

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AGAR DARI ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa* HASIL EKSTRAKSI SONIKASI DENGAN
VARIASI PELARUT DAN KONSENTRASI**

SKRIPSI

Oleh :
DINDA AYU LESTARI
NIM. 18630088



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AGAR DARI ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa* HASIL EKSTRAKSI SONIKASI DENGAN
VARIASI PELARUT DAN KONSENTRASI**

SKRIPSI

Oleh :
DINDA AYU LESTARI
NIM. 18630088

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)

PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022

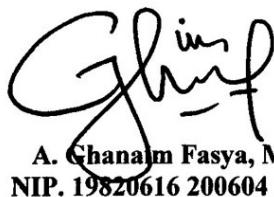
**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AGAR DARI ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa* HASIL EKSTRAKSI SONIKASI DENGAN
VARIASI PELARUT DAN KONSENTRASI**

SKRIPSI

Oleh :
DINDA AYU LESTARI
NIM. 18630088

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 10 Juni 2022**

Pembimbing I


A. Chanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Pembimbing II


Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I
NIPT. 20142011409

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia


Rachmawati Ningtih, M. Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA AGAR DARI ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa* HASIL EKSTRAKSI SONIKASI DENGAN
VARIASI PELARUT DAN KONSENTRASI**

SKRIPSI

Oleh :
DINDA AYU LESTARI
NIM. 18630088

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 27 Juni 2022**

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



Anggota Penguji I : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069



Anggota Penguji II : A. Ghanim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002



Anggota Penguji III : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 20142011409



**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Kimia**

Rachmawati Ninggin, M. Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dinda Ayu Lestari
NIM : 18630088
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Agar Dari Alga Merah
Gracilaria Verrucosa Hasil Ekstraksi Sonikasi Dengan Variasi Pelarut Dan Konsentrasi

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

Malang, 10 Juni 2022
Yang membuat pernyataan,



Dinda Ayu Lestari
NIM. 18630088

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, sebagai rasa syukur atas nikmat Allah SWT yang telah penulis rasakan. Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

Untuk Ayah Khoirul Naam dan Ibu Ririn Indrawati yang selalu membuatku termotivasi dan selalu memberi kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku menjadi lebih baik. Terima kasih Ayah. Terima kasih Ibu atas semua yang telah engkau berikan semoga diberi kesehatan dan panjang umur agar dapat menemani langkah kecilku bersama adik-adikku tercinta menuju kesuksesan.

Untuk semua dosen serta laboran di Program Studi Kimia UIN Malang yang telah memberikan ilmu, wawasan, dan pengalaman kepada saya. Terutama untuk Bapak A. Ghaim Fasya M. Si dan bapak M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I, terima kasih sudah membimbing saya menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih atas arahan dan kesabarannya dalam membimbing saya. Sukses dan sehat selalu, Bapak.

Untuk diri sendiri, terima kasih yang telah berjuang sejauh ini dengan melawan ego serta mood yang tidak tentu selama proses skripsi ini.

Untuk teman-temanku semua khususnya kos yellow, ponpes syah Nur, dan semua teman-teman yang selalu menemani saya dalam menyelesaikan skripsi imi, terimakasih atas motivasinya, bantuannya, kebersamaannya, semangatnya dan dukungannya, semoga hal ini dapat membawa keberkahan dalam hidup kita di masa depan, Aaminn.

MOTTO

”لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا...”

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya....”
Q.S al Baqarah : 286



”خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ”

“Sebaik Baik Manusia Adalah Yang Paling Bermanfaat Bagi Orang Lain”

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Agar dari Alga Merah *Gracilaria verrucosa* Hasil Ekstraksi Sonikasi dengan Variasi Pelarut dan Konsentrasi Perendaman**“. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menerangi dunia dengan cahaya iman dan Islam. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu proses penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini, penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku pembimbing kimia yang sabar memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku pembimbing agama yang memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Orang tua tercinta, serta keluarga yang telah banyak memberikan kasih sayang, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
7. Seluruh dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
8. Seluruh staf Laboratorium dan staf administrasi Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang atau bantuan dan arahannya selama proses penelitian.

9. Diri sendiri yang telah berjuang sejauh ini dengan melawan ego serta mood yang tidak tentu selama penulisan skripsi ini, serta laptop yang telah bertahan dan menemani penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Seluruh teman-teman KRIPTON 2018, kelas A 2018, khususnya kost yellow dan ponpes syah-NUR yang telah memberi motivasi, informasi, bantuan dan masukannya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penyusun.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis sangat terbuka dengan saran dan kritik yang bersifat membangun dari berbagai pihak demi kesempurnaan laporan ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi sarana pembuka tabir ilmu pengetahuan baru dan bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Malang, 10 Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	viii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث.....	xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat	8

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput laut <i>Gracilaria verrucosa</i>	9
2.2 Agar-Agar	12
2.2.1 Sifat Fisika Kimia Agar	14
2.2.2 Aplikasi Agar	16
2.3 Ekstraksi Agar dengan Metode Sonifikasi	17
2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
2.5 Identifikasi Gugus Fungsional Agar Menggunakan FTIR	22
2.6 Antioksidan	24
2.7 Radikal Bebas.....	26
2.8 Mekanisme Antioksidan.....	28
2.9 Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH.....	29

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat	32
3.2 Alat dan Bahan	32
3.2.1 Alat.....	32
3.2.2 Bahan	32
3.3 Rancangan Penelitian	33
3.4 Tahapan Penelitian	34
3.5 Pelaksanaan Penelitian	34
3.5.1 Preparasi Rumput laut <i>Gracilaria verrucosa</i>	34

3.5.2 Pengukuran Kadar Air Sampel.....	35
3.5.3 Perendaman (Pretreatment) Rumput laut <i>Gracilaria verrucosa</i>	35
3.5.4 Ekstraksi Agar dengan Metode Sonikasi	35
3.5.5 Analisis Rendemen Agar.....	36
3.5.6 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR	36
3.5.7 Uji Karakteristik Agar.....	36
3.5.7.1 Pengukuran Titik Leleh.....	36
3.5.7.2 Pengukuran Kadar Sulfat	37
3.5.7.3 Pengukuran Kadar Abu	37
3.5.7.4 Pengukuran Kadar Air	38
3.5.7.5 Pengukuran pH.....	38
3.5.8 Analisis Agar dengan KLT	38
3.5.9 Uji Aktivitas Antioksidan Agar	39
3.5.9.1 Pembuatan Stok Larutan <i>Diphenylpicrylhydrazyl</i> (DPPH)	39
3.5.9.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	39
3.5.9.3 Pembuatan Larutan Blanko	39
3.5.9.4 Pembuatan Larutan Uji Agar	40
3.5.9.5 Pembuatan Larutan Kontrol Positif Vitamin C	40
3.5.9.7 Penentuan Nilai IC ₅₀ (<i>Inhibitory Concentration</i>)	40
3.5.9.8 Penentuan Nilai AAI (<i>Antioxidant Activity Index</i>)	41
3.5.10 Parameter Pengamatan	41
3.5.10.1 Parameter Utama	41
3.5.10.2 Parameter Pendukung.....	41
3.6 Analisis Data	42

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel.....	43
4.2 Analisis Kadar Air.....	44
4.3 Perendaman Sampel	45
4.4 Ekstraksi Agar.....	46
4.5 Rendemen Agar.....	49
4.6 Uji Gugus Fungsional dengan FTIR	52
4.7 Uji Karakteristik Agar.....	55
4.7.1 Uji Titik Leleh.....	55
4.7.2 Uji Kadar Sulfat	56
4.7.3 Uji Kadar Abu	58
4.7.4 Uji Kadar Air.....	59
4.7.5 Uji pH.....	61
4.8 Analisis Agar menggunakan KLT	62
4.9 Uji Aktivitas Antioksidan Agar	65
4.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	65
4.9.2 Pengukuran Antioksidan	66
4.7 Hasil Pembahasan Agar dalam Perspektif Islam	71

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	76
5.2 Saran.....	76

DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN.....	84

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi rumput laut <i>Gracilaria</i> sp.....	12
Tabel 2.2 Spesifikasi mutu agar menurut FAO (1990), FCC (1981) dan SNI	16
Tabel 2.3 Tingkat Kekuatan Antioksidan	31
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian.....	34
Tabel 4.1 Kadar air sampel kering <i>Gracilaria verrucosa</i>	44
Tabel 4.2 Rata-rata rendemen agar	49
Tabel 4.3 Data Spektrum FTIR agar komersil dan agar hasil ekstraksi.....	53
Tabel 4.4 Hasil uji titik leleh agar komersil dan agar hasil ekstraksi	55
Tabel 4.5 Hasil uji kadar sulfat agar komersil dan agar hasil ekstraksi.....	57
Tabel 4.6 Hasil uji kadar abu agar komersil dan agar hasil ekstraksi	58
Tabel 4.7 Hasil uji kadar air agar komersil dan agar hasil ekstraksi.....	60
Tabel 4.8 Hasil uji pH agar komersil dan agar hasil ekstraksi.....	61
Tabel 4.9 Data identifikasi KLT dugaan senyawa agar.....	63
Tabel 4.10 Nilai potensi aktivitas antioksidan agar	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput laut <i>Gracilaria verrucosa</i>	11
Gambar 2.2 Struktur kimia agar (A) Agarosa (B) Agaropektin.....	13
Gambar 2.3 Struktur kimia agar setelah diekstraksi dan sebelum diekstraksi.....	18
Gambar 2.4 Spektogram Agar	23
Gambar 2.5 Reaksi inisiasi dan propagasi asam lemak	28
Gambar 2.6 Reaksi terminasi oksidasi lemak	28
Gambar 2.7 Struktur DPPH	29
Gambar 2.8 Reaksi radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan.....	30
Gambar 4.1 Sampel <i>G. verrucosa</i> basah (a) kering (b) dan serbuk (c).....	44
Gambar 4.2 Reaksi larutan alkali dengan prekursor agar	45
Gambar 4.3 Mekanisme dugaan pembentukan agar dengan larutan alkali.....	46
Gambar 4.4 Agar hasil ekstraksi	48
Gambar 4.5 Hubungan konsentrasi pelarut perendaman dengan rendemen agar .	50
Gambar 4.6 Spektra FTIR agar komersil dan agar hasil ekstraksi.....	52
Gambar 4.7 (A) Ilusi plat KLT (B) Plat KLT	63
Gambar 4.8 Reaksi dugaan antara Agar dan DPPH.....	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	84
Lampiran 2. Diagram Alir.....	85
Lampiran 3. Perhitungan	91
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air Sampel.....	95
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen.....	96
Lampiran 6. Perhitungan Kadar Sulfat.....	101
Lampiran 7. Perhitungan Kadar Abu	103
Lampiran 8. Perhitungan Kadar Air.....	106
Lampiran 9. Perhitungan nilai Rf.....	108
Lampiran 10. Spektra FTIR	110
Lampiran 11. Data Hasil Uji Antioksidan	115
Lampiran 12. Analisis Anova Rendemen	128
Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian	128

ABSTRAK

Lestari, D.A. 2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Agar dari Alga Merah *Gracilaria verrucosa* Hasil Ekstraksi Sonikasi dengan Variasi Pelarut dan Konsentrasi Perendaman.** Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II: M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I.

Kata kunci: *Gracilaria verrucosa*, Agar, Sonikasi, Antioksidan

Gracilaria verrucosa merupakan rumput laut yang banyak ditemui. *Gracilaria verrucosa* merupakan sumber utama penghasil agar yang sangat berguna dan juga dapat dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan senyawa agar pada alga merah *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi perendaman. Metode yang digunakan adalah ekstraksi sonikasi menggunakan pelarut akuades dengan perbandingan 1:20 (b/v) dengan suhu 60°C selama 60 menit. Sebelum ekstraksi dilakukan perendaman menggunakan pelarut NaOH dan KOH dengan masing-masing konsentrasi yaitu 3, 5, 7 dan 10% selama 60 menit. Hasil ekstraksi akan diuji gugus fungsionalnya menggunakan FTIR dan diuji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. Kemudian, dilakukan uji karakteristik berdasarkan titik leleh, kekuatan gel, kadar sulfat, kadar abu, kadar air, dan pH, serta dilakukan analisis menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Hasil penelitian ini diperoleh agar dari hasil perlakuan terbaik menggunakan pelarut perendaman NaOH 10% dengan nilai rendemen 25,0423%; titik leleh 88 – 90°C; kadar sulfat 3,9140%; kadar abu 19,1000%; kadar air 5,9500%; dan pH 7,62 yang memiliki potensi aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 113,1 ppm.

ABSTRACT

Lestari, D.A. 2022. **Antioxidant Activity of Agar Compounds from Red Algae *Gracilaria verrucosa* Results of Sonication Extraction with Solvent Variation and Soaking Concentration.** Thesis. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Supervisor II: M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I.

Keywords: *Gracilaria verrucosa*, Agar, Sonication, Antioxidants

Gracilaria verrucosa is a seaweed that is commonly found. *Gracilaria verrucosa* is the main source of agar which is very useful and can also be consumed. The purpose of this research was to determine the potential antioxidant activity of agar compounds in red algae *Gracilaria verrucosa* resulting from sonication extraction with various solvents and soaking concentrations. The method used is sonication extraction using distilled water in a ratio of 1:20 (w/v) at a temperature of 60 C for 60 minutes. Prior to extraction, soaking was carried out using NaOH and KOH solvents with respective concentrations of 3, 5, 7 and 10% for 60 minutes. The extraction results will be tested for functional groups using FTIR and tested for antioxidant activity using DPPH. Then, a characteristic test was carried out based on the melting point, gel strength, sulfate content, ash content, water content, and pH, as well as purity test using TLC (Thin Layer Chromatography). The results of this research obtained that from the results of the best treatment using NaOH 10% soaking solvent with a yield value of 25,0423%; melting point 88 – 90 ; sulfate content 3.9140%; ash content 19,1000%; water content 5.950%; and pH 7.62 which has moderate antioxidant activity potential with an IC₅₀ value of 113.1 ppm.

مستخلص البحث

ليستاري ، ديدا أيو. ٢٠٢٢ . النشاط المضاد للأكسدة لمركبات أجار من الطحالب الحمراء *Gracilaria verrucosa* نتائج الاستخلاص الصوتي بتعريض المذيبات وتركيز النقع. أطروحة. برنامج دراسة الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا مولانا مالك إبراهيم الدولة الإسلامية جامعة مالانج. المشرف الأول: أحمد غنام فشا الماجستير ؛ المشرف الثاني: مخلص فخر الدين، الماجستير.

الكلمات الدالة: *Gracilaria verrucosa* ، أجار ، صوتنة ، مضاد للأكسدة

هو نوع شائع من الأعشاب البحرية *Gracilaria verrucosa*. هو المصدر الرئيسي للأجار وهو مفيد جدًا ويمكن أيضًا تناوله. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للأكسدة المحتمل لمركبات الأجار في الطحالب الحمراء *Gracilaria verrucosa* الناتجة عن استخلاص الصوتنة بمذيبات مختلفة وتركيزات غمر. حيث يمكن لهذا البحث أن يزيد من قيمة استخدام الأعشاب البحرية *Gracilaria verrucosa*. الطريقة المستخدمة هي الاستخلاص الصوتي باستخدام الماء المقطر بنسبة ١٪ (وزن / حجم) عند درجة حرارة ٦٠ درجة مئوية لمدة ٦٠ دقيقة. قبل الاستخلاص ، تم إجراء النقع باستخدام مذيبات NaOH و KOH بتركيزات كل منها ٣٪ و ٥٪ و ٧٪ و ١٠٪ لمدة ٦٠ دقيقة. سيتم اختبار نتائج الاستخراج للمجموعات الوظيفية باستخدام FTIR واختبار نشاط مضادات الأكسدة باستخدام DPPH. بعد ذلك ، تم إجراء اختبار الخصائص بناءً على درجة الانصهار ، وقوية الحلام ، ومحتوى الكبريتات ، ومحتوى الرماد ، ومحتوى الماء ، ودرجة الحموضة ، بالإضافة إلى اختبار النقاء باستخدام TLC كروماتوجرافيا (الحقيقة). تم الحصول على نتائج هذه الدراسة من نتائج أفضل معاملة باستخدام مذيب غمر هيدروكسيد الصوديوم بنسبة ١٠٪ بقيمة إنتاجية ٤٢٣،٢٥٪. نقطة الانصهار ٨٨-٩٠٪ ؛ محتوى الكبريتات ٣٪ ؛ محتوى الرماد ١٩٪ ؛ محتوى الماء ٥٪ ؛ ودرجة الحموضة ٦٢٪ التي لها نشاط معتدل مضاد للأكسدة بقيمة IC₅₀ تبلغ ١،١١٣ جزء في المليون.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah SWT yang banyak memberikan manfaat bagi makhluk hidup yang lainnya, baik manusia maupun hewan. Allah SWT menganugerahkan makhluknya dengan berbagai macam tanaman. Allah SWT berfirman dalam surat asy’ara (26) ayat 7:

﴿أَوَمْ يَرَوُ إِلَيْ الْأَرْضِ كُمْ أَنْتَنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ ﴾٧﴾

Artinya: "Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?" (Q.S. Asy-Syu’ara: 7).

Menurut tafsir Al- Qurthubi, dalam Q.S. Asy-Syu’ara ayat 7 terdapat tiga kata yang ditekankan, yaitu ۝ يَرَوُ memiliki arti memperhatikan, ۝ رَوْحٍ memiliki arti tumbuh-tumbuhan dan ۝ كَرِيمٍ memiliki arti baik dan mulia. Dalam ayat tersebut, kita sebagai manusia diperintahkan untuk memperhatikan tumbuh-tumbuhan yang baik dan mulia yang telah Allah SWT tumbuhkan di bumi. Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat diartikan tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat di dalamnya (Laila & Savitri, 2014).

Berbagai macam tumbuhan telah ditumbuhkan Allah SWT dengan berbagai manfaat yang diberikan, salah satunya makroalga. Makroalga atau biasa dikenal dengan rumput laut memiliki manfaat yang beraneka ragam. Telah ditemukan sampai saat ini 555 jenis rumput laut yang dikelompokkan menjadi 4 kelas berdasarkan kandungan pigmennya, yaitu rumput laut hijau

(*Chlorophyceae*), rumput laut coklat (*Phaeophyceae*), rumput laut biru-hijau (*Cyanophyceae*), dan rumput laut merah (*Rhodophyceae*) (Savitri *et al.*, 2017).

Rumput laut merah (*Rhodophyceae*) mengandung senyawa hidrokoloid seperti agar dan karagenan, sedangkan rumput laut coklat (*Phaeophyceae*) mengandung alginat (Yolanda & Agustono, 2018). Ketiga senyawa hidrokoloid tersebut memiliki nilai ekonomis yang tinggi, mengingat manfaatnya sebagai bahan tambahan untuk memperbaiki kualitas produk pangan maupun non pangan, diantaranya pelapis yang dapat dimakan (*edible film*), bioplastik, bahan perekat, produk farmasi, dan lain-lain (Herawati, 2018).

Rumput laut merah (*Rhodophyceae*) yang banyak dibudidayakan di Indonesia yaitu *Gracilaria* sp. *Gracilaria* sp. merupakan jenis rumput laut yang paling banyak digunakan karena mudah diperoleh, murah harganya dan mudah dalam pengolahannya (Martinah *et al.*, 2014). Rumput laut *Gracilaria* sp. yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan agar salah satunya adalah *Gracilaria verrucosa*. Jenis rumput laut ini memiliki nilai ekonomi yang tinggi sebagai penghasil agar (Abidin *et al.*, 2014).

Agar merupakan polisakarida campuran yang tersusun dari agaropektin dan agarosa (Handayani, 2014). Agar sebagai hidrokoloid tidak dimanfaatkan dari segi nutrisinya, tetapi lebih sering dimanfaatkan karena sifat fungsionalnya. Sifat fungsional yang berhubungan dengan pembentukan gel, sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan pengemulsi (*emulsifier*) (Yolanda & Agustono, 2018; Nurjanah *et al.*, 2020), pembentuk gel (*gelling agent*), penstabil (*stabilizer*) (Nurjanah *et al.*, 2020; Yolanda & Agustono, 2018), pengental (*thickener*) (Nurjanah *et al.*, 2020; Yuliani *et al.*, 2012), inhibitor, pelapis, dan pensuspensi

(Yolanda & Agustono, 2018). Secara umum, proses pembuatan agar dari rumput laut memerlukan beberapa tahapan, yakni perendaman, ekstraksi, pemisahan agar-agar dengan pelarutnya, kemudian pengeringan agar-agar. Setiap tahapan pengolahan ini akan mempengaruhi rendemen dan kualitas agar (Villanueva *et al.*, 2010).

Agar yang diekstrak dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* secara konvensional seperti pada penelitian Kusuma *et al.* (2013) menggunakan NaOH sebagai perendaman (*pretreatment*) dengan variasi konsentrasi 0, 2, 4, dan 6% pada suhu 85-90°C selama 1,5 jam Hasil agar terbaik pada konsentrasi NaOH 6% dengan karakteristik kadar abu 7,44%, kadar sulfat 1,26%, kadar air 64,77% dan kekuatan gel 131,81 (gf). Penggunaan alkali pada saat ekstraksi diperlukan. Hal ini karena jaringan sel selulosa rumput laut akan terdifusi alkali sehingga terjadi reaksi perubahan struktur kimia pada rumput laut (Kusuma *et al.*, 2013).

Perendaman alkali sebelum ekstraksi bertujuan untuk menurunkan kadar sulfat dengan cara menghilangkan ester sulfat yang tidak stabil pada struktur agar (Jamilah, 2013). Menurut Yarnpakdee *et al.* (2015), ekstraksi agar dari rumput laut *Gracilaria tenuistipitata* dengan pelarut akuades menggunakan larutan perendaman dengan alkali yaitu NaOH dan KOH dengan variasi konsentrasi 3, 5, dan 7% (b/v) pada suhu kamar (27 – 30 °C) selama 24 jam dan dilakukan pemanasan pada suhu 90°C selama 3 jam. Agar yang dihasilkan dari perlakuan alkali pada konsentrasi 5% dapat meningkatkan rendemen (34,3% – 39,6%) serta memiliki sifat gel dan viskositas agar sesuai dengan agar komersil.

Agar yang dihasilkan dari rumput laut merah memiliki manfaat dalam bidang kosmetika sebagai cream, pembuat salep, pembersih muka dan sabun (Santika *et al.*, 2014). Dalam industri makanan dimanfaatkan sebagai produk pengalengan buah buahan, pengalengan ikan, pembuatan roti, jelly, saus, permen, es krim, puding, selai dan lain-lain (Madusari & Wibowo, 2018). Selain itu, kandungan agar dalam rumput laut merah memiliki potensi sebagai antiinflamasi, antikoagulan (Zhang *et al.*, 2019), antitumor (Handayani, 2014) dan antioksidan (Holdt & Kraan, 2011). Antioksidan dari sumber alam dapat meningkatkan ketahanan makanan (Loretha *et al.*, 2012).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi dengan mendonorkan satu elektron pada senyawa radikal bebas (Tsaqif Ibrahim *et al.*, 2020). Sementara, radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Molekul ini sangat reaktif dan tidak stabil, sehingga harus mencari elektron lain untuk mencapai kestabilan. Radikal bebas dalam tubuh terbentuk melalui reaksi berantai dan akan terus berkembang sehingga jumlahnya akan terus meningkat (Amin *et al.*, 2013). Radikal bebas berlebih dapat menyerang senyawa apa saja terutama yang rentan seperti lipid maupun protein sehingga berakibat pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif (Abadiatul & Widjyarti, 2013). Metode yang digunakan dalam menentukan aktivitas antioksidan berdasarkan kemampuan pengikat radikal bebas dalam sampel adalah metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) (Rahmawati *et al.*, 2016).

Penelitian aktivitas antioksidan terhadap senyawa agar rumput laut *Gracilaria* sp. menggunakan metode DPPH dilakukan oleh Assaw *et al.* (2018).

Berdasarkan hasil pengujian antioksidan dengan metode DPPH, hasil kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi 2,5; 5,0; dan 10 mg/mL berturut-turut sebesar 4,14%; 6,13%; dan 18,26%. Hasil penelitian antioksidan alga merah *Eucheuma spinosum* oleh Mardiyah *et al.* (2014) menghasilkan EC₅₀ sebesar 80,32 ppm. Metode DPPH merupakan metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas total antioksidan suatu sampel. Kelebihan metode DPPH yaitu sederhana, mudah, cepat, peka, serta tidak memerlukan sampel dalam jumlah besar (Rahmawati *et al.*, 2016).

Melihat penggunaan dan permintaan agar di berbagai daerah terus meningkat, maka produksi agar-agar harus ditingkatkan. Ada beberapa cara untuk menghasilkan agar, salah satunya adalah proses ekstraksi. Selama sepuluh tahun terakhir, beberapa metode ekstraksi alternatif telah diperkenalkan, termasuk ekstraksi ultrasonic (Mahyati *et al.*, 2018). Penggunaan gelombang ultrasonik dapat menghasilkan agar dengan rendemen tinggi dan kualitas yang baik (Uju *et al.*, 2018). Proses ekstraksi menggunakan gelombang dapat menimbulkan fenomena kavitasi. Fenomena ini dapat menyebabkan retakan yang secara mekanis memecah dinding sel (Liu *et al.*, 2010), ultrasonik dapat meningkatkan transfer massa dan mempercepat difusi membran (Falleh *et al.*, 2012).

Ekstraksi agar dari rumput laut *Gracilaria* sp. dengan menggunakan ekstraksi sonikasi pada suhu rendah telah dilakukan oleh Uju *et al.* (2018). dengan variasi suhu 50 dan 60°C selama 45 dan 60 menit menggunakan pelarut akuades. Hasil agar terbaik pada suhu 60°C selama 60 menit dengan rendemen 12,45% dengan karakteristik derajat putih 50,96%, viskositas 35,8 cP, kadar abu 7,07%, kadar sulfat 3,67%, kadar air 12,59% dan kekuatan gel 108,03 g/cm². Penggunaan

ultrasonik dapat meningkatkan efisiensi energi ekstraksi. Metode ekstraksi ultrasonik menghasilkan rendemen yang lebih tinggi daripada metode konvensional. Kelebihan metode ultrasonik adalah waktu ekstraksi lebih cepat dan tidak membutuhkan banyak pelarut sehingga menghasilkan produk murni dengan *yield* yang lebih tinggi (Ardianti & Kusnadi, 2014). Keuntungan terbesar dari pembentukan gel agar menggunakan metode ekstraksi ultrasonik adalah menjaga kualitas tekstur gel, dan prosesnya lebih aman, sederhana, efektif dan efisien (Mahyati *et al.*, 2018).

Berdasarkan penjelasan yang telah dijabarkan, banyak sekali manfaat yang diperoleh dari senyawa agar. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan senyawa agar hasil ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi pada saat perendaman (*pretreatment*) untuk dijadikan sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dimanfaatkan pada bidang industri makan, kosmetik, bioteknologi maupun farmasi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana nilai rendemen dan karakteristik senyawa agar rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi perendaman?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan pada senyawa agar rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi perendaman?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui nilai rendemen, karakteristik dan kemurnian senyawa agar rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi perendaman.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan pada senyawa agar rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi perendaman.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa* dari tambak Dusun Tanjungsari, Desa Kupang, Kecamatan Jabon, Sidoarjo.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi sonikasi dengan variasi pelarut perendaman (*pretreatment*) yaitu NaOH dan KOH dengan masing-masing konsentrasi sebesar 3, 5, 7, dan 10%.
3. Uji karakteristik agar berdasarkan titik leleh, kadar sulfat, kadar abu, kadar air dan nilai pH.
4. Analisis agar dengan menggunakan KLT.
5. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.
6. Instrumen yang digunakan untuk uji gugus fungsi agar adalah FTIR.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada pembaca bahwa terdapat aktivitas antioksidan pada senyawa agar yang berasal dari rumput laut merah jenis *Gracilaria verrucosa* sebagai antioksidan alami. Serta diharapkan mampu memberikan informasi mengenai cara ekstraksi agar *Gracilaria verrucosa* dengan metode sonikasi yang diharapkan dapat mempermudah pengkajian lebih lanjut senyawa agar di bidang industri pangan, bioteknologi, maupun kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput laut *Gracilaria verrucosa*

Rumput laut merupakan salah satu biota laut yang tidak bisa dibedakan antara daun, batang, dan pangkal, sehingga bagian dari tubuhnya disebut *talus*. *Talus* memiliki berbagai kandungan pigmen yang terdiri dari *Chlorophyceae*, *Phaeophyceae* dan *Rhodophyceae* (Soenardjo, 2011).

Rumput laut memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain steroid, terpenoid, flavonoid, alkaloid, dan kumarin. Selain itu, rumput laut memiliki kandungan zat bioaktif florotanin, polifenol, dan tanin yang memiliki kemampuan menghambat aktivitas radikal bebas dan dapat menyerap logam yang diaplikasikan pada makanan. Rumput laut juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, imunostimulan, dan aktivitas antibakteri (Ega *et al.*, 2016). Penjelasan tersebut sesuai dengan firman Allah SWT dalam surat asy Syu'ara (26) ayat 7 menjelaskan tentang tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki manfaat.

﴿أَوْمَّ يَرُوا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتَنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٌ﴾ ﴿٧﴾

Artinya: "Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?" (Q.S. Asy-Syu'ara: 7).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan segala tumbuhan yang baik, yaitu yang memiliki manfaat tanpa terkecuali rumput laut *Gracilaria* sp. Rumput laut *Gracilaria* memiliki kandungan senyawa metabolit

primer agar atau disebut agarofit (Angkasa *et al.*, 2011). Agar atau yang biasa disebut dengan agar-agar merupakan produk kering tak berbentuk (*amorphous*) yang mempunyai sifat seperti gelatin yang digunakan sebagai pengental (Distantina *et al.*, 2007). Pembuatan *gelling agent* yang diperoleh dari bahan baku hasil laut seperti rumput laut bersifat halal. Allah SWT berfirman dalam surat al Maidah ayat 96 :

أَحَلَّ لَكُمْ صِيدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَعًا لَكُمْ وَلِلصَّيَارَةِ وَحُرْمَ عَلَيْكُمْ صِيدُ الْبَرِّ مَا دُمْنُمْ حُرْمًا وَأَنْفُوا
اللَّهُ الَّذِي إِلَيْهِ تُنْشَرُونَ ﴿٩٦﴾

Artinya: “Dihalalkan bagimu binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan; dan diharamkan atasmu (menangkap) binatang buruan darat, selama kamu dalam ihram. Dan bertakwalah kepada Allah yang kepada-Nya kamu akan dikumpulkan (kembali)” (Q.S. al Maidah: 96).

Ayat tersebut menjelaskan tentang kekuasaan Allah SWT yang menciptakan laut dengan berbagai kekayaan di dalamnya. Lafadz طَعَامُهُ menjelaskan bahwa selain hewan, terdapat tumbuhan laut yang memiliki nilai ekonomi dan gizi tinggi (Mulyandia, 2021). Selain itu, ayat ini juga menjelaskan tentang kehalalan memakan apa saja yang berasal dari laut baik hewan maupun tumbuhan. Kenikmatan ini diberikan oleh Allah SWT kepada manusia agar-agar tetap bertaqwa.

Kandungan agar-agar pada *Gracilaria* bervariasi sesuai dengan jenis, lokasi tumbuh, umur, lingkungan, metode budidaya, lama pemanenan, perlakuan primer, dan faktor lainnya, sehingga menghasilkan kualitas dan tingkat harga yang berbeda. Umumnya kandungan agar-agar pada *Gracilaria* berkisar antara 16 – 15% (Maulini, 2018).

Ciri-ciri umum rumput laut *Gracilaria* adalah bentuk *thallus* rata atau silindris, membentuk rumpun bercabang tidak beraturan, dan *thallus* di pangkal cabang menyempit. *Gracilaria* memiliki *thallus* seperti tulang rawan, dengan tepi meruncing dan permukaan halus atau berbintil-bintil. Rumput laut *Gracilaria* memiliki panjang hingga 30 cm. Ciri khusus secara morfologis memiliki duri-duri yang tumbuh berjajar di sekitar *thallus* dengan rentang yang berbeda-beda, sehingga terbentuk segmen-semen *thallus* di antara duri-duri tersebut (Sundaryastut, 2011).

Adapun klasifikasi rumput laut *Gracilaria verrucosa* adalah sebagai berikut (Anggadiredja *et al.*, 2006):

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Rhodophyta
Kelas	:	Rhodophyceae
Ordo	:	Gigartinales
Famili	:	Glacilariacae
Genus	:	<i>Gracilaria</i>
Spesies	:	<i>Gracilaria verrucosa</i>



Gambar 2.1 Rumput laut *Gracilaria verrucosa* (Sundaryastut, 2011)

Habitat rumput laut *Gracilaria* umumnya dapat hidup sampai 300 – 1.000 m dari pantai, dengan salinitas air berkisar antara 15 – 30 derajat per mil, suhu air

berkisar antara 20 – 28°C, kedalaman air 0,5 – 1 m, air jernih sehingga sinar matahari mampu menembus ke dalam air. Oleh karena itu, habitat rumput laut *Gracilaria* sebaiknya dekat dengan muara sungai (Sudariastuty, 2011). Rumput laut *Gracilaria verrucosa* memiliki kandungan nutrisi yang cukup lengkap seperti pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi rumput laut *Gracilaria* sp. (Rukmi *et al.*, 2012; Maulini, 2018)

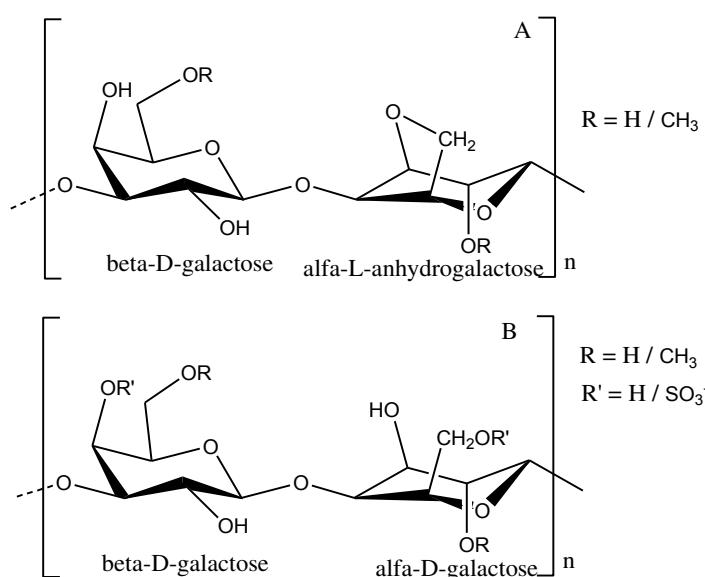
Parameter	Kandungan (%)
Kadar air	27,8
Protein	5,4
Karbohidrat	33,3
Lemak	8,6
Serat	3
Abu	22,25
Agar-agar	16-45

Rumput laut juga mengandung asam nukleat, asam amino, enzim, vitamin (A, B, C, D, E dan K) dan mineral (natrium, kalium, besi, yodium). Zat-zat tersebut sangat baik untuk dikonsumsi setiap hari karena fungsinya yang penting dalam menjaga dan mengatur metabolisme tubuh (Madusari & Wibowo, 2018).

2.2 Agar-Agar

Agar-agar merupakan polisakarida kompleks yang diperoleh dari rumput laut golongan *Gelidium* dan *Gracilaria*. Agar-agar diperoleh dengan mengekstraksi rumput laut dalam kondisi basa atau asam. Pada pembuatan agar-agar menggunakan bahan kimia dan suhu tinggi berkisar antara 80-100°C dengan waktu berkisar antara 2-3 jam (Herawati, 2018). Agar-agar biasanya diproduksi dan diolah menjadi berbagai bentuk seperti kue, jelly, puding, dan digunakan

sebagai bahan tambahan dalam industri farmasi. Agar-agar memiliki serat yang tinggi dan dapat dikonsumsi sebagai makanan diet. Selain itu, agar-agar juga dapat digunakan di laboratorium sebagai media kultur jaringan atau kultur bakteri (Angkasa *et al.*, 2011). Menurut Freile-Pelegrín *et al.* (2007), agar-agar merupakan larutan gel yang strukturnya terdiri dari rantai polimer dengan ikatan hidrogen. Struktur kimia agar-agar seperti pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur kimia agar (A) Agarosa (B) Agaropektin (Barros *et al.*, 2013)

Agar-agar merupakan produk kering tidak berbentuk (*amorf*) dengan sifat seperti gelatin. Molekul agar-agar terdiri dari rantai linier galaktan. Galaktan merupakan polimer dari galaktosa. Polimer agar-agar terdiri dari dua pasang molekul, yaitu agarosa dan agaropektin. Penyusunan pada senyawa agar-agar yaitu galaktan berupa rantai linier yang netral maupun sudah terikat dengan metil atau asam sulfat. Galaktan yang beberapa monomer galaktosa membentuk ester dengan gugus metil disebut agarosa, sedangkan galaktan yang diesterifikasi dengan sulfat disebut agaropektin. Agarosa merupakan polisakarida netral dengan susunan rangkaian berulang 1,3- β -D-galaktosa dan 1,4- α -L-anhidrogalaktosa,

sedangkan agaropektin merupakan polisakarida yang mengandung gugus sulfat yang tersusun dari L-6-galaktosa-6-sulfat dan D-galaktosa (Harismah *et al.*, 2016). Kandungan agarosa dan agaropektin dalam rumput laut bervariasi menurut spesiesnya (Fransiska dan Murdinah, 2007).

Agar-agar mempunyai sifat larut pada air panas namun tidak larut pada air dingin, agar-agar yang memiliki kemurnian tinggi dapat larut pada air panas, etanol amida dan formida (Winarno, 1996). Pembentukan ikatan hidrogen molekul-molekul disebabkan interaksi antar struktur heliks yang menyebabkan pembentukan gel. Wu (2009) menjelaskan penggunaan agar-agar pada industri pangan sebagai pembentuk gel dikarenakan kemampuan membentuk gel yang keras pada konsentrasi rendah.

2.2.1 Sifat Fisika Kimia Agar

Analisis yang dapat dilakukan untuk mengetahui karakteristik pada produk agar didasarkan pada parameter kimia yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar sulfat dan nilai pH, serta parameter fisika yang meliputi titik leleh (*melting point*) (Siswanti, 2017).

a. Kadar Sulfat

Kadar sulfat dalam agar diukur untuk melihat kualitas agar yang dihasilkan setelah diekstraksi. Prinsip pengukuran kadar sulfat adalah ion sulfat yang bereaksi dengan barium klorida dalam suasana asam akan membentuk suspensi barium sulfat, dengan reaksi : $\text{SO}_4^{2-} + \text{BaCl}_2 \rightarrow \text{BaSO}_4 + 2\text{Cl}$. Berat BaSO_4 yang diperoleh ekivalen dengan kadar sulfat (SO_4) dalam sampel agar

yang dianalisis. Pengukuran kadar sulfat dilakukan dengan metode gravimetri (Waluyo *et al.*, 2019).

b. Kadar Abu

Kadar abu merupakan jumlah residu anorganik yang dihasilkan dari pengabuan/pemijaran suatu produk. Prinsip dasar analisis kadar abu adalah sampel diabukan pada suhu 550°C dalam tungku pengabuan (*furnace*) selama 8 jam atau sampai mendapatkan abu berwarna putih. Penetapan berat abu dihitung secara gravimetri (Waluyo *et al.*, 2019).

c. Kadar Air

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui jumlah molekul air baik yang tidak terikat (*free water*) dan terikat yang terkandung dalam suatu produk. Prinsip dari analisis kadar air adalah molekul air dihilangkan melalui pemanasan dengan oven vakum pada suhu berkisar antara 95 – 100°C dengan tekanan udara tidak lebih dari 100 mmHg selama 5 jam. Penentuan berat air dihitung secara gravimetri berdasarkan selisih berat sampel sebelum dan sesudah sampel dikeringkan (Waluyo *et al.*, 2019).

d. pH

Karakteristik gel agar-agar bersifat rigid, rapuh, mudah dibentuk dan mempunyai titik leleh tertentu. Keasaman (pH) sangat mempengaruhi kekuatan gel agar-agar. Semakin kecil pH maka kekuatan gel agar menjadi semakin lemah (Fransiska dan Murdinah, 2007).

Di Indonesia standar mutu agar-agar sudah dicantumkan dalam Badan Standardisasi Nasional (SNI) 2802:2015 tentang agar-agar tepung. Tabel 2.2 Spesifikasi fisik agar-agar juga dideskripsikan dalam *Food Chemical Codex/FCC*

(1981), *Food and Agriculture Organization/FAO* (1990) yang kadar air, kadar abu, kadar karbohidrat, kandungan arsen dan zat warna tambahan.

Tabel 2.2 Spesifikasi mutu agar menurut FAO (1990), FCC (1981) (Insan & Widjartini, 2012) dan SNI (2015)

Spesifikasi	Standar Mutu		
	FAO	FCC	SNI
Kadar Air (%)	15-21	-	Maks. 22
Kadar Abu (%)	<4	<4	Maks. 6,5
Kadar Sulfat (%)	<6	-	-
Kekuatan Gel (g/cm ²)	>600 : Superior >350 : Mutu 1 >250 : Mutu 2 >150 : Mutu 3 <150 : Mutu 4	-	-
Titik Leleh (°C)	85-95	-	-
pH	6,0-7,0	-	-

2.2.2 Aplikasi Agar

Jenis rumput laut *Gracilaria sp.* dalam industri farmasi dan makanan banyak digunakan sebagai bahan pembuatan agar. Agar memiliki fungsi utama sebagai bahan pengemulsi (*emulsifier*), pembentuk gel (*gelling agent*), penstabil (*stabilizer*), pelapis, inhibitor, pensuspensi (Yolanda & Agustono, 2018) dan pengental (*thickener*) (Yuliani *et al.*, 2012).

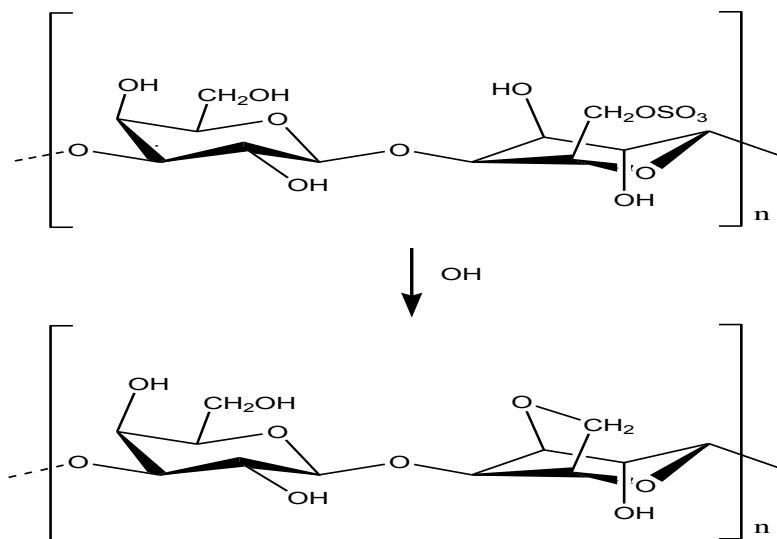
Agar dalam industri pangan dimanfaatkan sebagai produk pengalengan buah buahan, pengalengan ikan, pembuatan roti, jelly, saus, permen, es krim, puding, selai dan lain-lain (Madusari & Wibowo, 2018). Dalam bidang kosmetika agar digunakan sebagai cream, pembuat salep, pembersih muka dan sabun. Penggunaan agar yang juga dapat digunakan sebagai media untuk pertumbuhan bakteri dan mikroba (Santika *et al.*, 2014).

2.3 Ekstraksi Agar dengan Metode Sonikasi

Ekstraksi merupakan sesuatu proses pemecahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen yang lain dalam kombinasi (Sholihah *et al.*, 2017). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang ada pada bahan alam (Harborne, 1987).

Proses ekstraksi rumput laut merupakan proses perpindahan massa dari fase padat ke fase cair dengan dua tahapan, yaitu difusi dari dalam rumput laut ke permukaan rumput laut dan perpindahan massa dari permukaan rumput laut ke dalam pelarut (Distantina *et al.*, 2008). Umumnya proses ekstraksi dilakukan menggunakan air yang dipanaskan pada suhu 90°C. Hal ini disebabkan karena molekul agar mudah larut dalam air pada suhu tinggi, hal ini dapat memudahkan proses difusi agar dari rumput laut ke dalam air. Molekul air akan berinteraksi dengan agar membentuk ikatan hidrogen pada gugus hidroksil molekul agar (Sholihah *et al.*, 2017).

Ekstraksi agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* melalui beberapa tahapan. Tahap awal dalam proses ekstraksi yaitu preparasi rumput laut dengan cara melakukan pencucian untuk mengurangi kandungan pengotor. Kemudian dilakukan perendaman menggunakan basa (alkali) atau asam sebelum diekstrak, hal ini bertujuan untuk meningkatkan sifat fisik dan kimia ekstrak agar yang dihasilkan (Jamilah, 2013). Pra Perlakuan alkali juga dapat menurunkan kandungan sulfat. Sulfat dapat menghasilkan senyawa yang berwarna dan berbau. Hilangnya gugus sulfat pada C-6 dapat membentuk 3,6-anhidrogalaktosa (Darmawan *et al.*, 2020).



Gambar 2.3 (A) Struktur kimia agar setelah diekstraksi, (B) Agar dalam rumput laut sebelum diekstraksi (Aslinda & Ahmad, 2016)

Ekstraksi agar pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik merupakan ekstraksi dengan perambatan energi melewati gelombang ultrasonik menggunakan cairan sebagai media perambatan yang bisa menimbulkan intensitas perpindahan energi, sehingga proses ekstraksi lebih optimal. Gelombang ultrasonik merupakan gelombang suara yang mempunyai frekuensi diatas pendengaran manusia ($\geq 20 \text{ kHz}$). Salah satu sifat dari ultrasonik adalah *non-destructive* dan *non invasive*, sehingga dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi gelombang ultrasonik dapat merambat dalam medium padat, cair, dan gas (Harborne, 1987).

Penggunaan sonifikasi pada dasarnya menggunakan prinsip dasar yaitu dengan mengamati sifat gelombang ultrasonik yang dirambatkan melalui medium yang dilewati. Pada saat gelombang merambat, medium yang dilewatinya akan mengalami getaran. Getaran akan memberikan pengadukan yang intensif terhadap

proses ekstraksi. Pengadukan akan meningkatkan osmosis antara bahan dengan pelarut sehingga akan meningkatkan proses ekstraksi (Vinotoru *et al.*, 2017).

Proses dari ekstraksi ultrasonik adalah gelombang ultrasonik mengenai sampel menyebabkan tegangan mekanik, sehingga sampel menjadi partikel dengan ruang-ruang kecil dan gelombang ini memunculkan efek kavitasi. Dampak kavitasi ini adalah proses pembuatan gelembung-gelembung mikro yang disebabkan meningkatnya tekanan pada ekstraksi akibat gelombang ultrasonik (Medina-torres, *et al.*, 2017). Proses kavitas yang terjadi sepanjang sonikasi menimbulkan pecahnya dinding sel sehingga kandungan didalamnya dapat keluar dengan cepat. (Vinotoru, 1995).

Ekstraksi sonikasi terdapat dua metode yang dapat digunakan diantaranya sonikasi waterbath dan transduser horn sonikasi (Fuad & Don, 2016). Sonikasi waterbath merupakan penyinaran sampel yang dilakukan melalui dinding sampel, dimana dinding sampel tidak melakukan kontak secara langsung dengan gelombang ultrasonik. Sistem kontak langsung lebih efektif dibandingkan sistem kontak tidak langsung dikarenakan pada sistem kontak langsung dengan gelombang ultrasonik dapat memberikan daya hingga 100 kali lebih baik dibandingkan kontak tidak langsung (Medina-torres, *et al.*, 2017). Ekstraksi sonikasi juga memiliki suatu kelemahan yaitu memerlukan langkah filtrasi dan kemungkinan degradasi senyawa pada frekuensi tinggi.

Kelebihan dari ekstraksi ultrasonik adalah waktu ekstraksi lebih cepat, lebih sedikit menggunakan tenaga serta menggunakan pelarut yang sedikit, sehingga menciptakan produk yang murni serta rendemen yang lebih besar. Dengan menggunakan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada

tumbuhan serta biji-bijian dengan memakai pelarut organik berlangsung lebih cepat. Dinding sel dapat terpecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang terdapat di dalamnya mudah diekstraksi (Ardianti & Kusnadi, 2014).

Ekstraksi ultrasonik termasuk salah satu alternatif dari preparasi sampel padat, karena dapat mempermudah dan mempercepat beberapa langkah preparasi, seperti pelarutan, fusi dan leaching. Hal ini dikarenakan efek dari gelombang ultrasonik yang membentuk *local high temperature* dan gerakan mekanik antarmuka zat padat dan zat cair, sehingga akan mempercepat laju perpindahan massa-nya (Tian, *et al.*, 2013).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kepolaran pada dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. 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 (Robiyanto *et al.*, 2018).

Prinsip kerja kromatografi lapis tipis yaitu pemisahan sampel dengan sampel yang digunakan berdasarkan perbedaan kepolaran. Larutan atau campuran yang digunakan disebut eluen. Semakin dekat kepolaran antara sampel dan eluen, maka fase gerak akan semakin membawa sampel. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil. Lalu fase gerak yang terjebak dalam plat dikeringkan dan zona yang dihasilkan dideteksi secara visual

(langsung) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Lau & Wuru, 2018). Perbedaan migrasi adalah hasil dari tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak yang berbeda. Kecepatan migrasi komponen sampel tergantung pada sifat fisika dan kimia dari fase gerak, fase diam dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron-akseptor, ikatan ion-ion, ikatan ion-dipol dan ikatan van der waals (Wulandari, 2011).

Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan plat silika $G_{60}F_{254}$ 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. Alat dan bahan yang digunakan pada KLT sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang diisi dengan pelarut dan lempeng KLT. Proses analisis KLT diawali dengan menotolkan aliquot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal, kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat pada zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal atau campuran dua atau lebih pelarut murni) di dalam chamber. Fase diam dan fase gerak harus tepat agar campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan kromatogram (Agustin *et al.*, 2019).

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

noda yaitu dengan penjumlahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, membuat bercak akan terlihat jelas. 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 (Zirconia *et al.*, 2015). Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga Rf. Harga Rf didefinisikan sebagai berikut (Agustin,*et al.*, 2019).

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak bercak}} \quad \dots \dots \dots \quad (2.1)$$

2.5 Identifikasi Gugus Fungsional Agar Menggunakan FTIR

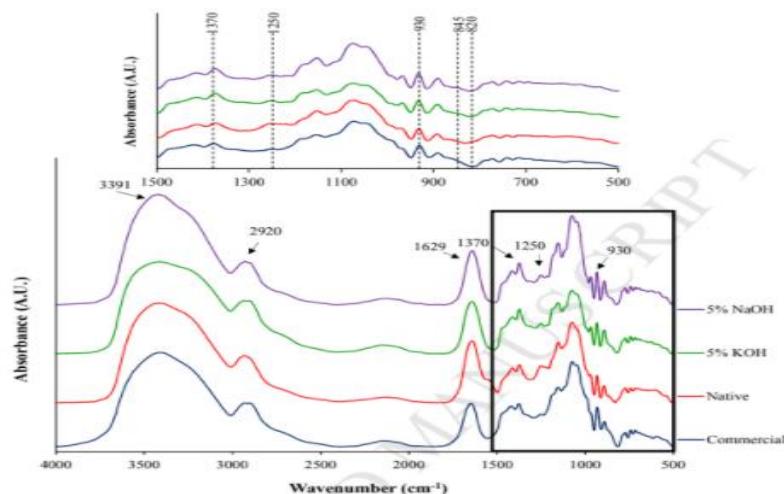
Spektrofotometer FTIR merupakan salah satu instrumen yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari suatu senyawa. Daerah spektrum spektrofotometer IR dibagi menjadi 3, yaitu IR dekat (antara 0,8-2,5 m atau $12.500\text{-}4.000\text{ cm}^{-1}$), IR tengah (antara 2,5-25 m atau $4.000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), dan IR jauh (antara 25-1.000 m atau $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) (Sulistyani, 2018).

Analisis FTIR digunakan untuk mengetahui keberadaan gugus-gugus fungsi molekul yang terdapat dalam isolat agar, dimana kesamaan gugus-gugus fungsi yang terdapat antara standar dan sampel menyatakan sampel yang dianalisa identik dengan standar (Andiska *et al.*, 2019).

Prinsip dasar dari analisis IR adalah penyerapan elektromagnetik oleh gugus-gugus fungsi tertentu, sehingga dari spektrum serapan yang terbaca dapat diketahui gugus fungsi apa saja yang terdapat suatu senyawa. Ketika sinar

inframerah dilewatkan melalui sebuah cuplikan, maka cuplikan tersebut akan menyerap sejumlah frekuensi dan frekuensi lainnya diteruskan atau ditransmisikan tanpa adanya penyerapan. Persen absorbansi memiliki hubungan dengan frekuensi untuk menghasilkan sebuah spektrum inframerah (Kroschwitz, 1990).

Yarnpakdee *et al.* (2015) telah melakukan identifikasi gugus fungsional agar standar yang dibandingkan dengan agar hasil isolasi dari berbagai perlakuan pada *Gracilaria tenuistipitata* seperti pada Gambar 2.4:



Gambar 2.4 Spektrogram Agar (Yarnpakdee *et al.*, 2015)

Berdasarkan hasil pada Gambar 2.4 terdapat peak pada panjang gelombang 3391 cm^{-1} yang berarti adanya gugus OH, panjang gelombang 2920 cm^{-1} yang berarti adanya gugus $-\text{CH}_2$ aromatik, panjang gelombang 1629 cm^{-1} yang berarti adanya gugus amida, panjang gelombang 1370 cm^{-1} dan 1250 cm^{-1} yang berarti adanya gugus ester sulfat, panjang gelombang 930 cm^{-1} yang berarti adanya gugus C-O-C dari 3,6-anhydro- α -L-galaktopyranosa, pada panjang

gelombang 845 cm^{-1} dan 820 cm^{-1} yang berarti adanya gugus sulfat dalam C-4 dan C-6 galaktosa (Yarnpakdee *et al.*, 2015).

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi. Senyawa antioksidan dapat melawan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk dari hasil metabolisme dalam tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit kanker, arteriosklerosis dan penuaan disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi (Agustina, 2017).

Rasyidi (2006) menjelaskan bahwasannya Allah SWT menjadikan kehidupan alam dengan berbagai keanekaragaman hayati sebagai nikmat bagi kehidupan manusia, di dalamnya terdapat manfaat yang sangat beragam, contohnya tumbuhan yang tumbuh di sekitar kita yang dapat dipergunakan untuk pengobatan. Dari dulu hingga kini, pengobatan dengan tumbuhan (*herbal medicine*) masih sering digunakan sebagai alternatif penyembuhan. Perintah Allah SWT kepada kita (manusia) untuk memanfaatkan tumbuhan dalam surat an Nahl ayat 69:

ثُمَّ كُلِّي مِنْ كُلِّ الْشَّمْرِتِ فَأَسْلَكَى سُبْلَ رَبَّكَ ذَلِّلَ يَخْرُجُ مِنْ بُطُونَهَا شَرَابٌ حُتَّلِفُ أَلْوَانٌ، فِيهِ شِفَاءٌ
لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِّلَ لَاءِيَةً لِعَوْمٍ يَتَعَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾

Artinya: "*Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan.*" (Q.S.an Nahl: 69).

Ayat di atas mengandung pengertian bahwa Allah SWT menumbuhkan beraneka macam tumbuhan yang mempunyai manfaat yang sangat besar bagi manusia, diantaranya sebagai bahan makanan. Berdasarkan sumbernya antioksidan terbagi menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi secara alami dalam tubuh. Antioksidan eksogen terbagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Setiabudi *et al.*, 2020). Antioksidan alami adalah hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan atau buah-buahan yang memiliki kandungan antioksidan. Contoh antioksidan alami antara lain tokoferol, fosfatida, karoten, asam tanat, quercetin (flavonoid), asam ferulik (senyawa fenolik), asam galik (senyawa fenolik) dan sebagainya. Sedangkan antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluene (BHT), dan tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) (Kulisic *et al.*, 2004). Antioksidan alami memiliki sifat yang lebih aman apabila dikonsumsi oleh manusia. Sedangkan antioksidan sintetis memiliki efektifitas yang tinggi namun kurang aman bagi kesehatan, sehingga penggunaannya diawasi secara ketat di berbagai negara (Miryanti, 2011).

Fungsi utama antioksidan yaitu dapat digunakan untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses

kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan. Antioksidan tidak hanya digunakan dalam industri farmasi tetapi juga digunakan secara luas dalam berbagai industri seperti industri makanan, industri petroleum, industri karet dan sebagainya (Erawati, 2012).

2.7 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan radikal bebas sangat reaktif yang kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat, sehingga sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Akumulasi dari kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini. Efek negatif radikal bebas terhadap tubuh dapat dicegah dengan senyawa yang disebut antioksidan (Liochev, 2013).

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Secara endogen, radikal bebas dapat terbentuk karena respon normal dari rantai biokimia dalam tubuh, dimana radikal bebas tersebut akan mempengaruhi sel-sel tubuh. Radikal ini merupakan hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada respirasi atau metabolisme sel. Dalam jumlah tertentu radikal ini dapat diremdam oleh sistem antioksidan alami yang ada di dalam tubuh. Sedangkan secara eksogen, radikal

bebas yang dibentuk dari proses luar tubuh, bisa disebabkan karena obat-obatan, radiasi sinar matahari, asap rokok, asap kendaraan bermotor, gas pestisida, dan zat tambahan makanan. Ada kalanya sistem antioksidan endogen tidak cukup mampu mengatasi stres oksidatif yang berlebih. Stres oksidatif merupakan keadaan saat mekanisme antioksidan tidak cukup untuk memecah spesi oksigen reaktif. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan dari luar (eksogen) untuk mengatasinya (Aman, 2017). Radikal bebas secara eksogen dapat disebabkan karena ulah tangan-tangan manusia yang tidak bertanggung jawab. Sebagaimana dalam firman Allah SWT dalam surat ar Ruum ayat 41:

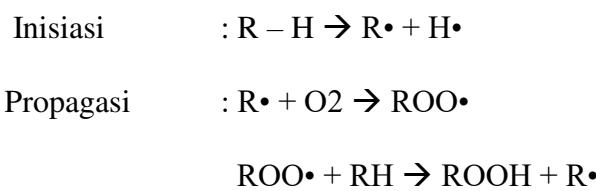
ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ إِمَا كَسَبَتْ أَيْدِيُ النَّاسِ لِيُذْيِقُهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya: “*Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia; Allah menghendaki agar mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)*” (Q.S. ar Ruum: 41).

Ayat di atas menyebut darat dan laut sebagai tempat terjadinya kerusakan. Hal ini berarti daratan dan lautan sebagai arena kerusakan, ketidakseimbangan dan kekurangan manfaat. Laut tercemar sehingga ikan mati dan hasil laut berkurang. Daratan semakin panas sehingga terjadi kemarau panjang. Alhasil keseimbangan lingkungan menjadi kacau. Inilah yang mengantar sementara ulama kontemporer memahami ayat ini sebagai isyarat tentang kerusakan lingkungan. Bahwa ayat di atas tidak menyebut udara, boleh jadi karena yang ditekankan di sini adalah apa yang tampak saja, sebagaimana makna dari kata ظَهَرَ yang telah disinggung di atas. Apalagi, ketika turunnya ayat ini, pengetahuan manusia belum menjangkau angkasa, lebih-lebih tentang polusi (Marinda, 2019).

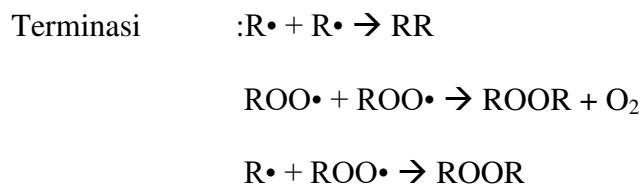
2.8 Mekanisme Antioksidan

Mekanisme dari pada umumnya menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahapan yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan asam lemak yaitu senyawa turunan asam lemak ($R\cdot$) yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat adanya kehilangan atom hidrogen ($H\cdot$). Tahap selanjutnya yaitu propagasi yaitu radikal asam lemak akan bereaksi dengan radikal oksigen membentuk radikal peroksi ($ROO\cdot$). Radikal peroksi akan menyerang asam lemak dan menghasilkan hidroperoksida ($ROOH$) dan radikal asam lemak baru ($R\cdot$) (Nugroho, 2013):



Gambar 2.5 Reaksi inisiasi dan propagasi asam lemak (Nugroho, 2013)

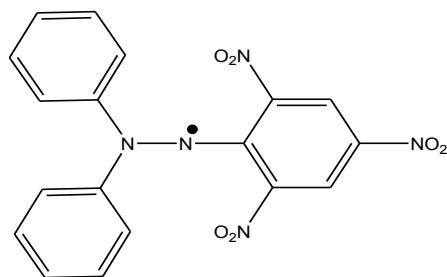
Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut akan menghasilkan senyawa-senyawa karbonil pendek seperti aldehid dan keton yang bertanggung jawab atas rasa makanan berlemak. Melalui reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi ketika antioksidan tidak ada (Nugroho, 2013):



Gambar 2.6 Reaksi terminasi oksidasi lemak (Nugroho, 2013)

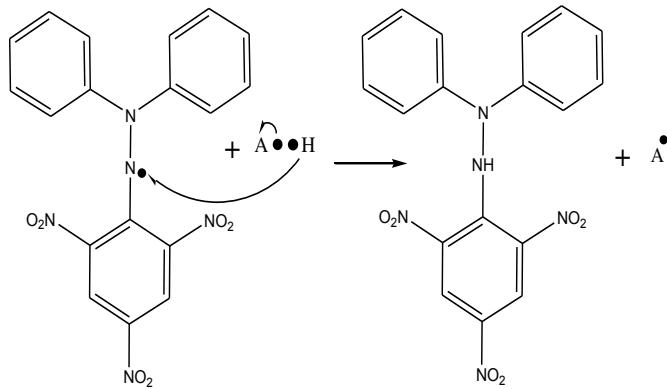
2.9 Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Salah satu metode yang digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode pengujian ini merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan. DPPH bersifat larut dalam air, berwarna ungu pekat seperti KMnO_4 dan bentuk tereduksinya 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) berwarna jingga kekuningan (Widyastuti, 2010).



Gambar 2.7 Struktur DPPH (Widyastuti, 2010)

Metode DPPH mudah digunakan, cepat, cukup teliti dan baik digunakan dalam pelarut organik. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang padat dan juga dalam bentuk larutan. Prinsipnya dimana elektron ganjil pada molekul DPPH memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm yang berwarna ungu. Warna ini akan berubah dari ungu menjadi kuning lemah apabila elektron ganjil tersebut berpasangan dengan atom hidrogen yang disumbangkan senyawa antioksidan. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Reaksi radikal bebas DPPH dengan atom H netral yang berasal dari senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.8:



Gambar 2.8 Reaksi radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan (Yuhernita dan Juniarti, 2011)

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan 2.2 (Fasya *et al.*, 2020).

Nilai 0% berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan apabila persentase aktivitas antioksidan lebih dari atau sama dengan 50% (Inayah & Masruri, 2021).

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau *Efficient Concentration* (EC_{50}) atau *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan

regresi. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penghambat radikal bebas, dengan kata lain IC₅₀ merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menurunkan sebesar 50% dari konsentrasi substrat (radikal DPPH) (Sastrawan *et al.*, 2013).

Tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji dengan menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai IC₅₀/EC₅₀, seperti pada Tabel 2.3 (Wulansari, 2018).

Tabel 2.3 Tingkat Kekuatan Antioksidan (Wulansari, 2018).

Intensitas Antioksidan	Nilai IC₅₀/EC₅₀ (ppm)
Sangat Kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	>150
Tidak Aktif	>500

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – April 2022 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas diantaranya gelas kimia, bola hisap, gelas ukur, corong pisah, erlenmeyer, spatula, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, tabung reaksi, neraca analitik, dan labu ukur. Peralatan lain yang digunakan adalah kertas saring, corong *Buchner*, ayakan 100 mesh, botol vial, desikator, *Melting Point Apparatus* (MPA), sonikasi *water bath*, spektrofotometer FTIR dan spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa*, akuades, HCl 1N p.a, , KCl p.a, etanol p.a, BaCl₂ p.a, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*), KLT gel 60 F₂₅₄, NaOH dan KOH masing-masing 3, 5, 7 dan 10%, serbuk vitamin C, dan KBr p.a.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil rendemen, karakteristik dan kemurnian pada agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* menggunakan metode sonikasi dengan variasi pelarut dan konsentrasi larutan perendaman (*pretreatment*) serta aktivitas antioksidannya. Rumput laut *Gracilaria verrucosa* dibersihkan dengan cara dicuci dan direndam dengan air tawar hingga tidak menyisakan kotoran. Selanjutnya, rumput laut dikeringkan dengan sinar matahari dan dihaluskan dengan blender. Lalu, dilakukan perendaman menggunakan pelarut NaOH dan KOH dengan variasi konsentrasi 3, 5, 7 dan 10% selama 60 menit dengan rasio 1:10 (b/v). Setelah itu, dinetralkan dengan akuades dan disaring. Residu hasil perendaman ditambah akuades dengan rasio 1:20 (b/v) lalu diekstraksi selama 60 menit pada suhu 60°C. Filtrat dicampur dengan KCl 1% untuk mengendapkan agar. Hasil ekstraksi dikeringkan selama 18 jam pada suhu 50°C dan dihitung *yield*nya. Setelah itu, dilakukan uji gugus fungsional agar menggunakan FTIR. Kemudian, uji karakteristik berdasarkan titik leleh, kadar sulfat, kadar abu, kadar air dan nilai pH, serta dilakukan analisisnya dengan KLT. Selanjutnya, dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor sebanyak 3 kali pengulangan, antara lain:

1. Faktor pertama variasi larutan perendaman terdiri dari 2 perlakuan
2. Faktor kedua konsentrasi larutan perendaman terdiri dari 4 perlakuan

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

Pelarut Perendaman(P)	Konsentrasi (K)			
	K1	K2	K3	K4
P1	P1K1	P1K2	P1K3	P1K4
P2	P2K1	P2K2	P2K3	P4K4

Keterangan:

- P1: Pelarut perendaman dengan NaOH
 P2: Pelarut perendaman dengan KOH
 K1: NaOH dan KOH konsentrasi 3%
 K2: NaOH dan KOH konsentrasi 5%
 K3: NaOH dan KOH konsentrasi 7%
 K4: NaOH dan KOH konsentrasi 10%

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi rumput laut *Gracilaria verrucosa*,
2. Perendaman (*Pretreatment*) rumput laut *Gracilaria verrucosa*,
3. Ekstraksi agar dengan metode sonikasi,
4. Analisis rendemen agar,
5. Uji gugus fungsional agar menggunakan FTIR,
6. Uji karakteristik agar berdasarkan titik leleh, kadar sulfat, kadar abu, kadar air dan nilai pH,
7. Analisis agar dengan KLT,
8. Uji aktivitas antioksidan agar.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Rumput laut *Gracilaria verrucosa*

Rumput laut *Gracilaria verrucosa* dibersihkan dari semua kotoran yang menempel antara lain kerang, pasir, sisa garam, dan zat pengotor lainnya dengan cara dicuci dengan air secara berulang hingga tidak menyisakan kotoran (Uju *et*

al., 2018). Lalu dikeringkan dibawah sinar matahari. Selanjutnya, dihaluskan dengan blender (Kusuma *et al.*, 2013).

3.5.2 Pengukuran Kadar Air Sampel

Cawan porselen kosong dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai berat konstan. Sampel sebanyak 2 g dimasukkan dalam cawan porselen dan ditimbang. Cawan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 150°C selama 60 menit. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga mencapai berat konstan. Persamaan pengukuran kadar air ditentukan sebagai berikut (Martinah *et al.*, 2014):

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Berat sampel setelah dikeringkan (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

3.5.3 Perendaman (*Pretreatment*) Rumput laut *Gracilaria verrucosa*

Rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebanyak 10 g direndam menggunakan pelarut NaOH dan KOH dengan variasi konsentrasi masing-masing 3, 5, 7 dan 10% (Yarnpakdee *et al.*, 2015) dengan rasio rumput laut kering:pelarut (1:10, b/v) (Yuliani *et al.*, 2012) selama 60 menit (Uju *et al.*, 2018). Kemudian dicuci dengan akuades hingga netral dan disaring (Pertiwi *et al.*, 2018).

3.5.4 Ekstraksi Agar dengan Metode Sonikasi

Ekstraksi dilakukan pada suhu 60°C selama 1 jam. Residu hasil perendaman ditambahkan akuades dengan rasio rumput laut kering:akuades (1:20,

b/v) lalu diekstraksi (Uju *et al.*, 2018). Filtrat ditambahkan KCl 1% dengan untuk mengendapkan agar (Hakim *et al.*, 2011).

3.5.5 Analisis Rendemen Agar

Hasil dari ekstraksi dikeringkan selama 18 jam pada suhu 50°C sampai berat konstan dan ditimbang beratnya untuk menentukan *yield*. Rendemen agar dihitung berdasarkan berat agar kering yang dihasilkan dibandingkan dengan berat rumput laut kering. Persamaan rendemen agar ditentukan sebagai berikut (Uju et al., 2018) :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat isolat}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \dots \quad (3.2)$$

3.5.6 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR

Agar ditambahkan dengan KBr lalu digerus hingga halus dan dibentuk menjadi pellet, kemudian diukur serapannya dan dianalisis menggunakan alat spektrofotometer FTIR pada panjang gelombang antara $400\text{--}5.000\text{ cm}^{-1}$ (Abidin *et al.*, 2014).

3.5.7 Uji Karakteristik Agar

Karakteristik agar yang diperoleh diuji dengan enam metode yaitu pengukuran titik leleh, kadar sulfat, kadar abu, kadar air dan nilai pH.

3.5.7.1 Pengukuran Titik Leleh

Penentuan titik leleh dilakukan dengan alat *Melting Point Apparatus* (MPA). Isolat dimasukkan ke dalam pipa kapiler, selanjutnya dimasukkan ke

dalam alat pengukur titik leleh. Suhu pada saat isolat mulai meleleh hingga meleleh secara keseluruhan dicatat sebagai jarak leleh. Isolat dikatakan murni apabila memiliki jarak titik leleh yang sempit ($\leq 2^{\circ}\text{C}$) (Suryelita *et al.*, 2017).

3.5.7.2 Pengukuran Kadar Sulfat

Sampel agar sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan 50 mL HCl 0,1 N. Lalu dipanaskan selama 15 menit sampai mendidih, dan ditambahkan 10 mL BaCl₂ 0,25 M diatas penangas air selama 5 menit. Larutan didinginkan selama 5 jam dan endapan disaring menggunakan kertas Whatman 41. Endapan dicuci dengan akuades panas hingga bebas klorida. Sampel dikeringkan dalam *furnace* pada suhu 700°C selama 1 jam. Selanjutnya didinginkan dalam desikator, dan ditimbang. Berat abu putih merupakan berat BaSO₄. Persamaan penentuan kadar sulfat ditentukan sebagai berikut (Jaya *et al.*, 2019):

3.5.7.3 Pengukuran Kadar Abu

Cawan porselein yang telah bersih ditimbang dan dimasukkan 2 g sampel lalu ditimbang kembali. Kemudian dipanaskan dengan bunsen hingga tidak berasap. Setelah itu dimasukkan ke dalam tanur pada suhu suhu 600°C selama 5 jam. Lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga mencapai berat yang konstan. Persamaan pengukuran kadar abu ditentukan sebagai berikut (Martinah *et al.*, 2014):

3.5.7.4 Pengukuran Kadar Air

Cawan porselen kosong dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai berat konstan. Sampel sebanyak 2 g dimasukkan dalam cawan porselen dan ditimbang. Cawan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 150°C selama 60 menit. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang hingga mencapai berat konstan. Persamaan pengukuran kadar air ditentukan sebagai berikut (Martinah *et al.*, 2014):

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Berat sampel setelah dikeringkan (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.5)$$

3.5.7.5 Pengukuran pH

Sampel sebanyak 5 g dilarutkan dalam 10 mL akuades. Kemudian dimasukkan dalam beaker glass dan diukur pHnya menggunakan pH meter (Kumesan *et al.*, 2017).

3.5.8 Analisis Agar dengan KLT

Analisis senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan KLT. Disiapkan *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak n-butanol : etanol : air (3:3:1, v/v). Sampel kemudian diwarnai pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1,5 cm dari dasar plat, jarak antar noda 1,5 cm dan dibiarkan kering beberapa saat. Plat KLT yang berisi sampel ditempatkan dalam *chamber* dimana dijenuhkan terlebih dahulu. Didiamkan hingga pelat terelusi sepenuhnya, kemudian pelat KLT diangkat dan dikeringkan. Untuk menentukan posisi noda

yang dilihat, pelat disemprot menggunakan reagen anilin difenilamin fosfat (Xu *et al.*, 2017).

3.5.9 Uji Aktivitas Antioksidan Agar

3.5.9.1 Pembuatan Stok Larutan *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH)

Dilarutkan DPPH sebanyak 0,97 mg menggunakan etanol p.a kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur hingga volume 25 mL. Larutan dikocok hingga homogen. Labu ukur dilapisi menggunakan aluminium foil (Musfiroh & Syarieff, 2012).

3.5.9.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan etanol p.a sebanyak 3 mL, ditutup dengan aluminium foil dan dihomogenkan menggunakan vortex lalu dituang ke dalam kuvet. Setelah itu diukur serapannya pada λ_{maks} 400-800 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Hayati *et al.*, 2015).

3.5.9.3 Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol p.a sebanyak 3 ml. Ditutup menggunakan alumunium foil. Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah diperoleh. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diperoleh (Hayati *et al.*, 2015).

3.5.9.4 Pembuatan Larutan Uji Agar

Hasil ekstraksi agar ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1.000 ppm (larutan induk). Kemudian dari larutan induk dibuat konsentrasi 100, 250, 500, 750 dan 1.000 ppm (Assaw *et al.*, 2018). Pada masing-masing konsentrasi disiapkan tabung reaksi, kemudian tiap tabung reaksi diisi dengan 3 mL ekstrak dan ditambahkan 1 mL DPPH (1:3). Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah diperoleh. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diperoleh. Perlakuan ini dilakukan ulangan sebanyak 3 kali pada tiap konsentrasi (Hayati *et al.*, 2015).

3.5.9.5 Pembuatan Larutan Kontrol Positif Vitamin C

Vitamin C sebanyak 5 mg dilarutkan menggunakan etanol p.a 50 mL dalam labu ukur 50 mL, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 10 ppm (Larutan induk). Kemudian larutan induk tersebut dibuat konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm dalam labu ukur 10 mL (Ikhrar *et al.*, 2019).

3.5.9.7 Penentuan Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)

Untuk menghitung nilai IC₅₀ diperlukan data persen inhibisi dari pengujian yang dilakukan. Besarnya persen inhibisi dari sampel terhadap DPPH dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Nilai EC₅₀ dihitung menggunakan regresi linier dengan persamaan $y = ax + b$. Sumbu y dinyatakan sebagai persen inhibisi dan sumbu x sebagai konsentrasi sampel (Riskianto *et al.*, 2021).

3.5.9.8 Penentuan Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*)

Nilai AAI dapat ditentukan dari konsentrasi DPPH (ppm) yang digunakan dalam uji dibagi dengan nilai IC₅₀ (ppm) yang diperoleh. Nilai AAI < 0,5 menunjukkan aktivitas antioksidan lemah, AAI > 0,5 -1 menunjukkan aktivitas antioksidan sedang, AAI > 1-2 menunjukkan aktivitas antioksidan kuat, dan AAI > 2 menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat (Firdaus, 2013).

3.5.10 Parameter Pengamatan

3.5.10.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini adalah rendemen agar rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

3.5.10.2 Parameter Pendukung

Parameter pendukung digunakan untuk melengkapi data dari parameter utama. Parameter pendukung dari penelitian ini adalah uji karakteristik berdasarkan titik leleh, kekuatan gel, kadar sulfat, kadar abu, kadar air, nilai pH dan analisis dengan KLT serta uji FTIR dan uji aktivitas antioksidan.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini berupa rendemen yang akan dianalisis menggunakan metode *two way Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut dan konsentrasi perendaman (Nasrulloh *et al.*, 2021). Jika dari analisis menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka akan dilakukan uji lanjut. Sedangkan untuk analisis karakteristik akan dibandingkan dengan agar murni yang dikeluarkan oleh FAO, FCC dan SNI.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut merah jenis *Gracilaria verrucosa* yang diambil dari tambak Dusun Tanjungsari, Desa Kupang, Kecamatan Jabon, Kabupaten Sidoarjo, Provinsi Jawa Timur. Sampel yang diperoleh dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang berupa lumut atau kerang yang dapat mengganggu proses ekstraksi, dan dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaan. Ukuran sampel yang kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan sampel bertujuan mengurangi kadar air, mempermudah penyimpanan, dan mencegah tumbuhnya jamur, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari untuk mempercepat dan meratakan proses pengeringan.

Sampel yang telah kering dihaluskan untuk mendapatkan sehingga serbuk yang kecil dan halus. Proses penghalusan sampel dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel, sehingga kontak sampel dengan pelarut semakin maksimal dan ekstraksi lebih efektif (Mahmiah *et al.*, 2020). Setelah dihaluskan, sampel diayak menggunakan ayakan 90 – 100 mesh untuk menyeragamkan ukuran.



Gambar 4.1 Sampel *G. verrucosa* basah (a) kering (b) dan serbuk (c)

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air menggunakan metode gravimetri memiliki prinsip menghilangkan kadar air dalam sampel dengan pemanasan dan penimbangan (*Thermogravimetri*) menggunakan oven pada temperatur 105°C sampai diperoleh berat konstan. Pemanasan dilakukan pada suhu tinggi yaitu berada di atas titik didih air (100°C) untuk penguapan lebih maksimal (Mokoginta *et al.*, 2013). Tujuan dari analisis kadar air untuk mengetahui kandungan air dalam sampel. Kadar air berpengaruh terhadap daya tahan suatu sampel, kadar air yang rendah pada sampel dapat meminimalisir kerusakan yang disebabkan oleh mikroba dan jamur (Masrikhiyah & Wahyani, 2020). Persentase kadar air rumput laut *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kadar air sampel kering *Gracilaria verrucosa*

Kadar Air (%)	Standar Mutu <i>Gracilaria sp.*</i>
10.9385	Maks. 12,0 %

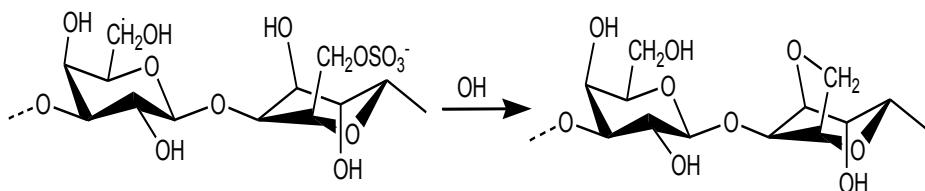
Keterangan* : Standar Nasional Indonesia (SNI 2690:2015)

Berdasarkan Tabel 4.1 kadar air pada sampel kering rumput laut *Gracilaria verrucosa* pada penelitian ini sebesar 10.9385% (Lampiran 4.2). Hasil

analisa kadar air menunjukkan bahwa kadar air sampel sesuai dengan nilai maksimum standar persyaratan mutu dan keamanan (SNI 2690:2015) rumput laut kering jenis *Gracilaria sp.* yaitu sebesar 12%. Menurut Anggraeni *et al.* (2014), semakin kecil kadar air pada suatu sampel maka semakin mudah pelarut mengekstrak komponen senyawa yang diinginkan.

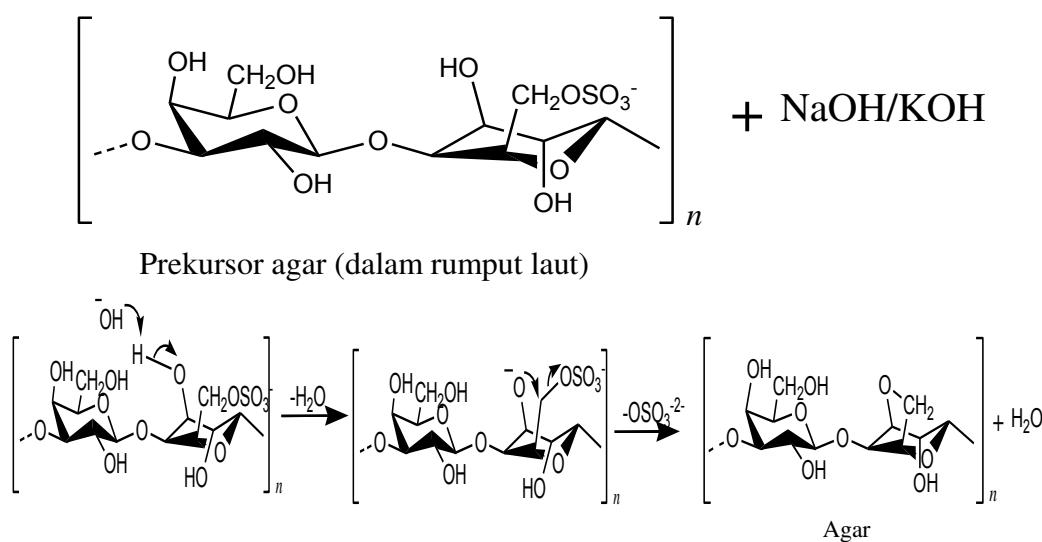
4.3 Perendaman Sampel

Sebelum dilakukan proses ekstraksi, pada penelitian ini dilakukan perendaman menggunakan pelarut alkali, yaitu NaOH dan KOH dengan konsentrasi masing-masing 3, 5, 7 dan 10%. Perendaman dilakukan pada suhu ruang selama 60 menit untuk meningkatkan kualitas agar yang diperoleh (Yuliani *et al.*, 2012). NaOH dan KOH berfungsi untuk menghilangkan gugus 6-sulfat yang bersifat hidrofilik dari unit monomer agar dan membentuk 3,6-anhidrogalaktosa yang bersifat hidrofobik, sehingga dapat meningkatkan pembentukan gel pada agar (Wathoniyah, 2016). Setelah direndam rumput laut *Gracilaria verrucosa* dicuci hingga pH netral, pencucian hingga pH netral dilakukan dengan tujuan tidak menempelnya larutan alkali terhadap rumput laut ketika proses ekstraksi, sehingga tidak terjadi penurunan sifat gel agar. Reaksi larutan alkali dengan prekursor agar (dalam rumput laut sebelum diekstraksi) ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Reaksi larutan alkali dengan prekursor agar (dalam rumput laut sebelum diekstraksi)

Penggunaan alkali dengan meningkatkan konsentrasi pada saat perendaman menyebabkan rumput laut menjadi lunak. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kusuma *et al.* (2013) bahwa pada penggunaan alkali dapat berdifusi ke dalam jaringan sel selulosa rumput laut dan terjadi reaksi perubahan struktur kimia rumput laut. Selama proses tersebut, ikatan antara agarosa dan agaropektin akan diputus. Ester sulfat yang tidak stabil pada rantai C-6 dari L-galaktosa-6-sulfat molekul agaropektin akan menghilang akibat hidrolisis OH⁻ yang kemudian diubah menjadi 3,6-anhidrogalaktosa ketika rantai C-6 kekurangan ion akibat penghilangan sulfat (Abidin *et al.*, 2015). Mekanisme dugaan perubahan struktur rumput laut ditunjukkan pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Mekanisme dugaan pembentukan agar dengan larutan alkali

4.4 Ekstraksi Agar

Ekstraksi agar pada penelitian ini dilakukan dengan metode sonikasi menggunakan pelarut akuades dengan perbandingan 1:20 berat rumput laut, serta diekstraksi pada suhu 60°C selama 60 menit. Penggunaan pelarut sebanyak 20 kali

berat rumput laut kering untuk memperbesar luas permukaan kontak antara dinding sel rumput laut dengan pengekstrak.

Penggunaan metode sonikasi tidak membutuhkan suhu tinggi dan waktu yang lama karena adanya efek kavitas. Gelembung-gelembung yang dihasilkan dari efek kavitas mengakibatkan peningkatan pori-pori dinding sel dan dapat mempercepat proses difusi energi panas melalui dinding sel, sehingga dinding sel lebih mudah mengalami kerusakan. Prinsip kerja dari sonikasi adalah gelombang suara ultrasonik yang dihasilkan oleh sonikator akan menghancurkan jaringan dengan menciptakan getaran-getaran yang menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel secara mekanik. Hal ini dapat menyebabkan proses menjadi lebih cepat (Sari *et al.*, 2018).

Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan KCl 1% untuk mengendapkan agar. Adanya ion K^+ pada KCl dapat meningkatkan kekuatan ionik pada rantai polimer agar sehingga gaya kelarutan antar molekul semakin besar sehingga terjadi keseimbangan antara ion-ion yang larut dengan ion-ion yang terikat di dalam struktur agar sehingga dapat membentuk gel. Semakin tinggi konsentrasi ion K^+ semakin tinggi pula kekuatan gel yang dihasilkan. Akan tetapi konsentrasi KCl yang berlebihan akan menurunkan kekuatan gel, karena konsentrasi jenuh dari ion K^+ menyebabkan keseimbangan antar ion semakin sulit tercapai (Hakim *et al.*, 2011).

Agar yang diperoleh dari ekstraksi dihaluskan sampai menjadi bubuk. Agar yang direndam menggunakan pelarut KOH terlihat lebih pekat warnanya dibandingkan dengan agar yang direndam dengan pelarut NaOH. Agar yang telah halus seperti pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Agar hasil ekstraksi

Agar yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan pelarut perendaman KOH dan NaOH mempunyai warna kuning kecoklatan, berbentuk serbuk halus, tidak keras dan mudah untuk dihaluskan. Warna agar hasil ekstraksi menggunakan pelarut perendaman KOH menghasilkan warna yang lebih gelap dibandingkan dengan agar hasil ekstraksi menggunakan pelarut perendaman NaOH. Warna kecoklatan dapat disebabkan karena masih adanya selulosa, fikosianin, dan pigmen fikoeritrin. Selain komponen yang tidak larut air, selulosa juga menyebabkan warna agar menjadi keruh (Nur *et al.*, 2021). Selain itu, kemungkinan penyebab terjadinya warna coklat pada agar adalah adanya klorofil dan vitamin C dalam rumput laut yang ikut terlarut bersama agar dan terbawa dalam proses pengolahan agar. Klorofil merupakan pigmen hijau yang dapat larut air dan sangat peka terhadap panas. Klorofil yang berwarna hijau dapat berubah menjadi warna coklat akibat substitusi magnesium oleh hidrogen membentuk feofitin (klorofil yang telah kehilangan magnesium) (Insan & Widjartini, 2012).

4.5 Rendemen Agar

Rendemen merupakan salah satu parameter penting untuk menentukan efektif dan efisiensi tidaknya proses ekstraksi (Juliasti *et al.*, 2015). Nilai rendemen dapat dihitung berdasarkan perbandingan dari berat agar kering dengan berat rumput laut kering. Persentase rendemen agar dapat dilihat pada Tabel 4.2.

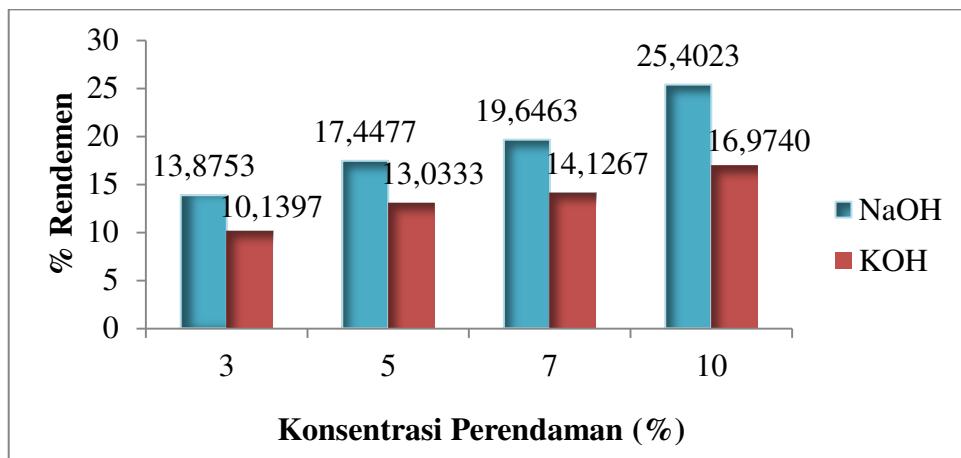
Tabel 4.2 Rata-rata rendemen agar dengan pelarut dan konsentrasi yang berbeda

Perlakuan	Rata-Rata Rendemen (%)
KOH 3%	10,1397 ^a
KOH 5%	13,0333 ^{ab}
NaOH 3%	13,8753 ^{abc}
KOH 7%	14,1267 ^{bc}
KOH 10%	16,9740 ^{bcd}
NaOH 5%	17,4477 ^{cd}
NaOH 7%	19,6463 ^d
NaOH 10%	25,4023^e

Keterangan: Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0,05$)

Berdasarkan Tabel 4.2 persentase rata-rata rendemen agar yang dihasilkan berkisar antara 10,1397 – 25,4023% (Lampiran 5). Presentasi agar tertinggi diperoleh dari rumput laut yang direndam menggunakan pelarut NaOH 10% yaitu sebesar 25,4023%. Pada konsentrasi yang sama pelarut KOH menghasilkan rendemen sebesar 16,9740%. Menurut Destantina *et al.* (2012), perbedaan ini disebabkan karena pada proses ekstrasi selain adanya proses pelarutan agar, juga terjadi reaksi antara agar dengan pelarut alkali, yaitu KOH dan NaOH. Dimana reaksi yang terjadi adalah reaksi pertukaran ion. Kation yang ada dalam pelarut alkali menggantikan ion sulfat pada agaropektin. Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian Yarnpakdee *et al.* (2015) yaitu pada perendaman menggunakan

NaOH 7% menghasilkan rendemen sebesar 24,6%; sedangkan pada konsentrasi yang sama pelarut KOH menghasilkan rendemen sebesar 23,6%. Rendemen agar dengan pelarut dan konsentrasi yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Grafik rendemen agar dengan pelarut dan konsentrasi yang berbeda

Rendemen meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi pelarut perendaman. Hal ini disebabkan karena penambahan konsentrasi yang semakin tinggi akan menaikkan pH yang dapat mempercepat proses plasmolisis dinding sel sehingga mempermudah proses pemisahan antara dinding sel dan sitoplasma dari sel rumput laut. Penambahan konsentrasi pelarut pada saat perendaman akan membantu pelepasan polisakarida 3,6 anhidrogalaktosa dari dinding sel rumput laut (Ruku *et al.*, 2021).

Hasil analisis *two way* ANOVA pada rendemen agar (Lampiran 12) menunjukkan hasil yang signifikan pada variasi pelarut dan konsentrasi perendaman. Berdasarkan pada uji nilai F bahwa perlakuan dengan perbedaan pelarut perendaman menghasilkan nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($93,931 > 3,44$) dan pada uji probabilitas dimana nilai $sig. (0,000) <$ dari alpha ($0,05$). Pada uji nilai F bahwa perlakuan dengan perbedaan konsentrasi perendaman menghasilkan nilai $F_{hitung} >$

F_{tabel} ($44,916 > 3,44$) dan pada uji probabilitas dimana nilai sig. (0,000) < dari alpha (0,05). Hal ini dapat diartikan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pelarut dan konsentrasi perendaman terhadap rendemen agar yang dihasilkan.

Rendemen tertinggi terdapat pada konsentrasi NaOH 10%. Tingginya rendemen ini diduga adanya penambahan NaOH yang membuat proses penarikan ekstrak agar lebih mudah sehingga mempengaruhi rendemen yang dihasilkan (Nasrulloh *et al.*, 2021). Hasil ini sesuai Kusuma *et al.* (2013), bahwa tingginya rendemen diduga penambahan pemberian konsentrasi NaOH yang menyebabkan dinding sel rusak sehingga agar yang terakumulasi di dinding sel dapat ditarik keluar dengan mudah pada saat proses ekstraksi. Tinggi rendahnya rendemen agar juga dipengaruhi jenis rumput laut, proses ekstraksi, kondisi lingkungan, letak geografis dan musim panen (Santika *et al.*, 2014; Abidin *et al.*, 2015; Hidayah *et al.*, 2016).

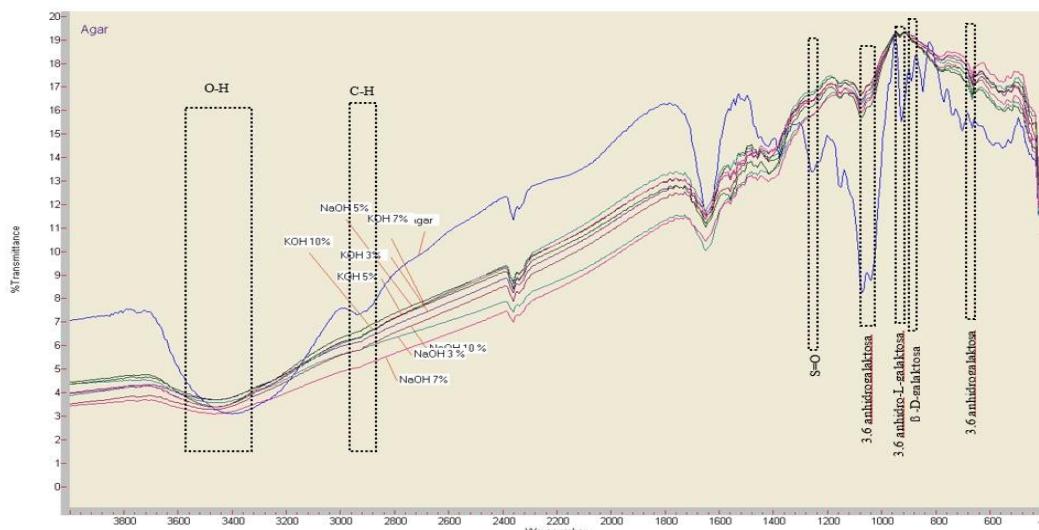
Kecilnya rendemen yang dihasilkan oleh pelarut KOH dikarenakan pada saat ekstraksi larutan yang dihasilkan jauh lebih kental. Larutan yang lebih kental ini menandakan agar keluar dari jaringan rumput laut. Larutan yang kental membutuhkan waktu lebih lama untuk proses penyaringan dan menyebabkan larutan menjadi dingin hal ini mengakibatkan terbentuknya lapisan gel, maka dari itu penyaringan tidak berjalan maksimal dan filtrat yang dihasilkan mengandung agar yang lebih sedikit. Rendemen yang diekstrak dengan pelarut NaOH lebih besar dibandingkan dengan pelarut KOH, hal ini disebabkan karena ion Natrium mempunyai reaktivitas dan kemampuan daya pengendap koloid yang lebih besar

dibandingkan dengan ion Kalium, sehingga menyebabkan agar lebih mudah membentuk gel (Budiyari dan Hargono, 2004).

Hasil uji lanjut yaitu uji tukey menunjukkan bahwa rendemen tertinggi diperoleh oleh perlakuan dengan menggunakan pelarut perendaman NaOH 10% yaitu sebesar 25,4023%. Perlakuan tersebut berbeda nyata dengan pelarut perendaman NaOH 3%, NaOH 5%, NaOH 7%, KOH 3%, KOH 5%, KOH 7%, dan KOH 10%.

4.6 Uji Gugus Fungsional dengan FTIR

Sampel yang diduga senyawa agar diperkuat dugaannya dengan melakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer infra merah atau FTIR. Analisa FTIR merupakan teknik yang digunakan untuk mengetahui gugus fungsional suatu senyawa. Hasil analisa sampel agar hasil ekstraksi dibandingkan dengan agar komersil, jika gugus-gugus fungsional sama maka dapat dikatakan identik. Spektra FTIR agar komersil dan agar hasil ekstraksi ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.6 Spektra FTIR agar komersil dan agar hasil ekstraksi

Tabel 4.3 Data Spektrum FTIR agar komersil dan agar hasil ekstraksi

Bilangan gelombang (cm⁻¹)	Gugus fungsi	Agar komersil	NaOH				KOH			
			3%	5%	7%	10%	3%	5%	7%	10%
3400–3650	O–H alcohol	3399,348	3463,224	3465,032	3470,029	3462,107	3464,076	3459,044	3467,784	3467,222
2850–3000	C–Hsp3	2935,398	2933,722	2937,579	2935,651	2939,508	2943,366	2947,223	2949,152	2945,295
1600	C=O karbonil	1647,075	1650,553	1650,772	1651,676	1652,258	1651,422	1651,033	1651,289	1652,034
1370 – 1470	CH pada kerangka galakta	1420,337	1419,617	1418,633	1419,605	1417,676	1419,056	1418,521	1417,206	1419,306
1370	S=O ester sulfat	1375,242	1375,241	1375,241	1375,241	1375,241	1375,241	1375,241	1375,241	1375,241
1240–1260	S=O ester sulfat	1255,656	-	-	-	-	-	-	1263,371	-
1085 – 1150	C–O–C eter	1110,995	1109,066	1112,924	1107,137	1110,995	1112,924	1105,208	1109,066	1107,137
1050 – 1085	C-OH α,β – D galaktosa	1072,046	1078,602	1077,810	1079,112	1077,959	1076,443	1076,276	1076,432	1075,948
925 – 935	C-O-C dari 3,6 anhidro-L-galaktosa (agar)	928,235	931,615	927,758	929,687	933,545	927,758	933,544	927,758	931,615
890–900	C–H ₂	891,110	891,110	891,110	893,039	893,040	891,111	893,039	893,040	891,111
690	3,6-anhidro-L-galactosa (agar)	667,369	667,368	667,368	669,297	669,298	669,297	669,297	669,298	669,297

Berdasarkan Gambar 4.4 dan Tabel 4.3 terdapat beberapa puncak serapan penting yang menunjukkan gugus fungsi yang umumnya terdapat pada agar. Puncak serapan pada daerah $3400 - 3650 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi ulur O-H akibat adanya ikatan hidrogen pada struktur agar yang menyebabkan punya melebar dan terjadi pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih pendek. Puncak serapan pada daerah $2850 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya serapan gugus fungsi C-H_{sp3}. Puncak serapan pada daerah sekitar 1600 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan yang disebabkan oleh vibrasi ulur dari ikatan rangkap pada gugus karbonil (C=O), yang dikarakteristikkan sebagai amida primer, yang menunjukkan adanya kandungan protein pada agar (Guerrero *et al.*, 2013). Serapan gugus karbonil tersebut umumnya terjadi pada daerah 1700 cm^{-1} , bergesernya daerah serapan tersebut diakibatkan oleh perubahan struktur yang terjadi pada agar. Menurut Yarnpakdee *et al.* (2015) adanya protein pada agar disebabkan oleh kandungan rumput laut yang digunakan kaya akan protein.

Puncak serapan yang terjadi pada daerah 1370 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan dari ester sulfat. Menurut Suptijah (2012), daerah serapan ester sulfat seharusnya terjadi pada daerah 1200 cm^{-1} , pergeseran bilangan gelombang tersebut menandakan bahwa ester sulfat yang terdapat pada agar telah berkurang. Hal tersebut terlihat dari rendahnya kadar sulfat yang didapat pada agar hasil ekstraksi (Tabel 4.5). Penurunan jumlah sulfat pada agar dapat disebabkan oleh proses praperlakuan menggunakan NaOH yang berfungsi untuk mengikat sulfat pada molekul agaropektin sehingga mengubah struktur agar.

Sementara itu, serapan yang terjadi pada 930 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan gugus C-O-C pada struktur 3,6-anhidrogalaktosa. Puncak serapan pada daerah 890 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan C-H bending yang terikat sebagai gugus metoksi pada struktur D-galaktosa (Meena et al., 2011).

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat dikatakan bahwa senyawa hasil ekstraksi merupakan senyawa agar karena dihasilkan puncak pita serapan dengan sudut yang hampir sama dengan agar komersil. Panjang gelombang yang dihasilkan berbeda-beda setiap gugusnya akan tetapi tidak memiliki perbedaan yang cukup jauh.

4.7 Uji Karakteristik Agar

4.7.1 Uji Titik Leleh

Titik leleh merupakan temperatur dimana senyawa mulai beralih fasa dari padatan menjadi cairan, sampai dengan terjadinya peleahan sempurna. Tujuan titik leleh untuk menentukan suhu titik leleh, titik leleh juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu zat dan menunjukkan kemurniannya. Hasil pengukuran titik leleh ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil uji titik leleh agar komersil dan agar hasil ekstraksi

Agar		Titik Leleh ($^{\circ}\text{C}$)
Pelarut	Konsentrasi (%)	
NaOH	3	89 – 91
	5	90 – 92
	7	89 – 91
	10	88 – 90
KOH	3	88 – 90
	5	89 – 91
	7	90 – 92
	10	89 – 91
Komersil		92 – 94

Berdasarkan Tabel 4.4 titik leleh agar hasil ekstraksi dari penelitian ini berkisar antara 88 – 92, sedangkan titik leleh agar komersil berkisar antara 92 – 94. Titik leleh pada agar komersil dan agar hasil ekstraksi telah memenuhi standar FAO yaitu 85 – 95 (Tabel 2.1). Suhu titik leleh agar hasil ekstraksi lebih rendah dari agar komersil. Menurut Suptijah *et al.* (2014) salah satu yang mempengaruhi titik leleh disebabkan karena masih adanya pengotor atau zat asing yang terkandung dalam rumput laut. Berdasarkan hasil analisis, titik leleh agar hasil ekstraksi cenderung memiliki nilai yang berdekatan pada setiap perlakuan.

Ega *et al.* (2016) menyatakan titik leleh yang lebih rendah disebabkan karena kandungan sulfat pada agar hasil ekstraksi lebih rendah dibandingkan dengan agar komersil. Titik leleh berbanding lurus dengan kandungan 3,6-anhidrogalaktosa dan berbanding terbalik dengan kandungan sulfatnya.

4.7.2 Uji Kadar Sulfat

Kadar sulfat merupakan parameter yang digunakan untuk berbagai jenis polisakarida yang terdapat dalam alga merah. Kadar sulfat merupakan salah satu faktor penentu kualitas produk. Uji kadar sulfat bertujuan untuk mengetahui sisa sulfat yang tersisa pada agar. Kandungan sulfat pada rumput laut berbeda-beda disebabkan karena perbandingan jumlah agarosa dan agaropektin pada molekul agar yang bergantung pada asal dan jenis rumput lautnya (Yarnpakdee *et al.*, 2015). Nilai rata-rata kadar sulfat agar komersil dan agar hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil uji kadar sulfat agar komersil dan agar hasil ekstraksi

Agar		Kadar Sulfat (%)
Pelarut	Konsentrasi (%)	
NaOH	3	4,0541
	5	5,8916
	7	4,4084
	10	3,9140
KOH	3	3,9964
	5	4,6968
	7	5,2736
	10	4,4908
Komersil		10,0940

Berdasarkan Tabel 4.5 nilai kadar sulfat berkisar antara 3,9140 – 5,8916% (Lampiran 6). Nilai kadar sulfat terendah diperoleh pada agar dengan pelarut perendaman NaOH 10%, sedangkan agar komersil memiliki kadar sulfat tertinggi. Kadar sulfat agar hasil ekstraksi cenderung berfluktuasi, namun nilai dari masing-masing perlakuan tidak jauh berbeda. Hasil kadar sulfat pada penelitian ini cukup rendah karena berdasarkan penelitian Santika *et al.* (2014) kadar sulfat rumput laut *Gracilaria verrucosa* adalah 21,7%; meskipun rumput laut yang diteliti oleh Santika *et al.* (2014) berasal dari Bogor, sedangkan rumput laut yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Jabon, Sidoarjo. Hasil dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa agar hasil komersil belum memenuhi syarat standar SNI 2802:2015, sedangkan agar hasil ekstraksi sudah memenuhi syarat standar SNI 2802:2015 yaitu kurang dari 6%.

Kadar sulfat yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Santika *et al.* (2014) memperoleh kadar sulfat *Gracilaria verrucosa* terbaik sebesar 13,63% dengan perlakuan penambahan alkali NaOH konsentrasi 5%. Menurut Kusuma *et al.* (2013), penambahan alkali dalam proses

pembuatan agar dapat menghilangkan atau mengurangi kadar ester sulfat pada C6 dari rantai 1-4-L-galaktosa. Ester sulfat yang bereaksi dengan alkali membentuk garam-garam sulfat sehingga lebih mudah dipisahkan pada saat proses penyaringan. Alkali (NaOH dan KOH) merupakan basa kuat yang dapat membersihkan sisa-sisa senyawa sulfat dari garam-garam sulfat. Karena sulfat merupakan penghambat agar untuk menyatu menjadi satu kesatuan ikatan sehingga apabila sulfatnya banyak maka kekuatan gelnya akan semakin rendah, begitu sebaliknya.

4.7.3 Uji Kadar Abu

Abu merupakan unsur mineral zat anorganik sisa pembakaran dan sukar menguap. Uji kadar abu bertujuan untuk mengetahui secara umum kandungan mineral yang terdapat pada bahan yang digunakan. Kadar abu yang terkandung dalam suatu produk menunjukkan tingkat kemurnian produk, Tingkat kemurnian sangat dipengaruhi oleh komposisi dan kandungan mineralnya (Yuliani *et al.*, 2012). Nilai rata-rata kadar abu agar komersil dan agar hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji kadar abu agar komersil dan agar hasil ekstraksi

Agar		Kadar Abu (%)
Pelarut	Konsentrasi (%)	
NaOH	3	19,6000
	5	22,9000
	7	21,3000
	10	19,1000
KOH	3	25,5000
	5	21,0000
	7	22,9000
	10	25,7000
Komersil		6,5000

Berdasarkan Tabel 4.6 Menunjukkan nilai kadar abu berkisar antara 19,1000 – 25,7000% (Lampiran 7). Kadar abu pada agar hasil ekstraksi lebih besar dari agar komersil. Hasil kadar abu pada penelitian ini cukup tinggi karena berdasarkan penelitian (Sa'diyah & Puryantoro, 2018) kadar abu rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang berasal dari Jabon, Sidoarjo adalah 15.30%. Hasil ini menunjukkan bahwa agar hasil komersil dan agar hasil ekstraksi belum memenuhi syarat standar SNI 2802:2015 yaitu <6% (Tabel 2.1).

Kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Santika *et al.* (2014) yang memperoleh kadar abu *Gracilaria verrucosa* terbaik sebesar 1,54 % dengan perlakuan penambahan alkali NaOH konsentrasi 5%. Kadar abu pada penelitian ini diduga juga berasal dari KCl yang ditambahkan pada saat netralisasi pada proses ekstraksi sehingga menyebabkan garam-garam melekat pada alga (Kusuma *et al.*, 2013). Kadar abu pada penelitian ini diduga adanya ion Na⁺ dan K⁺ yang masih tersisa pada saat perendaman, selain itu kadar abu dalam agar berasal dari garam-garam yang melekat pada rumput laut dan tidak tercuci pada saat pencucian.

4.7.4 Uji Kadar Air

Kadar air merupakan jumlah molekul air tidak terikat (air bebas) yang terkandung dalam suatu produk (Meiyani *et al.*, 2014). Jumlah air yang terikat dapat dihilangkan melalui pengeringan dengan oven atau sinar matahari langsung. Tujuan dari analisis kadar air untuk mengetahui kandungan air dalam sampel. Kadar air berpengaruh terhadap daya tahan suatu sampel, kadar air yang rendah pada sampel dapat meminimalisir kerusakan yang disebabkan oleh mikroba dan

jamur (Masrikhiyah & Wahyani, 2020). Nilai rata-rata kadar air agar komersil dan agar hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil uji kadar air agar komersil dan agar hasil ekstraksi

Agar		Kadar Air (%)
Pelarut	Konsentrasi (%)	
NaOH	3	6,5500
	5	8,4000
	7	7,6500
	10	5,3500
KOH	3	6,2000
	5	5,9500
	7	6,4500
	10	7,6000
Komersil		8,7000

Berdasarkan Tabel 4.7 menunjukkan nilai kadar air berkisar antara 5,3500 – 8,4000% (Lampiran 8). Kadar air terendah diperoleh pada agar dengan pelarut NaOH 10% dan kadar air tertinggi dengan pelarut NaOH 7%. Hasil kadar air pada agar komersil dan agar hasil ekstraksi telah memenuhi standar SNI 2802:2015 yaitu <22% (Tabel 2.1).

Kadar air yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Santika *et al.* (2014) yang memperoleh kadar air *Gracilaria verrucosa* terbaik sebesar 12,64 % dengan perlakuan penambahan alkali NaOH konsentrasi 5%. Rendahnya kadar air pada agar juga dapat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi. Penggunaan waktu ekstraksi yang lebih lama menyebabkan rendahnya nilai kadar air yang diperoleh karena menyebabkan sampel lebih lama terkena suhu panas (Berliana *et al.*, 2020). Faktor lain yang mempengaruhi kadar air dalam agar adalah pertambahan umur panen terhadap rumput laut. Semakin lama umur panen rumput laut dapat meningkatkan kadar air agar, hal ini diduga

karena sifat hidrofilik yang dimiliki rumput laut yang dapat menyerap air yang cukup banyak dalam perairan sehingga menyebabkan semakin banyaknya proses sintesis polisakarida yang terjadi di dalam rumput laut, selain itu kadar air agar berkaitan dengan kadar sulfat. Muatan negatif ester sulfat dapat berikatan dengan air sehingga jika kadar sulfat tinggi maka kadar air juga tinggi (Wenno *et al.*, 2012).

4.7.5 Uji pH

Penentuan nilai pH merupakan nilai yang dapat menunjukkan derajat keasaman suatu sampel. Uji pH bertujuan untuk menunjukkan derajat keasaman agar. Nilai pH agar dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri dalam agar serta berpengaruh terhadap kekuatan gel agar. Salah satu faktor yang mempengaruhi nilai pH adalah perendaman, metode ekstraksi, suhu ekstraksi, dan umur bahan baku yang digunakan (Yolanda & Agustono, 2018). Nilai pH agar komersil dan agar hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil uji pH agar komersil dan agar hasil ekstraksi

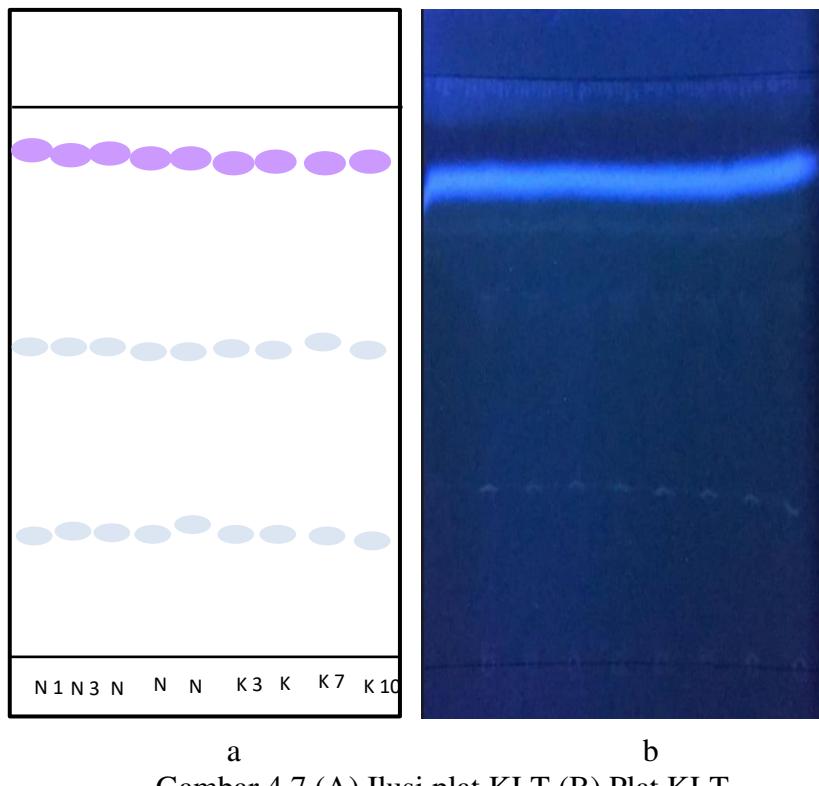
Agar		pH
Pelarut	Konsentrasi (%)	
NaOH	3	7,71
	5	7,94
	7	7,75
	10	7,62
KOH	3	7,65
	5	7,86
	7	7,90
	10	7,78
Komersil		6,98

Keterangan : pH air = 6,84

Berdasarkan Tabel 4.8 nilai pH agar hasil ekstraksi pada penelitian ini berkisar antara 7,62 – 7,94; nilai pH ini tidak jauh berbeda dengan agar komersil yaitu 6,98. Hal ini dapat diketahui bahwa perbedaan konsentrasi larutan perendaman menghasilkan nilai pH yang tidak jauh berbeda. Nilai pH yang diperoleh telah memenuhi spesifikasi standar mutu agar yang ditentukan oleh FAO berkisar antara 6 – 7. Penggunaan variasi pelarut dan konsentrasi tidak mempengaruhi nilai pH. Salah satu faktor yang mempengaruhi nilai pH agar pada penelitian ini adalah pencucian agar setelah dilakukannya perendaman, semakin lama pencucian dilakukan semakin netral pH agar yang diperoleh. Akan tetapi lamanya perendaman dikhawatirkan akan mengurangi kandungan agar yang diperoleh.

4.8 Analisis Agar menggunakan KLT

Analisis agar dilakukan menggunakan fase diam berupa plat silika gel F₂₅₄ berukuran 10 cm x 10 cm. Masing-masing ekstrak agar ditotolkan sebanyak 17x totolan di tempat yang sama pada plat. Penotolan dilakukan pada tepi bawah plat menggunakan pipa kapiler yang kemudian dilakukan proses elusi. Elusi dilakukan setelah melakukan penjenuhan terhadap *chamber* yaitu dengan memberikan fase gerak pada tepi *chamber*. Penjenuhan terhadap *chamber* dilakukan untuk menghomogenkan campuran eluen dan menghilangkan uap air atau gas lain yang akan menghalangi laju eluen (Fatimah *et al.*, 2016). Kemudian dilakukan elusi dalam *chamber* terhadap plat silika yang telah ditotolkan sampel. Plat silika yang terelusi akan mengabsorbsi fase gerak.



Gambar 4.7 (A) Ilusi plat KLT (B) Plat KLT

Plat diangkat dan dikeringkan setelah mencapai batas atas plat. Kemudian disemprotkan reagen anilin difenilamin fosfat dan dioven selama 10 menit pada suhu 90 °C dibiarkan bereaksi dengan agar sehingga dapat memudahkan deteksi dibawah sinar UV. Penyemprotan reagen menyebabkan senyawa agar yang pada awalnya tidak berwarna berubah menjadi senyawa yang berwarna menampakkan warna agar yang awalnya tidak terlihat. Setelah dikeringkan dilakukan deteksi senyawa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm.

Tabel 4.9 Data identifikasi KLT dugaan senyawa agar komersil dan agar hasil ekstraksi.

Sampel	Harga Rf	Warna Noda Lampu UV λ 366 nm
Agar Komersil	0,38	Abu-abu
	0,67	Biru
	0,78	Abu-abu
NaOH 3%	0,40	Abu-abu
	0,68	Biru
	0,77	Abu-abu
NaOH 5%	0,40	Abu-abu
	0,67	Biru
	0,77	Abu-abu
NaOH 7%	0,38	Abu-abu
	0,66	Biru
	0,76	Abu-abu
NaOH 10%	0,41	Abu-abu
	0,67	Biru
	0,76	Abu-abu
KOH 3%	0,38	Abu-abu
	0,66	Biru
	0,75	Abu-abu
KOH 5%	0,38	Abu-abu
	0,65	Biru
	0,75	Abu-abu
KOH 7%	0,38	Abu-abu
	0,67	Biru
	0,75	Abu-abu
KOH 10%	0,37	Abu-abu
	0,66	Biru
	0,75	Abu-abu

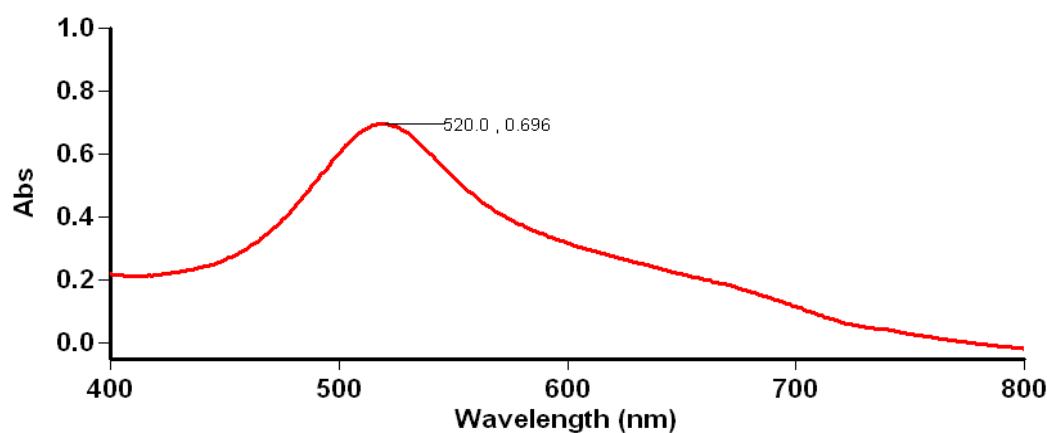
Berdasarkan Tabel 4.9 merupakan hasil identifikasi KLT terlihat bercak berwarna biru dan abu pudar dengan diperoleh nilai Rf. Hasil KLT pada penotolan sampel agar komersil dan agar hasil ekstraksi menggunakan fase gerak n-butanol : etanol : air (2:2:1) terdapat noda biru dan abu-abu serta memiliki nilai Rf yang tidak jauh berbeda sehingga dapat diartikan agar hasil ekstraksi identik dengan agar komersil. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Yun *et al.* (2013) dengan menghasilkan noda berwarna biru dan abu-abu pada analisis agarosa dengan KLT yang merupakan komponen penyusun agar dengan harga Rf

tidak jauh berbeda dengan penelitian ini. Timbulnya noda biru pada plat silika diakibatkan adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang terdapat pada noda tersebut (Forestryana dan Arnida., 2020).

4.9 Uji Aktivitas Antioksidan Agar

4.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan senyawa agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* dengan metode DPPH diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}). Tujuan penentuan λ_{maks} adalah untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel pada λ_{maks} untuk memaksimalkan kepekaan dan meminimalkan kesalahan, karena pada λ_{maks} perubahan absorbansi untuk setiap konsentrasi adalah yang paling besar (Mulangsri *et al.*, 2017). Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.6:



Gambar 4.6 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

Berdasarkan spektra pada Gambar 4.6 hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM diperoleh λ_{maks} sebesar 520 nm yang berwarna ungu. Radikal bebas DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm (Hasan *et al.*, 2022). λ_{maks} DPPH ini akan digunakan untuk proses pengukuran aktivitas antioksidan sampel agar

4.9.2 Pengukuran Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat radikal bebas, melindungi sel dari efek toksik, dan berkontribusi dalam mencegah berbagai penyakit (Aminah *et al.*, 2016). Pengujian antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Penggunaan metode DPPH karena sederhana, mudah, cepat, dan membutuhkan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi atom hidrogen yang menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning.

Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya adalah agar komersil dan agar hasil ekstraksi. Pengukuran potensi antioksidan dilakukan pada masing-masing sampel. Setiap sampel dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi, yakni 100, 250, 500, 750, dan 1000 ppm. Kemudian ditambahkan larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Waktu inkubasi merupakan waktu dimana larutan uji meredam radikal bebas DPPH, sehingga reaksi sudah berjalan sempurna (Miranti *et al.*, 2016). Pengukuran potensi antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Penggunaan kontrol larutan DPPH 0,2 mM pada pengukuran potensi aktivitas antioksidan diperlukan

karena larutan kontrol digunakan sebagai pembanding dalam menentukan aktivitas antioksidan sampel (Anggraeni *et al.*, 2014) .

Semua sampel agar mengalami perubahan warna setelah diinkubasi. Agar komersil dan agar hasil ekstraksi mengalami perubahan warna dari ungu tua menjadi ungu muda hingga ungu kecoklatan, hal ini dapat diduga bahwa agar komersil dan agar hasil ekstraksi memiliki potensi aktivitas antioksidan sedang. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan . Pengurangan intensitas warna DPPH (ungu tua) mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Lestari *et al.*, 2017).

Setiap sampel dengan berbagai konsentrasi akan menghasilkan nilai absorbansi yang berbeda, nilai absorbansi dihitung untuk menentukan persen inhibisi. Persen inhibisi dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH atau biasa disebut dengan IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin kuat potensi aktivitas antioksidan (Lestari *et al.*, 2017). Data absorbansi dan persen inhibisi ditunjukkan pada (Lampiran 11). Persen inhibisi yang diperoleh dianalisis menggunakan persamaan regresi non linear dengan software *GraphPad Prism* 8 untuk mengetahui nilai IC₅₀ pada sampel. Hasil data IC₅₀ yang diperoleh ditunjukkan pada tabel 4.10.

Tabel 4.10 Nilai potensi aktivitas antioksidan agar

Konsen trasi (ppm)	Agar Komersil	NaOH				KOH			
		3%	5%	7%	10%	3%	5%	7%	10%
100	41,05	43,72	51,26	45,88	49,61	48,67	52,25	45,55	48,54
250	47,90	58,79	51,81	60,90	57,81	48,71	47,90	56,99	49,30
500	54,59	48,97	56,74	54,73	47,81	53,41	43,47	58,62	53,55
750	58,33	30,26	65,92	55,07	58,82	62,70	63,88	53,95	62,48
1000	64,84	36,80	68,46	67,59	64,68	65,23	58,33	68,95	64,79
IC ₅₀ (ppm)	279,8	138,2	125,6	132,3	113,1	182,2	170,8	155,4	179,1
AAI	0,282	0,570	0,627	0,596	0,697	0,432	0,461	0,507	0,439

Berdasarkan Tabel 4.10 Nilai IC₅₀ dan nilai AAI yang diperoleh dari setiap sampel mempunyai tingkat kekuatan antioksidan yang berbeda. Menurut Wulansari (2018) kekuatan potensi aktivitas antioksidan dikatakan sangat kuat ketika nilai IC₅₀ < 50 ppm. Tingkat potensi aktivitas antioksidan kuat ketika nilai IC₅₀ 50 – 100 ppm. Tingkat potensi aktivitas antioksidan sedang ketika nilai IC₅₀ 101 – 150 ppm. Tingkat potensi aktivitas antioksidan lemah ketika nilai IC₅₀ > 150 ppm. Apabila nilai IC₅₀ > 500 ppm, maka potensi aktivitas antioksidan dikatakan tidak aktif. Menurut Vasic *et al.* (2012) nilai AAI digunakan untuk menggolongkan sifat antioksidan. Jika nilai AAI < 0,5 maka antioksidan bersifat lemah, nilai AAI > 0,5 maka antioksidan sedang, nilai AAI > 1 – 2 maka antioksidan kuat, dan nilai AAI > 2 maka antioksidan sangat kuat.

Sampel agar dengan pelarut perendaman NaOH 10% memiliki kekuatan potensi antioksidan paling tinggi yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 113,1 ppm dan nilai AAI 0,697, sedangkan agar komersil memiliki kekuatan potensi antioksidan paling rendah yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 279,8 ppm dan nilai AAI 0,282. Agar komersil memperoleh nilai IC₅₀ yang tinggi sebesar 279,8 ppm menunjukkan agar komersil memiliki potensi aktivitas antioksidan rendah. Hal ini

kemungkinan karena agar komersil terdapat proses pemucatan rumput laut yang menyebabkan agar yang dihasilkan berwarna putih. Hal inilah yang memungkinkan dapat menghilangkan senyawa antioksidan pada agar.

Sampel agar yang mempunyai potensi aktivitas antioksidan sedang adalah sampel agar dengan pelarut perendaman NaOH 3%, NaOH 5%, NaOH 7%, NaOH 10%, dan KOH 7%, yang memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 138,2; 125,6; 132,3; 113,1; dan 155,4 ppm; serta nilai AAI berturut-turut sebesar 0,570; 0,627; 0,596; 0,697; 0,507. Sampel agar dengan potensi antioksidan lemah adalah sampel agar dengan pelarut perendaman KOH 3%, KOH 5%, KOH 10%, dan agar komersil yang memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 182,2; 170,8; 179,1; dan 279,8 ppm; serta nilai AAI berturut-turut 0,432; 0,461; 0,439; dan 0,282.

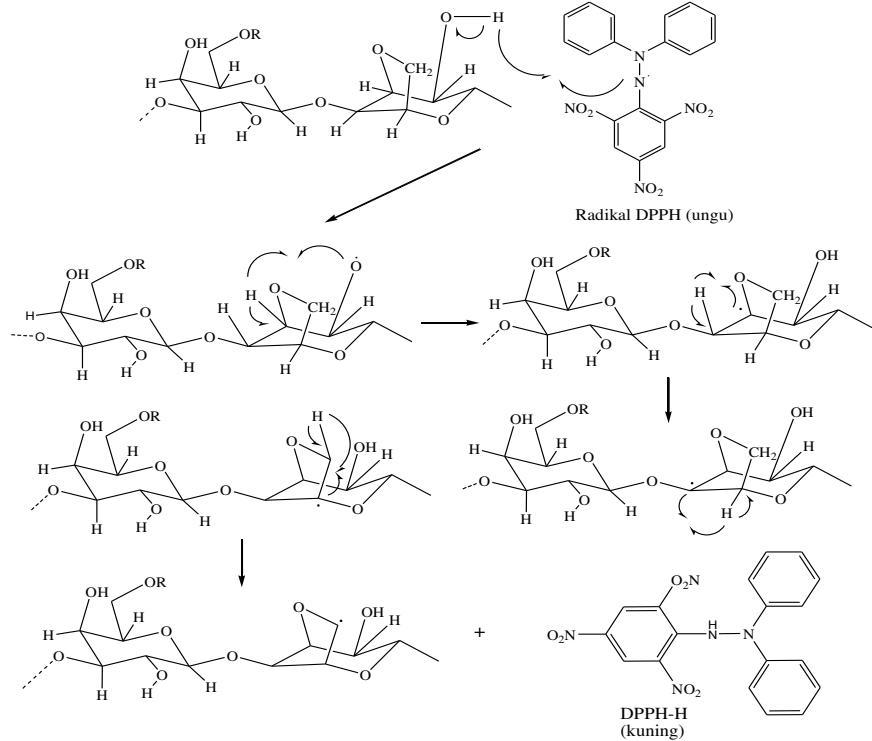
Hasil dari pengujian potensi aktivitas antioksidan pada sampel agar dibandingkan dengan asam askorbat (vitamin C). Asam askorbat digunakan sebagai pembanding karena asam askorbat merupakan antioksidan yang sering dipakai di masyarakat. Potensi aktivitas antioksidan agar dibandingkan dengan asam askorbat untuk mengetahui seberapa kuat potensi aktivitas antioksidan agar jika dibandingkan dengan salah satu antioksidan sintetik yang sering dipakai. Purwanto *et al.* (2018) menyatakan nilai IC₅₀ pada asam askorbat sebesar 1,68 ppm dan nilai AAI 46,98. Asam askorbat ini dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai IC₅₀ < 50 ppm dan nilai AAI > 2.

Perbedaan nilai IC₅₀ pada setiap sampel bisa diakibatkan karena penggunaan pelarut yang berbeda, karena ketidaktepatan penggunaan pelarut dapat merusak aktivitas antioksidan yang ada. Penggunaan pelarut yang sama juga dapat memberikan hasil yang berbeda meskipun partikel dan stabilitas substrat

sampel yang di ekstrak sama (Suryaningrum, 2004). Lemahnya aktivitas antioksidan agar ini kemungkinan disebabkan karena agar masih berbentuk ekstrak kasar, dimana senyawa dalam ekstrak ini masih banyak senyawa lain yang tidak saling berinteraksi yang dapat menurunkan potensi aktivitas antioksidan atau masih adanya komponen lain yang merupakan pengotor.

Agar dengan pelarut perendaman NaOH 10% menghasilkan nilai IC₅₀ paling baik yaitu sebesar 113,1 ppm yang tergolong kekuatan sedang. Hal ini kemungkinan disebabkan masih adanya pigmen dari rumput laut yang ditandai dengan warna kecoklatan pada agar hasil ekstraksi. Hal ini juga bisa disebabkan oleh senyawa lain yang saling berinteraksi sehingga dapat meningkatkan antioksidan agar.

Agar berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang banyak, sehingga mampu mendonorkan proton kepada radikal bebas DPPH yang terdapat pada DPPH. Reaksi dugaan pada agar dan DPPH yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 4.7



Gambar 4.8 Reaksi dugaan antara Agar dan DPPH

Tang *et al.* (2019) menyatakan radikal dapat distabilkan dengan perlindungan sterik. Agar juga mampu membentuk struktur matriks 3 dimensi dan dapat melindungi radikal pada agar untuk berinteraksi dengan senyawa lain. Penambahan agar pada makanan dapat melindungi kandungan antioksidan pada makanan tersebut, karena agar dapat berfungsi sebagai pelapis dari senyawa antioksidan tersebut. Agar memiliki sifat pseudoplastik yang baik dan dapat bertindak sebagai mikroenkapsulan serta meningkatkan gaya adhesi antara dinding dan bahan inti sehingga dapat melindungi senyawa antioksidan saat proses pemanasan atau pemasakan (Febriyanri *et al.*, 2015)

4.7 Hasil Pembahasan Senyawa Agar Alga Merah dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan ciptaan Allah SWT yang sudah banyak diteliti. Salah satu satunya adalah penelitian tentang uji aktivitas antioksidan senyawa

agar rumput laut merah *Gracilaria verrucosa*. Allah SWT seringkali menyeru kepada manusia untuk mempelajari alam dan menyaksikan tanda-tanda yang ada padanya. Semua makhluk hidup dan tak hidup di alam ini dipenuhi dengan kelebihan yang menunjukkan bahwa alam semesta beserta isinya telah diciptakan. Disamping itu, alam juga merupakan pencerminan dari Kemahakuasaan, Ilmu dan Kreasi pencipta-Nya. Hal ini tidak lain adalah bertujuan untuk meningkatkan keimanan manusia dan merupakan salah satu bentuk ibadah kepada Allah SWT yang berupa kepatuhan manusia dalam menjalankan perintah-Nya dengan memikirkan, mengkaji, melakukan penelitian, dan mengamati segala fenomena alam yang menggambarkan akan kebesaran dan kekuasaan Allah SWT. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat Ali ‘Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَفِ الْأَيَّلِ وَالنَّهَارِ لَعَلَيْتَ لَاُولَى الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيمًا وَقُعُودًا وَعَلَى جُنُوبِهِمْ وَيَتَكَبَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا حَلَقْتَ هَذَا بُطِّلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), "Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha suci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka" (Q.S. ali ‘Imran: 190 – 191).

Surat Ali Imran ayat 190 – 191 di atas memerintahkan manusia untuk melihat, merenung, dan mengambil kesimpulan pada tanda-tanda ke-Tuhanan. Pada ayat ini Allah SWT menyebutkan لَعَلَيْتَ لَاُولَى الْأَلْبَابِ “terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.” Inilah salah satu fungsi akal yang diberikan kepada

seluruh manusia, yaitu agar mereka dapat menggunakan akal tersebut merenungi tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Qurthubi, 2009). Ayat tersebut juga menjelaskan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah tidak ada yang sia-sia, yang artinya Allah menciptakan segala sesuatu dengan manfaat yang terkandung di dalamnya. Salah satu tumbuhan ciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

Salah satu manfaat tumbuhan laut yang selama ini banyak dikenal dan dikembangkan adalah manfaatnya sebagai obat. Tumbuhan laut dapat digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit yang diderita oleh manusia sebagai pengganti obat sintetik. Obat kimia telah banyak diketahui mengandung efek samping yang dapat membahayakan kehidupan manusia sehingga kajian tentang potensi tanaman sebagai obat banyak dikembangkan di negara-negara di seluruh dunia termasuk Indonesia. Menjaga kesehatan merupakan salah satu anjuran Islam sebagaimana sabda Rasulullah SAW:

قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: إِغْتَنِمْ حَمْسَا قَبْلَ حَمْسٍ : شَبَابَكَ قَبْلَ هَرِمَكَ وَ صِحَّتَكَ قَبْلَ سَعْمَكَ وَ غِنَاكَ قَبْلَ فَقْرِكَ وَ فَرَاغَكَ قَبْلَ شَغْلَكَ وَ حَيَاةَكَ قَبْلَ مَوْتِكَ

Artinya: “Rasulullah SAW bersabda: Manfaatkanlah lima perkara sebelum lima perkara : jaga masa mudamu sebelum masa tuamu, jaga sehatmu sebelum sakitmu, jaga kayamu sebelum miskinmu, jaga waktu luangmu sebelum sibukmu, dan jaga hidupmu sebelum matimu” (HR. Al-Hakim, hadits ini shahih menurut Bukhari-Muslim, no. 1077).

Salah satu sumber daya laut yang dimiliki Indonesia yang diketahui memiliki potensi sebagai tanaman obat dan belum banyak dimanfaatkan adalah alga (rumput laut). Rumput laut jenis *Gracilaria verrucosa* dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Uji antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode

sonikasi, penggunaan metode sonikasi tidak membutuhkan sedikit pelarut sehingga tidak menghasilkan limbah yang banyak. Selain itu residu pada penelitian ini juga dapat dimanfaatkan sebagai bioetanol maupun biosolar. Hal ini dapat menggantikan peran energi yang tidak terbarukan sehingga dapat meningkatkan kualitas lingkungan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rumput laut *Gracilaria verrucosa* dapat berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan sintetik membuat kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui, oleh karena itu antioksidan alami (dari tumbuhan) menjadi salah satu alternatif yang sangat dibutuhkan. Di Indonesia, terdapat banyak bahan pangan lokal yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami. Namun, kurangnya publikasi membuat hanya sebagian kecil masyarakat yang mengetahui pangan lokal apa saja yang mengandung antioksidan (Ingrid *et al.*, 2014). Seperti halnya senyawa agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang memiliki potensi sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ terbaik sebesar 113,1 ppm, dimana dapat digunakan untuk tujuan yang lebih luas dan pemanfaatan sebagai pengobatan. Petunjuk untuk menggunakan obat yang sesuai telah dianjurkan oleh Rasulullah SAW, sebagaimana sabdanya:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Allah tidak akan menurunkan satu penyakit kecuali Allah turunkan juga obatnya” (HR. Bukhari).

Hadits di atas menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Apabila telah ditemukan obat yang sesuai untuk suatu penyakit, maka orang yang

menderita penyakit tersebut akan sembuh atas izin Allah SWT. Tugas manusia adalah mencari obat yang sesuai untuk penyakit tersebut. Penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan senyawa agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* ini merupakan salah satu bentuk usaha mengamalkan perintah Rasulullah SAW yaitu mencari obat yang sesuai untuk suatu penyakit.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat diketahui bahwa tumbuhan *Gracilaria verrucosa* ternyata menyimpan berbagai manfaat, tidak hanya sebagai bahan makanan, namun agar dari penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan sedang, sehingga dapat diperluas untuk meningkatkan kualitas agar yang baik dan meningkatkan nilai jual dari sesuatu yang biasa menjadi luar biasa dan memiliki manfaat. Hal ini membuktikan sifat Rahman dan Rahim yang dimiliki Allah SWT menunjukkan akan kebenaran ayat-ayat al-Quran yang menjelaskan bahwa apa yang diciptakan oleh Allah SWT di alam semesta ini tidak ada yang sia-sia. Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT baik di laut maupun di darat pasti mengandung manfaat dan jika dikembangkan akan memberikan kemaslahatan bagi kehidupan manusia. Oleh karena itu sebagai manusia hendaknya menjaga dan melestarikan alam sebagai bukti rasa syukur kepada Allah SWT yang telah menciptakan alam semesta dengan segala manfaat untuk kemaslahatan manusia.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil analisis data diperoleh agar perendaman NaOH 10% memiliki perlakuan terbaik dengan nilai rendemen 25,0423%; titik leleh 88 – 90°C; kadar sulfat 3,9140%; kadar abu 19,1000%; kadar air 5,9500%; dan pH 7,62.
2. Agar yang memiliki potensi aktivitas antioksidan tertinggi menggunakan pelarut perendaman NaOH 10% yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 113,1 ppm. Agar hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut perendaman NaOH 3%, NaOH 5%, NaOH 7%, NaOH 10%, KOH 3%, KOH 5%, KOH 7%, dan KOH 10% yang memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 138,2; 125,6; 132,3; 113,1; 182,2; 170,8; 155,4; dan 179,1 ppm. Hal ini berarti agar hasil ekstraksi memiliki potensi aktivitas antioksidan sedang hingga lemah.

5.2 Saran

Penggunaan rumput laut pada saat ekstraksi menggunakan rumput laut segar untuk meminimalisir agar yang ikut terlarut ketika perendaman. Selain itu perlu dilakukan pencucian rumput laut lebih lama untuk menurunkan kadar abu, dan juga dapat dimurnikan kembali pada senyawa agar untuk digunakan sebagai bakto agar untuk pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadiatul, C., & Widayarti, S. (2013). Uji Kemampuan Antioksidan Ekstrak Etanol dan Kloroform Rumput Laut Gracilaria Verrucosa Melalui Penghambatan Peroksidasi Lipid Homogenat Hepar Mencit (Mus Musculus). *Jurnal Biotropika*, 1(6), 252–256.
- Abidin, Z., Rudyanto, M., & Sudjarwo. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Agarosa dari Rumput Laut Gracilaria Verrucosa (Isolation and Characterization of Agarose from Gracilaria verrucosa Seaweeds). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(1), 69–75.
- Al-Nahdi, Z. M., Al-Alawi, A., Al-Marhobi, I., & Al-Zefiti, A. (2015). Optimization Of Yield And Chemical Properties Of Agar Extracted From Melanthamnus Somalensis From Oman Sea. *Journal Of Environmental Science And Engineering B*, 4(6), 302–314. [Https://Doi.Org/10.17265/2162-5263/2015.06.002](https://doi.org/10.17265/2162-5263/2015.06.002)
- Aman, I. G. M. (2017). Makanan Sebagai Sumber Antioksidan. *Bali Health Journal*, 1(1), 49–55.
- Amin, A., Wunas, J., & Amin, Y. M. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (Sterculia Quadrifida R.Br) Dengan Metode Dpph (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl). *Fitofarmaka*, 2(2), 111–114.
- Andiska, P. W., Susanto, A., & Pramesti, R. (2019). Hasil Kandungan Agar Ekstraksi Non-Alkali Gracilaria Sp. Yang Tumbuh Di Lingkungan Berbeda. *Journal Of Marine Research*, 8(4), 387–392. [Https://Doi.Org/10.14710/Jmr.V8i4.24860](https://doi.org/10.14710/jmr.v8i4.24860)
- Anggadiredja, J. T., Zatnika, A., Purwanto, H., & Istini, S. (2006). *Rumput Laut*. Penerbit Swadaya.
- Angkasa, W. ., Purwoto, H., & Anggadireja, J. T. (2011). *Teknik Budidaya Rumput Laut*. [Http://Kenshuseidesu.Tripod.Com/Id49.Html](http://kenshuseidesu.tripod.com/Id49.html)
- Ardianti, A., & Kusnadi, J. (2014). Ekstraksi Antibakteri Dari Daun Berenuk (Crescentia Cujete Linn.) Menggunakan Metode Ultrasonik. *Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 28–35.
- Aslinda, W., & Ahmad, A. (2016). Isolasi Dan Karakterisasi Agarosa Dari Makroalga Merah Euchema Cottonii Untuk Pemisahan Fragmen Dna. *Natural Science: Journal Of Science And Technology*, 5(3), 307–317. [Https://Doi.Org/10.22487/25411969.2016.V5.I3.7214](https://doi.org/10.22487/25411969.2016.V5.I3.7214)

- Barros, F. C. N., Da Silva, D. C., Sombra, V. G., Maciel, J. S., Feitosa, J. P. A., Freitas, A. L. P., & De Paula, R. C. M. (2013). Structural Characterization Of Polysaccharide Obtained From Red Seaweed Gracilaria Caudata (J Agardh). *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 598–603. <Https://Doi.Org/10.1016/J.Carbpol.2012.09.009>
- Budiyati, C.S dan Hargono. 2004. Pengaruh Solven Alkali dalam Pembuatan Karaginan Dari Eucheuma Spinosum dengan Cara Ekstraksi dan Pengendapan. Reaktor. Vol. 8 No. 1. Hal: 33-36.
- Darmawan, M., Santoso, J., Fransiska, D., & Marsella, M. (2020). Pengaruh Praperlakuan Alkali Dan Asam Terhadap Karakteristik Mutu Bakto Agar Dari Rumput Laut Gelidium Sp. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 15(1), 33. <Https://Doi.Org/10.15578/Jpbkp.V15i1.645>
- Distantina, S., Anggraeni, D. R., & Fitri, L. E. (2008). Pengaruh Konsentrasi Dan Jenis Larutan Perendaman Terhadap Kecepatan Ekstraksi Dan Sifat Gel Agar-Agar Dari Rumput Laut Gracilaria Verrucosa. *Jurnal Rekayasa Proses*, 2(1), 11–16.
- Distantina, S., Dyartanti, E., & Artati, E. (2007). Pengaruh Rasio Berat Rumput Laut-Pelarut Terhadap Ekstraksi Agar-Agar. *Ekuilibrium*, 6(2), 53–58.
- Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M. E., Abdelly, C., & Magné, C. (2012). Ultrasound-Assisted Extraction: Effect Of Extraction Time And Solvent Power On The Levels Of Polyphenols And Antioxidant Activity Of Mesembryanthemum Edule L. Aizoaceae Shoots. *Tropical Journal Of Pharmaceutical Research*, 11(2), 243–249. <Https://Doi.Org/10.4314/Tjpr.V11i2.10>
- Fasya, A. G., Purwantoro, B., Ulya, L. H., & Ahmad, M. (2020). Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis Dari Fraksi N-Heksana Hydrilla Verticillata. *Journal Of Chemistry*, 1(1), 23–34. <Https://Jurnal.Unimus.Ac.Id/Index.Php/Jsm/Article/View/5226>
- Firdaus, M. (2013). Indeks Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Coklat (Sargassum Aquifolium). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(1), 42–47. <Https://Doi.Org/10.17844/Jphpi.V16i1.8114>
- Freile-Pelegrín, Y., Madera-Santana, T., Robledo, D., Veleva, L., Quintana, P., & Azamar, J. A. (2007). Degradation Of Agar Films In A Humid Tropical Climate: Thermal, Mechanical, Morphological And Structural Changes. *Polymer Degradation And Stability*, 92(2), 244–252. <Https://Doi.Org/10.1016/J.Polymdegradstab.2006.11.005>

- Hakim, A. R., Wibowo, S., Arfini, F., & Peranganangin, R. (2011). Pengaruh Perbandingan Air Pengekstrak, Suhu Presipitasi, Dan Konsentrasi Kalium Klorida (Kcl) Terhadap Mutu Karaginan. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 6(1), 1–11. <Https://Doi.Org/10.15578/Jpbkp.V6i1.90>
- Handayani, T. (2014). Rumput Laut Sebagai Sumber Polisakarida Bioaktif. *Oseana*, XXXIX(2), 1–11.
- Harismah, K., Hidayati, N., Three, A., Latifah, W., & Fuadi, A. M. (2016). Uji Antioksidan Agar-Agar Ubi Jalar Kuning Aroma Cinnamon Dan Pemanis Alami Non Kalori Stevia (S Tevia Rebaudiana). *The 3rd University Research Colloquium*, 570–584.
- Hayati, E. K., Ningsih, R., & Latifah. (2015). Antioxidant Activity Of Flavonoid From Rhizome Kaemferia Galanga L. Extract Extract. *Alchemy: Journal Of Chemistry*, 4(2), 127–137. <Http://Id.Portalgaruda.Org/?Ref=Browse&Mod=Viewarticle&Article=371862>
- Herawati, H. (2018). Potensi Hidrokoloid Sebagai Bahan Tambahan Pada Produk Pangan Dan Nonpangan Bermutu. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 37(1), 17–25. <Https://Doi.Org/10.21082/Jp3.V37n1.2018.P17-25>
- Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011). Bioactive Compounds In Seaweed: Functional Food Applications And Legislation. *Journal Of Applied Phycology*, 23(3), 543–597. <Https://Doi.Org/10.1007/S10811-010-9632-5>
- Ikhrar, M. S., Yudistira, A., & Wewengkang, D. S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Stylissa Sp. Dengan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). *Pharmacon*, 8(4), 961. <Https://Doi.Org/10.35799/Pha.8.2019.29376>
- Inayah, N., & Masruri, M. (2021). Free-Radical Scavenging Activity (Frsa) Of Secondary Metabolite Extracted From Indonesian Eucheuma Spinosum. *Alchemy*, 9(1), 1–6. <Https://Doi.Org/10.18860/AI.V9i1.10970>
- Insan, A. I., & Widjartini, D. S. (2012). Peningkatan Kualitas Produk “Agar” Rumput Laut Gracilaria Gigas Dengan Penambahan Iota Karaginan Melalui Pemanasan Model “Smog Steam.” *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 10(2), 157–167.
- Jamilah, L. (2013). *Pemanfaatan Rumput Laut Gracilaria Verrucosa Sebagai Produk Bakto Agar Dan Aplikasinya Dalam Media Pertumbuhan Mikroorganisme*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Jaya, A., Sumarni, N. K., & Ridhay, A. (2019). Ekstraksi Dan Karakterisasi Karagenan Kasar Rumput Laut Eucheuma Cottoni. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 5(2), 146–154. <Https://Doi.Org/10.22487/Kovalen.2019.V5.I2.11598>

- Kroschwitz, J. (1990). Polymer Characterization And Analysis. In *Inc. Canada.*
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use Of Different Methods For Testing Antioxidative Activity Of Oregano Essential Oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633–640. <Https://Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2003.07.024>
- Kumesan, E. C., Pandey, E. V., & Lohoo, H. J. (2017). Analisa Total Bakteri, Kadar Air Dan Ph Pada Rumput Laut (*Kappaphycus Alvarezii*) Dengan Dua Metode Pengeringan. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 5(1), 30. <Https://Doi.Org/10.35800/Mthp.5.1.2017.14911>
- Kusuma, W. I., Santosa, G. W., & Pramesti, R. (2013). Pengaruh Konsentrasi Naoh Yang Berbeda Terhadap Mutu Agar Rumput Laut *Gracilaria Verrucosa*. *Journal Of Marine Research*, 2(2), 120–129.
- Laila, F. N., & Savitri, E. S. (2014). Produksi Metabolit Sekunder Steviosida Pada Kultur Kalus Stevia (Stevia Rebaudiana Bert. M.) Dengan Penambahan Zpt 2,4-D Dan Peg (Polyethylene Glykol) 6000 Pada Media Ms (Murashige & Skoog). *El-Hayah*, 4(2), 57. <Https://Doi.Org/10.18860/Elha.V4i2.2627>
- Lau, S. H. A., & Wuru, A. F. (2018). Identifikasi Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Paliasa (*Melochiaumbellata* (Houtt) Stapf) Dari Desa Renggarasi Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (Klt). *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 4(7), 29–33.
- Lee, W. K., Lim, P. E., Phang, S. M., Namasivayam, P., & Ho, C. L. (2016). Agar Properties Of *Gracilaria* Species (Gracilariaeae, Rhodophyta) Collected From Different Natural Habitats In Malaysia. *Regional Studies In Marine Science*, 7, 123–128. <Https://Doi.Org/10.1016/J.Rsma.2016.06.001>
- Liu, Q. M., Yang, X. M., Zhang, L., & Majetich, G. (2010). Optimization Of Ultrasonic-Assisted Extraction Of Chlorogenic Acid From Folium Eucommiae And Evaluation Of Its Antioxidant Activity. *Journal Of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2503–2511.
- Loretha, S. N., Haryono, S., & Budhi, P. (2012). Ubi Jalar Biru Papua Sebagai Sumber Antioksidan. *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi Fkip Uns*, 1–5.
- Madusari, B. M., & Wibowo, D. E. (2018). Potensi Dan Peluang Produk Halal Berbasis Rumput Laut. *Indonesia Journal Of Halal*, 1(1), 53. <Https://Doi.Org/10.14710/Halal.V1i1.3112>
- Martinah, S., Sutamihardja, R., & Sugiarti, L. (2014). Optimasi Perlakuan Polyethylene Glikol (Peg) 6000 Terhadap Isolasi Agarose Rumput Laut *Gracilaria* Sp. *Jurnal Sains Natural*, 4(2), 115–128.

[Https://Doi.Org/10.31938/Jsn.V4i2.83](https://doi.org/10.31938/jsn.v4i2.83)

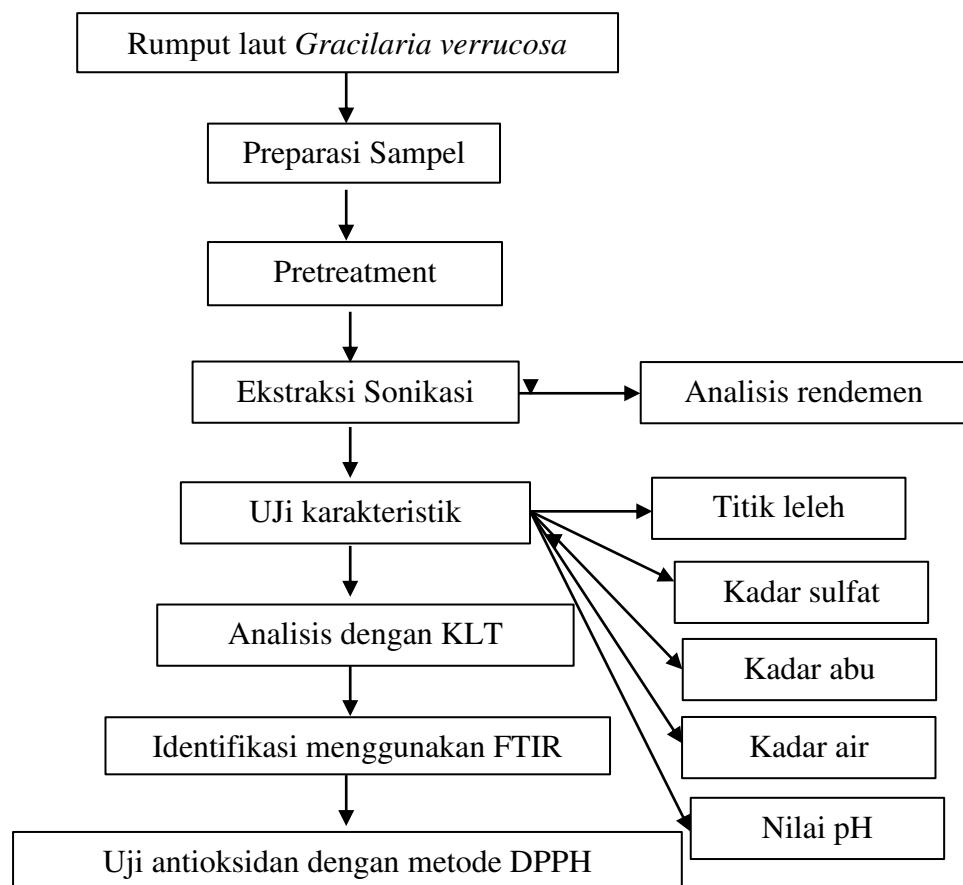
- Maulini, R. S. (2018). *Ekstraksi Dan Analisis Agar-Agar Dari Rumput Laut Gracilaria Sp. Menggunakan Asam Jawa*. Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
- Mulyandia, W. T. (2021). *Hewan Laut Dalam Al-Qur'an Dan Manfaatnya Terhadap Kesehatan (Kajian Ijaz Ilmi)*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.
- Musfiroh, E., & Syarief, S. H. (2012). Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Nanopartikel Emas Dengan Berbagai Konsentrasi Sebagai Material Antiaging Dalam Kosmetik. *Unesa Journal Of Chemistry*, 1(2), 18–25.
- Nasrulloh, A., Pramesti, R., & Santosa, G. W. (2021). Perbedaan Naoh Terhadap Kualitas Gracilaria Verrucosa, Greville, 1830 (Florideophyceae : Gracilariaeae). *Journal Of Marine Research*, 10(1), 97–101. [Https://Doi.Org/10.14710/Jmr.V10i1.28541](https://doi.org/10.14710/jmr.v10i1.28541)
- Nurjanah, Jacoeb, A. M., Bastari, E., & Seulalae, A. V. (2020). Karakteristik Bubur Rumput Laut Gracilaria Verrucosa Dan Turbinaria Cono Sebagai Bahan Baku Body Lotion. *Jurnal Akuatek*, 1(2), 73–83.
- Pertiwi, M., Atma, Y., Mustopa, A., & Maisarah, R. (2018). Karakteristik Fisik Dan Kimia Gelatin Dari Tulang Ikan Patin Dengan Pre-Treatment Asam Sitrat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 7(2), 83–91. [Https://Doi.Org/10.17728/Jatp.2470](https://doi.org/10.17728/jatp.2470)
- Rahmawati, Muflihunna, A., & Sarif, L. M. (2016). Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) Dengan Metode Dpph. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 97–101. [Https://Doi.Org/10.33096/Jffi.V2i2.177](https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.177)
- Riskianto, Kamal, S. E., & Aris, M. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam.*) Terhadap Dpph. *Jurnal Pro-Life*, 8(2), 168–177.
- Robiyanto, Kusuma, R., & Untari, E. K. (2018). Potensi Antelmintik Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera Indica L.*) Pada Cacing *Ascaridia Galli* Dan *Raillietina Tetragona* Secara In Vitro. *Pharmaceutical Sciences And Research*, 5(2), 81–89. [Https://Doi.Org/10.7454/Psr.V5i2.4016](https://doi.org/10.7454/psr.v5i2.4016)
- Rukmi, A. S., Sunaryo, & Djunaedi, A. (2012). Sistem Budidaya Rumput Laut Gracilaria Verrucosa Di Pertambakan Dengan Perbedaan Waktu Perendaman Di Dalam Larutan Npk. *Diponegoro Journal Of Marine Research*, 1(1), 90–94. [Https://Doi.Org/10.14710/Jmr.V1i1.892](https://doi.org/10.14710/jmr.v1i1.892)

- Santika, L. G., Ma'ruf, W. F., & Romadhon. (2014). Karakteristik Agar Rumput Laut Gracilaria Verrucosa Budidaya Tambak Dengan Perlakuan Konsentrasi Alkali Pada Umur Panen Yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), 98–105.
- Sasongko, A., & Legahati, N. (2020). Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat Dan Daya Ultrasonik (Uaah). *Snitt*, 395–400.
- Sastrawan, I. N., Sangi, M., & Kamu, V. (2013). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum Vulgare*) Menggunakan Metode Dpph. *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2), 110. <Https://Doi.Org/10.35799/Jis.13.2.2013.3054>
- Savitri, I., Suhendra, L., & Wartini, N. M. (2017). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Metode Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Srgassum Polycystum. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 93–101.
- Setiabudi, A., Pringgenies, D., & Ridlo, A. (2020). Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dpph Dan Daya Reduksi Ekstrak Gracilaria Verrucosa. *Jrst (Jurnal Riset Sains Dan Teknologi)*, 4(2), 47. <Https://Doi.Org/10.30595/Jrst.V4i2.5761>
- Siswanti, H. W. (2017). Karakteristik Mutu Agar Media Dari Rumput Laut *Gelidium Sp.* Yang Diadsorpsi Oleh Kitosan [Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta]. In *Repository.Uinjkt.Ac.Id*. <Http://Repository.Uinjkt.Ac.Id/Dspace/Handle/123456789/47845>
- Sulistyani, M. (2018). Spektroskopi Fourier Transform Infra Red Metode Reflektansi (Atr-Ftir) Pada Optimasi Pengukuran Spektrum Vibrasi Vitamin C. *Jurnal Temapela*, 1(2), 39–43. <Https://Doi.Org/10.25077/Temapela.1.2.39-43.2018>
- Suryelita, Etika, S. B., & Kurnia, N. S. (2017). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Daun Cemara Natal (*Cupressus Funebris Endl.*). *Eksakta*, 18(1), 86–94. Http://Clpsy.Journals.Pnu.Ac.Ir/Article_3887.Html
- Tsaqif Ibrahim, F., Fadli, Z., & Rina Bintari, Y. (2020). Pengaruh Metode Ekstraksi (Dekoktasi, Infudasi, Dan Microwave) Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Rumput Laut Gracilaria Verrucosa. *Knalstech*. <Http://Jos.Unsoed.Ac.Id/Index.Php/Api/Article/View/2433>
- Uju, Santoso, J., Ramadhan, W., & Abrory, M. F. (2018). Ekstraksi Native Agar Dari Rumput Laut Gracilaria Sp. Dengan Akselerasi Ultrasonikasi Pada Suhu Rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 414–422. <Https://Journal.Ipb.Ac.Id/Index.Php/Jphpi/Article/View/24711>
- Villanueva, R. D., Sousa, A. M. M., Gonçalves, M. P., Nilsson, M., & Hilliou, L. (2010). Production And Properties Of Agar From The Invasive Marine

- Alga, *Gracilaria Vermiculophylla* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal Of Applied Phycology*, 22(2), 211–220. [Https://Doi.Org/10.1007/S10811-009-9444-7](https://doi.org/10.1007/S10811-009-9444-7)
- Waluyo, Permadi, A., Fanni, N. A., & Soedrijanto, A. (2019). Analisis Kualitas Rumphut Laut *Gracilaria Verrucosa* Di Tambak Kabupaten Karawang, Jawa Barat Qua. *Jurnal Grouper*, 10(1), 32–41.
- Winarno, F. G. (1996). *Teknologi Pengolahan Rumphut Laut* (P. Hal. 68). Pustaka Sinar Harapan.
- Xu, X. Q., Su, B. M., Xie, J. S., Li, R. K., Yang, J., Lin, J., & Ye, X. Y. (2017). Preparation Of Bioactive Neoagaroligosaccharides Through Hydrolysis Of *Gracilaria Lemaneiformis* Agar: A Comparative Study. *Food Chemistry*, 330–337. [Https://Doi.Org/10.1016/J.Foodchem.2017.07.036](https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2017.07.036)
- Yarnpakdee, S., Benjakul, S., & Kingwascharapong, P. (2015). Physico-Chemical And Gel Properties Of Agar From *Gracilaria Tenuistipitata* From The Lake Of Songkhla, Thailand. *Food Hydrocolloids*, 51, 217–226. [Https://Doi.Org/10.1016/J.Foodhyd.2015.05.004](https://doi.org/10.1016/J.Foodhyd.2015.05.004)
- Yolanda, N. T., & Agustono, A. (2018). Extraction Process And Physics Chemical Characterization Of Agar Powders From *Gracilaria* Sp. Laboratory Scale In Pt. Java Biocolloid Surabaya. *Journal Of Marine And Coastal Science*, 7(3), 127–138. [Https://Doi.Org/10.20473/Jmcs.V7i3.20740](https://doi.org/10.20473/Jmcs.V7i3.20740)
- Yuan, S., Wu, K., Duan, Z., Huang, Y., Lu, Y., & Ma, X. (2019). A Sustainable Process For The Recovery Of Volatile Constituents From *Gracilaria Lemaneiformis* In Agar Production And Evaluation Of Their Antioxidant Activities. *Bmc Chemistry*, 13(3), 1–7. [Https://Doi.Org/10.1186/S13065-019-0590-Y](https://doi.org/10.1186/S13065-019-0590-Y)
- Yuliani, N., Maulinda, N., & Sutamihardja, R. (2012). Analisis Proksimat Dan Kekuatan Gel Agar – Agar Dari Rumphut Laut Kering Pada Beberapa Pasar Tradisional. *Jurnal Sains Natural*, 2(2), 101–105. [Https://Doi.Org/10.31938/Jsn.V2i2.40](https://doi.org/10.31938/Jsn.V2i2.40)
- Zhang, Y., Fu, X., Duan, D., Xu, J., & Gao, X. (2019). Preparation And Characterization Of Agar, Agarose, And Agarpectin From The Red Alga *Ahnfeltia Plicata*. *Journal Of Oceanology And Limnology*, 37(3), 815–824. [Https://Doi.Org/10.1007/S00343-019-8129-6](https://doi.org/10.1007/S00343-019-8129-6)
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) Dengan Metode Pereaksi Geser. *Al-Kimiya*, 2(1), 9–17. [Https://Doi.Org/10.15575/Ak.V2i1.346](https://doi.org/10.15575/Ak.V2i1.346)

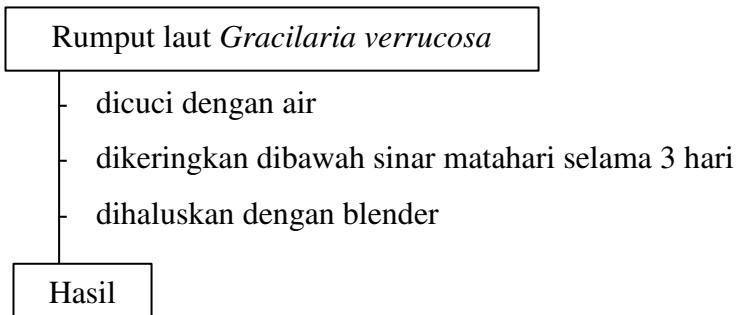
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

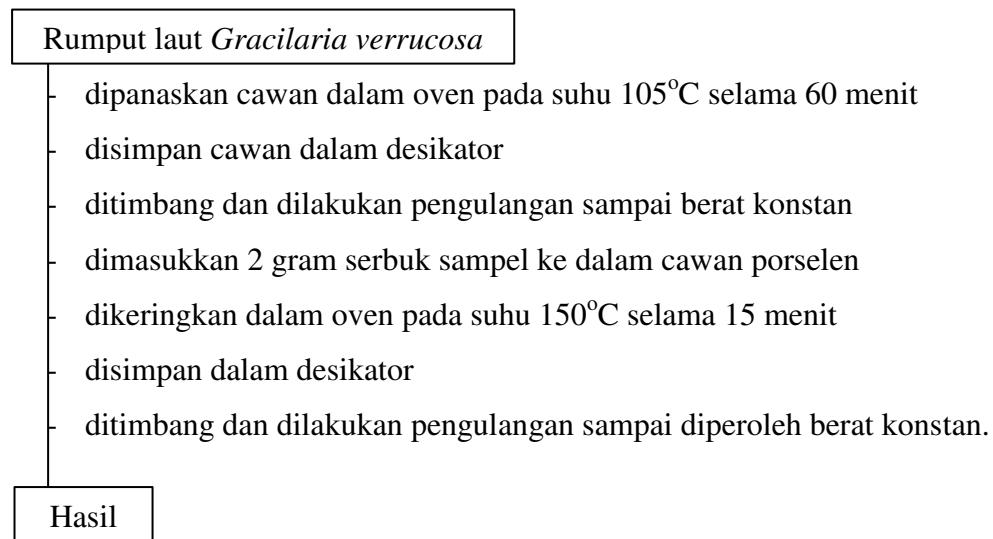


Lampiran 2. Diagram Alir

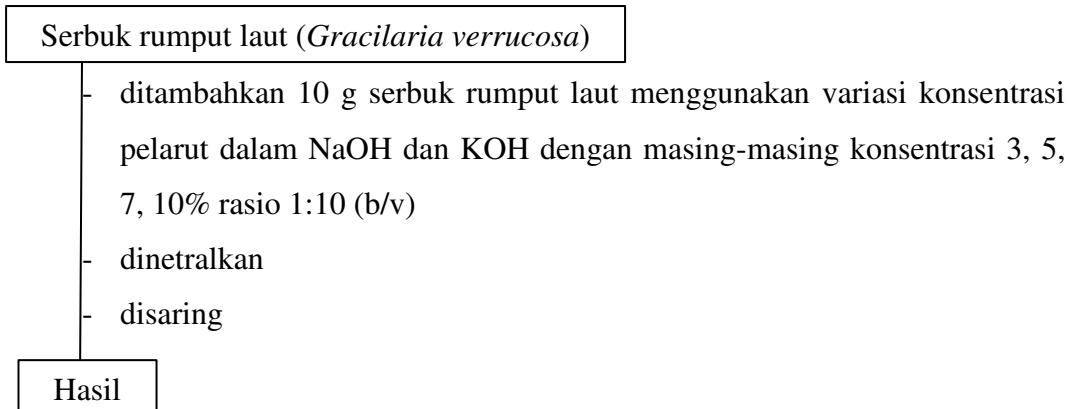
L 2.1 Preparasi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*



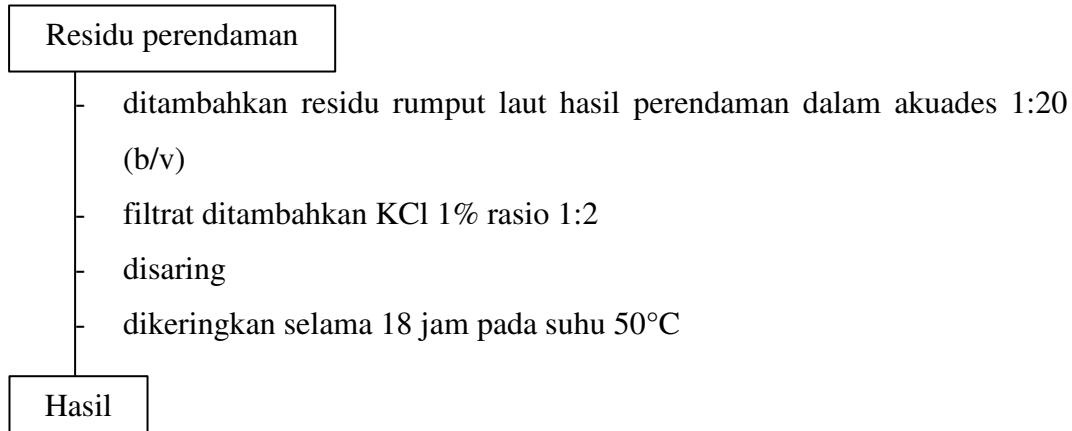
L 2.2 Pengukuran Kadar Air *Gracilaria verrucosa*



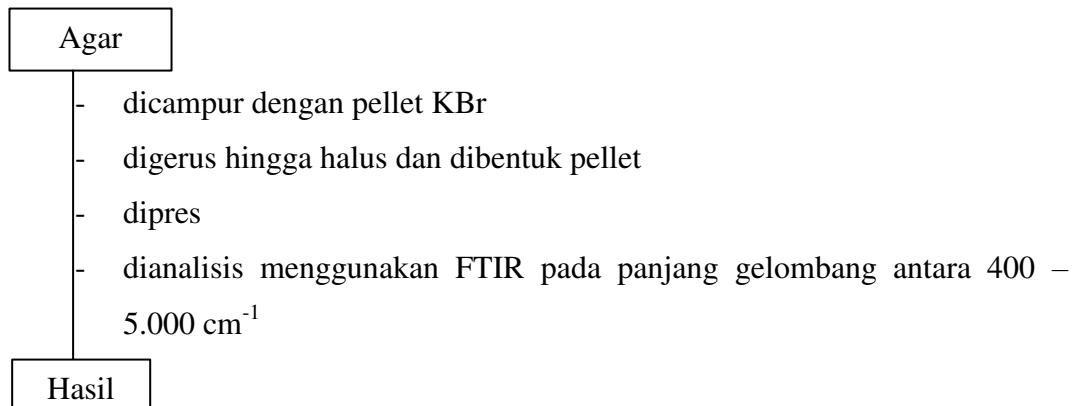
L 2.3 Perendaman Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*



L 2.4 Ekstraksi Agar dengan Metode Sonikasi

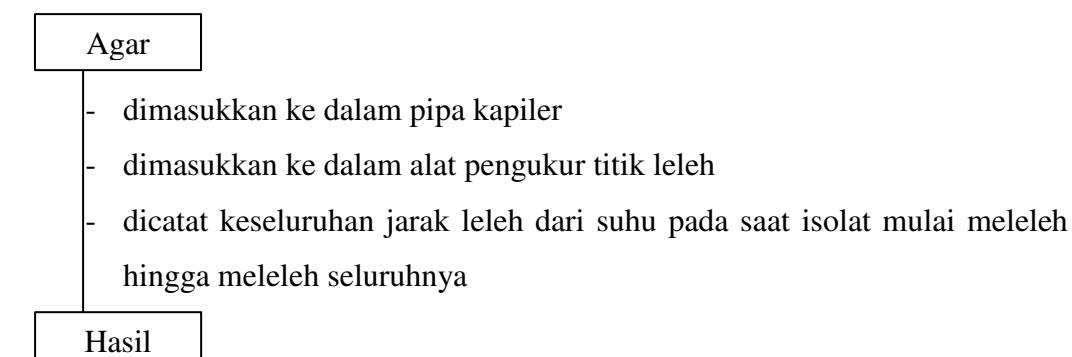


L 2.5 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR

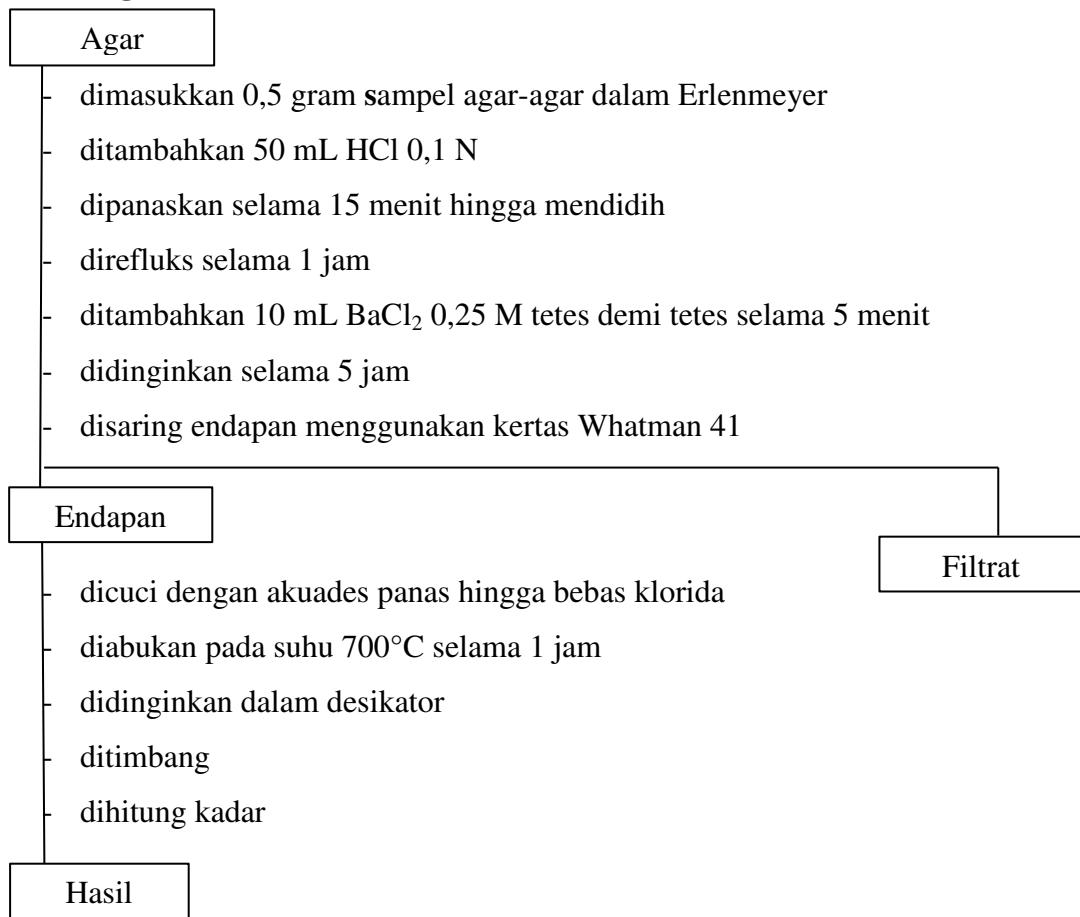


L 2.6 Uji Karakteristik agar

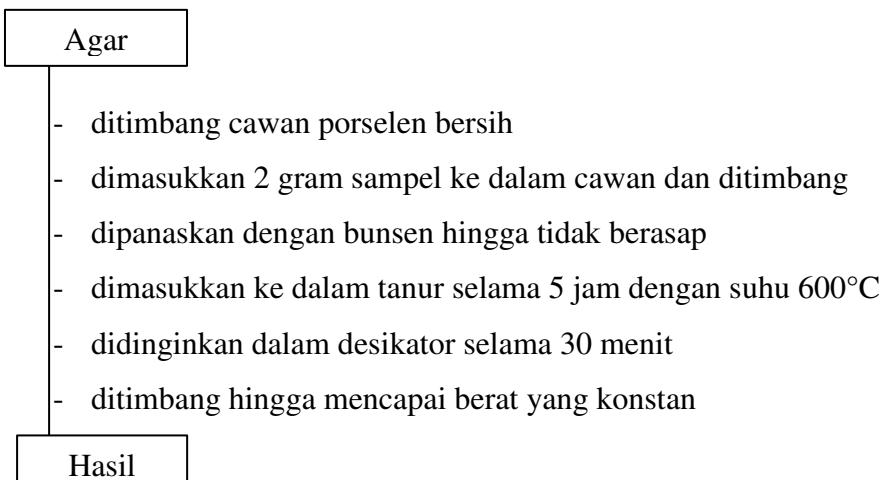
L 2.6.1 Uji Titik Leleh



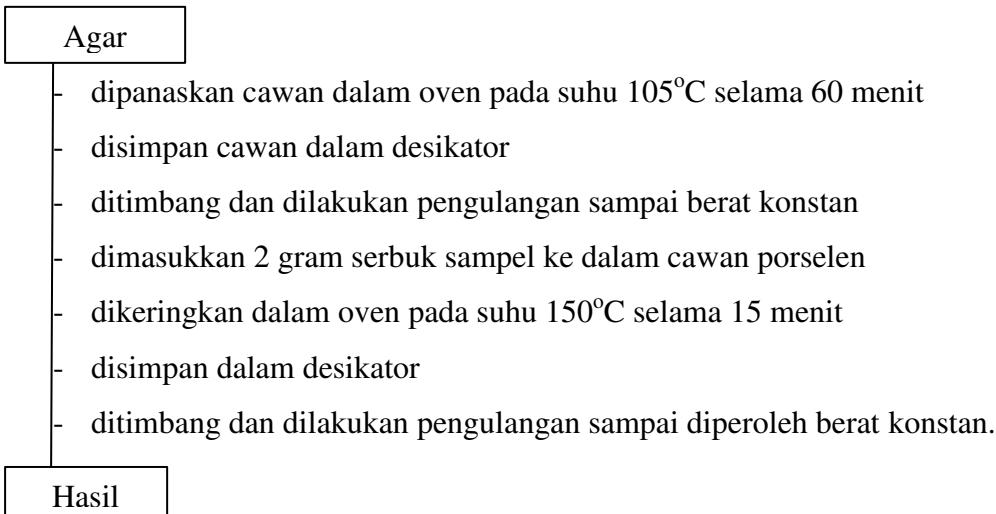
L 2.6.2 Pengukuran Kadar Sulfat



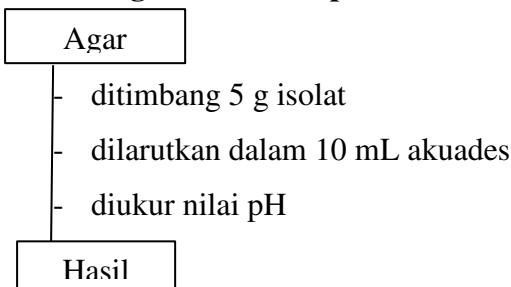
L 2.6.3 Pengukuran Kadar Abu



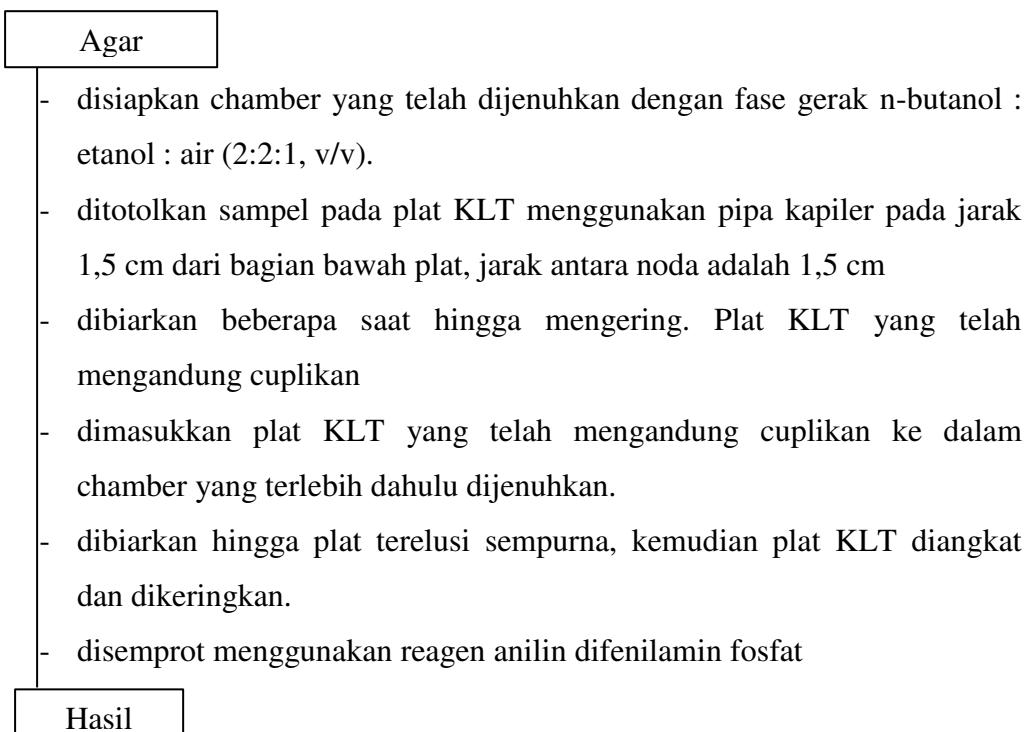
L 2.6.4 Pengukuran Kadar Air



L 2.6.5 Pengukuran Nilai pH



L 2.7 Analisis Agar dengan KLT



L 2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Agar

L 2.7.1 Pembuatan Stok Larutan *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH)

DPPH

- ditimbang sebanyak 4 mg DPPH kemudian dilarutkan dengan larutan etanol p.a
- dimasukkan ke dalam labu ukur hingga mencapai volume sebanyak 50 mL
- dikocok hingga keduanya homogen
- dilapisi labu ukur dengan menggunakan alumunium foil sehingga menghasilkan larutan DPPH yang siap untuk digunakan

Hasil

L 2.7.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil sebanyak 1,5 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambah 4,5 mL etanol
- dihomogenkan menggunakan vortex
- dimasukkan ke dalam kuvet
- diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil

L 2.7.3 Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0,2 mM

- dipipet 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan etanol p.a sebanyak 4,5 mL dan ditutup dengan alumunium foil
- dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu kestabilan yang telah diperoleh
- dimasukkan ke dalam kuvet
- diukur absorbansinya menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diperoleh

Hasil

L 2.7.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Agar**Agar**

- ditimbang sebanyak 10 mg
 - dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm (larutan induk)
 - dibuat konsentrasi 100, 250, 500, 750 dan 1000 ppm
 - disiapkan tiga tabung reaksi untuk masing-masing ekstrak
 - diisi dengan 4,5 mL ekstrak
 - ditambahkan 1,5 mL DPPH
 - diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah diperoleh
 - diukur absorbansinya menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diperoleh
 - dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidan
- Hasil

L 2.7.5 Pembuatan Larutan Kontrol Positif Vitamin C**Vitamin C**

- dilarutkan 5 mg serbuk vitamin C dengan 50 mL etanol p.a dalam labu ukur 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm (larutan induk)
- Dibuat konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 ppm

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L 3.1 Pembuatan NaOH dan KOH 3%

%(b/v) Alkali = 3%

$$V = 100 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \%(b/v) \text{ Alkali } 3\% &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{\text{Volume campuran}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{100 \text{ mL}} \times 100\% \\ \text{Massa alkali} &= \frac{3 \times 100}{100} \\ &= 3 \text{ gram} \end{aligned}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah ditimbang NaOH dan KOH sebanyak 3 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah akuades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L 3.2 Pembuatan NaOH dan KOH 5%

%(b/v) Alkali = 5%

$$V = 100 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \%(b/v) \text{ Alkali } 5\% &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{\text{Volume campuran}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{100 \text{ mL}} \times 100\% \\ \text{Massa alkali} &= \frac{5 \times 100}{100} \\ &= 5 \text{ gram} \end{aligned}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah ditimbang NaOH dan KOH sebanyak 5 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah akuades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L 3.3 Pembuatan NaOH dan KOH 7%

%(b/v) Alkali = 7%

$$V = 100 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \%(b/v) \text{ Alkali } 7\% &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{\text{Volume campuran}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{100 \text{ mL}} \times 100\% \\ \text{Massa alkali} &= \frac{7 \times 100}{100} \\ &= 7 \text{ gram} \end{aligned}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah ditimbang NaOH dan KOH sebanyak 7 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah akuades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L 3.4 Pembuatan NaOH dan KOH 10%

% (b/v) Alkali = 10%

$$V = 100 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \%(\text{b/v}) \text{ Alkali } 10\% &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{\text{Volume campuran}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{100 \text{ mL}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa alkali} &= \frac{10 \times 100}{100} \\ &= 10 \text{ gram} \end{aligned}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah ditimbang NaOH dan KOH sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L. 3.5 Pembuatan KCl 1%

% (b/v) KCl = 1%

$$V = 100 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \%(\text{b/v}) \text{ KCl } 1\% &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{\text{Volume campuran}} \times 100\% \\ &= \frac{\text{Massa dalam campuran}}{100 \text{ mL}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa KCl} &= \frac{1 \times 100}{100} \\ &= 1 \text{ gram} \end{aligned}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah ditimbang KCl sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambah aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen

L 3.6 Pembuatan HCl 0,1 N

$$N_2 \text{ HCl} = 0,1 \text{ N}$$

$$V_2 = 100 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} N_1 \text{ HCl Pekat} &= \frac{10 \times (\text{berat jenis}) \times \text{valensi}}{BM} \\ &= \frac{10 \times 37\% \times 1,19}{36,5} \end{aligned}$$

$$N_1 = 12,06 \text{ N}$$

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

$$12,06 \text{ N} \times V_1 = 0,1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,83 \text{ mL}$$

Diambil HCl 37% (pekat) sebanyak 0,83 mL dan dilarutkan dengan aquades pada labu ukur 100 mL hingga volume mencapai tanda batas.

L 3.7 Pembuatan BaCl₂ 0,25M

$$0,1 \text{ M} = \frac{a}{208,23} \times \frac{1000}{100}$$

$$a = 2,0823 \text{ mg}$$

Ditimbang BaCl₂ sebanyak 2,0823 mg dan dilarutkan dengan aquades hingga volume mencapai tanda batas.

L 3.9 Perhitungan dalam Uji Aktivitas Antioksidan

L 3.9.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

$$0,2 \text{ mM} = \frac{mg}{mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$0,2 \text{ mM} = \frac{a}{394,32} \times \frac{1000}{50}$$

$$a = 3,94 \text{ mg}$$

Ditimbang DPPH sebanyak 4 mg dan dilarutkan dengan etanol *p.a* hingga volume mencapai tanda batas.

L 3.9.2 Pembuatan Larutan Induk Sampel 2.000 ppm

Konsentrasi 1 ppm = 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$2.000 \text{ ppm} = \frac{\text{berat} (\mu\text{g})}{10 \text{ mL}}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= 10 \text{ mL} \times 2.000 \text{ ppm} \\ &= 20.000 \mu\text{g} \\ &= 20 \text{ mg} \end{aligned}$$

Sampel ditimbang 20 mg, lalu dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL.

L 3.9.3 Pembuatan Larutan Induk Vitamin C

Konsentrasi 1 ppm = 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$10 \text{ ppm} = \frac{\text{berat} (\mu\text{g})}{50 \text{ mL}}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= 50 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm} \\ &= 500 \mu\text{g} \\ &= 0,5 \text{ mg} \end{aligned}$$

Vitamin C ditimbang sebanyak 0,55 mg dan dilarutkan dengan etanol *p.a* dalam labu ukur 50 mL.

L 3.9.4 Perhitungan Larutan Uji Konsentrasi 100, 250, 500, 750, 1000 pp,

1. Konsentrasi 100 ppm

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

$$2.000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ mL} \quad (\text{Jumlah yang dipipet dari larutan induk } 2.000 \text{ ppm})$$

2. Konsentrasi 200 ppm

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

$$2.000 \text{ ppm} \times V_1 = 250 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,625 \text{ mL} \quad (\text{Jumlah yang dipipet dari larutan induk } 2.000 \text{ ppm})$$

3. Konsentrasi 500 ppm

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

$$2.000 \text{ ppm} \times V_1 = 500 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ mL} \quad (\text{Jumlah yang dipipet dari larutan induk } 2.000 \text{ ppm})$$

4. Konsentrasi 700 ppm

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

$$2.000 \text{ ppm} \times V_1 = 700 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 1,75 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 2.000 ppm)

5. Konsentrasi 1.000 ppm

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

$$2.000 \text{ ppm} \times V_1 = 1.000 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 2,5 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 2.000 ppm)

3.9.5 Perhitungan Larutan Kontrol Positif Vitamin C (1, 2, 3, 4, 5 ppm)

1. Konsentrasi 1 ppm

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

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 0,5 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 10 ppm)

2. Konsentrasi 2 ppm

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

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 1 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 10 ppm)

3. Konsentrasi 3 ppm

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

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 3 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 1,5 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 10 ppm)

4. Konsentrasi 4 ppm

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

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 4 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 2 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 10 ppm)

5. Konsentrasi 5 ppm

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

$$10 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$V_1 = 2,5 \text{ mL}$ (Jumlah yang dipipet dari larutan induk 10 ppm).

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air Sampel

L 4.1 Data Penentuan Kadar Air Sampel

L 4.1.1 Data Berat Cawan Kosong

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Cawan 1	51,9530	51,9523	51,9520	51,9518	51,9517
Cawan 2	39,5940	39,5937	39,5935	39,5934	39,5934
Cawan 3	43,2327	43,2312	43,2319	43,2317	43,2316

Berat cawan kosong pada berat konstan ditambahkan 0,5 gram serbuk rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

L 4.1.2 Data Berat Cawan + Sampel

Ulangan Cawan	Berat Cawan + Sampel (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Cawan 1	52,4508	52,3978	52,3976	52,3973	52,3971
Cawan 2	40,0933	40,0385	40,0378	40,0378	40,0378
Cawan 3	43,7315	43,6773	43,6769	43,6768	43,6768

L 4.2 Perhitungan Kadar Air

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

Keterangan : a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dioven

c = berat cawan + sampel setelah dioven

L 4.2.1 Kadar Air pada Cawan 1

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{52,4508 - 52,3971}{52,4508 - 51,9517} \times 100\% \\ &= 10,7660\%\end{aligned}$$

L 4.2.2 Kadar Air pada Cawan 2

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{40,0933 - 40,0378}{40,0933 - 39,5934} \times 100\% \\ &= 11,1015\%\end{aligned}$$

L 4.2.3 Kadar Air pada Cawan 3

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{43,7315 - 43,6768}{43,7315 - 43,2316} \times 100\% \\ &= 10,9481\%\end{aligned}$$

- Rata-rata kadar air = Cawan 1 + Cawan 2 + Cawan 3

$$\begin{aligned}&= 10,7660\% + 11,1015\% + 10,9481\% \\ &= 10,9385\%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

Lampiran 5.1 Perhitungan Rendemen

1. NaOH 3%

- Ulangan 1

Rendemen

$$\begin{aligned}&= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(13,7808 - 12,4484)}{10} \times 100\% \\ &= 13,3240\%\end{aligned}$$

- Ulangan 2

Rendemen

$$\begin{aligned}&= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(10,8830 - 9,4132)}{10} \times 100\% \\ &= 14,6980\%\end{aligned}$$

- Ulangan 3

Rendemen

$$\begin{aligned}&= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(11,0801 - 9,7197)}{10} \times 100\% \\ &= 13,6040\%\end{aligned}$$

- Rata-rata

$$\begin{aligned}&= \text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3} \\ &= 13,3240\% + 14,6980\% + 13,6040\% \\ &= 13,8755\%\end{aligned}$$

2. NaOH 5%

- Ulangan 1

Rendemen

$$\begin{aligned}&= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(12,4561 - 10,6744)}{10} \times 100\% \\ &= 17,8170\%\end{aligned}$$

- Ulangan 2

Rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{(11,4679 - 9,9133)}{10} \times 100\% \\
 &= 16,0950\%
 \end{aligned}$$

- Ulangan 3

Rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{(11,7564 - 9,9133)}{10} \times 100\% \\
 &= 18,4310\%
 \end{aligned}$$

- Rata-rata

$$\begin{aligned}
 &= \text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3} \\
 &= 17,8170\% + 16,0950\% + 18,4310\% \\
 &= 17,4477\%
 \end{aligned}$$

3. NaOH 7%

- Ulangan 1

Rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{(10,6515 - 8,6937)}{10} \times 100\% \\
 &= 19,5780\%
 \end{aligned}$$

- Ulangan 2

Rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{(12,0153 - 10,0200)}{10} \times 100\% \\
 &= 19,9530\%
 \end{aligned}$$

- Ulangan 3

Rendemen

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{(12,2995 - 10,3587)}{10} \times 100\% \\
 &= 19,4080\%
 \end{aligned}$$

- Rata-rata

$$\begin{aligned}
 &= \text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3} \\
 &= 19,5780\% + 19,9530\% + 19,4080\% \\
 &= 19,6463\%
 \end{aligned}$$

4. NaOH 10%

- Ulangan 1

Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ = \frac{(12,2703 - 9,7987)}{10} \times 100\% \\ = 25,4650\%$$

- Ulangan 2

Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ = \frac{(12,1808 - 9,7987)}{10} \times 100\% \\ = 23,8210\%$$

- Ulangan 3

Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ = \frac{(12,3143 - 9,6222)}{10} \times 100\% \\ = 26,9210\%$$

- Rata-rata

$$= \text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3} \\ = 25,4650\% + 23,8210\% + 26,9210\% \\ = 25,4023\%$$

5. KOH 3%

- Ulangan 1

Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ = \frac{(11,2057 - 10,1538)}{10} \times 100\% \\ = 10,5190\%$$

- Ulangan 2

Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ = \frac{(11,5033 - 10,4672)}{10} \times 100\% \\ = 10,3610\%$$

- Ulangan 3

Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ = \frac{(10,9727 - 10,0190)}{10} \times 100\% \\ = 9,5390\%$$

- Rata-rata $= \frac{\text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3}}{3}$
 $= \frac{10,5190\% + 10,3610\% + 9,5390\%}{3}$
 $= 10,1397\%$

- 6. KOH 5%
- Ulangan 1
 Rendemen $= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$
 $= \frac{(11,5815 - 10,1295)}{10} \times 100\%$
 $= 14,5200\%$
- Ulangan 2
 Rendemen $= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$
 $= \frac{(10,2656 - 9,0342)}{10} \times 100\%$
 $= 12,3140\%$
- Ulangan 3
 Rendemen $= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$
 $= \frac{(10,4217 - 9,1951)}{10} \times 100\%$
 $= 12,2660\%$
- Rata-rata $= \frac{\text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3}}{3}$
 $= \frac{14,5200\% + 12,3140\% + 12,2660\%}{3}$
 $= 13,0333\%$

- 7. KOH 7%
- Ulangan 1
 Rendemen $= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$
 $= \frac{(10,8165 - 9,2752)}{10} \times 100\%$
 $= 15,4130\%$
- Ulangan 2
 Rendemen $= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$
 $= \frac{(13,3549 - 12,2421)}{10} \times 100\%$
 $= 11,1280\%$

- Ulangan 3
Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{(11,2965 - 9,7126)}{10} \times 100\%$$

$$= 15,8390\%$$
 - Rata-rata

$$= \text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{Ulangan 3}$$

$$= 15,4130\% + 11,1280\% + 15,8390\%$$

$$= 14,1267\%$$
8. KOH 10%
- Ulangan 1
Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{(11,8825 - 10,1544)}{10} \times 100\%$$

$$= 17,2810\%$$
 - Ulangan 2
Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{(11,4293 - 9,8997)}{10} \times 100\%$$

$$= 15,2960\%$$
 - Ulangan 3
Rendemen

$$= \frac{(\text{berat gelas kosong} + \text{sampel}) - (\text{berat gelas kosong})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{(11,4353 - 9,6008)}{10} \times 100\%$$

$$= 18,3450\%$$
 - Rata-rata kadar air = Ulangan 1 + Ulangan 2 + Ulangan 3

$$= 17,2810\% + 15,2960\% + 18,3450\%$$

$$= 16,9740\%$$

Lampiran 6. Perhitungan Kadar Sulfat

L 7.1 Data Penentuan Kadar Sulfat

L 7.1.1 Data Berat Krusibel Kosong

Sampel	Berat Krusibel Kosong (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Agar	26,2123	26,2093	26,2088	26,2086	26,2085
NaOH 3%	12,8678	12,8497	12,8491	12,8468	12,8465
NaOH 5%	26,2232	26,1990	26,1987	26,1984	26,1984
NaOH 7%	22,0532	22,0282	22,0275	22,0270	22,0268
NaOH 10%	23,3694	23,3469	23,3464	23,3461	23,3460
KOH 3%	26,8050	26,7826	26,7813	26,7809	26,7808
KOH 5%	21,3721	21,3539	21,3533	21,3529	21,3527
KOH 7%	21,8015	21,7782	21,7778	21,7773	21,7772
KOH 10%	21,2428	21,2256	21,2250	21,2247	21,2245

Berat cawan krusibel pada berat konstan ditambahkan 0,1 gram serbuk rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

L 7.1.2 Data Berat Krusibel + Endapan

Ulangan Cawan	Berat Krusibel + Endapan (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Agar	26,8807	26,2345	26,2339	26,2334	26,2330
NaOH 3%	13,4824	12,8576	12,8569	12,8564	12,8563
NaOH 5%	26,8420	26,2133	26,1279	26,2127	26,2127
NaOH 7%	22,7028	22,0389	22,0386	22,0380	22,0375
NaOH 10%	23,9995	23,3566	23,3561	23,3557	23,3555
KOH 3%	27,4279	26,7924	26,7915	26,7908	26,7905
KOH 5%	22,0073	21,3645	21,3642	21,3641	21,3641
KOH 7%	22,4501	21,7919	21,7912	21,7905	21,7900
KOH 10%	21,9033	21,2365	21,2359	21,2356	21,2354

L 7.2 Perhitungan Kadar Sulfat

$$\text{Kadar sulfat} = \frac{(q-p) \times fg}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

Keterangan : p = berat krusibel kosong (g)

q = berat krusibel + endapan (g)

$$\text{Faktor gravimetri (fg)} = \frac{\text{Mr SO}_4}{\text{Mr BaSO}_4} = = \frac{96 \text{ g/mol}}{233 \text{ g/mol}} = 0,4120$$

$$\text{Massa sampel} = 0,1 \text{ g}$$

1. Kadar sulfat pada agar komersil

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(26,2330 - 26,2085) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 10,0940\%\end{aligned}$$

2. Kadar sulfat pada NaOH 3%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(12,8563 - 12,8465) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 4,0541\%\end{aligned}$$

3. Kadar sulfat pada NaOH 5%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(25,2127 - 26,1984) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 5,8916\%\end{aligned}$$

4. Kadar sulfat pada NaOH 7%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(22,0375 - 22,0368) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 4,4084\%\end{aligned}$$

5. Kadar sulfat pada NaOH 10%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(23,3555 - 23,3460) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 3,9140\%\end{aligned}$$

6. Kadar sulfat pada KOH 3%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(26,7905 - 26,7808) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 3,9964\%\end{aligned}$$

7. Kadar sulfat pada KOH 5%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(21,3641 - 21,3527) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 4,6968\%\end{aligned}$$

8. Kadar sulfat pada KOH 7%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(21,7900 - 21,7772) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 5,2736\%\end{aligned}$$

9. Kadar sulfat pada KOH 10%

$$\begin{aligned}\text{Kadar sulfat} &= \frac{(q-p) \times \text{fg}}{\text{massa sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{(21,2354 - 21,2245) \times 0,4120}{0,1} \times 100\% \\ &= 4,4908\%\end{aligned}$$

Lampiran 7. Perhitungan Kadar Abu

L 7.1 Data Penentuan Kadar Abu

L 7.1.1 Data Berat Krusibel Kosong

Sampel	Berat Krusibel Kosong (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Agar	12,8654	12,8532	12,8528	12,8524	12,8524
NaOH 3%	22,0573	22,0403	22,0396	22,0392	22,0391
NaOH 5%	21,7923	21,7875	21,7868	21,7863	21,7863
NaOH 7%	21,2346	21,2273	21,2269	21,2265	21,2264
NaOH 10%	12,8676	12,8565	12,8559	12,8556	12,8554
KOH 3%	23,3521	23,3445	23,3429	23,3417	23,3412
KOH 5%	26,7941	26,7782	26,7778	26,7772	26,7770
KOH 7%	21,0672	21,0498	21,0476	21,0469	21,0467
KOH 10%	26,2008	26,1983	26,1966	26,1960	26,1958

Berat cawan krusibel pada berat konstan ditambahkan 0,1 gram serbuk rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

L 7.1.2 Data Berat Krusibel + Sampel

Ulangan Cawan	Berat Krusibel + Sampel (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Agar	12,9524	12,8598	12,8593	12,8590	12,8589
NaOH 3%	22,1391	22,0593	22,0592	22,0587	22,0587
NaOH 5%	21,8863	21,8107	21,8101	21,8096	21,8092
NaOH 7%	21,3264	21,2490	21,2482	21,2478	21,2477
NaOH 10%	12,9554	12,8753	12,8749	12,8748	12,8745
KOH 3%	23,4412	23,3678	23,3671	23,3668	23,3667
KOH 5%	26,8770	26,7987	26,7983	26,7981	26,7980
KOH 7%	21,1467	21,0711	21,0698	21,0696	21,0696
KOH 10%	26,2958	26,2223	26,2219	26,2216	26,2215

L 7.2 Perhitungan Kadar Abu

$$\text{Kadar abu} = \frac{z-x}{y-x} \times 100\%$$

Keterangan : x = berat krusibel kosong (g)

y = berat krusibel + sampel sebelum pengeringan (g)

z = berat krusibel + abu setelah pengeringan (g)

1. Kadar abu pada agar komersil

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{12,8589 - 12,8524}{12,9524 - 12,8524} \times 100\% \\ &= 6,5000\%\end{aligned}$$

2. Kadar abu pada NaOH 3%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{22,0587 - 22,0391}{22,1391 - 22,0391} \times 100\% \\ &= 19,6000\%\end{aligned}$$

3. Kadar abu pada NaOH 5%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{21,8092 - 21,7863}{21,8863 - 21,7863} \times 100\% \\ &= 22,9000\%\end{aligned}$$

4. Kadar abu pada NaOH 7%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{21,2478 - 21,2264}{21,3264 - 21,2264} \times 100\% \\ &= 21,3000\%\end{aligned}$$

5. Kadar abu pada NaOH 10%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{12,8749 - 12,8554}{12,9554 - 12,8554} \times 100\% \\ &= 19,1000\%\end{aligned}$$

6. Kadar abu pada KOH 3%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{23,3667 - 23,3412}{23,4412 - 23,3412} \times 100\% \\ &= 25,5000\%\end{aligned}$$

7. Kadar abu pada KOH 5%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{26,7980 - 26,7770}{26,8770 - 26,7770} \times 100\% \\ &= 21,0000\%\end{aligned}$$

8. Kadar abu pada KOH 7%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{21,0696 - 21,0467}{21,1467 - 21,0467} \times 100\% \\ &= 22,9000\%\end{aligned}$$

9. Kadar abu pada KOH 10%

$$\begin{aligned}\text{Kadar abu} &= \frac{z-x}{y-x} \times 100\% \\ &= \frac{26,2215 - 26,1958}{26,2958 - 26,1958} \times 100\% \\ &= 25,7000\%\end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Kadar Air

L 8.1 Data Penentuan Kadar Air

L 8.1.1 Data Berat Cawan Kosong

Sampel	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Agar	39,6289	39,6284	39,6276	39,6271	39,6259
NaOH 3%	31,9257	31,9250	31,9245	31,9243	31,9243
NaOH 5%	58,6673	58,6667	58,6662	58,6660	58,6652
NaOH 7%	54,8971	54,9863	54,9861	54,9858	54,8959
NaOH 10%	57,1291	57,1226	57,1224	57,1222	57,1220
KOH 3%	43,2436	43,2335	43,2329	43,2325	43,2319
KOH 5%	51,9581	51,9565	51,9550	51,9552	51,9534
KOH 7%	53,4076	53,3963	53,3957	53,3950	53,3951
KOH 10%	72,9312	72,9144	72,9140	72,9136	72,9133

Berat cawan kosong pada berat konstan ditambahkan 0,2 gram serbuk rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

L 8.1.2 Data Berat Cawan + Sampel

Ulangan Cawan	Berat Cawan + Sampel (g)				Berat Konstan
	Sebelum dioven	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Agar	39,8259	39,8110	39,8096	39,8090	39,8085
NaOH 3%	32,1243	32,1136	32,1124	32,1119	32,1112
NaOH 5%	58,8652	58,8500	58,8491	58,8486	58,8484
NaOH 7%	55,0959	55,0857	55,0849	55,0841	55,0806
NaOH 10%	57,3220	57,3121	57,3119	57,3114	57,3113
KOH 3%	43,4319	43,4204	43,4198	43,4195	43,4195
KOH 5%	52,1534	52,1440	52,1435	52,1426	52,1415
KOH 7%	53,5951	53,5837	53,5830	53,5826	53,5822
KOH 10%	73,1133	73,1012	73,0995	73,0986	73,0981

L 8.2 Perhitungan Kadar Air

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

Keterangan : a = berat cawan kosong (g)

b = berat cawan + sampel sebelum dioven (g)

c = berat cawan + sampel setelah dioven (g)

1. Kadar air pada agar komersil

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\
 &= \frac{39,8259 - 39,8085}{39,8259 - 39,6259} \times 100\% \\
 &= 8,7000\%
 \end{aligned}$$

2. Kadar air pada NaOH 3%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{32,1243 - 32,1112}{32,1243 - 31,9243} \times 100\% \\ &= 6,5500\%\end{aligned}$$

3. Kadar air pada NaOH 5%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{58,8652 - 58,8484}{58,8652 - 58,6652} \times 100\% \\ &= 8,4000\%\end{aligned}$$

4. Kadar air pada NaOH 7%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{55,0959 - 55,0806}{55,0959 - 55,8959} \times 100\% \\ &= 7,6500\%\end{aligned}$$

5. Kadar air pada NaOH 10%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{57,3220 - 57,3113}{57,3220 - 57,1220} \times 100\% \\ &= 5,3500\%\end{aligned}$$

6. Kadar air pada KOH 3%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{43,4319 - 43,4195}{43,4319 - 43,2319} \times 100\% \\ &= 6,2000\%\end{aligned}$$

7. Kadar air pada KOH 5%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{52,1534 - 52,1415}{52,1534 - 51,9534} \times 100\% \\ &= 5,9500\%\end{aligned}$$

8. Kadar air pada KOH 7%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{53,5951 - 53,5822}{53,5951 - 53,3951} \times 100\% \\ &= 6,4500\%\end{aligned}$$

9. Kadar air pada KOH 10%

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100\% \\ &= \frac{73,1133 - 72,0981}{73,1133 - 72,9133} \times 100\% \\ &= 7,6000\%\end{aligned}$$

Lampiran 9. Perhitungan nilai Rf

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut (cm)}}$$

1. Komersil

$$\begin{aligned}Rf &= \frac{3,1}{8} \\ &= 0,38 \\ Rf &= \frac{5,4}{8} \\ &= 0,67 \\ Rf &= \frac{6,3}{8} \\ &= 0,78\end{aligned}$$

2. NaOH 3%

$$\begin{aligned}Rf &= \frac{3,2}{8} \\ &= 0,4 \\ Rf &= \frac{5,5}{8} \\ &= 0,68 \\ Rf &= \frac{6,2}{8} \\ &= 0,77\end{aligned}$$

3. NaOH 5%

$$\begin{aligned}Rf &= \frac{3,2}{8} \\ &= 0,4 \\ Rf &= \frac{5,4}{8} \\ &= 0,67 \\ Rf &= \frac{6,2}{8} \\ &= 0,77\end{aligned}$$

4. NaOH 7%

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{3,1}{8} \\ &= 0,38 \\ Rf &= \frac{5,3}{8} \\ &= 0,66 \\ Rf &= \frac{6,1}{8} \\ &= 0,76 \end{aligned}$$

5. NaOH 10%

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{3,3}{8} \\ &= 0,41 \\ Rf &= \frac{5,4}{8} \\ &= 0,67 \\ Rf &= \frac{6,1}{8} \\ &= 0,76 \end{aligned}$$

6. KOH 3%

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{3,1}{8} \\ &= 0,38 \\ Rf &= \frac{5,3}{8} \\ &= 0,66 \\ Rf &= \frac{6}{8} \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

7. KOH 5%

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{3,1}{8} \\ &= 0,38 \\ Rf &= \frac{5,2}{8} \\ &= 0,65 \\ Rf &= \frac{6}{8} \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

8. KOH 7%

$$\begin{aligned} Rf &= \frac{3,1}{8} \\ &= 0,38 \\ Rf &= \frac{5,4}{8} \\ &= 0,67 \\ Rf &= \frac{6}{8} \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

9. KOH 10%

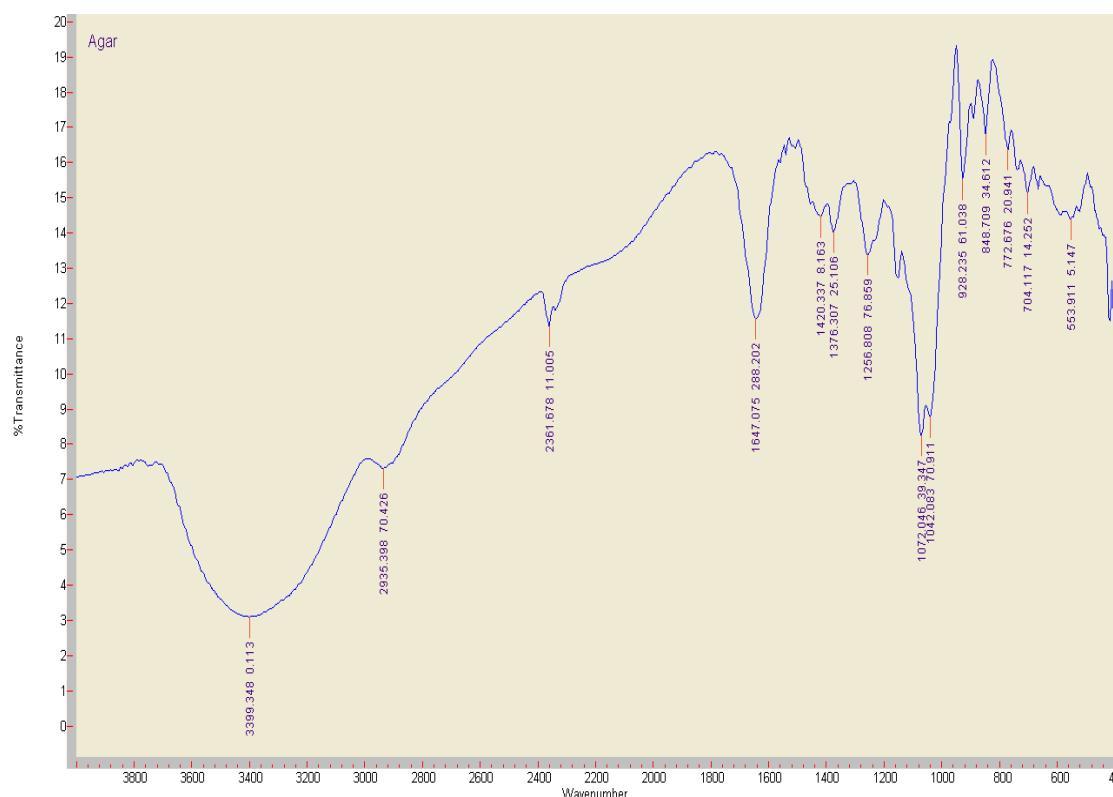
$$R_f = \frac{3}{8} = 0,37$$

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{5,3}{8} \\ &= 0,66 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R_f &= \frac{6}{8} \\ &\equiv 0.75 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Spektra FTIR

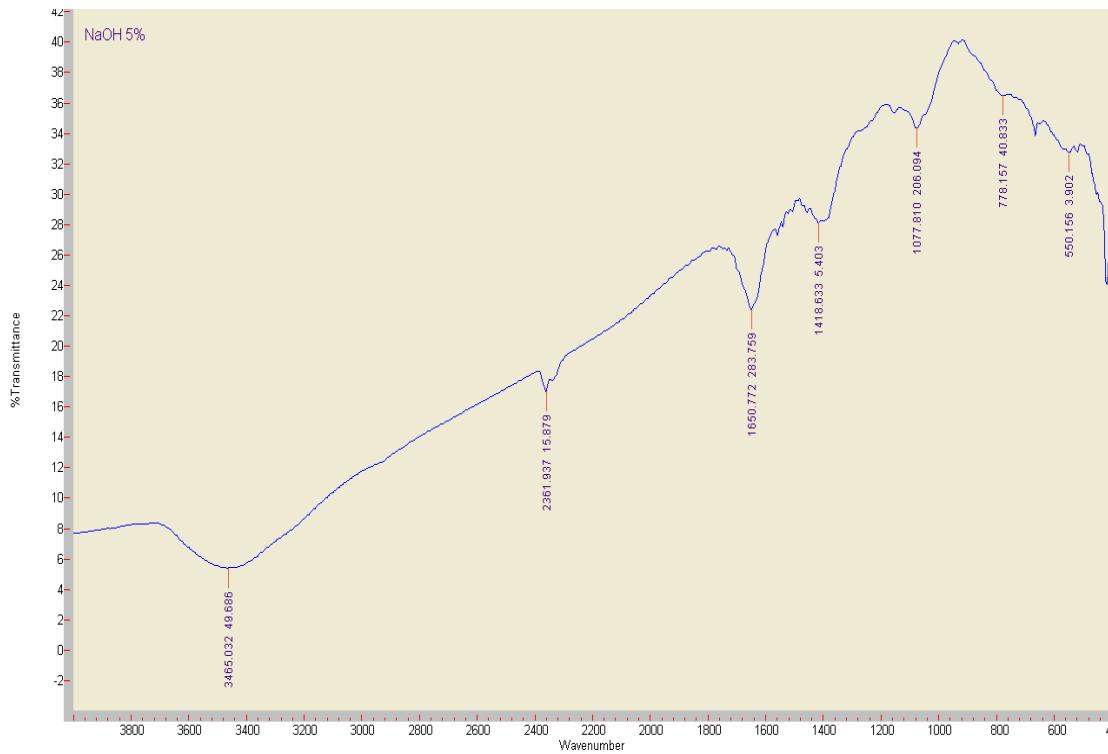
1. Agar Komersil



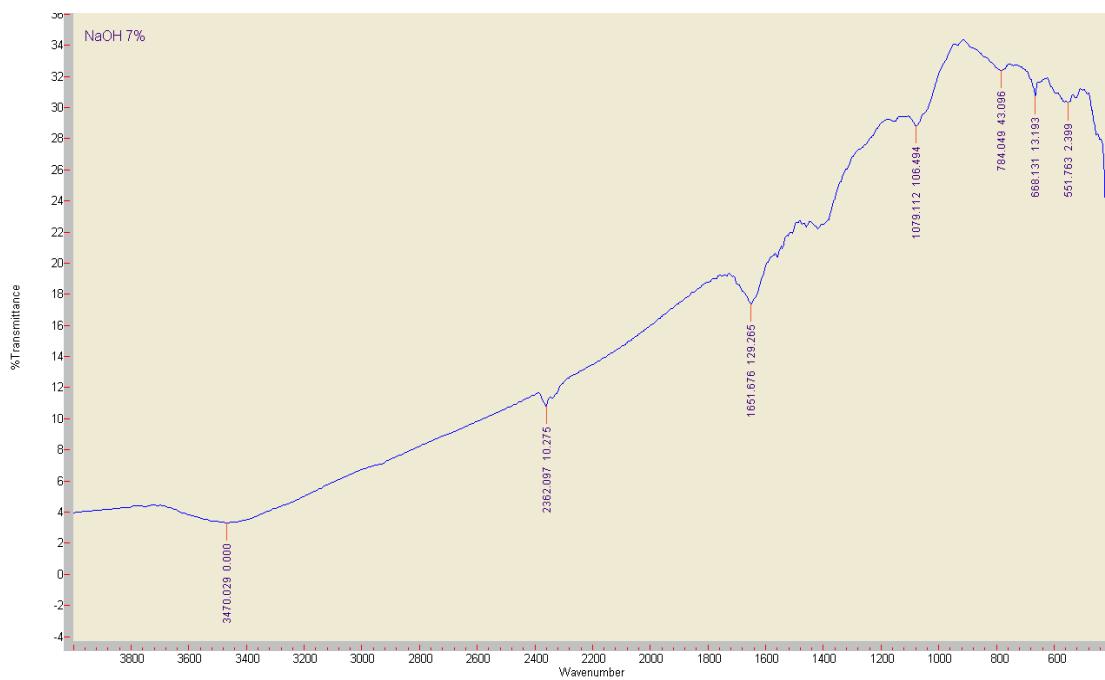
2. Agar NaOH 3%



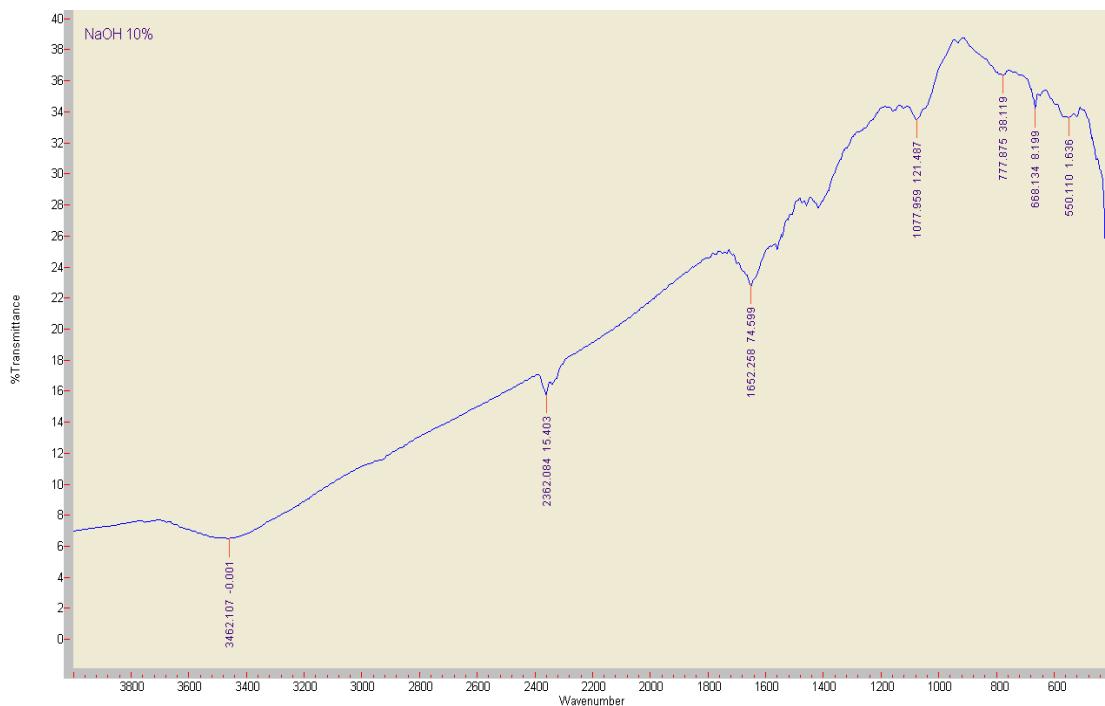
3. Agar NaOH 5%



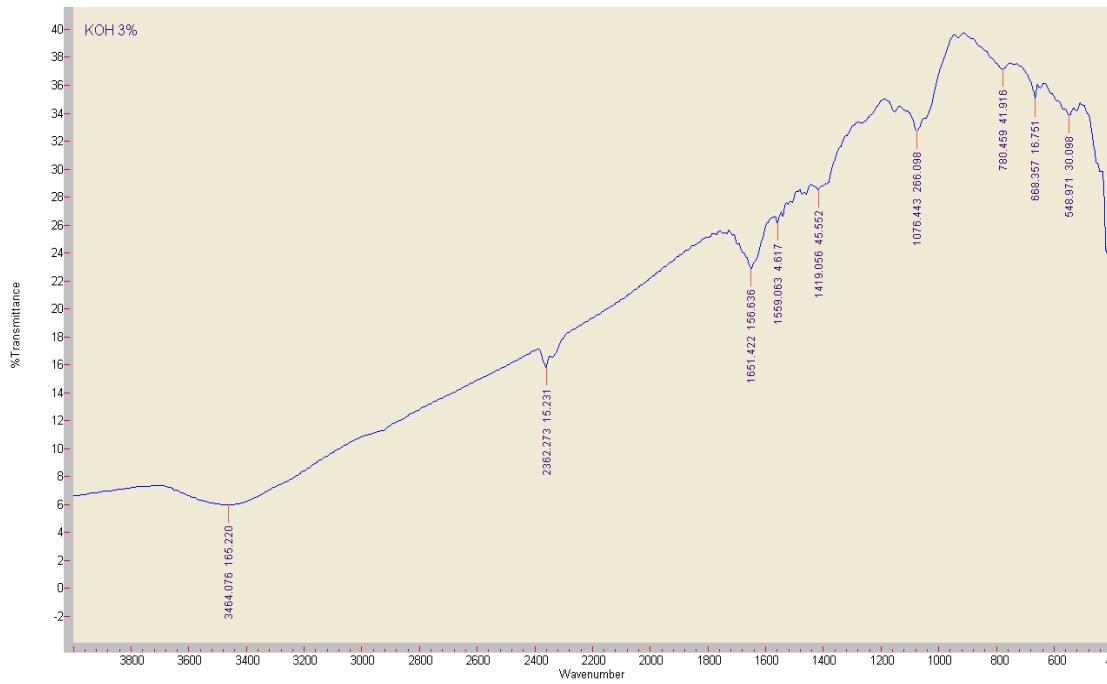
4. Agar NaOH 7%



5. Agar NaOH 10%



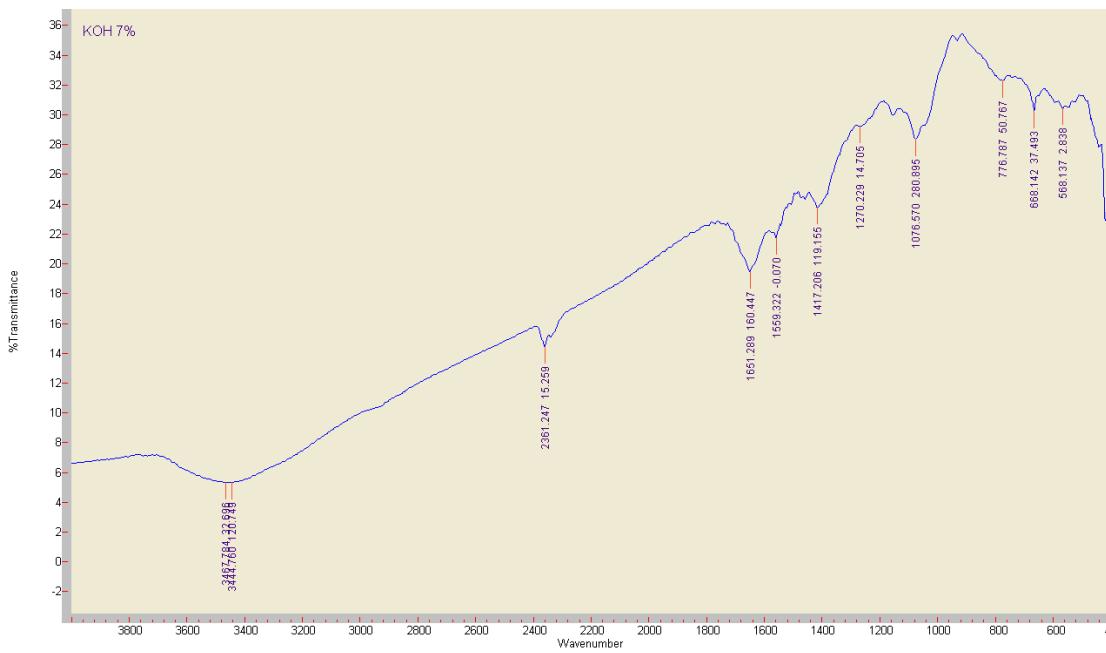
6. Agar KOH 3%



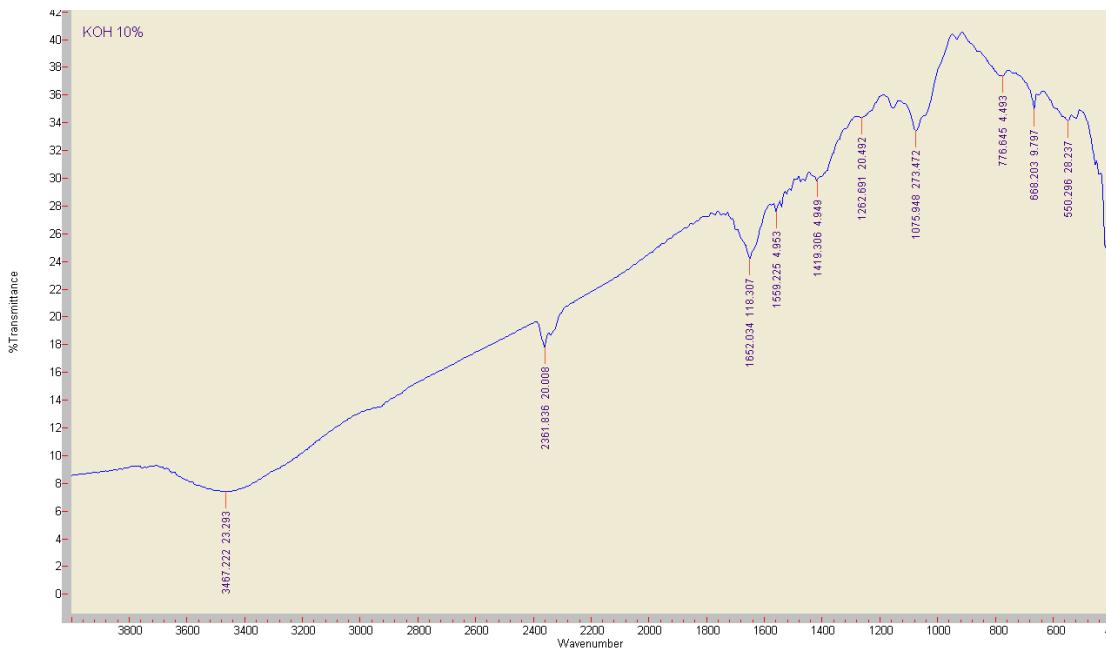
7. Agar KOH 5%



8. Agar KOH 7%

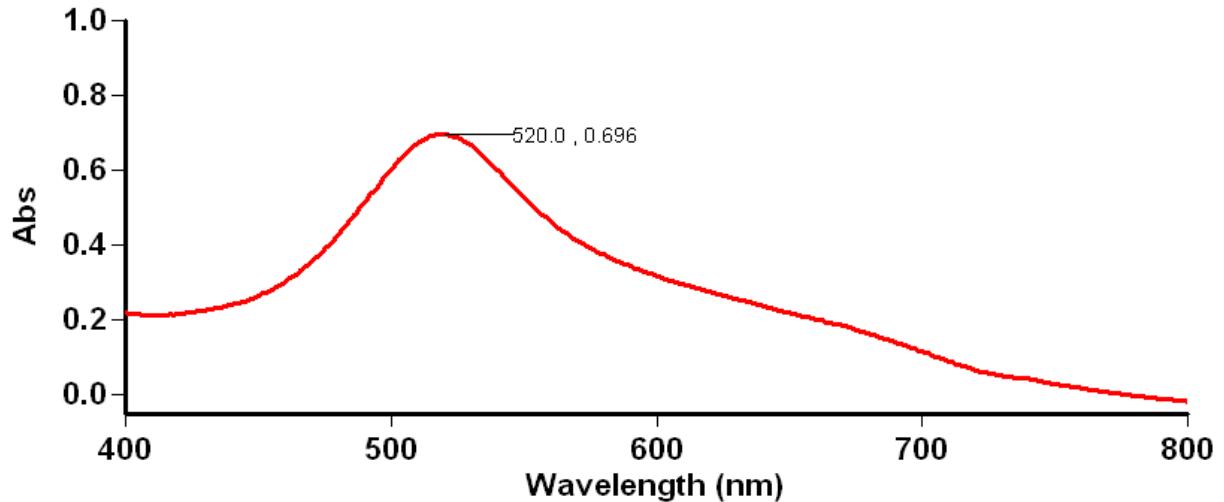


9. Agar KOH 10%



Lampiran 11. Data Hasil Uji Antioksidan**L 11.1 Panjang Gelombang Maksimum DPPH****Lamdha Maks DPPH**

Tanggal Analisa : 08 April 2022

**Scan Analysis Report**

Report Time : Fri 08 Apr 10:28:22 AM 2022

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Dinda\Lamdha Maks DPPH (08-04-2022).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: DPPH

Collection Time 4/8/2022 10:28:47 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 399.9nm

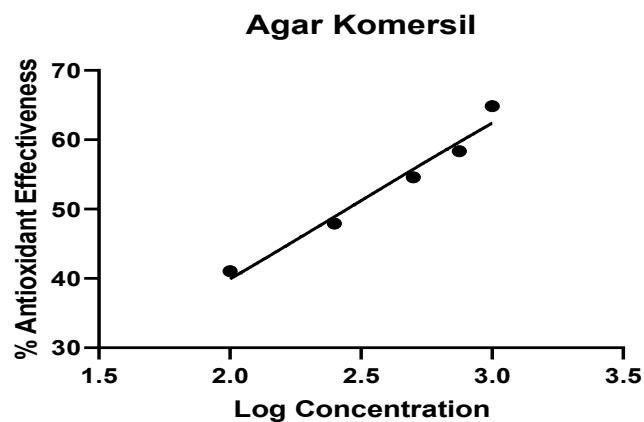
Wavelength (nm) Abs

 520.0 0.696

L 11.2 Perhitungan Aktivitas Antioksidan Agar dan Vitamin C dan Nilai IC₅₀

1. Aktivitas Antioksidan pada Agar Komersil

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata-Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,2985	0,0965	0,2677	0,1536	0,1726	2,00	41,0518
250	0,2992	0,0747	0,2494	0,1329	0,1523	2,39	47,9034
500	0,2987	0,0836	0,1969	0,1214	0,1340	2,69	54,5965
750	0,3064	0,0973	0,1574	0,1274	0,1274	2,87	58,3368
1000	0,3014	0,0794	0,1313	0,1054	0,1054	3,00	64,8471



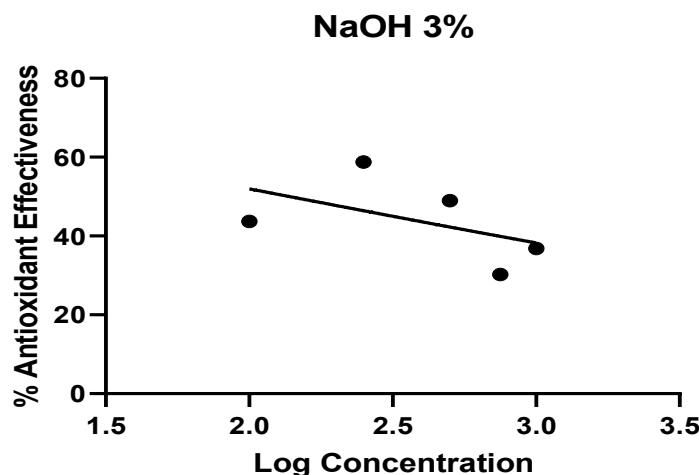
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.447
HillSlope	0.3974
IC50	279.8
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	2.283 to 2.572
HillSlope	0.2595 to 0.5399
IC50	192.0 to 373.2
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.9665
Sum of Squares	11.37
Sy.x	1.947
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

2. Aktivitas Antioksidan pada Agar NaOH 3%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3220	0,1338	0,3311	0,2025	0,2225	2,00	43,7250
250	0,3230	0,1225	0,1965	0,1608	0,1599	2,39	58,7936
500	0,3221	0,1114	0,3003	0,1954	0,2024	2,69	48,9700
750	0,3219	0,2080	0,3706	0,2381	0,2722	2,87	30,2652
1000	0,3225	0,1686	0,3568	0,2208	0,2487	3,00	36,8033



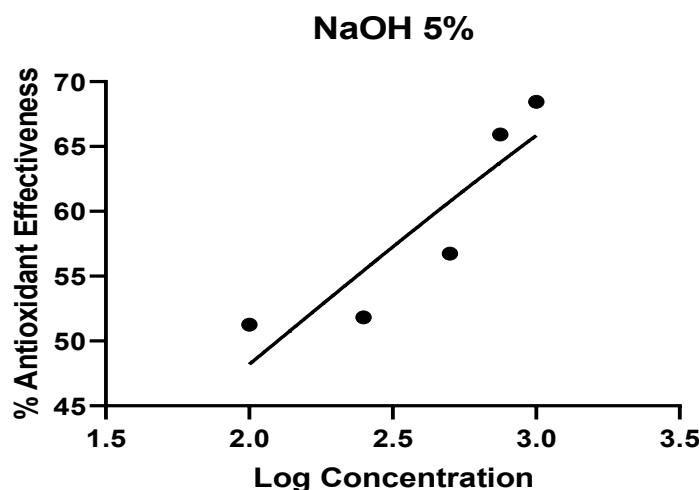
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.141
HillSlope	-0.2420
IC50	138.2
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	-infinity to +infinity
HillSlope	-1.120 to 0.5394
IC50	???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.2543
Sum of Squares	360.7
Sy.x	10.96
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

3. Aktivitas Antioksidan pada Agar NaOH 5%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3220	0,1338	0,3311	0,2025	0,2225	2,00	43,7250
250	0,3230	0,1225	0,1965	0,1608	0,1599	2,39	58,7936
500	0,3221	0,1114	0,3003	0,1954	0,2024	2,69	48,9700
750	0,3219	0,2080	0,3706	0,2381	0,2722	2,87	30,2652
1000	0,3225	0,1686	0,3568	0,2208	0,2487	3,00	36,8033



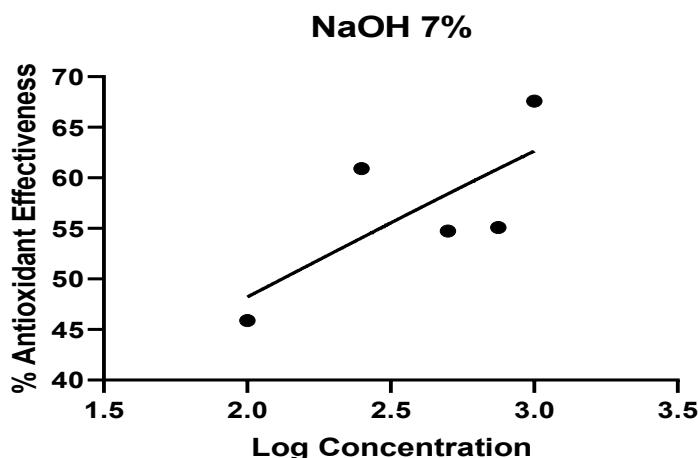
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.099
HillSlope	0.3162
IC50	125.6
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	??? to 2.452
HillSlope	0.02862 to 0.6156
IC50	??? to 282.9
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.8032
Sum of Squares	49.96
Sy.x	4.081
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

4. Aktivitas Antioksidan pada Agar NaOH 7%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,4270	0,1650	0,1799	0,2492	0,5026	2,00	45,8810
250	0,4260	0,0818	0,1668	0,1668	0,5375	2,39	60,9034
500	0,4258	0,1623	0,1095	0,2257	0,5444	2,69	54,7370
750	0,4257	0,2050	0,1291	0,1385	0,5475	2,87	55,0768
1000	0,4251	0,0561	0,1606	0,1375	0,5419	3,00	67,5962

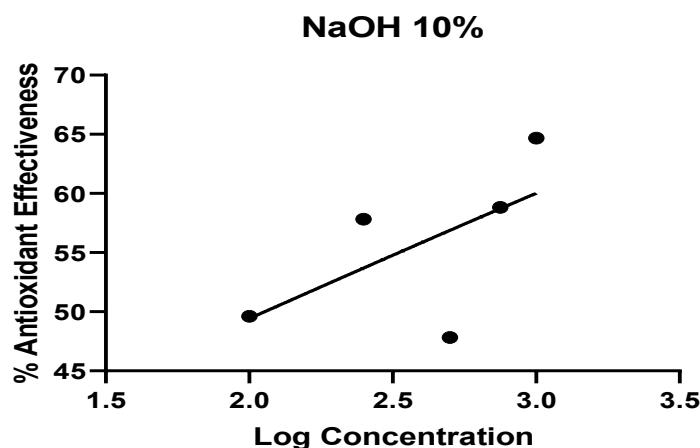


Perhitungan nilai IC₅₀

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.122
HillSlope	0.2555
IC50	132.3
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	???
HillSlope	-0.1972 to 0.7274
IC50	???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.5214
Sum of Squares	124.4
Sy.x	6.438
Bottom	= 0.000
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

5. Aktivitas Antioksidan pada Agar NaOH 10%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3086	0,1148	0,1799	0,1740	0,1562	2,00	49,6133
250	0,3085	0,0940	0,1495	0,1491	0,1309	2,39	57,81778
500	0,3091	0,1199	0,1843	0,1813	0,1618	2,69	47,81557
750	0,3088	0,0683	0,1785	0,1539	0,1336	2,87	58,82259
1000	0,3073	0,0694	0,1290	0,1343	0,1109	3,00	64,68382



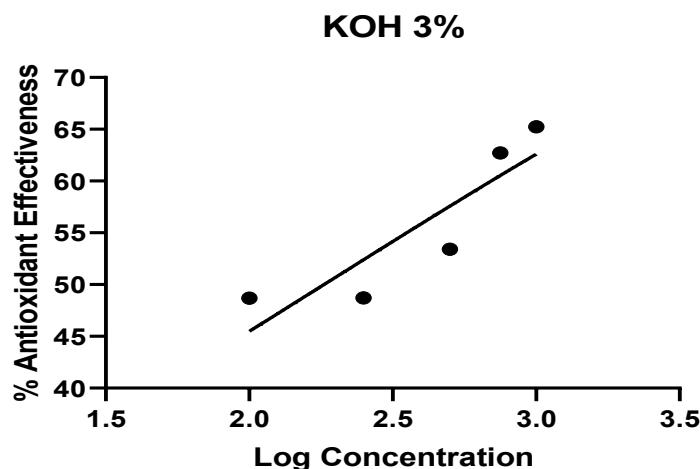
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.054
HillSlope	0.1862
IC50	113.1
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	???
HillSlope	-0.2585 to 0.6438
IC50	???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.3765
Sum of Squares	121.1
Sy.x	6.352
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

6. Aktivitas Antioksidan pada Agar KOH 3%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3096	0,1199	0,1785	0,1787	0,1590	2,00	48,67673
250	0,3077	0,1148	0,1843	0,1772	0,1588	2,39	48,71722
500	0,3090	0,0940	0,1799	0,1678	0,1472	2,69	53,41281
750	0,3088	0,0683	0,1495	0,1398	0,1192	2,87	62,70697
1000	0,3073	0,0694	0,1290	0,1290	0,1091	3,00	65,23653



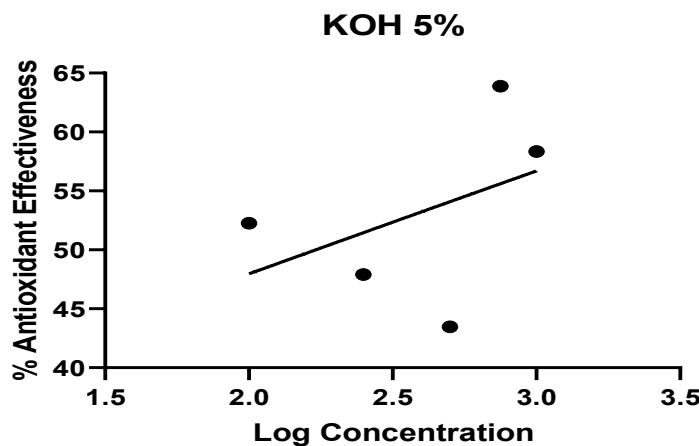
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.260
HillSlope	0.3022
IC50	182.2
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	?? to 2.610
HillSlope	0.01015 to 0.6081
IC50	?? to 407.7
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.7833
Sum of Squares	52.72
Sy.x	4.192
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

7. Aktivitas Antioksidan pada Agar KOH 5%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3266	0,1467	0,1467	0,1300	0,1634	2,00	52,25331
250	0,3279	0,1621	0,1621	0,1329	0,1912	2,39	47,90344
500	0,3278	0,1757	0,1757	0,1450	0,2063	2,69	43,47644
750	0,3396	0,1143	0,1313	0,1143	0,1228	2,87	63,88803
1000	0,3322	0,1184	0,1574	0,1184	0,1379	3,00	58,33979



Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom = 0.000

Top = 100.0

LogIC50 = 2.232

HillSlope = 0.1523

IC50 = **170.8**

Span = 100.0

95% CI (profile likelihood)

LogIC50 = -infinity to ???

HillSlope = -0.4409 to 0.7784

IC50 = ???

Goodness of Fit

Degrees of Freedom = 3

R squared = 0.1872

Sum of Squares = 214.7

Sy.x = 8.460

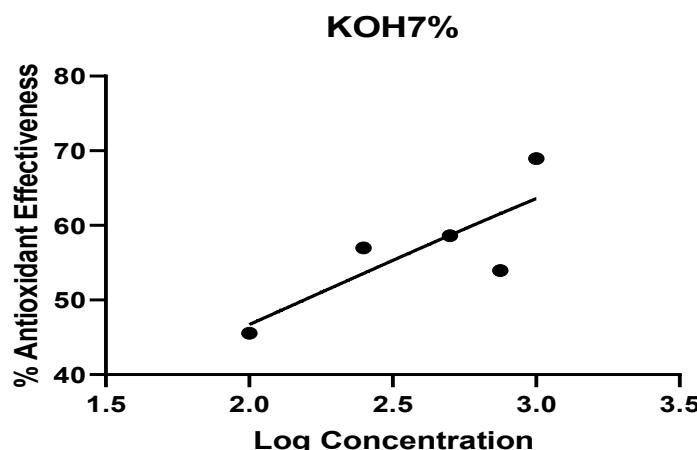
Number of points

of X values = 5

Y values analyzed = 5

8. Aktivitas Antioksidan pada Agar KOH 7%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3665	0,1650	0,1342	0,3184	0,2059	2,00	45,55404
250	0,3636	0,0818	0,1002	0,3189	0,1670	2,39	56,99138
500	0,3584	0,1623	0,1393	0,1393	0,1470	2,69	58,62971
750	0,3539	0,2050	0,1385	0,1385	0,1607	2,87	53,95905
1000	0,3506	0,0561	0,1375	0,1375	0,1104	3,00	68,95534



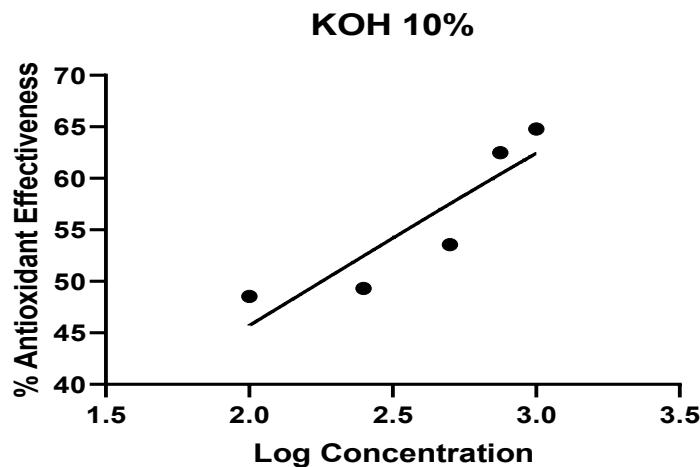
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.191
HillSlope	0.2995
IC50	155.4
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	??? to 2.696
HillSlope	-0.1046 to 0.7251
IC50	??? to 496.7
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.6503
Sum of Squares	99.89
Sy.x	5.770
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

9. Aktivitas Antioksidan pada Agar KOH 10%

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
100	0,3070	0,1199	0,1785	0,1756	0,1580	2,00	48,5449
250	0,3090	0,1148	0,1843	0,1738	0,1576	2,39	49,3036
500	0,3096	0,0940	0,1799	0,1678	0,1472	2,69	53,5565
750	0,3083	0,0683	0,1495	0,1410	0,1196	2,87	62,4817
1000	0,3085	0,0694	0,1290	0,1343	0,1109	3,00	64,7968



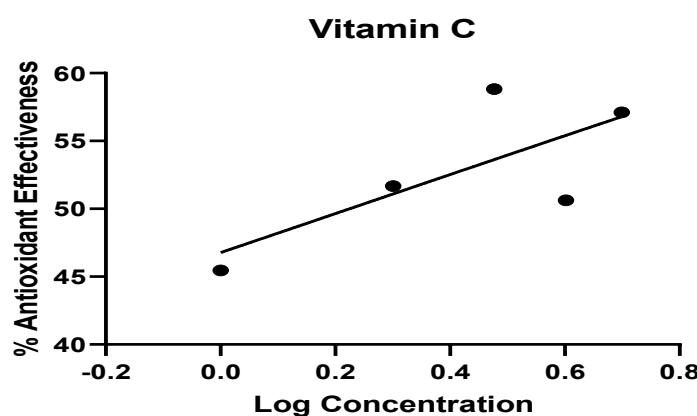
Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	2.253
HillSlope	0.2951
IC50	179.1
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	??? to 2.579
HillSlope	0.02952 to 0.5717
IC50	??? to 379.4
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.8066
Sum of Squares	43.59
Sy.x	3.812
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

10. Aktivitas Antioksidan pada Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Abs. Kontrol	Absorbansi Sampel			Rata- Rata	Log Konsentrasi (x)	% Antioksidan (y)
		P1	P2	P3			
1	0,3426	0,1556	0,1955	0,1754	0,1755	0,00	48,76841
2	0,3381	0,1375	0,2012	0,1549	0,1645	0,301	51,62667
3	0,3414	0,1661	0,2347	0,1326	0,1778	0,477	48,50712
4	0,3401	0,1969	0,3163	0,1594	0,2242	0,602	35,0556
5	0,3423	0,2111	0,3602	0,1385	0,2366	0,698	32,43512



Perhitungan nilai IC₅₀

Best-fit values

Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	0.2246
HillSlope	0.2501
IC50	1.677
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	???
HillSlope	-0.1694 to 0.6806
IC50	???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.5460
Sum of Squares	52.06
Sy.x	4.166
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

L 11.3 Nilai AAI

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi DPPH} &= \frac{\text{massa}}{V} \\ &= \frac{3,94 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \\ &= 78,8 \text{ ppm}\end{aligned}$$

1. Agar

$$\begin{aligned}\text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC50} \\ &= \frac{78,8}{279,8} \\ &= 0,2816\end{aligned}$$

2. NaOH 3%

$$\begin{aligned}\text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC50} \\ &= \frac{78,8}{138,2} \\ &= 0,5702\end{aligned}$$

3. NaOH 5%

$$\begin{aligned}\text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC50} \\ &= \frac{78,8}{125,6} \\ &= 0,6274\end{aligned}$$

4. NaOH 7%

$$\begin{aligned}\text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC50} \\ &= \frac{78,8}{132,3} \\ &= 0,5956\end{aligned}$$

5. NaOH 10%

$$\begin{aligned}\text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC50} \\ &= \frac{78,8}{113,1} \\ &= 0,6967\end{aligned}$$

6. KOH 3%

$$\begin{aligned}\text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{IC50} \\ &= \frac{78,8}{182,3} \\ &= 0,4322\end{aligned}$$

7. KOH 5%

$$\begin{aligned} \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{IC50}} \\ &= \frac{78,8}{170,8} \\ &= 0,4614 \end{aligned}$$

8. KOH 7%

$$\begin{aligned} \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{IC50}} \\ &= \frac{78,8}{154,4} \\ &= 0,5071 \end{aligned}$$

9. KOH 10%

$$\begin{aligned} \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{IC50}} \\ &= \frac{78,8}{179,1} \\ &= 0,4399 \end{aligned}$$

10. Vitamin C

$$\begin{aligned} \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH}}{\text{IC50}} \\ &= \frac{78,8}{1,677} \\ &= 46,9886 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Analisis Anova Rendemen

Levene's Test of Equality of Error

Variances^a

Dependent Variable: Rendemen

F	df1	df2	Sig.
2.818	7	16	.041

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Pelarut + Konsentrasi + Pelarut * Konsentrasi

Hasil diatas menunjukkan nilai (Signifikansi) Sig. 0,041 di mana > 0,05 sehingga bisa dikatakan variasi antar grup berbeda secara signifikan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Rendemen

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	465.113 ^a	7	66.445	34.083	.000
Intercept	6400.576	1	6400.576	3283.162	.000
Pelarut	183.121	1	183.121	93.931	.000
Konsentrasi	262.695	3	87.565	44.916	.000
Pelarut * Konsentrasi	19.297	3	6.432	3.299	.047
Error	31.192	16	1.950		
Total	6896.881	24			
Corrected Total	496.305	23			

a. R Squared = .937 (Adjusted R Squared = .910)

Konsentrasi Perendaman	N	Subset				
		1	2	3	4	5
K3%	3	10.139667				
K5%	3	13.033333	13.033333			
N3%	3	13.875333	13.875333	13.875333		
K7%	3		14.126667	14.126667		
Tukey HSD ^{a,b}	K10%	3		16.974000	16.974000	16.974000
	N5%	3			17.447667	17.447667
	N7%	3				19.646333
	N10%	3				25.402333
	Sig.		.070	.051	.091	.329
						1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.950.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

1. NaOH 3% = abc
2. NaOH 5% = cd
3. NaOH 7% = d
4. NaOH 10% = e
5. KOH 3% = a
6. KOH 5% = ab
7. KOH 7% = bc
8. KOH 10% = bcd
 - Perlakuan 1 berbeda nyata dengan perlakuan 3 dan 4
 - Perlakuan 2 berbeda nyata dengan perlakuan 4,5, dan 6
 - Perlakuan 3 berbeda nyata dengan perlakuan 1, 4, 5, 6, dan 7
 - Perlakuan 4 berbeda nyata dengan perlakuan 1, 2, 3, 5, 6, 7, dan 8
 - Perlakuan 5 berbeda nyata dengan perlakuan 2, 3, 4, 7, dan 8
 - Perlakuan 6 berbeda nyata dengan perlakuan 2, 3, dan 4
 - Perlakuan 7 berbeda nyata dengan perlakuan 3, 4, dan 5
 - Perlakuan 8 berbeda nyata dengan perlakuan 4 dan 5
 - Perlakuan 1 tidak berbeda dengan perlakuan 2, 5, 6, 7, dan 8
 - Perlakuan 2 tidak berbeda dengan perlakuan 1, 3, 7, dan 8
 - Perlakuan 3 tidak berbeda dengan perlakuan 2 dan 8
 - Perlakuan 5 tidak berbeda dengan perlakuan 1 dan 6
 - Perlakuan 6 tidak berbeda dengan perlakuan 1, 5, 7, dan 8
 - Perlakuan 7 tidak berbeda dengan perlakuan 1, 2, 6, dan 8
 - Perlakuan 8 tidak berbeda dengan perlakuan 1, 2, 3, 6, dan 7

Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian
L 13.1 Ekstraksi dan Perendaman Agar



L 13.2 Uji Karakteristik
L 13.2.1 Pengukuran Titik Leleh



L 13.2.2 Pengukuran Kadar Air



dioven

didinginkan dalam
desikator

ditimbang cawan

ditimbang
cawan+sampel

dioven cawan+sampel

didinginkan dalam
desikatorditimbang hingga
konstan

L 13.2.3 Pengukuran Kadar Abu



dioven cawan



didinginkan dalam desikator



ditimbang cawan



ditimbang cawan+sampel



Dibunsen cawan+sampel



ditimbang cawan krusibel



dipindahkan sampel ke dalam cawan krusibel



ditimbang cawan+sampel



ditanur



didinginkan dalam desikator



ditimbang hingga konstan

L 13.2.4 Penentuan Nilai pH



NaOH

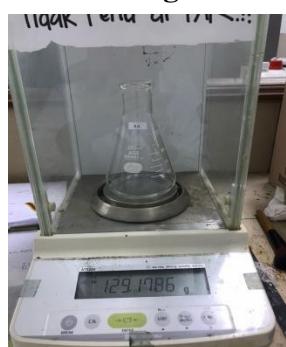


KOH

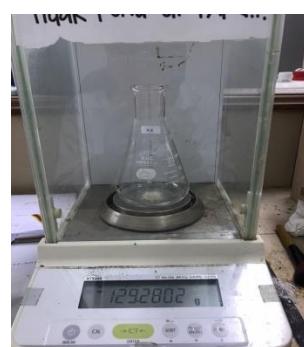


Agar komersil

L 13.2.5 Pengukuran Kadar Sulfat



ditimbang erlenmeyer



ditimbang Erlenmeyer+sampel

ditambahkan HCl + BaCl₂ dan dipanaskan



ditimbang kertas saring



dicuci dengan akuades panas



dikeringkan dan ditimbang



ditimbang krusibel



Ditanur



didinginkan dalam desikator



ditimbang hingga konstan



diperoleh agar setelah di tanur

L 13.3 Analisis dengan KLT

Dielusi



dikeringkan

deteksi dibawah sinar
UV**L 13.4 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH**