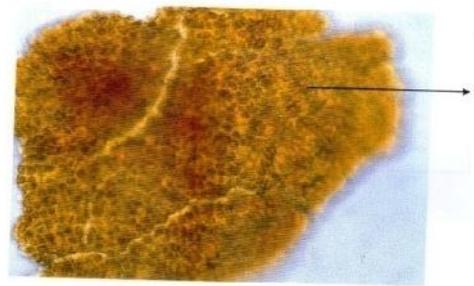
Gambar 4 Simplisia dari talus *Turbinaria decurrens* Bory

Pada irisan penampang membujur terlihat adanya sel-sel parenkim berbentuk segi empat tidak beraturan yang berisi pigmen berwarna coklat (Gambar 3).

Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia secara makroskopik terlihat talus berwarna kuning

coklat, keras dan kasar. Bentuk “daun” menciut dan pinggir “daun” bergerigi tajam dengan pangkal “daun” menempel pada batang (Gambar 4). Pemeriksaan karakteristik simplisia secara mikroskopik pada serbuk talus *Turbinaria decurrens* Bory terlihat adanya sel parenkim yang berisi pigmen berwarna coklat dan terdapat sel-sel *propagule* yang berfungsi untuk menghasilkan cabang pada talus rumput laut [7] (Gambar 5).



Gambar 5 (1) Sel parenkim berisi pigmen warna coklat (perbesaran 10x10)

Pada pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia diperoleh kadar sari yang larut dalam air 10,59%, ini menunjukkan banyaknya senyawa polar yang terdapat didalam simplisia. Kadar sari yang larut dalam etanol 0,93%, menunjukkan adanya senyawa dengan kepolaran yang rendah. Kadar abu total 15,64%, kadar abu tidak larut dalam asam 0,79% menunjukkan adanya senyawa anorganik didalam simplisia seperti silika dan pasir. Kadar air 8,66%, menunjukkan kandungan air yang terdapat dalam simplisia. Dari pemeriksaan kadar abu total diperoleh hasil yang cukup tinggi karena pada umumnya alga coklat mengandung zat kapur [2] (Gambar 6).



Gambar 6 (1) Sel *Propagule* perbesaran (10x40)

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa talus hanya mengandung senyawa metabolit sekunder steroida/Triterpenoid (Tabel 1).

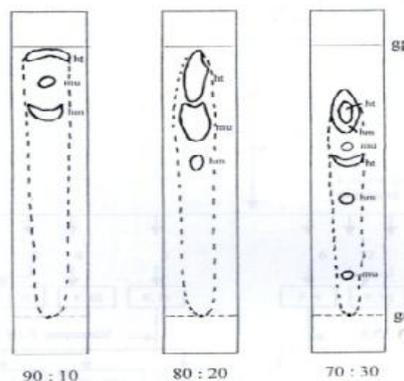
Tabel 1 Hasil penapisan fitokimia

No.	Penetapan	Hasil
1	Alkaloida	-
2	Flavonoida	-
3	Saponin	-
4	Tanin	-
5	Glikosida	-
6	Glikosida Antrakinon	-
7	Steroida/Triterpenoida	Hijau biru

Isolasi Steroid/Triterpenoid

Ekstraksi dilakukan dengan cara perkolasi serbuk *simplisia* sebanyak 1,5 kg, sebagai penyari adalah aseton. Kemudian ekstrak dipisahkan menggunakan penguap vakum putar dan diperoleh 16 g ekstrak kental aseton (randemen 1,07%). Selanjutnya dilakukan fraksinasi secara ekstraksi cair-cair dengan penambahan air dan pelarut n-heksana. Fraksi n-heksana yang dihasilkan diuapkan dengan penguap vakum putar dan diperoleh 12 g fraksi kental n-heksana. Kemudian dilakukan KLT terhadap fraksi n-heksana dengan menggunakan eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana:etil asetat (90:10), (80:20) dan (70:30) untuk mendapatkan eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa yang terdapat dalam fraksi n-heksana.

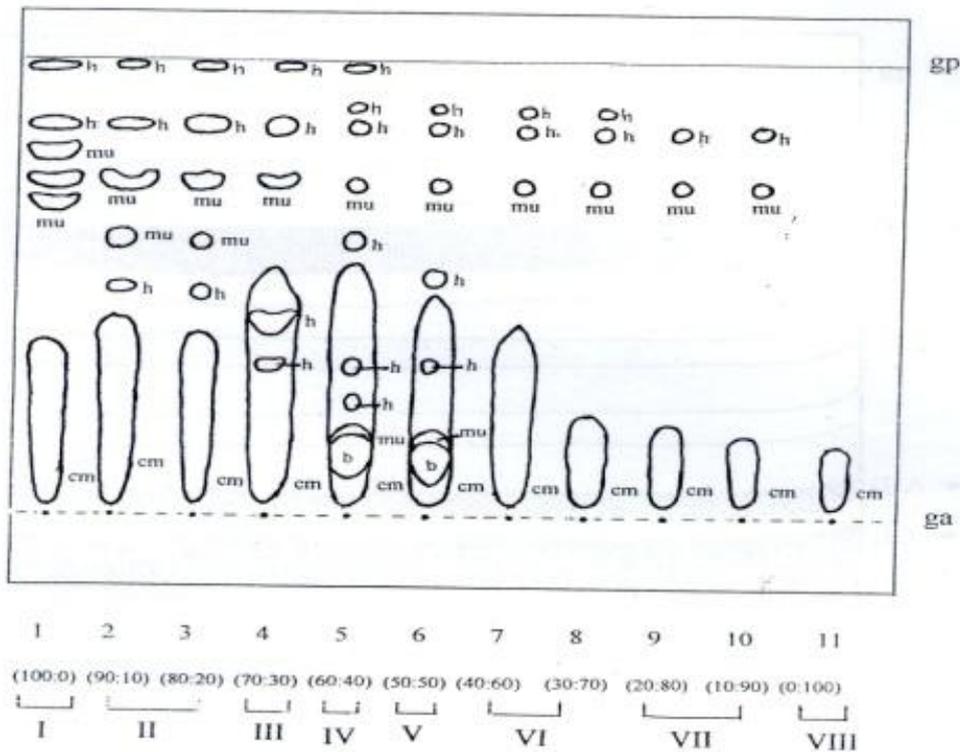
Penampak bercak yang digunakan asam sulfat 50% dalam metanol. Eluen n-heksana:etil asetat (70:30) memiliki kromatogram yang paling baik. Setelah disemprot diperoleh 5 noda yaitu noda berwarna merah ungu (R_f 0,15), hijau muda (R_f 0,43), hijau tua (R_f 0,62), merah ungu (R_f 0,67), hijau tua (R_f 0,76). Ini merupakan prosedur isolasi asam turbinarat (Gambar 7). Selanjutnya terhadap fraksi (ekstrak) n-heksana dilakukan kromatografi cair vakum sehingga senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak terpisah berdasarkan kepolarannya. Dalam hal ini digunakan pelarut landaian n-heksana-etil asetat dengan kepolaran yang semakin meningkat.



Gambar 7. Kromatogram fraksi n-heksan

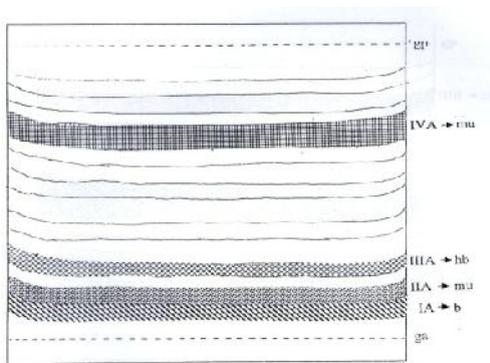
Dari kromatografi kolom cair vakum diperoleh 11 fraksi. Terhadap masing-masing fraksi dilakukan KLT dengan pengembang n-heksana-etil asetat (70:30). Kemudian fraksi yang mempunyai pola kromatogram yang sama digabung menjadi satu fraksi maka diperoleh VIII fraksi yaitu fraksi 1 menjadi fraksi I, fraksi 2-3 menjadi fraksi II, fraksi 4 menjadi fraksi III, fraksi 5 menjadi fraksi IV, fraksi 6 menjadi fraksi V, fraksi 7-8 menjadi fraksi VI, fraksi 9-10 menjadi fraksi VII, dan fraksi 11 menjadi fraksi VIII. Fraksi yang dilanjutkan pengerjaannya adalah fraksi IV dan fraksi V (Gambar 8).

Terhadap fraksi IV dilakukan kromatografi lapis tipis preparatif dengan menggunakan plat kromatografi pralapis tipis preparative berukuran 20 x 20 cm, fase gerak yang digunakan adalah n-heksana-etil asetat (70 : 30) dan penampak bercak Liebermann-Burchard. KLT preparatif dilakukan dengan metode dua kali pengembangan untuk menghasilkan jarak noda yang lebih terpisah. Dari hasil KLT preparatif ini ada 4 pita yang dikerok secara terpisah yaitu pita IA berwarna biru, pita IIA berwarna merah ungu, pita IIIA berwarna hijau biru dan IVA berwarna merah ungu, warna-warna dari pita tersebut nampak setelah disemprot.



Gambar 8 Kromatogram fraksi-fraksi n-heksana hasil KCV

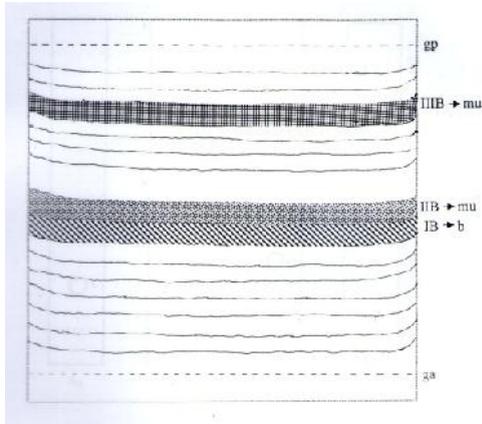
Keempat pita ini dikerok lalu direndam selama satu malam dalam aseton, dari pita IA setelah direndam lalu disaring dan filtratnya diuapkan lalu di KLT dengan pengembang yang sama dan diperoleh satu noda berwarna biru dengan Rf (0,14) disebut isolat A₁. Dengan cara yang sama dilakukan terhadap pita IIA, IIIA dan IVA. Pada pita IIA diperoleh satu noda berwarna merah ungu dengan Rf (0,18) disebut isolat A₂, dari pita IIIA diperoleh satu noda berwarna hijau biru dengan Rf (0,26) disebut isolat A₃ dan pita IVA diperoleh satu noda berwarna merah ungu lemah dengan Rf (0,40) disebut isolat A₄.



Gambar 9 Kromatogram preparatif dari fraksi n-heksan:etil asetat (60:40)

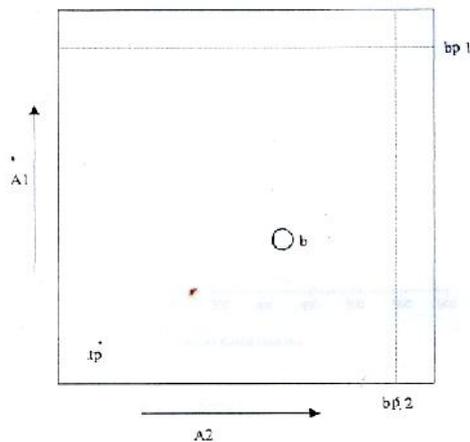
Dari keempat pita tersebut tidak dilakukan pemurnian karena jumlahnya sangat sedikit. Dengan cara yang sama seperti diatas terhadap fraksi V dilakukan kromatografi lapis tipis preparatif dengan metode dua kali pengembangan. Fase gerak yang digunakan n-heksana - etil asetat (60:40) dan penampak bercak Liebermann-Burchard (Gambar 9). Dari hasil KLT preparative ini terdapat tiga pita yang dikerok yaitu pita IB berwarna biru, pita IIB berwarna merah ungu dan pita IIIB berwarna merah ungu. Ketiga pita ini dikerok secara terpisah dan direndam satu malam dalam aseton lalu disaring. Filtratnya masing-masing dimasukkan dalam vial IB, vial IIB dan vial IIIB lalu dikeringkan. Kemudian masing-masing isolat di kromatografi lapis tipis menggunakan plat pra lapis silica gel GF₂₅₄, pengembang n-heksana - etil asetat (60:40) dengan penampak bercak Liebermann-burchard. Hasil analisis kromatografi lapis tipis ini menunjukkan bahwa pada vial IB diperoleh noda berwarna biru dengan Rf (0,59) disebut isolate B₁, vial IIB diperoleh 2 noda berwarna merah ungu disebut isolate B₂, Rf (0,26) dan B₂, Rf (0,43) dan dari vial IIB diperoleh 3 noda berwarna merah ungu disebut isolat B₃, Rf (0,74), B₃, Rf (0,81), B₃, Rf (0,84). Isolat B₂, B₂, B₃, B₃, dan B₃ tidak dilanjutkan dengan pemurnian. Isolat B₁ direkristalisasi dalam

metanol dan diperoleh serbuk amorf berwarna kuning muda.



Gambar 10 Kromatogram preparatif dari fraksi n-heksan:etil asetat (50:50)

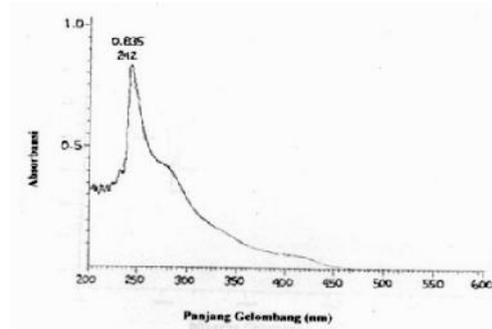
Uji kemurnian terhadap isolat B₁ ditentukan secara kromatografi lapis tipis dua arah menggunakan pengembang I yaitu n-heksana-etil asetat (60:40) dan pengembang II yaitu kloroform-etil asetat (50 : 50) dengan fase diam silika gel GF 254 dan penampak bercak Liebermann-Burchard (Gambar 10). Hasil uji memberikan noda tunggal berwarna biru.



Gambar 11 Kromatogram dua arah dari isolat B₁

Hasil analisis spektrofotometri ultra violet terhadap isolat B₁ diperoleh panjang gelombang maksimum 242 nm. Ini menunjukkan adanya gugus kromofor [5]. Hasil analisis spektrofotometri infra merah terhadap isolat B₁ menunjukkan adanya gugus hidroksil (3386,8 cm⁻¹) yang diperkirakan berasal dari lempeng NaCl yang bersifat higroskopis, gugus CH alifatis (2923,9 cm⁻¹ – 2854,5 cm⁻¹), gugus C=C (1680 cm⁻¹), gugus C=O 1720,4 cm⁻¹), gugus -CH₂ (1461,9 cm⁻¹),

gugus -CH₃ (1377,1 cm⁻¹) dan gugus C-O (1215,1 cm⁻¹).



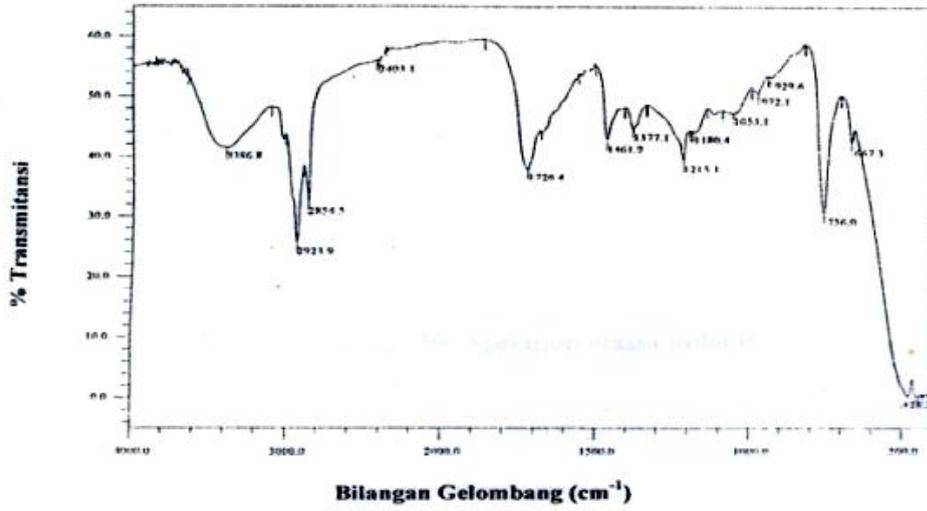
Gambar 12 Spektrum UV isolat B₁

Dari hasil analisis spektrum massa isolat B₁ memberikan ion molekul pada m/z 394 dan mempunyai base peak pada m/z 43. Ion fragmen karakteristiknya adalah sebagai berikut:

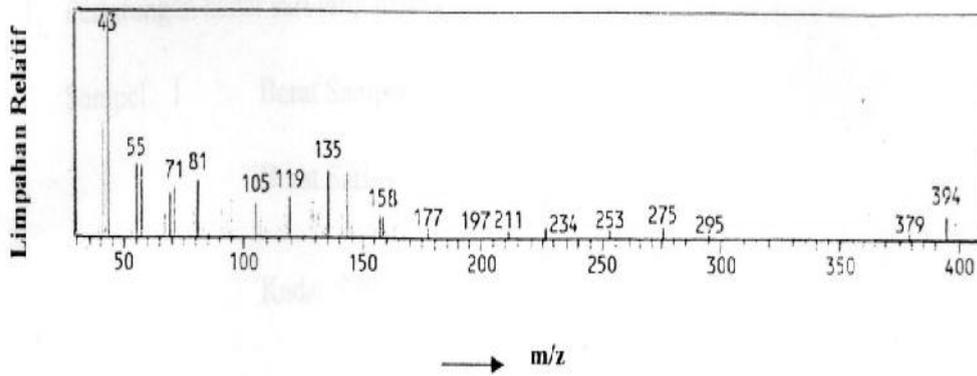
1. m/z 394 adalah bobot molekul senyawa
2. m/z 379 (M⁺ -15) menunjukkan fragmentasi gugus metal
3. m/z 295 (M⁺ -99) menunjukkan adanya fragmentasi alil disertai pemindahan atom hydrogen pada senyawa steroid tidak jenuh. Pemecahan ini dapat menunjukkan hasil fragmentasi rantai cabang.
4. m/z 135 (M⁺ -259) menunjukkan adanya fragmentasi pada cincin B.
5. m/z 158 (M⁺ -236) menunjukkan fragmentasi pada cincin C, kemungkinan disertai dengan kehilangan 2 atom hydrogen.
6. m/z 226 (M⁺ -168) menunjukkan adanya fragmentasi pada cincin D, kemungkinan disertai dengan kehilangan 2 atom hydrogen.

Hasil analisis spektrometri massa diperoleh berat molekul isolat B₁ 394 sedangkan berat molekul asam turbinarat 387, walaupun yang digunakan adalah prosedur asam turbinarat tetapi yang diperoleh adalah senyawa steroida. Hal ini kemungkinan terjadi karena pada isolasi asam turbinarat bahan yang digunakan adalah talus segar sedangkan yang digunakan dalam penelitian adalah *simplisia*. Jadi diduga isolat B₁ senyawa steroida yaitu Ergosta -4, 7, 22, triena -3 on.

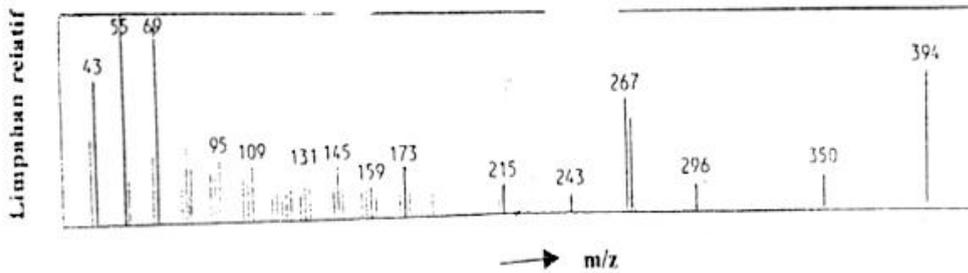
Hasil analisis data spektrometri massa isolate B₁ dibandingkan dengan data *library* mempunyai tingkat kemiripan 57% dengan senyawa steroida yaitu ergosta -4, 7, 22, -triena -3 on.



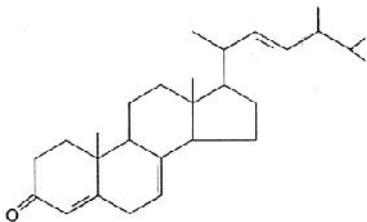
Gambar 13 Spektrum infra merah isolat B₁



Gambar 14 Spektrum massa isolat B₁



Gambar 15 Spektrum massa data *library*



Gambar 16 Struktur ergosta -4,7,22, -triena -3 on

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia diperoleh kadar sari yang larut dalam air 10,59%, kadar sari yang larut dalam etanol 0,93%, kadar abu total 15,64%, kadar abu tidak larut dalam asam 0,79% dan kadar air 8,66%. Hasil penapisan fitokimia terhadap serbuk talus *Turbinaria decurrens* Bory menunjukkan adanya senyawa steroida / triterpenoida. Hasil isolasi diperoleh isolat B₁ yang mempunyai panjang gelombang 242 nm, berat molekul 394, memiliki gugus-gugus CH alifatik ($2923,9\text{ cm}^{-1}$ - $2854,5\text{ cm}^{-1}$), C=C (1680 cm^{-1}), C=O ($1720,4\text{ cm}^{-1}$), -CH₂ ($1461,9\text{ cm}^{-1}$), -CH₃ ($1377,1\text{ cm}^{-1}$) dan C-O ($1215,1\text{ cm}^{-1}$), dengan Liebermann-Burchard memberikan warna biru, diduga bahwa isolat B₁ adalah senyawa steroida ergosta -4, 7, 22, -trien-4 on.

REFERENSI

1. E. Stahl. (1985). *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB. Hal. 3-4, 7, 16-17
2. C.S. Lobban, and M.S. Wynne. (1981). *The Biology of Seaweeds*. Vol. XVII. Oxford: Blackwell Scientific Publ. Hal. 596-599.
3. A. Sugiarto dan W.S. Atmadja. (1988). *Rumput Laut (Algae), Jenis, Reproduksi, Produksi, Budidaya dan Pasca Panen*. Jakarta. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI. Hal. 1-9.
4. F.G. Winarno. (1990). *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Penerbit Pustaka Sinar Harapan.
5. R.M. Silverstein, G.C. Bossler, and T.C. Morrill. (1981). *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik*. Penerjemah Hartomo dkk. Jakarta: Penerbit Erlangga. Hal. 3-5, 305, 308.
6. Sulistijo dan Rachmaniar. (1996). *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi LIPI. Hal. 77.
7. C.J. Dawes. (1981). *Marine Botany*. USA: John Willey & Sons, Inc. P. 41, 59.