

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFORM, DAN METANOL EKSTRAK ALGA HIJAU  
*Ulva lactuca* DARI PANTAI GUNUNG KIDUL YOGYAKARTA**

**SKRIPSI**

Oleh :

**SHOVIYYAH  
NIM. 15630037**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFORM, DAN METANOL EKSTRAK ALGA HIJAU  
*Ulva lactuca* DARI PANTAI GUNUNG KIDUL YOGYAKARTA**

**SKRIPSI**

**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)**

**Oleh:**

**SHOVIYYAH  
NIM.10630030**

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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFOM, DAN METANOL EKSTRAK ALGA HIJAU *Ulva  
lactuca* DARI PANTAI GUNUNG KIDUL YOGYAKARTA**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**SHOVIYYAH**  
NIM. 15630037

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 19 Desember 2019

**Pembimbing I**

**Suci Amalia, M.Sc**  
NIP. 19821104 200901 2 007

**Pembimbing II**

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

Mengetahui,  
**Ketua Jurusan**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFOM, DAN METANOL EKSTRAK ALGA HIJAU *Ulva*  
*lactuca* DARI PANTAI GUNUNG KIDUL YOGYAKARTA**

SKRIPSI

Oleh :  
**SHOVIYYAH**  
NIM. 15630037

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 19 Desember 2019

Penguji Utama : **Himmatul Baroroh, M.Si**  
NIP. 19750730 200312 2 001



(.....)

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



(.....)

Sekretaris Penguji : **Suci Amalia, M.Sc**  
NIP. 19821104 200901 2 007



(.....)

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



(.....)

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan



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

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Shoviyyah

NIM : 15630037

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : “Uji Aktivitas Antioksidan Dan Fitokimia Fraksi Etil asetat, Klorofom, Dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca* Dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta”

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

Malang, 19 Desember 2019  
Yang membuat pernyataan



Shoviyyah  
NIM.15630037

**MOTTO**

*“Never Give Up and think big action now*



## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Mama dan abah yang selalu mendoakan dan berjuang untuk shovi yang selalu memberikan motivasi agar tidak gampang menyerah dalam menyelesaikan sesuatu. Segala ridho dan doa terus terucap dari kedua orang tua shovi hingga sampai akhirnya shovi berhasil menyelesaikan pendidikan Sarjana ini.

Kakak-kakakku yang selalu memberikan semangat berupa materi maupun motivasi hidup untuk tidak selalu mengeluh dalam menjalankan perkuliahan ini.

Kepada teman-teman kimia 2015 terima kasih sudah menjadi teman sekaligus keluarga untuk shovi dalam berjuang mendapatkan ilmu yang bermanfaat ini.

Kepada sahabat/i terima kasih atas dukungan dan selalu mendampingi dalam menyelesaikan skripsi ini hingga pada akhirnya aku bisa menjadi sarjana.

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim*

Puji dan syukur penulis panjatkan atas ke hadirat Allah SWT, berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca* dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta” shalawat serta salam tidak lupa penulis panjatkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarganya, para sahabatnya, tabi’in dan kepada umatnya hingga akhir zaman, amin.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi baik dukungan moral maupun spiritual demi suksesnya penyusunan laporan hasil penelitian ini, karena tentu saja penulis tidak dapat mengerjakan segala hal tanpa bantuan dari pihak lain. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Mama nur jenah, abah syaeni dan kakak idris - husna serta semua keluarga yang memberikan segala semangatnya buat saya.
2. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan saran dan kritikan yang membangun kepada penulis.

5. Suci Amalia, M.Sc selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi serta saran kepada penulis.
6. Tri Hadi Jatmiko, M.T selaku konsultan yang telah memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan dan arahan, serta nasihat selama pelaksanaan penelitian.
7. Sahabat-sahabatku selama di malang yang telah memberikan motivasi dan dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini, khususnya (sahabat/i, sahambat, dan kimia 15)
8. Untuk siwi, ainun, mbak azim, iis, dhefina, mbak lina, arin, suci dan brenda yang telah menemani dan memberikan dukungan hingga bisa menyelesaikan penelitian ini.

Malang, 19 Desember 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	iv
<b>MOTTO</b> .....	v
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>ABSTRAK</b> .....	xv
<b>ABSTRACT</b> .....	xvi
المخلص .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	9
2.1 Obat Herbal dalam Perspektif Islam .....	9
2.2 Alga (Rumput Laut).....	10
2.3 Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	11
2.4 Ekstraksi Maserasi.....	13
2.5 Partisi (Ekstraksi Cair-Cair) .....	14
2.6 Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan .....	15
2.7.1 Radikal Bebas .....	15
2.7.2 Antioksidan .....	16
2.7.3 Mekanisme Antioksidan .....	17
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH .....	18
2.8 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan <i>Elisa Reader</i> dan Pengukuran Kadar Air Dengan <i>Moisture Analyzer</i> .....	21
2.9 Senyawa Metabolit Sekunder pada Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	21
2.9.1 Flavanoid .....	22
2.9.2 Alkaloid .....	22
2.9.3 Saponin .....	23
2.9.4 Tanin .....	24
2.9.5 Steroid dan Triterpenoid .....	25
2.10 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik(KLTA) .....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	29
3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	29

3.2	Alat dan Bahan .....	29
3.2.1.	Alat .....	29
3.2.1.	Bahan .....	29
3.3	Rancangan Penelitian .....	30
3.4	Tahapan Penelitian .....	30
3.5	Pelaksanaan Penelitian .....	31
3.5.1	Uji Taksonomi .....	31
3.5.2	Preparasi Sampel.....	31
3.5.3	Penentuan Kadar Air dengan <i>Moisture Analyzer</i> .....	31
3.5.4	Ekstraksi Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	32
3.5.5	Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Peekat Etanol 96 % .....	32
3.5.6	Uji Antioksidan dengan DPPH.....	33
3.5.6.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	33
3.5.6.2	Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel .....	33
3.5.7	Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder .....	34
3.5.7.1	Identifikasi Menggunakan Reagen Fitokimia .....	34
3.5.7.1.1	Uji Alkaloid .....	34
3.5.7.1.2	Uji Flavonoid .....	35
3.5.7.1.3	Uji Tanin.....	35
3.5.7.1.4	Uji Saponin .....	35
3.5.7.1.5	Uji Tripenoid dan Steroid .....	35
3.5.7.2	Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik .....	35
3.5.7.2.1	Persiapan Plat KLT.....	35
3.5.7.2.2	Persiapan Fase Gerak (Eluen).....	36
3.5.7.2.3	Penotolan Sampel.....	36
3.5.7.2.4	Proses Elusi.....	37
3.5.7.2.5	Identifikasi Noda.....	37
3.5.8	Analisis Kadar Klorofil a dan b .....	37
3.5.8.1.1	Analisis Kadar Klorofil a .....	37
3.5.8.1.2	Analisis Kadar Klorofil b .....	37
3.5.9	Analisis Data.....	38
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
4.1	Uji Taksonomi Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	39
4.2	Preparasi Sampel .....	39
4.3	Penentuan Kadar Air .....	40
4.4	Ekstraksi Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	40
4.5	Hasil Analisis Kadar Klorofil a dan b pada Ekstrak Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	42
4.6	Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Ekstraksi Etil Asetat dengan Penambahan Reagen .....	43
4.7	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH .....	44
4.7.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	44
4.7.2	Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel .....	45
4.8	Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik .....	49
4.9	Pemanfaatan Alga Hijau dalam Perspektif Agama Islam .....	51

<b>BAB IV PENUTUP</b> .....	55
5.1 Kesimpulan.....	55
5.2 Saran .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	56
<b>LAMPIRAN</b> .....	65



## DAFTAR TABEL

Tabel. 1	Komposisi Nilai Nutrisi <i>Ulva lactuca</i> .....	12
Tabel. 2	Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan .....	14
Tabel. 3	Ketentuan Kekuatan Antioksidan .....	20
Tabel. 4	Hasil Maserasi Serbuk Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	41
Tabel. 5	Hasil Partisi Ekstrak Etanol 96 % dengan Variasi Pelarut .....	42
Tabel. 6	Hasil Uji Fitokimia Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	43
Tabel. 7	Persen (%) Aktivitas Antioksidan .....	46
Tabel. 8	Hasil Uji Beda Nyata Menggunakan SPSS 21 .....	47
Tabel. 9	Nilai IC <sub>50</sub> Masing-masing Ekstrak .....	48
Tabel. 10	Data Penampakan Noda Dari KLT Analitik Senyawa Flavonoid ...	50



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	1.1.	Gambar Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	11
Gambar	1.2.	Reaksi Inisiasi dan Propagasi Asam Lemak .....	17
Gambar	1.3.	Reaksi Terminasi Oksidasi Lemak .....	17
Gambar	1.4.	Struktur Kimia DPPH .....	18
Gambar	1.5.	Reaksi DPPH dengan Senyawa Flavonoid .....	19
Gambar	1.6.	Struktur Dasar Flavonoid .....	22
Gambar	1.7.	Struktur Dasar Alkaloid .....	23
Gambar	1.8.	Struktur Triterpenoid dan Saponin .....	24
Gambar	1.9.	Struktur Tanin .....	24
Gambar	1.10.	Struktur Steroid dan Triterpenoid .....	25
Gambar	1.11.	Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,1 mM .....	45
Gambar	1.12.	Gambar Perbandingan Aktivitas Antioksidan .....	46
Gambar	1.13.	Dugaan Reaksi Senyawa Flavonoid dengan DPPH .....	48
Gambar	1.14.	Hasil KLT Analitik Eluen Terbaik .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Rancangan Penelitian .....	63
Lampiran 2	Diagram Alir .....	64
Lampiran 3	Perhitungan .....	69
Lampiran 4	Data Penelitian .....	75
Lampiran 5	Identifikasi Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	82
Lampiran 6	Dokumentasi Penelitian .....	84



## ABSTRAK

Shoviyyah. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca* Dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Suci Amalia, M.Sc.; Konsultan: Tri Hadi Jatmiko, M.T.; Pembimbing II: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

---

**Kata Kunci:** *Ulva lactuca*, Ekstrak Etanol 96%, Antioksidan, DPPH.

Alga hijau merupakan tanaman laut yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimanfaatkan sebagai antioksidan. Q.S asy Syu'araa ayat 7 menunjukkan bahwa tumbuhan yang baik yang dapat digunakan adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat untuk pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan hasil uji fitokimia pada alga hijau *Ulva lactuca*.

Penelitian ini menggunakan *Ulva lactuca* yang diisolasi dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Selanjutnya dipartisi dengan varian pelarut etil asetat, kloroform, dan metanol. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan variasi konsentrasi menggunakan *Elisa reader*. Senyawa metabolit sekunder diidentifikasi dengan reagen dan yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dilakukan pemisahan dengan KLT analitik.

Hasil dari uji fitokimia pada alga hijau *Ulva lactuca* menggunakan penambahan reagen menunjukkan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Hasil dari aktivitas antioksidan alga hijau *Ulva lactuca* menunjukkan persen (%) aktivitas antioksidan terbaik pada fraksi etil asetat sebesar 43,18 % dan hasil persen (%) aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar sebesar 24,34 %. Nilai  $IC_{50}$  yang dapat meredamkan radikal DPPH yaitu fraksi etil asetat sebesar 84,71  $\mu\text{g/mL}$ . Pemisahan senyawa KLT analitik menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada noda spot 1, 3, 7 dan 8 dengan variasi eluen n-heksana : etil asetat (3:2).

## ABSTRACT

Shoviyyah. 2018. Antioxidant Activity test and Phytochemicals of Ethyl Acetate, Chloroform, n-Hexane Fractions of Extract Green Algae *Ulva lactuca* in Gunung Kidul Beach Yogyakarta. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Suci Amalia, M.Sc.; Consultant: Tri Hadi Jatmiko, M.T.; Supervisor II: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

---

**Keywords:** *Ulva lactuca*, Ekstraks Etanol 96%, Antioxidant, DPPH.

Green algae is marine plants that contain secondary metabolites can use as antioxidant. Q.S asy Syu'araa verse 7 shows that good plants that can be used are plants that have many benefits for treatment. This research aims to determine the antioxidant activity and phytochemical test results on green algae *Ulva lactuca*.

This research used *Ulva lactuca* which was isolated by maceration extraction method using 96% ethanol solvent. Next step is partitioned with variants of ethyl acetate, chloroform, and methanol. Antioxidant activity test using DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) with various concentrations using *Elisa reader*. Secondary metabolites are identified by reagents and that have the highest antioxidant activity are separated by analytic TLC.

Phytochemical screening of green algae *Ulva lactuca* using the addition of reagents showed the presence of flavonoid, alkaloid, steroid, and triterpenoid compounds. The results of the antioxidant activity of green algae *Ulva lactuca* showed the best percent (%) of antioxidant activity in the ethyl acetate fraction of 43.18 % and the yield ethanol (%) of the antioxidant activity in crude extracts of 24.34 %. The IC<sub>50</sub> value that can reduce DPPH radicals is the ethyl acetate fraction of 84.71 µg / mL. Separation of analytical TLC compounds showed the presence of flavonoid compounds in spot 1, 3, 7 and 8 stains with variations in the n-hexane: ethyl acetate (3: 2).

## المستخلص

صافية، ٢٠١٩. تجربة عملية المواد المضادة للأكسدة ولا الجزء الكيميائي النباتي من المقتطفات الخلّات الإيثيل، الكلوروفوم، و الميثانول من الطحلب الأخضر *أولفا لاكتوكا* من شاطئ البحر جونونج كيدول يوجياكرتا. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى : سوجي أماليا ، المجستير ؛ المشتشار : تري حدي جتمقو، المجستير ؛ المشرفاالثني : أ. غنائم فشا، المجستير

**الكلمات الرئيسية:** *أولفا لاكتوكا*، مقتطفات الميثانول ٩٦%، مواد مضادة للأكسدة، فينيل بيكريل هيدرازيل

الطحلب الأخضر هو نبات بحري لديه محتويات المستحضر المستقلبات الثانوية حيث يستفيد منها كالمواد المضادة للأكسدة. دلت سورة الشعراء: ٧ على أن الصحة هي نعمة كبيرة أنعم الله على الناس. يهدف هذا البحث إلى معرفة عملية المواد المضادة للأكسدة ونتيجة التجربة النباتية لدى الطحلب الأخضر *أولفا لاكتوكا*.

يستخدم هذا البحث *أولفا لاكتوكا* المعزولة بطريقة استخراج ميرياسي باستخدام مسيل الإيثانول ٩٦%. وبالتالي تقسم بالتغيرات المسيل خلّات الإيثيل، كلوروفوم، وميثانول. تستخدم تجربة عملية المواد المضادة للأكسدة طريقة ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل بتقنن التركيز باستخدام *إيسا ريدر*. ويتم تحديد المستحضر المستقلب الثانوي بالكاشف الذي يمتلك أعلى عمليات المواد المضادة للأكسدة ويقوم بفصل استشراب طبقة رقيقة.

تحصل تجربة النباتية لدى الطحلب الأخضر على استخدام الكاشف حيث تدل إلى وجود المستحضر الفلافونويد، الشبه القلوي، الستيرويد و التريترفينويد. تدل نتيجة العملية المواد المضادة للأكسدة لدى الطحلب الأخضر *أولفا لاكتوكا* إلى (%) أحسن عمليات المواد المضادة للأكسدة لدى الجزء الكيميائي النباتي من خلّات الإيثيل خلال ٤٣% ونتيجة (%) عملية المواد المضادة للأكسدة لدى استخراج الحشنة خلال ٢٤٤%. تكون قيمة التركيز المادة الموافق للتثبيط النصف التي تقدر على كتم فينيل بيكريل هيدرازيل المتطرف هي الجزء خلّات الإيثيل خلال ٨٦٧١ غرام الصغرى/ مليلتر. يدل فصل مستحضر استشراب طبقة رقيقة إلى وجود مستحضر الفلافونويد بثمانية بقعات البقع لدى تنوع شاطف ن-الهكسان: إيثيل العقارات (٣:٢) و قيمة الترددات اللاسلكية ٠,٩٦.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Laut adalah lambang dari kesuburan sekaligus kemakmuran (Djamil, 2004). Gunung Kidul mempunyai garis pantai sepanjang  $\pm 70$  Km dan sangat potensial untuk dikembangkan sebagai pusat pertumbuhan ekonomi baik melalui pengembangan wisata alam ataupun melalui kegiatan ekonomi berbasis pemanfaatan sumberdaya laut, seperti ikan, lobster dan makroalga. Kemajuan zaman dewasa ini telah membuat sebagian besar masyarakat mengalami perubahan pola hidup termasuk diantaranya dalam hal makanan. Pola makanan yang tidak tepat dan sehat dapat menyebabkan munculnya beragam penyakit.

Indonesia adalah negara bahari dengan keanekaragaman hayati laut terbesar di dunia yang memiliki total luas perairan nusantara seluas 2,8 juta Km<sup>2</sup> dan laut teritorial seluas 0,3 juta Km<sup>2</sup>, untuk panjang garis pantai lebih dari 81.000 Km dan jumlah pulau lebih dari 18.000 pulau. Laut beserta kawasan pesisir Indonesia mempunyai manfaat dan potensi ekonomi (pembangunan) yang sangat besar dan beraneka ragam (Kusumastanto, 2011).

Alga hijau *Ulva lactuca* bermanfaat untuk obat tradisional sebagai obat diet (Wibowo, 2001), bahan makanan dan obat-obatan karena kaya akan protein, lipid, vitamin dan mineral. Temuan terakhir membuktikan bahwa rumput laut berpotensi sebagai antivirus (Manilal, dkk., 2009), antibakteri (Izzati, 2007), antitumor (Zandi, dkk., 2010) dan antioksidan (Lestario, dkk., 2008). Alga hijau juga bermanfaat sebagai antioksidan pada minyak ikan (Arbi, dkk., 2016).

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya proses oksidasi (Tamat, dkk., 2007). Menurut Heo (2005), menyatakan bahwa antioksidan bersifat karsinogenik dan mampu menimbulkan kerusakan hati, sehingga permintaan terhadap antioksidan alami terus mengalami peningkatan. Ada berbagai sumber antioksidan alami dari laut, seperti rumput laut, lamun, sponge, dan sebagainya (Santoso, dkk., 2012).

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab penyakit yang menyerang sel tubuh manusia. Radikal bebas terdapat dalam tubuh manusia sebagai hasil samping dari proses pembentukan energi. Akan tetapi, radikal bebas ini dibutuhkan dalam jumlah sedikit untuk membantu sel darah putih membunuh kuman. Apabila radikal bebas terlalu banyak, maka akan merusak tubuh. Oleh karena itu, dibutuhkan senyawa antioksidan yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat diredam (Winarsi, 2007).

Segala macam potensi alam baik yang terdapat di laut maupun di darat merupakan salah satu respon untuk berbagai kebutuhan makhluk hidup yang tidak ternilai harganya. Penelitian ini akan menggunakan sampel alga hijau. Hal ini dilakukan agar lebih banyak senyawa yang dapat terekstrak. Tuhan menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini pasti ada tujuan dan memberikan manfaat atau kebaikan. Salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, sebagaimana firman Allah dalam QS. asy Syu'araa: 7.

أَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

*Artinya: “ Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? “ (QS. asy Syu'araa: 7).*

Kata *ila* pada ayat ini merupakan makna batas akhir. *Ila* berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya dengan aneka tanah dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan. Kata “Zaujin kariim” pada ayat ini menjelaskan tentang segala macam tumbuh-tumbuhan yang bersifat baik. Tumbuhan yang paling baik adalah tumbuhan yang bermanfaat. Allah SWT memerintahkan kepada manusia untuk memperlihatkan, merenungi, dan berfikir sesuai batas kemampuan atas ciptaan-Nya dengan melakukan penelitian alam (al Maraghi, 1992). Beberapa tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat dan antioksidan yaitu alga hijau (*Ulva lactuca*).

Kata *kariim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2003). Hal ini memberikan kesadaran kepada manusia untuk tunduk dan patuh kepadaNya. Salah satunya dengan cara bersyukur dan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan tersebut untuk kemaslahatan umat manusia, misalnya dimanfaatkan sebagai obat.

Makro alga atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut merupakan salah satu potensi biota laut perairan Indonesia. Saat ini sudah ditemukan 555 jenis alga yang berdasarkan kandungan pigmennya dikelompokkan menjadi 4 kelas, yakni : Rhodophyceae, Phaeophyceae, Chlorophyceae, dan Cyanophyceae (Anggadiredja, dkk., 2006).

Chlorophyceae disebut juga alga hijau yang memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi. Selain itu, komponen utama dari alga hijau adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu, dan mengandung mineral

berupa Fe dan Mg (Xiao-Ling, dkk., 2003). Alga ini mengandung senyawa antioksidan seperti klorofil yang cukup tinggi (13,15%), warna hijau ini disebabkan klorofil yang dihasilkan melebihi karoten dan xantofil (Chapman, 1970).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak alga hijau akan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH dipilih karena memiliki beberapa kelebihan antara lain sederhana, mudah, cepat, dan memerlukan sedikit sampel. Menurut Pratiwi, dkk. (2012) Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah % aktivitas antioksidan yang didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkal radikal bebas.

Beberapa penelitian menunjukkan kandungan senyawa antioksidan pada alga hijau terutama berupa senyawa antioksidan yang dapat menghambat oksidasi radikal bebas. Tamat, dkk. (2007) melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak *Ulva reticula*. Penelitian ini menggunakan ekstraksi maserasi tunggal dengan pelarut metanol (polar) sebagai pelarut ekstrak kasar dan dihidrolisis menggunakan HCl 2 N, difraksinasi dengan pelarut yang berbeda yaitu kloroform (semi polar), n-heksana (nonpolar), dan air (polar). Senyawa fitokimia yang terkandung pada *Ulva lactuca* adalah triterpenoid. Berdasarkan hasil pengujian antioksidan dengan metode DPPH, aktivitas antioksidan pada sub-fraksi I menggunakan pelarut kloroform tanpa hidrolisis dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 270,31 ppm dan sub-fraksi II menggunakan pelarut n-heksana tanpa hidrolisis dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 376,44 ppm. Penelitiannya menggunakan metode ekstraksi yang disertai dengan hidrolisis yang menghasilkan rendemen fraksi dari pelarut n-heksana, kloroform, dan air secara berturut-turut

sebesar 0,543; 0,283; 1,265 % dan nilai aktivitas antioksidannya atau IC<sub>50</sub> sebesar 979,67; 702,87; 365,95 µg/ml.

Febriansah (2015) melakukan uji aktivitas antioksidan alga hijau dengan ekstraksi bertingkat menggunakan metode DPPH menyatakan bahwa potensi antioksidan terkuat adalah ekstrak alga hijau menggunakan pelarut etanol 96 % dengan nilai IC<sub>50</sub> 4921,79 ppm. Konsentrasi pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan berpengaruh terhadap ekstrak yang dihasilkan.

Abirami, dkk. (2011) melakukan penelitian mengenai potensial alga hijau dengan pelarut metanol yang menjelaskan tentang senyawa fitokimia yang terkandung pada *Ulva lactuca* adalah fenol, alkaloid menggunakan eluen kloroform : metanol (1:4), saponin menggunakan eluen kloroform : aseton (4:1) dan steroid menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (7:3). Elmegeed, dkk. (2014) melakukan penelitian mengenai konstitusi fotokimia ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* menggunakan pelarut etanol menjelaskan tentang senyawa fitokimia yang terkandung pada alga hijau adalah alkaloid menggunakan eluen kloroform : metanol (1:4), flavonoid menggunakan eluen metanol : kloroform (7:3), dan saponin menggunakan eluen kloroform : aseton (4:1). Dengan konsentrasi fenol 14,223 mg/100g.

Kombinasi ekstrak etanol *Aloe vera*, *Bacopa monniera*, *Moringa oleifera* dan *Zingiber officinale* dengan berat yang sama yaitu 25 mg memberikan aktivitas antioksidan sebesar 63,75% (Padmanabhan dan Jangle, 2012). Kombinasi ekstrak etanol kulit manggis, daun sirsak, daun sirih merah dan keladi tikus variasi konsentrasi (*low:high:high:low*) dalam volum yang sama memiliki kemampuan aktivitas antioksidan sebesar 93,73% (Saraswaty, dkk., 2013). Besarnya

persentase aktivitas antioksidan menunjukkan semakin kuat suatu kombinasi ekstrak sebagai antioksidan.

Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder kombinasi ekstrak etanol yang memberikan aktivitas antioksidan paling baik dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) dengan beberapa eluen campuran untuk mengetahui eluen terbaik dalam memisahkan senyawa metabolit sekunder. Noda tunggal Rf 0,35 pada n-heksana-etil asetat (7:3) positif alkaloid dengan reagen Dargendorff membentuk perubahan warna dari coklat menjadi jingga dan terbentuk endapan coklat (Darminto, dkk., 2012). Eluen n-heksana-etil asetat memberikan pemisahan terbaik pada senyawa steroid dengan 8 noda (7:3) Rf 0,10-0,86 dengan reagen Liebermann-Burchard membentuk warna biru dan merah muda (Rohmaniyah, 2016).

Senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat atau kloroform (semipolar), dan etanol atau metanol (polar). Perbedaan jenis pelarut ini akan mempengaruhi karakteristik dari senyawa bioaktif yang terdapat pada *Ulva lactuca* yang dimungkinkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Saat ini, masih sedikit penelitian yang meneliti variasi eluen terbaik menggunakan metode KLTA dalam menentukan golongan senyawa apa yang terkandung dalam *ulva lactuca*. Hasil uji aktivitas antioksidan yang baik dapat menggunakan metode hidrolisis, dengan adanya metode hidrolisis senyawa metabolit yang bebas dan yang terikat dengan glikon akan bergabung sehingga diharapkan aktivitasnya akan meningkat. Sebelum dihidrolisis, ekstrak kasar

dipartisi dengan pelarut yang tingkat kepolarannya lebih rendah dari etanol seperti etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Hal ini membuka peluang untuk melakukan penelitian dengan berdasarkan beberapa alasan maka dilakukan suatu penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca* dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta.

### 1.2 Rumusan Masalah

1. Variasi eluen KLT analitik apa yang menghasilkan pemisahan noda terbaik pada spot ?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat pada fraksi alga hijau *Ulva lactuca* pada identifikasi fitokimia ?
3. Bagaimana hasil analisis kadar klorofil a dan b pada ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* ?
4. Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar dan ekstrak hasil partisi fraksi etil asetat, kloroform, dan metanol alga hijau *Ulva lactuca* terhadap radikal bebas DPPH ?

### 1.3 Tujuan

1. Mengetahui variasi eluen KLT analitik yang menghasilkan noda terbaik pada spot.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak fraksi alga hijau *Ulva lactuca* pada identifikasi fitokimia.
3. Mengetahui hasil analisis kadar klorofil a dan b pada ekstrak alga hijau *Ulva lactuca*.

4. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar dan ekstrak hasil partisi fraksi etil asetat, kloroform, dan metanol alga hijau *Ulva lactuca* terhadap radikal bebas DPPH.

#### 1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah alga hijau *Ulva lactuca* yang diperoleh dari perairan Gunung Kidul Yogyakarta
2. Metode ekstraksi maserasi menggunakan etanol 96%
3. Pelarut partisi yang digunakan setelah ekstraksi maserasi alga hijau adalah etil asetat, kloroform, dan metanol.
4. Metode pengujian aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).
5. Golongan senyawa yang diidentifikasi meliputi triterpenoid, steroid, flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.
6. Uji senyawa aktif dengan variasi eluen menggunakan KLT analitik.
7. Variasi eluen KLT analitik meliputi pelarut n heksana, kloroform, metanol dan etil asetat.
8. Variasi konsentrasi pelarut etanol pada analisis kadar klorofil a dan b.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat atau kalangan akademik mengenai manfaat alga hijau *Ulva lactuca* bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Obat Herbal dalam Perspektif Islam

Obat herbal merupakan obat yang menggunakan bahan baku berasal dari alam, dapat berupa tumbuhan dan hewan. Salah satu jenis obat bahan alam adalah ramuan, ramuan adalah obat tradisional yang diracik menggunakan bahan tanaman asli seperti daun, akar, buah, dan bunga yang mempunyai khasiat untuk merawat kesehatan (Mursito, 1999).

Tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai obat karena mengandung senyawa aktif. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada tanaman adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, tanin, dan saponin yang dapat diketahui dengan cara skrining fitokimia (Achmad, 2006). Firman Allah SWT surat An – Nahl ayat 13 :

وَمَا ذَرَأْنَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ

Artinya: “Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu bumi ini dengan berlainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran” (Q.S. An-Nahl: 13).

Kata “Mukhtalifah Alwaanuhu” menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala macam makhluk yang beranekaragam di seluruh penjuru bumi. Misalnya alga hijau (*Ulva lactuca*). Allah SWT menciptakan alga hijau agar manusia berfikir dan mengambil pelajaran pada tanda-tanda kekuasaan-Nya. Salah satu karunia Allah SWT dan merupakan tumbuhan (sumber daya hayati) kelautan

yang melimpah di Indonesia adalah alga. Kelimpahan alga dapat diketahui dengan jumlah jenis alga yang sudah ditemukan (Moosa, 1999).

## 2.2 Alga (Rumput Laut)

Rumput laut adalah tanaman laut yang termasuk ke dalam kelas makroalga. Rumput laut ini sebenarnya merupakan tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun. Meskipun wujudnya tampak seperti ada perbedaan, tetapi sesungguhnya merupakan bentuk *thallus*. Sifat substansi thallus beraneka ragam, ada yang lunak seperti gelatin (*gelatinous*), atau mengandung zat kapur (*calcareous*), lunak seperti tulang rawan (*cartilagenous*), serabut (*spongiuous*) dan sebagainya (Aslan, 1995). Menurut Anggadiredja, dkk., (2006) menyatakan bahwa berdasarkan kandungan pigmennya, alga dikelompokkan menjadi 4 kelas yaitu : *Rhodophyceae* (alga merah), *Phaeophyceae* (alga coklat), *Chlorophyceae* (alga hijau), *Cyanophyceae* (alga biru hijau).

Kandungan alga sangat banyak bahwa alga selain mengandung zat gizi utama seperti karbohidrat, protein dan lemak juga mengandung zat gizi spesifik seperti mineral. Karbohidrat yang terkandung pada alga banyak mengandung selulosa dan hemiselulosa merupakan gizi yang tidak dapat dicerna seluruhnya oleh enzim dalam tubuh (Haryani, dkk., 2008). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi rumput laut ini didistribusikan secara tidak langsung. Hal ini mampu mempengaruhi hasil interaksi kompetitif pada rumput laut (Prathep, 2005). Menurut Juanes (2008) didaerah pesisir sering mengalami surut dan mudah terkena virus pada batuannya (*platform*, celah, dan *overhang*). Rumput laut biasanya mudah terkena virus oleh spesies flora yang paling kompetitif dan fauna sebagai respon

terhadap kombinasi berbagai faktor fisik (*substrates*), zat kimia (*nutrients*) dan faktor biologis (*competence*).

### 2.3 Alga Hijau *Ulva lactuca*

Alga hijau (*Ulva lactuca*) adalah makroalga laut yang sering digunakan sebagai bahan pangan oleh masyarakat Indonesia di beberapa daerah seperti daerah Gunung Kidul Yogyakarta dan pesisir Nusa Tenggara (Julyasih,2009). Ukuran dan bentuknya bervariasi dengan perubahan faktor lingkungan (Hatta, 2002). Alga hijau adalah rumput laut yang tergolong dalam divisi *Chlorophyta*. Termasuk dalam divisi *Chlorophyta* karena sel-selnya banyak mengandung klorofil a sehingga memberikan warna hijau pada alga ini.

Organisme ini merupakan organisme prokariotik dan memiliki struktur-struktur sel khusus yang dimiliki sebagian besar alga. *Ulva lactuca* ini memiliki kloroplas, DNA yang berada dalam sebuah nukleus, dan beberapa jenis dari alga ini memiliki *flagella*. Dinding sel alga hijau sebagian besar berupa selulosa, dan tidak memiliki dinding sel. Alga hijau menyimpan zat tepung sebagai cadangan makanan meskipun dapat menyimpan lemak yang memiliki kadar minimum (Saptasari,2010).

Morfologi dari *Ulva lactuca* dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut ini :



Gambar 2.1 Gambar alga hijau *Ulva lactuca*.

*Ulva lactuca* mempunyai taksonomi sebagai berikut (Guiry, 2007) :

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Chlorophyta  
 Kelas : Ulvophyceae  
 Bangsa : Ulvales  
 Suku : Ulvaceae  
 Marga : *Ulva*  
 Jenis : *Ulva lactuca*

*Ulva lactuca* memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi dan memiliki bentuk *strap-shaped blades* (pedang melipat) dengan tepi yang halus bergelombang dan panjang pada *ulva lactuca* kurang lebih 100 cm dan berwarna hijau terang. *ulva lactuca* memiliki helaian pada bagian tengahnya dan seringkali berwarna pucat. Semakin ke arah tepi warnanya semakin gelap serta memiliki substrat yang mampu melakukan asosiasi dengan daerah yang memiliki nutrient yang tinggi contohnya bakau atau dekat sumber air laut (Littler, 1989). Menurut Aslan (1995) *Ulva lactuca* dapat berkembangbiak pada pH 7,5-9. *Ulva lactuca* memiliki toksisitas yang sangat rendah sehingga aman untuk digunakan sebagai bahan pangan. *Ulva lactuca* dapat dimanfaatkan untuk mencegah penyakit kanker, obat cacing alami, diolah menjadi keripik atau puding, pelengkap salad, bahan pembungkus sushi atau nori, serta sebagai sumber serat alternatif (Safitri, 2014). Kandungan nilai nutrisi alga hijau *Ulva lactuca* terdapat dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi nilai nutrisi alga hijau *Ulva lactuca*.

<b>Komponen</b>	<b>Jumlah</b>
Kadar air (%)	20,9
Karbohidrat (%)	46-51
Serat kasar (%)	2-5
Abu (%)	16-23
Lemak (%)	0,1-0,7
Protein (%)	15-26

Sumber : Xiao-Ling, 2003

Tabel 2.1 menunjukkan bahwa dalam *ulva lactuca* memiliki nilai komposisi nutrisi yang cukup banyak dalam membantu perkembangan sel dalam tubuh, selain itu alga hijau menghasilkan alginat (Winarno, 1990).

#### **2.4 Ekstraksi Maserasi**

Maserasi adalah proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang kita inginkan, dengan kondisi dingin diskontinyu. Keuntungan dari maserasi adalah lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan perkolasi dan tidak memerlukan pemanasan, sedangkan kekurangannya adalah waktu yang dibutuhkan lebih lama. Filtrat yang diperoleh dari proses tersebut diuapkan dengan alat penguap putar vakum (vacuum rotary evaporator) hingga menghasilkan ekstrak pekat (Werdhasari, 2014). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam. Karena dengan perendaman sampel, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. (Voight, 1995).

Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987)

Metode ekstraksi maserasi memiliki kelebihan dan kelemahan, kelebihan dari metode ini sederhana, relatif murah, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kelemahan metode ini ialah memerlukan pelarut yang banyak dan

membutuhkan waktu yang lama (Voight, 1995). Arbi, dkk. (2016) menyebutkan bahwasanya dalam mengekstrak komponen bioaktif dari alga hijau *Ulva lactuca* sebagai senyawa antioksidan dilakukan dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol dengan waktu maserasi 48 jam. Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.2 (Sax, 1998).

Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,9	TL	68,7
Petroleum eter	2,28	TL	60
Benzene	2,38	TL	80,1
Toluene	4,81	TL	111
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Metil asetat	6,68	S	57
Metil klorida	9,08	S	39,75
Butanol	15,80	S	117,2
Propanol	20,1	L	97,22
Aseton	20,70	L	56,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi

Sumber: Sax (1998), HAM (2006), Fesenden dan Fesenden (1997), dan Mulyono (2006).

## 2.5 Partisi (Ekstraksi Cair-Cair)

Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi dengan sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, yakni fase pertama komponen larut dan fase kedua sebagian larut. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua kapisan yang tidak saling campur (Khopkar, 2008). Kelebihan

dari metode partisi ini dapat memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik dan waktu pengujiannya cepat (waktu total ekstraksi pendek) (Dewi, dkk., 2010).

## **2.6 Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan**

### **2.6.1 Radikal Bebas**

Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu atom atau bentuk senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dan membentuk ikatan kovalen. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Apabila senyawa non radikal bertemu dengan radikal bebas, maka akan terbentuk suatu senyawa radikal baru. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, protein lain seperti enzim yang terdapat di dalam tubuh (Werdharsi, 2014), dan molekul yang tidak teridentifikasi oleh sistem imun bahkan mutasi. Semua gangguan tersebut memicu timbulnya berbagai macam penyakit (Winarsi, 2007).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. Sel dalam tubuh akan diserang oleh radikal bebas dengan merusak membran sel. Membran sel dirusak dengan cara radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak polyunsaturated dinding sel. Basa DNA yang berada dalam sel juga akan dirusak radikal bebas sehingga mengacaukan sistem informasi genetika, mutasi sel, dan membentuk sel kanker. Apabila radikal bebas tinggi, maka kandungan antioksidan menurun sehingga tubuh kekurangan

antioksidan dalam sistem pertahanannya, kerusakan DNA tidak dapat dihindari dan dapat menyebabkan penyakit kanker (Bangun, 2005).

### **2.6.2 Antioksidan**

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 (elektron donor) atau reduktan atau 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 (Winarsi, 2007).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu, antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Antioksidan alami adalah hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan yang memiliki kandungan antioksidan. Kandungan antioksidan berhubungan erat dengan komposisi senyawa kimia yang terdapat di dalamnya (Kulisic, 2006). Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, dkk., 1996). Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintesis. Oleh karena itu, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintesis (Paiva, dkk., 1999).

### 2.6.3 Mekanisme Antioksidan

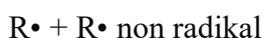
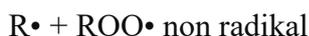
Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yaitu suatu senyawa turunan asam lemak ( $R\bullet$ ) yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen ( $H\bullet$ ). Tahap selanjutnya, yaitu tahap propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi ( $ROO\bullet$ ). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidrokperoksida ( $ROOH$ ) dan radikal asam lemak baru ( $R\bullet$ ) (Nugroho, 2013) :



Gambar 2.4 Reaksi inisiasi dan propagasi asam lemak (Nugroho, 2013)

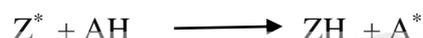
Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas rasa makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal gambar 2.5

(Nugroho, 2013):



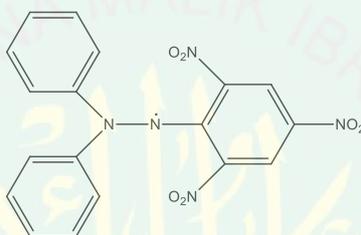
Gambar 2.5 Reaksi terminasi oksidasi lemak (Nugroho, 2013)

Antioksidan berperan dalam menetralkan radikan bebas dengan cara memberikan suatu elektronnya kepada radikan bebas, sehingga menjadi non radikal. Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan ini dapat berlangsung sebagai berikut (Rohmatussolihat, 2009).



Keterangan :

$Z^*$  = radikal bebas,  $AH$  = non radikal,  $ZH$  = non radikal,  $A^*$  = radikal baru bersifat lebih stabil



Gambar 2.6 Struktur kimia DPPH

## 2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH

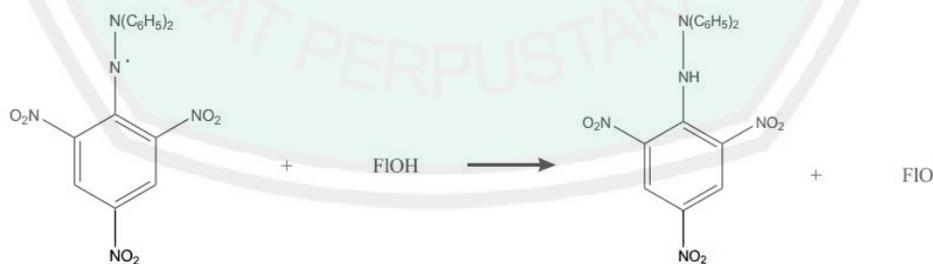
Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak atau dalam air (Prakash, dkk., 2001). 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).

Prinsip metode DPPH, 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 diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas perendaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri, senyawa DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan antioksidan akan terbaca sebagai nilai absorbansi dalam etanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm (Josephy, 1997; Indis dan Kurniawan, 2016).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi DPPH dan radikal antioksidan (Prakash, dkk., 2001). Reaksi dugaan antara DPPH dengan senyawa peredam radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 2.7 (Amic, 2003). ktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai diperoleh dengan Persamaan 2.1 (Molyneux, 2004).

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad \dots (2.1)$$



1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

Flavonoid

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

Radikal Flavonoid

(ungu)

(kuning)

Gambar 2.7 Reaksi DPPH dengan senyawa Flavonoid (Amic, 2003)

Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Menurut Molyneux (2003), kontrol berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran.

Paramater untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration*). IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50 % (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik, ketentuan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.3 (Hidajat, 2005):

Tabel 2.3 Ketentuan kekuatan antioksidan

Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)	Kategori
< 50	Sangat kuat
50 – 100	Kuat
100 – 150	Sedang
150 – 200	Lemah
> 200	Sangat lemah

Ekstrak etanol 96% pada senyawa rimpang temu kunci memberikan aktivitas antioksidan (EC<sub>50</sub>) sebesar 10,36 ppm (Nihlati, dkk., 2007). Ekstrak etanol ramuan herbal kulit manggis, daun sirsak, daun sirih merah dan keladi tikus variasi konsentrasi (*low:high:high:low*) dalam volum yang sama memiliki kemampuan aktivitas antioksidan sebesar 93,73% (Saraswaty, dkk., 2013).

## 2.8 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan *Elisa Reader* dan Pengukuran Kadar Air dengan *Moisture Analyzer*

*Elisa reader* merupakan Fotometer plat multiskan FC yang berfungsi untuk berbagai penelitian dan aplikasi rutin. Alat ini bisa membaca 96 dan 384 well plat dan dilengkapi dengan kemampuan *shaker* serta inkubasi untuk pengujian suhu optimum. Menurut Saxena,dkk. (2012) *Elisa reader* ini mempunyai fungsi untuk inkubator hingga suhu inkubasi 50°C, Alat ini dapat digunakan sebagai instrumen yang berdiri sendiri atau di bawah kendali komputer dengan perangkat lunak *Thermo Scientific SkanIt*™ yang intuitif. Multiskan FC memiliki rentang panjang gelombang 340-850 nm, memungkinkan berbagai aplikasi mulai dari studi kinetik enzim hingga uji Lowry dapat menggunakan alat Multiskan FC (model IVD) dengan perangkat lunak internal ini sesuai dengan arahan IVD Eropa (In Vitro Medical Device).

*Moisture analyzer* merupakan alat yang berfungsi untuk penentuan kadar air yang terkandung dalam suatu bahan cair maupun serbuk. Alat ini dilengkapi dengan lampu halogen, sehingga sering disebut *halogen moisture*. Menurut Manilal, dkk. (2009) menyatakan bahwa prinsip kerja dari alat ini pemanasan sampel yang dihasilkan lampu halogen sehingga pemanasan ini berlangsung dalam waktu yang relatif singkat. Adanya pemanasan menyebabkan penguapan massa sampel yang berkurang sampai penguapan selesai dengan ditandai tidak adanya perubahan massa.

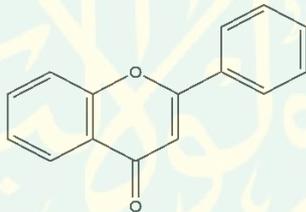
## 2.9 Senyawa Metabolit Sekunder pada alga hijau *Ulva lactuca*

Senyawa metabolit sekunder pada alga hijau *Ulva lactuca* dapat diketahui secara kualitatif melalui uji fitokimia. Prinsip uji fitokimia didasarkan terbentuknya

warna dan busa (Kristanti, dkk., 2008). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

### 2.9.1 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Golongan flavonoid memiliki kerangka karbon terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995). Beberapa golongan flavonoid antara lain, antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, flavanon.



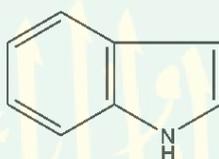
Gambar 2.8 Struktur dasar flavonoid (Redha, 2010)

Keberadaan senyawa flavonoid dalam alga hijau *Ulva lactuca* dapat diuji dengan metode Wilstater yaitu dengan menambahkan HCl pekat dan logam Mg. Septyaningsing (2010) menjelaskan bahwa jika ekstrak sampel positif mengandung senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga setelah penambahan logam Mg dan HCl. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah jingga pada flavonol,

flavanon, flavanonol dan xanton (Mariana, 2013). Hasil positif flavonoid jika reaksi yang terjadi menghasilkan warna merah, kuning atau jingga (Harbone, 1987).

### 2.9.2 Alkaloid

Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Rohmaniyah, 2016). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya misalnya, piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik (Latifah, 2015).



Gambar 2.9 Struktur dasar alkaloid (Robinson, 1995)

Hasil positif alkaloid dengan reagen Dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (Lutfillah, 2008). Hasil positif alkaloid membentuk endapan putih atau kekuningan dengan reagen Mayer (Saxena, dkk., 2012).

Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Peraksi Dragendroff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan peraksi mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007). Senyawa alkaloid yang tersusun dari atom nitrogen yang PEB (Pasangan Elektron Bebas) dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Marliana, 2005).

### 2.9.3 Saponin

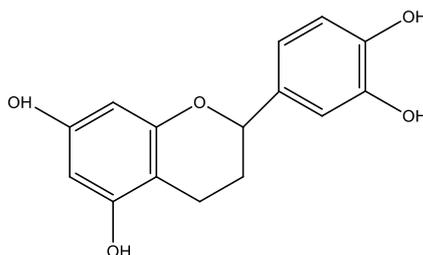
Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter (Aswin, 2008).



Gambar 2.10 (a) struktur saponin tipe triterpenoid dan (b) struktur saponin tipe steroid (Robinson, 1995)

### 2.9.4 Tanin

Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995). Tanin terdiri dari sekelompok zat-zat kompleks yang terdapat pada tumbuhan, antara lain pada bagian kulit kayu, batang, daun, dan buah (Latifah, 2015). Ada beberapa jenis tumbuhan yang mengandung senyawa tanin yaitu pinang, akasia, gabus, bakau, pinus, pepaya, dan gambir (Fitriyani, 2009).

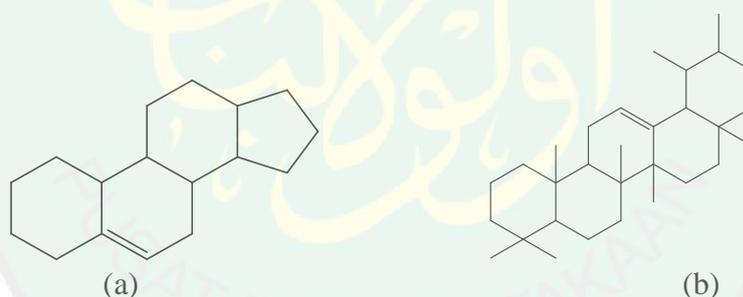


Gambar 2.11 Struktur tanin (Robinson, 1995)

Tanin apabila direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$  akan membentuk warna hijau. Terjadinya pembentukan warna hijau ini karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam besi (Fe) dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau logam dengan atom nonlogam (Effendy, 2007).

### 2.9.5 Steroid dan Triterpenoid

Steroid atau sterol adalah triterpenoid yang mempunyai bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar (fabriany, 2004). Steroid dan triterpenoid adalah senyawa yang mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak berwarna, kristalin, yang mempunyai titik didih lebih tinggi, umumnya sulit untuk dikarakterisasi karena secara kimia tidak reaktif.



Gambar 2.12 (a) struktur dasar steroid dan (b) struktur dasar triterpenoid  
(Robinson, 1995)

Hasil uji triterpenoid positif dengan Liebermann-Burchard jika memberikan warna merah, jingga, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut. Adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan atau biru (Lestari, 2012).

## **2.10 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)**

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada perbedaan pergerakan analit pada dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Sastrohamidjojo, 2007). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penyerap (kromatografi cair-padat) sedangkan fase gerak dapat berupa eluen atau gas pembawa yang bersifat inert. Gerakan fase ini mengakibatkan terjadi migrasi diferensial komponen-komponen dalam sampel (Soebagio, 2002).

KLT analitik (KLTA) digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa metabolit sekunder. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harbone, 1987).

Pemisahan senyawa dari ekstrak kasar dilakukan dengan menggunakan plat silika GF<sub>254</sub> sebagai fase diam dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Fase gerak bergerak di dalam fase diam, kemampuan elusidasi akan naik dengan naiknya tingkat kepolaran pelarut. Tetapan dielektrik memberikan informasi tentang tingkat kepolaran suatu senyawa. Laju rambat tergantung pada viskositas pelarut dan struktur lapisan.

Noda pemisahan pada plat KLT umumnya merupakan noda yang tidak berwarna. Terdapat dua cara untuk mendeteksi noda yang tidak berwarna, yaitu secara fisika dan kimia. Cara fisika yang biasa digunakan untuk menampakkkan

noda yaitu dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, membuat bercak akan terlihat jelas (Gandjar dan Rohman, 2007). Cara kimia adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Mengamati lempeng di bawah lampu ultraviolet pada panjang emisi 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan solut sebagai noda yang gelap atau noda yang berfluoresensi (Rohman, 2007). Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga Rf. Harga Rf didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2007):

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak noda terelusi}}{\text{jarak eluen}} \dots (2.2)$$

Eluen *n*-heksan dan etil asetat mampu mengisolasi berbagai senyawa metabolit sekunder. Isolasi senyawa tanin pada rumput bambu menggunakan *n*-heksan-etil asetat (3:2) pada ekstrak etanol 80% memberikan pemisahan terbaik dengan 9 noda Rf 0,28; 0,40; 0,63; 0,68; 0,78; 0,85; 0,87; 0,91; 0,96 noda memberikan warna merah muda dan ungu sebelum disemprot FeCl<sub>3</sub> (Rohmaniyah, 2016). Noda tunggal Rf 0,35 pada eluen *n*-heksan-etil asetat (7:3) positif alkaloid dengan reagen Dargendorff membentuk perubahan warna dari coklat menjadi jingga dan terbentuk endapan coklat (Darminto, dkk., 2012). Delapan noda terbentuk pada eluen *n*-heksan:etil asetat (7:3) Rf 0,10-0,86 positif steroid pada ekstrak etanol 80% rumput bambu dengan reagen LiebermannBurchard membentuk warna biru dan merah muda (Rohmaniyah, 2016). Senyawa triterpenoid memberikan 7 noda Rf 0,57; 0,61; 0,65; 0,68; 0,80; 0,85; 0,92 pada ekstrak etanol 80% rumput bambu, sebelum dan sesudah disemprot reagen Liebermann-Burchard memberikan warna ungu (Rohmaniyah, 2016).

Koefisien distribusi (D) didefinisikan sebagai perbandingan konsentrasi solut dalam fase diam ( $C_s$ ) dan dalam fase gerak ( $C_m$ ).

$$D = \frac{C_s}{C_m} \dots\dots\dots \text{persamaan 2.2}$$

Ketika nilai koefisien distribusi besar maka noda akan lebih tertahan pada fase diam dikarenakan  $C_{\text{stasioner}} > C_{\text{mobile}}$ . Sedangkan noda yang memiliki nilai  $R_f$  tertinggi (0,96) menunjukkan adanya senyawa yang bersifat non polar  $C_{\text{stasioner}} < C_{\text{mobile}}$ .



## BAB III

### METODOLOGI

#### 3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Metanol Ekstrak Alga Hijau *Ulva Lactuca* Dari Pantai Gunung Kidul Yogyakarta” dilaksanakan pada bulan juni-agustus 2019 dan bertempat di Laboratorium Kimia. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Balai Penelitian Teknologi Bahan Alam (LIPI BPTBA) Gunung kidul, Yogyakarta.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya neraca analitik, spatula, erlenmeyer, aluminium foil, beaker glass, mikro pipet, pipet volume, bola hisap, corong pisah, kertas saring, rotary evaporator, labu alas bulat, moisture analyzer, botol semprot, lemari asap, tabung reaksi, corong buchner vacuum, hot plate, vortex, stirer, bejana pengembang, plat silika gel F<sub>254</sub>, UV-Vis, dan elisa reader (thermos scientific).

##### 3.2.2 Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga hijau jenis (*Ulva lactuca*) berasal dari pantai Gunung Kidul Yogyakarta.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, etanol, etil asetat, kloroform p.a, n-heksana, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) p.a, KMnO<sub>4</sub> 0,1 %, BHT (*Butylated hydroxytoluene*) p.a, standar vitamin C, gas N<sub>2</sub>, HCl, etanol 95 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, natrium bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>), asam asetat anhidrat, amonia, aseton, peraksi Mayer, Dragendorff, dan serbuk logam Mg.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan uji taksonomi terhadap sampel yang akan digunakan. Kemudian sampel diambil dari seluruh bagian alga hijau *ulva lactuca* lalu dikeringkan menggunakan oven dan dihaluskan. Sampel yang sudah dihaluskan ditentukan kadar airnya. Kemudian dilanjutkan proses ekstraksi maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh diuapkan melalui *rotary evaporator*. Ekstrak pekat fraksi etanol dihitung randemennya, kemudian ekstrak pekat etanol sebanyak 4 gram dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C dan D) yang masing-masing sebanyak 1 gram. Lalu bagian B, C dan D dipartisi menggunakan etil asetat, kloroform, dan metanol. Masing-masing ekstrak hasil partisi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dihitung randemennya.

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diidentifikasi golongan senyawa metabolit sekundernya menggunakan reagen fitokimia dengan reagen uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan tripenoid. Kemudian uji aktivitas antioksidan dan ditentukan nilai  $EC_{50}$  (*effective concentration*) menggunakan metode DPPH (triplo). Hasil ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).

### 3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Uji taksonomi alga hijau *Ulva lactuca*,
2. Preparasi sampel,
3. Penentuan kadar air,

4. Ekstraksi senyawa aktif menggunakan metode maserasi dilanjutkan hidrolisi dan partisi,
5. Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan uji fitokimia dan KLTA,
6. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH,
7. Analisis data menggunakan SPSS 16.

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.5.1 Uji Taksonomi**

Uji taksonomi alga hijau *Ulva lactuca* secara kualitatif di Laboratorium Sistematika Biologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### **3.5.2 Preparasi Sampel**

Alga hijau *Ulva lactuca* dicuci dengan air laut, kemudian dikeringkan menggunakan oven dan dihaluskan menggunakan blender hingga halus. Serbuk alga hijau *Ulva lactuca* diayak menggunakan ayakan yang berukuran 90 mesh.

#### **3.5.3 Penentuan Kadar Air dengan *Moisture Analyzer***

Penentuan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam sampel *Ulva lactuca*. Kadar air ini lebih baik di bawah 10% karena akan mempengaruhi munculnya jamur atau mikroorganisme lainnya yang akan mengganggu proses maserasi. Penentuan kadar air harus disiapkan alat *moisture analyzer*. Setelah itu, sebanyak 1 gram sampel dimasukkan dalam wadah *moisture analyzer*, kemudian ditutup alat tersebut. Ditunggu hingga ada penanda bunyi sekitar 5 sampai 15 menit dengan suhu 105°C. Setelah itu muncul kadar air dari alga hijau *Ulva lactuca*.

### 3.5.4 Ekstraksi Alga Hijau *Ulva lactuca*

Ekstraksi komponen senyawa aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau peredaman. Alga hijau yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 75 gram, dimana pada tahapan ini sampel dibagi menjadi tiga. Proses maserasi yang pertama, sampel sebanyak 25 gram diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak 150 mL selama 24 jam. Selanjutnya maserasi yang ke-2 dan ke-3 dilakukan dengan perlakuan yang sama. Setelah itu, dilakukan penyaringan dan filtratnya ditampung. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung randemen dengan Persamaan 3.1.

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

### 3.5.5 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Etanol (Tensiska, dkk., 2007)

Ekstrak pekat fraksi etanol sebanyak 4 gram dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C dan D), dimana masing-masing bagian sebanyak 1 gram. Kemudian bagian A langsung dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Sedangkan bagian B dipartisi dengan 5 mL pelarut etil asetat, bagian C dipartisi dengan 5 mL pelarut kloroform dan bagian D dipartisi dengan 5 mL pelarut metanol. Masing-masing ekstrak hasil partisi dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung randemennya, setelah didapatkan randemen untuk masing-masing ekstrak dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan DPPH.

### 3.5.6 Uji Antioksidan dengan DPPH

#### 3.5.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Rastuti dan Purwati, 2012)

Pelarut sampel yaitu etanol 96% diambil sebanyak 4 mL. Larutan ditambahkan 0,1 mM larutan DPPH sebanyak 1 mL, lalu diinkubasi pada suhu 27 °C. Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu dimasukkan dalam kuvet, dicari  $\lambda_{\text{maks}}$  larutan pada rentang panjang gelombang 500-530 nm dan dicatat hasil pengukuran  $\lambda_{\text{maks}}$  untuk digunakan pada tahap selanjutnya. Penentuan panjang gelombang maksimum ini diukur menggunakan instrumen UV-Vis.

#### 3.5.6.2 Pengukuran Potensi Antioksidan Pada sampel (Arindah, 2010)

- a. Absorbansi kontrol : Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 50  $\mu\text{L}$  dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 200  $\mu\text{L}$ , kemudian ditutup tabung reaksi dengan tisu. Larutan diinkubasi pada suhu ruang 20 menit, larutan dimasukkan dalam 96 *well clear polystyrene microplate* dengan suhu inkubasi 37°C selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan instrumen *elisa reader* pada  $\lambda_{\text{maks}}$  yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.
- b. Sampel : ekstrak sampel dari masing-masing fraksi dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40 dan 80 ppm. Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, kemudian setiap tabung reaksi diisi dengan 200  $\mu\text{L}$  ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,1 mM sebanyak 50  $\mu\text{L}$  (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:4). Perlakuan tersebut dilakukan triplo. Larutan diinkubasi pada suhu ruang 20 menit. Larutan

dimasukkan dalam 96 *well clear polystyrene microplate* dengan suhu inkubasi 37°C selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan instrumen *elisa reader* pada  $\lambda_{\text{maks}}$ . Data absorbansi yang diperoleh dari setiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya.

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidan selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai EC<sub>50</sub> dengan memperoleh persamaan regresi.

- c. **Pembandingan:** Asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel pada konsentrasi 5, 10, 20, 40 dan 80 ppm, akan tetapi sampel diganti dengan asam askorbat (Vitamin C). Larutan dimasukkan dalam 96 *well clear polystyrene microplate* dan diukur absorbansinya menggunakan instrumen *elisa reader*.

### **3.5.7 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder**

#### **3.5.7.1 Identifikasi Menggunakan Reagen Fitokimia (Indriyani, dkk., 2006)**

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak alga hijau *Ulva lactuca*. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari kombinasi ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* dilarutkan dalam masing-masing pelarutnya. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid.

##### **3.5.7.1.1 Uji Alkaloid**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan jingga (dengan reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (dengan reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid.

#### **3.5.7.1.2 Uji Flavonoid**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. Ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL etanol panas 50 %. Kemudian ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid.

#### **3.5.7.1.3 Uji Tanin**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Apabila larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin (Halimah, 2010).

#### **3.5.7.1.4 Uji Saponin**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, maka ekstrak positif mengandung saponin.

#### **3.5.7.1.5 Uji Triterpenoid dan Steroid**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diambil 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat melalui dinding tabung reaksi. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid. Apabila hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid.

#### **3.5.7.2 Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)**

Proses pemisahan senyawa aktif dengan metode KLTA dilakukan dengan

beberapa persiapan diantaranya (Firdaus, 2016):

#### **3.5.7.2.1 Persiapan Plat KLT**

Plat KLT yang digunakan adalah plat silika GF<sub>254</sub> sebagai fasa diamnya, dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Kemudian diberi penanda garis pada tepi bawah plat dengan jarak 1 cm sebagai posisi penotolan sampel, dan 1 cm pada tepi atas plat untuk menunjukkan batas dari proses elusi. Plat silika diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 100 °C selama 10 menit.

#### **3.5.7.2.2 Persiapan Fase Gerak (Eluen)**

Masing-masing eluen di masukkan dalam bejana (*great chamber*) dan dijenuhkan terlebih dahulu selama 1 jam dengan ditutup rapat. Penjenuhan ini berfungsi untuk menyetarakan tekanan uap dalam bagian bejana. Fase gerak yang digunakan untuk masing-masing golongan senyawa aktif adalah sebagai berikut : Digunakan pengembang metanol : kloroform (7:3) (Haniah, 2013), kloroform : metanol (4:1) (Setiaji, 2009), n-heksana : etil asetat (3:2) (Rohmaniyah, 2016), n-heksana : etil asetat (7:3) (Zahro, 2011), n-heksana : etil asetat (4:1) (Rohmaniyah, 2016), n-heksana : etil asetat (6:4) (Putri, 2013), n- heksana : etil asetat (8 :2) (shankhadarwar, 2015), dan kloroform : etil asetat (7:3) ( Aksara, 2013).

#### **3.5.7.2.3 Penotolan Sampel**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah plat. Penotolan dilakukan dengan pipa kapiler sebanyak 10 kali penotolan pada tempat yang sama, kemudian dikering anginkan (Hayati, dkk., 2010; Firdaus, 2016).

#### **3.5.7.2.4 Proses Elusi**

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan masing-masing fasa gerak, dimana plat KLT dimasukkan dalam great chamber yang berisi fasa gerak yang telah jenuh, kemudian great chamber ditutup hingga larutan pengembang (eluen) mencapai batas 1 cm dari tepi atas plat. Plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (Firdaus, 2016).

#### **3.5.7.2.5 Identifikasi Noda**

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Hayati, dkk., 2010). Noda yang tampak ditandai dengan pensil, kemudian disemprot dengan reagen pendeteksi noda sesuai dugaan senyawa metabolit sekunder dan diamati kembali dibawah sinar UV 254 dan 366. (Harborne, 1996; Hayati, dkk., 2010; Umarudin, dkk., 2012). Bentuk masing-masing noda diamati dan diukur jarak tempuhnya, kemudian dihitung nilai Rf masing-masing noda.

### **3.5.8 Analisis Kadar Klorofil a dan b**

#### **3.5.8.1 Analisis Kadar Klorofil a**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diambil 1 gram, ditambahkan 20 mL etanol 80 % dan disaring. Diambil 2 mL ekstrak dengan pelarut etanol 80 % dan di sentrifugasi 1200 xg selama 20 menit. Kemudian dihitung absorbansinya menggunakan UV-Vis dengan panjang gelombang 665,2 nm.

#### **3.5.8.2 Analisis Kadar Klorofil b**

Ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* diambil 1 gram, ditambahkan 20 mL etanol 80 % dan disaring. Diambil 2 mL ekstrak dengan pelarut etanol 80 % dan di sentrifugasi 1200 xg selama 20 menit. Kemudian dihitung absorbansinya menggunakan UV-Vis dengan panjang gelombang 652,4 nm.

### 3.5.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan program SPSS 21:

1. Nilai  $IC_{50}$ : menentukan nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari data nilai konsentrasi dan persen antioksidan kemudian dianalisis menggunakan Regresi-Probit.
2. Uji beda nyata: menentukan apakah terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan pada hasil ekstrak pekat etanol : fraksi etil asetat : fraksi kloroform : fraksi metanol diperoleh dari data ekstrak tersebut dan nilai  $IC_{50}$  dianalisis menggunakan ragam varian (One Way ANOVA).



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji Taksonomi Alga Hijau *Ulva lactuca*

Uji taksonomi alga hijau *Ulva lactuca* yang berasal dari pantai sepanjang Gunung kidul Yogyakarta dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Sistematika Biologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan alga hijau *Ulva lactuca*. Adapun ciri-ciri Alga Hijau *Ulva lactuca*: memiliki bentuk *strap-shaped blades* (pedang melipat) dengan tepi yang halus bergelombang dan panjang pada *ulva lactuca* kurang lebih 100 cm dan berwarna hijau. *Ulva lactuca* memiliki helaian pada bagian tengahnya dan seringkali berwarna pucat (Litter, 1989). Dibawah ini merupakan hasil uji taksonomi pada

*Ulva lactuca* :

Devisi	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Ordo	: Ulotrichales
Familia	: Ulvaceae
Genus	: <i>Ulva</i>
Species	: <i>Ulva lactuca</i> Lin.

Bukti hasil uji taksonomi dapat dilihat pada Lampiran 5.

### 4.2 Preparasi Sampel

Sampel alga hijau *Ulva lactuca* yang segar dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran yang berupa kerak lumut atau pasir-pasir yang dapat mengganggu proses ekstraksi. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara dioven suhu 50°C. Hal ini bertujuan agar terhindar dari perkembangbiakan mikroba, kadar air di bawah 10 % dan kerusakan senyawa aktif pada alga hijau *Ulva lactuca*

Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk kecil dan halus, proses penggilingan ini bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya, sehingga ekstraksi akan semakin efektif (Voight, 1995). Sampel diayak menggunakan saringan 90 mesh, sehingga didapatkan serbuk sampel halus sebesar 300 gram.

#### 4.3 Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan pada sampel kering. Kadar air menentukan kesegaran dan daya tahan suatu sampel (Winarno, 2002). Penentuan kadar air penting dilakukan karena menentukan *acceptability*, apabila kadar air kecil maka kestabilan optimum suatu bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat terhindar (Winarno, 2002).

Hasil pengukuran kadar air pada alga hijau *Ulva lactuca* sebesar 7,65 %. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air yang cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi. Semakin kecil kadar air maka proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut akan lebih maksimal karena tidak terhalang oleh air yang ada pada sampel.

#### 4.4 Ekstraksi Alga Hijau *Ulva lactuca*

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut. Ekstraksi ini akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, akan tetapi hal tersebut dapat mengakibatkan beberapa komponen mengalami kerusakan (Harborne, 1987). Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Prinsip metode maserasi adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing

pelarutnya *like dissolves like* (Khopkar, 2008). Metode ini didasarkan pada perendaman sampel didalam pelarut, sehingga pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif.

Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut etanol 96 % karena pelarut ini merupakan pelarut pengeksrak yang baik untuk bahan baku sediaan *herbal medicine* (Lusiana, dkk., 2014). Menurut (Poelengan, dkk., 2017) Pelarut etanol 96 % termasuk pelarut universal yang dapat mencari senyawa yang bersifat polar, nonpolar dan semi polar. Senyawa metabolit sekunder yang akan diambil pada *Ulva lactuca* bersifat semi polar sehingga proses ekstraknya menggunakan pelarut etanol 96 %.

Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan pengadukan menggunakan *shaker* pada kecepatan 150 rpm. Proses *shaker* ini bertujuan untuk mempercepat kontak antara sampel dan pelarut. Larutan disaring menggunakan kertas saring dan corong *buchner* dan diperoleh filtrat warna hijau kehitaman pada ekstrak etanol 96 %. Kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Penguapan pelarut etanol dilakukan pada suhu 50°C. Evaporasi ini dilakukan untuk menghilangkan pelarut etanol tersebut. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama. Hasil maserasi serbuk alga hijau *Ulva lactuca* ditunjukkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan rendemen berat ekstrak pekat pada Lampiran 4.

Tabel 4.1 Hasil maserasi serbuk alga hijau *Ulva lactuca*

<b>Pelarut</b>	<b>Perubahan warna filtrat</b>	<b>Warna ekstrak pekat</b>	<b>Serbuk (g) + pelarut (mL)</b>	<b>Berat ekstrak (g)</b>	<b>Randemen (%) (b/b)</b>
Etanol	Hijau tua kehitaman	Hijau pekat	25 g + 150 mL	0,5637	2,25 %

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak etanol yang didapat sebesar 2,25 %. Ekstrak etanol 96 % dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C dan D), masing-masing dibagi sebanyak 0,125 gram ekstrak pekat etanol. Proses selanjutnya adalah proses partisi dengan variasi pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etil asetat, kloroform dan metanol. Partisi ini dilakukan pemilihan pelarut agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran berbeda terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai (Voight, 1994). Fraksi dilakukan dengan metode partisi cair-cair yang diawali dari pelarut nonpolar ke pelarut polar. Fraksi hasil partisi dipisahkan hingga pelarutnya teruapkan secara sempurna. Kemudian dihitung randemen tiap masing-masing fraksi. Nilai randemen masing-masing fraksi pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil partisi ekstrak etanol 96 % dengan variasi pelarut

<b>Pelarut</b>	<b>Warna filtrat</b>	<b>Warna ekstrak pekat</b>	<b>Berat Sampel (g)</b>	<b>Randemen (%) (b/b)</b>
Etil asetat	Hijau kecoklatan	Hijau	0,112	89,6 %
Kloroform	Hijau	Hijau kehitaman	0,1171	93,68 %
Metanol	Hijau tua	Hijau pekat	0,116	92,8 %

Nilai randemen ekstrak pekat fraksi etil asetat dan metanol lebih kecil dibandingkan ekstrak pekat fraksi kloroform. Diduga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam *Ulva lactuca* lebih banyak bersifat semi polar. Selanjutnya ekstrak

pekat etanol 96 % dan ketiga fraksi tersebut dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

#### **4.5 Hasil Analisis Kadar Klorofil a dan b pada Ekstrak Alga Hijau *Ulva lactuca***

Hasil ekstrak klorofil a dan b dari alga hijau *Ulva lactuca* dianalisis kadar klorofilnya dengan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan klorofil a pada alga hijau *Ulva lactuca* diperoleh 22,71 mg/L menggunakan lamdha maksimum 665,2 nm dan kandungan klorofil b pada alga hijau *Ulva lactuca* diperoleh 56,43 mg/L menggunakan 652,4 nm. Kadar klorofil ini berfungsi untuk menjaga kestabilan DNA dan menghalangi pemusnahan DNA dalam sel, karena klorofil kaya dengan nutrisi dan penyumbang oksigen. Sehingga dapat menetralkan dan menggagalkan aktivitas radikal bebas dalam merusak sel-sel tersebut. Kadar klorofil a dan b mengalami perbedaan, hal ini disebabkan karena kadar pigmen lain yang ada pada alga hijau lebih dominan atau disebabkan oleh adanya faktor adaptasi tumbuhan. Warna hijau menandakan adanya klorofil yang merupakan pigmen utama yang terdapat dalam membran tilakoid.

#### **4.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Pada Alga Hijau *Ulva lactuca* dengan Penambahan Reagen**

Uji fitokimia reagen merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Prinsip dasarnya adanya reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna (Kristanti, 2008). Uji fitokimia reagen dilakukan pada ekstrak etanol 96 % dan fraksi-fraksi lainnya. Berikut ini hasil pengujian fitokimia reagen dapat dilihat pada Tabel 4.3 :

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia reagen alga hijau

Golongan Senyawa aktif	Ekstrak etanol 96 %	Fraksi etil asetat	Fraksi kloroform	Fraksi metanol	Keterangan Hasil Positif
Flavonoid	+	+	+	+	Berwarna jingga kemerahan
Alkaloid					Endapan kuning
- Mayer	+	++	-	-	
- Dragendrof	+	++	-	-	Endapan jingga
Tanin	-	-	-	-	Kuning kecoklatan
Saponin	+(m)	-	-	-	Busa sedikit
Steroid	+	+	+	+	Hijau kebiruan
Triterpenoid	+	+	+	+	Cincin kecoklatan

Keterangan: + = Positif mengandung senyawa  
 +(m) = Mendekati positif mengandung senyawa  
 - = Tidak mengandung senyawa

Berdasarkan hasil uji fitokimia, diketahui bahwa fraksi etil asetat mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Hasil pengujian fitokimia menunjukkan adanya senyawa flavonoid ditandai dengan adanya warna jingga pada penambahan serbuk Mg. Flavonoid dapat tereduksi dengan Mg dan HCl sehingga memberikan warna merah, kuning atau jingga. Reaksi yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid ada pada Gambar 2.8. Hasil analisis menggunakan kedua reagen dalam uji fitokimia alkaloid mengindikasikan hasilnya mengandung senyawa alkaloid dengan perubahan warna jingga pada pereaksi Dragendroff dan berwarna kuning pada peraksi mayer. Reaksi yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid ada pada Gambar 2.9. Uji reagen Lieberman-buchard merupakan uji fitokimia pada senyawa triterpenoid, pereaksi ini merupakan campuran antara anhidrida asetat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Karbokation

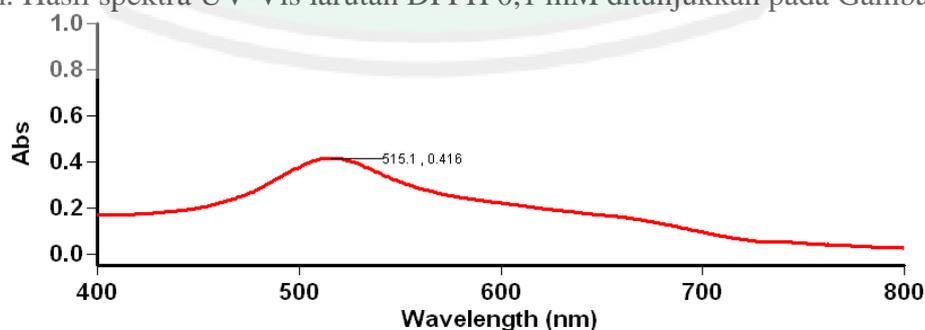
yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus –OH yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat. Hasil pengujian ini positif mengandung senyawa triterpenoid dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet dan mengandung steroid dengan berubah warna hijau kebiruan. Reaksi yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid ada pada Gambar 2.12.

#### 4.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

##### 4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui  $\lambda$  yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan, karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Daerah sekitar panjang gelombang maksimum bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer terpenuhi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm (Prakash, 2007). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,1 mM diperoleh  $\lambda_{\text{maks}}$  sebesar 515,1 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,1 mM ditunjukkan pada Gambar 4.1.

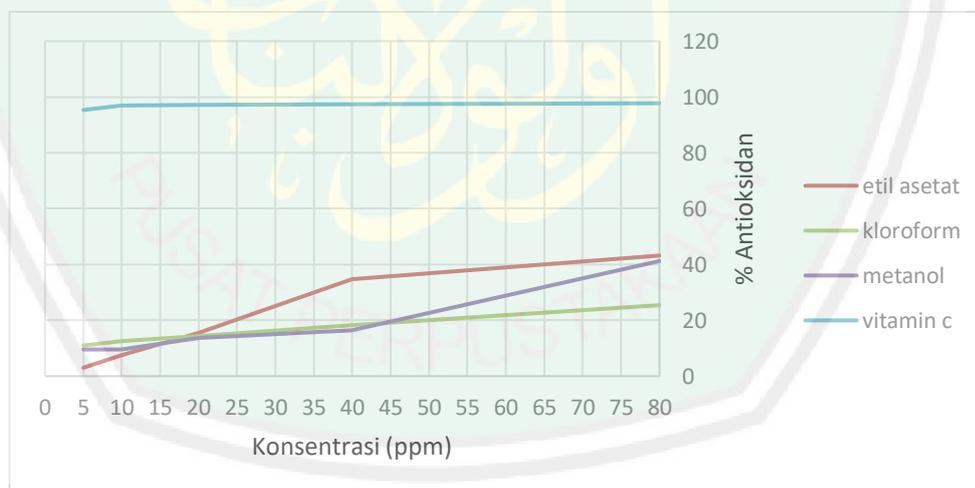


Gambar 4.1 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,1 mM

#### 4.7.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan *Elisa reader* pada panjang gelombang 515,1 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk metode DPPH. Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 5, 10, 20, 40 dan 80 ppm. Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya adalah ekstrak kasar etanol 96 %, fraksi etil asetat, fraksi kloroform, fraksi metanol dan vitamin C digunakan sebagai pembanding aktivitas antioksidan sampel.

Pengukuran potensi aktivitas antioksidan digunakan kontrol larutan DPPH 0,1 mM. Menurut Arindah (2010) larutan kontrol sangat berguna sebagai pembanding dalam menentukan potensi antioksidan sampel. Nilai absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH dengan nilai absorbansi kontrol merupakan sisa radikal DPPH yang terbaca pada *Elisa Reader*. Perhitungan aktivitas dapat dilihat pada Gambar 4.2 :



Gambar 4.2 Perbandingan % aktivitas antioksidan

Tabel 4.5 Persen (%) aktivitas antioksidan

Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan			
	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Kloroform	Fraksi Metanol	Vitamin C
5	3,02	10,97	9,56	95,32
10	7,45	12,63	9,56	96,96
20	15,53	14,34	13,74	97,22
40	34,74	18,24	16,53	97,44
80	43,18	25,42	41,24	97,73

Berdasarkan Tabel 4.5 dan Gambar 4.2 dengan konsentrasi 80 ppm diketahui bahwa persen (%) aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel adalah fraksi etil asetat sebesar 43,18 %, fraksi metanol sebesar 41,24 %, fraksi kloroform sebesar 25,42 %. Fraksi etil asetat pada konsentrasi rendah menunjukkan nilai % aktivitas antioksidannya sangat rendah dibandingkan fraksi lainnya, hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm fraksi etil asetat kurang menangkap radikal bebas yang ada pada DPPH. Sehingga tidak ada perubahan warna dari ungu menjadi warna kuning.

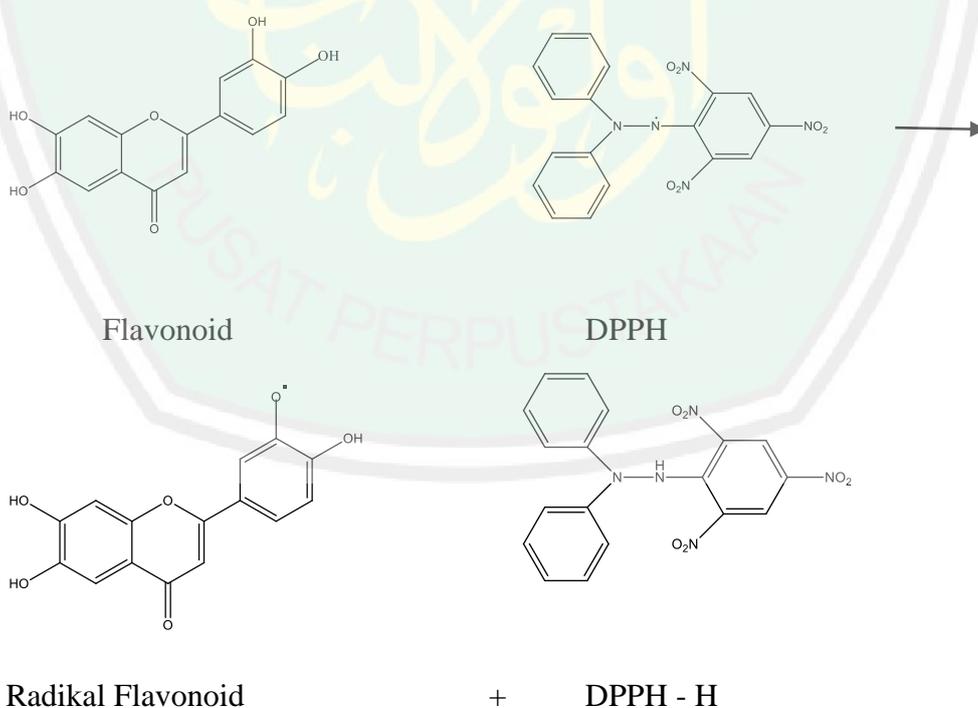
Tabel 4.6 Hasil uji beda nyata menggunakan SPSS 21

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Etil	Between Groups	,609	4	,152	36,394	,000
	Within Groups	,042	10	,004		
	Total	,651	14			
Klorofom	Between Groups	,066	4	,017	3,625	,045
	Within Groups	,046	10	,005		
	Total	,112	14			
Metanol	Between Groups	,362	4	,090	69,181	,000
	Within Groups	,013	10	,001		
	Total	,375	14			
Vite	Between Groups	,000	4	,000	102,414	,000
	Within Groups	,000	10	,000		
	Total	,000	14			

Analisis di atas menghasilkan statistik uji F dengan probabilitas (sig) sebesar 0,000 ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ ) atau probabilitas < alpha ( $\alpha=5\%$ ). Sehingga  $H_0$  ditolak dan dinyatakan minimal ada satu pasang ekstrak alga hijau menghasilkan nilai % aktivitas antioksidan yang berbeda signifikan. Nilai probabilitas lebih kecil dari tingkat kesalahan maka dinyatakan berbeda signifikan. Sebaliknya apabila nilai probabilitas lebih besar dari tingkat kesalahan maka dinyatakan tidak ada perbedaan signifikan.

Ekstrak etanol 96 % tidak mengalami kenaikan aktivitas antioksidan, dikarenakan tidak signifikan antara probabilitas dengan F hitungnya. Nilai signifikannya pada ekstrak etanol 96 % menunjukkan probabilitasnya lebih besar daripada alphanya ( $\alpha=5\%$ ). Ketiga fraksi mengalami kenaikan aktivitas antioksidan seiring dengan naiknya konsentrasi. Ekstrak etil asetat memiliki nilai aktivitas yang paling besar dari pada ekstrak kasar dan fraksi yang lain. Karena ekstrak etil asetat selain mengandung flavonoid juga terdapat senyawa steroid dan alkaloid sehingga aktivitasnya lebih tinggi bila dibandingkan ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi metanol. Senyawa flavonoid memiliki gugus OH yang atom hidrogennya dapat didonorkan ke radikal bebas sehingga menjadi senyawa yang non radikal (DPPH-H). Menurut Shankhardarwar, dkk (2015) menyebutkan bahwa flavonoid merupakan senyawa yang aktif berpotensi sebagai antioksidan alami. Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan DPPH ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan DPPH

IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan berkurangnya 50 % aktivitas DPPH (Molyneux, 2003). Berikut ini merupakan nilai IC<sub>50</sub> dari masing – masing sampel :

Tabel 4.7 Nilai IC<sub>50</sub> masing-masing ekstrak

Ekstrak	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Fraksi etil asetat	1,32
Fraksi kloroform	40,01
Fraksi metanol	1,60
Vitamin C	0,98

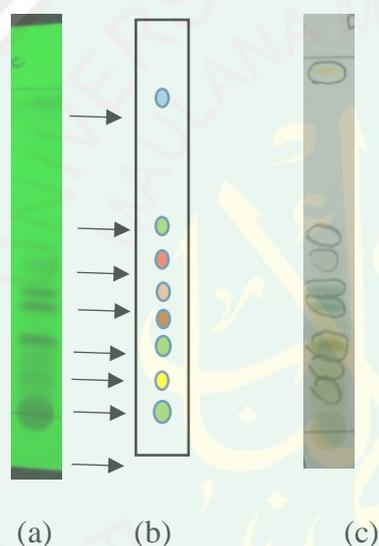
Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menandakan semakin besar aktivitas antioksidan sehingga konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredamkan radikal DPPH sebesar 50 % semakin kecil (Widyaningsih, 2010). Nilai IC<sub>50</sub> vitamin C sebesar 0,98 µg/mL, fraksi etil asetat 1,32 µg/mL, fraksi kloroform 40,01 µg/mL, fraksi metanol 1,60 µg/mL, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan fraksi etil asetat untuk meredam radikal bebas sangat kuat. Menurut Swantara, dkk. (2012) kekuatan aktivitas antioksidan dilihat dari IC<sub>50</sub> yaitu <50 menunjukkan aktivitas yang sangat kuat dan 50 – 100 menunjukkan aktivitas yang kuat. Fraksi etil asetat cukup berpotensi bila digunakan sebagai antioksidan alami.

#### **4.8 Pemisahan Senyawa Flavonoid fraksi etil asetat Dengan KLT Analitik (Gandjar dan Rohman, 2007)**

Fraksinasi dengan etil asetat menghasilkan senyawa selain flavonoid seperti alkaloid, triterpenoid dan steroid. Fraksinasi etil asetat akan membentuk aglikon pada senyawa flavonoid dibandingkan fraksinasi yang lain dan akan memisahkan jenis flavonoid dengan masing-masing jenis flavonoidnya. Penelitian ini memilih fraksi etil asetat dikarenakan nilai IC<sub>50</sub> paling tinggi sehingga perlu identifikasi

lanjut sebagai penguat dalam dugaan golongan senyawa flavonoid. Jenis flavonoid itu akan terdistribusi ke dalam salah satu pelarut yang sesuai dengan sifat kelarutan dan polaritasnya. Etil asetat mengalami tingkat kepolarannya lebih rendah air karena bersifat semi polar, maka pada saat fraksinasi yang terbentuk aglikon pada flavonoid yang terikat dengan gula akan terdistribusi ke dalam fraksinasi tersebut.

Berikut adalah gambar hasil pemisahan senyawa pada fraksinasi etil asetat dengan KLT analitik :



Gambar 4.4 Hasil KLT analitik eluen terbaik n-heksana : etil asetat (3:2)

- (a) Hasil Pengamatan dibawah sinar UV 254 nm
- (b) Ilustrasi gambar
- (c) Tanpa disinari UV

Hasil uji fitokimia pada fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid. Pembuktian kandungan flavonoid diperkuat dengan adanya identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT analitik ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa

flavonoid. Eluen yang baik adalah eluen yang menghasilkan senyawa dengan jumlah spot yang banyak muncul noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harbone, 1987). Penggunaan beberapa eluen diharapkan mampu memisahkan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak alga hijau *Ulva lactuca* dengan baik.

Pengamatan noda dilakukan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm untuk menampakkan warna hasil pemisahan pada KLT. Jika tampak noda ditandai menggunakan pensil dan untuk mengetahui spot yang diperoleh positif flavonoid dengan digunakan  $\text{FeCl}_3$  dan uap  $\text{NH}_3$ . Data penampakan noda dari hasil fasa organik yang dihasilkan KLT analitik berdasarkan berbagai macam komposisi eluen dapat dilihat pada Lampiran 4.

Hasil jumlah noda KLT analitik dari 6 variasi eluen digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat dengan KLT analitik menunjukkan bahwa variasi eluen terbaik adalah n-heksana : etil asetat (3:2) yang ditunjukkan dengan hasil spot sebanyak 8. Spot yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara satu spot dengan spot lainnya jelas. Kepolaran eluen pada proses KLT sangat berpengaruh terhadap hasil noda yang terbentuk.

Tabel 4.8 Data penampakan noda dari KLT analitik dugaan senyawa dengan eluen n-heksana:etil asetat (3:2) pada panjang gelombang 254 nm

Spot	Nilai Rf	Warna	Dugaan senyawa
1	0,16	Hijau	Flavonoid
2	0,23	Kuning	Triterpenoid
3	0,32	Hijau	Flavonoid
4	0,4	Kuning	Triterpenoid
5	0,45	Biru	Steroid
6	0,54	Abu-abu	Alkaloid
7	0,63	Hijau	Flavonoid
8	0,96	Biru florosense	Flavonoid

Eluen n-heksana : etil asetat (3:2) memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Eluen n-heksana bersifat non polar sedangkan etil asetat bersifat semi polar. Karena perbandingan n-heksana lebih besar dibandingkan etil asetat maka campuran eluen ini cenderung bersifat kurang polar. Adapun dugaan senyawa flavonoid pada eluen n-heksana : etil asetat (3:2) terdapat pada spot 7 dan 8. Mekanisme KLT analitik pada Tabel 4.8 dimulai saat eluen mengenai spot sampel, dengan segera sampel akan berinteraksi dengan kedua fase dengan prinsip *like dissolve like*. Kemudian akan terjadi distribusi diantara kedua fase, senyawa yang polar akan lebih banyak terdistribusi di dalam fase yang polar. Sedangkan senyawa yang non polar akan terdistribusi pada fase yang non polar. Terjadinya pemisahan disebabkan adanya salah satu komponen sampel yang tertahan oleh fase diam dan yang lain di bawa oleh fase gerak.

Noda dengan Rf terkecil (0,16) menunjukkan adanya senyawa yang bersifat lebih polar dibandingkan noda pada Rf di atas (0,16-0,96) dengan warna noda yang dihasilkan. Noda bersifat polar karena memiliki nilai koefisien distribusi (D) senyawa yang besar. Menurut Saifuddin (2006) apabila pada suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosida maka cenderung bersifat polar. Hasil dari nilai koefisien distribusi di atas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat sudah tidak memiliki ikatan glikosida, sehingga cenderung terelusi oleh pelarut non polar.

#### **4.9 Pemanfaatan Alga Hijau dalam Perspektif Agama Islam**

Pengetahuan tentang manfaat tumbuhan merupakan hal yang sangat penting. Melihat begitu banyak jenis tumbuhan yang ada, namun masih sedikit yang dimanfaatkan. *Ulva lactuca* merupakan salah satu tumbuhan yang baik yang memiliki manfaat sebagai antioksidan, antibakteri dan sebagai obat kesehatan.

Keanekaragaman tumbuhan ini merupakan bukti kebesaran Allah SWT, dimana telah dijelaskan dalam Al-Qur'an.

Sebagaimana firman Allah SWT dalam surah luqman ayat 10 :

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۗ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (Q.S. Luqman: 10)

Allah menciptakan langit tanpa tiang-tiang yang dapat dilihat oleh manusia. Serta menjadikan gunung-gunung yang kokoh di bumi agar tidak ada yang menggoyangkan, Allah juga menurunkan air hujan turun ke bumi agar tumbuhan-tumbuhan bisa berkembang dan subur. Tumbuh-tumbuhan bermanfaat ketika tumbuh di bumi dengan baik. Kata “*Zaujin kariim*” menjelaskan tentang manfaat tumbuh-tumbuhan yang baik, dimana tumbuhan-tumbuhan yang baik sangat bermanfaat sebagai tanaman obat. Alga hijau *Ulva lactuca* sangat bermanfaat sebagai antioksidan yang mampu menolak radikal bebas pada tubuh.

Pengkajian lebih lanjut diperlukan penggolongan suatu materi agar lebih mudah untuk mendalaminya, karena materi di alam ini begitu banyak dan beragam macamnya. Dari penggolongan materi tersebut yang akan dikaji adalah senyawa, yang mana merupakan kelompok materi zat tunggal. Senyawa merupakan suatu zat yang dibentuk oleh dua atau lebih unsur dengan perbandingan tetap yang

menentukan susunannya. Senyawa dibentuk dan diuraikan oleh reaksi kimia. Adapun firman Allah SWT tersebut tersirat dalam QS. Al Qamar ayat 49 :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya : “*Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.*” (QS. Al Qamar ayat : 49)

Dalam proses pembentukannya, perbandingan massa unsur-unsur dalam senyawa selalu tetap sekalipun dibentuk dengan cara yang berbeda. Untuk membentuk senyawa perbandingan unsur-unsu penyusunnya tidak boleh sembarangan, sebab jika perbandingannya tidak sesuai maka ada kemungkinan bisa terbentuk senyawa lain.

Alga hijau merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan dengan baik. Tumbuhan ini menjadi alternatif pengobatan alamiah yang disediakan Allah untuk hambaNya. Berdasarkan penelitian ini, ekstrak etanol 96% dan ketiga fraksinya memiliki aktivitas antioksidan yang bagus karena nilai IC<sub>50</sub> yang rendah yaitu fraksi etil asetat 84,71 µg/mL. Nilai tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi sebagai antioksidan yang baik. Alga hijau *Ulva lactuca* telah terbukti dapat menangkal radikal bebas yang merugikan tubuh karena aktivitas antioksidannya yang kuat.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Eluen terbaik hasil KLT analitik adalah n-heksana : etil asetat (3:2) dengan menghasilkan 8 noda spot diduga spot 1, 3, 7 dan 8 mengandung senyawa flavonoid.
2. Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat alga hijau *Ulva lactuca* mengandung golongan senyawa flavonoid, steroid, alkaloid dan triterpenoid.
3. Hasil analisis kadar klorofil a dan b masing-masing sebesar 22,71 mg/L dan 56,43 mg/L.
4. Aktivitas antioksidan pada ekstrak hasil partisi fraksi etil asetat, fraksi kloroform dan fraksi metanol masing-masing sebesar 1,32; 40,01 dan 1,60  $\mu\text{g/mL}$ . Fraksi alga hijau *Ulva lactuca* yang memiliki potensi antioksidan tertinggi adalah fraksi etil asetat dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 1,32 ppm.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan pemisahan dengan metode kromatografi kolom untuk menghasilkan fraksi yang spesifik, dilakukan uji kadar klorofil setelah di fraksinasi dan uji antioksidan dengan pelarutnya dan diidentifikasi dengan menggunakan MS dan FTIR.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abirami, R. G., and Kowsalya S. Nutrient And Nutraceutical Potentials Of Seaweed Bimass *Ulva Lactuca* And *Kappaphycus Alvarezii*. *Journal of Agricultural Science and Technology*.5(1). ISSN: 1939-1250.
- Adnyana, I., Safitri, D., & Christopher, W. 2014. Preventive Effect of Jasmine Flower Ethanol Extract on MSG-High Fat Diet Induced in Male Wistar Rats. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8 (7): 1066-1070.
- Afif, S. 2013. Ekstraksi Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma Spinosum*) Dari Perairan Sumenep Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Al-Maraghi, A. M. 1992. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Anggradiredja, J., Irawati, S., dan Kusmiyati. 2006. *Rumput Laut: Pembudidayaan, Pengelolaan, dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Arbi, B., Ma'ruf., Widodo, F., dan Romadhon. 2016. Aktivitas Senyawa Bioaktif Selada Laut (*Ulva lactuca*) Sebagai Antioksidan pada Minyak Ikan. *Jurnal Saintek Perikanan*. Semarang: Universitas Diponegoro. 12 (1): 12-18.
- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum muricatum aiton*) yang berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ariyanto, R. 2006. Uji Aktivitas Antioksidan Penentuan Kandungan Fenolik Dan Flavonoid Total Fraksi Kloroform Dan Fraksi Air Ekstrak Metanolik Pegagan (*Centella Asiatica L. Urban*). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Aslan, L. M. 1995. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta: Kanisius.
- Aswin, L. 2008. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Pada Tikus Wistar. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol.5, No.3.
- Badarinath, A. V., K. M. Rao, C. M. S. Chetty, S. Ramkanth, T. V. S. Rajan dan K. Gnanaprakash. 2010. A riview on In-vitro Antioxidant Methods :

Comparisons, Correlations and Considerations. *Internatioanl Journal of Pharmaceutics Technology Research*. 2 (2) : 1276 - 1285.

Bangun, A. P. 2005. *Jus Buah & Sayuran Untuk Mengatasi Kanker*. Jakarta: Agromedi.

Chapman, VJ. 1970. *Seaweeds and Their Uses*. London: Methuen and Co. LTD.

Crowther, J. R. 1995. *Theory and Practice*. New Jersey: Humana Press.

Darminto, Alimuddin A., dan Iwan D. 2012. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Utama Ekstrak Etanol Kulit Batang Tumbuhan Mangrove (*Avicennia spp.*) *Jurnal Sainsmat*. Vol.1, No.1. ISSN: 2086-6755.

Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., dan Rahmawati, R. 2010. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Tosisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam*). *Jurnal*. Lampung: Universitas Lampung.

Djamil, A. 2004. *Al-Quran dan Lautan*. Bandung : Penerbit Arasy PT Mizan Pustaka.

Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.

Elmegeed, Dalia F Abd., Ghareeb, Doaa A., and El saadani, Muhammad. 2014. Phytochemical Constituents and bioscreening activiyies of green algae (*Ulva lactuca*). *Journal Agricultural Policy and Research*. 2(11): 373-378. ISSN: 2350-1561.

Febriansah, E. M., Sakti, Endah, R., Kodir, Reza, A. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Selada Laut (*Ulva lactuca L*) dengan Ekstrak Bertingkat Menggunakan Metode DPPH. *Prosiding Penelitian Spesia Unisda*. Program Studi Farmasi Fakultas MIPA. ISSN:2460-6472.

Febriany, S. 2004. *Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang berpotensi meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara In Vitro*. Bogor: Fakultas MIPA IPB.

Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hdyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.

Fitriyani, A. 2009. Uji In Vitro Ekstrak Air dan Etanol dari Buah Asam Gelugur, Rimpang Lengkuas, dan Kencur sebagai Inhibitor Aktivitas Lipase Pankreas. *Skripsi*. Bogor: IPB.

Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica Linn.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina leach*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- HAM, M., 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Harborne, J. 1987. Metode Fitokimia: *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua*. Penerjemah: Padmawinata, K. Dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- Hatta, M. 2002. *Hubungan Antara Klorofil-a dan Ikan Pelagis*. Bogor : IPB.
- Heo, S. J., Park, E.J., Lee, K.W., and Jeon, P.J. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweed. *Bioresource Technology*. 96 (14): 1613-1623.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Indis, N. A. dan F. Kurniawan. 2016. Determination of Free Radical Scavenging Activity from Aqueous Extract of Curcuma mangga by DPPH Method. *Journal of Physics: Conference Series* 710: 012043.
- Amic, D., Davidovic-Amic D., Besio D., dan Trinajstic N. 2003. Structure Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatia Chemical Acta*; 76: 55 – 61.
- Izzati, M. 2007. Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. *Jurnal BIOMA*. Semarang: Universitas. Vol. 9, No. 2, 62-67. ISSN: 1410-8801.
- Josephy, P. D. 1997. *Moleculer Toxicology*. New York: Oxford University Press.
- Juanes J, Hawe D, Kellogg K, Jordan F, Stauffer JrJ. 2008. *Small-scale morphological differentiation in a cichlid may provide clues about rapidly diversifying systems*. *Afr J Ecol*. 46: 107-109.
- Julyasih, K.S.M., et al., 2009. *Aktivitas Antioksidan Beberapa Jenis Rumput Laut (Seaweeds) Komersial Di Bali*. Seminar Nasional, Akselerasi Pengembangan Teknologi Pertanian Dalam Mendukung Revitalisasi Universitas Sumatera Utara 33 Pertanian, Fakultas Pertanian & LPPM UPN Veteran Jawa Timur. Halaman 1-8.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurnia, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Kulisc, T., Radonic, A., Katalinic, V. dan Milos, M. 2006. Use of Different Methods for Testing Antioxidative Activity of Oregano Essential Oil. *Food Chemistry*. 85: 633 – 640.
- Kusumastanto, T. 2011. Pengembangan Sumberdaya Kelautan Dalam Memperkokoh Perekonomian Nasional Abad 21. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, N.L., Sugiarto, S., dan Timotius, K.H. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria Verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana. Vol XIX. No. 2.
- Littler, D. S., Littler, M. M., Bucher, K. E., dan Norris, J. N. 1989. *Marine Plants of The Caribbean, A Field Guide from Florida to Brazil*. Washington D.C: Smithsonian Institution Press.
- Lusiana, A., Oktarina Rice Disi., dan Kusumawati Idha. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus Benth*. *E-Journal Planta Husada*. 2(1): 1-4.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioksidans Technological, Toxicological, and Health Perspective*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Manilal. A., S., Selvin, J., Kiran, G.S dan Shakir, C. 2009. In vivo Antiviral Activity of Polysaccharide from the Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management, *Journal of fish and marine sciences*. Department of Microbiology. India : Bhararhidasan University. 1 (4):278-282.
- Mariana, L., Yayuk A., dan Erin R. G. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Jurnal*. Universitas Mataram.
- Marliana, E. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline Fruticosa* (L) A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*. 1(11): 1412-4981.

- Latifah. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Marliana, E. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientific*. Vol. 11, No.1. ISSN 1412-498X.
- Molyneux, P. 2004. The Use of DPPH for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, Vol. 26 (2): 211 – 219.
- Moosa, M.K. 1999. *Sumberdaya Laut Nusantara, Keanekaragaman Hayati Laut dan Pelestariannya. Loka Karya Keanekaragaman Hayati Laut, Pemanfaatan secara Lestari dilandasi Penelitian dan Penyelamatan*. Jakarta: Widy Graha LIPI.
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Mursito, B. 1999. *Tampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nihlati, I. A., Rohman A., dan Hertiani T. 2007. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schleth) dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*.
- Nugroho, A. E., A. Malik dan S. Pramono. 2013. Total Phenolic and Flavonoid Content, and In Vitro Antihypertension Activity of Purified Extract of Indonesian Cashew Leaves (*Anacardium occidentale* L.). *International Food Research Journal*. 20 (1) : 299 – 305.
- Padmanabhan, P. dan Jangle, S.N. 2012. Evaluation of DPPH Radical Scavenging Activity and Reducing Power of Four Selected Medicinal Plants and Their Combinations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 4(2): 143-146.
- Paiva, S.A., and Russell, M.R. 1999. *B-Carotene and Carotenoids As Antioksidans*. *Journal of the American College of Nutrition*. Brazil: Estadual Paulista University. 18(5): 426-433.
- Poelengan, M., Andriani, K., Susanti, S., Sussan, L., Komala, M. 2007. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Bungur (*Lagerstormenia Speciosa Pers*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Eschericha Coli* Secara In Vitro. *Laporan Penelitian*. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

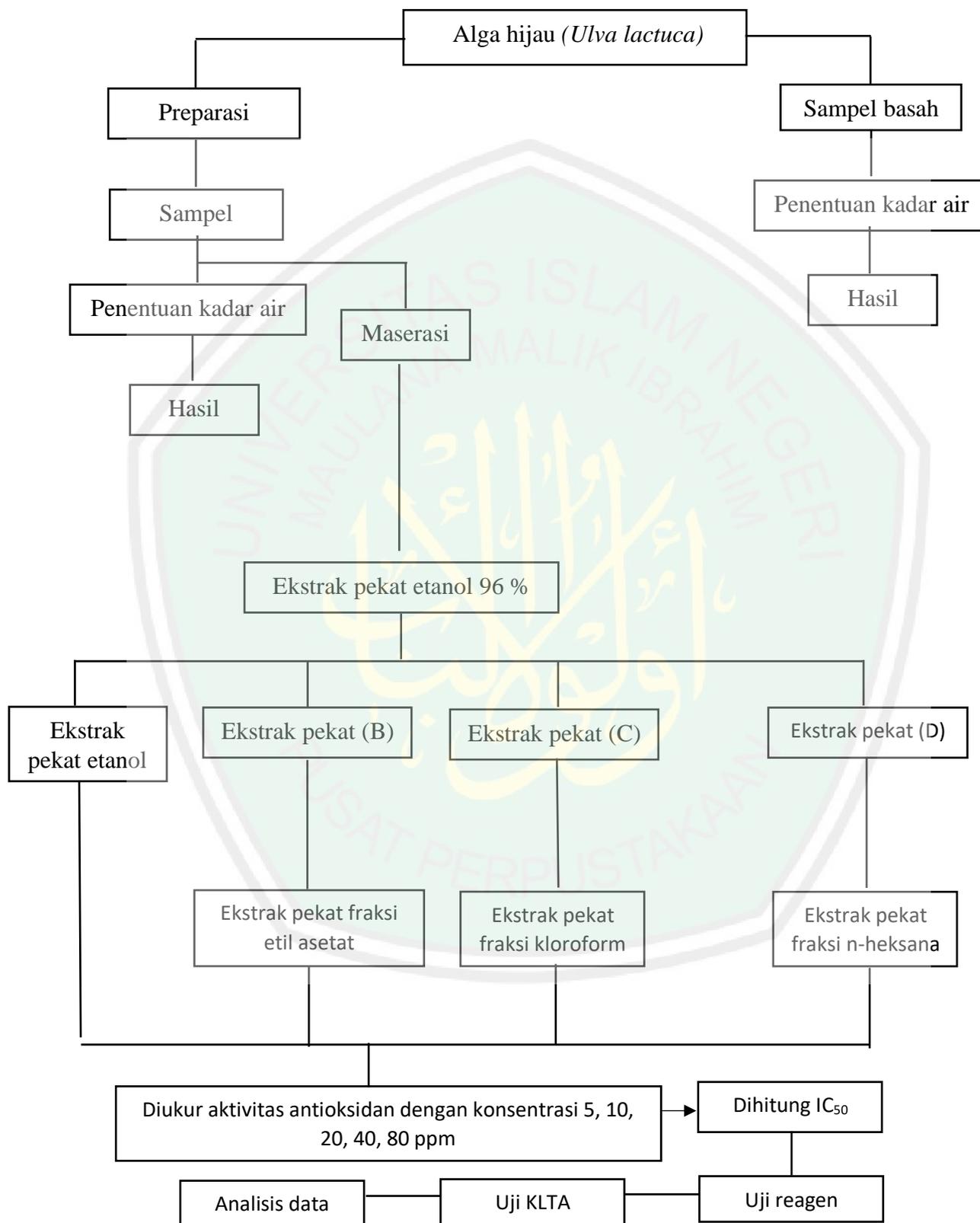
- Prakash, A., F. Rigelhof dan E. Miller. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of Analytical Chemistry*. Medallion Laboratories: Analytical Progress. Vol. 19, No.2.
- Prathep, A, Kim, J. H, Lapointe, B. E., & Mayakun, J., 2005. Gametangial characteristics in the sexual reproduction of *Halimeda macroloba* Decaisne (Chlorophyta: Halimedaceae). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 34 (2) : 211–216.
- Pratiwi, D. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Rahayu, D dan Hastuti, S.D. 2010. Stabilitas Saponin Sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun *Aloe Barbandis Miller* Pada Variasi Suhu Dan Lama Simpan. *Jurnal*.Malang: Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan-perikanan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Redha, S. M., Sahar S. E. S., Hanan A. A. T., Maysa E. M., dan Kamel H. S. 2010. Antioxidant, antimicrobial activities of flavonoids glycosides from *Leucaena leucocephala* leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 5 (06), pp. 138-147. ISSN 2231-3354.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Jurnal kesehatan*. Vol.4, No.1: 5 – 9.
- Saifudin, A., Suparti, Fuad, A., dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui kultur suspensi sel daun *Catharanthus roseus* (L) G. Don berbunga merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 7. No. 2: 92-102.
- Santoso, U. 2012. *Antioksidan. Bahan Ajar Mata Kuliah Analisis Pangan*.Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada.
- Saptasari, Murni. 2010. *Variasi Ciri Morfologi dan Potensi Makroalga Jenis Caulerpa di Pantai Kondang Merak Kabupaten Malang*. El-Hayah. 1 (2) : 38-40.

- Saraswaty, Indir., dan Dieny, Fillah Fitra. 2013. Perbedaan Karakteristik Usia, Asupan Makan, Aktifitas Fisik, Tingkat Sosial Ekonomi dan Pengetahuan Wanita Dewasa dengan Kelebihan Berat Badan Antara Di Desa dan Di Kota. Semarang: Program Studi Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Saraswaty, V., Chandra R., Thelma A. B., dan Tjandrawati M. 2013. Aktivitas Antioksidan dari Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Manggis, Daun Sirsak, dan Daun Sirih Merah. *Proceeding Seminar Ilmu Pengetahuan Teknik*.
- Sax, D., dan Lewis, R., 1998. Dictionary Chemist Canada: Galler International.
- Saxena, N., Shrivastava, P. N., dan Saxena, C. 2012. *Preliminary PhysicoPhytochemical Study of Stem Bark of Alstonia scholaris (L.) R. BR- A Medicinal Plant*. Department of Botany, S. S. L. Jain P. G. College, Vidisha -464 001. India: Madhya Pradesh.
- Shankhadarwar, S. D. 2015. Phytochemical Screening Of Marine Algae *Ulva Lactuca* (Linn.) And *Enteromorpha Intestinalis* (Linn.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(12): 419-423.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Septyaningsih, D., Anton A., dan Maya P. S. 2010. *Analisis Sensori untuk Industri Pangan dan Agro*. Bogor: IPB Press.
- Shihab, Q. 2003. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sufiana dan Harlia. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Campuran Ekstrak Metanol Kayu Sepang (*Caesalpinia Sappan L.*) Dan Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanil B.*). JKK. 3(2) : 50-55.
- Tamat, Swasono R., Wikanta, Thamrin., dan Mulina, Lina S. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 5, No. 1, 31-36. ISSN: 1693-1831.
- Tensiska, Marsetio, dan Silvia, O.N.Y. 2007. *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon Dari Ampas Tahu*. Hasil Penelitian Dosen Jurusan Teknologi Industri Pangan. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh: Soedani Noerono Soewandi. Yogyakarta: UGM Press.

- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol.3, No.2: 59 – 68.
- Wibowo, S.T. 2001. Potensi Jenis-Jenis Rumpuk Laut dari Pantai Sayang Heulang-Pameungpeuk Garut Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal biologi*. Bogor : Jurusan Biologi, Institusi Pertanian Bogor.
- Widyaningsih, W. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura Procumbens*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami* ISBN: 978-979-18458-2-3.
- Winarno, F.G. 1990. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno. 1990. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Xiao-ling, L., C. Rong dan Y. Zai-yong. 2003. Elementary study on nutritional compositions of the green alga, *Ulva lactuca* in the South China Sea. *Journal of Natural Science*. 6 (2): 79-83.
- Yuliani, D. 2010. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella Sativa*. L.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Zahro, I.M. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak N-Heksana Tanaman Anting-Anting (*Acalipha Indica* Linn.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Zandi, K., Saeed, T., Iraj, N., Zahra, R., Forough, Y., Samin, S., dan Kohzad, S. 2010. *In vitro* Antitumor Activity of *Gracilaria corticata* (A red Algae) Against Jurkat And Molt-4 Human Cancer Cell Lines. *Journal of Biotechnology*. Busher Iran: University of Medical Sciences. 9 (40): 6787-6790.

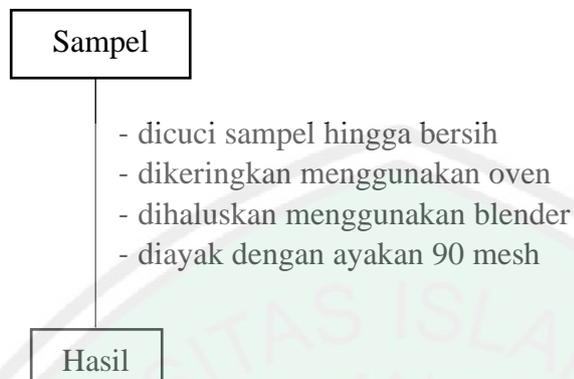
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

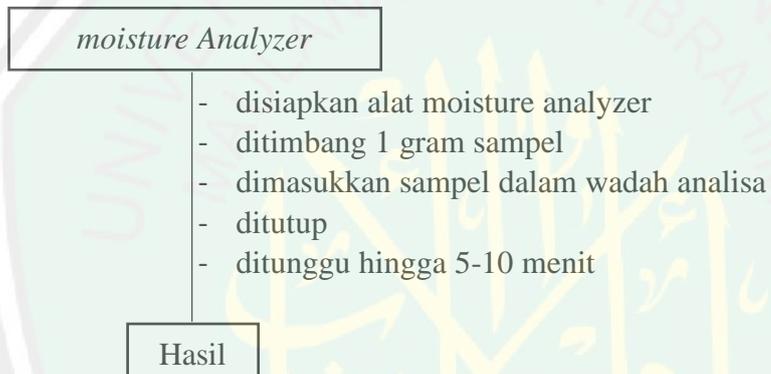


## Lampiran 2. Diagram Alir

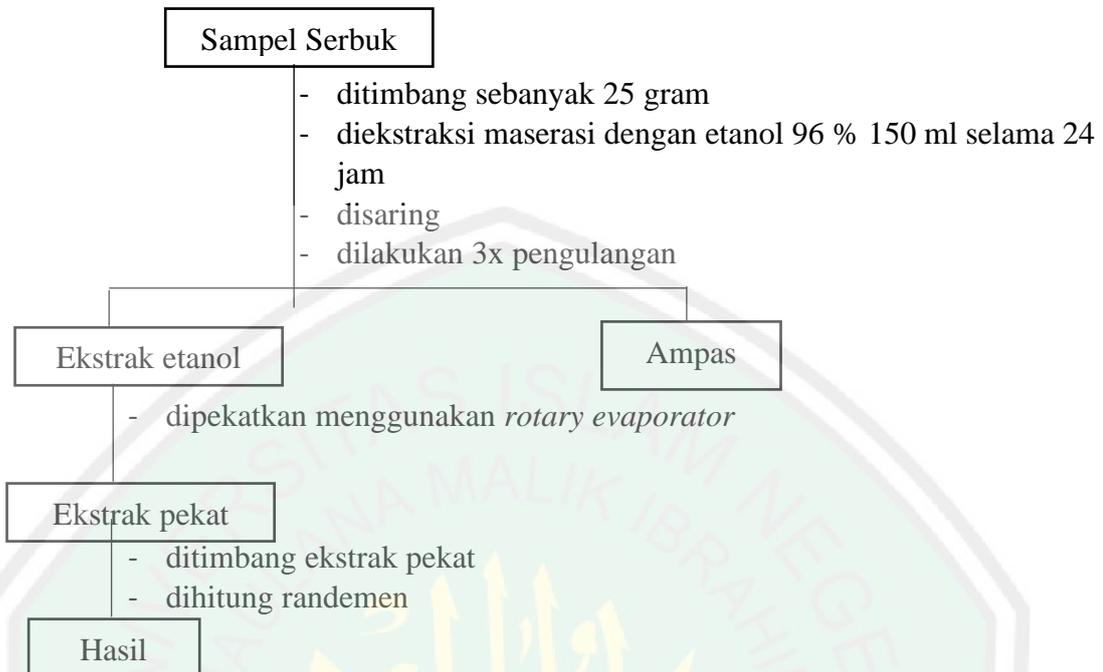
### 1.2.1 Preparasi Sampel



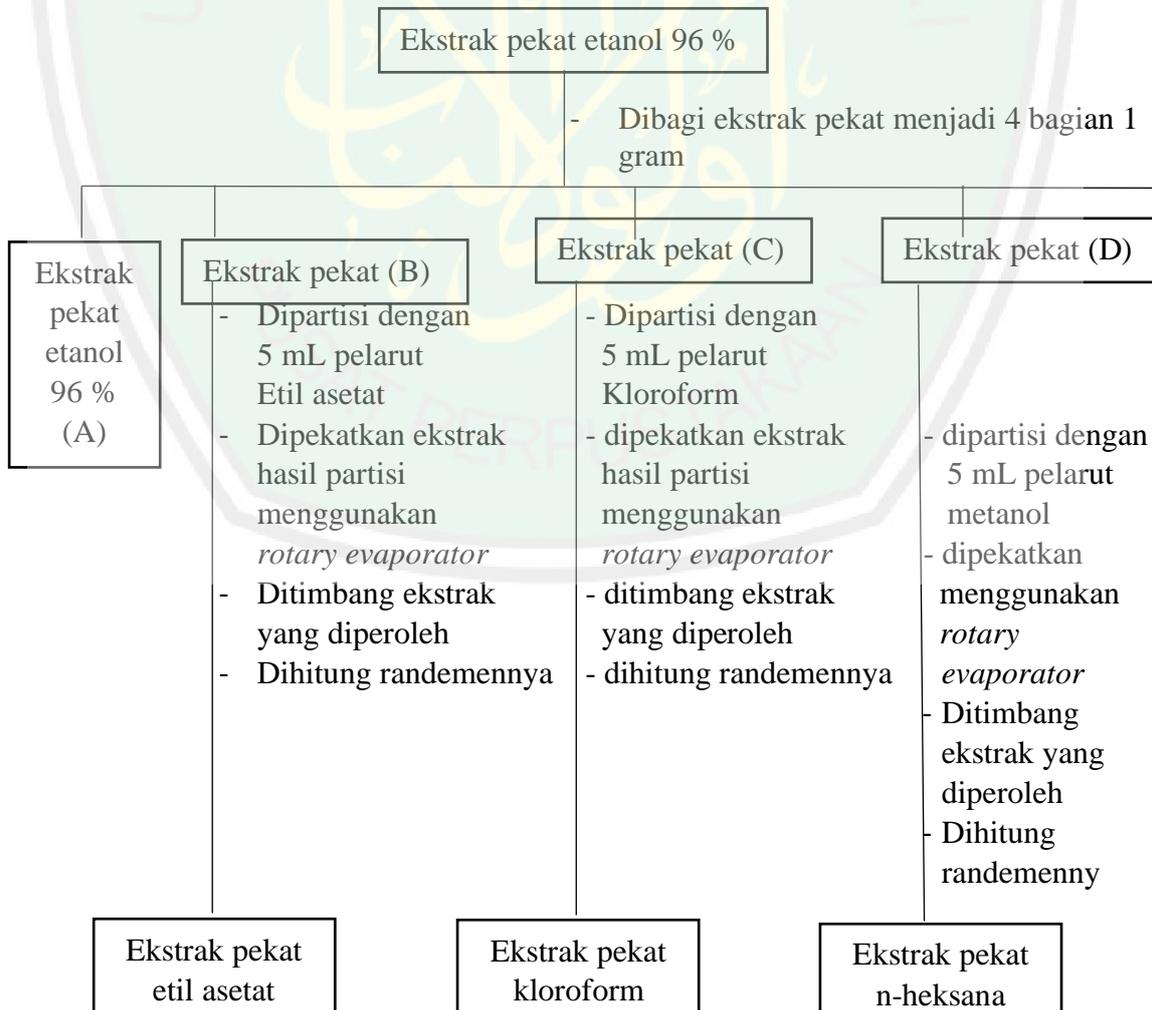
### 1.2.2 Penentuan Kadar Air dengan *Moisture Analyzer*



### 1.2.3 Ekstraksi Maserasi Pelarut Etanol 96 %



### 1.2.4 Ekstraksi Cair-cair (Partisi) Ekstrak Pekat Etanol 96 %



## 1.2.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

### 1.2.5.1 Penentuan panjang Gelombang Maksimum

Etanol 96 %

- diambil 4 mL
- ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,1 mM
- diinkubasi pada 37°C
- didiamkan selama 10 menit
- dimasukkan dalam instrumen uv-vis
- dicari  $\lambda_{maks}$  pada rentang 500-530 nm

Hasil

### 1.2.5.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

#### a. Absorbansi Kontrol

DPPH 0,1 mM

- diambil sebanyak 50  $\mu$ L
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 200  $\mu$ L
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit
- dipindahkan dalam 96 *well clear polystyrene microplate*
- diukur absorbansi pada  $\lambda_{maks}$  menggunakan *Elisa reader*

Hasil

#### b. Absorbansi Sampel Variasi Konsentrasi

Ekstrak kasar masing-masing fraksi

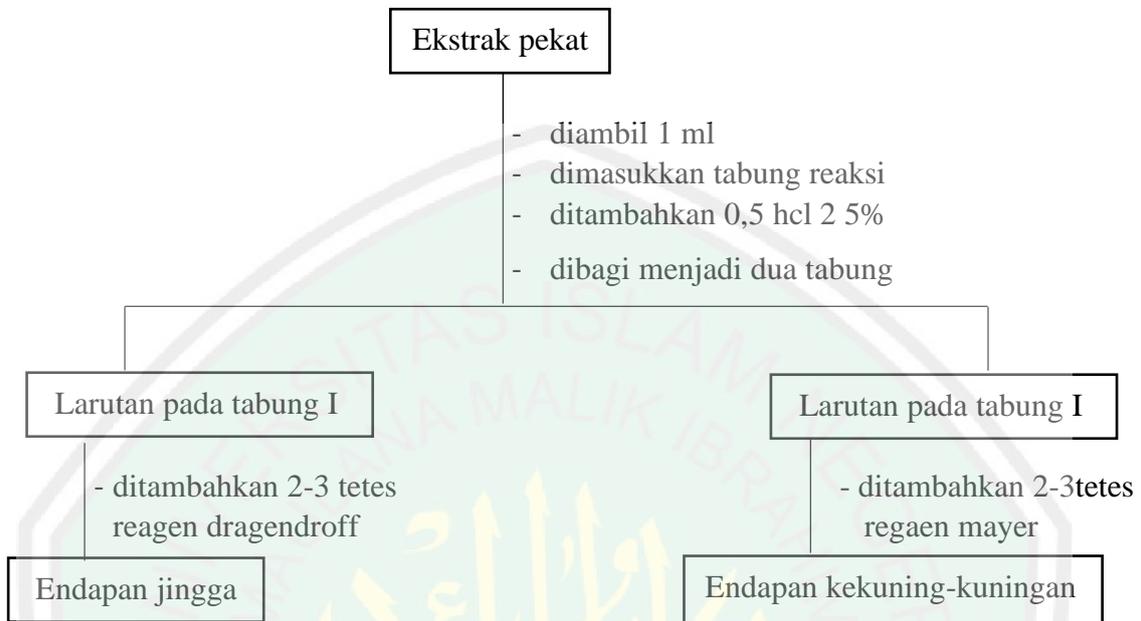
- dilarutkan pada pelarutnya dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40, 80 ppm
- diambil larutan ekstrak sebanyak 200  $\mu$ L
- ditambahkan 0,1 mM DPPH sebanyak 50  $\mu$ L
- diinkubasi pada suhu 37°C 10 menit
- dimasukkan dalam 96 *well clear polystyrene microplate* dan diukur absorbansi pada  $\lambda_{maks}$

Hasil

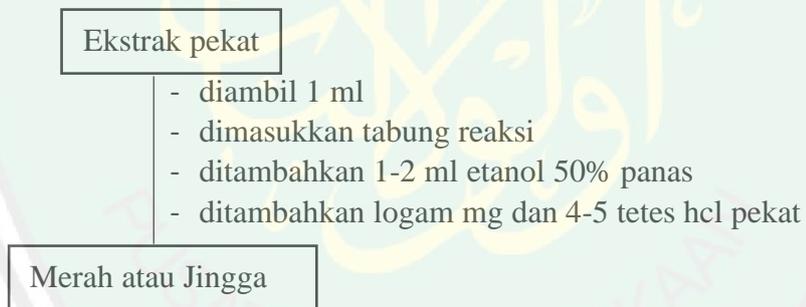
## 1.2.6 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder

### 1.2.6.1 Identifikasi menggunakan Reagen Fitokimia

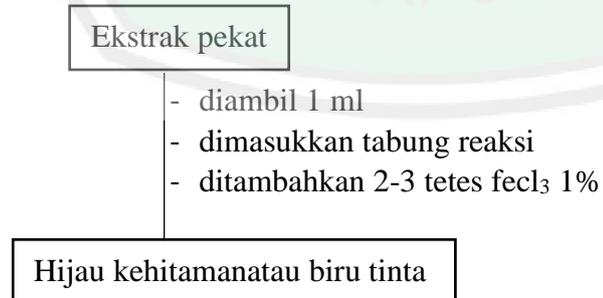
#### 1.2.6.1.1 Uji Alkaloid



#### 1.2.6.1.2 Uji Flavonoid



#### 1.2.6.1.3 uji tanin



#### 1.2.6.1.4 Uji Saponin

Ekstrak pekat

- diambil 1 ml
- dimasukkan tabung reaksi
- ditambahkan air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit
- ditambahkan 2 tetes hcl 1n (jika timbul busa)
- dibiarkan selama 10 menit

Timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm

#### 1.2.6.1.5 uji triterpenoid dan steroid

Ekstrak pekat

- diambil 1 ml
- dimasukkan tabung reaksi
- dilarutkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat
- ditambahkan 1-2 h<sub>2</sub>so<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung

Cincin kecoklatan atau violet (triterpenoid) atau warna hijau kebiruan (steroid)

#### 1.2.6.2 identifikasi menggunakan klta

Ekstrak pekat

- ditotolkan 1 µl (5-10) dengan pipa kapiler pada jarak 1 cm x 6,5 cm
- dikeringkan dengan *hair dryer*
- dielusi dengan beberapa eluen hingga 1 cm dari tepi atas plat
- diangkan dan dikeringkan
- diperiksa pada permukaan plat bawah lampu uv 254 nm
- diamati kembali
- ditandai noda yang terbentuk dengan cara melingkari dengan pensil (jumlah noda yang terbentuk, rf serta warna yang terbentuk)
- diberi reagen semprot dan diamati kembali

Hasil

### Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan

#### 1.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

DPPH 0,1 mM dalam 10 mL etanol p.a (96%)

Mr DPPH = 394,33 g/mol

n DPPH = volume DPPH X M DPPH

$$= 10 \text{ mL} \times 0,1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$= 0,002 \text{ mmol} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol}$$

Massa DPPH = n DPPH x Mr DPPH

$$= 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \times 394,33 \text{ g/mol}$$

$$= 394,33 \cdot 10^{-3} \text{ gram} = 3,9433 \text{ mg}$$

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9433 mg, dilarutkan dengan pelarut etanol 96% dan ditandabatkan hingga 10 mL dalam labu ukur.

#### 1.3.2 Pembuatan Larutan HCl 2 %

$$\% \times V_1 = \% \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,54 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

HCl pekat 37% dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi akuades 5 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

#### 1.3.3 Pembuatan Larutan HCl 2 N

$$P = 1,19 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mr HCl} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$\text{Ekuivalen} = 1$$

$$\begin{aligned} \text{Massa HCl 37\%} &= \rho \times V \\ &= 1,19 \text{ g/mL} \times 37 \text{ mL} = 44,03 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol HCl 37\%} &= \frac{\text{massa}}{Mr} \\ &= \frac{44,03 \text{ gram}}{36,5 \text{ g/mol}} = 1,206 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= \frac{\text{mol} \times \text{ekuivalen}}{\text{volumen (L)}} \\ &= \frac{1,206 \text{ mol} \times 1}{0,1 \text{ L}} \\ &= 12,06 \text{ mol/L (N)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 12,06 \text{ N} \times V_1 &= 2 \text{ N} \times 50 \text{ mL} \\ V_1 &= 8,27 \text{ mL} \end{aligned}$$

HCl pekat 37% dipipet sebanyak 16,58 mL dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi akuades 15 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

#### 1.3.4 Pembuatan FeCl<sub>3</sub> 1%

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{massa zat terlarut} + \text{massa pelarut}} \times 100 \%$$

$$\text{Massa zat terlarut} + \text{massa pelarut} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100 \%$$

$$1 \text{ g} + \text{massa pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100 \%$$

$$\text{Massa pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ mL}$$

$$\text{Volume pelarut} = \frac{\text{massa zat pelarut}}{BJ \text{ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Serbuk FeCl<sub>3</sub>.6 H<sub>2</sub>O ditimbang sebanyak 1 gram, dilarutkan dengan akuades hingga 100 mL dalam *beaker glass* dan diaduk.

### 1.3.5 Pembuatan Etanol 50%

$$\% \times V_1 = \% \times V_2$$

$$96 \% \times V_1 = \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,52 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

Etanol 96 % dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditandabatkan dengan akuades.

### 1.3.6 Pembuatan Reagen Dragendroff

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

Larutan II. 6 gram KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$

Larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 gram  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ . Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL didalam lemari asam. Kemudian dimasukkan larutan 10 mL aquades dan larutan HCl 2 mL untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 gram KI. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquades untuk melarutkan serbuk dengan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL  $\text{H}_2\text{O}$  (Wagner, 1996).

### 1.3.7 Pembuatan Reagen Mayer

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

Larutan II. KI 5 gram dalam aquades 10 mL

Larutan I dibuat dengan menimbang  $\text{HgCl}_2$  1,358 gram. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan disertai pengadukan.

Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gram. Kemudian ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan disertai pengadukan. Selanjutnya larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I ditungkan ke dalam larutan II. Kemudian diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Wagner, 1996).

### 1.3.8 Pembuatan Reagen Liebermann-Buchard

Asam sulfat pekat = 5 mL

Anhidrat asetat = 5 mL

Etanol absolut = 5 mL

Asam sulfat pekat dipipet sebanyak 5 mL dilemari asam. Kemudian larutan asam sulfat tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL. Selanjutnya diambil larutan anhidrida asetat sebanyak 5 mL di dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi asam sulfat. Kemudian diambil larutan etanol absolut 50 mL di dalam lemari asam dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan anhidrida asetat. Setelah itu ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 1996).

### 1.3.9 Pembuatan Larutan $\text{NaHCO}_3$ 5%

Sebanyak 5 gram natrium bikarbonat dilarutkan dengan akuades dalam *beaker glas*. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan akuades sampai tandabataskan lalu dihomogenkan.

### 1.3.10 Pembuatan Larutan Sampel

- Pembuatan Larutan Stok Sampel 1000 ppm dalam 10 mL

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

$$1000 \text{ ppm} = \frac{\text{berat (mg)}}{0,005 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= 0,010 \text{ L} \times 1000 \text{ ppm} \\ &= 10 \text{ mg} \end{aligned}$$

Ekstrak ditimbang 10 mg, dilarutkan dengan 96 % dalam labu ukur 10 mL.

- Pembuatan Larutan Sampel 80 ppm dalam 3 mL

$$\text{ppm} \times V_1 = \text{ppm} \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 80 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,24 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 1000 ppm dipipet sebanyak 0,24 mL dilarutkan dengan etanol 96% 2,76 mL

- Pembuatan Larutan Sampel 40 ppm dalam 3 mL

$$\text{ppm} \times V_1 = \text{ppm} \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,12 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 1000 ppm dipipet sebanyak 0,12 mL dilarutkan dengan etanol 96% 1,8 mL

- Pembuatan Larutan Sampel 20 ppm dalam 3 mL

$$\text{ppm} \times V_1 = \text{ppm} \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,06 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 1000 ppm dipipet sebanyak 0,06 mL dilarutkan dengan etanol 96% 2,94 mL

- Pembuatan Larutan Sampel 10 ppm dalam 3 mL

$$\text{ppm} \times V_1 = \text{ppm} \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,03 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 1000 ppm dipipet sebanyak 0,03 mL dilarutkan dengan etanol 96% 2,97 mL

- Pembuatan Larutan Sampel 5 ppm dalam 3 mL

$$\text{ppm} \times V_1 = \text{ppm} \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,015 \text{ mL}$$

Larutan stok sampel 1000 ppm dipipet sebanyak 0,015 mL dilarutkan dengan etanol 96% 2,985 mL

## Lampiran 4 . Data Penelitian

### L.4.1 Perhitungan Kadar Air *Ulva lactuca* Kering

Ulangan	Berat sampel (g)	Waktu (menit)	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
U <sub>1</sub>	1,030	7	8,21	7,65
U <sub>2</sub>	1,011	13	7,71	
U <sub>3</sub>	1,033	13	7,04	

U = Pengulangan

### L.4.2 Perhitungan Randemen

- Pehitungan Randemen Hasil Maserasi

- Ekstrak Pekat Etanol

Ulangan	Berat wadah (g)	Berat Wadah dan Sampel (g)	Berat Sampel (g)	Randemen (%)
U <sub>1</sub>	120,08	120,6034	0,5234	2,09
U <sub>2</sub>	100,9549	101,5180	0,5637	2,25
U <sub>3</sub>	101,0554	101,5929	0,5375	2,15

U = Pengulangan

- Randemen Ekstrak Etanol

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

- Ulangan ke-1

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,5234 \text{ g}}{25 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 2,09 \% \end{aligned}$$

- Ulangan Ke-2

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,5637 \text{ g}}{25 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 2,25 \% \end{aligned}$$

- Ulangan Ke-3

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,5375 \text{ g}}{25 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 2,15 \% \end{aligned}$$

- Perhitungan Randemen Hasil Partisi

- Fraksi Etil Asetat

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Randemen (%)
U <sub>1</sub>	0,125	0,112	89,6
U <sub>2</sub>	0,125	0,1027	82,16
U <sub>3</sub>	0,125	0,1107	88,56

U = Pengulangan

- Randemen Ekstrak Etanol

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

**Ulangan ke-1**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,112 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 89,6 \% \end{aligned}$$

**Ulangan Ke-2**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1027 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 82,16 \% \end{aligned}$$

**Ulangan Ke-3**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1107 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 88,56 \% \end{aligned}$$

➤ **Fraksi Kloroform**

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Randemen (%)
U <sub>1</sub>	0,125	0,1088	87,04
U <sub>2</sub>	0,125	0,1171	93,68
U <sub>3</sub>	0,125	0,1003	80,24

U = Pengulangan

➤ **Randemen Ekstrak Etanol**

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

**Ulangan ke-1**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1088 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 87,04 \% \end{aligned}$$

**Ulangan Ke-2**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1171 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 93,68 \% \end{aligned}$$

**Ulangan Ke-3**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1003 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 80,24 \% \end{aligned}$$

➤ **Fraksi Metanol**

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Randemen (%)
U <sub>1</sub>	0,125	0,0973	77,84
U <sub>2</sub>	0,125	0,1105	88,4
U <sub>3</sub>	0,125	0,1160	92,8

U = Pengulangan

➤ **Randemen Ekstrak Etanol**

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

**Ulangan ke-1**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,0973 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 77,84 \% \end{aligned}$$

**Ulangan Ke-2**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1105 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 88,4 \% \end{aligned}$$

**Ulangan Ke-3**

$$\begin{aligned} \% \text{ Randemen} &= \frac{0,1160 \text{ g}}{0,125 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 92,8 \% \end{aligned}$$

**L.4.3 Perhitungan Aktivitas Antioksidan****L.4.3.1 Perhitungan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH****➤ Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kasar Etanol**

Kontrol	Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi			Rata-rata	Log konsentrasi (x)	% antioksidan (y)
		1	2	3			
1,2914	5	1,1354	1,2154	1,0098	1,1202	0,6989	13,25
1,2914	10	0,9981	1,1962	1,1456	1,1133	1	13,79
1,2914	20	1,0254	1,0963	0,9985	1,040	1,301	19,46
1,2914	40	0,964	0,9987	1,0025	0,9884	1,602	23,46
1,2914	80	0,949	0,984	0,998	0,977	1,903	24,34

**➤ Aktivitas Antioksidan pada Fraksinasi Etil Asetat**

Kontrol	Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi			Rata-rata	Log konsentrasi (x)	% antioksidan (y)
		1	2	3			
<b>1,2914</b>	5	1,2273	1,2658	1,2639	1,2523	0,6989	3,02
<b>1,2914</b>	10	1,1012	1,2302	1,2541	1,1951	1	7,45
<b>1,2914</b>	20	1,1009	1,1106	1,061	1,0908	1,301	15,53
<b>1,2914</b>	40	0,9575	0,7971	0,7738	0,8428	1,602	34,73
<b>1,2914</b>	80	0,7664	0,7641	0,6706	0,7337	1,903	43,18

➤ **Aktivitas Antioksidan pada Fraksinasi Kloroform**

Kontrol	Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi			Rata-rata	Log konsentrasi (x)	% antioksidan (y)
		1	2	3			
1,2914	5	1,1268	1,1811	1,141	1,1496	0,6989	10,97
1,2914	10	1,0872	1,2046	1,093	1,1282	1	12,63
1,2914	20	1,0385	1,1403	1,1397	1,1061	1,301	14,34
1,2914	40	1,0128	1,0024	1,1521	1,0557	1,602	18,24
1,2914	80	0,9249	1,0609	0,9033	0,963	1,903	25,42

➤ **Aktivitas Antioksidan pada Fraksinasi Metanol**

Kontrol	Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi			Rata-rata	Log konsentrasi (x)	% antioksidan (y)
		1	2	3			
1,2914	5	1,1551	1,2021	1,1881	1,1679	0,6989	9,56
1,2914	10	1,197	1,1559	1,1508	1,1679	1	9,56
1,2914	20	1,0606	1,0949	1,0783	1,0779	1,301	16,52
1,2914	40	1,1469	1,0956	1,099	1,1138	1,602	13,74
1,2914	80	0,8332	0,7256	0,7178	0,7588	1,903	41,23

➤ **Vitamin C**

Konsentrasi (ppm)	Kontrol	Nilai Absorbansi			Rata-rata	% Antioksidan (y)	Log Konsentrasi (x)
		1	2	3			
5	0,4588	0,0211	0,0215	0,0217	0,0214	95,32	0,6989
10	0,4579	0,014	0,0137	0,014	0,0139	96,96	1
20	0,4556	0,013	0,0121	0,0128	0,0126	97,22	1,301
40	0,4560	0,01	0,012	0,0129	0,0116	97,44	1,602
80	0,4570	0,011	0,01	0,01	0,0103	97,73	1,903

➤ **Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Ekstrak Kasar Etanol**

% inhibisi

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 13.52

Top 23.90

LogIC50 1.297

HillSlope = 50.00

IC50 19.84

Span 10.38

95% CI (profile likelihood)

Bottom 11.95 to 15.09

Top 22.33 to 25.47

LogIC50 1.287 to 1.306

IC50 19.35 to 20.24

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 2

R squared 0.9951

Sum of Squares 0.5330

Sy.x 0.5162

Constraints

HillSlope HillSlope = 50

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom 13.52 13.52

Top 23.90 23.90

LogIC50 1.297 1.297

HillSlope = 50.00

IC50 19.84 19.84

Span 10.38 10.38

95% CI (profile likelihood)

Bottom 11.95 to 15.09 11.95 to 15.09

Top 22.33 to 25.47 22.33 to 25.47

LogIC50 1.287 to 1.306 1.287 to 1.306

IC50 19.35 to 20.24 19.35 to 20.24

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 2

R squared 0.9951 0.9951

Sum of Squares 0.5330 0.5330

Sy.x 0.5162 0.5162

Constraints

Bottom Bottom is shared

Top Top is shared

LogIC50 LogIC50 is shared

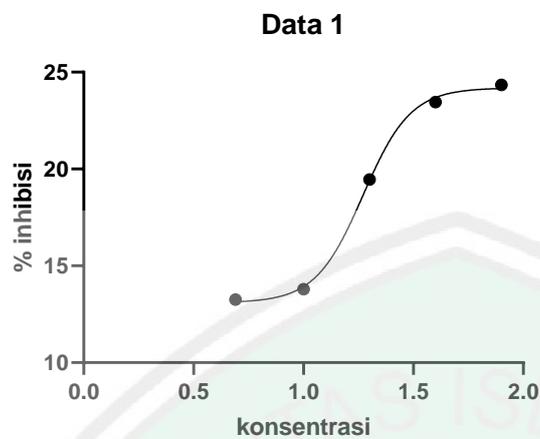
HillSlope HillSlope = 50

Number of points

# of X values 5

# Y values analyzed

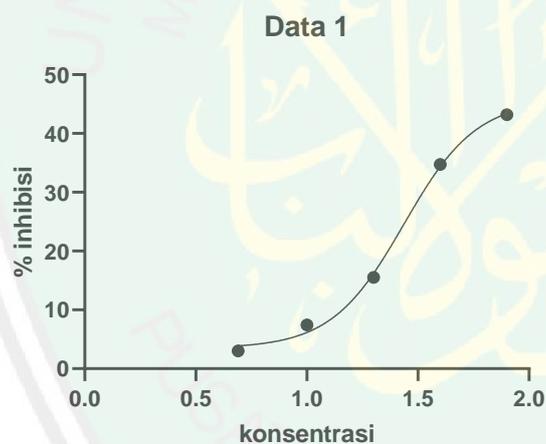
5



➤ **Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Fraksinasi Etil Asetat**

	% inhibisi	
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	5.235	
Top	38.96	
IC <sub>50</sub>	1.322	
HillSlope	= 50.00	
logIC <sub>50</sub>	0.1211	
Span	33.72	
95% CI (profile likelihood)		
Bottom	-9.275 to 20.01	
Top	24.45 to 53.47	
IC <sub>50</sub>	1.001 to ???	
logIC <sub>50</sub>	0.0003624 to ???	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	2	
R squared	0.9626	
Sum of Squares	45.49	
Sy.x	4.769	
Constraints		
HillSlope	HillSlope = 50	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	5.235	5.235
Top	38.96	38.96

IC50	1.322	1.322
HillSlope	= 50.00	
logIC50	0.1211	0.1211
Span	33.72	33.72
95% CI (profile likelihood)		
Bottom	-9.275 to 20.01	-9.275 to 20.01
Top	24.45 to 53.47	24.45 to 53.47
IC50	1.001 to ???	1.001 to ???
logIC50	0.0003624 to ???	0.0003624 to ???
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		2
R squared	0.9626	0.9626
Sum of Squares	45.49	45.49
Sy.x		4.769
Constraints		
Bottom	Bottom is shared	
Top	Top is shared	
IC50	IC50 is shared	
HillSlope	HillSlope = 50	
Number of points		
# of X values	5	
# Y values analyzed	5	



### ➤ Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Fraksinasi Klorofom

% inhibisi

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 12.65

Top 25.42

LogIC50 1.602

HillSlope = 50.00

IC50 40.01

Span 12.77

95% CI (profile likelihood)

Bottom 8.461 to 16.83

Top 17.89 to 32.67

LogIC50

IC50

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 2

R squared 0.9572

Sum of Squares 5.679

Sy.x 1.685

Constraints

HillSlope HillSlope = 50

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom 12.65 12.65

Top 25.42 25.42

LogIC50 1.602 1.602

HillSlope = 50.00

IC50 40.01 40.01

Span 12.77 12.77

95% CI (profile likelihood)

Bottom 8.461 to 16.83 8.461 to 16.83

Top 17.89 to 32.67 17.89 to 32.67

LogIC50 1.279 to ???

IC50 19.02 to ???

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 2

R squared 0.9572 0.9572

Sum of Squares 5.679 5.679

Sy.x 1.685 1.685

Constraints

Bottom Bottom is shared

Top Top is shared

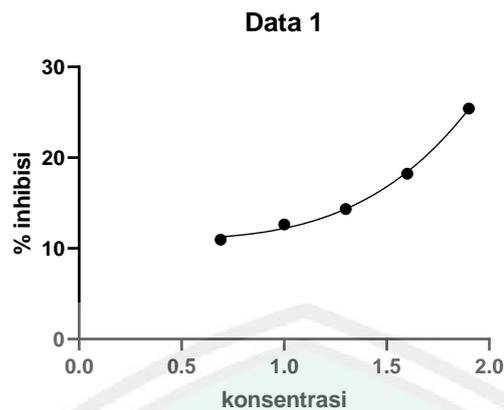
LogIC50 LogIC50 is shared

HillSlope HillSlope = 50

Number of points

# of X values 5

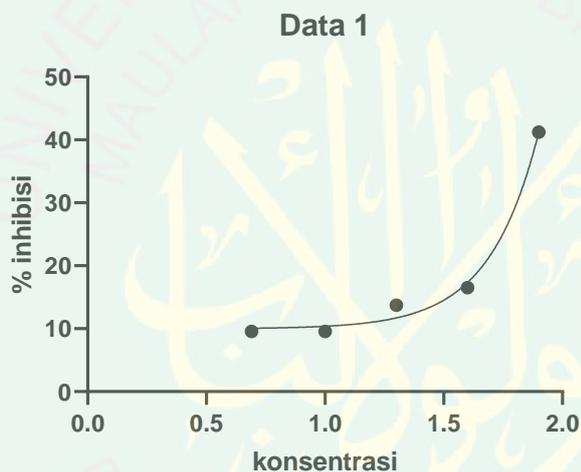
# Y values analyzed 5



➤ **Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Fraksinasi Metanol**

		% inhibisi
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	10.95	
Top	41.26	
IC50	1.648	
HillSlope	= 50.00	
logIC50	0.2171	
Span	30.31	
95% CI (profile likelihood)		
Bottom	4.958 to 16.94	
Top	30.87 to 51.67	
IC50	1.648	
logIC50		
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	2	
R squared	0.9834	
Sum of Squares	11.65	
Sy.x	2.413	
Constraints		
HillSlope	HillSlope = 50	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	10.95	10.95
Top	41.26	41.26
IC50	1.648	1.648
HillSlope	= 50.00	
logIC50	0.2171	0.2171
Span	30.31	30.31

95% CI (profile likelihood)		
Bottom	4.958 to 16.94	4.958 to 16.94
Top	30.87 to 51.67	30.87 to 51.67
IC50		
logIC50		
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		2
R squared	0.9834	0.9834
Sum of Squares	11.65	11.65
Sy.x		2.413
Constraints		
Bottom	Bottom is shared	
Top	Top is shared	
IC50	IC50 is shared	
HillSlope	HillSlope = 50	
Number of points		
# of X values		5
# Y values analyzed		5



### ➤ Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Fraksinasi Metanol

	% inhibisi
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	95.32
Top	97.46
IC50	0.9767
HillSlope	= 50.00
logIC50	-0.01026
Span	2.143
95% CI (profile likelihood)	

Bottom 94.22 to 96.42  
 Top 96.83 to 98.10  
 IC50  
 logIC50  
 Goodness of Fit  
 Degrees of Freedom 2  
 R squared 0.9634  
 Sum of Squares 0.1309  
 Sy.x 0.2558

Constraints  
 HillSlope HillSlope = 50

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom	95.32	95.32
Top	97.46	97.46
IC50	0.9767	0.9767
HillSlope	= 50.00	
logIC50	-0.01026	-0.01026
Span	2.143	2.143

95% CI (profile likelihood)

Bottom	94.22 to 96.42	94.22 to 96.42
Top	96.83 to 98.10	96.83 to 98.10
IC50		??? to 1.056
logIC50		??? to 0.02386

Goodness of Fit

Degrees of Freedom		2
R squared	0.9634	0.9634
Sum of Squares	0.1309	0.1309
Sy.x		0.2558

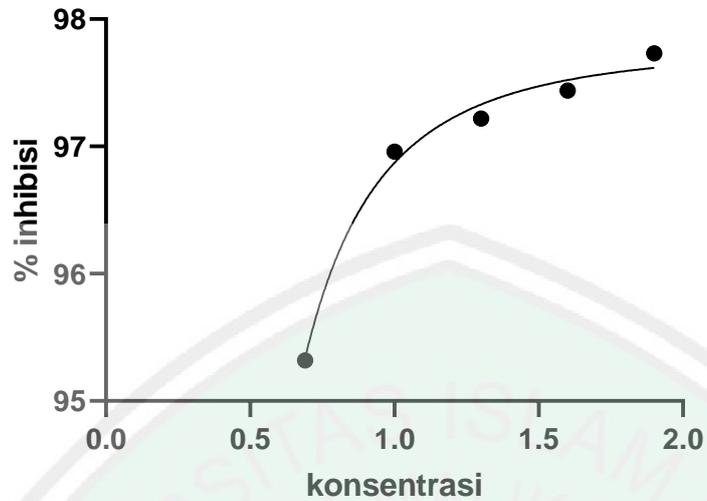
Constraints

Bottom	Bottom is shared
Top	Top is shared
IC50	IC50 is shared
HillSlope	HillSlope = 50

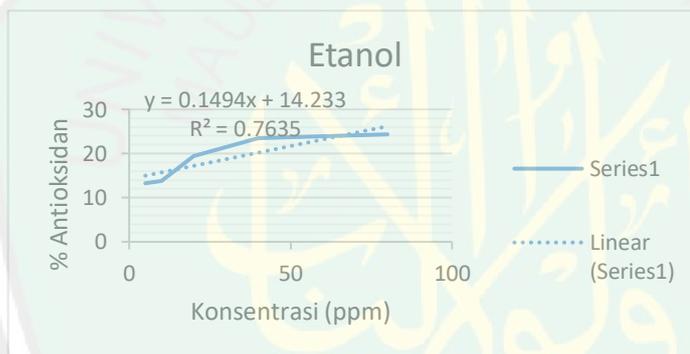
Number of points

# of X values	5
# Y values analyzed	5

Data 1



➤ **Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Ekstrak Kasar Etanol**

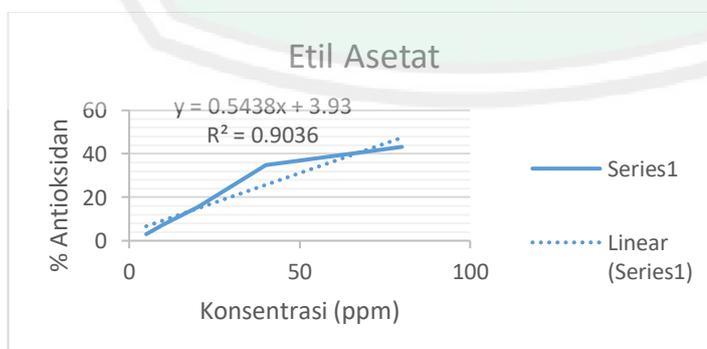


$$Y = 0,1494X + 14,233$$

$$IC_{50} = (50 - 14,233) / 0,1494$$

$$= 239,40 \text{ ppm}$$

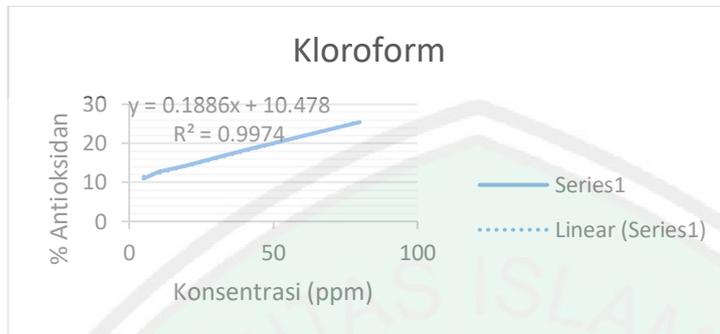
➤ **Perhitungan IC<sub>50</sub> pada Fraksinasi Etil Asetat**



$$Y = 0,5438x + 3,93$$

$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= (50-3,93) / 0,5438 \\ &= 84,71 \text{ ppm} \end{aligned}$$

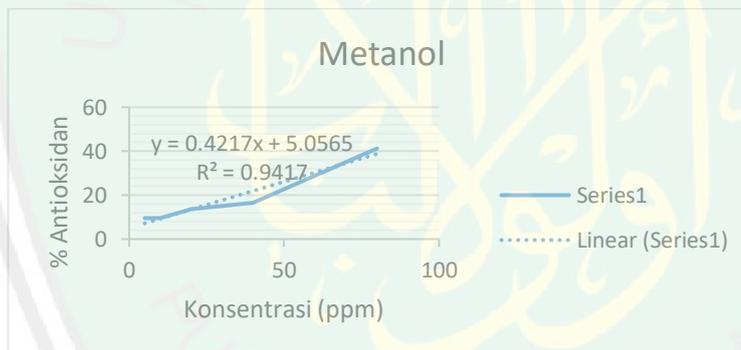
➤ **Perhitungan  $\text{IC}_{50}$  pada Fraksinasi Klorofom**



$$Y = 0,1886x + 10,478$$

$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= (50-10,478) / 0,1886 \\ &= 209,55 \text{ ppm} \end{aligned}$$

➤ **Perhitungan  $\text{IC}_{50}$  pada Fraksinasi Metanol**



$$Y = 0,4217x + 5,0565$$

$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= (50-5,0565) / 0,4217 \\ &= 106,57 \text{ ppm} \end{aligned}$$

### L.4.3.2 Perhitungan Nilai Rf (*Retardation Factor*) Hail KLTA Alga Hijau *Ulva lactuca*

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

#### 1. Hasil nilai Rf KLTA Fraksi Etil Asetat

##### ➤ Senyawa Flavonoid

##### a. Eluen 1 = n-hexana : etil asetat (3:2)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,7}{4,5} = 0,16$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1}{4,5} = 0,23$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{1,4}{4,5} = 0,32$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{1,8}{4,5} = 0,4$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{2}{4,5} = 0,45$$

$$\text{Rf noda 6} = \frac{2,4}{4,5} = 0,54$$

$$\text{Rf noda 7} = \frac{2,8}{4,5} = 0,63$$

$$\text{Rf noda 8} = \frac{4,3}{4,5} = 0,96$$

##### b. Eluen 2 = n-hexana : etil asetat (8:2)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,8}{4,5} = 0,18$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,1}{4,5} = 0,25$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{1,3}{4,5} = 0,29$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{2,1}{4,5} = 0,47$$

##### c. Eluen 2 = kloroform : etil asetat (7:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{3,6}{4,5} = 0,8$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{4}{4,5} = 0,89$$

##### d. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (7:3)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,3}{4,5} = 0,29$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,9}{4,5} = 0,43$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{2,5}{4,5} = 0,56$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{2,9}{4,5} = 0,65$$

##### e. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (4:1)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{0,8}{4,5} = 0,18$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{1,1}{4,5} = 0,25$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{1,2}{4,5} = 0,27$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{1,9}{4,5} = 0,43$$

##### f. Eluen 2 = n-heksana : etil asetat (6:4)

$$\text{Rf noda 1} = \frac{3,6}{4,5} = 0,8$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{4}{4,5} = 0,89$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{4,1}{4,5} = 0,92$$

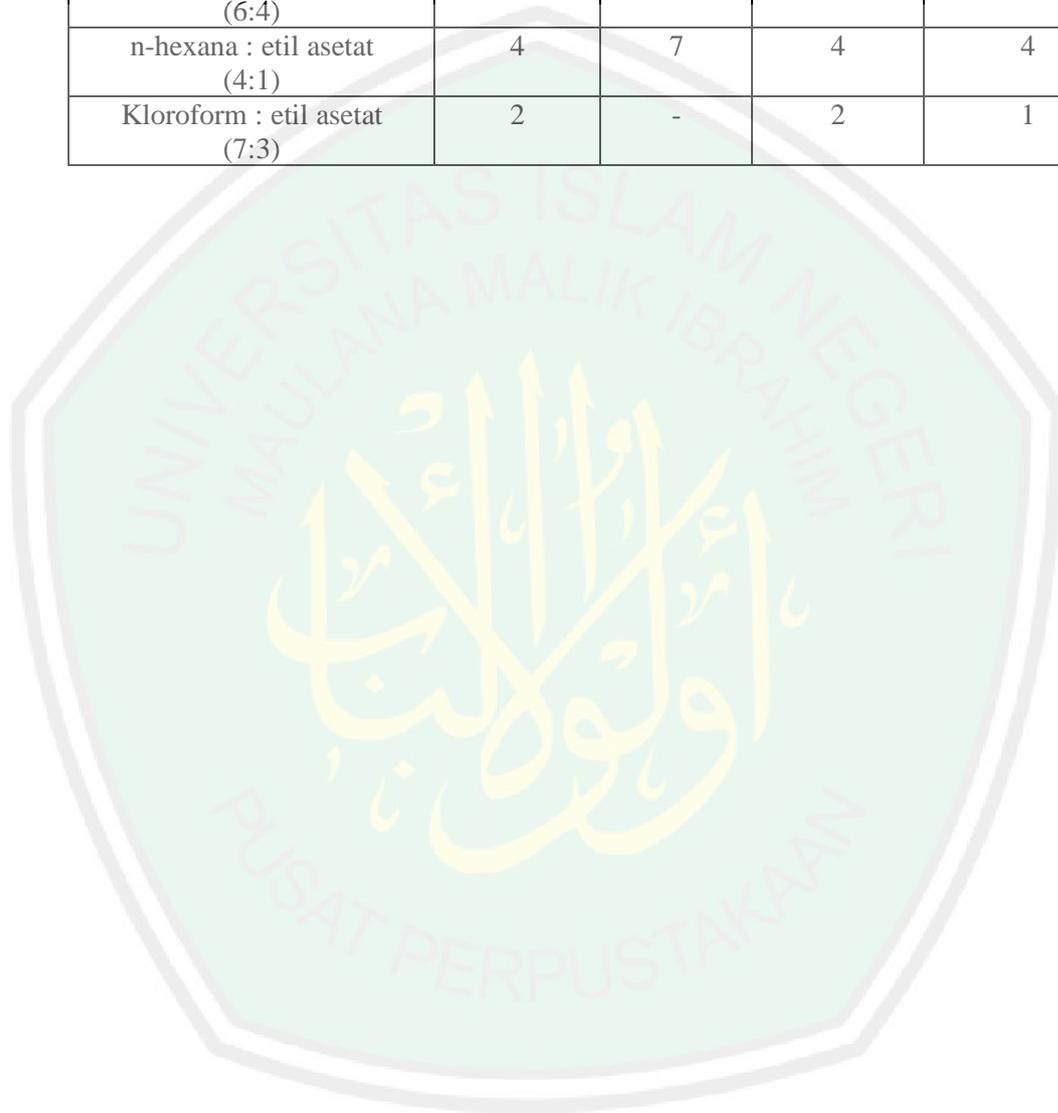
$$\text{Rf noda 4} = \frac{4,3}{4,5} = 0,96$$

### L.4.3.3 Profil KLT Analitik

Data penampak noda dari KLT analitik senyawa flavonoid fraksi etil asetat alga hijau *Ulva lactuca* pada panjang gelombang 254 nm

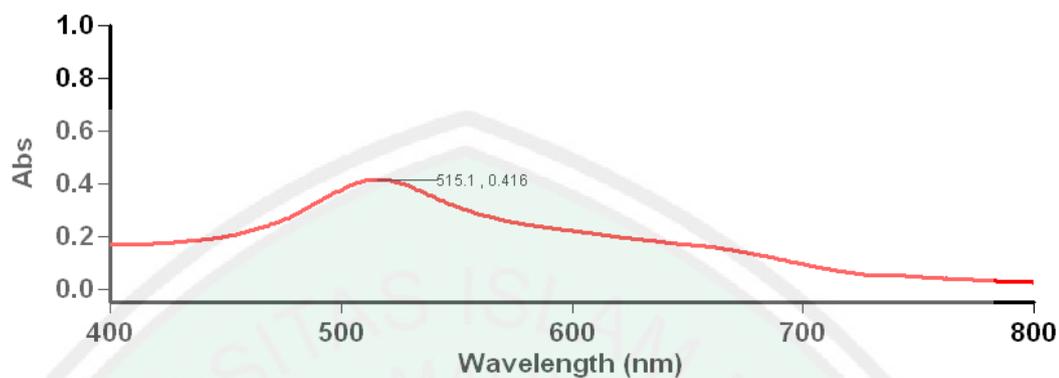
No.	Fase Gerak	Jumlah Noda	Tanpa FeCl <sub>3</sub>	Dengan FeCl <sub>3</sub>	Nilai Rf
1	n-heksana:etil asetat (3:2)	8	Hijau	-	0,16
			Kuning	-	0,23
			Hijau	Hijau	0,32
			Kuning	-	0,4
			Biru	-	0,45
			Abu-abu	-	0,54
			Hijau	Hijau	0,63
			Biru floresense	Biru pudar	0,96
2	n-heksana:etil asetat (8:2)	4	Kuning	-	0,18
			Hijau	-	0,25
			Abu-abu	Abu-abu	0,29
			Abu-abu	Abu-abu	0,47
3	n-heksana:etil asetat (7:3)	4	Hijau	Abu-abu	0,29
			Hijau	Abu-abu	0,43
			Kuning	Abu-abu	0,56
			Kuning	Abu-abu	0,65
4	n-heksana:etil asetat (4:1)	4	Kuning	-	0,18
			Kuning	-	0,25
			Hijau	Hijau	0,27
			Hijau	-	0,43
5	n-heksana:etil asetat (6:4)	4	Hijau	Kuning	0,8
			Abu-abu	-	0,89
			Abu-abu	-	0,92
			Hijau	-	0,96
6	Kloroform:etil asetat (7:3)	2	Hijau	Kuning	0,8
			Hijau	Kuning	0,89

Perbandingan eluen	Jumlah noda spot			
	Etanol	Klorofom	Etil asetat	Metanol
n-hexana : etil asetat (3 :2)	4	4	8	3
n-hexana : etil asetat (8 :2)	3	2	4	3
n-hexana : etil asetat (7:3)	5	6	4	4
n-hexana : etil asetat (6:4)	2	3	4	2
n-hexana : etil asetat (4:1)	4	7	4	4
Kloroform : etil asetat (7:3)	2	-	2	1



# Lamdha Maks DPPH

Tanggal Analisa : 1 July 2019



## Scan Analysis Report

Report Time : 1 July 02:52:29 PM 2019

Method:

Batch: D:\Shovi\Lamdha Maks DPPH (1-07-2019).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Andri

Sample Name: DPPH

Collection Time 07/1/2019 2:52:59 PM

Peak Table

Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 400.0nm

Wavelength (nm) Abs

515.1	0.416
-------	-------

## Lampiran 5 Identifikasi Alga Hijau *Ulva lactuca*



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS BIOLOGI  
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN  
Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

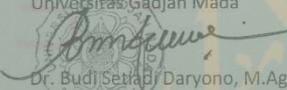
---

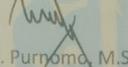
**SURAT KETERANGAN**  
Nomor : 01429/ S.Tb. /XI/ 2018

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Diah Pratiwi  
NIP : 198510262010122001  
Asal instansi : Balai Penelitian Teknologi Bahan Alam BPTBA - LIPI

telah melakukan identifikasi Alga dengan hasil terlampir,  
identifikasi tersebut dibantu oleh Ludmilla Fitri Untari, S.Si., M.Sc.  
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada  
  
Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.  
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 23 November 2018  
Kepala Laboratorium  
Sistematika Tumbuhan  
Fakultas Biologi UGM  
  
Dr. Purnomo, M.S.  
NIP. 195504211982031005



10. Divisio : Chlorophyta  
Kelas : Chlorophyceae  
Ordo : Ulotrichales  
Familia : Ulvaceae  
Genus : Ulva  
Species : *Ulva lactuca* Lin.

Yogyakarta, 23 November 2018

Mengetahui,  
Kepala Laboratorium  
Sistematika Tumbuhan

  
Prof. Dr. Purnomo, M.S  
NIP. 195504211982031005

## Lampiran 6 Dokumentasi penelitian

### 1.6.1 Preparasi Sampel



Sampel basah



Serbuk Alga hijau  
*Ulva lactuca* ukuran 90 mesh

### 1.6.2 Ekstraksi



Ekstraksi maserasi dengan  
pelarut Etanol



Pemekatan dengan *Rotary  
evaporator vacum*

### 1.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan



### 1.6.4 Uji Fitokimia dengan Reagen



Flavonoid (+) Steroid (+) Saponin (m) Tanin (-)