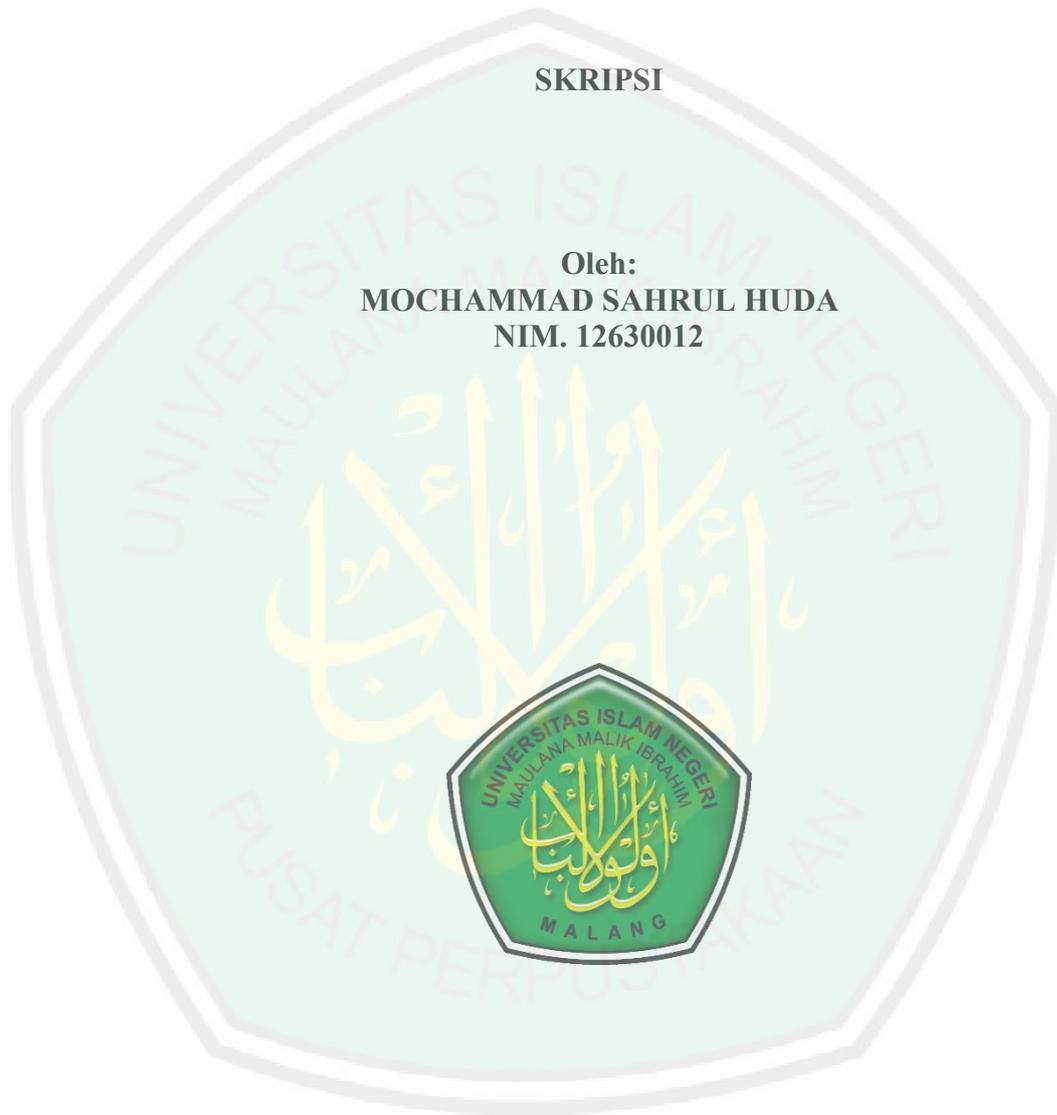


**EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AKTIF  
DENGAN VARIASI PENGERINGAN ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*)  
PANTAI WONGSOREJO BANYUWANGI**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MOCHAMMAD SAHRUL HUDA**  
NIM. 12630012



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2019**

**EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AKTIF  
DENGAN VARIASI PENGERINGAN ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*)  
PANTAI WONGSOREJO BANYUWANGI**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MOCHAMMAD SAHRUL HUDA**  
NIM. 12630012

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2019**

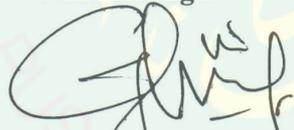
**EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AKTIF  
DENGAN VARIASI PENGERINGAN ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*)  
PANTAI WONGSOREJO BANYUWANGI**

SKRIPSI

Oleh:  
**MOCHAMMAD SAHRUL HUDA**  
NIM. 12630012

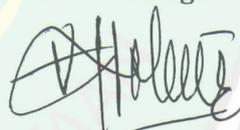
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 18 Juni 2019

Pembimbing I



**A. Ghanaim Fasya, M.Si**  
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II



**Nur Aini, M.Si**  
NIP. 19840608 201903 2 009

Mengetahui,  
Ketua Jurusan



**Elok Kamillah Hayati, M.Si**  
NIP. 19790620 200604 2 002

**EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AKTIF  
DENGAN VARIASI PENGERINGAN ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*)  
PANTAI WONGSOREJO BANYUWANGI**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MOCHAMMAD SAHRUL HUDA**  
NIM. 12630012

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 18 Juni 2019

Penguji Utama : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P  
NIP. 19750410 200501 2 009

(.....)

Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010

(.....)

Sekretaris Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1 002

(.....)

Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si  
NIP. 19840608 201903 2 009

(.....)



Mengesahkan,  
Ketua Jurusan

Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mochammad Sahrul Huda

NIM : 12630012

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Aktif dengan Variasi Pegeringan Ekstrak Alga Merah *Eucheuma cottonii* Pantai Wongsorejo Banyuwangi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yang membuat pernyataan

Malang, 20 Juni 2019



M. SAHRUL HUDA  
NIM.12630012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah senantiasa penulis haturkan kepada Allah Swt yang telah melimpahkan segala Rahmat serta kasih sayang-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “**Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Aktif dengan Variasi Pengeringan Alga Merah *Eucheuma cottonii* Pantai Wongsorejo Banyuwangi**” tepat waktu tanpa ada halangan yang berarti.

Laporan hasil penelitian ini disusun berdasarkan apa yang akan penulis lakukan selama penelitian. Laporan hasil penelitian ini dapat tersusun dengan baik berkat bantuan dari pihak-pihak yang telah memberikan bimbingan serta dukungan dalam bentuk apapun. Oleh sebab itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua dan kedua saudara yang tidak pernah berhenti melantunkan doa kebaikan, nasihat, dan dukungan moril maupun materil kepada penulis.
2. Bapak A. Ghanaim Fasya, M. Si, selaku dosen pembimbing yang telah mengarahkan dan memberikan masukan dalam penulisan laporan penelitian ini.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M. Si, selaku dosen konsultan yang telah banyak memberikan kesempatan berdiskusi, koreksi, dan bimbingan terhadap penulisan laporan hasil penelitian ini.
4. Ibu Akyunul Jannah, M.P. selaku dosen penguji penelitian yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan dan memberi masukan dalam menyelesaikan penelitian ini.

5. Ibu Nur Aini, M. Si, selaku dosen pembimbing agama yang telah mengarahkan dan membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Teman-teman Jurusan Kimia Angkatan 2012 dan 2015 yang selalu memotivasi penulis dalam proses menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.
7. Semua pihak yang telah mendoakan dan membantu penulis dalam penyelesaian laporan hasil penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kekeliruan dalam penulisan laporan hasil penelitian ini. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun agar dalam penulisan selanjutnya dapat lebih baik lagi. Akhirnya penulis mengucapkan terimakasih atas segala dukungan dan bantuan sehingga laporan hasil penelitian ini dapat tersusun dengan baik.

Malang, 15 Mei 2019

Penyusun

## DAFTAR ISI

|  |     |
|--|-----|
| HALAMAN PENGANTAR.....                   | i   |
| HALAMAN PERSETUJUAN.....                 | ii  |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                  | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI..... | iv  |
| KATA PENGANTAR.....                      | v   |
| DAFTAR ISI.....                          | vii |
| DAFTAR GAMBAR.....                       | xi  |
| DAFTAR TABEL.....                        | x   |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                     | xi  |
| ABSTRAK.....                             | xii |

### BAB I PENDAHULUAN

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 1.1 Latar Belakang.....  | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 5 |
| 1.3 Tujuan.....          | 5 |
| 1.4 Batasan Masalah..... | 5 |
| 1.5 Manfaat.....         | 6 |

### Bab II TINJAUAN PUSTAKA

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 2.1 Alga Merah.....                | 7  |
| 2.2 Metode Pengeringan.....        | 9  |
| 2.3 Ekstraksi.....                 | 11 |
| 2.4 Antioksidan.....               | 12 |
| 2.5 Uji Aktivitas Antioksidan..... | 13 |
| 2.6 Uji Fitokimia.....             | 17 |
| 2.6.1 Alkaloid.....                | 17 |
| 2.6.2 Flavonoid.....               | 19 |
| 2.6.3 Steroid dan Terpenoid.....   | 20 |

### Bab III METODOLOGI

|   |    |
|---|----|
| 3.1 Pelaksanaan Penelitian.....                       | 22 |
| 3.2 Alat dan Bahan.....                               | 22 |
| 3.2.1 Alat.....                                       | 22 |
| 3.2.2 Bahan.....                                      | 22 |
| 3.3 Rancangan Penelitian.....                         | 22 |
| 3.4 Tahapan Penelitian.....                           | 23 |
| 3.5 Metode Penelitian.....                            | 24 |
| 3.5.1 Preparasi Sampel.....                           | 24 |
| 3.5.2 Penentuan Kadar Air dalam Sampel.....           | 24 |
| 3.5.3 Penentuan Kadar Garam.....                      | 25 |
| 3.5.4 Ekstraksi dan Maserasi.....                     | 25 |
| 3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH..... | 26 |
| 3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....     | 26 |
| 3.5.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....         | 26 |
| 3.5.7 Pengujian Senyawa Aktif pada Sampel.....        | 28 |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.5.7.1 Uji Flavonoid.....                                     | 28        |
| 3.5.7.2 Uji Steroid/Triterpenoid.....                          | 28        |
| 3.5.7.3 Uji Alkaloid.....                                      | 28        |
| 3.5.8 Analisa Data.....  | 28        |
| <b>Bab IV PEMBAHASAN</b>                                       |           |
| 4.1 Preparasi Sampel.....                                      | 30        |
| 4.2 Analisa Kadar Air.....                                     | 32        |
| 4.3 Analisa Kadar Garam.....                                   | 34        |
| 4.4 Ekstraksi Maserasi.....                                    | 36        |
| 4.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....                             | 39        |
| 4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....                | 39        |
| 4.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....                    | 41        |
| 4.6 Uji Kandungan Metabolit Sekunder.....                      | 44        |
| 4.7 Pemanfaatan Alga Merah Ditinjau dari Perspektif Islam..... | 49        |
| <b>Bab V PENUTUP</b>   |           |
| 5.1 Kesimpulan.....  | 52        |
| 5.2 Saran.....   | 52        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>                                     | <b>54</b> |
| <b>LAMPIRAN-LAMPIRAN.....</b>                                  | <b>58</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 2.1 Alga Merah <i>Eucheuma cottonii</i> basah.....   | 9  |
| Gambar 2.2 Struktur DPPH Radikal Bebas.....                 | 16 |
| Gambar 2.3 Reaksi Uji Meyer.....                            | 18 |
| Gambar 2.4 Reaksi Uji Dagendrof .....                       | 18 |
| Gambar 2.5 Struktur Flavonoid.....                          | 19 |
| Gambar 2.6 Reaksi antara Flavonoid.....                     | 19 |
| Gambar 2.7 Reaksi antara Senyawa Triterpenoid.....          | 20 |
| Gambar 4.1 Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....             | 40 |
| Gambar 4.2 Hasil Spektrum Sampel Kering Angin.....          | 46 |
| Gambar 4.3 Hasil Spektrum Sampel Kering Oven.....           | 47 |
| Gambar 4.4 Hasil Spektrum Sampel Kering Jemur.....          | 47 |
| Gambar 4.5 Hasil Spektrum Sampel <i>Freeze Drying</i> ..... | 48 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 4.1 Tabel Hasil Uji Kadar Air .....                          | 32 |
| Tabel 4.2 Tabel Hasil Uji Kadar Garam.....                         | 34 |
| Tabel 4.3 Tabel Hasil Presentase Rendemen .....                    | 38 |
| Tabel 4.4 Tabel Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan UV-Vis..... | 42 |
| Tabel 4.5 Tabel Hasil Uji Reagen Fitokimia.....                    | 45 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| Lampiran 1 Diagram Alir ..... | 59 |
| Lampiran 2 Perhitungan .....  | 64 |
| Lampiran 3 Dokumentasi .....  | 85 |



## ABSTRAK

Huda, M.S. 2019. Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Aktif dengan Variasi Pengeringan Alga Merah *Eucheuma cottonii* Pantai Wongsorejo Banyuwangi. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si, Konsultan: Rachmawati Ningsih, M.Si.

**Kata kunci:** *Eucheuma cottonii*, variasi pengeringan, spektrofotometri UV-Vis,  $EC_{50}$

---

*Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis alga merah yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan seperti sebagai antioksidan, toksisitas, dan sebagai antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai rendemen dan nilai aktivitas antioksidan dari sampel *E. cottonii* yang dikeringkan dengan menggunakan empat metode pengeringan yang berbeda.

Alga merah *E. cottonii* yang digunakan dalam penelitian ini, dikeringkan dengan beberapa metode pengeringan seperti metode kering angin, kering oven, kering jemur dan *freeze drying*. Hasil pengeringan alga merah *E. cottonii* akan dimaserasi menggunakan pelarut metanol sampai diperoleh ekstrak pekat masing masing. Kemudian, masing-masing ekstrak pekat akan diukur nilai rendemen, kadar air, dan kadar garamnya. Selanjutnya, setiap ekstrak akan dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) sampai diperoleh nilai  $EC_{50}$  (*efficient concentration*) untuk setiap hasil ekstrak. Terakhir, setiap ekstrak sampel akan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian diperoleh rendemen dari ekstrak sampel kering *freeze drying* sebesar 14,2%, kering jemur sebesar 13,7%, kering oven sebesar 10,9% dan kering angin sebesar 8,6%. Nilai  $EC_{50}$  sampel kering angin yang tinggi yaitu sebesar  $EC_{50} = 5,1 \times 10^2$  ppm, menunjukkan bahwa metode kering angin dapat menjaga senyawa metabolit sekunder dalam sampel tidak rusak dan metode ini dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut.

## ملخص البحث

محمد شهر الهدى. 2019. محلا صة وتجربة الحركة المضادة للاكسدة المركبات النشطة بتغير تجفيف الطحالب الحمراء *Eucheuma cottonii* ، الشاطئ وغسوارجو بانيوالجي . مؤدب الأول: أ. غانم ففشي ، الماجستير مؤدب الثاني: نور عيني ، الماجستير ، ستشارالأول: رحمواتي نغسه ، الماجستير

كلمات البحث: *Eucheuma cottonii*, EC<sub>50</sub>، تباين التجفيف ، طيف الأشعة فوق البنفسجية،

أوشيوما كوتوني هو نوع واحد من الطحلب الأحمر الذي يمكن استخدامها دواء مثل المواد المضادة للأكسدة، والسمية، والمضادات الحيوية. ويهدف هذا البحث ليعلم تحديد قيمة الغلة وقيمة النشاط المضاد للأكسدة من عينات *E. Cottonii* التي تم نشرها باستخدام أربع طرق تجفيف مختلفة.

الطحالب الحمراء *E. Cottonii* المستخدمة في هذه الدراسة، المجففة مع بعض طرق التجفيف مثل طريقة الرياح الجافة، فرن جاف، تجفيف الجافة وتحميد التجفيف. نتيجة التجفيف من الطحالب الحمراء *E. Cottonii* ، سوف تلبين كائن بسبب السائل باستخدام مذيب الميثانول حتى يتم الحصول على مقتطفات الفرد المركزة. وبعد ذلك، سيتم قياس كل من المستخلصات المركزة قيمة الغلة، ومحتوى الرطوبة، ومحتوى الرطوبة. وعلاوة على ذلك، سيتم إجراء أي مقتطفات في اختبار النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة-1.1 DPPH ثنائي الفينيل-2 (Picrylhydrazil)-حتى يتم الحصول على القيمة (EC<sub>50</sub> التركيز الفعال) لكل نتيجة استخراج. وأخيراً، سيتم تحديد كل مستخلص عينة باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis.

نتائج البحث التي تم الحصول عليها من عينة استخراج عينات التجفيف الجاف استخراج 2،14،٪، تجفيف جاف من 7،13،٪، فرن جاف بنسبة 9،10،٪ والرياح الجافة بنسبة 56،8،٪. قيمة EC<sub>50</sub> للعينة الجافة الرياح العالية هي 509،2 = EC<sub>50</sub> جزء في المليون، مما يشير إلى أن طريقة الرياح الجافة يمكن أن تبقى مركبات المستقلبات الثانوية في العينة غير التالفة ويمكن استخدام هذه الطريقة لمزيد من البحث .

## ABSTRACT

Huda, M.S. 2019. Extraction and Test of Antioxidant Activity of Active Compounds by Drying Variations of Red Algae *Eucheuma cottonii* Wongsorejo Banyuwangi Beach. Advisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Sc; Advisor II: Nur Aini, M.Sc., Consultant: Rachmawati Ningsih, M.Si.

**Keywords:** *Eucheuma cottonii*, variation of drying, UV-Vis spectrophotometry,  $EC_{50}$

*Eucheuma cottonii* is one type of red algae that can be utilized as medicinal ingredients such as antioxidants, toxicity, and an antibiotic. This study was conducted to determine the yield value and antioxidant activity value of the *E. cottonii* samples that were dried using four different drying methods.

Red algae of *E. cottonii* used in this study were dried with several drying methods such as wind drying, oven drying, dry drying and freeze drying method. The drying results will be macerated using methanol solvent until the each of concentrated extracts are obtained. Then, each concentrated extracts will be measured in yield value, water content and salinity. Furthermore, each extracts will be conducted in the antioxidant activity test using the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) until the efficient concentrations are obtained. Finally, each extract samples will be identified using a UV-Vis spectrophotometer.

The results of the research obtained that the yield of dry extract sample using freeze drying, dry drying, oven drying and wind drying were 14.2; 13.7; 10.9; and 8.56% respectively. The  $EC_{50}$  value of high wind drying sample is equal to  $EC_{50} = 509.2$  ppm, indicating that the wind drying method can keep secondary metabolites compounds from being damaged and this method can be used for further research.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Laut merupakan salah satu ekosistem yang dikenal dengan keanekaragaman biotanya baik berupa tumbuhan atau hewan. Salah satu biota laut yang berpotensi sebagai bahan untuk dijadikan sebagai obat adalah rumput laut (alga). Alga merupakan jenis tumbuhan laut yang dapat ditemukan di hampir seluruh perairan Indonesia dan memiliki kandungan beberapa senyawa aktif berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya. Menurut Istini dan Suhaimi (1998) selain sebagai bahan makanan, minuman, dan obat-obatan, beberapa bahan olahan alga seperti agar-agar, kerajinan, dan alginat merupakan yang paling penting dalam bidang industri.

Firman Allah dalam al-Qur'an surat an Nahl ayat 14:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِنَآكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَنَسَخَّرْجُوا مِنْهُ حَلِيَّةً نَلْبَسُوهَا وَتَرَى الْفَالِكَ  
مَوَآخِرَ فِيهِ وَلَيَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

“Dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur”.

Lafadz *sakhara al-bahra* menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan kepada hambanya laut sebagai sumberdaya alam yang mempunyai banyak manfaat yang dapat digunakan oleh hambanya (Asy-Syanqithi, 2007). Dalam firman di atas, Allah SWT juga memerintahkan untuk memakan (*li ta'kulu*), mengeluarkan (*tastakhriju*), melihat (*wa taraa*) dan mencari (*li tabtaghu*) supaya manusia bisa mengambil manfaat sumberdaya laut. (Al-Qurtubi, 2008). Dalam

ayat tersebut memakan apa yang ada di laut baik hewan maupun tumbuhan merupakan kenikmatan yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia agar kita bersyukur. Oleh karena itu, hasil laut berupa hewan maupun tumbuhan termasuk alga yang ketika dimakan pasti memiliki manfaat bagi tubuh. Manfaat inilah yang sebagian besar masih belum diketahui dan dengan potensi lautnya yang melimpah, Indonesia merupakan salah satu negara yang seharusnya mampu untuk menggali potensi tersebut.

Alga digolongkan menjadi 5 kelompok oleh para ahli dan salah satunya adalah *Rhodophyta* (alga merah). Alga jenis ini merupakan salah satu alga yang banyak ditemukan di perairan Indonesia dan sering digunakan dalam keidupan sehari-hari. Di Indonesia, alga merah dapat dibagi menjadi beberapa jenis diantaranya *Eucheuma spinosum*, *Eucheuma edule*, *Eucheuma cottonii* (Junaidi, 2004). Rasyid (2004) menerangkan bahwa salah satu jenis alga merah yaitu *E. cottonii* dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat, antioksidan, dan antibiotik.

Masyarakat biasanya memanfaatkan rumput laut dalam keadaan segar. Namun untuk kepentingan ekspor, teknologi pengolahan paska panen perlu diperhatikan. Hal ini berkaitan dengan mutu rumput laut. Salah satu teknik pengolahan rumput laut paska panen menggunakan metode pengawetan yaitu dengan cara pengeringan. Kelebihan dari metode pengeringan yaitu bahan menjadi lebih awet dan volume bahan menjadi lebih kecil sehingga mudah diangkut. Kendati demikian metode pengeringan mempunyai kerugian yaitu mempengaruhi bentuk, sifat fisik, dan kimia serta menurunkan mutu. Selama proses pengeringan pigmen rumput laut dan klorofil akan terdegradasi menjadi feofitin (Merdekawati, 2009). Menggunakan metode variasi pengeringan dan

metode KLT Densitometri untuk menganalisis kadar flavonoid herba sambiloto, Utomo (2009) menerangkan bahwa kadar flavonoid total herba sambiloto dengan pengeringan sinar matahari langsung sebesar 24%, pengeringan dengan kain hitam 33,3% dan pengeringan dengan oven sebesar 29%.

Bioaktivitas sangat dipengaruhi oleh kandungan golongan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya, sedangkan untuk mendapatkan senyawa kimia yang bersifat aktif tersebut dipengaruhi oleh metode pemisahan meliputi cara ekstraksi dan pelarut yang digunakan (Albuntana, dkk. 2011). Metanol merupakan salah satu pelarut yang sering digunakan untuk proses ekstraksi bahan alam karena mudah didapat dalam jumlah banyak dan dapat mengekstrak hampir sebagian besar senyawa aktif yang terkandung dalam bahan alam. Miftahurrahmah (2013) melaporkan bahwa dengan menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak *E. spinosum* didapatkan rendemen sebesar 16,25% dari 100 g sampel kering.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menunda terjadinya proses auto-oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar and Rossell, 1990). Dalam tubuh, senyawa ini berfungsi untuk menghentikan atau memutus reaksi berantai yang disebabkan oleh adanya radikal bebas. Senyawa antioksidan yang digunakan saat ini kebanyakan berupa antioksidan sintetik seperti *buthylatedhydroxytoluena* (BHT) dan *buthylatedhydroxyanisole* (BHA) yang digunakan dalam industri obat-obatan maupun makanan dan minuman. Antioksidan sintetik ini, berpotensi menimbulkan efek samping pada metabolisme dan reproduksi karena sifatnya yang karsinogenik (Hanani, 2005). Untuk itu, perlu dikembangkan cara memperoleh antioksidan alami yang tidak berbahaya bagi tubuh dengan memanfaatkan sumber daya alam yang masih jarang digunakan

seperti biota laut sekaligus sebagai upaya untuk meningkatkan nilai ekonomis hasil laut terutama teripang pasir yang cukup melimpah di Indonesia.

Alga merah (*E. cottonii*) yang diperoleh dari pantai Banyuwangi Jawa Timur akan dikeringkan dengan beberapa variasi pengeringan seperti pengeringan dibawah sinar matahari langsung, pengeringan dengan diangin-anginkan tanpa sinar matahari, pengeringan menggunakan oven, dan pengeringan menggunakan *freeze drying*. Setelah itu, hasil dari masing-masing pengeringan akan diekstrak menggunakan pelarut metanol untuk memperoleh ekstrak kasar alga merah. Pelarut metanol merupakan pelarut dengan titik didih cukup rendah sehingga mudah diuapkan, serta memiliki harga yang terjangkau dan bersifat inert. Hasil ekstraksi maserasi akan dilakukan uji senyawa aktif alga merah dan antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Basir (2017) melakukan penelitian menggunakan alga hijau *Halimeda gracilis* yang diekstrak menggunakan pelarut metanol dan memperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 290,49 ppm pada uji antioksidan menggunakan metode DPPH. Uji senyawa aktif alga merah merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa aktif dalam alga merah itu sendiri seperti flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin.

Berdasarkan uraian di atas maka dalam penelitian kali ini akan dilakukan isolasi senyawa aktif yang terdapat dalam alga merah (*E. cottonii*). Alga merah akan dikeringkan menggunakan beberapa metode pengeringan dan kemudian akan dilakukan isolasi. Isolasi dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut polar berupa metanol. Selanjutnya, ekstrak dari masing-masing variasi pengeringan akan dilakukan uji antioksidan dengan menggunakan metode DPPH

dan spektrofotometri UV-Vis. Dilanjutkan dengan identifikasi senyawa aktif menggunakan uji reagen.

### **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana nilai kadar air, kadar garam, dan rendemen hasil ekstraksi pelarut metanol dari setiap variasi metode pengeringan alga merah (*E. cottoni*)?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak metanol dengan variasi pengeringan alga merah (*E. cottoni*) Pantai Wongsorejo Banyuwangi yang diuji dengan metode DPPH?

### **1.3 Tujuan**

1. Untuk mengetahui nilai kadar air, kadar garam, dan rendemen hasil ekstraksi pelarut metanol dari setiap variasi pengeringan alga merah (*E. cottoni*)
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol dengan variasi pengeringan alga merah (*E. cottoni*) Pantai Wongsorejo Banyuwangi

### **1.4 Batasan Masalah**

1. Alga merah (*E. cottonii*) yang digunakan berasal dari pantai Banyuwangi
2. Variasi pengeringan alga merah yang digunakan adalah pengeringan dibawah sinar matahari langsung, pengeringan dengan cara diangin-anginkan, pengeringan dengan oven dan pengeringan *freeze drying*
3. Pengujian sampel sebelum ekstraksi meliputi pengujian kadar air dan kadar garam
4. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut polar berupa metanol

5. Metode yang digunakan untuk uji antioksidan adalah metode DPPH

### **1.5 Manfaat**

Secara khusus penelitian ini bermanfaat bagi saya untuk menambah ilmu dan pengalaman di bidang oraganik terutama mengenai isolasi senyawa aktif dan pengujian toksisitas terhadap alga merah. Secara umum penelitian ini bermanfaat bagi masyarakat sebagai informasi bahwa alga merah merupakan biota laut yang memiliki nilai ekonomi tinggi karena manfaat dari teripang itu sendiri.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

Manusia diperintahkan untuk mempelajari dan memanfaatkan kekayaan alam yang telah Allah SWT ciptakan. Salah satu dari sekian banyak kekayaan alam yang telah Allah ciptakan yaitu laut. Laut merupakan salah satu sumber daya alam yang bisa dimanfaatkan oleh seluruh manusia dan tak ternilai harganya. Lautan merupakan suatu ekosistem yang kaya dengan sumber daya alam yang dapat dimanfaatkan untuk kemakmuran dan kesejahteraan manusia. Sebagaimana diketahui bahwa 70% permukaan bumi ditutupi oleh perairan/lautan dan lebih dari 90% kehidupan biomassa di planet bumi hidup di laut. Oleh karena itu lautan merupakan bagian penting dari kelangsungan hidup manusia, sebagaimana firman Allah Swt dalam surat (Al-Furqaan:53):

وَهُوَ الَّذِي مَرَجَ الْبَحْرَيْنِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ وَهَذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ وَجَعَلَ بَيْنَهُمَا بَرْزَخًا وَحِجْرًا  
مَّحْجُورًا ٥٣

*“Dan Dialah yang membiarkan dua laut mengalir (berdampingan); yang ini tawar lagi segar dan yang lain asin lagi pahit, dan Dia jadikan antara keduanya dinding dan batas yang menghalangi.*

Firman Allah SWT di atas menurut Ibnu Katsir yaitu *“Dan Dia-lah yang membiarkan dua laut mengalir (berdampingan); yang ini tawar lagi segar dan yang lain asin lagi pahit,”* yaitu Dia menciptakan dua air, tawar dan asin. Air tawar itu seperti sungai-sungai, mata air dan sumur-sumur. Dan ini adalah lautan yang manis, tawar lagi segar dan murni. Hal itu dikatakan oleh Ibnu Juraij dan dipilih oleh Ibnu Jarir. Makna ini tidak meragukan, karena di dalam alam ini tidak

ada lautan yang tenang yaitu tawar lagi segar. Allah Swt mengabarkan suatu fakta untuk menyadarkan hamba-Nya tentang nikmat nikmat-Nya kepada mereka agar mereka mensyukuri-Nya. Lautan yang tawar itulah yang mengalir di antara manusia yang Allah Ta'ala pisahkan diantara makhluk-Nya karena kebutuhan mereka kepada sungai-sungai dan mata air pada setiap tanah sesuai kebutuhan mereka dan kecukupan mereka bagi diri-diri dan tanah-tanah mereka.

Berdasarkan ayat di atas dapat ditemukan secara jelas betapa besarnya kekuasaan Allah Swt jika kita memikirkannya. Semua yang diciptakan-Nya tidak ada yang sia-sia, baik di langit maupun di bumi. Semua ciptaan Allah Swt mempunyai tujuan dan manfaat, seperti yang telah dijelaskan dalam al-Qur'an yaitu agar manusia dapat mengetahui dan memanfaatkannya. Ayat tersebut juga menjelaskan kepada kita tentang potensi kekayaan laut yang dapat dijadikan sebagai makanan yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, serta kemungkinan pengelolaan dan pemanfaatannya bagi keperluan manusia. Sumber daya alam bisa dikatakan bermanfaat setelah dirasakan atau digunakan oleh manusia. Salah satu sumber kekayaan laut yang dapat dimanfaatkan adalah Alga.

Alga atau lebih dikenal dengan rumput laut merupakan salah satu hasil perairan Indonesia yang sangat melimpah. Selain karena cara budidayanya yang mudah, alga juga diketahui memiliki banyak manfaat dan mudah untuk diolah. Alga merah (*Rhodophyceae*) mengandung pigmen merah fikoretrin yang memancarkan warna oranye dan pigmen biru fikosianin yang memancarkan warna merah tua (Atmadja, 2007). Salah satu jenis alga merah yang banyak ditemui adalah jenis *Euचेuma cottoni*.



Gambar 2.1 Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

*E. cottonii* merupakan salah satu jenis alga merah yang juga memiliki nama *Kappaphycus alvarezii* karena keraginan yang dihasilkan termasuk fraksi kappa-keraginan. Klasifikasi *E. cottonii* menurut Doty (1985) adalah sebagai berikut:

|         |                             |
|---------|-----------------------------|
| Kingdom | : Plantae                   |
| Divisi  | : Rhodophyta                |
| Kelas   | : Rhodophyceae              |
| Ordo    | : Gigartinales              |
| Famili  | : Solieracea                |
| Genus   | : <i>Eucheuma</i>           |
| Spesies | : <i>Eucheuma alvarezii</i> |

## 2.2 Metode Pengeringan

Pengeringan adalah proses pengeluaran air atau pemisahan air dalam jumlah yang relatif kecil dari bahan dengan menggunakan energi panas (Rachmawan, 2001). Pada pembuatan simplisia akan melewati tahap pengeringan, yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat

merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel, masih dapat bekerja, menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan pengeringan alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan alamiah dapat dikelompokkan menjadi pengeringan dengan sinar matahari langsung dan sinar matahari tidak langsung, yaitu dengan menutup kain hitam diatas bahan yang akan dikeringkan. Sedangkan pengeringan buatan dapat menggunakan lemari pengering atau oven (Depkes, 1985).

Faktor yang dapat mempengaruhi pengeringan suatu bahan adalah (Buckle et al, 1987):

1. Sifat fisik dan kimia dari bahan, meliputi bentuk, komposisi, ukuran, dan kadar air yang terkandung didalamnya.
2. Pengaturan geometris bahan. Hal ini berhubungan dengan alat atau media yang digunakan sebagai perantara pemindah panas.
3. Sifat fisik dari lingkungan sekitar alat pengering, meliputi suhu, kecepatan sirkulasi udara, dan kelembaban.
4. Karakteristik dan efisiensi pemindahan panas alat pengering.

Proses pengeringan juga harus memperhatikan suhu udara dan kelembaban. Suhu udara yang tinggi dan kelembaban udara yang relatif rendah dapat mengakibatkan air pada bagian permukaan bahan yang akan dikeringkan menjadi lebih cepat menguap. Hal ini dapat berakibat pada terbentuknya suatu lapisan yang tidak dapat ditembus dan menghambat difusi air secara bebas. Kondisi ini lebih dikenal dengan case hardening (Desrosier, 1988).

### 2.2.1 Metode Kering Angin

Pengeringan dengan diangin-anginkan merupakan salah satu metode pengeringan tradisional. Prinsip dari metode ini adalah dengan memanfaatkan laju aliran udara untuk mengurangi kadar air pada suatu sampel tanpa adanya pengaruh dari kenaikan suhu. Tujuan dari penggunaan metode kering angin adalah untuk menjaga senyawa metabolit sekunder dalam sampel yang ingin diekstrak agar tidak rusak akibat kenaikan maupun penurunan suhu. Kelemahan dari metode kering angin ini adalah waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan sampel yang bisa memakan waktu berhari-hari atau bahkan beberapa minggu tergantung dari jenis sampel dan kondisi awal sampel.

### 2.2.2 Metode Kering Oven

Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat (Muller *et al*, 2006), akan tetapi penggunaan suhu yang terlalu tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan sedang metode kering angin dianggap murah akan tetapi kurang efisien waktu dalam pengeringan simplisia (Pramono, 2006). Tamaheang (2017) menjelaskan bahwa alga merah memiliki kualitas yang lebih baik jika dikeringkan menggunakan *cabinet drying* selama 12 jam dengan kadar lemak yang tersisa sebesar 0,22% jika dibandingkan dengan alga merah yang dikeringkan di bawah sinar matahari langsung selama 24 jam dengan kadar lemak yang tersisa sebesar 1,22%.

### 2.2.3 Metode Kering Jemur

Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (*oven*) akan memberikan produk yang lebih baik. Selain itu, sinar matahari langsung dapat menurunkan kualitas dari komoditas dari bahan yang dikeringkan. Sinar atau cahaya dapat merusak kandungan vitamin dan warna bahan. Sinar ultra violet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan (Pramono, 2006).

### 2.2.4 Metode *Freeze Drying*

Pengeringan beku (*freeze drying*) adalah salah satu metode pengeringan yang mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan. *Freeze drying* memiliki beberapa keuntungan diantaranya dapat mempertahankan stabilitas produk (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur organoleptik lain), dapat mempertahankan stabilitas struktur bahan (pengkerutan dan perubahan bentuk setelah pengeringan sangat kecil), dapat menghambat aktivitas mikroba serta mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan gizi bahan pangan (Nofrianti, 2013)

Liofilisasi merupakan proses pengeringan beku dengan proses sublimasi dan pengurangan kadar air sampel (Barley, 2009). Banyak literatur menyebutkan, liofilisasi dikenal juga sebagai *freeze drying* (pengeringan beku). Idealnya, sampel dimasukkan ke nitrogen cair (-196 oC), tetapi proses ini dapat membentuk gas sehingga terjadi efek *Leidenfrost* (pengkristalan). Oleh karena itu, teknik liofilisasi menjadi penting untuk dilakukan. Prinsip dari teknik ini adalah

membekukan sampel secara cepat dengan kondisi vakum untuk menghindari terbentuknya kristal-kristal es yang dapat merusak sampel (Adams, 2015). Umumnya sampel yang dapat liofilisasi yaitu sampel seperti protein, mikroba, obat-obatan, plasma sel dan jaringan yang sensitif terhadap panas dan mudah rusak jika pengeringan dilakukan pada kondisi standar (Carpentier, 2007).

Manfaat penggunaan liofilisasi untuk pra-perlakuan sampel antara lain untuk (Adams, 2015):

- (1) penyimpanan jangka panjang dan distribusi,
- (2) pengurangan kerusakan akibat panas,
- (3) penurunan perubahan konsentrasi (salting out) dari protein,
- (4) penetapan stabilitas kadar air,
- (5) pengurangan denaturasi oksidatif,
- (6) penghambatan aktivitas mikroorganisme, dan
- (7) pencegahan penyusutan berlebihan dan perubahan penampilan suatu sampel

Adapun beberapa faktor yang mempengaruhi kestabilan sampel kering beku dari hasil liofilisasi yaitu kelembaban, temperatur, cahaya dan kadar oksigen.

### 2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain (Rahayu, 2009). Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa

komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sudjadi, 1986).

Faktor-faktor yang mempengaruhi terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu dan jenis pelarut yang digunakan (Priyatmoko, 2008). Pelarut yang digunakan tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut agar bahan dapat larut. Ada tiga jenis pelarut, yaitu pelarut polar, semi-polar dan non polar (Meydia, 2006). Prinsip pemilihan pelarut adalah *like dissolve like*, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar (Nugraheny, 2001).

Pemilihan pelarut juga didasarkan pada titik didihnya. Pelarut bertitik didih rendah akan hilang karena penguapan, sedangkan pada pelarut bertitik didih tinggi baru dapat dipisahkan pada suhu tinggi (Meydia, 2006). Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarnya. Semakin besar konstanta dielektrik, maka semakin polar pelarut tersebut (Pelczar dan Chan, 1988). Proses ekstraksi terdiri dari penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan tahap pemisahan. Perendaman yang dilakukan dengan cara maserasi (Priyatmoko, 2008).

## 2.4 Antioksidan

Tamat (2007) menjelaskan bahwa antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif dalam tubuh.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (donor elektron) atau reduktan/reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Tamat, dkk. (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan.

Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007). Di bidang kesehatan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah dan lain-lain (Tamat, dkk., 2007). Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).

## 2.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan di kelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *hydrogen atom transfer methods* (HAT) yaitu pergerakan atau pertukaran bersamaan dari proton dan elektron ( $\text{H}\cdot$ ) dalam satu

tahap kinetik dari satu gugus ke yang lainnya, contohnya seperti *oxygen radical absorbance capacity method* (ORAC) dan *lipid peroxidation inhibition capacity assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *electron transfer methods* (ET) yaitu perpindahan elektron (H) dari yang berpasangan dengan gugus menjadi tidak berpasangan atau sebaliknya, contohnya seperti *ferric reducing antioxidant power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *free radical scavenging assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *total oxidant scavenging capacity* (TOSC) yaitu mengukur kapasitas total penangkapan oksidasi untuk mengetahui aktivitas sebagai antioksidan dan *chemiluminescence* yaitu emisi cahaya (*luminescence*) sebagai hasil dari reaksi kimia, reaksi ini menghasilkan produk yang tidak stabil (membentuk radikal) dan akan mengalami kehilangan (radikal) supaya menghasilkan produk yang lebih stabil dan mengemisikan cahaya. (Badarinath, dkk., 2010).

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti, dkk., 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath, dkk., 2010).

Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-*

*diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada absorbansi maksimum sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).

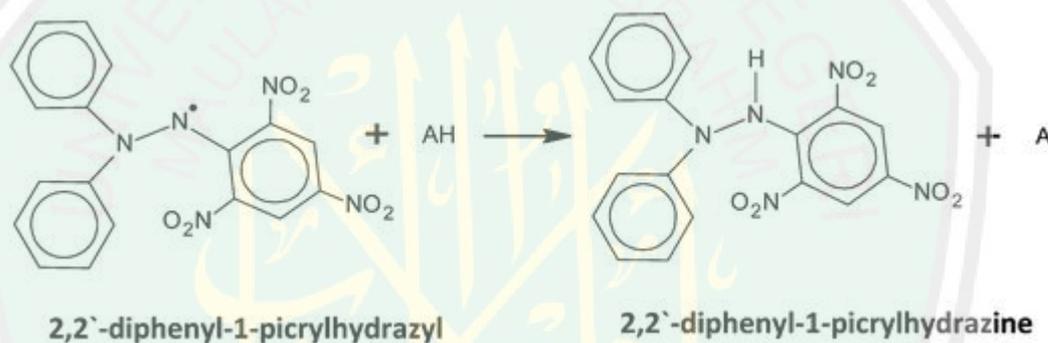
Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri UV-Vis. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai  $EC_{50}$  (*efficient concentration*).  $EC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $EC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $EC_{50}$  bernilai kurang dari 50 ppm, kuat jika bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika bernilai 150-200 ppm (Mardawati, dkk., 2008).

Menurut Mardiyah (2012) ekstrak alga merah *E. spinosum* yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah fraksi petroleum eter dengan nilai  $EC_{50}$  sebesar 12,65 ppm, nilai  $EC_{50}$  yang diperoleh menunjukkan fraksi petroleum eter memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena  $EC_{50} < 50$  ppm. Viswanathan (2014) melakukan uji aktivitas antioksidan pada alga *Amphiroa fragilissima* dengan pelarut metanol dan kloroform menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai  $EC_{50}$  50-70  $\mu\text{g/mL}$ , kemudian dilakukan uji fitokimia dan mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, diterpenoid, triterpenoid, dan alkaloid yang berperan sebagai antioksidan dan juga antikanker.

Kutsiyah (2012) juga melakukan uji aktivitas antioksidan pada alga merah *Eucheuma spinosum* dengan pelarut metanol menghasilkan nilai  $EC_{50}$  sebesar 114,3 ppm dan terdapat senyawa aktif triterpenoid yang diduga berperan sebagai antioksidan. Rudiyanto (2013) melakukan uji aktivitas antioksidan pada alga merah dengan menggunakan metode DPPH pada pelarut petroleum eter menghasilkan nilai  $EC_{50}$  sebesar 18,2 ppm.

Struktur DPPH radikal bebas dan DPPH yang telah bereaksi dengan antioksidan ditampilkan pada Gambar 2.2 (Molyneux, 2004).

Gambar 2.2 Struktur DPPH Radikal Bebas dan Radikal Bebas yang telah



bereaksi dengan Antioksidan (Molyneux, 2004).

Spektrofotometer *Ultraviolet Visible* (UV-Vis) merupakan spektrofotometer yang menggunakan sinar ultraviolet dan sinar tampak sebagai sumber radiasi cahaya yang dilengkapi detektor rangkaian diode serta dapat direkam oleh spektrum antara 200 nm sampai 800 nm secara simultan. Analisis kualitatif dengan spektrofotometer UV-Vis terbatas pada konfirmasi identitas senyawa, dengan menyamakan panjang absorpsi maksimumnya, absorptivitas, absorptivitas molar dalam pelarut dan pH tertentu, rasio absorban pada dua panjang gelombang absorpsi maksimum, dan spektrum perbedaan (*difference spectrum*) yang dibuat dengan dua larutan zat yang konsentrasinya sama tetapi pada dua pH yang berbeda. Sedangkan untuk analisis kuantitatif penggunaan

utamanya yaitu untuk menentukan kadar senyawa yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet sinar tampak dengan membandingkan absorban sampel terhadap absorban senyawa standar yang konsentrasinya diketahui, diukur pada kondisi larutan yang sama (Kosasih, 2004).

## 2.6 Uji Fitokimia

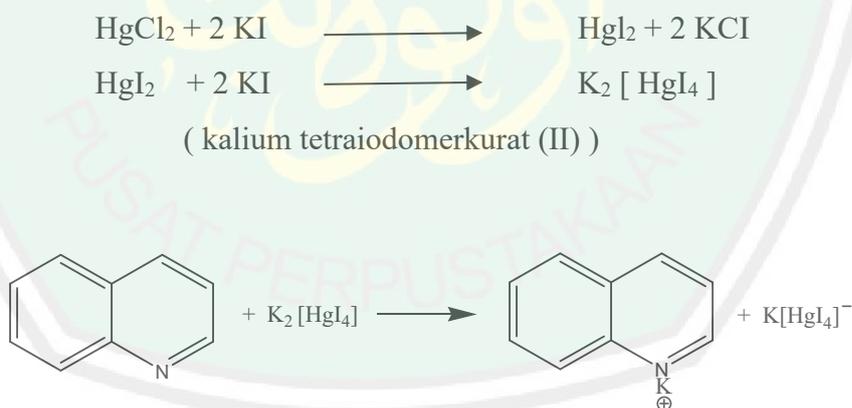
Uji fitokimia merupakan suatu uji kualitatif yang dilakukan untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam sampel. Selain dapat mendeteksi komponen bioaktif pada metabolit sekunder, uji fitokimia juga dapat mendeteksi komponen bioaktif pada metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional seperti protein dan peptida (Kannan, dkk., 2009).

### 2.6.1 Alkaloid

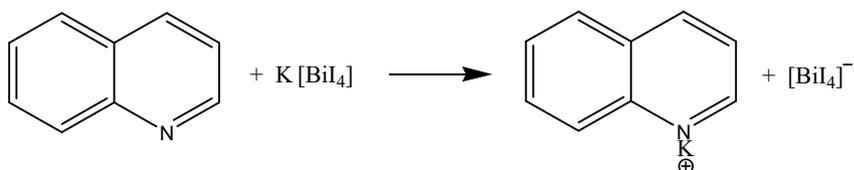
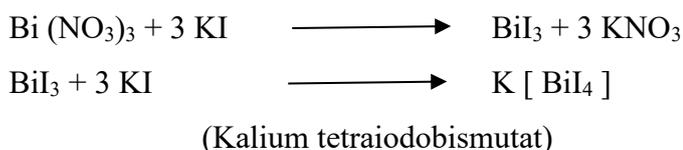
Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995). Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) dan

pereaksi Dragendroff (kalium tetraiodobismutat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid.

Reaksi pengendapan yang terjadi saat pengujian alkaloid dikarenakan adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion iod dalam pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer. Hal ini mengakibatkan terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi dragendroff karena nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $K^+$  yang merupakan ion logam dan terbentuk endapan putih kekuningan pada penambahan pereaksi mayer karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam  $K^+$  dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana, dkk., 2005; Sangi, dkk., 2008). Berikut adalah reaksi uji Mayer yang ditampilkan pada Gambar 2.3 dan reaksi Dragendorff yang ditampilkan pada Gambar 2.4.



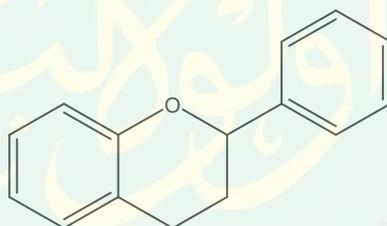
Gambar 2.3 Reaksi uji Meyer (Marliana, dkk., 2005)



Gambar 2.4 Reaksi uji Dragendorff (Sangi, dkk., 2008)

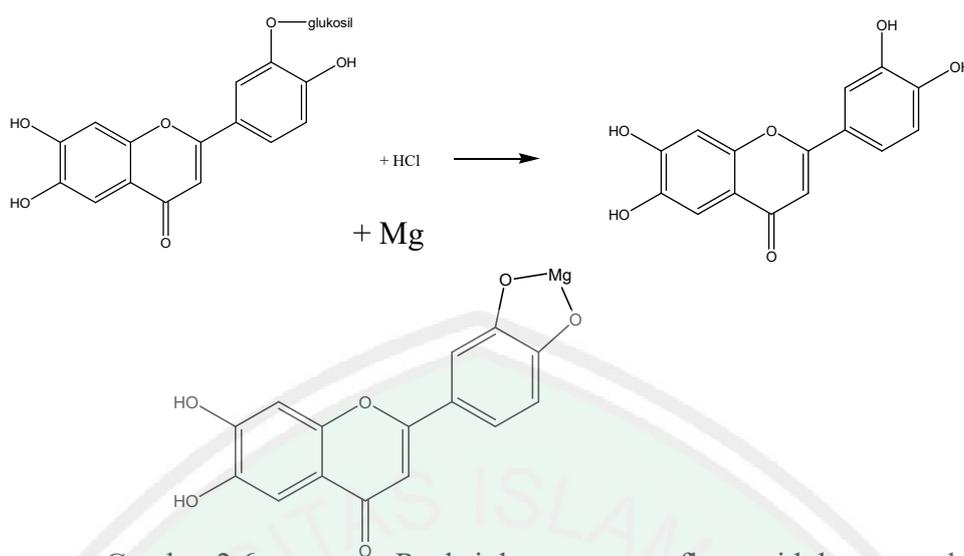
### 2.6.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa  $C_6-C_3-C_6$  yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus  $C_6$  (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai  $C_3$ , sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).



Gambar 2.5 Struktur flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga ketika direduksi dengan logam Mg dan HCl pekat. Adapun struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.5 dan reaksi antara flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat dijelaskan pada Gambar 2.6. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang sangat efektif digunakan sebagai antioksidan (Johnson, 2001).



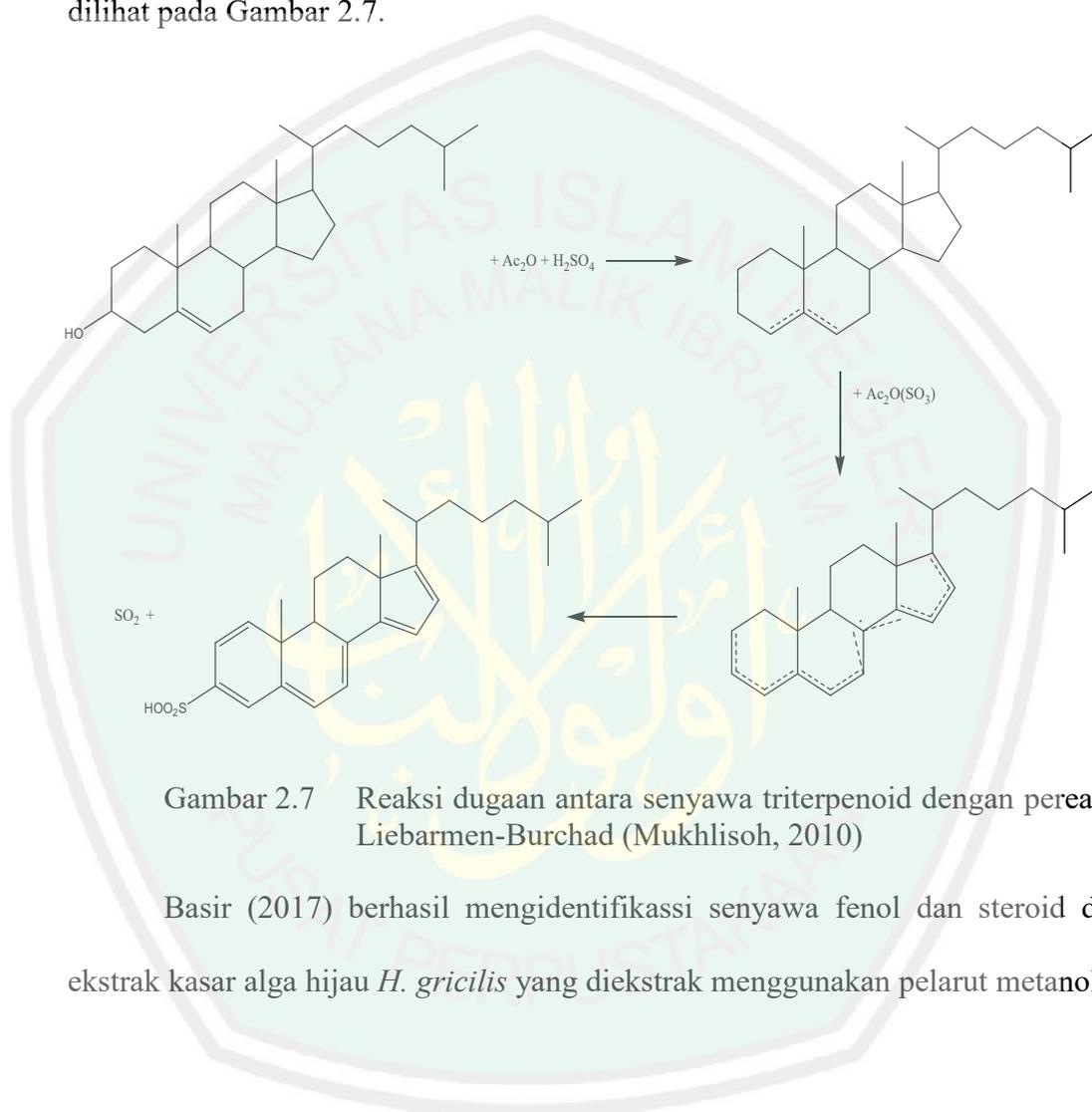
Gambar 2.6 Reaksi dugaan antara flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004).

### 2.6.3 Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987).

Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid (Harborne, 1987). Senyawa steroid dapat diklasifikasikan menjadi steroid dengan atom karbon tidak lebih dari 21 (steroid sederhana) dan steroid dengan atom karbon lebih dari 21 seperti sterol, sapogenin, alkaloid steroid, glikosida jantung dan vitamin D serta senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar untuk pembuatan obat (Hogiono, dkk., 1994).

Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mengidentifikasi adanya triterpenoid pada suatu sampel. Hasil positif triterpenoid ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi ungu (Wafa, 2012). Dugaan reaksi antara senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi dugaan antara senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Mukhlisoh, 2010)

Basir (2017) berhasil mengidentifikasi senyawa fenol dan steroid dari ekstrak kasar alga hijau *H. gricilis* yang diekstrak menggunakan pelarut metanol.

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan April 2019 di Laboratorium Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, timbangan analitik, seperangkat alat gelas, penyaring *buchner*, *shaker*, *rotary evaporator*, desikator, tabung reaksi, *vortex*, spektrofotometer UV-Vis.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah (*Eucheuma cottonii*) yang berasal dari pantai Banyuwangi, metanol p. a, akuades, HCl 2 N, asam sulfat, etanol, dan kloroform.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap. Tahap pertama yaitu pengeringan alga merah (*E. cottonii*) pantai Wongsorejo Banyuwangi dengan beberapa variasi yaitu pengeringan dibawah sinar matahari langsung, pengeringan tanpa sinar matahari langsung, pengeringan dengan oven dan pengeringan *free drying*.

Selanjutnya dilakukan uji kadar air dan kadar garam. Masing-masing sampel yang telah kering dihaluskan dan dimaserasi menggunakan metanol secara terpisah untuk mendapatkan ekstraknya. Hasil ekstraksi maserasi akan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak pekat masing-masing sampel *E. cottonii*. Kemudian masing-masing sampel dengan variasi konsentrasi akan diuji aktivitas antioksidanya menggunakan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Selanjutnya konsentrasi dengan aktivitas antioksidan tertinggi akan diukur panjang gelombangnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi yang digunakan untuk masing-masing sampel *E. cottonii* yaitu:

| Sampel         | Konsentrasi |
|----------------|-------------|
| M <sub>1</sub> | 10 ppm      |
| M <sub>2</sub> | 20 ppm      |
| M <sub>3</sub> | 30 ppm      |
| M <sub>4</sub> | 40 ppm      |
| M <sub>5</sub> | 50 ppm      |

Tahap kedua adalah uji senyawa aktif menggunakan metode deskriptif, yaitu metode yang dilakukan dengan cara mereaksikan ekstrak kasar alga merah *E. cottonii* dengan reagen tertentu untuk mengetahui apakah ekstrak kasar *E. cottonii* mengandung senyawa aktif yang diinginkan atau tidak.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Penentuan kadar air pada sampel
3. Penentuan kadar garam pada sampel

4. Ekstraksi sampel dengan metode maserasi
5. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH
6. Pengujian senyawa aktif pada sampel
7. Analisa data

### 3.5 Metode Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah alga merah jenis *E. cottonii* yang didapat dari pantai Banyuwangi. Sampel dibagi menjadi empat dan dikeringkan dengan cara yang berbeda antara lain kering jemur yaitu pengeringan dibawah matahari langsung dengan cara sampel dipanaskan dibawah sinar matahari langsung selama 3 hari, kering angin yaitu pengeringan dengan cara sampel hanya diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung selama 8 hari, kering oven yaitu pengeringan dengan dengan cara memanaskan sampel menggunakan oven pada suhu sekitar 40 °C selama 3 jam, dan kering *freeze drying* yaitu pengeringan dengan menggunakan instrument *freeze drying* yang dimana sampel harus dibekukan terlebih dahulu pada suhu -2 °C selama 24 jam. Setelah setiap sampel kering, sampel dihaluskan dan siap untuk dilakukan identifikasi lebih lanjut.

#### 3.5.2 Penentuan Kadar Air pada Sampel

Pada penentuan kadar air, cawan porselen disiapkan, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Kemudian 5 gr

sampel dimasukkan dalam cawan porselen dan dimasukkan dalam oven pada suhu 105 °C selama ±15 menit. Sampel kemudian disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang, sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan.

Kadar air dapat dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Dimana:

a = Bobot cawan kosong

b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

### 3.5.3 Penentuan Kadar Garam

Sebanyak 5 gram sampel dimasukkan ke dalam *beaker glass* kemudian ditambahkan dengan 10 mL akuades, dan diaduk selama 5 menit. Ekstraksi diulangi sebanyak 5 kali pada sampel agar garam dapat larut dalam akuades. Sampel kemudian disaring menggunakan penyaring *vacuum buchner* agar penyaringan maksimal. Garam yang sudah terekstrak ke dalam pelarut akuades diukur kadarnya menggunakan salinometer.

### 3.5.4 Ekstraksi dan Maserasi

Untuk setiap variasi pengeringan, sampel yang berbentuk serbuk ditimbang sebanyak 50 g dan dilarutkan dengan pelarut sebanyak 250 mL selama 24 jam sambil dishaker selama 5 jam. Filtrat yang diperoleh disaring dan ampasnya dilarutkan lagi dengan pelarutnya. Perlakuan ini dilakukan sampai terjadi

perubahan warna pada filtrat dari warna pekat menjadi tak berwarna (bening). Filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu. Pada tahap ini dilakukan ekstraksi maserasi dengan perlakuan yang sama dengan menggunakan komposisi pelarut yang lain. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C sampai diperoleh ekstrak pekat masing-masing komposisi pelarut. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan persamaan:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

### 3.5.5 Uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH

#### 3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 3 mL metanol lalu didiamkan  $\pm$  10 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Dicari  $\lambda_{\text{maks}}$  larutan dan dicatat hasil pengukuran  $\lambda_{\text{maks}}$  untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk., 2010).

#### 3.5.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

- a) Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut yang digunakan pada ekstrak sebanyak 3 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan  $\lambda_{\text{maks}}$  yang telah didapatkan.

- b) Sampel dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi, kemudian setiap tabung reaksi diisi dengan 3 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH sebanyak 1 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulang sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet sampai tanda batas untuk mengukur absorbansinya pada  $\lambda_{maks}$ . Data absorbansi yang diperoleh pada tiap konsentrasi untuk masing-masing ekstrak dihitung nilai % aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan 3.3 :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots (3.4)$$

Keterangan:  $A_0$  = Absorbansi kontrol  
 $A_1$  = Absorbansi DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan sampel

Setelah didapatkan % aktivitas antioksidan, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai  $EC_{50}$  nya dengan menggunakan persamaan regresi non linear pada program “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”.

### 3.5.6 Pengujian Senyawa Aktif pada Sampel

#### 3.5.6.1 Uji Flavonoid

Ekstrak *E. cottonii* dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Kemudian ditambah logam Mg dan 0,5 mL HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid.

### 3.5.6.2 Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambah dengan 0,5 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat, kemudian ditambah dengan 1-2 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

### 3.5.6.3 Uji Senyawa Alkaloid

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

### 3.5.7 Analisa Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi untuk setiap konsentrasi. Setelah mendapatkan data persen (%) aktivitas antioksidan pada masing-masing absorbansi sampel dan pembanding, kemudian dilakukan perhitungan nilai  $\text{EC}_{50}$  dengan menggunakan persamaan regresi non linier yang menyatakan hubungan antara log konsentrasi dengan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai  $\text{EC}_{50}$  yang diperoleh kemudian dibandingkan dan yang menghasilkan nilai  $\text{EC}_{50}$  paling

rendah memiliki kemampuan aktivitas antioksidan terbaik. Identifikasi menggunakan UV-Vis menghasilkan data berupa spektrum dan panjang gelombang maksimum. Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan memperhatikan spektrum dan panjang gelombang maksimum yang diperoleh.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ekstraksi dan uji aktivitas antioksidan senyawa aktif dengan variasi pengeringan alga merah (*Eucheuma cottonii*) dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu preparasi sampel, penentuan kadar air, penentuan kadar garam, ekstraksi dengan metode maserasi. Hasil ekstrak kasar dengan pelarut metanol diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH kemudian dilanjutkan dengan uji fitokimia menggunakan reagen dan terakhir dilakukan identifikasi menggunakan UV-Vis. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa alga merah yang dikeringkan dengan 4 jenis pengeringan berbeda yaitu, kering angin, kering oven, kering tani (sinar matahari langsung) dan kering *freeze drying*.

#### 4.1 Preparasi Sampel

Sampel alga merah (*Eucheuma cottonii*) diperoleh dari Pantai Wongsorejo Banyuwangi. Sampel yang diperoleh dikeringkan dengan menggunakan 4 jenis metode pengeringan yang berbeda. Pertama, sampel dicuci bersih dan kemudian dikeringkan. Untuk metode kering angin, sampel yang telah dicuci dianginkan tanpa sinar matahari langsung. Waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan menggunakan metode ini sekitar 8 hari. Kelebihan dari metode kering angin ini adalah kandungan senyawa aktif yang ada pada sampel tetap terjaga dan tidak rusak karena sinar matahari, sedangkan kelemahannya membutuhkan waktu yang cukup lama agar sampel benar-benar kering.

Metode pengeringan yang kedua adalah metode kering oven dimana sampel dikeringkan menggunakan oven pada suhu kurang lebih 40 °C selama kurang lebih 3 jam. Kelebihan dari metode pengeringan ini adalah waktu pengeringan yang cepat dan suhu pengeringan yang dapat diatur sehingga diharapkan senyawa aktif dalam sampel tidak mengalami kerusakan. Sementara itu, kelemahan dari metode pengeringan ini yaitu dibutuhkan biaya tambahan yang cukup besar apabila digunakan untuk skala industri. Metode yang ketiga adalah metode kering jemur (sinar matahari langsung) yang dilakukan pada bulan Agustus 2018 dan membutuhkan waktu sekitar 3 hari sampai sampel benar-benar kering. Kelebihan metode ini adalah dapat meminimalisir biaya tambahan dan waktu yang tidak terlalu lama, sementara kelemahannya adalah sinar ultraviolet matahari yang dapat merusak kandungan senyawa aktif dalam sampel. Metode terakhir yang digunakan adalah metode *freeze drying*, dalam metode ini sampel yang telah dicuci harus dibekukan pada suhu -2 °C, setelah 24 jam, sampel yang sudah beku dimasukkan kedalam alat *freeze drying*. Kelebihan dari metode ini adalah dapat mempertahankan kandungan senyawa aktif pada sampel dan mencegah pertumbuhan mikroba, sementara kelemahannya adalah biaya operasional yang tidak murah.

Masing-masing alga merah yang sudah kering akan berwarna kuning kecoklatan dan dihaluskan dengan penggiling sebesar >80 mesh. Penggilingan ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi dengan pelarut akan semakin besar, sehingga ekstrak yang didapat juga semakin banyak.

## 4.2 Analisis Kadar Air

Penentuan kadar air pada sampel bertujuan untuk mengetahui kadar air dalam sampel *Eucheuma cottonii*. Kadar air dalam sampel dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme, lama penyimpanan, dan proses ekstraksi. Analisis kadar air dilakukan dengan metode *thermogravimetri* menggunakan oven pada suhu 105 – 110 °C sampai menghasilkan berat konstan. Selisih antara berat sampel sebelum dipanaskan dan sesudah dipanaskan merupakan nilai kadar air (Winarno, 2002).

Tabel 4.1 Kandungan air yang terkandung dalam alga merah *Eucheuma cottonii*

| Sampel                   | Kadar air yang terkandung dalam sampel alga merah <i>Eucheuma cottonii</i> (%) |            |             |            | Rata-rata (%) |
|--------------------------|--|------------|-------------|------------|---------------|
|                          | Ulangan I  | Ulangan II | Ulangan III | Ulangan IV |               |
| Kering angin             | 20,8   | 26,6       | 19,7        | 26,6       | 23,4          |
| Kering oven              | 12,4   | 11,7       | 12,7        | 12,4       | 12,4          |
| Kering jemur             | 16,2   | 16,8       | 16,4        | 16,4       | 16,9          |
| Kering <i>freeze dry</i> | 3,9  | 4,5        | 1,5         | 3,9        | 3,4           |
| Alga merah basah         | 74,0   | 72,0       | 72,8        | 71,6       | 72,6          |

Analisis kadar air dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan dengan tujuan agar diperoleh data yang tepat. Data perhitungan kadar air dengan sampel alga merah *Eucheuma cottonii* ditunjukkan pada Tabel 4.1. Diketahui bahwa kadar air sampel *freeze drying* memiliki nilai persentase yang rendah, hal ini menunjukkan bahwa metode *freeze drying* merupakan metode pengeringan yang baik untuk mengurangi kadar air pada sampel. Perbedaan kadar air yang signifikan dari beberapa sampel bukan hanya disebabkan oleh cara atau metode pengeringan, tetapi juga disebabkan karena perbedaan faktor lain dalam proses pengeringan seperti lama waktu pengeringan, suhu yang digunakan saat

pengeringan dan jumlah sampel yang dikeringakan. Karena faktor-faktor yang tidak sama tersebut, hasil analisis kadar air dari masing-masing metode tidak dapat dibandingkan satu sama lain, hanya saja dengan adanya data pada Tabel 4.1 dapat diketahui metode mana yang cukup baik digunakan untuk pengeringan sampel.

Tujuan dari dilakukan variasi pengeringan adalah untuk mencari metode pengeringan terbaik untuk mengeringkan sampel yang akan dianalisis kandungan senyawa metabolit sekunder dalam sampel. Sampel yang akan dikeringakan, waktu yang digunakan dalam pengeringan, dan beberapa faktor lain seperti ukuran sampel, berat sampel dan kondisi sampel yang akan dikeringkan harus sama antara metode satu dengan metode yang lain. Hal ini akan memudahkan identifikasi lanjutan seperti analisis kadar air, kadar garam dan perbandingan jumlah rendemen. Oleh karena itu, dalam penelitian ini hasil analisis kadar air tidak dapat dibandingkan, akan tetapi masih bisa digunakan untuk melakukan analisis selanjutnya. Cahyono (2011) menyebutkan bahwa kandungan air >10% dapat menyebabkan reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan kerusakan pada sampel. Semakin rendah nilai kadar air sampel maka akan lebih mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif yang diinginkan.

#### **4.3 Analisis Kadar Garam**

Analisis kadar garam pada alga merah dilakukan untuk mengukur kandungan garam pada sampel. Kadar garam sering disebut sebagai salinitas. Salinitas dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat alga tumbuh, sehingga setiap wilayah perairan tempat tumbuh alga memiliki kadar salinitas yang berbeda.

Penetapan kadar garam dilakukan dengan menggunakan salinometer. Salinometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur salinitas. Pengukurannya didasarkan pada daya hantar listrik dari sampel yang digunakan. Semakin tinggi salinitas maka semakin besar daya hantar listriknya.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran salinitas menggunakan salinometer

| Sampel                  | Nilai Salinitas (ppt) |
|-------------------------|-----------------------|
| Kering angin            | 79,6                  |
| Kering oven             | 56,6                  |
| Kering jemur            | 81,3                  |
| <i>Freeze drying</i>    | 30,3                  |
| Air laut                | 33                    |
| Alga basah dicuci       | 16                    |
| Alga basah tanpa dicuci | 22                    |

Berdasarkan tabel 4.2 dapat diketahui bahwa kadar garam paling tinggi terdapat pada sampel kering jemur yaitu sebesar 81.3 ppt dan sampel kering *freeze drying* memiliki kadar garam yang paling rendah dengan konsentrasi 30,3 ppt. Kadar garam yang terdapat dalam suatu sampel berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sampel tersebut. Menurut Neto (2006), kemampuan tumbuhan menghadapi tingginya salinitas, berhubungan dengan kemampuan oksidatif yang meliputi senyawa antioksidan dan beberapa enzim. Konsentrasi garam eksogen yang tinggi menyebabkan ketidakseimbangan ion seluler dan menghasilkan toksisitas ion, tekanan osmotik dan produksi spesies oksigen reaktif. Untuk mengurangi kerusakan oksidatif, tanaman telah mengembangkan antioksidan defensif yang kompleks. Berdasarkan data pada tabel 4.2 dan tabel 4.4 diketahui bahwa semakin tinggi kadar salinitas sampel maka aktivitas antioksidan dari sampel tersebut juga semakin baik. Akan tetapi, dalam penelitian ini untuk sampel

kering jemur data yang dihasilkan tidak sesuai dengan teori yang ada. Hal ini dapat disebabkan karena beberapa faktor, seperti kandungan senyawa metabolit sekunder yang rusak akibat pemanasan di bawah sinar matahari langsung.

Satuan yang digunakan dalam pengukuran salinitas menggunakan salinometer adalah ppt (*part per triliun*/ $1 \times 10^{-12}$ ), hal ini menunjukkan bahwa kadar garam dalam masing-masing sampel kering sangat kecil, akan tetapi bila dibandingkan dengan sampel basah yang dicuci dengan salinitas sebesar 16 ppt dan sampel basah tanpa dicuci dengan salinitas 22 ppt, mengindikasikan bahwa kadar garam sampel basah lebih rendah dibandingkan kadar garam sampel kering. Hal ini diperkirakan karena ketika dilakukan pengeringan dengan masing-masing metode, kandungan yang berkurang dalam setiap sampel hanyalah kandungan air sampel tersebut. Sehingga ketika dilakukan pengeringan, air yang berkurang atau menguap karena pemanasan, lebih banyak dibandingkan kadar garam sampel. Dengan melihat tabel 4,2 tersebut dapat diketahui juga bahwa dengan menggunakan metode *freeze drying* dapat mengoptimalkan pengurangan kadar garam jika setiap sampel hasil pengeringan dibandingkan juga dengan sampel basah yang dicuci maupun tanpa dicuci.

#### 4.4 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi dipilih karena caranya yang sederhana, murah, mudah dilakukan, dan tidak memerlukan pemanasan yang dapat merusak senyawa. Sampel akan mengalami pemecahan dinding sel karena perbedaan tekanan antara luar dan di dalam sel bila

ditambah dengan pelarut. Sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma akan bergerak menuju pelarut.

Penggunaan metanol dikarenakan senyawa metabolit sekunder bahan alam berikatan glikosida dengan gugus gulanya, sehingga digunakan pelarut polar untuk mengekstrak senyawa bahan alam tersebut. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Glikon bersifat mudah larut dalam air dan glikosida-glikosida mempunyai tegangan permukaan yang kuat (Winarno 1997). Karena sifat glikon yang mudah larut dalam air inilah, pelarut yang digunakan dalam ekstrak kasar sampel bahan alam adalah pelarut yang bersifat polar. Menurut Astarina (2013) metanol merupakan pelarut universal karena terdapat gugus polar (-OH) dan nonpolar (-CH<sub>3</sub>) pada metanol. Sedangkan menurut Atun (2014) metanol memiliki titik didih lebih rendah dibandingkan etanol, sehingga lebih mudah diuapkan pada suhu yang lebih rendah, tetapi memiliki sifat toksik. Sedangkan etanol yang memiliki titik didih lebih tinggi lebih sulit diuapkan walaupun tidak memiliki sifat toksik. Tabel 4.3 menunjukkan perolehan masing-masing ekstrak kasar sampel dengan pelarut metanol.

Berdasarkan tabel 4.3 diketahui bahwa dengan metode pengeringan *freeze drying* dapat diperoleh presentase rendemen sebesar 14,2%, dan rendemen terkecil diperoleh dari ekstrak kasar dengan metode pengeringan angin yaitu sebesar 8,56%. Data presentase rendemen tersebut jika dibandingkan dengan data kadar air pada tabel 4.1 menghasilkan data yang tidak linier atau tidak berbanding lurus, semakin rendah kadar air sampel maka rendemen yang dihasilkan akan semakin banyak. Hal ini dikarenakan kadar air yang rendah akan dapat memudahkan

pelarut untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder dari suatu sampel. Untuk sampel kering angin dan *freeze drying* data kadar air dan pada tabel 4.1 sudah sesuai dengan teori yang ada.

Tabel 4.3 Rendemen hasil ekstrak kasar alga merah dengan pelarut metanol

| Sampel               | Berat ekstrak kasar (gram) | Rendemen (%) | Warna            |
|----------------------|----------------------------|--------------|------------------|
| Kering angin         | 4,28                       | 8,6          | Hijau kecoklatan |
| Kering oven          | 5,43                       | 10,9         | Hijau kecoklatan |
| Kering jemur         | 6,85                       | 13,7         | Hijau kecoklatan |
| <i>Freeze drying</i> | 4,26                       | 14,2         | Hijau kecoklatan |

Metanol digunakan sebagai larutan pengekstrak karena pelarut ini biasa digunakan untuk analisis pendahuluan obat. Selain itu, alkohol merupakan pelarut serba guna yang sangat baik untuk ekstraksi pendahuluan karena dapat mengekstraksi senyawa polar dan nonpolar (Harborne 1987). Penggunaan metanol sebagai pelarut dikarenakan metanol mempunyai dua gugus yang berbeda kepolarannya, yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Adanya kedua gugus tersebut pada metanol diharapkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan terekstrak dalam metanol. Setiyawan (2015) menghasilkan rendemen sebesar 8,54% dengan menggunakan metode kering oven dengan sampel alga merah *Eucheuma spinosum*. Baidowi (2017) menghasilkan rendemen sebesar 10,82% dari ekstrak pelarut metanol dengan metode *freeze drying* dengan sampel teripang hitam *Holothuria atra*. Badros (2017) menghasilkan rendemen sampel alga merah *Eucheuma cottonii* sebesar 13,94% dengan pelarut metanol menggunakan metode kering jemur.

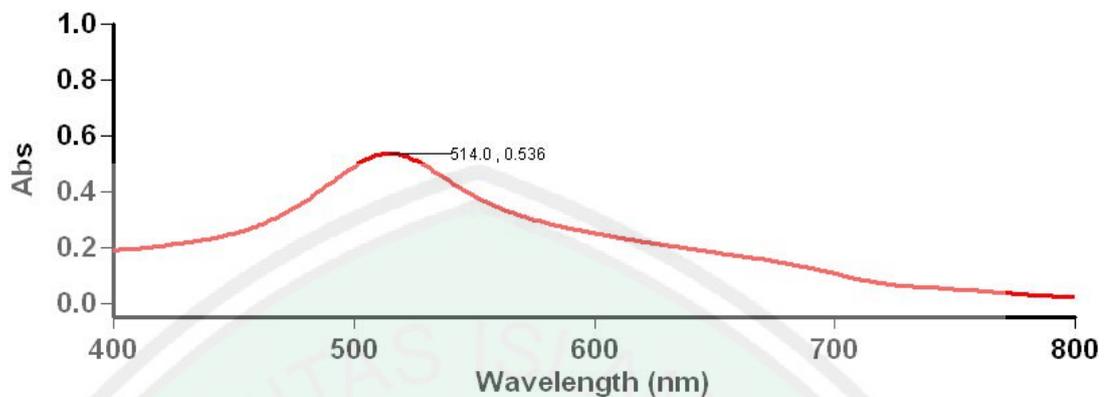
## 4.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Untuk menentukan aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar masing-masing alga merah, dilakukan beberapa tahap terlebih dahulu seperti penentuan panjang gelombang maksimum, penentuan waktu kesetabilan pengukuran antioksidan dan pengukuran potensi antioksidan pada sampel. Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH. Pemilihan metode DPPH untuk menguji aktivitas antioksidan karena metode ini memiliki kelebihan, diantaranya yaitu analisisnya mudah, cepat dan efisien, serta memungkinkan mengetahui adanya senyawa yang bersifat sebagai antioksidan yang dapat dilihat secara visual. Pada metode lain selain DPPH tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath, dkk., 2010).

### 4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan aktivitas antioksidan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Tujuan dari penentuan panjang gelombang maksimum yaitu untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan tertinggi. Larutan DPPH yang merupakan radikal atau suatu elektron yang tidak berpasangan memiliki warna komplementer ungu yang mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang antara 515-520 nm (Mardiyah, 2012; Wulansari, 2011; Soebagio, 2007). Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Kuntorini (2010) yaitu larutan DPPH memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm. Mardiyah (2012) juga menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum larutan DPPH sebesar 515,1 nm dengan nilai serapan 0,831. Gambar

4.1 menunjukkan hasil pengukuran Panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum DPPH 0,2 mM:



Gambar 4.1 Panjang gelombang maksimum DPPH

Berdasarkan gambar 4.1 dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimum DPPH yang akan digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan adalah sebesar 514 nm. Panjang gelombang ini hanya berselisih 1 nm dengan Panjang gelombang yang digunakan Mardiyah (2012) dan Kuntorini (2010). Oleh karena itu, panjang gelombang 514 nm ini bisa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan setiap sampel. Setelah mengetahui Panjang gelombang maksimum DPPH langkah selanjutnya yang digunakan adalah mengetahui waktu kestabilan DPPH. Pengukuran waktu kestabilan dilakukan dengan proses inkubasi karena berdasarkan penelitian Suroso (2011), bahwa sampel yang diinkubasi akan lebih stabil dan memiliki penurunan absorbansi yang lebih signifikan dibanding dengan sampel yang tidak diinkubasi. Ulifatul (2014) menjelaskan bahwa waktu kestabilan DPPH antara 25-75 menit. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, waktu kestabilan yang digunakan adalah 30 menit.

Tujuan dari digunakannya waktu kestabilan adalah untuk mengetahui waktu dimana sampel dan DPPH yang sudah tercampur berada dalam kondisi stabil

yaitu ditandai dengan nilai absorbansi yang sama pada range waktu tertentu atau tidak mengalami kenaikan atau penurunan absorbansi, sehingga sudah tidak terjadi serah terima H<sup>•</sup>. Waktu kestabilan sangat penting untuk dilakukan karena setiap senyawa mempunyai waktu kestabilan yang berbeda-beda.

#### 4.5.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum (514 nm) dan waktu kestabilan (30 menit) kemudian digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel. Larutan kontrol merupakan blanko yang berupa larutan DPPH 0,2 mM yang berfungsi sebagai faktor koreksi terhadap pelarut dan reagen yang digunakan.

Kemampuan penangkapan radikal DPPH oleh suatu antioksidan dinyatakan dengan nilai persen aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai persen aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa sampel senyawa yang digunakan memang berpotensi sebagai antioksidan. Absorbansi kontrol dan sampel yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan persen aktivitas antioksidan. Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi yaitu ketika penambahan larutan DPPH pada sampel terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang menandakan banyaknya atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa antioksidan kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (Rahayu, 2010).

Prinsip dari metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH

menjadi berpasangan maka warna larutan akan berubah dari ungu menjadi kuning dan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Green, 2004; Gurav, dkk., 2007 dalam Erawati 2012).

Hasil yang didapat ketika penambahan larutan DPPH pada sampel tidak terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning tetapi hanya terjadi pemudaran warna dari ungu tua menjadi ungu muda. Kemudian nilai persen aktivitas antioksidan digunakan untuk menghitung nilai  $EC_{50}$  pada sampel.  $EC_{50}$  (*Efficient Concentration*) merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $EC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $EC_{50}$  bernilai kurang dari 50 ppm, kuat jika bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika bernilai 150-200 ppm (Mardawati, dkk., 2008). Nur Laili (2014) menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan suatu sampel dapat dikatakan kuat atau sangat baik apabila memiliki nilai  $EC_{50}$  dibawah 50 ppm dan berhasil mengekstrak sampel alga coklat *Sargasum cristaefolium* menggunakan metanol dengan nilai  $EC_{50}$  sebesar 16,37 ppm. Hasil  $EC_{50}$  dari keempat sampel alga merah dapat dilihat pada tabel:

Tabel 4.4 Hasil perhitungan  $EC_{50}$  dari nilai absorbansi UV-Vis

| Sampel              | Presentase Absorbansi Aktivitas Antioksidan (%) |        |        |        |        | Nilai $EC_{50}$ (ppm) |
|---------------------|---|--------|--------|--------|--------|-----------------------|
|                     | 10 ppm  | 20 ppm | 30 ppm | 40 ppm | 50 ppm |                       |
| Kering angin        | 7,6   | 14,4   | 18,8   | 19,0   | 19,2   | $5,1 \times 10^2$     |
| Kering oven         | 5,7   | 4,3    | 6,0    | 10,9   | 11,1   | $8,4 \times 10^2$     |
| Kering tani (jemur) | -8,0  | -5,9   | 5,1    | 3,3    | 3,6    | $1,7 \times 10^3$     |
| Freeze drying       | 2,8   | 1,8    | 4,8    | 4,9    | 4,3    | $3,6 \times 10^3$     |

Berdasarkan keempat nilai  $EC_{50}$  masing-masing sampel, nilai  $EC_{50}$  kering angin merupakan nilai dengan angka rendah, hal ini dapat disebabkan oleh metode pengeringan angin yang memiliki kelebihan dalam hal mempertahankan kondisi dan kandungan senyawa metabolit sekunder pada saat proses pengeringan berlangsung. Kadar air yang tinggi pada sampel kering angin menyebabkan kecilnya jumlah rendemen yang didapat ketika proses ekstraksi maserasi, akan tetapi hal ini tidak dapat merubah fakta bahwa metode kering angin merupakan metode yang cukup baik untuk mengeringkan sampel jika dilihat dari rendahnya nilai  $EC_{50}$  sampel kering angin. Sementara untuk aktivitas antioksidan sampel *freeze drying* yang sangat lemah dapat disebabkan karena adanya kerusakan pada kandungan senyawa metabolit sekunder sampel ketika terjadi perubahan suhu rendah yang sangat ekstrim saat proses pengeringan. Meskipun dengan metode *freeze drying* didapatkan nilai kadar air dan kadar garam yang rendah dan presentase nilai rendemen yang tinggi, penggunaan metode pengeringan ini tetap tidak dapat menghasilkan nilai  $EC_{50}$  yang baik ketika dilakukan uji aktivitas antioksidan.

Rendahnya nilai aktivitas antioksidan pada setiap sampel kering dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu faktor tersebut yaitu sampel uji masih merupakan ekstrak kasar yang didalamnya terdapat berbagai jenis senyawa yang belum diketahui bagaimana pengaruhnya terhadap kapasitas antioksidan sampel. Terkadang senyawa-senyawa tersebut saling bersinergi atau saling menguatkan aktivitas sampel tersebut sebagai antioksidan, namun terkadang antara satu senyawa dengan senyawa lainnya tidak saling bersinergi sehingga aktivitas antioksidannya menjadi lemah. Berdasarkan hal tersebut, lemahnya aktivitas

antioksidan setiap ekstrak sampel ini diduga karena senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya tidak saling bersinergis sehingga saling memperlemah kemampuannya sebagai antioksidan. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan metode fraksinasi rendemen hasil ekstraksi dengan pelarut polar dan non polar.

#### 4,6 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Uji kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kasar alga merah ini meliputi uji keberadaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid. Hasil analisis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak alga merah *E. cottonii* dapat dilihat pada Tabel 4.5. Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak metanol alga merah adalah senyawa dari golongan steroid dan triterpenoid. Senyawa-senyawa metabolit sekunder golongan fenol, nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino dan amina), dan karotenoid seperti asam askorbat merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan alami (Ernawati, 2012).

Tabel 4.5 Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak alga merah *E. cottonii*

| No | Golongan Senyawa | Ekstrak Kasar |    |   |   | Standar                                 |
|----|------------------|---------------|----|---|---|---|
|    |                  | A             | B  | C | D |   |
| 1. | Flavonoid        | -             | -  | - | - | Warna hijau                             |
| 2. | Steroid          | ++            | ++ | + | + | Warna hijau/biru                        |
| 3. | Triterpenoid     | ++            | ++ | + | + | Cincin coklat di perbatasan dua pelarut |
| 4. | Alkaloid         |               |    |   |   |   |
|    | a. Dragendorff   | -             | -  | - | - | Endapan berwarna jingga                 |
|    | b. Meyer         | -             | -  | - | - | Endapan berwarna kuning                 |

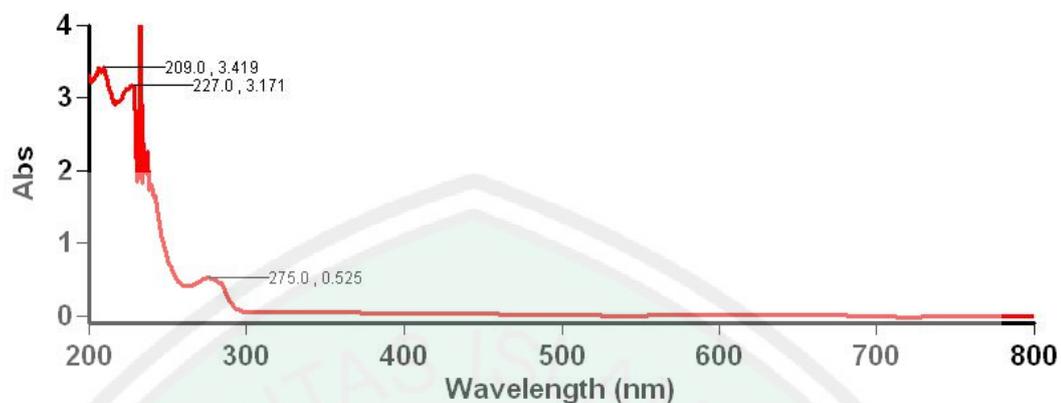
Keterangan : A : kering angin, B : kering oven, C : kering jemur, D : *freeze drying*

+ : Terdeteksi, - : Tidak terdeteksi

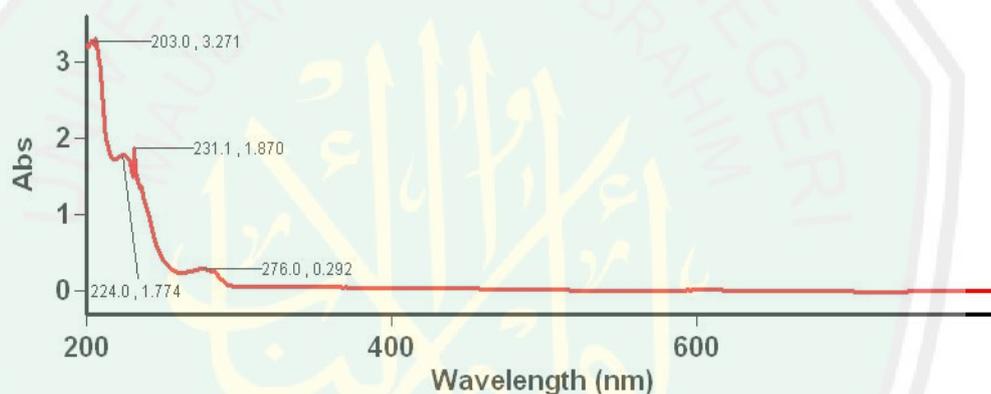
Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak alga merah *E. cottonii* menunjukkan adanya gugus senyawa triterpenoid dalam ekstrak tersebut. Hal ini diketahui dari terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambahkan reagen Liebermann-Burchard. Reagen ini merupakan campuran antara anhidrida asetat dan asam sulfat pekat. Senyawa triterpenoid/steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat  $H_2SO_4$  dan membentuk ion yang memberikan sejumlah reaksi warna. Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan steroid/triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Al-Quais, 2015).

Identifikasi senyawa metabolit sekunder juga dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada hasil ekstrak sampel kering. Penggunaan pelarut etanol sebagai blanko untuk identifikasi dengan UV-Vis lebih dipilih dibandingkan pelarut metanol, hal ini dikarenakan pelarut etanol yang sedikit lebih stabil dibandingkan pelarut metanol berdasarkan panjang rantai ikatannya. Metanol juga mempunyai kekurangan yaitu lebih toksik dibandingkan etanol. Molyneux (2004) menyebutkan bahwa metode spektrofotometer UV-Vis ini akan bekerja dengan baik menggunakan pelarut metanol atau etanol dan kedua pelarut ini tidak mempengaruhi dalam reaksi antara sampel uji sebagai antioksidan dengan DPPH sebagai radikal bebas. Donardi (2016) berhasil melakukan identifikasi senyawa steroid dan triterpenoid pada sampel alga merah *Eucheuma spinosum*

menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang ditandai dengan munculnya puncak serapan pada panjang gelombang 220 nm dan 276 nm.

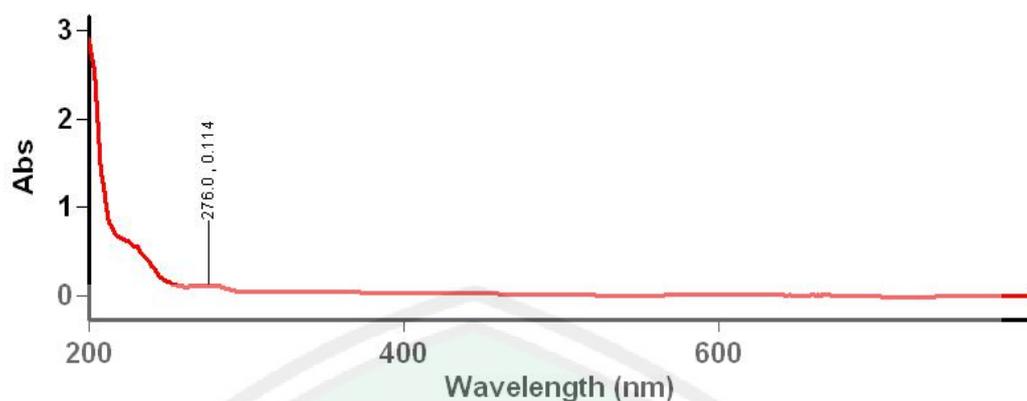


Gambar 4.2 Hasil spektrum sampel kering angin (A)

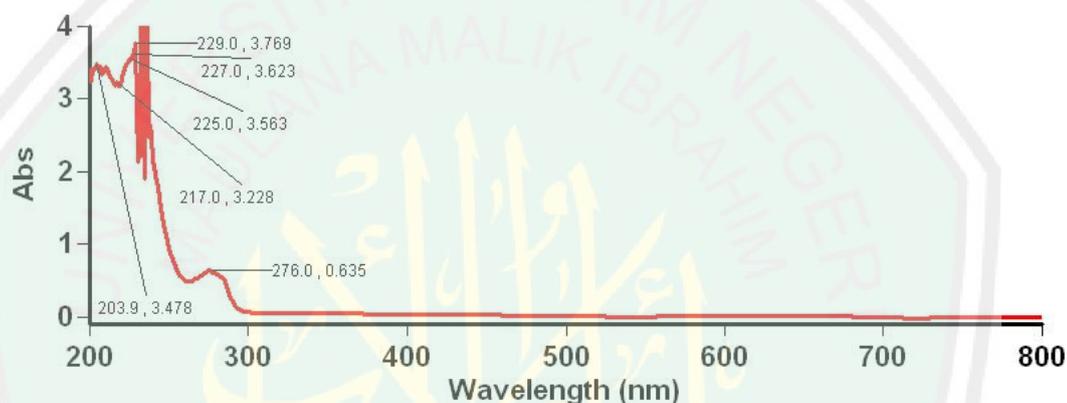


Gambar 4.3 Hasil spektrum sampel kering oven (B)

Menurut penelitian Ismarti (2011) hasil identifikasi senyawa triterpenoid dari kulit batang meranti merah menghasilkan dua panjang gelombang maksimum yaitu 202 dan 282 nm yang menunjukkan senyawa triterpenoid pentasiklik. Puncak serapan pada panjang gelombang 203 pada sampel kering angina dan 209 nm pada sampel kering oven diduga akibat adanya transisi elektron dari  $\pi \rightarrow \pi^*$ , yang disebabkan adanya golongan senyawa yang memiliki ikatan C=C tidak terkonjugasi. Gangwal (2010) isolat yang diperoleh mempunyai panjang gelombang serapan maksimum 202 nm yang merupakan golongan triterpenoid yang tidak mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi.



Gambar 4.4 Hasil spektrum sampel kering jamur (C)



Gambar 4.5 Hasil spektrum sampel *freeze drying* (D)

Berdasarkan penelitian Puspitasari (2015) hasil isolasi senyawa triterpenoid dari daun *Marsilea crenata* Presl menunjukkan serapan maksimal pada panjang gelombang 224 dan 274 nm yang menunjukkan adanya gugus kromofor dalam isolat. Astuti (2014) melakukan isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid dari Herba lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz) menunjukkan adanya senyawa triterpenoid pada panjang gelombang maksimum 225 dan 272.5 nm. Hasil penelitian Zetra (2007) juga menunjukkan dua serapan maksimum pada panjang gelombang 229 dan 272.5 nm. Panjang gelombang tersebut menunjukkan adanya transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  yang merupakan serapan spektrum UV khas untuk

senyawa triterpenoid yang memiliki kromofor berupa ikatan rangkap yang tak terkonjugasi.

Keberadaan senyawa golongan fenolik dalam sampel juga mempengaruhi aktivitas antioksidan. Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa tidak ada golongan senyawa fenolik terutama flavonoid dalam setiap ekstrak sampel alga merah *Eucheuma cottonii*. Selain itu, pola spektra hasil analisis pada Gambar 4.2 sampai 4.5 juga tidak menunjukkan adanya senyawa fenolik yang terdeteksi. Keberadaan senyawa fenolik pada suatu sampel ditunjukkan dengan adanya serapan pada panjang gelombang 278 nm (Trivedi, dkk.,2015; Ferlinahayati, dkk., 2013). Sebagai pembanding, BHT yang merupakan golongan fenolik mempunyai serapan pada panjang gelombang 205, 247, dan 278 nm (Trivedi, dkk., 2015). Penampakan panjang gelombang pada spektrum UV-Vis hanya dapat menghasilkan perkiraan gugus fungsi apa yang terdeteksi pada sampel. Sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung pada setiap sampel kering.

#### 4.7 Pemanfaatan Alga Merah Ditinjau dari Perspektif Islam

Allah SWT berfirman dalam al-qur'an surat Al-Hijr ayat 19 :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْرُونٍ ۙ ١٩

“Dan kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran”. (QS.al-Hijr:19).

Ibnu Abbas mengatakan sehubungan dengan firman-Nya: segala sesuatu menurut ukuran. (Al-Hijr: 19) Yakni menurut ukurannya yang telah dimaklumi. Hal yang sama telah dikatakan oleh Sa'id ibnu Jubair, Ikrimah, Abu Malik,

Mujahid, Al-Hakam ibnu Uyaynah, Al-Hasan ibnu Muhammad, Abu Saleh, dan Qatadah. Di antara mereka ada yang mengatakan bahwa makna ayat ini ialah, "Segala sesuatu menurut ukurannya yang pantas." Ibnu Zaid mengatakan, makna ayat ialah "segala sesuatu menurut kadar dan ukurannya yang sesuai". Ibnu Zaid mengatakan pula bahwa yang dimaksud dengan lafaz mauzun ialah timbangan yang biasa dipakai di pasar-pasar. Firman Allah Swt.: Dan Kami telah menjadikan untuk kalian di bumi keperluan-keperluan hidup.

Makna dari ayat di atas yaitu seluruh apa yang ada dilangit dan di bumi ini adalah ciptaan Allah SWT, Dia adalah pencipta seluruh jagad raya dunia ini. Allah SWT menciptakan segala sesuatu itu menurut ukuran dan takarannya. Artinya Allah SWT itu menciptakan sesuatu tidak asal buat saja, tetapi berdasarkan ukurannya dan tentu saja mengandung hikmah yang begitu besar. Ibnu Zaid mengatakan, makna ayat ialah "segala sesuatu menurut kadar dan ukurannya yang sesuai".

Menurut tafsir Ibnu Katsir, Allah Ta'ala menuturkan bagaimana Dia menciptakan bumi dan menjadikannya membentang luas dan datar, menjadikan gunung-gunung yang tegak, lembah-lembah, tanah (daratan), pasir, dan berbagai tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan yang sesuai. Ibnu 'Abbas mengatakan tentang: (مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونًا) "Segala sesuatu dengan ukuran," mauzun artinya maklum (diketahui, tertentu). Demikian juga dikatakan oleh Sa'id bin Jubair, 'Ikrimah, Abu Malik, Mujahid, al-Hakam bin 'Uyainah, al-Hasan bin Muhammad, Abu Shalih dan Qatadah. Sebagian ulama mengatakan: "Mauzun artinya ditentukan kadarnya," sedangkan Ibnu Zaid mengatakan: "Mauzun ialah apa yang ditimbang oleh para pedagang di pasar."

Jadi dari hasil yang didapat, ekstrak kasar alga merah *E. cottonii* diketahui memiliki aktivitas antioksidan walaupun lemah, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Hasil tersebut sudah dapat mengindikasikan bahwa alga merah *E. cottonii* memiliki manfaat yang sudah ditentukan dan sesuai dengan al-qur'an surat Al-Hijr ayat 19.



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisis data yang dilakukan, dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Sampel kering angin memiliki nilai kadar air = 23,4%, kadar garam = 79,6 ppt, dan rendemen = 8,7%. Sampel kering oven memiliki nilai kadar air = 12,4%, kadar garam = 56,6 ppt, dan rendemen = 10,7%. Sampel kering jamur memiliki nilai kadar air = 16,9%, kadar garam = 81,3 ppt, dan rendemen = 13,7%. Sampel *freeze drying* memiliki nilai kadar air = 3,4%, kadar garam = 30,3 ppt, dan rendemen = 14,2%.
2. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari masing-masing ekstrak tergolong lemah karena nilai  $EC_{50}$  yang dihasilkan tinggi. Sampel kering angin memiliki nilai  $EC_{50}$  =  $5,1 \times 10^2$  ppm, sampel kering oven memiliki nilai  $EC_{50}$  =  $8,4 \times 10^2$  ppm, sampel kering jamur dengan nilai  $EC_{50}$  =  $1,6 \times 10^3$  ppm dan sampel *freeze drying* dengan nilai  $EC_{50}$  =  $3,6 \times 10^3$ .

#### 5.2 Saran

Proses ekstraksi sebaiknya dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi bertingkat dan dilakukan pemisahan senyawa metabolit sekunder dengan metode kromatografi kolom untuk membandingkan kekuatan aktivitas antioksidan alga merah *Eucheuma cottonii* antara ekstrak kasarnya dengan senyawa yang sudah murni.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albuntana, Yasman, dan Wardhana. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuridae. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Tropis*, 3(1): 65-72.
- Al-Quais, K. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Identifikasi Senyawa Steroid Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) *Skrpsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Astarina. Astuti, K.W. Warditiani, N. K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum roxb.*). *Jurnal Farmasi Universitas Udayana*. Bali: Universitas Udayana
- Atmadja, W.S, Kadi, A., Sulistidjo dan Rachmaniar. 2007. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Jakarta: puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. Volume 8, Nomor 2. 53 – 61.
- Badarinath, A.V., dkk. 2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of Pharmaceutics Technology Research*, 2(2): 1276-1285.
- Baderos, A. 2017. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Identifikasi Menggunakan LC\_MS. *Skrpsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Baidowi, A. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Metanol dan n-Heksana Teripang Holothuria Atra Pantai Wedi Ireng Banyuwangi. *Skrpsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Basir, A. 2013. Aktivitas Antimalaria Ekstrak Teripang Kering (*Holothuria atra*) Terhadap *Plasmodium falciparum* Secara *In Vitro* [Skripsi]. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Institut Pertanian.
- Best, B, 2006, *General AntiOxidant Actions*. [www.benbest.com/nutrceut/AntiOxidants.html](http://www.benbest.com/nutrceut/AntiOxidants.html), Tanggal akses 21 Oktober 2018
- Cahyadi, W, 2006, *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Makanan*, Jakarta : Penerbit Bumi Aksara
- Cahyono, B., Muhammad D.K.H dan Leenawaty L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb) Terhadap

- Kandungan dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*. Vol. No. 3, Juni 2011. Hal 165-171
- Coppen, P.P. 1983. *The use of antioxidant*. Di dalam: J.C. Allen dan R.J Hamilton, editor. Rancidity in Foods. Applied Science Publishers, London
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Depkes RI.
- Diplock, A.T. 1991. *Antioxidant Nutrients and Disease Prevention:an Overview*. dalam: *The American Journal og Clinical Nutrition*, 53:314-321
- Donardi, A. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*. *Skrpsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Doty, M.S. 1985. *Eucheuma alvarezii* sp.nov (Gigartinales, Rhodophyta) from Malaysia. Di dalam: Abbot IA. Norris JN (editors). *Taxonomy of Economic Seaseeds*. California Sea Grant College Program.
- Erawati. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garciniadaedalanthera Pierre* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Paling Aktif. *Skripsi*. Depok: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Estenbauer, H., M.D. Rothermedered, dan G. Waeg. *Role of Vitamin E in Preventing the Oxidant of Low Density Lipoprotein: The American Journal of Clinical Nutrition*. 53:314-321
- Ferlinahayati, Hakim, E. H., Syah, Y. M., dan Juliawaty, L. D. 2013. Karakterisasi Senyawa Fenol dari Kayu Batang *Morus Nigra*. *Jurnal Molekul*, 8(1): 43-48.
- Gangwal, A., Parmar, S.K., dan Sheth, N.R. 2010. Triterpenoid, Flavonoids and Sterols from *Lagenaria siceraria* fruits. *Der pharmacia lettre*, 2(1): 307-317.
- Hafid, A. F, 2003, *Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH Fraksi Metanol Fagraea auriculata dan Fagraea ceilanica*, *Majalah Farmasi Airlangga*, III (1); 34-39
- Halliwell, B. dan J.M.C. Guteridge. 1991. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Pers
- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R, 2005, *Identifikasi senyawa antioksidan dalam Spons Callispongia Sp. dari Kepulauan Seribu*, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No.3, Desember 2005, 127 – 133, ISSN : 1693-9883

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih P dan Iwang S. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hogiono, dan Dangi. 1994. Peningkatan Nilai Tambah Tanaman Hortikultura yang Berpotensi Sebagai Bahan Dasar Sintesis Obat-Obatan Steroid. *Skripsi*. Surabaya: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga.
- Houghton, P. J. and A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extract*. London: Chapman and Hall.
- Inayah, N., R. Ningsih, T.K. Adi. 2012. Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Sentawa Aktif Ekstrak Etanol dan N-Heksana Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya. *Alchemy*, 2(1): 92-100.
- Istini, S. dan Suhaimi. 1998. Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut. Jakarta: Lembaga Oseanologi Nasional
- Johnson, I. T. 2001. Antioxidants and Antitumor Properties. In: Pokorny, J., N. Yanishlieva, M. Gordon (Eds.), *Antioxidants in Foods* (hlm. 101-123). Cambridge England: CRC Press.
- Junaedi, W. 2004. Rumput Laut, Jenis dan Morfologinya. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional
- Kannan A, Navam H, Satya N. 2009. Colon and breast anti-cancer effects of peptide hydrolysates derived from rice bran. *The Open Bioactive Compounds*, 1(2): 17-20.
- Kosasih, S. Mulja, M. Daryono, H. T. dan Rahmana, E. K. 2004. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. Surabaya : Unair press
- Kristanti, A.N., N.S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Belajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press
- Kuntorini, E.V., Maria, D.W. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana Merr*). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 4(1): 15 – 22.
- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dengan Metode Brine Shrimp. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, 17(5): 56-59
- Mardawati, E. 2008. Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Laporan Akhir Penelitian*.

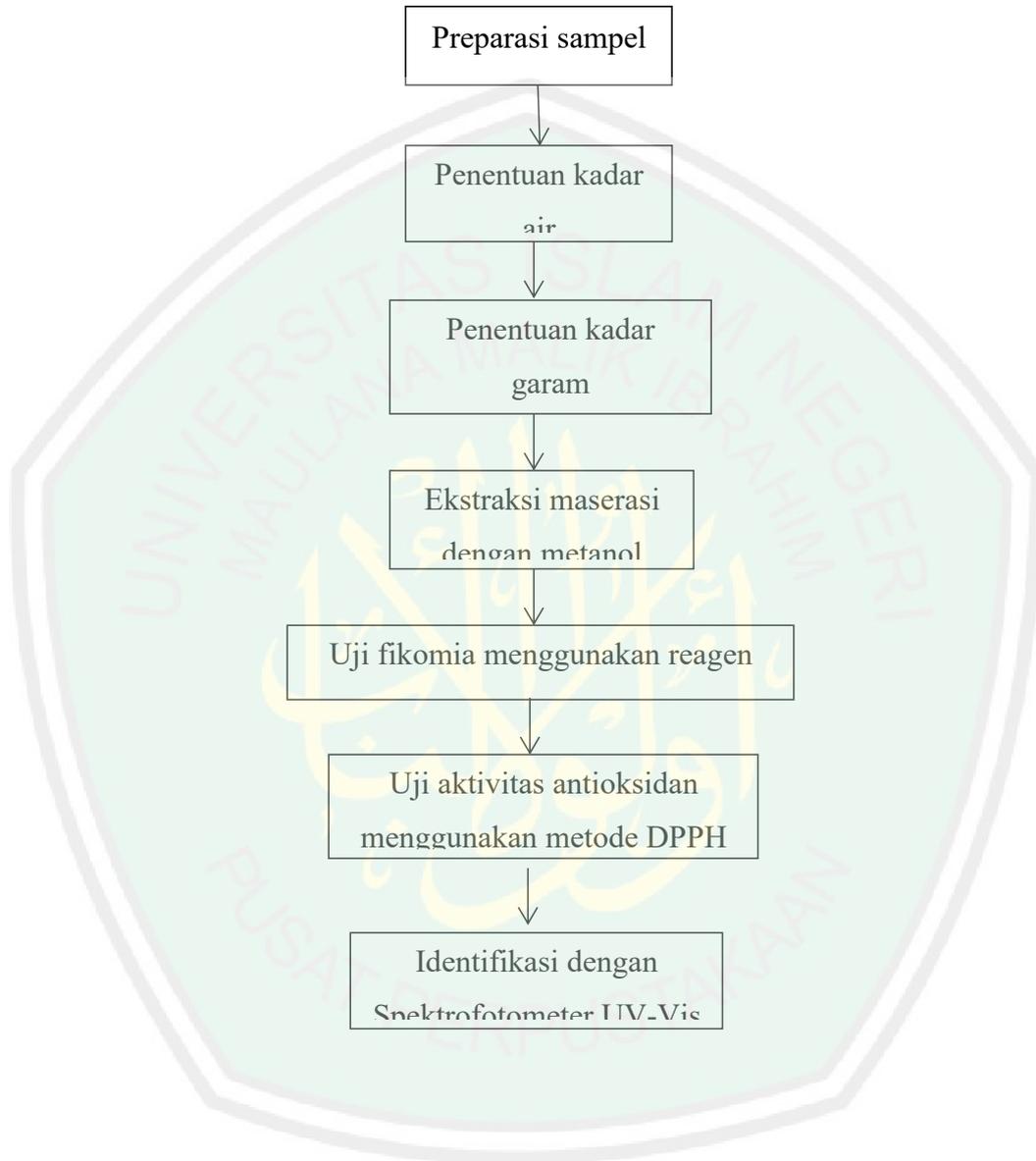
Bandung: Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran.

- Mardiyah, U. 2012. Uji Aktifitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari perairan Banyuwangi. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung : Penerbit ITB.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono.2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule*) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, 3(1): 26-31.
- Marx. 1985. *Oxygen Free Radical Linked to Many Disease: Science*. 235:529-531
- Meydia. 2006. Isolasi Senyawa Steroid dari Teripang Gama *Stichopus variegates* dengan Berbagai Jenis Pelarut. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Pesisir Laut Banyuwangi. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH), For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 26(2): 211-219.
- Muller, J and Heindl. 2006. *Drying Of Medical Plants In R.J. Bogers, L.E. Cracer, and D> Lange (eds), Medical and Aromatic Plant*, springer, The Netherland, p.237-252
- Pelczar, M. J., and E. C. S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1 dan Jilid 2*. Diterjemahkan oleh : Hadiotema, R. S., T. Imas, S. S. Tjitrosomo, S. I. Angka. UI Press, Jakarta
- Pramono, S. 2006. *Penanganan Pasca Panen Dan Pengaruhnya Terhadap Efek Terapi Obat Alami*. Prosiding Seminar nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII, Bogor, 15-18 Sept.2005. Hal 1-6
- Puspitasari, Y., Suciati., dan Mangestuti, A. 2015. Isolasi senyawa terpenoid dari fraksi n-heksana daun *Marsilea crenata* Presl. Pada hasil Kcv Fraksi No. 2. *Jurnal farmasi dan ilmu kefarmasian Indonesia*, 2(1).
- Rachmawan, Orbin. MS, 2001. <http://202.152.31.170/modul/pertanian/pengendalianmutu/pengeringan>, pendinginan dan pengemasan komoditas pertanian.pdf. diakses tanggal 01 Oktober 2018

- Rahayu, D.S., Dewi, K., dan Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode *1,1 difenil 2 pikrilhidrazil* (DPPH). Skripsi. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Rasyid, A. 2004. Berbagai Manfaat Algae, *Oseana* Vol XXIX No. 3: 9-15. <http://www.Oseanograpi.lipi.go.id>
- Rudiyanto, 2013. Kajian Kapasitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Alga Merah Jenis *Eucheuma cottonii* dari Perairan Sumenep. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat Di Minahasa Utara. *Chem. Prog.* 1(1): 47-53.
- Setiyawan, M.I., Ningsih, R., Syarifah, U., dan Adi, T.K. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid Fraksi Petroleum Eter Alga Merah (*Euchema spinosum*) Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dan Identifikasi Menggunakan FT-IR. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sudjadi, 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Suroso, H.C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif pada Tanaman Anting-anting (*Achalypha Indica* L). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Utomo, A.D.2009. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Pharmacy*, 06 (1) : 58-68
- Winarsi, H, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wulansari, D., dan Chairul. 2011. Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal *2,2-Diphenyl-1Picrylhydrazyl* (DPPH). *Majalah Obat Tradisional*. Bogor: Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Zakaria, N. A., D. Ibrahim, S. F. Sulaiman and N. A. Supardy. 2011. *Assessment of Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Invitro Toxicity of Malaysian Red Seaweed, Acanthophora spicifera*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3 (3) : 182-191

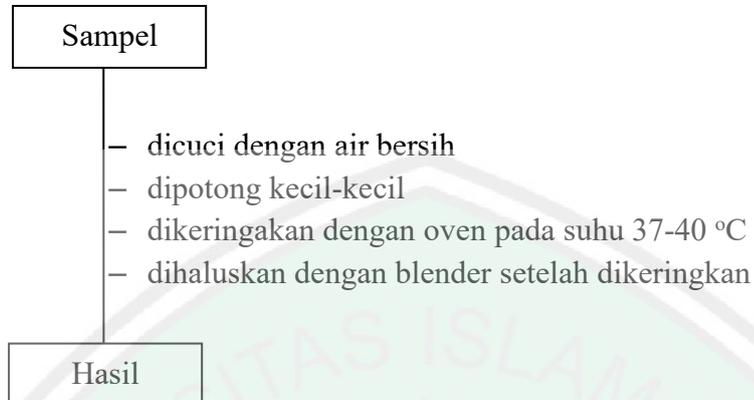
Zetra, Y., dan Prasetya, P. 2007. Isolasi Senyawa  $\alpha$ -Amirin dari Tumbuhan *Beilschmiedia roxburghiana* (Medang) dan Uji Bioaktivitasnya. *Akta Kimindo*, 3(1): 27-32.



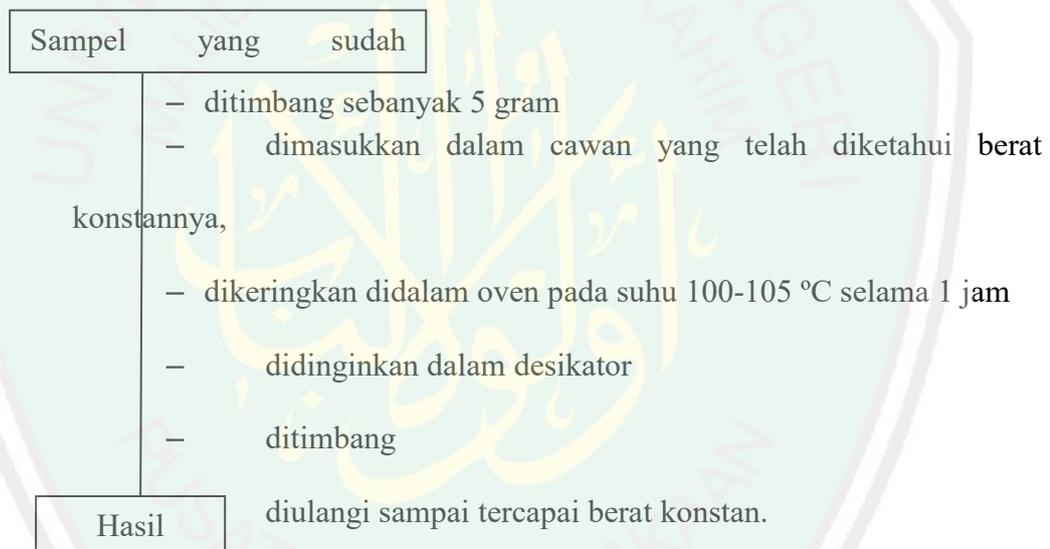
**LAMPIRAN****Lampiran 1 Rancangan Penelitian**

## Lampiran 2. Skema Kerja

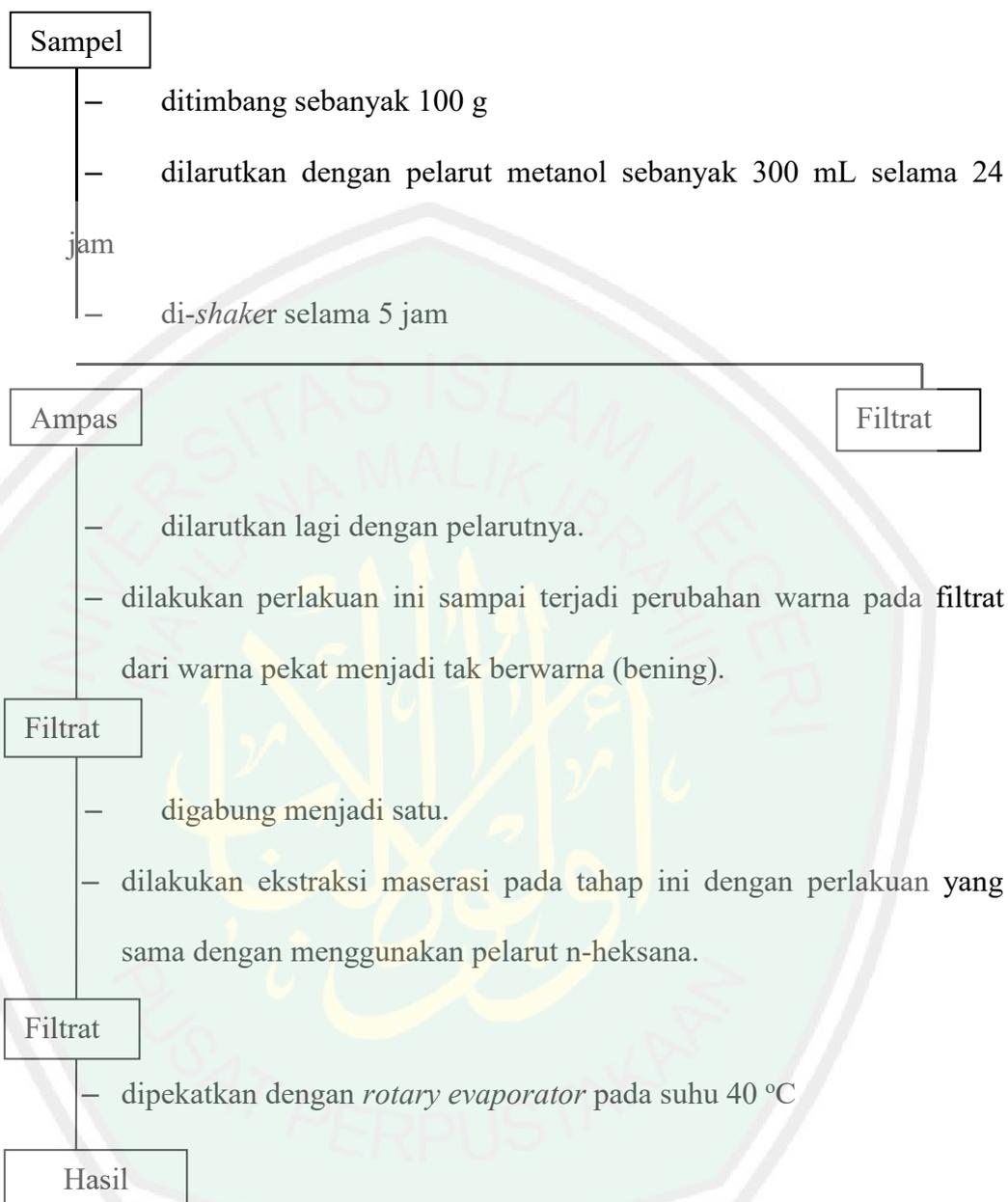
### L.2.1 Preparasi Sampel



### L.2.2 Pengukuran Kadar Air



### L.2.3 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi



## L.2.4 Uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH

### L.2.4.1 Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil sebanyak 1,5 mL
- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- ditambahkan 4,5 mL etanol
- didiamkan selama  $\pm$  10 menit
- dimasukkan kedalam kuvet
- dicari  $\lambda_{\text{maks}}$

Hasil

### L.2.4.2 Penentuan waktu kestabilan

Larutan ekstrak 30 ppm

- diambil sebanyak 4,5 mL
- dimasukkan kedalam kuvet
- ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL
- diinkubasi
- dicari waktu kestabilan pada rentang waktu 5 – 120 menit dengan interval 5 menit menggunakan spektronik 20 pada  $\lambda_{\text{maks}}$  yang telah didapatkan

Hasil

### L.2.5 Pengukuran potensi antioksidan pada sampel

### L.2.5.1 Absorbansi kontrol

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil sebanyak 1,5 mL
- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- ditambahkan pelarut yang digunakan pada ekstrak sebanyak 4,5 mL
- ditutup tabung reaksi dengan tissue
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya
- dimasukkan larutan kedalam kuvet
- diukur absorbansinya dengan  $\lambda_{maks}$  yang telah didapatkan

Hasil

### L.2.5.2 Pengukuran Sampel

Sampel dengan konsentrasi

- disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi
- diisi masing-masing tabung reaksi dengan 4,5 mL ekstrak
- ditambahkan DPPH sebanyak 1,5 mL
- diulang sebanyak 3 kali
- diinkubasi pada suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya
- dimasukkan kedalam kuvet
- diukur absorbansinya pada  $\lambda_{maks}$  yang telah didapatkan

Nilai absorbansi

- dihitung nilai % aktivitas antioksidan
- dihitung nilai  $EC_{50}$

Hasil

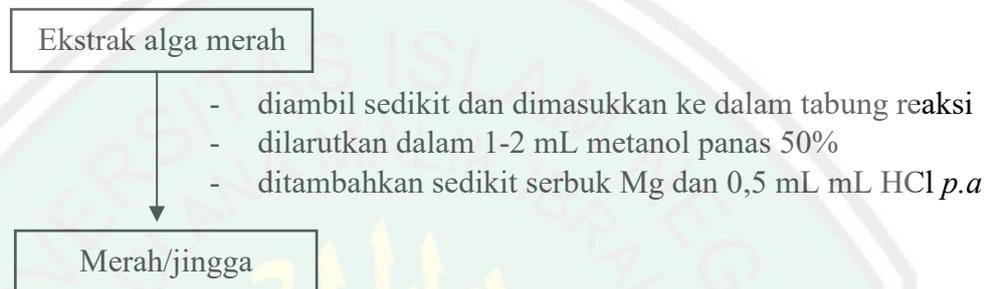
### L.2.6 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel murni

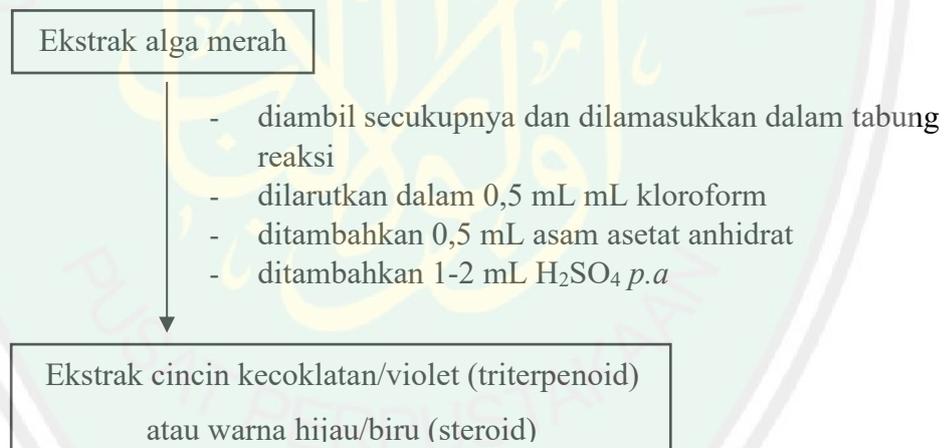
- diambil sebanyak 2 mL
- dimasukkan kedalam kuvet hingga sepertiganya
- dianalisis pada panjang gelombang 200-800 nm

## L.2.7 Uji Fitokimia

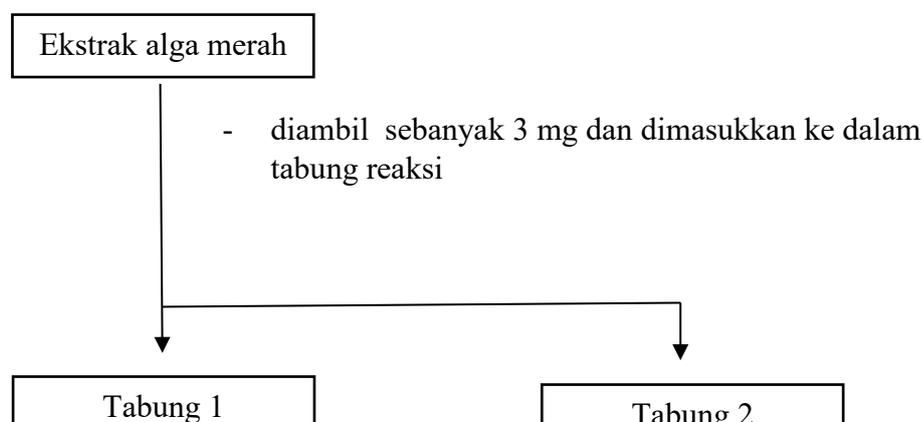
### L.2.7.1 Uji flavonoid



### L.2.7.2 Uji steroid dan triterpenoid



### L.2.7.3 Uji Alkaloid



- ditambahkan 0,5 mL HCl 2%
  - dibagi dalam dua tabung
- 
- ditambahkan 0,5 mL reagen Dragendroff Meyer
  - ditambahkan 0,5 mL reagen

### Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen Serta Larutan

#### L.3.1 Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 50 mL

$$0,2 \text{ mM} = 0,0002 \text{ Molar}$$

$$\text{Mr DPPH (C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6) = 394,33 \text{ gr/mol}$$

$$\text{Molar} = 50 \text{ mL} \times 0,0002 \text{ M}$$

$$= 0,01 \text{ mmol}$$

$$= 0,01 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

$$\text{Gram} = \text{mol} \times \text{Mr DPPH}$$

$$= 0,01 \times 10^{-3} \text{ mol} \times 394,33 \text{ gr/mol}$$

$$= 3,9433 \times 10^{-3} \text{ gram}$$

$$= 3,9433 \text{ mg}$$

Larutan DPPH 0,2 mM dibuat dengan melarutkan 3,9433 mg DPPH dalam 50 mL metanol *p.a.*

#### L.3.2 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan larutan stok dari ekstrak teripang dengan konsentrasi 1000 ppm:

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$\begin{aligned}
 \text{mg} &= \text{ppm} \times L \text{ (jika dibuat larutan stok } 10 \text{ mL} = 10 \times 10^{-3} \text{ L)} \\
 &= 1000 \text{ ppm} \times 10 \times 10^{-3} \text{ L} \\
 &= 10 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Larutan stok 1000 ppm dari masing-masing ekstrak dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam 10 mL masing-masing pelarutnya.

b. Pembuatan larutan ekstrak 10 ppm dengan volume 5 mL

$$\begin{aligned}
 V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\
 V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \cdot 10 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= 0,05 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 1 ppm dapat dibuat dengan melarutkan 0,05 mL larutan stok dalam 5 mL pelarutnya.

c. Pembuatan larutan ekstrak 20 ppm dengan volume 5 mL

$$\begin{aligned}
 V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\
 V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \cdot 20 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= 0,1 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 10 ppm dapat dibuat dengan melarutkan 0,1 mL larutan stok dalam 5 mL pelarutnya.

d. Pembuatan larutan ekstrak 30 ppm dengan volume 5 mL

$$\begin{aligned}
 V_1.M_1 &= V_2.M_2 \\
 V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \cdot 30 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= 0,15 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 30 ppm dapat dibuat dengan melarutkan 0,15 mL larutan stok dalam 5 mL pelarutnya.

e. Pembuatan larutan ekstrak 40 ppm dengan volume 10 mL

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 40 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 0,20 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 40 ppm dapat dibuat dengan melarutkan 0,20 mL larutan stok dalam 10 mL pelarutnya.

e. Pembuatan larutan ekstrak 50 ppm dengan volume 10 mL

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 0,25 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 50 ppm dapat dibuat dengan melarutkan 0,25 mL larutan stok dalam 10 mL pelarutnya.

### L.3.3 Pembuatan HCl 2 %

$$\begin{aligned} V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\ V_1 \cdot 37 \% &= 10 \text{ mL} \cdot 2 \% \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 2 \%}{37 \%} \\ &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, HCl 2 % dapat dibuat dengan memasukkan 0,5 mL HCl 37 % ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan kemudian dikocok sampai homogen.

### L.3.4 Pembuatan reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 gr  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades.

Larutan II. 6 gr KI dalam 10 mL aquades.

Larutan I reagen Dragendorff dapat dibuat dengan melarutkan 0,6 gram  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades. Sedangkan larutan II dapat dibuat dengan melarutkan 6 gr KI dalam 10 mL aquades. Kedua larutan kemudian dicampur dan ditambahkan 7 mL HCl pekat dan 15 mL aquades (Wagner, 2001).

### L.3.5 Pembuatan reagen Mayer

Larutan I. 1,358 gr  $\text{HgCl}_2$  dalam 60 mL aquades

Larutan II. 5 gr KI dalam 10 mL aquades

Larutan I reagen Mayer dibuat dengan melarutkan 1,358 gram  $\text{HgCl}_2$  dalam 60 mL aquades. Sedangkan Larutan II dibuat dengan melarutkan 5 gram KI dalam 10 mL aquades. Kemudian larutan I dituangkan ke dalam larutan II, dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

### L.3.6 Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat 5 mL

Anhidrida asetat 5 mL

Metanol absolut 50 mL

Reagen Lieberman-burchard dibuat dengan cara mencampurkan 5 mL asam sulfat pekat dan 5 mL anhidrida asetat ke dalam 50 mL metanol absolut. Larutan kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini harus langsung digunakan setelah pembuatan (Wagner, 2001).

### L.3.7 Pembuatan larutan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ gr/mL} = 1190 \text{ gr/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37 \%$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ rr/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= \frac{37 \% \times 1190 \text{ gr/L}}{36,42 \text{ gr/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL}$$

Larutan HCl 1 N dibuat dengan cara mencampurkan 8,27 mL HCl pekat 37% dengan aquades 15 mL dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

### L.3.8 Pembuatan Metanol 50 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Metanol 50 % dibuat dengan cara memasukkan 5 mL larutan metanol 99,8 % ke dalam labu ukur 10 mL yang berisi 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

### Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air

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

Keterangan: a = berat cawan kosong  
 b = berat cawan + sampel sebelum di oven  
 c = berat cawan + sampel

#### L.4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Segar

##### L.4.1.1 Pengukuran Berat Cawan Kosong Konstan

| Sebelum di oven | Berat Cawan Kosong (gr) |         |         |         |
|-----------------|-------------------------|---------|---------|---------|
|                 | Cawan 1                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
|                 | 58,8618                 | 52,1661 | 51,9365 | 44,0867 |

##### L.4.1.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Basah Alga Merah *Eucheuma cottonii* Segar Sampai Konstan

| Pengulangan                  | Berat cawan kosong + sampel basah (gr) |         |         |         |
|------------------------------|--|---------|---------|---------|
|                              | Cawan 1                                | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
| Sebelum di oven              | 61,3638                                | 54,6634 | 54,4983 | 46,5816 |
| Pengulangan 1                | 59,5049                                | 53,1217 | 52,8069 | 45,0361 |
| Pengulangan 2                | 59,2295                                | 52,5826 | 52,3419 | 44,5169 |
| Pengulangan 3                | 59,2074                                | 52,5274 | 52,2918 | 44,4540 |
| Pengulangan 4                | 59,2005                                | 52,5092 | 52,2841 | 44,4469 |
| Pengulangan 5                | 59,1980                                | 52,5063 | 52,2827 | 44,4456 |
| Pengulangan 6                | 59,1971                                | 52,5055 | 52,2809 | 44,4454 |
| Pengulangan 7                | 59,1962                                | 52,5045 | 52,2814 | 44,4456 |
| Rata-rata berat konstan (gr) | 59,5121                                | 52,8650 | 52,6335 | 44,7965 |

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

$$= \frac{(61,3638 - 59,5121)}{(61,3638 - 58,8618)} \times 100\%$$

$$= \frac{1,8517}{2,5020} \times 100\%$$

$$= 74,01 \%$$

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

$$= \frac{(54,6634 - 52,8650)}{(54,6634 - 52,1661)} \times 100\%$$

$$= \frac{1,7984}{2,4973} \times 100\%$$

$$= 72,01\%$$

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

$$= \frac{(54,4983 - 52,6335)}{(54,4983 - 51,9365)} \times 100\%$$

$$= \frac{1,8648}{2,5618} \times 100\%$$

$$= 72,79 \%$$

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

$$= \frac{(46,5816 - 44,7965)}{(46,5816 - 44,0867)} \times 100\%$$

$$= \frac{1,7851}{2,4949} \times 100\%$$

$$= 71,55 \%$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{74,01\% + 72,01\% + 72,79\% + 71,55\%}{4} = 72,59 \%$$

#### L.4.2 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan Sinar Matahari Langsung

##### L.4.2.1 Pengukuran Berat Cawan Kosong Konstan

|                 | Berat Cawan Kosong (gr) |         |         |         |
|-----------------|-------------------------|---------|---------|---------|
| Sebelum di oven | Cawan 1                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |

58,8700      41,3434      43,9552      44,0766

L.4.2.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan Sinar Matahari Langsung Sampai Konstan

| Pengulangan                  | Berat cawan kosong + sampel kering (gr) |         |         |         |
|------------------------------|---|---------|---------|---------|
|                              | Cawan 1                                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
| Sebelum di oven              | 61,4253                                 | 43,8874 | 46,4695 | 46,5624 |
| Pengulangan 1                | 61,0909                                 | 43,5349 | 46,1301 | 46,1804 |
| Pengulangan 2                | 61,0281                                 | 43,4734 | 46,0281 | 46,1193 |
| Pengulangan 3                | 61,0083                                 | 43,4552 | 46,0597 | 46,0994 |
| Pengulangan 4                | 60,9972                                 | 43,4475 | 46,0526 | 46,0918 |
| Pengulangan 5                | 60,9921                                 | 43,4365 | 46,0473 | 46,0856 |
| Pengulangan 6                | 60,9876                                 | 43,4365 | 46,0425 | 46,0801 |
| Pengulangan 7                | 60,9839                                 | 43,4334 | 46,0411 | 46,0774 |
| Rata-rata berat konstan (gr) | 61,0126                                 | 43,4596 | 46,0573 | 46,1049 |

$$\begin{aligned}
 \text{a. } \text{kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(61,4253 - 61,0126)}{(61,4253 - 58,8700)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,4127}{2,5553} \times 100\% \\
 &= 16,15 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. } \text{kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(43,8874 - 43,4596)}{(43,8874 - 41,3434)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,4278}{2,544} \times 100\% \\
 &= 16,81 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(46,4695 - 46,0573)}{(46,4695 - 43,9552)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,4122}{2,5143} \times 100\% \\
 &= 16,39 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{d. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(46,5624 - 46,1049)}{(46,5624 - 44,0766)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,4575}{2,4858} \times 100\% \\
 &= 18,40 \%
 \end{aligned}$$

$$\text{Kadar air rata - rata} = \frac{16,15 \% + 16,81 \% + 16,39 \% + 18,40 \%}{4} = 16,9 \%$$

#### L.4.3 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan Diangin-Anginkan

##### L.4.3.1 Pengukuran Berat Cawan Kosong Konstan

| Sebelum di oven | Berat Cawan Kosong (gr) |         |         |         |
|-----------------|-------------------------|---------|---------|---------|
|                 | Cawan 1                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
|                 | 58,8572                 | 43,9387 | 52,1606 | 51,9192 |

##### L.4.3.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan Diangin-anginkan Sampai Konstan

| Pengulangan     | Berat cawan kosong + sampel kering (gr) |         |         |         |
|-----------------|---|---------|---------|---------|
|                 | Cawan 1                                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
| Sebelum di oven | 61,3821                                 | 46,4432 | 54,6263 | 54,5458 |
| Pengulangan 1   | 60,7853                                 | 45,8509 | 54,0603 | 53,9211 |

|                              |         |         |         |         |
|------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Pengulangan 2                | 60,7343 | 45,8034 | 54,8034 | 53,8763 |
| Pengulangan 3                | 60,7217 | 45,7883 | 54,7883 | 53,8555 |
| Pengulangan 4                | 60,7079 | 45,7769 | 53,9892 | 53,8487 |
| Pengulangan 5                | 60,6828 | 45,7575 | 53,9624 | 53,8225 |
| Pengulangan 6                | 60,6737 | 45,7506 | 53,9537 | 53,8125 |
| Pengulangan 7                | 60,6657 | 45,7506 | 53,434  | 53,8025 |
| Rata-rata berat konstan (gr) | 60,7102 | 45,7826 | 54,1416 | 53,8484 |

$$\begin{aligned}
 \text{a. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(61,3821 - 60,7102)}{(61,3821 - 58,8572)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,6719}{2,5249} \times 100\% \\
 &= 20,78 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(46,4432 - 45,7826)}{(46,4432 - 43,9387)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,6606}{2,4858} \times 100\% \\
 &= 26,57 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(54,6263 - 54,1416)}{(54,6263 - 52,1606)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,4847}{2,4657} \times 100\% \\
 &= 19,65 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{d. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(54,5458 - 53,8484)}{(54,5458 - 51,9192)} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$= \frac{0,6974}{2,6266} \times 100\%$$

$$= 26,55 \%$$

$$\text{Kadar air rata – rata} = \frac{20,78 \% + 26,57 \% + 19,65 \% + 26,55 \%}{4} = 23,38 \%$$

#### L.4.4 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan Dioven

##### L.4.4.1 Pengukuran Berat Cawan Kosong Konstan

| Sebelum di oven | Berat Cawan Kosong (gr) |         |         |         |
|-----------------|-------------------------|---------|---------|---------|
|                 | Cawan 1                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
|                 | 44,0837                 | 41,3359 | 65,0895 | 53,9889 |

##### L.4.4.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan Dioven Sampai Konstan

| Pengulangan                  | Berat cawan kosong + sampel kering (gr) |         |         |         |
|------------------------------|---|---------|---------|---------|
|                              | Cawan 1                                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
| Sebelum di oven              | 46,5583                                 | 43,8471 | 67,5968 | 56,5812 |
| Pengulangan 1                | 46,3245                                 | 43,6171 | 67,3549 | 56,333  |
| Pengulangan 2                | 46,2725                                 | 43,5616 | 67,3024 | 56,2822 |
| Pengulangan 3                | 46,2490                                 | 43,5359 | 67,2785 | 56,2551 |
| Pengulangan 4                | 46,2398                                 | 43,5262 | 67,2719 | 56,2405 |
| Pengulangan 5                | 46,2326                                 | 43,5209 | 67,2670 | 56,2427 |
| Pengulangan 6                | 46,2262                                 | 43,5117 | 67,2539 | 56,2352 |
| Pengulangan 7                | 46,2216                                 | 43,5068 | 67,2287 | 56,2287 |
| Rata-rata berat konstan (gr) | 46,2523                                 | 43,5400 | 67,2796 | 56,2596 |

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

$$= \frac{(46,5583 - 46,2523)}{(46,5583 - 44,0837)} \times 100\%$$

$$= \frac{0,306}{2,4746} \times 100\%$$

$$= 12,36 \%$$

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

$$= \frac{(43,8471 - 43,5400)}{(43,8471 - 41,3359)} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3071}{2,6266} \times 100\%$$

$$= 11,69 \%$$

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

$$= \frac{(67,5968 - 67,2796)}{(67,5968 - 65,0895)} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3172}{2,5073} \times 100\%$$

$$= 12,65 \%$$

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

$$= \frac{(56,5812 - 56,2596)}{(56,5812 - 53,9889)} \times 100\%$$

$$= \frac{0,3216}{2,6266} \times 100\%$$

$$= 12,43 \%$$

$$\text{Kadar air rata - rata} = \frac{12,36 \% + 11,69 \% + 12,65 \% + 12,43 \%}{4} = 12,28 \%$$

#### L.4.5 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Alga Merah *Eucheuma cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan *Freeze Drying*

##### L.4.5.1 Pengukuran Berat Cawan Kosong Konstan

Berat Cawan Kosong (gr)

Sebelum di oven    Cawan 1    Cawan 2    Cawan 3    Cawan 4

54,2518      51,9281      54,6819      65,0842

L.4.5.2 Pengukuran Berat Cawan + Sampel Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Dengan Metode Pengeringan *Freeze Drying* Sampai Konstan

| Pengulangan                  | Berat cawan kosong + sampel kering (gr) |         |         |         |
|------------------------------|---|---------|---------|---------|
|                              | Cawan 1                                 | Cawan 2 | Cawan 3 | Cawan 4 |
| Sebelum di oven              | 55,2562                                 | 52,9258 | 55,6887 | 66,0877 |
| Pengulangan 1                | 55,2314                                 | 52,8968 | 55,6638 | 66,0602 |
| Pengulangan 2                | 55,2222                                 | 52,8853 | 55,6537 | 66,0493 |
| Pengulangan 3                | 55,2173                                 | 52,8784 | 55,6493 | 66,0491 |
| Pengulangan 4                | 55,2122                                 | 52,8764 | 55,6464 | 66,0458 |
| Pengulangan 5                | 55,2112                                 | 52,8719 | 55,6445 | 66,0442 |
| Pengulangan 6                | 55,2112                                 | 52,8740 | 55,6435 | 66,0425 |
| Rata-rata berat konstan (gr) | 55,2176                                 | 52,8805 | 55,6502 | 66,0485 |

$$\begin{aligned}
 \text{a. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(55,2562 - 55,2176)}{(55,2562 - 54,2518)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0386}{1,0008} \times 100\% \\
 &= 3,85 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(52,9258 - 52,8805)}{(52,9258 - 51,9281)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0453}{0,9977} \times 100\% \\
 &= 4,54 \%
 \end{aligned}$$

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

$$= \frac{(55,6887 - 55,6502)}{(55,6887 - 54,6819)} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0385}{2,5923} \times 100\%$$

$$= 1,48 \%$$

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

$$= \frac{(66,0877 - 66,0485)}{(66,0877 - 65,0842)} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0392}{1,0035} \times 100\%$$

$$= 3,9 \%$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{3,85\% + 4,54\% + 1,48\% + 3,9\%}{4} = 3,44 \%$$

## Lampiran 5 Perhitungan Rendemen

### L.5.1 Rendemen Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Metode Pengeringan Sinar Matahari Langsung

Diketahui:

Berat botol vial kosong = 12,91 gram

Berat botol vial + ekstrak pekat = 19,76 gram

Berat ekstrak pekat = 6,85 gram

Berat sampel = 50 gram

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

$$= \frac{6,85 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 13,7 \%$$

### L.5.2 Rendemen Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Metode Pengeringan diangin-anginkan

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 123,75 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 128,03 gram

Berat ekstrak pekat = 4,28 gram

Berat sampel = 50 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{4,28 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,56 \% \end{aligned}$$

### L.5.3 Rendemen Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Metode Pengeringan di oven

Diketahui:

Berat botol vial kosong = 12,34 gram

Berat botol vial + ekstrak pekat = 17,77 gram

Berat ekstrak pekat = 5,43 gram

Berat sampel = 50 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{5,43 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 10,86 \% \end{aligned}$$

### L.5.4 Rendemen Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Kering Metode Pengeringan *freeze drying*

Diketahui:

Berat botol vial kosong = 12,33 gram

Berat botol vial + ekstrak pekat = 16,61 gram

Berat ekstrak pekat = 4,26 gram

Berat sampel = 30 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{4,26 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 14,2 \% \end{aligned}$$

## Lampiran 6. Perhitungan Aktivitas Antioksidan nilai EC<sub>50</sub>

### L.6.1 Sampel Kering Angin

| Konsentras | % absorbansi |
|------------|--------------|
| 10         | 7,627        |
| 20         | 14,423       |
| 30         | 18,766       |
| 40         | 19,019       |
| 50         | 19,232       |

Transform of Exponential decay



[Agonist] vs. normalized response -- Variable slope

Best-fit values

HillSlope 0,5731

EC50 509,2

logEC50 2,707

Std. Error

HillSlope 0,1449

EC50 359,8

95% CI (profile likelihood)

HillSlope 0,1661 to 1,071

EC50 144 to 593839

logEC50 2,158 to 5,774

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 3

R square 0,8752

Absolute Sum of Squares 12,43

Sy.x 2,036

Constraints

EC50 EC50 > 0

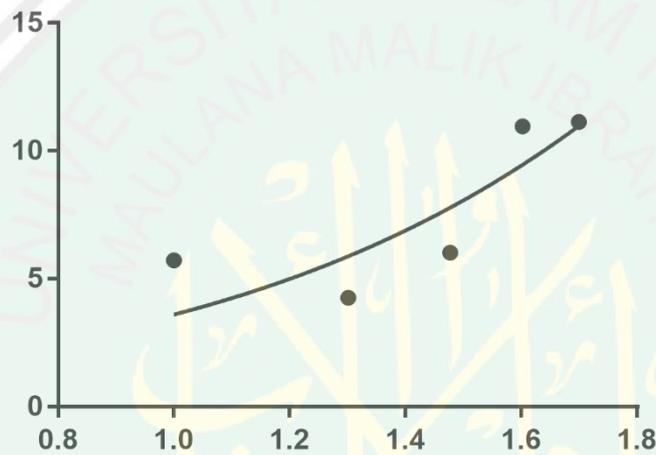
Number of points  
 # of X values  
 # Y values analyzed

15  
 5

**L.6.2 Sampel Kering Oven**

|  |                  |        |
|--|------------------|--------|
|  | 1                | 5,724  |
|  | 1,30102999566398 | 4,255  |
|  | 1,47712125471966 | 6,013  |
|  | 1,60205999132796 | 10,953 |
|  | 1,69897000433602 | 11,125 |

**Transform of Exponential decay**



Comparison of Fits  
 Null hypothesis  
 Alternative hypothesis  
 P value  
 Conclusion (alpha = 0.05)  
 Preferred model  
 F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

|           |        |
|-----------|--------|
| Bottom    | = 0    |
| Top       | = 100  |
| LogEC50   | 2,925  |
| HillSlope | 0,7416 |
| EC50      | 841,6  |
| Span      | = 100  |

|                             |                     |
|-----------------------------|---------------------|
| Std. Error                  |                     |
| LogEC50                     | 0,5818              |
| HillSlope                   | 0,3112              |
| 95% CI (profile likelihood) |                     |
| LogEC50                     | 2,003 to ???        |
| HillSlope                   | -0,1431 to 2,551    |
| EC50                        | 100,6 to ???        |
| Goodness of Fit             |                     |
| Degrees of Freedom          | 3                   |
| R square                    | 0,6935              |
| Absolute Sum of Squares     | 12,53               |
| Sy.x                        | 2,044               |
| Constraints                 |                     |
| Bottom                      | Bottom = 0          |
| Top                         | Top = 100           |
| One curve for all data sets |                     |
| Best-fit values             |                     |
| Bottom                      | = 0                 |
| Top                         | = 100               |
| LogEC50                     | 2,925               |
| HillSlope                   | 0,7416              |
| EC50                        | 841,6               |
| Span                        | = 100               |
| Std. Error                  |                     |
| LogEC50                     | 0,5818              |
| HillSlope                   | 0,3112              |
| 95% CI (profile likelihood) |                     |
| LogEC50                     | 2,003 to ???        |
| HillSlope                   | -0,1431 to 2,551    |
| EC50                        | 100,6 to ???        |
| Goodness of Fit             |                     |
| Degrees of Freedom          |                     |
| R square                    | 0,6935              |
| Absolute Sum of Squares     | 12,53               |
| Sy.x                        |                     |
| Constraints                 |                     |
| Bottom                      | Bottom = 0          |
| Top                         | Top = 100           |
| LogEC50                     | LogEC50 is shared   |
| HillSlope                   | HillSlope is shared |
| Number of points            |                     |

# of X values

15

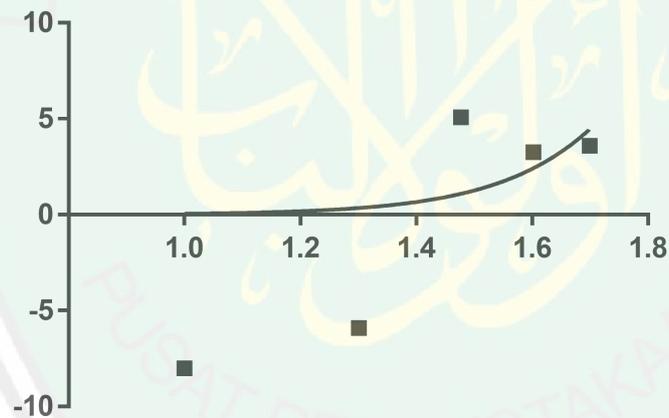
# Y values analyzed

5

### L.6.3 Sampel Kering Jemur

|                  |        |
|------------------|--------|
| 1                | -8,004 |
| 1,30102999566398 | -5,911 |
| 1,47712125471966 | 5,071  |
| 1,60205999132796 | 3,261  |
| 1,69897000433602 | 3,585  |

#### Transform of Exponential decay



log(agonist) vs. normalized response -- Variable slope

Best-fit values

LogEC50 2,171

HillSlope 2,822

EC50 148,2

Std. Error

LogEC50 1,568

HillSlope 8,677

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 -infinity to +infinity

HillSlope -infinity to +infinity

EC50

|                         |        |
|-------------------------|--------|
| Goodness of Fit         |        |
| Degrees of Freedom      | 3      |
| R square                | 0,1767 |
| Absolute Sum of Squares | 121,4  |
| Sy.x                    | 6,36   |

|                     |    |
|---------------------|----|
| Number of points    |    |
| # of X values       | 15 |
| # Y values analysed | 5  |

**L.6.4 Sampel Freeze Drying**

|                  |       |
|------------------|-------|
| 1                | 2,847 |
| 1,30102999566398 | 1,777 |
| 1,47712125471966 | 4,826 |
| 1,60205999132796 | 4,918 |
| 1,69897000433602 | 4,256 |

**Transform of Exponential decay**



log(agonist) vs. normalized response -- Variable slope

|                 |        |
|-----------------|--------|
| Best-fit values |        |
| LogEC50         | 4,553  |
| HillSlope       | 0,4543 |
| EC50            | 35750  |
| Std. Error      |        |
| LogEC50         | 2,004  |
| HillSlope       | 0,299  |

|                             |                    |
|-----------------------------|--------------------|
| 95% CI (profile likelihood) |                    |
| LogEC50                     | 2,314 to +infinity |
| HillSlope                   | -0,384 to 1,91     |
| EC50                        | 205,8 to ???       |
| Goodness of Fit             |                    |
| Degrees of Freedom          | 3                  |
| R square                    | 0,4816             |
| Absolute Sum of Squares     | 3,879              |
| Sy.x                        | 1,137              |
| Number of points            |                    |
| # of X values               | 15                 |
| # Y values analyzed         | 5                  |

## LAMPIRAN 7 DOKUMENTASI PENELITIAN

### L.7.1 Preparasi Sampel *Euchemum cottonii*



Gambar 1. *Euchemum cottonii* basah

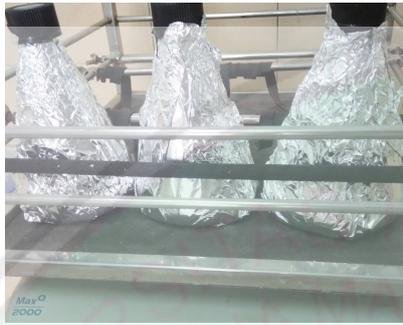


Gambar 2. *Euchemum cottonii* kerino



Gambar 3. Serbuk *Euchemum cottonii*

### L.7.2 Ekstraksi Maserasi



Gambar 4. Serbuk *Eucheuma cottonii* saat di sshaker



Gambar 5. Filtrat *Eucheuma cottonii*



Gambar 6. Pemekatan ekstrak metanol *Eucheuma cottonii*



Gambar 7. Ekstrak pekat *Eucheuma cottonii* pengeringan diangin-anginkan

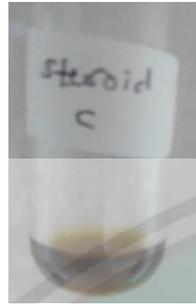


Gambar 9. Ekstrak pekat *Eucheuma cottonii* pengeringan sinar matahari Langsung



Gambar 10. Ekstrak pekat *Eucheuma cottonii* pengeringan

## L.7.3



Gambar 13. Positif Steroid & Triterpenoid *Eucheuma* (Pengeringan Sinar Mata)



Gambar 11. Positif steroid & Triterpenoid *Eucheuma Cottonii* pengeringan Diangin-anginkan



Gambar 12. Positif steroid & Triterpenoid *Eucheuma Cottonii* pengeringan di Oven



Gambar 15. Negatif Alkaloid *Eucheuma cottonii* Pengeringan Diangin-Anginkan

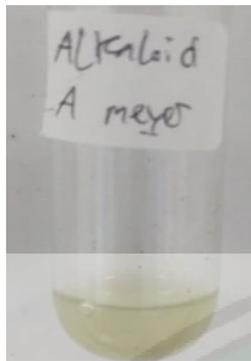


Gambar 16. Negatif Alkaloid *Eucheuma cottonii* Pengeringan di Oven

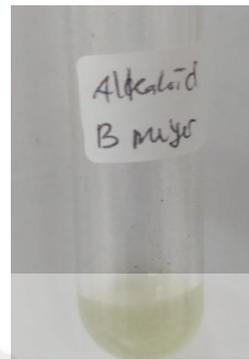
Hasil Uji Fitokimia



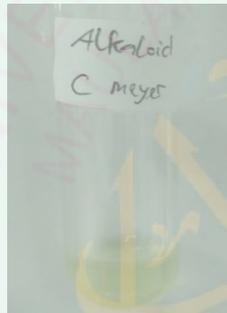
Gambar 18. Negatif Alkaloid *Eucheuma cottonii* Pengeringan Freeze drying



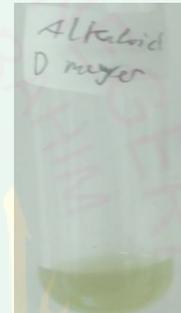
Gambar 19. Negatif Alkaloid  
*Eucheuma cottonii* Pengeringan  
diangin-anginkan



Gambar 20. Negatif Alkaloid  
*Eucheuma cottonii*  
Pengeringan di Oven



Gambar 21. Negatif Alkaloid  
*Eucheuma cottonii* Pengeringan  
Sinar Matahari Langsung

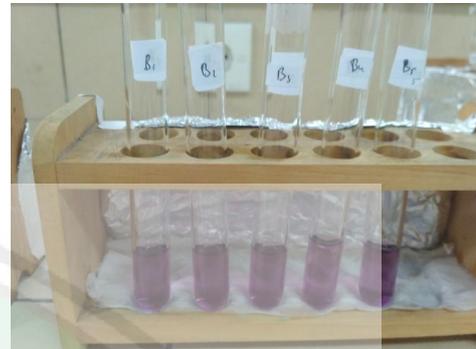


Gambar 22. Negatif Alkaloid  
*Eucheuma cottonii*  
Pengeringan Freeze drying

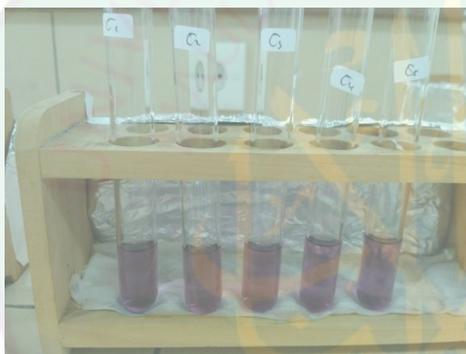
### L.7.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH



Gambar 23. Hasil Uji Sampel  
Kering Angin



Gambar 24. Hasil Uji Sampel  
Kering Oven

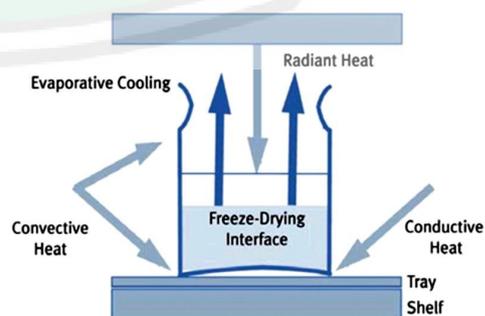


Gambar 25. Hasil Uji Sampel  
Kering Jemur



Gambar 26. Hasil Uji Sampel  
*Freeze Drying*

### L.7.5 Lampiran Instrumen Pengeringan



Gambar 27 Gambar Instrumen *Freeze Drying*