

ISOLASI ASAM LEMAK DAN KADAR PIGMEN RUMPUT LAUT COKELAT *Sargassum crassifolium* SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI

Grace Sanger*, Verly Dotulong, Lena Jeane Damongilala

¹Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado

Diterima: 8 September 2022/Disetujui: 20 Desember 2022

*Korespondensi: sanger.grace@unsrat.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Sanger, G., Dotulong, V., & Damongilala, L. J. (2022). Isolasi asam lemak dan kadar pigmen rumput cokelat *Sargassum crassifolium* sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(3), 475-493. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i3.43033>

Abstrak

Sargassum adalah produk hasil laut, sumber senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas biologi, terutama sebagai antioksidan dan antikanker. Ekstrak maupun isolat *Sargassum* telah dimanfaatkan sebagai produk kesehatan pada berbagai industri pangan, obat-obatan, dan kosmetik. Asam lemak (*E*)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one, telah diisolasi dari fraksi etil asetat rumput laut cokelat *S. crassifolium* dan menunjukkan aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian yaitu mengisolasi senyawa asam lemak, mengukur kadar pigmen, dan aktivitas antioksidan *S. crassifolium*. Metode pemurnian dan isolasi sebagai berikut: *Sargassum* diekstraksi dengan metanol menggunakan kolom kromatografi (KK), kemudian dipartisi dengan heksana, etil asetat, setelah itu dibilas dengan metanol. Fraksi etil asetat kemudian dimurnikan dan diisolasi menggunakan KK dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang digunakan untuk memonitor dan mengobservasi kehadiran senyawa bioaktif. Isolat senyawa murni fraksi etil asetat *S. crassifolium* (FEtSar) dikarakterisasi menggunakan NMR, FTIR dan ESMS dan dibandingkan dengan literatur terkini. Ekstrak, fraksi dan isolat murni diuji kadar pigmen (karotenoid dan fuco-xantin) dan aktivitas antioksidan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Hasil studi menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi dan isolat murni (*E*)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one (FEtSar). *S. crassifolium* mengandung senyawa antioksidan. Aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi heksana (IC_{50} 2,657±0,338 mg mL⁻¹) dengan kadar fuco-xantin dan karotenoid masing-masing 33,04±3,348 dan 24,911±2,4231 µg g⁻¹. *S. crassifolium* potensial dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami dan di masa depan dapat dimanfaatkan sebagai produk kesehatan.

Kata kunci: antioksidan, asam lemak, isolasi, pigmen

Isolation of Fatty Acid and Pigment Content of *Sargassum crassifolium* as A Source of Natural Antioxidant

Abstract

Sargassum is a marine product, source of bioactive compound with many divers biological activity, especially as antioxidant and anticancer. The bioactive compound of *Sargassum* have been utilized as health product in many industry such as food, medicine, and cosmetic. Fatty acids, (*E*)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one were isolated from ethyl acetic fraction of brown seaweed *Sargassum crassifolium*. The aim of the research is to isolate and purified the fatty acid compound and measure the pigmen content and antioxidant activity of *S. crassifolium*. The method of reasearch as followed; *Sargassum* extracted using methanol followed by partitioned with hexane and ethyl acetic and rinsed with methanol using Colomn Chromatography (CC). Ethyl acetic was purified and isolated using CC and Thin Layer Chromatography (TLC) was using to monitored and observed the compounds. Isolate of pure compounds of etil acetic fraction of *S. crassifolium* (FEtSar) was elucidated by basic NMR spectroscopy, FTIR and ESMS and compared with previous literature. The extract, fractions and isolated compound were tested for their pigment content (carotenoid and fucoxanthin) and antioxidant activity using DPPH. The result of study shown, extract, fraction and pure compound of ethyl acetate fraction of *S. crassifolium*, (FEtSar), (*E*)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one revealed have an antioxidant compound. Therefore *S. crassifolium* is potential as a source of natural antioxidant and in the future could be explored as health product.

Keyword: antioxidant, fatty acids, isolation, pigment

PENDAHULUAN

Komoditas unggulan perikanan salah satunya adalah rumput laut yang tumbuh tersebar di perairan Indonesia, merupakan komoditas ekspor potensial untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional, obat-obatan dan kosmetik. Salah satu jenis rumput laut yang potensial adalah *Sargassum* (Kementerian Kelautan dan Perikanan [KKP], 2017). *Sargassum* adalah satu genera terbesar dari rumput laut cokelat, ditemukan paling melimpah di kawasan Indo-Pasifik dari Jepang sampai Selandia Baru. *Sargassum* tergolong ordo Fucales, kelas Phaeophyceae dan suku Sargassaceae dan telah ditemukan lebih dari 100 spesies *Sargassum* di seluruh dunia (Praiboon *et al.*, 2017).

Makroalga atau rumput laut mendapat perhatian yang besar dari para peneliti dan ahli nutrisi karena kandungan kalori yang rendah dan tinggi vitamin, mineral dan serat yang potensial untuk diolah menjadi produk kesehatan. Rumput laut adalah sumber senyawa bioaktif yang potensial yaitu karotenoid, asam lemak n-3, dan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) yang merupakan karakteristik unik dari lemak organisme (Stengel *et al.*, 2011). Kandungan PUFA, terutama α -linolenat (18:3n3), asam oktadekatetraenoat (18:4n-3), arakidonat (20:4n-6), dan asam eikosapentaenoat (20:5n3) alga laut telah menarik perhatian yang penting karena dianggap sebagai senyawa nutrisi esensial untuk manusia dan hewan. Asam lemak ini penting dalam mencegah penyakit kardiovaskular dan kanker, *anti-athrogenic* dan antitrombotik juga mengontrol reumatoid arthritis dan hipertensi (Tsape *et al.*, 2010; Bahkar *et al.*, 2017).

Lemak rumput laut memiliki molekul bioaktif asam lemak konjugasi, pigmen-pigmen, dan terutama fukosantin yang memberikan pengaruh pada pengobatan tumor dan masalah kanker (Kohno *et al.*, 2004). Pigmen rumput laut mempunyai *nutraceutical* penting termasuk antioksidan dan respons kualitas biologi. PUFA menyumbang lebih dari 30% dari total asam lemak di dalam diatom atau rumput laut (Nomura *et al.*, 1997).

Asam lemak adalah sebuah komponen struktur sel yang tersebar luas bagi banyak reaksi biokimia di dalam tubuh termasuk hormonal dan aktivitas energi. Selain itu asam lemak berperan penting dalam menyeimbangkan sebuah sawar lipid di dalam kulit untuk menahan zat-zat iritan dan infeksi yang memasuki tubuh. Beberapa jenis asam lemak mempunyai pengaruh yang bermanfaat untuk kesehatan manusia yaitu melindungi jantung, sitotoksik, antimitotik, antikanker, dan aktivitas antimutagenik (Prabhakar *et al.*, 2011; Freitas, 1995).

Rumput laut cokelat teridentifikasi mengandung berbagai jenis pigmen (klorofil, karotenoid, fukosantin, pikoeritrin dan pikosianin (Sanger *et al.*, 2022) dan polifenol (asam fenolik, flavonoid, tanin). Kandungan metabolit sekunder rumput laut cokelat terdiri atas alkaloid, glikosida, tanin, dan steroid yang berfungsi sebagai antioksidan, antimutagenik, anti koagulan, antitumor, dan metabolisme lipid, yang bermanfaat untuk pengobatan dan industri farmasi (Jeeva *et al.*, 2012).

Penggunaan antioksidan sintesis dalam produk pangan telah terbukti memberikan efek samping yang membahayakan bagi kesehatan. Oleh karena itu pemanfaatan produk alami menjadi perhatian besar saat ini. Berbagai hasil penelitian menunjukkan rumput laut cokelat berpotensi sebagai antioksidan alami (Edison *et al.*, 2020, Nurjanah *et al.*, 2019; Dolorosa *et al.*, 2019; Yanuarti *et al.*, 2017; Nurjanah *et al.*, 2016; Ganapathi *et al.*, 2013; Firdaus *et al.*, (2012); dan Foon *et al.*, 2013).

Sargassum dilaporkan memiliki metabolit sekunder yaitu *phlorotannin*, fukosantin, fukoidan, dan meroterpenoid dengan aktivitas biologi, yaitu antioksidan (Nurjanah *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2010;), antikanker (Praiboon *et al.*, 2017 ; Murphy *et al.*, 2014; Pádua *et al.*, 2015; Mehdinezhad *et al.*, 2016); antiinflamasi (Dar *et al.*, 2007; Joung *et al.*, 2017), antijerawat (Kok *et al.*, 2016), antikoagulan (Zoya *et al.*, 2008), antibakteri (Zubia *et al.*, 2008; Vijayabaskar *et al.*, 2012; Sidauruk *et al.*, 2021).

Fukosantin tergolong xantofil yang termasuk famili karotenoid adalah pigmen utama mempunyai aktivitas antiproliferasi yang kuat melawan berbagai jenis kanker, (Miyashita, 2006; Hosokawa *et al.*, 2004; Pádua *et al.*, 2015), antiobesitas (Miyashita, 2006; Maeda *et al.*, 2005) dan antidiabetes (Maeda *et al.*, 2007). Fukosantin dilaporkan berfungsi melalui penguatan *docosahexaenoic acid* (DHA, C22:6 ω 3) (Tsukui *et al.*, 2007). Banyak penelitian menunjukkan bahwa berbagai jenis polisakarida yang diisolasi dari rumput laut cokelat menunjukkan aktivitas antikanker (Ko *et al.*, 2012; Murphy *et al.*, 2014; Pádua *et al.*, 2015). Fukoidan yang diisolasi dari *Spiraea thunbergii* mempunyai aktivitas antikanker dan antitumor (Moghadamtousi *et al.*, 2014)

Isolasi tentang senyawa aktif rumput laut cokelat *S. crassifolium* yang tumbuh di perairan Indonesia belum ditemukan terutama tentang komponen asam lemaknya. Sebab itu dalam penelitian ini dipelajari proses ekstraksi pemurnian dan isolasi senyawa aktif, kadar pigmen, dan kapasitas antioksidannya, dengan tujuan untuk dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami bagi kesehatan di masa depan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah *S. crassifolium*, metanol, heksana, etil asetat, etanol (Merck), 93 μ M DPPH (1,1-difenil-

2-pikrilhidrasil) (Sigma Aldrich), 0,1 M bufer fosfat (Merck), 1% $K_3Fe(CN)_6$ (Merck), 10% TCA (Merck), 0,1% $FeCl_3$ (Merck) dan akuabides.

Alat-alat yang digunakan terdiri dari: spektrofotometer UV/Visible (Shimadzu tipe 1240, Jepang), mikropipet 1 mL dan 0,5 mL (Jerman) dan peralatan gelas (Pyrex). Merck's gel silika 60 No.7734 dan ODS (oktadesil silika) digunakan untuk absorben kolom kromatografi. Gel silika 60 F254, 0,25 mm untuk TLC (Merck), NMR (Bruker spektrofotometer 400 MHz, untuk 1H NMR, dan 100 MHz, untuk ^{13}C NMR), FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) (Shimadzu, Jepang) dan ESMS (*Electro Spray Mass Spectra*) menggunakan instrumen ACQ-TOD, *Water TQ detector Tune mass lynx 4.1 Scn 714*, PHOMO *Microplate reader*, Autobio model SPR-960, Lampu UV 254 and 365 nm, dan evaporator vakum putar (Buchi, Jepang).

Metode

Ekstraksi dan isolasi

Rumput laut dikeringkan di tempat terbuka, tanpa sinar matahari langsung selama dua hari, setelah itu digiling sampai halus. Sampel kemudian diekstraksi dengan MeOH (1:2 b/v) sebanyak tiga kali ekstraksi (satu hari untuk setiap ekstraksi). Ekstrak metanol kemudian dipartisi dengan partisi kolom, dengan fase diam silika G 60 F254 (200 g) dan fase gerak : n-heksan-EtOAc (sebanyak 600 mL) dan dibilas dengan

Tabel 1 Partisi kolom ekstrak metanol rumput laut *S. crassifolium* menggunakan berbagai pelarut

| Fraksi | Volume pelarut (mL) | | | Massa (g) | Total massa (g) |
|--------|---------------------|-------|------|-----------|-----------------------------|
| | Heksana | EtOAc | MeOH | | |
| 1 | 600 | 0 | 0 | 0,611 | Fraksi heksana (0,6424) |
| 2 | 600 | 0 | 0 | 0,027 | |
| 3 | 600 | 0 | 0 | 0,0043 | |
| 4 | 0 | 600 | 0 | 1,8276 | Fraksi etil asetat (2,1591) |
| 5 | 0 | 600 | 0 | 0,2255 | |
| 6 | 0 | 600 | 0 | 0,1060 | |
| 7 | 0 | 0 | 600 | 7,3519 | Residu metanol (14,0027) |
| 8 | 0 | 0 | 600 | 4,3679 | |
| 9 | 0 | 0 | 600 | 2,2829 | |

metanol, (perbandingan pelarut dapat dilihat pada Tabel 1. Semua ekstrak dan fraksi dipekatkan menggunakan evaporator vakum putar dengan suhu 40°C. Fraksi etil asetat kemudian dimurnikan dengan kromatografi kolom sebanyak tiga kali sampai mendapatkan senyawa murni. Kolom kromatografi 1: fraksi etil asetat (2,1591 g) dimurnikan menggunakan silika G 60 F254 (20 g), fase gerak n-heksana:EtOAc (35 mL, gradien 2,5%). Kolom kromatografi 2: Sub fraksi F5 (294,5 mg) hasil kolom kromatografi 1 dimurnikan menggunakan fase diam: ODS (2,945 g) gradien 2,5%, m fase gerak H₂O : MeOH (10 mL). Kolom kromatografi 3: Sub Fraksi F25 (80 mg) dari kolom kromatografi ke-2 dimurnikan menggunakan ODS (1 g) gradien 5% H₂O : MeOH (9 mL). Proses ekstraksi dan Isolasi dapat dilihat pada Gambar 1. Fraksi yang dihasilkan dengan massa yang besar dan terdeteksi ada senyawa dari setiap pemurnian dalam kolom kromatografi dimonitor dengan TLC. Keberadaan senyawa diamati di bawah sinar pada 254 dan 365, serta TLC yang disemprot dengan H₂SO₄. Penyemprotan TLC dengan DPPH untuk mendeteksi keberadaan senyawa antioksidan. Karakterisasi senyawa murni menggunakan FTIR, ESMS dan NMR.

Analisis kadar pigmen

Kandungan pigmen ekstrak metanol fraksi heksana dilakukan menggunakan *UV-visible spektrofotometer* melalui pembacaan pada panjang gelombang spesifik sesuai jenis pigmen. Metode analisis karotenoid menggunakan panjang gelombang 480 dan 510 nm dan analisis fukosantin menggunakan panjang gelombang 470, 631, 581, dan 664 nm, mengacu pada Sudhakar *et al.* 2013; Sanger *et al.* 2019. Perhitungan kadar masing-masing pigmen mengikuti formula sebagai berikut:

$$\text{Karotenoid } (\mu\text{g/g}) = [7,6 (A480) - 1,49 (A510) V] / (1000 \times W)$$

$$\text{Fuko-xantin} (\text{mg/g}) = A470 - 1,239 (A631 + A581 - 0,3 \times A664) - 0,0275 \times A664 / 141$$

A = Absorbansi pada panjang gelombang spesifik

$$\text{Karotenoid } (\mu\text{g/g}) = [7,6 (A480) - 1,49 (A510) V] / (1000 \times W)$$

$$\text{Fuko-xantin} (\text{mg/g}) = A470 - 1,239$$

Analisis aktivitas peredam radikal DPPH

Uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas DPPH dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitas mengacu pada metode Laponik *et al.* 2004 dengan sedikit modifikasi. Prosedurnya sebagai berikut: fraksi etil asetat setelah dimurnikan dengan kolom kromatografi (KK) kemudian di-KLT menggunakan fase diam: gel silika G 60 F254; fase gerak: n-heksan-EtOAc (9:1) dan metanol: H₂O (9:1) setelah itu KLT disemprot dengan larutan 0,05 mM DPPH dalam metanol. Uji positif yang bersifat anti radikal bebas hasil KLT menghasilkan bercak (spot) kuning.

Analisis kuantitatif DPPH dilakukan pada ekstrak metanol, fraksi heksana dan etil asetat mengacu pada Sanger *et al.* (2019) dengan modifikasi. Prosedurnya sebagai berikut: ekstrak rumput laut sebanyak 0,5 mL (0,2-8 mg/mL) ditambahkan 2 mL larutan DPPH dalam metanol (93 μM), dihomogenkan menggunakan vortex, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Kontrol positif menggunakan BHT (0,05-0,2 mg/mL). Pengukuran absorbansinya dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = [A \text{ Kontrol} - A \text{ sampel} / A \text{ Kontrol}] \times 100\%$$

Keterangan:

A = Absorbansi

Analisis Data

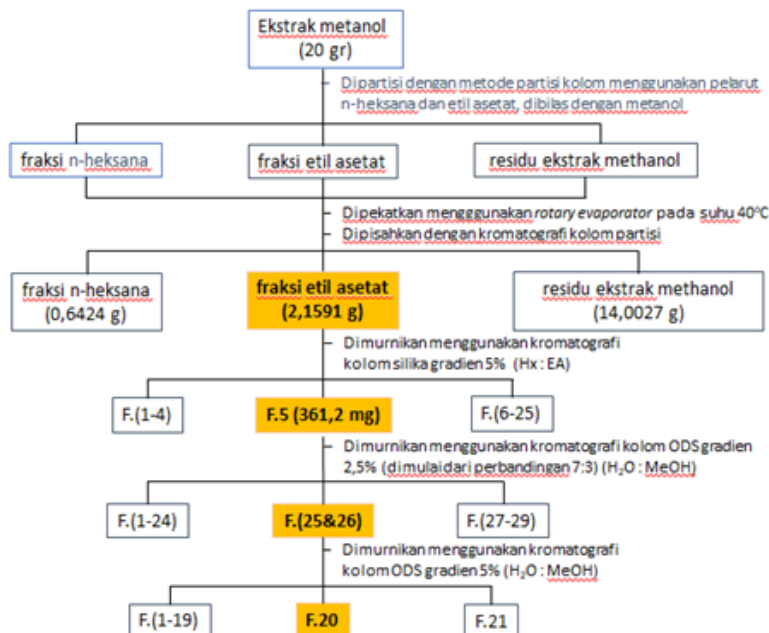
Penelitian ini menggunakan ulangan sebanyak tiga kali pada setiap parameter pengujian. Data yang diperoleh dipresentasikan dalam nilai rata-rata dan standar deviasi (±SD) dalam bentuk Tabel atau Gambar. Data diolah menggunakan Microsoft Excel 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

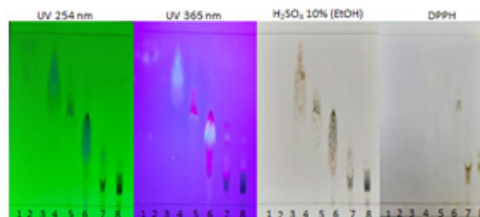
Hasil Ekstraksi dan Isolasi

Rumput laut *S. crassifolium* 4 kg diekstrak menggunakan metanol. Ekstrak metanol sebanyak 20 g setelah dipartisi menghasilkan fraksi n-heksana (0,6424 g), etil asetat (2,1591 g) dan residu ekstrak metanol (14,0027 g). Proses pemurnian (Gambar 1) sebagai berikut: kolom kromatografi 1 berupa fraksi etil asetat F1 (2,1591 g) dimurnikan dengan silika gel dielusidasi dengan sistem gradien 2% menggunakan heksana: etil asetat (mulai

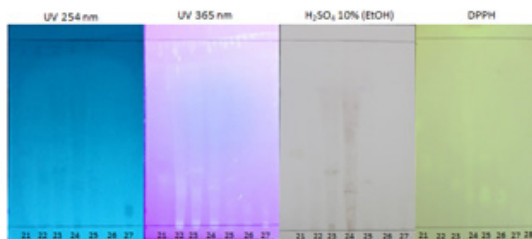
35: 0 sampai 14:21) menghasilkan 25 fraksi (F1-F26). Fraksi (F1-F8) yang dihasilkan dimonitor melalui analisis TLC (Gambar 2). Kolom kromatografi 2 dilakukan pada F5 (361,2 mg) dimurnikan menggunakan ODS gradien 2,5% H₂O : MeOH (dimulai 7:3 sampai 0:10) menghasilkan 29 fraksi (F1-F29), kemudian F21-27 dimonitor dengan TLC (Gambar 3). Kromatografi kolom 3 dilakukan pada F25, dimurnikan menggunakan ODS gradien 5% H₂O : MeOH (mulai 0:9 sampai 9:0) (Gambar 4) menghasilkan 21 fraksi (F1-



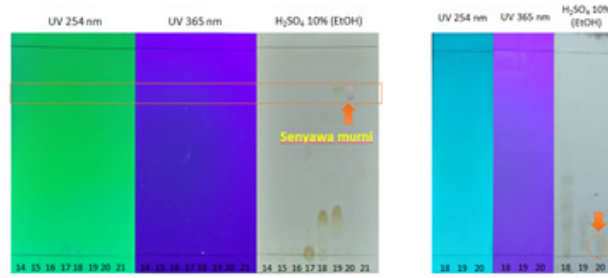
Gambar 1 Proses ekstraksi dan isolasi senyawa murni fraksi etil asetat *S. crassifolium*



Gambar 2 Analisis TLC pada kromatografi kolom (F1-F8); fase diam: silika G 60 F254, fase gerak n-heksana:EtOA (9:1) diobservasi dibawah lampu UV 254 and 365 nm sesudah disemprot dengan H₂SO₄ (dalam metanol 10%) dan DPPH (dalam metanol 0,05%)



Gambar 3 Analisis TLC pada kromatografi kolom (F1-F8); fase diam: silika G 60 F254 S , fase gerak n-heksana:EtOA (9:1) diobservasi dibawah lampu UV 254 and 365 nm sesudah disemprot dengan H₂SO₄ (dalam metanol 10%) dan DPPH (dalam metanol 0,05%)



Gambar 4 Analisis TLC pada kromatografi kolom (F1-F8); fase diam: silika G G 60 F254S, fase gerak : n-heksana-EtOAc (9:1) diobservasi dibawah lampu UV 254 dan 365 nm, sesudah disemprot dengan H_2SO_4 (di dalam metanol 10%)

F21). Kemudian F15-F21, dimonitor dengan TLC, pada F20 terdeteksi terdapat senyawa murni sebanyak 5,4 mg. Senyawa murni fraksi etil asetat *Sargassum* (FEaSar) kemudian di karakterisasi menggunakan FTIR, MS dan NMR.

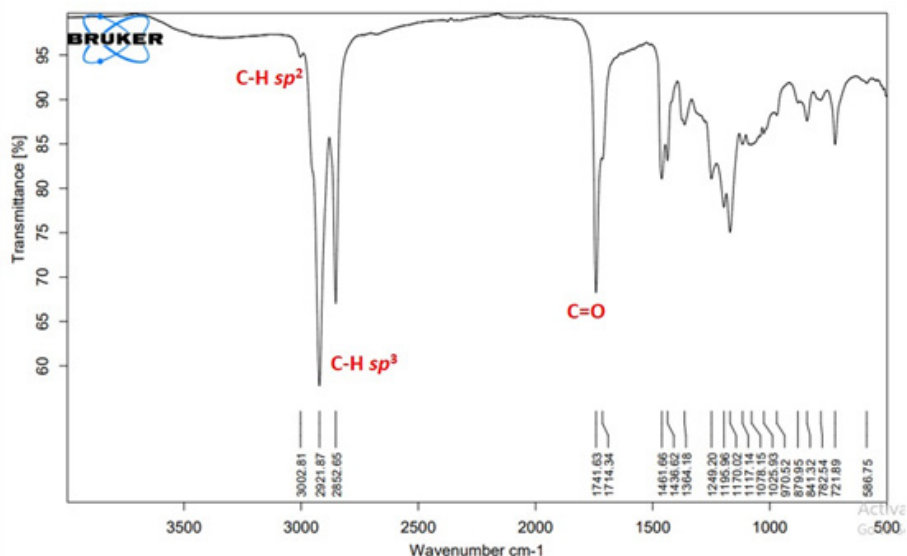
Penentuan Struktur Senyawa Analisis inframerah

Pengukuran serapan gelombang inframerah dalam suatu penentuan struktur bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada suatu molekul. Identifikasi gugus fungsi tertentu ditunjukkan oleh serapan khas pada bilangan gelombang tertentu, yang merupakan hasil transisi antara tingkat energi vibrasi (getaran) dari setiap interaksi atom-atom dalam suatu molekul, baik berupa *bending* ataupun *stretching*. Spektrum inframerah senyawa murni (FEaSar) dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan Gambar 5, terdapat serapan pada bilangan gelombang $3.002,81\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya regang C-H ikatan rangkap sedangkan bilangan gelombang $2.921,87$ dan $2.852,65\text{ cm}^{-1}$ membuktikan adanya gugus CH ikatan tunggal. Kemudian bilangan gelombang $1.741,63$ merupakan ciri khas dari karbonil. Tafsiran secara keseluruhan dari spektrum inframerah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Tafsiran spektrum infra merah murni (FEaSar)

| Bilangan gelombang (cm^{-1}) | Bentuk puncak | Intensitas | Dugaan struktur/gugus fungsi |
|---|---------------|------------|------------------------------|
| 3.002,81 | tajam | rendah | CH sp^2 |
| 2.921,27 | tajam | tinggi | CH sp^3 |
| 2.852,65 | tajam | tinggi | CH sp^3 |
| 1.741,63 | tajam | tinggi | CH=O |



Gambar 5 Spektrum infra merah senyawa murni (FEaSar)

Menurut Supratman (2010) dan Socrates (1994), serapan karbonil pada gugus fungsi aldehyd 1.740-1.720 cm^{-1} , asam karboksilat 1.705–1.725 cm^{-1} , keton 1.705-1.725 cm^{-1} , ester 1.740-1.710 cm^{-1} .

Analisis Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Senyawa murni (FEaSar) berupa padatan amorf berwarna putih yang larut dalam kloroform. Berdasarkan data spektrum ^{13}C - dan ^1H -NMR, FEaSar memiliki 19 atom karbon, 36 atom hidrogen dan 2 atom oksigen dengan rumus molekul $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_2$. Dengan mengetahui dugaan rumus molekul tersebut, maka dapat diperoleh dugaan nilai atau harga (*double bond equivalen*) DBE dari senyawa 1 dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{DBE} = \sum \text{atom C} - \frac{\sum \text{atom H}}{2} - \frac{\sum \text{halogen}}{2} + \frac{\sum \text{atom N}}{2} + 1$$

Berdasarkan perhitungan rumus DBE tersebut, diperoleh harga DBE senyawa murni yaitu tiga, artinya senyawa diduga memiliki satu buah karbonil, satu ikatan rangkap dan satu siklik.

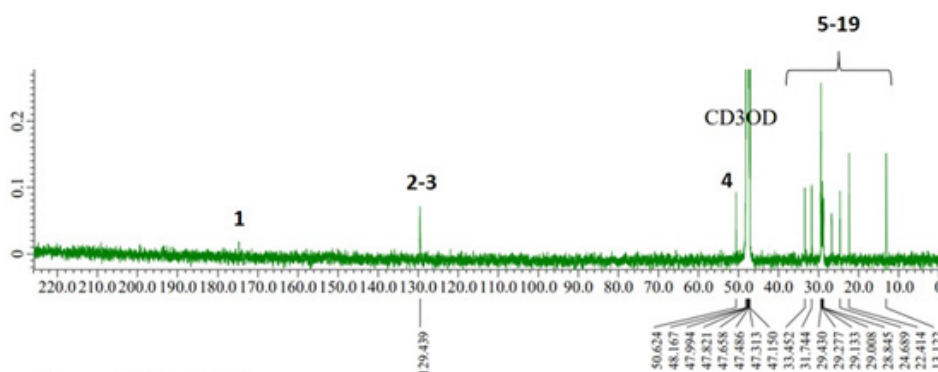
FEaSar diukur menggunakan spektrometer NMR untuk mengetahui jumlah, jenis, dan lingkungan proton/hidrogen dan untuk mengetahui jumlah, jenis serta pemecahan sinyal karbon yang tergantung dari jumlah proton yang terikat (metin, metilen, metil dan karbon kuarterner).

Data spektrum ^{13}C -NMR pada Gambar 6, memperlihatkan adanya 19 sinyal karbon, yang terdiri dari enam belas karbon ikatan tunggal (Csp³) pada daerah pergeseran kimia di bawah 100 ppm dan tiga karbon rangkap

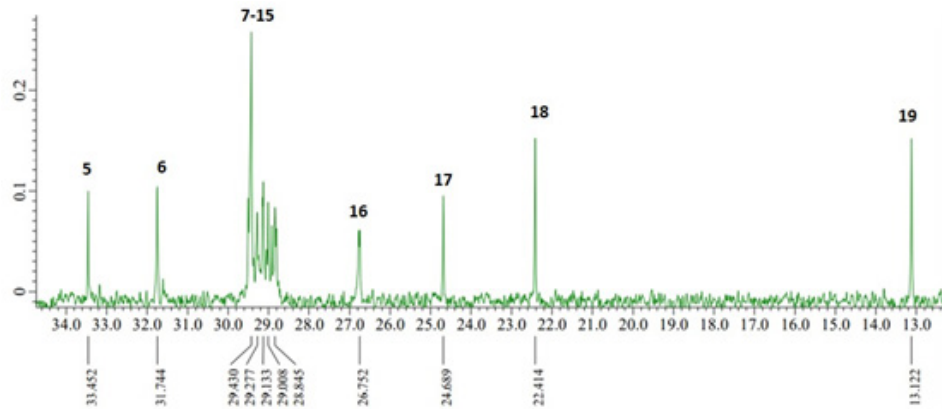
dua (Csp²) pada daerah pergeseran kimia di atas 100 ppm yang merupakan ciri khas karbonil. Dari data tersebut telah diketahui jumlah dan jenis karbon-karbon yang terdapat pada senyawa.

Umumnya sinyal karbon FEaSar adalah karbon ikatan tunggal (C sp³) kecuali sinyal karbon pada δC 174,2 (C-1) merupakan ciri khas dari karbon karbonil (C=O) dan dua sinyal yang berhimpit pada pergeseran kimia 129,4 yang merupakan karbon ikatan rangkap (C sp²). Semua sinyal karbon ikatan tunggal FEaSar (Gambar 7) merupakan karbon metilena kecuali karbon pada ppm δC 13,1 (C-19) merupakan ciri khas dari karbon metil (CH₃). Sedangkan lima belas sinyal karbon pada daerah 22-51 ppm merupakan karbon metilena (CH₂) yaitu: 50,6 (C-4), 33,4(C-5); 31,7(C-6); 29,4(C-7 & C-8); 29,3(C-9 & C-10); 29,1(C-11 & C-12); 29,0(C-13 & C-14); 28,9(C-15); 26,8(C-16); 24,7(C-17) dan 22,4(C-18) ppm.

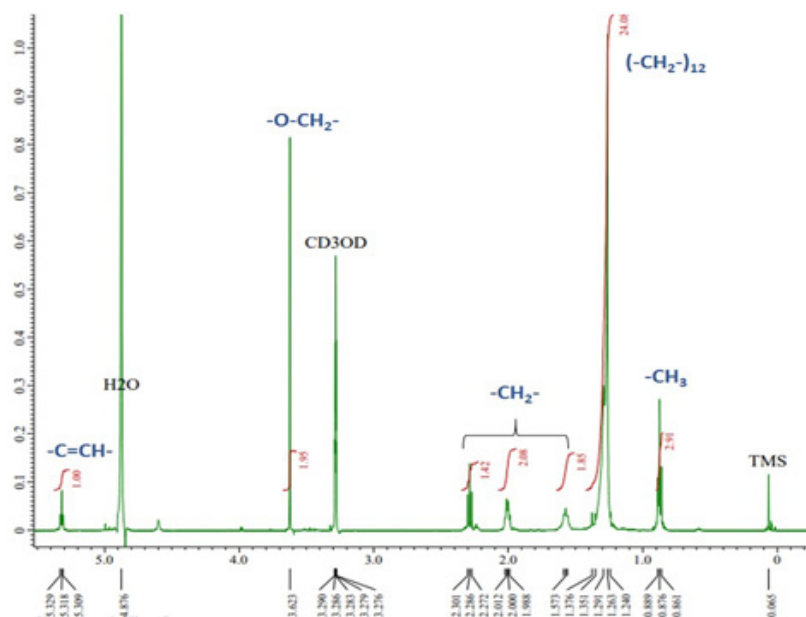
Spektrum ^1H -NMR menginformasikan jumlah, jenis dan lingkungan dari setiap proton-proton yang terdapat pada suatu senyawa. Pada Gambar 8 dapat dilihat jumlah dan jenis hidrogen yang terdapat pada senyawa murni. Jumlah proton atau hidrogen ditentukan dengan nilai integrasi, sedangkan jenis lingkungan ditentukan oleh nilai pergeseran kimia dan multiplisitasnya. Multiplisitas singlet menunjukkan tidak adanya proton tetangga, doublet menunjukkan memiliki satu proton tetangga, triplet menunjukkan memiliki dua proton tetangga, kuartet menunjukkan memiliki tiga proton tetangga dan multiplet menunjukkan memiliki lebih dari empat proton tetangga.



Gambar 6 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa-senyawa murni (125 MHz dalam metanol-D4)



Gambar 7 Spektrum ^{13}C -NMR senyawa-senyawa murni (125 MHz dalam metanol-D4)

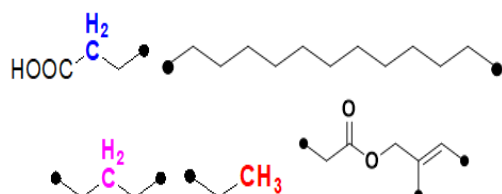


Gambar 8 Spektrum ^1H -NMR senyawa-senyawa murni (500 MHz dalam metanol-D4)

Gambar 8 menunjukkan bagaimana jenis dan lingkungan proton/hidrogen pada senyawa murni. Sinyal hidrogen pada pergeseran kimia 0,88 (3H, *t*) merupakan hidrogen metil yang bertetangga dengan metilena. Hal ini ditunjukkan dengan sinyal triplet yang berarti tiga hidrogen metil ini memiliki dua buah hidrogen tetangga yaitu hidrogen pada metilena. Sinyal hidrogen dengan intensitas tinggi pada 1,29(42H;*s*) merupakan ciri khas dari sinyal hidrogen asam lemak. Hal ini disebabkan banyaknya hidrogen metilena yang memiliki lingkungan yang sama sehingga sinyalnya menumpuk (bertumpang tindih). Interpretasi dari sinyal ini ditunjukkan dengan fragmen berwarna hitam (rantai 12 karbon metilena).

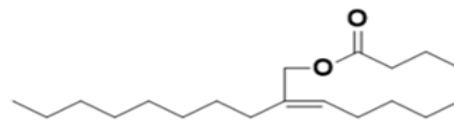
Sinyal hidrogen 1,57(2H;*q*) merupakan hidrogen metilena yang diapit karbon metilena dan metin. Hal ini diduga karena bentuk sinyalnya kuartet yang berarti hidrogen ini memiliki tiga buah hidrogen tetangga. Sinyal hidrogen pada pergeseran kimia 2,00(2H;*t*) yang juga merupakan sinyal dari metilena (CH_2). Karena bentuk sinyalnya triplet, diduga hidrogen pada metilena ini memiliki dua buah hidrogen tetangga yang berasal dari hidrogen metilena dan karbon yang di sisi lainnya adalah karbon kuarternar. Sinyal hidrogen yang berbentuk triplet juga terdapat pada 2,29 dan 5,32 ppm. Sinyal pada 2,29 (2H, *t*) diduga adalah metilena yang terikat pada karbon kuarternar dan metilena lainnya sedangkan sinyal hidrogen pada 5,32 (1H, *t*) ppm adalah

metin yang bertetangga dengan metilen dan karbon kuarterner (bukan karbonil) pada sisi lainnya. Sinyal hidrogen yang terakhir adalah sinyal pada pergeseran 3,62 (2H, s) merupakan hidrogen dari metilena teroksigenasi yang diapit oleh suatu karbon kuarterner. Tabel 3 menyajikan fragmen-fragmen (Gambar 9) yang dimiliki senyawa murni.



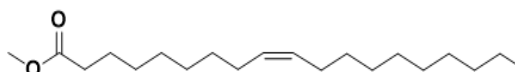
Gambar 9 Fragmen-fragmen FEaSar

Berdasarkan data IR dan NMR yang telah diuraikan, didapat dugaan struktur dari senyawa murni (FEaSar) berupa senyawa golongan asam lemak yang ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10 Dugaan senyawa murni (FEaSar)

Data perbandingan nilai pergeseran kimia ^1H - dan ^{13}C -NMR senyawa murni (FEaSar) dengan senyawa pembandingnya yaitu metil oleat (Ruksilp, 2020) dapat dilihat pada Tabel 4 dan gambar senyawa pembanding dapat dilihat pada Gambar 11.



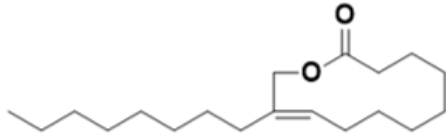
Gambar 11 Fragmen-fragmen FEaSar

Data pergeseran kimia senyawa murni mirip dengan data pergeseran kimia metil oleat. Adapun perbedaan pergeseran kimia ini disebabkan oleh perbedaan adanya gugus metilena teroksigenasi yang menggantikan metoksi pada metil oleat. Karen ada perbedaan

Tabel 3 Data pergeseran kimia ^1H -, ^{13}C - dan 2D-NMR senyawa (FEaSar)

| Posisi | Nomor karbon | δ_{C} 125 MHz (ppm) | δ_{H} (Int., mult., J =Hz) 500 MHz (ppm) |
|---------------------|--------------|-----------------------------------|--|
| 1 | 1 | 174,0 | - |
| 2 | 5 | 33,4 | 2,29 (2H; <i>t</i>) |
| 3 | 17 | 24,7 | 1,57 (2H; <i>q</i>) |
| 4 | 13 | 29,0 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 5 | 15 | 28,8 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 6 | 16 | 26,8 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 7 | 9 | 29,3 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 8 | 7 | 29,4 | 2,00 (2H; <i>t</i>) |
| 9 | 2 | 129,4 | - |
| 10 | 3 | 129,4 | 5,32 (1H; <i>t</i>) |
| 11 | 10 | 29,3 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 12 | 8 | 29,4 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 13 | 11 | 29,1 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 14 | 6 | 31,7 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 15 | 14 | 29,0 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 16 | 12 | 29,1 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 17 | 18 | 22,4 | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 18 | 19 | 13,1 | 0,88 (3H; <i>t</i>) |
| -CH ₂ -O | 4 | 50,6 | 3,62 (2H; <i>s</i>) |

gugus ini menyebabkan bentuk struktur senyawa murni dan metil oleat berbeda. Selain itu pelarut yang digunakan pada saat mengukur NMR dan daya alat spektroskopi NMR yang digunakan juga berbeda. Semakin besar daya alat yang digunakan, semakin sensitif data yang diberikan. Sehingga diduga senyawa murni (FEaSar) termasuk golongan ester oleat. (Gambar 12)



(E)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one

Gambar 12 Struktur senyawa murni (FEaSar) *S. crassifolium*

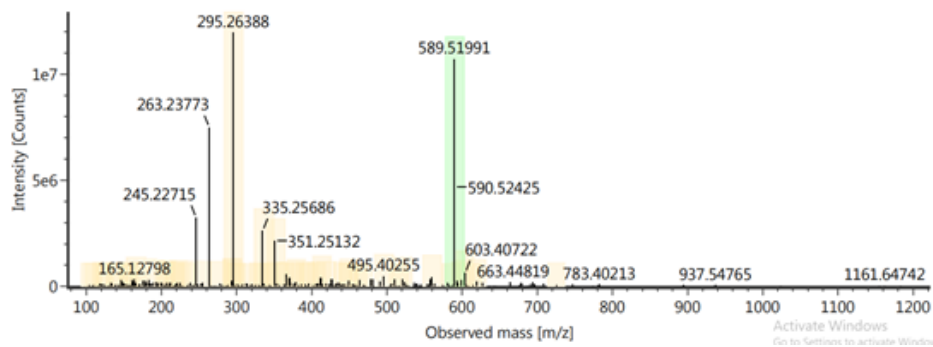
Analisis Spektrum Massa

Untuk memperkuat dugaan struktur, maka senyawa murni (FEaSar) dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi massa. Terlihat adanya puncak m/z 295 yang diduga merupakan bobot molekul senyawa murni (FEaSar) (Gambar 13). Hal ini sesuai dengan dugaan struktur senyawa isolat fraksi etil asetat yakni asam ester oleat yang memiliki rumus molekul (*E*)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one.

Rumput laut mengandung lemak yang rendah dan bukan sumber energi utama. Komposisi asam lemak paling banyak rumput laut kaya akan PUFA (Nomura *et al.*, 2013). Komposisi kimia asam lemak *S. wightii* yang tertinggi adalah asam oleat (27%) asam arakidonat (17%), asam linoleat (11%), asam miristat (9%) dan asam palmitat (5,67). Asam arakidonat adalah komponen utama membran sel dan berperan penting dalam

Tabel 4 Data ^1H -, ^{13}C -NMR senyawa 1 (FEaSar) dan metil oleat

| Nomor karbon | δ_{C} (ppm) | | δ_{H} (Int., mult., J =Hz) 500 MHz (ppm) | |
|---------------------|---------------------------|------------------------|--|------------------------|
| | ^a metil oleat | ^b Senyawa 1 | ^a metil oleat | ^b Senyawa 1 |
| 1 | 173,9 | 174,0 | - | - |
| 2 | 34,1 | 33,4 | 2,30 (2H) | 2,29 (2H; <i>t</i>) |
| 3 | 25,1 | 24,7 | 1,60 (2H) | 1,57 (2H; <i>q</i>) |
| 4 | 29,2 | 29,0 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 5 | 29,2 | 28,8 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 6 | 29,2 | 26,8 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 7 | 29,8 | 29,3 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 8 | 29,9 | 29,4 | 1,90 (2H) | 2,00 (2H; <i>t</i>) |
| 9 | 130,0 | 129,4 | 5,25 (1H) | - |
| 10 | 129,7 | 129,4 | 5,25 (1H) | 5,32 (1H; <i>t</i>) |
| 11 | 29,8 | 29,3 | 1,90 (2H) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 12 | 29,9 | 29,4 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 13 | 29,5 | 29,1 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 14 | 32,1 | 31,7 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 15 | 29,4 | 29,0 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 16 | 29,8 | 29,1 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 17 | 22,8 | 22,4 | 1,29 (2H; <i>s</i>) | 1,29 (2H; <i>s</i>) |
| 18 | 14,2 | 13,1 | 0,80 (3H; <i>r</i>) | 0,88 (3H; <i>t</i>) |
| -CH ₂ -O | 51,3 | 50,6 | 3,50 (3H; <i>s</i>) | 3,62 (2H; <i>s</i>) |



Gambar 13 Spektrum massa senyawa murni (FEaSar) *S. crassifolium*

produksi prostagladin. Eikosanoid dari asam arakidonat dapat meningkatkan aktivitas platelet dan respons imun (Knothe, 2005).

Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilaporkan oleh Praiboon *et al.* 2017 bahwa asam lemak utama *S. oligocystum* asam lemak jenuh yaitu hampir 50% dari total asam lemak. Hal ini juga sama dengan *S. polycystum* dari Malaysia yang dilaporkan (Matanjun *et al.*, 2009) dan *S. muticum* dari Spanyol (Conde *et al.*, 2015). Kandungan asam lemak rumput laut bervariasi baik oleh karena lingkungan maupun genetik yang berbeda (Nomura *et al.*, 2013). Balboa *et al.* (2016) melaporkan bahwa tingkat ketidakjenuhan terutama tergantung pada temperatur air. Rumput laut yang dipanen pada daerah dingin mempunyai kandungan PUFA dan tingkat kejenuhan lebih tinggi daripada yang dipanen pada perairan tropis.

Kandungan PUFA *S. binderi* dan *S. duplicatum* lebih tinggi (33-37%) dari SFA (29-31%), dan kandungan MUFA yang rendah (13-15%). Konsentrasi omega-3 (n-3) PUFA *S. binderi* (20%) dan *S. duplicatum* (12%). Tetapi omega-6 (n-6) PUFA *S. binderi* (17%) lebih rendah dari *S. duplicatum* (21%). PUFA/SFA *S. binderi* (1.2%) hampir sama dengan *S. duplicatum* (1.1%). Rasio PUFA/SFA 1:1 sampai 1:2. merupakan suatu perbandingan yang baik karena banyak asosiasi gizi merekomendasikan rasio 1:1. PUFA, terutama n-3 dan n-6 PUFA, yang dikenal sebagai asam lemak esensial dan memberikan pengaruh pada penyembuhan dan pencegahan penyakit kardiovaskular, perkembangan saraf bayi, kanker dan mengontrol glikemik lemak

(Corner, 1997). *S. duplicatum* dan *S. binderi* mengandung komponen lemak fungsional seperti fukosantin, masing-masing sebesar $0,73 \pm 0,39$ dan $1,01 \pm 0,10$ (mg/g berat kering) (Noviendri, 2011).

Produk rumput laut adalah sumber penting akan omega 3 dan 6 yang merupakan komponen utama pembentukan lipid struktural penting dan elemen membran sel (Dawczynski *et al.*, 2007; Sánchez-Machado *et al.*, 2004). Rasio sebesar 1 untuk n6:n3 bermanfaat untuk kesehatan. Jumlah n-6 PUFA yang tinggi dan sangat tingginya rasio n6:n3 mengakibatkan patogenesis banyak penyakit kardiovaskular, kanker, peradangan, dan penyakit autoimun (Simopoulus, 2002). Konsumsi makanan kaya n-3 PUFA memberikan pengaruh yang positif pada komposisi lemak darah karena dapat mencegah aterosklerosis (Murata *et al.*, 2002).

Spesies makroalga laut umumnya mengandung zat gizi yang penting yaitu C18 dan C20 PUFA termasuk juga n-3 PUFA yang penting sebagai *antiarrhythmic*, anti peradangan, dan anti trombotik (Kumari *et al.*, 2013; Gillies *et al.*, 2011). Mohammed *et al.* (2004) melaporkan bahwa asam oleat memiliki pengaruh melawan komplikasi kardivaskular dan diabetes karena dapat mengontrol kadar glutathion (GSH), total lipid, triasilgliserol (TAG) dapat terkontrol. Asam lemak dapat melindungi jaringan dari risiko trombosis (Alturfan *et al.*, 2002). Alga laut juga kaya akan sumber PUFA dan asam lemak ini yang berfungsi menghalangi pertumbuhan penyebaran sistemik kanker payudara (Deveri *et al.*, 2001).

Tabel 5 Kadar fuko-xantin dan karotenoid serta aktivitas antioksidan (DPPH) *S. crassifolium*

| Sampel | Fuko-xantin ($\mu\text{g g}^{-1}$) | Karotenoid ($\mu\text{g g}^{-1}$) | Aktivitas antioksidan (DPPH) mg/mL |
|--------------------|---|--|---------------------------------------|
| Ekstrak Metanol | 37,74±2,407 | 54,49±3,092 | 4,587±0,386 |
| Fraksi heksana | 33,04±3,348 | 18,37±1,695 | 2,657±0,338 |
| Fraksi etil asetat | 14,65±1,002 | 43,23±3,254 | 5,246 ±0,423 |
| BHT | - | - | 0,672±0,0572 |

Kadar Pigmen

Hasil analisis kadar pigmen ekstrak metanol, fraksi heksana dan etil asetat dapat dilihat pada Tabel 5. Ekstrak metanol mempunyai kadar fukosantin dan karotenoid tertinggi, masing masing 37,74±2,407 dan 54,493±3,0921 $\mu\text{g/g}$. El-Din & El-Ahwany 2016 menyatakan bahwa karotenoid *Pyropia yezoensis* sebesar 1,44±0,03 mg/g. Karotenoid berperan penting sebagai *photo-protection* dari kerusakan ROS di bawah energi cahaya yang kuat. Karotenoid mempunyai berbagai manfaat untuk kesehatan manusia, misalnya sumber β -karoten, α -karoten, dan β -cryptosantin. Lutein dan zeasantin menurunkan risiko penuaan dini degenerasi otot (Koizumi *et al.*, 2018). Senyawa-senyawa yang mempunyai daya reduksi mengindikasikan fungsi donor elektron dan dapat mereduksi intermediat teroksidasi dari proses peroksidasi lipida. Senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai antioksidan primer dan antioksidan sekunder.

Fukosantin adalah salah satu karotenoid yang melimpah pada rumput laut cokelat misalnya wakame (*Undaria pinnatifida*) dan kombu (*Laminaria japonica*). Fukosantinol merupakan bentuk aktif fukosantin dan mempunyai aktivitas penghambatan yang kuat terhadap lini sel kanker manusia yaitu sel kanker kantong kemih dan kanker serviks (HeLa). Fukosantin memperbaiki efikasi kemoterapi dengan memperkuat induksi apoptosis (Ecorlano *et al.*, 2019). *S. oligocystum* mempunyai kandungan fukosantin dan fenol masing-masing 1,84±0,28 dan 4,97±1,21 (mg g^{-1} dw) dengan aktivitas antikanker melawan *adriamycin-resistant carcinoma* sel kanker paru manusia dengan ekstrak etanol dan ekstrak lipolitik masing-masing sebesar (GLC4/Adr) 92,06±0,83d 31,14±0,83 $\mu\text{g mL}^{-1}$

(Praiboon *et al.*, 2017). Ekstrak heksana, etil asetat, kloroform dan etil asetat *S. polycystum* mengandung metabolik sekunder steroid, tanin, alkaloid, triterpenoid, glikosida, dan menunjukkan sitotoksitas melawan sel kanker kolon HCT, paru A549 dengan nilai IC_{50} 21,3–33,4 $\mu\text{g/mL}$ (Arsianti *et al.*, 2019).

Aktivitas Antioksidan DPPH

Aktivitas antioksidan DPPH ekstrak metanol, fraksi heksana dan etil asetat masing-masing IC_{50} 4,587±0,386; 2,657±0,338 dan 5,246±0,423 mg mL^{-1} (Tabel 5). Aktivitas DPPH *S. angustifolium* 0,23 mg/L, *S. oligocystum* 0,61 mg/L dan *S. boveanum* 0,49 mg/L (Mehdinezhad *et al.*, 2016). Aktivitas antioksidan rumput laut cokelat disebabkan oleh senyawa polifenol terutama florotanin serta mempunyai aktivitas biologi melawan kanker. Florotanin adalah kelompok senyawa fenolik yang dibentuk oleh polimerasi unit monomer floriglusinol (1,3,5 trihidroksibenzena) dan disintesis dalam jalur asetat malonat dalam makroalga (Arnold & Target, 2000). Koivikko *et al.* (2005) membagi florotanin ke dalam tiga bagian, florotanin terlarut dari matriks alga atau florotanin sitoplasma; florotanin yang berikatan dengan dinding sel; dan florotanin yang melekat pada membran dinding sel dan dapat terlepas dan terbawa oleh air laut.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar total fenol sangat bervariasi. *S. mangarevense* dari Tahit ~2,85% dw (Zubia *et al.*, 2008), *S. vulgare* (0,56– 3,61% dw) dari Brazil (Plouguerné *et al.*, 2012) *S. muticum* (1,15 mg g^{-1} dw) dari Denmark (Farvin & Jacobsen, 2013). Kadar total fenol bervariasi tergantung pada musim, habitat, geografi dan talus yang ada di dalam rumput laut (Plouguerné *et al.*, 2012; Tanniou *et al.*, 2014).

Ekstrak etil asetat *S. polycystum* mengandung total fenol sebesar 548,61 µg/mL, diikuti oleh ekstrak etanol sebesar 123,21 µg/mL. Sedangkan kadar flavonoid sebesar 14,456 µg/mL pada ekstrak etanol dan etil asetat sebesar 40,06 µg/mL. Ekstrak etil *S. polycystum* dan etanol masing-masing mempunyai aktivitas DPPH IC_{50} 298,32 dan 624,76 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat mempunyai hubungan dengan kandungan fenolik dan flavonoid. Ekstrak *S. polycystum* menunjukkan aktivitas antikanker serviks yang kuat dengan kisaran IC_{50} 38,3–112,8 µg/mL (Arsianti *et al.*, 2020).

Sifat antioksidan fenol adalah kemampuannya bekerja sebagai senyawa pereduksi, donor hidrogen, dan peredam radikal bebas (Devi *et al.*, 2008). Fenolik juga dapat berperan sebagai pengkelat logam. Terdapat beberapa jenis hidrofilik polifenol misalnya epigallo katekin, epikatekin galat dan florotanin (Boonchum *et al.*, 2011). Aktivitas antioksidan daya reduksi *S. swartzii* dan *Cystoseira myrica* pada fraksi metanol yaitu $73,92 \pm 12,36$ dan $50,95 \pm 4,33$ mmol FeII/100 g ekstrak kering pada konsentrasi 10 ppm mempunyai aktivitas yang paling tinggi dibandingkan dengan fraksi heksan, etil asetat dan kloroform, yang sejalan dengan kadar total fenol tertinggi yaitu sebesar $12,00 \pm 0,55$ dan $10,08 \pm 1,13$ (g asam galat/100 g ekstrak) (Sadati *et al.*, 2011). Kandungan total fenol *Sargassum polycystum* yaitu 8.287,18 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan DPPH dengan nilai IC_{50} 1,9-9,6 3,4 mg/L, FRAP 105,357 µmol troloks/g dan CUPRAC (Cu reduction antioxidant capacity) 201 µmol troloks/g ekstrak (Diachanty *et al.*, 2017).

Beberapa rumput laut cokelat seperti *S. kjelmannianum*, *S. siliquastrum*, dan *S. microcantum* mempunyai kemampuan dalam menghambat peroksidasi dengan mendonorkan protonnya sehingga mempercepat proses terminasi radikal bebas (Wei *et al.*, 2003; Firdaus *et al.*, 2012, Raghavendran *et al.*, 2005). Heo *et al.* (2005) melaporkan bahwa ekstrak rumput laut cokelat dapat mencegah kerusakan LDL, DNA, dan peroksidasi lemak pada sel hati.

Aktivitas antioksidan *S. crassifolium* dianalisis secara kualitatif dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3. Isolat senyawa di KLT kemudian disemprot dengan 0,05% DPPH yang terbentuk berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa isolat asam lemak *S. crassifolium* terdapat senyawa antioksidan. Asam oleat, ester oleat dan metil oleat yang diisolasi dari *Millettia utilis* Dunn menunjukkan aktivitas antioksidan DPPH sebesar $IC_{50} > 50$ dan ABTS sebesar $IC_{50} 39,50 \pm 1,57$ µg/mL. Asam palmitat menunjukkan aktivitas yang tinggi melawan sel kanker payudara (MCF-7), kanker hati (WRL-68), dan kanker kolon (Caco-2), dengan aktivitas masing-masing IC_{50} 0,55; 1,0; 0,75 dan 0,35 µg/mL (Sasena *et al.*, 2007). Asam oleat aktif melalui 5α reduktase dengan nilai $IC_{50} 54,50 \pm 3,0$ µg/mL (Abe *et al.*, 2009). Turunan rantai cabang (metil, n-butil, fenil) dari metil oleat diuji in-vitro untuk aktifitas antiproliferatif melawan dua jenis lini sel MCF-7 (payudara manusia) dan HT-29 (kolon manusia). Turunan rantai cabang fenil turunan asam oleat menunjukkan aktivitas dengan nilai IC_{50} 48 ppm melawan baik MCF-7 dan HT-29 (Dailey *et al.*, 2011).

Rumput laut cokelat mengandung pigmen β-karoten, violansantin dan fukosantin. Alga cokelat juga mengandung berbagai jenis sterol, fukosterol dan kolesterol. Kolesterol banyak terdapat pada rumput laut cokelat. Senyawa-senyawa ini mempunyai aktivitas melawan berbagai jenis kanker (Majunder *et al.*, 2015). Beberapa peneliti melaporkan bahwa asam lemak alga laut yang mempunyai kemampuan mengkelat ion bersifat sebagai antikanker. Asam lemak sebagai molekul bioaktif yang mempunyai tingkat sitotoksik yang berbeda terhadap sel kanker (Kim *et al.*, 2006). Kriteria pengkelat logam berat adalah dapat memasuki sel dengan mudah, dengan cara mengkelat logam dari kompleksnya dengan metalotionin atau protein lain dan meningkatkan ekskresi logam tanpa redistribusi pada organ atau jaringan lain. Jika antioksidan memiliki kriteria-kriteria ini maka senyawa pengkelat logam yang digunakan untuk terapi tidak akan ada efek samping (Swaran, 2009).

KESIMPULAN

Isolasi senyawa asam lemak fraksi etilasetat *S. crassifolium* tergolong ester oleat dengan rumus molekul (*E*)-11-octyloxacyclododec-10-en-2-one. *S. crassifolium* mengandung fukosantin dan karotenoid yang tinggi. Ekstrak metanol, fraksi heksana dan fraksi etilasetat *S. crassifolium* mempunyai aktivitas antioksidan. Sebab itu perlu dilakukan penelitian di masa depan pada isolat murni fraksi heksana dan mengetahui aktivitas biologi dari isolat murni *S. crassifolium*, agar dapat dimanfaatkan sebagai produk kesehatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Kemristek Dikti melalui Dana DRPM dan LPPM Unsrat yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe, M., Ito, Y., Suzuki, A., Onoue, S., Noguchi, H., & Yamada, S. (2009). Isolation and pharmacological characterization of fatty acids from saw palmetto extract. *Analytical Sciences*, 25, 553-557. doi: 10.2116/analsci.25.553
- Arnold, T. M., & Target, N. M. (2000). Evidence for metabolic turnover of polyphenolics in tropical brown algae. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 1393-1408. DOI:10.1023/A:1005588023887
- Arsianti, A., Bahtiar, A., Wangsaputra, V. K., Azizah, N. N., Fachri, W., Nadap, L. D., Fajrin, A. M., Tanimoto, H., & Kakiuchi, K. (2020). Phytochemical Composition and Evaluation of Marine Alga *Sargassum polycystum* for Antioxidant Activity and In Vitro Cytotoxicity on Hela Cells. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 88-94. DOI:10.5530/pj.2020.12.14
- Arsianti, A., Fadilah, F., Bahtiar, A., Dewi, M. K., Adyasa, Z. M., Simadibrata, D. M., & Amartya, D. (2019). Phytochemistry profile and in vitro cytotoxicity of seaweed macroalgae *Sargassum polycystum* against colon HCT-116 and lung A-549 cancer cells. *International Journal of Green Pharmacy*, 13 (2), 141-146. DOI: <https://doi.org/10.22377/ijgp.v13i2.2495>
- Athukorala, Y., Kim, K.N., & Jeon, Y. J. (2006). Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 1065-1074. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.01.011>
- Bakar, K., Mohamad, H., Latip, J., Tan, H. S., & Herng, G. M. (2017). Fatty acids compositions of *Sargassum granuliferum* and *Dictyota dichotoma* and their anti-fouling activities. *Journal of Sustainability Science and Management*, 12 (2), 8-16.
- Balboa, E. M., Gallego-Fábrega, C., Moure, A., & Domínguez, H. (2016). Study of the seasonal variation on proximate composition of oven-dried *Sargassum miticum* biomass collected in Vigo Ria, Spain. *Journal Applied Phycology*, 28, 1943-1953. DOI:10.1007/s10811-015-0727-x
- Boonchum, W. Y., Peerapornpisal, P., Vacharapiyasophon, J., Pekkoh, C., Pumas, U., Jamjai, D., Amornlerdpison, T., Noiraksar, T., & Kanjanapothi, D. (2011). Antioxidant activity of some seaweed from the Gulf of Thailand. *International Journal Agriculture Biology*, 13, 95-99.
- Chen, D., Liu, Y., Ma, G., Zhu, N., Wu, H., Wang, D., & Xu, X. (2015). Two new rotenoids from the roots of *Millettia speciosa*. *Phytochemistry Letters*, 12, 196-199. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.04.003>
- Conde, E., Moure, A., & Domínguez, H. (2015). Supercritical CO₂ extraction of fatty acids, phenolics and fucoxanthin from freeze-dried *Sargassum muticum*. *Journal Applied Phycology*, 27, 957-964. DOI:10.1007/s10811-014-0389-0
- Corner, W. E. (1997). The beneficial effects of omega-3 fatty acids: cardiovascular disease and neurodevelopment. *Curr. Opin. Lipidol*, 8, 1-3. doi: 10.1097/00041433-199702000-00001.
- Costa, L. S., Fidelis, G. P., Cordeiro, S. L., Oliveira, R. M., Sabry, D. A., Câmara, R. B. G., Nobre, L. T. D. B., Costa, M. S. S. P., Almeida-Lima, J., Parias, E. H. C., Leite, E. L., & Rocha, H. A. O. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharide from tropical seaweed. *Bibmedicine Pharmacology*, 64, 21-28. doi: 10.1016/j.

- biopha.2009.03.005
- Dailey, O. D., Wang, X., Chen, F., & Huang, G. (2011). Anticancer activity of branched-chain derivatives of oleic acid. *Anticancer Research*, 31(10), 3165-3170
- Dar, A., Baig, H. S., Saifullah, S. M., Ahmad, V. U., Yasmeen, S., & Nizamuddin, M. (2007). Effect of seasonal variation on the anti-inflammatory activity of *Sargassum wightii* growing on the N. Arabian Sea coast of Pakistan. *Journal Experiment Marine Biology Ecology*, 351, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.03.019>
- Dawczynski, C., Schubert, R., & Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*, 103, 891-899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.041>
- Devery, R., Miller, A., & Stanton, C. (2001). Conjugated linoleic acid and oxidative behavior in cancer cells. *Biochemistry Society Transaction*, 29, 341-344. DOI:10.1042/BST0290341
- Devi, K. P., Suganthi, N., Kesika, P., & Pandian, S. K. (2008). Bioprotective properties of seaweeds: In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8(3), 882-888. doi: 10.1186/1472-6882-8-38
- Diachanty, S., Nurjanah, & Abdullah, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Berbagai Jenis Rumput Laut Coklat Dari Perairan Kepulauan Seribu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 305-318. DOI: <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18013>
- Dolorosa, M. T., Nurjanah, Purwaningsih, S., Anwar, E., & Hidayat, T. (2017). Kandungan senyawa bioaktif bubuk rumput laut *Sargassum plagiophyllum* dan *Euclima cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(3), 633-644. DOI:10.17844/jphpi.v20i3.19820
- El-Din, S.M.M., & El-Ahwany, A. M. D. (2016). Bioactivity and phytochemical constituents of marine red seaweeds (*Jania rubens*, *Corallina mediterranea* and *Pterocladia capillacea*). *Journal of Taibah University for Science*, 10(2016), 471-484. DOI:10.1016/j.jtusci.2015.06.004
- Ercolano, G., De, Cicco, P., & Ianaro, A. (2019). New Drugs from the Sea: ProApoptotic Activity of Sponges and Algae Derived Compounds. *Marine Drug*, 17(31), 1-31. doi: 10.3390/md17010031.
- Farvin, K. H. S., & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 138, 1670-1681. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.10.078
- Firdaus, M., Astawan, M., Muchtadi, D., Wresdiyati, T., Waspadji, S., & Karyono, S. S. (2012). Toksisitas akut ekstrak metanol rumput laut cokelat *Sargassum echinocarpum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(2), 148-155. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v15i2.6249>
- Foon, T. S., Ai, L. A., Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., & Govindan, N. (2013). Studies on in-vitro antioxidant activity of marine edible seaweeds from the east coastal region of peninsular malaysia using different extract methods. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(3), 193-198. DOI:10.12980/JCLM.1.2013C1189
- Freitas, J. C., Sakamoto, M. L., & Caprara, L. (1995). Cardiac effects induced of seaweed *Bryopsis pennata* (Chlorophyta, caulerpales). *Toxicon*, 33(3), 301.
- Heo, S. J., Park, E. J., Lee, K. W., & Jeon, Y. J. (2005). Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technology*, 96, 1613-1623. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.07.013
- Knothe, G. (2005). The chemistry of oils and fats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(13), 2325-2325. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2337>
- Ganapathi, K., Subramanian, V., & Mathan, S. (2013). Bioactive potentials of brown seaweeds, *Sargassum myriocystum*, *S.plagiophyllum* and *S. ilicifolium* (Turner) J. Agardh. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3(5), 105-111. DOI:10.22270/jddt.v9i1.2199
- Gillies, P. J., Harris, W. S., & Kris-Etherton,

- P. M. (2011). Omega-3-fatty acid in food and pharma: the enabling role of biotechnology. *Current Atherosclerosis Rep.*, 13, 467-473. DOI:10.1007/s11883-011-0206-z
- Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T., & Miyashita, K. (2004). Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR γ ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochemistry Biophysic Acta*, 1675, 113–119. DOI:10.1016/j.bbagen.2004.08.012
- Jeeva, S., Marimuthu, J., Domettilla, C., Anantham, & Mahesh, M. (2012). Preliminary phytochemical studies on some selected seaweeds from gulf of Mannar, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S30-S33. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60125-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60125-7)
- Joung, E. J., Gwon, W. G., Shin, T., Jung, B. M., Choi, J., & Kim, H. R. (2017). Antiinflammatory action of the ethanolic extract from *Sargassum serratifolium* on lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages and identification of active components. *J Applied Phycology*, 29, 563–573. DOI:10.1007/s10811-016-0954-9
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2017). KKP sasar rumput laut sebagai komoditas unggulan budidaya. <http://www.kkp.go.id>.
- Kim, K., Lee, K. W., Song, C. B., Ahn, C. B., & Jeon, Y. J. (2006). Cytotoxic activities of red algae collected from Jeju Island Against four tumor cell lines. *Journal food Science and Nutrition*, 11, 3. DOI:10.3746/jfn.2006.11.3.177
- Kim, M. S., Kim, J. Y. W., Choi, H., & Lee, S. S. (2008). Effects of seaweed supplementation on blood glucose concentration, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research Practice*, Summer 2(2), 62–67. DOI:10.4162/nrp.2008.2.2.62
- Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K., & Tanaka, T. (2004). Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Science*, 95, 481-486. DOI:10.1111/j.1349-7006.2004.tb03236.x
- Koizumi, B. J., Takatani, N. T., Kobayashi, N., Mikami, K., Miyashita, K., Yamano, Y., Wada, A., Maoka, T., & Hosokawa, M. (2018). Carotenoid Profiling of a Red Seaweed *Pyropia yezoensis*: Insights into Biosynthetic Pathways in the Order *Mar Drugs*, 16(11), 426. doi: 10.3390/md16110426.
- Koivikko R. 2008. Brown algal phlorotannins: improving and applying chemical methods. University of Turku. doi: 10.3390/md16110426.
- Kok, J. M. L., Jee, J. M., Chew, L.Y, & Wong, C. L. (2016). The potential of the brown seaweed *Sargassum polycystum* against acne vulgaris. *Journal Applied Phycology*, 28, 3127–3133. DOI:10.1007/s10811-016-0825-4
- Kumari, P., Bijo, A. J., Mantri, V. A., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2013). Fatty acid profiling of tropical marine macroalgae: An analysis from chemotaxonomic and nutritional perspectives. *Phytochemistry*, 86,44-56. DOI: 10.1016/j.phytochem.2012.10.015
- Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Funayama, K., & Miyashita, K. (2005). Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochemistry Biophysich Research Communication*, 332, 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.05.002>
- Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., & Miyashita, K. (2007). Dietary combination of fucoxanthin and fish oil attenuates the weight gain of white adipose tissue and decreases blood glucose in obese/diabetic KK-Ay mice. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 55, 7701–7706. DOI:10.1021/jf071569n
- Majumder, I., Chatterjee, S., & Kundu, R. (2015). A study on anti-proliferative property of some green algae on human cervical cancer cells (SiHa) in vitro. *J. Algal Biomass Util.*, 6, 21–25. at: <https://www.researchgate.net/publication/282317683>
- Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N.

- M., & Muhammad, K. (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *J Applied Phycology*, 21, 75–80. DOI:10.1007/s10811-008-9326-4
- Mehdinezhad, N., Ghannadi, A., & Yegdaneh, A. (2016). Phytochemical and biological evaluation of some *Sargassum* species from Persian Gulf. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 243–249.
- Miyashita, K. (2006). Seaweed carotenoid, Fucoxanthin, with highly bioactive and nutritional activities. *Journal Marine Bioscience Biotechnology*, 1, 48–58
- Moghadamtousi, S. Z., Karimian, H., Khanabdali, R., Razavi, M., Firoozinia, M., Zandi, K., & Kadi, H. A. (2014). Anticancer and antitumor potential of fucoidan and fucoxanthin, two main metabolites isolated from Brown Algae. *Hindawi Publishing Corporation Scientific World Journal* 768323, 10. http://dx.doi.org/10.1155/2014/768323 .
- Mohammed, A., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S., Long, K., & Ghazali, H. M. (2003). *Moringa oleifera* potentially a new source of oleic acid-type oil for Malaysia. in: Hassan M.A., Editor. Investing in Innovation: Bioscience and Biotechnology. Selangor: Universiti Putra Malaysia Press, Serdang Press.
- Mona, Y., Tannourya, M. Y., Eliaa, J. M., Saabc, A. M., Hassane, Y., Makhloufb, H. Y., Jihad, S., Abboudd, J. S., Daou, & Chab, R. J. (2016). Evaluation of cytotoxic activity of *Sargassum vulgare* From the Lebanese Coast Against Jurkat Cancer Cell Line. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(06), 108–112, DOI:10.7324/JAPS.2016.60619
- Murata, M., Sano, Y., Ishihara, K., & Uchida, M. (2002). Dietary fish oil and *Undaria pinnatifida* (Wakame) synergistically decrease rat serum and liver triacylglycerol. *Journal Nutrition*, 132, 742–747. DOI:10.1093/jn/132.4.742
- Murphy, C., Hotchkiss, S., Worthington, J., & McKeown, S. R. (2014). The potential of seaweed as a source of drugs for use in cancer chemotherapy. *Journal Applied Phycology*, 26, 2211–2264. DOI:10.1007/s10811-014-0245-2
- Nomura, T., Kikuchi, M., Kubodera, A., & Kawakami, Y. (2008). Protodonative antioxidant activity of fucoxanthin with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Biochemical Molecular Biology International*, 42(2), 361–370. https://doi.org/10.1080/15216549700202761
- Nomura, M., Kamogawa, H., Susanto, E., Kawagoe, C., Yasui, H., Saga, N., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2013). Seasonal variation of total lipids, fatty acid composition, and fucoxanthin contents of *Sargassum horneri* (Turner) and *Cystoseira hakodatensis* (Yendo) from the northern seashore of Japan. *Journal Applied Phycology*, 25, 1159–1169. DOI:10.1007/s10811-012-9934-x
- Noviendri, D., Jaswir, I., Salleh, H. M., Taher, M., Miyashita, K. & Ramli, N. (2011). Fucoxanthin extraction and fatty acid analysis of *Sargassum binderi* and *S. duplicatum*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(11), 2405–2412.
- Nurjanah, Nurilmala, M., Anwar, E., Luthfiyana, N., Hidayat, T. (2017). Identification of bioactive compounds of seaweed *Sargassum* sp and *E.cotonii* as raw material sunscreen cream. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences*, 54(4), 311–318.
- Nurjanah, Nurilmala, M., Anwar, E., Luthfiyana, N., Hidayat, T. (2019). Utilization of seaweed porridge *Sargassum* sp. and *Eucheuma cottonii* as cosmetic in protecting skin. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 278(2019) 012055IOP. DOI:10.1088/1755-1315/278/1/012055
- Pádua, D., Rocha, E., Gargiulo, D., & Ramos, A. A. (2015). Bioactive compounds from brown seaweeds: phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer. *Phytochemistry Letter*, 14, 91–98. DOI:10.1016/j.phytol.2015.09.007
- Plouguerné, E., Cesconetto, C., Cruz, C. P., Pereira, R. C., & da Gama, B. A. P. (2012). Within-thallus variation in polyphenolic content and antifouling activity in

- Sargassum vulgare*. *Journal Applied Phycology*, 24, 1629–1635. DOI:10.1007/s10811-012-9826-0
- Prabhakar, V., Anandan, R., Aneesh, T. P., Jayasree, N. B., Nair, S. V., & Halima, O. A. (2011). Fatty acid composition of *Sargassum wightii* and *Amphiroa anceps* collected from the Mandapam coast Tamil Nadu, India. *Journal Chemistry Pharmacology Research*, 3(1), 210-216.
- Praiboon, J., Palakas, S., Noiraksa, T., & Miyashita, K. (2018). Seasonal variation in nutritional composition and anti-proliferative activity of brown seaweed, *Sargassum oligocystum*. *Journal Applied Phycology*, 30, 101–111. DOI:10.1007/s10811-017-1248-6
- Raghavendran, H. R. B., Sathivel, A., & Devaki, T. (2005). Protective effect of *Sargassum polycystum* (brown alga) against acetaminophen-induced lipid peroxidation in rats. *Phytotherapy Research*, 19, 113-115. doi: 10.1002/ptr.1552.
- Sadati, N., Khanavi, M., Mahrokh, A., Nabavi, S. M. B., Sohrabipour, J., & Hadjiakhoondi, A. (2011). Comparison of antioxidant activity and total phenolic contents of some Persian Gulf marine algae. *Journal Medicine Plants*, 10(37), 73-79.
- Sánchez, M. D. I., López, C. J., López, H. J., & Paseiro, L. P. (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85, 439-444. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.08.001
- Sanger, G., Rarung, L. K., Kaseger, B. E., Assa, J. R., & Agustin, A. T. (2019). Phenolic content and antioxidant activities of five seaweeds from North Sulawesi, Indonesia. *AACL Bioflux*, 12(6), 2041–2050.
- Sasena, M., Faridi, U., Srivastava, S., Darokar, M., Mishra, R., Pal, A., & Khanuja, S. (2007). A cytotoxic and hepatoprotective agent from *Withania somnifera* and biological evaluation of its ester derivatives. *Natural Product Communications*, 2(7), 775-778. DOI:10.1177/1934578X0700200714
- Sidauruk, S. W., Sar, N. I., Diharmi, A., & Arif, I. (2013). Aktivitas antibakteri ekstrak *Sargassum plagyophyllum* terhadap bakteri *Listeria monocytogenes* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 27-37. DOI:10.17844/jphpi.v24i1.33417
- Simopoulus, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother*, 56, 365-379. DOI:10.1016/S0753-3322(02)00253-6
- Socrates, G. (1994). Infrared Characteristik Group Frequency, Table and Charge, 2nd edition. John Whisley & Sons.
- Stengel, D. B., Connan, S., & Popper, Z. A. (2011). Alga chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advance*, 29, 483-501. DOI:10.1016/j.biotechadv.2011.05.016
- Supratman, U. (2010). Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Metoda Spektroskopi untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Widya Padjadjaran. 404 hal. <http://kin.perpusnas.go.id/DisplayData>.

FIGURE AND TABLE TITLES

Figure 1 The process of extraction and isolation of pure compounds of ethyl acetate fraction of *S. crassifolium*

Figure 2 Analysis on column chromatography (F1-F8); Stationary phase: silica G 60 F254, n-hexane motion phase: EtOA (9:1) observed under UV lamps 254 and 365 nm after spraying with H₂SO₄ (in 10% methanol) and DPPH (in 0.05% methanol)

Figure 3 TLC analysis on column chromatography (F1-F8); Stationary phase: silica G 60 F254 S, n-hexane motion phase: EtOA (9:1) observed under UV lamps 254 and 365 nm after spraying with H₂SO₄ (in 10% methanol) and DPPH (in 0.05% methanol)

- Figure 4 TLC analysis on column chromatography (F1-F8); Stationary phase: Silica G G 60 F254S, motion phase: *n*-hexane-EtOAc (9:1) observed under UV lamps 254 and 365 nm, after spraying with H₂SO₄ (in 10% methanol)
- Figure 5 Pure compound infrared spectrum (FEaSar)
- Figure 6 Spectrum of ¹³C-NMR pure compounds (125 MHz in methanol-D4)
- Figure 7 Spectrum of ¹³C-NMR pure compound compounds (125 MHz in methanol-D4)
- Figure 8 Spectrum ¹H-NMR pure compound (FEaSar) (500 MHz in methanol-D4)
- Figure 9 Fragments of pure compounds (FEaSar)
- Figure 10 Suspected pure compound (FEaSar)
- Figure 11 Methyl oleic structure
- Figure 12 Structure of *S. crassifolium* pure compound (FEaSar)
- Figure 13 Mass spectrum of *S. crassifolium* pure compounds (FEaSar)
- Table 1 Column partitioning of *S. crassifolium* seaweed methanol extract using various solvents
- Table 2 Interpretation of the infrared spectrum of pure compounds (FEaSar)
- Table 3 Chemical shift data of ¹H-, ¹³C- and 2D-NMR compounds (FEaSar)
- Table 4 Data on ¹H- and ¹³C-NMR compounds 1 (FEaSar) and methyl oleate
- Table 5 Fucoxanthin, carotenoid levels, and antioxidant activity (DPPH) of *S. crassifolium*