

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## IDENTIFIKASI SENYAWA POTENSIAL ANTIOKSIDAN PADA MAKROALGA COKELAT *Turbinaria ornata* DARI PANTAI GUNUNGKIDUL, YOGYAKARTA

Wiwin Kusuma Perdana Sari<sup>\*\*#</sup> dan Muslimin<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional  
Jalan Jogja-Wonosari, Km 31,5 Kec. Playen, Kab. Gunungkidul, Yogyakarta 55861

<sup>\*\*</sup>Pusat Riset Perikanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional  
Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46 Cibinong, Kec. Cibinong, Kab. Bogor, Jawa Barat

(Naskah diterima: 29 Mei 2022; Revisi final: 30 Januari 2023; Disetujui publikasi: 30 Januari 2023)

### ABSTRAK

Makroalga cokelat memiliki kandungan senyawa bioaktif yang bermanfaat dalam berbagai bidang kesehatan. Salah satu jenis makroalga cokelat dengan potensi antioksidan adalah *Turbinaria ornata*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa potensial antioksidannya. Fraksinasi terhadap ekstrak *T. ornata* dilakukan untuk memfokuskan jenis senyawa potensial antioksidan. Ekstrak dan fraksi dengan potensi antioksidan terbaik dianalisis kandungan senyawanya dengan *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS). Pemantauan dengan plat kromatografi lapis tipis (KLT) juga dilakukan terhadap fraksi dengan potensi antioksidan terbaik. Hasil analisis GC-MS dan KLT mengidentifikasi senyawa hidrokarbon *dodecane*, asam lemak ester *hexadecanoic acid ethyl ester*, monoterpenoid *dyhidroacnidiolide* dan *loliolide*, senyawa fenol *resorcinol* serta flavonoid *kaempferol* sebagai senyawa-senyawa potensial pendukung aktivitas antioksidan makroalga cokelat *T. ornata*. Studi menyimpulkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi dalam mendukung aktivitas antioksidan makroalga cokelat *T. ornata*.

**KATA KUNCI:** antioksidan, *Turbinaria ornata*, GC-MS, KLT, identifikasi senyawa

**ABSTRACT:** Identification of Potential Antioxidant Compounds in the Brown Macroalgae *Turbinaria ornata* from Gunungkidul Coast, Yogyakarta

Brown macroalgae contain abundant bioactive compounds and are used in various medical applications. *Turbinaria ornata* is one of the brown macroalgae species suspected to have promising antioxidant potential. This recent study was conducted to identify the potential antioxidant compounds in *T. ornata*. Fractionation of *T. ornata* extract was done to differentiate the types of potential antioxidant compounds. Extracts and fractions with the best antioxidant potential were analyzed using *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS). The fractions with the best antioxidant potential were monitored using the thin layer chromatography (TLC) plate. The analyses have determined the presence of bioactive compounds such as *dodecane*, *hexadecanoic acid ethyl ester*, monoterpenoids *dyhidroacnidiolide* and *loliolide*, *resorcinol* and *kaempferol* in the tested samples of brown macroalga *T. ornata*. These compounds have known as potential compounds that support antioxidant activity. This study concluded

<sup>\*</sup>Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional  
Jalan Jogja-Wonosari, Km 31,5 Kec. Playen, Kab. Gunungkidul, Yogyakarta 55861  
E-mail: [wiwin.kusuma.perdana.sari@brin.go.id](mailto:wiwin.kusuma.perdana.sari@brin.go.id)

that the identified bioactive compounds are deemed as potential compounds supporting the antioxidant activity of the brown macroalgae *T. ornata*.

**KEYWORDS:** antioxidant, *turbanaria ornata*, GC-MS, TLC, compound identification

## PENDAHULUAN

Makroalga cokelat merupakan kelompok makroalga yang tersebar luas di perairan dunia, dari perairan kutub hingga perairan tropis. Pemanfaatan makroalga cokelat di perairan tropis masih kurang populer. Berdasarkan banyak studi, kelompok makroalga cokelat sangat potensial untuk dimanfaatkan karena kandungan senyawa-senyawa bioaktifnya. Makroalga cokelat memiliki kandungan senyawa bioaktif yang melimpah, dan terbukti bersifat bioaktif dalam berbagai bidang kesehatan. Beberapa di antaranya yaitu brefek antioksidan, antidiabetes, antiinflamasi, antitumor, dan lain sebagainya. (Catarino *et al.*, 2017).

Salah satu jenis makroalga cokelat dengan potensi antioksidan adalah *Turbinaria ornata*. Potensi *T. ornata* yang berasal dari berbagai wilayah perairan dunia telah banyak diteliti dan terbukti menunjukkan respons bioaktif sebagai antioksidan (Deepak *et al.*, 2017; Kelman *et al.*, 2012; Rattaya *et al.*, 2015). Penelitian mengenai potensi antioksidan *T. ornata* dari salah satu perairan pantai Indonesia, yaitu perairan Pantai Gunungkidul telah dilakukan sebelumnya (Sari & Suharyanto, 2021). Dari beberapa jenis makroalga uji yang terdiri dari *Gelidium corneum*, *Palisada perforata*, *Ulva lactuca*, *Codium tomentosum*, *Sargassum aquifolium*, dan *T. ornata* diperoleh hasil potensial antioksidan terbaik ditunjukkan oleh *T. ornata*. Hal tersebut berbanding lurus dengan kandungan pigmen karotenoidnya yang juga tertinggi dibandingkan jenis lainnya dalam pengujian yang dilakukan (Sari & Suharyanto, 2021). Potensi antioksidan rumput laut tidak hanya didukung oleh kandungan pigmen karotenoidnya saja, tetapi juga berbagai senyawa antioksidan yang secara sinergis menimbulkan efek antioksidan (Tziveleka

*et al.*, 2021) Untuk melengkapi informasi potensi makroalga *T. ornata*, maka dilakukan penelitian identifikasi kandungan senyawa potensial antioksidannya. Informasi mengenai kandungan senyawa potensial antioksidan pada *T. ornata* diharapkan mampu melengkapi data potensi pemanfaatan makroalga dari Pantai Gunungkidul, Yogyakarta.

## BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel *T. ornata* dilakukan di Pantai Krakal, Gunungkidul, Yogyakarta. Talus rumput laut diambil dengan cara mencabut keseluruhan bagian talus sehingga diperoleh bagian filoid, cauloid, dan rhizoid *T. ornata*. Sampel kemudian dikumpulkan dan dibersihkan dari pasir maupun epifit yang menempel. Setelah bersih, sampel dimasukkan ke dalam coolbox untuk dibawa ke Laboratorium Biokimia, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, dengan waktu tempuh perjalanan sekitar 2 jam. Preparasi sampel mengacu pada Sari & Suharyanto (2021). Ekstraksi untuk keperluan uji antioksidan dilakukan sesaat setelah pengambilan dan preparasi sampel basah *T. ornata* untuk mengurangi resiko penurunan aktivitas antioksidan, sedangkan ekstraksi untuk keperluan analisis kandungan senyawa dilakukan terhadap sampel *T. ornata* yang telah dikering-anginkan selama 7 hari seperti yang dijelaskan oleh (Deepak *et al.*, 2017).

### Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi sampel makroalga dilakukan dengan teknik maserasi (Deepak *et al.*, 2017; Getachew *et al.*, 2020). Sebanyak 30 g sampel makroalga *T. ornata* dipotong kecil-kecil 1-2 mm dan ditempatkan pada beaker glass 1000 mL dan ditambahkan pelarut etanol sebanyak 300 mL, kemudian ditutup rapat dan

dibiarkan selama 24 jam pada suhu ruang. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* (Cole Parmer: Stuart RE 300) pada suhu 45°C hingga pelarut menguap seluruhnya, dan diperoleh ekstrak *T. ornata* pekat, kemudian dianalisis.

### Uji Antioksidan

Metode uji antioksidan yang digunakan adalah metode 1-1 Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) dengan beberapa seri konsentrasi ekstrak untuk memperoleh konsentrasi inhibisi 50% (*inhibition concentration 50%/IC<sub>50</sub>*) (Deepak *et al.*, 2017; Kosanic *et al.*, 2019). Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk pengujian yaitu 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 ppm. Sebagai kontrol untuk memastikan reaksi berjalan dengan baik, digunakan asam askorbat dengan konsentrasi yang jauh lebih rendah yaitu 2,5; 5; 10; 20; dan 40 ppm. Perhitungan nilai konsentrasi inhibisi/*IC<sub>50</sub>* dilakukan dengan analisis probit (Locatelli *et al.*, 2009).

### Fraksinasi Sampel

Untuk memfokuskan senyawa potensial antioksidan, maka dilakukan proses fraksinasi. Setiap fraksi yang diperoleh dari hasil fraksinasi kemudian diuji kembali potensi antioksidannya.

Tabel 1. Komposisi eluen yang digunakan pada proses fraksinasi ekstrak *Turbinaria ornata*

Table 1. Eluent composition applied in the fractionation process of *Turbinaria ornata* extract

Fraksi <i>Fractions</i>	Komposisi pelarut <i>Eluent composition</i>	
F1	n-heksan (100%) <i>n-hexane (100%)</i>	kurang polar <i>less polar</i>
F2	n-heksan (30%) + kloroform (70%) <i>n-hexane (30%) + chloroform (70%)</i>	
F3	Kloroform (30%) + etil asetat (70%) <i>Chloroform (30%) + ethyl acetate (70%)</i>	
F4	Etil asetat (100%) <i>Ethyl acetate (100%)</i>	
F5	Etil asetat (30%) + metanol (70%) <i>Ethyl acetate (30%) + methanol (70%)</i>	
F6	Metanol (100%)	lebih polar <i>more polar</i>

Fraksi dengan potensi antioksidan terbaik akan diuji lebih lanjut kandungan senyawanya.

Fraksinasi dilakukan dengan metode *dry column vacuum chromatography* (DCVC) berdasarkan prosedur Pedersen & Rosenbohm (2001). Sebuah *scintered glass filter* berukuran 100 mL digunakan sebagai kolom pemisah pada fraksinasi ekstrak *T. ornata*. Pengepakan fase diam *silica gel* 60 GF254 dilakukan dengan memasukkan ± 15 g bubuk *silica gel* 60 GF<sub>254</sub> sedikit demi sedikit ke dalam *scintered glass* yang telah dilapisi kertas saring. Pengepakan fase diam ini dilakukan sambil divakum untuk memperoleh massa fase diam yang kompak dan padat setinggi ± 3 cm.

Sebanyak 5 g ekstrak *T. ornata* dicampur dengan 10 g serbuk *silica gel* hingga diperoleh campuran yang homogen dan kering. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam *scintered glass* yang sudah berisi fase diam dengan permukaan atas yang semaksimal mungkin dibuat rata dan kompak. Bagian atas ditutup dengan kertas saring untuk menjaga permukaan tetap rata ketika eluen dialirkan secara kontinu.

Beberapa jenis pelarut organik terdiri dari n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol dipilih sebagai eluen pada proses fraksinasi. Pencampuran beberapa pelarut-pelarut tersebut dilakukan untuk mendapatkan gradien polaritas (Tabel 1).

Proses fraksinasi dilakukan secara kontinu menggunakan 100 mL eluen. Setiap fraksi yang diperoleh ditampung pada cawan penguap, kemudian diuapkan hingga diperoleh fraksi yang pekat. Rendemen fraksi ditimbang menggunakan timbangan digital (Fujitsu FSR-A ketelitian 0,001 g) dan diuji aktivitas antioksidannya. Fraksi dengan potensi antioksidan terbaik dianalisis lebih lanjut kandungan senyawanya.

### Analisis Kandungan Senyawa

Identifikasi senyawa yang ada pada ekstrak dan fraksi *T. ornata* dengan potensi antioksidan terbaik dilakukan dengan *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS) (Shimadzu QP-2010) mengacu pada metode Deepak *et al.* (2017) dan Pereira *et al.* (2012). Pemantauan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan terhadap fraksi dengan potensi antioksidan terbaik untuk melengkapi identifikasi golongan senyawa dengan berat molekul besar yang tidak terdeteksi pada GC-MS.

### Analisis kandungan senyawa ekstrak dan fraksi *Turbinaria ornata* dengan *gas chromatography-mass spectrometry*

Sebelum aplikasi pemisahan, sampel dilarutkan dan divolatilisasi sebelum diinjeksikan ke dalam sistem. Temperatur yang diaplikasikan pada instrumen GC-MS antara 70-300°C. Temperatur awal 70°C ditahan selama 5 menit, kemudian dinaikkan 5°C setiap menit hingga mencapai suhu maksimal 300°C, dan ditahan 19 menit, sehingga total waktu yang diperlukan sekitar 70 menit. Gas pembawa yang digunakan yaitu Helium, dengan tekanan 13,7 kPa dan kecepatan 28 mL per menit. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi kemudian ditabulasi untuk memudahkan pembacaan. Berdasarkan tabulasi data senyawa hasil analisis GC-MS, dilakukan identifikasi senyawa-senyawa potensial antioksidan berdasarkan studi literatur terhadap hasil riset yang telah dilakukan oleh para ahli.

### Analisis kandungan senyawa fraksi potensial antioksidan *Turbinaria ornata* dengan kromatografi lapis tipis

Untuk melengkapi profil senyawa bioaktif fraksi potensial antioksidan *T. ornata* pada penelitian ini dilakukan KLT untuk mengidentifikasi golongan senyawa potensial antioksidan yaitu fenol, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid. Kromatografi lapis tipis menggunakan plat KLT *silica gel* 60 GF<sub>254</sub> sebagai fase diam. Eluen yang digunakan yaitu campuran kloroform : methanol : air dengan perbandingan 8 : 1 : 1. Identifikasi dibantu dengan beberapa pereaksi semprot dan juga sinar UV  $\lambda$  366 sesuai prosedur Harborne (1987). Pereaksi semprot dan larutan standar untuk identifikasi senyawa dengan KLT dipaparkan pada Tabel 2.

Profil senyawa pada fraksi F3 juga diperoleh melalui pemisahan dengan KLT. Pemisahan dengan KLT akan memisahkan golongan senyawa yang ada pada fraksi. Banyak penelitian metabolomik yang memadukan kedua teknik kromatografi GC-MS dan KLT sebagai alternatif bagi satu sama lain (Harborne, 1987). Aplikasi KLT juga dapat menjadi pemantau untuk melengkapi prosedur DCVC (Pedersen & Rosenbohm, 2001).

## HASIL DAN BAHASAN

### Potensi Antioksidan Ekstrak dan Fraksi *Turbinaria ornata*

Berdasarkan hasil uji antioksidan DPPH terhadap ekstrak *T. ornata* dan asam askorbat sebagai kontrolnya diperoleh nilai persentase penghambatan seperti yang tertera pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa kemampuan penghambatan radikal DPPH oleh ekstrak *T. ornata* tidak lebih baik dibandingkan asam askorbat. Nilai IC<sub>50</sub> yang lebih kecil menunjukkan potensi antioksidan yang lebih baik. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan bahwa sampel dapat menghambat radikal DPPH hingga 50% dengan konsentrasi kecil

Tabel 2. Pereaksi semprot dan larutan standard untuk identifikasi golongan senyawa dengan kromatografi lapis tipis

Table 2. Spray reagents and standard solutions for group compound identification by thin layer chromatography

No.	Golongan senyawa <i>Compound group</i>	Pereaksi semprot Reagent	Larutan Standard <i>Standard solution</i>	Warna bercak untuk interpretasi positif <i>Spot color for positive interpretation</i>
1	Fenol <i>Phenolic</i>	<i>FeCl3</i>	Asam galat <i>Gallic acid</i>	Ungu tua kehitaman pada sinar tampak <i>Dark purple in visible light</i>
2	Flavonoid <i>Flavonoid</i>	Vanilin sulfat <i>Vanillin sulphate</i>	Quercetin	Latar belakang kuning pada sinar UV $\lambda$ 366 nm <i>Yellow background at UV light <math>\lambda</math> 366 nm</i>
3	Terpenoid <i>Terpenoid</i>	Vanilin sulfat <i>Vanillin sulphate</i>	<i>Thymol blue</i>	Ungu pada sinar tampak <i>Purple in visible light</i>
4	Alkaloid <i>Alkaloid</i>	Dragendorf <i>Dragendorf</i>	Caffein	Oranye kecokelatan pada sinar tampak <i>Brownish orange in visible light</i>

(<50 ppm) (Shahidi, 1997). Asam askorbat telah dikenal sebagai agen antioksidan komersial yang sering dijumpai pada suplemen vitamin C. Selain itu, asam askorbat merupakan senyawa tunggal sehingga potensi antioksidannya lebih maksimal, tidak seperti ekstrak *T. ornata* yang terdiri dari banyak senyawa, yang dapat saling berinteraksi dan mungkin berpengaruh terhadap potensi antioksidannya. Studi menyebutkan tentang kompleksitas kandungan senyawa-senyawa pada ekstrak herbal dan menjadi tantangan tersendiri untuk memaksimalkan pemanfaatannya untuk potensi bioaktifitas yang ditargetkan (Huang et al., 2018; Zhang et al., 2018). Analisis fitokimia terhadap ekstrak *T. ornata* diketahui adanya kandungan senyawa-senyawa golongan karbohidrat, alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, tannin, kumarin, steroid, dan terpenoid (Straska-Zachariasova et al., 2017).

Salah satu upaya untuk memfokuskan senyawa potensial antioksidan yang ada pada ekstrak *T. ornata* dilakukan melalui proses fraksinasi ekstrak. Fraksinasi dengan metode DCVC dapat memisahkan senyawa-senyawa

yang ada pada ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran eluen yang dipilih untuk memisahkan senyawanya (Pedersen & Rosenbohm, 2001).

Fraksinasi yang dilakukan terhadap ekstrak *T. ornata* menghasilkan beberapa fraksi yang kemudian diuji kembali potensi antioksidannya dengan radikal DPPH. Dari enam eluen yang diaplikasikan pada fraksi *T. ornata* diperoleh empat fraksi yang dapat diuji lanjut potensi antioksidannya. Fraksi F1 dan F6 tidak dapat diuji potensi antioksidannya karena hampir tidak ada fraksi yang tersisa sebagai rendemen yang cukup untuk uji antioksidan (Tabel 4), sehingga uji antioksidan hanya dilakukan terhadap fraksi F2, F3, F4, dan F5. Hasil uji potensi antioksidan tiap fraksi tersebut tercantum pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, terlihat bahwa potensi antioksidan terbaik ada pada fraksi F3 dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu  $300,94 \pm 7,14$  ppm. Nilai IC<sub>50</sub> di bawah 500 ppm menunjukkan potensi aktif sebagai sumber antioksidan, jika lebih dari 500 ppm termasuk inaktif antioksidan (Shahidi, 1997). Dari Gambar 1 juga diketahui bahwa hanya fraksi F3 yang memiliki nilai IC<sub>50</sub> di bawah 500 ppm yang merupakan konsentrasi

Tabel 3. Nilai IC<sub>50</sub> asam askorbat dan ekstrak *Turbinaria ornata* terhadap radikal 1-1 Diphnyl-2-picryl-hydrazyl

Table 3. IC<sub>50</sub> value of ascorbic acid and *Turbinaria ornata* extract against 1-1 Diphnyl-2-picryl-hydrazyl

Sampel <i>Sample</i>	Nilai IC <sub>50</sub> IC <sub>50</sub> value (ppm)
Asam askorbat <i>ascorbic acid</i>	7,02±0,13
Ekstrak <i>Turbinaria ornata</i> <i>Turbinaria ornata extract</i>	189,96±7,15

\*nilai yang ditampilkan adalah rerata±standar deviasi dari hasil tiga kali ulangan

\*data are expressed as mean±standard deviation of three replicates

tertinggi pada pengujian ini, sehingga nilai IC<sub>50</sub> fraksi F2, F4, dan F5 hanya merupakan kalkulasi perhitungan, karena pada kondisi nyatanya belum mencapai penghambatan 50%. Meskipun demikian, hasil tersebut tetap menunjukkan bahwa potensi antioksidan terbaik adalah pada fraksi F3, sehingga kemudian fraksi F3 juga akan diuji lebih lanjut kandungan senyawa yang ada di dalamnya dengan GC-MS.

Fraksi F3 dengan potensi antioksidan terbaik diperoleh dari proses elusi dengan campuran pelarut organik yang terdiri dari kloroform : etil asetat (3 : 7). Cai *et al.* (2021) menyebutkan bahwa pemilihan sistem eluen/pelarut yang tepat adalah tantangan terbesar pada proses pemisahan senyawa dengan teknis kromatografi. Berdasarkan konsep “like dissolves like”, persamaan antara polaritas pelarut dengan senyawa target pada proses pemisahan merupakan karakteristik yang signifikan. Kita perlu membuat campuran pelarut yang efisien untuk dijadikan sebagai eluen berdasarkan petunjuk polaritas senyawa untuk mendapatkan hasil kromatografi yang diinginkan. Ada banyak kombinasi yang dapat diujicobakan hingga memperoleh hasil senyawa seperti yang ditargetkan. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada studi kali ini, senyawa pendukung potensi antioksidan pada *T. ornata* bersifat kurang polar, berdasarkan perkiraan nilai polaritas campuran pelarut antara kloroform : etil asetat (3 : 7) pada fraksinasi F3.

## Analisis Kandungan Senyawa

### Hasil analisis dengan GC-MS

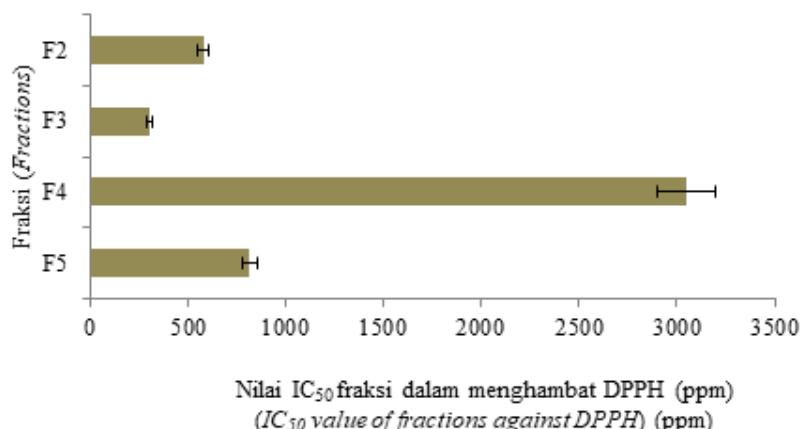
Hasil analisis GC-MS terhadap ekstrak *T. ornata* diketahui ada 26 jenis senyawa yang teridentifikasi, dan hanya 16 jenis senyawa yang terdeteksi kembali pada fraksi F3 (Tabel 4).

Senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak *T. ornata* terdiri dari beberapa golongan yaitu hidrokarbon, aldehid, keton, alkohol, senyawa halogen, asam lemak, dan beberapa metabolit sekunder. Beberapa golongan senyawa tersebut dikenal berpotensi antioksidan, misalnya golongan senyawa asam lemak. Senyawa-senyawa asam lemak dapat berperan sebagai antioksidan (*Pinto et al.*, 2017) Pada ekstrak *T. ornata* teridentifikasi beberapa senyawa golongan asam lemak dan asam lemak ester. Beberapa jenis senyawa asam lemak tersebut juga kembali terdeteksi pada fraksi F3. Bharath *et al.* (2021) mengkonfirmasi bahwa asam lemak jenis *hexadecanoic acid* dari ekstrak *T. ornata* mampu menghambat kanker kolon HT-29 melalui mekanisme antioksidan.

Asam lemak ester *hexadecanoic acid ethyl ester* yang terdeteksi pada ekstrak maupun fraksi F3 *T. ornata* diduga berperan pula dalam mendukung potensi antioksidan makroalga *T. ornata*. Miyahara (2017) menyebutkan bahwa asam lemak ester terbentuk dengan cara hidrasi asam lemak dan alkil alkohol.

Tabel 4. Rendemen fraksi *Turbinaria ornata*  
 Table 4. Yield of *Turbinaria ornata* fractions

Fraksi Fraction	Rendemen fraksi Fractions yield (g)
F1	0,04
F2	0,23
F3	0,20
F4	0,13
F5	1,66
F6	0,03



Gambar 1. Nilai IC<sub>50</sub> fraksi-fraksi *Turbinaria ornata* dalam menghambat radikal 1-1 Diphenyl-2-picryl-hydrazyl

Figure 1. IC<sub>50</sub> value of *Turbinaria ornata* fractions against

Selain asam lemak, golongan senyawa hidrokarbon juga dilaporkan memiliki potensi antioksidan. Senyawa *dodecane* yang terdeteksi pada ekstrak dan fraksi F3 *T. ornata* adalah salah satu jenis senyawa hidrokarbon dengan potensi antioksidan berdasarkan studi literatur. Safavi *et al.* (2021) mengidentifikasi adanya kandungan senyawa *dodecane* pada fraksi dengan potensi antioksidan terbaik pada ekstrak mikroalga, demikian juga dengan Saeed Kotb *et al.* (2020) mendeteksi senyawa *dodecane* sebagai senyawa dominan pada kulit batang kayu *Pithecellobium dulce*, yang merupakan salah satu bagian dengan potensi

antioksidan terbaik pada tumbuhan tersebut.

Beberapa jenis metabolit sekunder juga terdeteksi pada ekstrak dan fraksi F3 *T. ornata*. Ekstrak *T. ornata* mengandung tiga jenis metabolit sekunder dari golongan terpen, dan dua di antaranya terdeteksi juga pada fraksi F3. Senyawa *dihydroactinidiolide* dan *loliolide* merupakan dua jenis metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak dan fraksi F3 *T. ornata*. Tidak banyak studi yang fokus membahas potensi kedua jenis senyawa tersebut. Informasi yang diperoleh menyebutkan bahwa senyawa *dihydroactinidiolide* dan *loliolide* merupakan hasil degradasi karotenoid (Mori

Tabel 4. Daftar kandungan senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak dan fraksi F3 *Turbinaria ornata* hasil analisis menggunakan *gas chromatography-mass spectrometry*

Table 4. Identified compounds in *Turbinaria ornata* extract and fraction based on *gas chromatography-mass spectrometry* analysis

No.	Nama senyawa <i>Compound names</i>	Sampel <i>Turbinaria ornata</i> <i>Turbinaria ornata sample</i>	
		Ekstrak <i>Extract</i>	Fraksi F3 <i>F3 fraction</i>
1	<i>Pentadecane</i>	+	-
2	<i>Dodecane</i>	+	+
3	<i>3-Eicosyne</i>	+	+
4	<i>2-Decenal</i>	+	+
5	<i>2-Dodecanone</i>	+	+
6	<i>5-Hexen-2-one</i>	+	-
7	<i>Hexadecanol</i>	+	+
8	<i>1-Octanol</i>	+	-
9	<i>2-Methyl-1-undecanol</i>	+	-
10	<i>9-Octadecen-1-ol</i>	+	+
11	<i>2-Butyloctanol</i>	+	+
12	<i>Z3,Z6,E8-dodecatrien-1-ol</i>	+	+
13	<i>1-Bromohexane</i>	+	-
14	<i>Heptanoic acid</i>	+	-
15	<i>Dodecanoic acid</i>	+	-
16	<i>Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester</i>	+	+
17	<i>9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-</i>	+	+
18	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>	+	+
19	<i>9-Octadecenoic acid (Z)-, hexyl ester</i>	+	+
20	<i>9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester</i>	+	+
21	<i>Decanoic acid, ethyl ester</i>	+	-
22	<i>Di-n-octyl phthalate</i>	+	+
23	<i>Dihydroactinidiolide</i>	+	+
24	<i>Loliolide</i>	+	+
25	<i>alpha.-Humulene</i>	+	-
26	<i>Nicotine</i>	+	-

\* Keterangan: (+) = terdeteksi ada; (-) = tidak terdeteksi

\* Note: (+) = presence; (-) = absent

& Khlebnikov, 1993). Tidak mengherankan jika kedua jenis senyawa tersebut ditemukan pada makroalga *T. ornata* karena studi sebelumnya juga mengonfirmasi kandungan karotenoid yang tinggi pada ekstrak *T. ornata* (Sari &

Suharyanto, 2021). Karotenoid yang berasal dari makroalga telah dikonfirmasi bersifat antioksidan (Bae *et al.*, 2020; Lourenço-Lopes *et al.*, 2021; Méresse *et al.*, 2020)

## Hasil analisis dengan KLT

Hasil pemantauan golongan senyawa potensial antioksidan terhadap fraksi F3 disajikan pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil identifikasi golongan senyawa dengan KLT, pada fraksi F3 *T. ornata* terdeteksi adanya senyawa dari golongan fenol dan flavonoid yang tidak terdeteksi pada GC-MS. Beberapa studi juga mendeteksi adanya senyawa golongan fenol dan flavonoid pada *T. ornata* (Deepak *et al.*, 2017; Fouada *et al.*, 2019; Neelamathi & Kannan, 2016). Fouada *et al.* (2019) menambahkan bahwa ekstrak *T. ornata* mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu *kaempherol* dan senyawa golongan fenol yaitu *resorcinol*.

Banyak studi yang telah membuktikan *resorcinol* yang bersifat aktif sebagai antioksidan (Köpke *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2021; Modjinou *et al.*, 2017; Supriya *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid *kaempherol* juga terbukti berperan sebagai antioksidan berdasarkan banyak studi (Diao *et al.*, 2021; N. Sharma *et al.*, 2021; Tian *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2018). Kandungan fenol dan flavonoid pada *T. ornata* pada studi ini juga berperan aktif dalam aktivitas antioksidan.

Senyawa fenol dan flavonoid pada fraksi F3 baru terdeteksi pada pengujian dengan KLT dan tidak dijumpai pada GC-MS. Harborne (1987) menyebutkan bahwa cara terbaik untuk memisahkan senyawa fenol dan flavonoid sederhana adalah dengan KLT.

Tabel 5. Golongan senyawa potensial antioksidan pada fraksi F3 *Turbinaria ornata* pada plat kromatografi lapis tipis

Table 5. Group of potential antioxidant compounds in the F3 fraction of *Turbinaria ornata* on thin layer chromatography plate

Golongan senyawa Compound group	Fraksi F3 <i>Turbinaria ornata</i> F3 fraction of <i>Turbinaria ornata</i>
Fenol <i>Phenolic</i>	+
Flavonoid <i>Flavonoid</i>	+
Terpenoid <i>Terpenoid</i>	-
Alkaloid <i>Alkaloid</i>	-

\* Keterangan: (+) = terdeteksi ada; (-) = tidak terdeteksi

\* Note: (+) = presence; (-) = absent

Kromatografi gas tidak digunakan secara luas untuk memisahkan senyawa fenol dan flavonoid karena kebanyakan senyawa ini harus diubah dulu menjadi turunannya yang cocok agar menjadi senyawa yang cukup dapat menguap pada suhu kromatografi gas. Akan tetapi, kromatografi gas merupakan cara yang penting untuk memisahkan campuran fenol dan flavonoid yang rumit pada suatu jaringan tumbuhan, karena kepekaannya lebih tinggi

dibandingkan KLT. Hasil serupa dilaporkan oleh Neelamathi & Kannan (2016). Penelitiannya terhadap ekstrak *T. ornata* juga mendapati kandungan senyawa fenol dan flavonoid pada pengujian kualitatif, tetapi tidak mendeteksi senyawa yang termasuk golongan tersebut pada GC-MS.

Hasil yang berbeda ditunjukkan pada pemantauan kandungan senyawa terpenoid. Pada plat KLT tidak terdeteksi adanya senyawa tersebut, meskipun pada hasil GC-MS telah

ditemukan senyawa golongan terpenoid. Harborne (1987) menyebutkan bahwa penerapan KLT untuk senyawa terpenoid memiliki kelemahan karena untuk golongan monoterpenoid, penyemprotan dengan satu jenis pereaksi semprot dapat menghasilkan warna yang berbeda untuk jenis monoterpen yang berbeda, sehingga penggunaan KLT yang digabungkan dengan kromatografi gas akan menguntungkan karena keduanya saling melengkapi. Hal ini yang diduga menjadi penyebab tidak terdeteksinya golongan senyawa terpenoid pada plat KLT, karena kedua jenis terpenoid *T. ornata* yang terdeteksi pada GC-MS yaitu *dihydroactinidiolide* dan *loliolide* termasuk monoterpenoid.

Golongan senyawa alkaloid tidak terdeteksi pada fraksi F3 *T. ornata* baik dari hasil pemantauan dengan plat KLT maupun dengan GC-MS. Güven *et al.* (2010) menyebutkan bahwa golongan senyawa alkaloid pada makroalga laut relatif jarang ditemukan. Analisis kandungan senyawa potensial antioksidan pada studi ini dengan menggunakan GC-MS dan KLT telah memberikan gambaran kandungan senyawa-senyawa yang potensial dalam mendukung aktivitas antioksidan makroalga cokelat *T. ornata*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis GC-MS dan KLT, serta penelusuran literatur, dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa merupakan senyawa-senyawa yang potensial dalam mendukung aktivitas antioksidan makroalga cokelat *T. ornata*. Senyawa hidrokarbon *dodecane*, asam lemak ester *hexadecanoic acid ethyl ester*, monoterpenoid *dihydroactinidiolide* dan *loliolide*, senyawa fenol *resorcinol* serta flavonoid *kaempferol* merupakan senyawa-senyawa potensial pendukung aktivitas antioksidan makroalga cokelat *T. ornata*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Pusat Pendidikan Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan yang telah memberikan dukungan dana penelitian ini. Ucapan terimakasih juga kami sampaikan kepada Dr. Suharyanto, S.U., M.Sc. yang telah memberikan saran dan kritik yang positif selama pelaksanaan kegiatan riset, serta kepada Bapak Teguh Hermawan yang telah membantu teknis kegiatan di lapangan selama penelitian ini.

## DAFTAR ACUAN

- Bae, M., Kim, M. B., Park, Y. K., & Lee, J. Y. (2020). Health benefits of fucoxanthin in the prevention of chronic diseases. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158618>
- Bharath, B., Perinbam, K., Devanesan, S., AlSalhi, M. S., & Saravanan, M. (2021). Evaluation of the anticancer potential of Hexadecanoic acid from brown algae *Turbinaria ornata* on HT-29 colon cancer cells. *Journal of Molecular Structure*, 1235, 130229. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130229>
- Cai, X., Xiao, M., Tang, J., Huang, B., & Xue, H. (2021). Rapid enrichment and separation of two novel minor phenols from *Malus hupehensis* utilizing liquid–liquid extraction with three-phase solvent system and high-speed counter-current chromatography based on the polarity parameter. *Journal of Separation Science*, 44(9), 2021. <https://doi.org/10.1002/jssc.202001083>
- Catarino, M. D., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2017). Fucaceae: A source of bioactive phlorotannins. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6). <https://doi.org/10.3390/ijms18061327>

- Deepak, P., Sowmiya, R., Balasubramani, G., & Perumal, P. (2017). Phytochemical profiling of *Turbinaria ornata* and its antioxidant and anti-proliferative effects. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(4), 329–337. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2017.02.002>
- Diao, M., Liang, Y., Zhao, J., Zhao, C., Zhang, J., & Zhang, T. (2021). Enhanced cytotoxicity and antioxidant capacity of kaempferol complexed with  $\alpha$ -lactalbumin. *Food and Chemical Toxicology*, 153(April), 112265. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112265>
- Fouda, W. A., Ibrahim, W. M., Ellamie, A. M., & Ramadan, G. (2019). Biochemical and mineral compositions of six brown seaweeds collected from red sea at hurghada coast. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 48(4), 484–491.
- Getachew, A. T., Jacobsen, C., & Holdt, S. L. (2020). Emerging technologies for the extraction of marine phenolics: Opportunities and challenges. *Marine Drugs*, 18(8), 1–22. <https://doi.org/10.3390/MD18080389>
- Güven, K. C., Percot, A., & Sezik, E. (2010). Alkaloids in marine algae. *Marine Drugs*, 8(2), 269–284. <https://doi.org/10.3390/md8020269>
- Harborne, J. B. (1987). *Phytochemical Methods : A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*.
- Huang, M., Cheng, Z., Wang, L., Feng, Y., Huang, J., Du, Z., & Jiang, H. (2018). A targeted strategy to identify untargeted metabolites from *in vitro* to *in vivo*: Rapid and sensitive metabolites profiling of licorice in rats using ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1092(May), 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.05.044>
- Kelman, D., Posner, E. K., McDermid, K. J., Tabandera, N. K., Wright, P. R., & Wright, A. D. (2012). Antioxidant activity of Hawaiian marine algae. *Marine Drugs*, 10(2), 403–416. <https://doi.org/10.3390/MD10020403>
- Köpke, D., Müller, R. H., & Pyo, S. M. (2019). Phenylethyl resorcinol smartLipids for skin brightening – Increased loading & chemical stability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 137(July), 104992. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.104992>
- Kosanic, M., Rankovic, B., & Stanojkovic, T. (2019). Brown macroalgae from the Adriatic Sea as a promising source of bioactive nutrients. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 330–338. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9948-4>
- Lee, S. E., Kwon, K., Oh, S. W., Park, S. J., Yu, E., Kim, H., Yang, S., Park, J. Y., Chung, W. J., Cho, J. Y., & Lee, J. (2021). Mechanisms of resorcinol antagonism of benzo[a]pyrene-induced damage to human keratinocytes. *Biomolecules and Therapeutics*, 29(2), 227–233. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2020.083>
- Locatelli, M., Gindro, R., Travaglia, F., Coïsson, J. D., Rinaldi, M., & Arlorio, M. (2009). Study of the DPPH{radical dot}-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry*, 114(3), 889–897. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.035>
- Lourenço-Lopes, C., Fraga-Corral, M., Jimenez-Lopez, C., Carpeta, M., Pereira, A. G., Garcia-Oliveira, P., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Biological action mechanisms of fucoxanthin extracted from algae for application in food and cosmetic industries. *Trends in Food Science and Technology*, September 2020. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.012>
- Méresse, S., Fodil, M., Fleury, F., & Chénais, B. (2020). Fucoxanthin, a marine-derived carotenoid from brown seaweeds and microalgae: A promising bioactive compound for cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 1–27. <https://doi.org/10.3390/ijms21239273>

- Miyahara, R. (2017). Emollients. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications*, 245–253. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00016-1>
- Modjinou, T., Versace, D. L., Abbad-Andaloussi, S., Langlois, V., & Renard, E. (2017). Antibacterial and antioxidant photoinitiated epoxy co-networks of resorcinol and eugenol derivatives. *Materials Today Communications*, 12, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2017.03.005>
- Mori, J., & Khlebnikov, V. (1993). Synthesis of (+)-Dihydroactinidiolide, (+)- and (-)-Actinidiolide, (+)- and (-)-Loliolide as well as (+)- and (-)-Epiloliolide. *Liebigs Annalen der Chemie*, 77–82.
- Neelamathi, E., & Kannan, R. (2016). Screening and Characterization of Bioactive Compounds of *Turbinaria ornata* from the Gulf of Mannar , India. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 16(2), 243–251. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2016.16.2.12712>
- Pedersen, D. S., & Rosenbohm, C. (2001). Dry column vacuum chromatography. *Synthesis*, 16, 2431–2434. <https://doi.org/10.1055/s-2001-18722>
- Pereira, D. M., Vinholes, J., De Pinho, P. G., Valentão, P., Mouga, T., Teixeira, N., & Andrade, P. B. (2012). A gas chromatography-mass spectrometry multi-target method for the simultaneous analysis of three classes of metabolites in marine organisms. *Talanta*, 100(December 2018), 391–400. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.08.004>
- Pinto, M. E. A., Araújo, S. G., Morais, M. I., Sá, N. P., Lima, C. M., Rosa, C. A., Siqueira, E. P., Johann, S., & Lima, L. A. R. S. (2017). Antifungal and antioxidant activity of fatty acid methyl esters from vegetable oils. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 89(3), 1671–1681. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160908>
- Rattaya, S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2015). Extraction, antioxidative, and antimicrobial activities of brown seaweed extracts, *Turbinaria ornata* and *Sargassum polycystum*, grown in Thailand. *International Aquatic Research*, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s40071-014-0085-3>
- Saeed Kotb, S., Ayoub, I. M., El-Moghazy, S. A., & Singab, A. N. B. (2020). Profiling the Lipophilic Fractions of *Pithecellobium dulce* Bark and Leaves Using GC/MS and Evaluation of Their Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities. *Chemistry and Biodiversity*, 17(7). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000048>
- Safavi, M., Jafari Olia, M. S., Abolhasani, M. H., Amini, M., & Kianirad, M. (2021). Optimization of the culture medium and characterization of antioxidant compounds of a marine isolated microalga as a promising source in aquaculture feed. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35(May), 102098. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102098>
- Sari, W.K.P., & Suharyanto, S. (2021). Kandungan Pigmen dan Potensi Antioksidan Beberapa Jenis Makroalga dari Pantai Gunungkidul, Yogyakarta. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 16(1), 33–42. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v16i1.674>
- Shahidi, F. (1997). *Natural Antioxidants : Chemistry, Health Effect, and Applications*. AOCS Press.
- Sharma, N., Biswas, S., Al-Dayan, N., Alhegaili, A. S., & Sarwat, M. (2021). Antioxidant role of kaempferol in prevention of hepatocellular carcinoma. *Antioxidants*, 10(9), 1–17. <https://doi.org/10.3390/antiox10091419>
- Stranska-Zachariasova, M., Kurniatanty, I., Gbelcova, H., Jiru, M., Rubert, J., Nindhia, T. G. T., D'Acunto, C. W., Sumarsono, S. H., Tan, M. I., Hajslova, J., & Ruml,

- T. (2017). Bioprospecting of *Turbinaria* Macroalgae as a Potential Source of Health Protective Compounds. *Chemistry and Biodiversity*, 14(2). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600192>
- Supriya, A., Kumar, A., & Kudachikar, V. B. (2020). A Comparison Investigation on Antioxidant Activities, Constitutive Antifungal Phenolic Lipids and Phenolics Contents of Anthracnose Resistant and Susceptible Mango Fruit Cultivars. *International Journal of Fruit Science*, 20(4), 692–704. <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1668332>
- Tian, C., Liu, X., Chang, Y., Wang, R., Lv, T., Cui, C., & Liu, M. (2021). Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. *South African Journal of Botany*, 137, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.10.022>
- Tziveleka, L. A., Tammam, M. A., Tzakou, O., Roussis, V., & Ioannou, E. (2021). Metabolites with antioxidant activity from marine macroalgae. *Antioxidants*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/antiox10091431>
- Wang, J., Fang, X., Ge, L., Cao, F., Zhao, L., Wang, Z., & Xiao, W. (2018). Antitumor, antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol. *PLoS ONE*, 13(5), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197563>
- Zhang, F. xiang, Xie, Z. neng, Tang, X. yang, Li, C., Li, M., Yao, Z. hong, Dai, Y., & Yao, X. sheng. (2018). A combination of representative compounds, metabolism platform and diagnostic extraction strategy for characterization of metabolites of Shuang-Huang-Lian oral liquid in vivo by ultra-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 155, 216–234. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.03.066>