

PENGARUH WAKTU PERTUMBUHAN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, *TOTAL PHENOLIC CONTENT* (TPC), DAN *TOTAL FLAVONOID CONTENT* (TFC) PADA EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) DARI TAMBAK TANJUNGSARI SIDOARJO

SKRIPSI

Oleh:
SYAFIRA AZZAHRA
NIM. 200603110089



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

PENGARUH WAKTU PERTUMBUHAN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, *TOTAL PHENOLIC CONTENT* (TPC), DAN *TOTAL FLAVONOID CONTENT* (TFC) PADA EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) DARI TAMBAK TANJUNGSARI SIDOARJO

SKRIPSI

**Oleh:
SYAFIRA AZZAHRA
NIM. 200603110089**

**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
2024**

PENGARUH WAKTU PERTUMBUHAN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, TOTAL PHENOLIC CONTENT (TPC), DAN TOTAL FLAVONOID CONTENT (TFC) PADA EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) DARI TAMBAK TANJUNGSARI SIDOARJO

SKRIPSI

Oleh:
SYAFIRA AZZAHRA
NIM. 20060310089

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 20 Juni 2024

Pembimbing I



Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc
NIP. 19710311 200312 1 002

Pembimbing II



Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si
NIP. 19831226 201903 2 008

Mengetahui
Ketua Program Studi Kimia



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

PENGARUH WAKTU PERTUMBUHAN TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, TOTAL PHENOLIC CONTENT (TPC), DAN TOTAL FLAVONOID CONTENT (TFC) PADA EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) DARI TANBAK TANJUNGSARI SIDOARJO

SKRIPSI

Oleh:
SYAFIRA AZZAHRA
NIM. 20060310089

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 20 Juni 2024

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

(.....
Ghanaim Fasya
.....)

Anggota Penguji I : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIP. 19900906 202321 2 003

(.....
Lulu'atul Hamidatu Ulya
.....)

Anggota Penguji II : Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc
NIP. 19710311 200312 1 002

(.....
Dr. Tri Kustono Adi
.....)

Anggota Penguji III : Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si
NIP. 19831226 201903 2 008

(.....
Lilik Miftahul Khoiroh
.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Syafira Azzahra

NIM : 200603110089

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Waktu Pertumbuhan terhadap Aktivitas Antioksidan, *Total Phenolic Content* (TPC), dan *Total Flavonoid Content* (TFC) pada Ekstrak Etanol Rumput Laut (*Gracilaria Verrucosa*) dari Tambak Tanjungsari Sidoarjo

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan 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 ini di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 Juni 2024
Yang Membuat Pernyataan



Syafira Azzahra
NIM. 200603110089

MOTTO

“Tidak ada yang akan menuai kecuali apa yang kamu tabur”

Q.S Al-An’am [6]: 164

“Ketahuilah bahwa kemenangan bersama kesabaran, kelapangan bersama kesempitan, dan kesulitan bersama kemudahan”

–HR Tirmidzi

“Jangan selalu berprasangka buruk pada dirimu, bangkit dan tadahkan kedua tanganmu, Allah pasti akan membantumu”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah wa syukurillah, segala puji dan syukur tiada henti terucap atas nikmat Allah Swt. sehingga saya dapat menuntaskan dan mendapatkan gelar Sarjana Sains ini. Saya persembahkan setitik karya sederhana ini dengan penuh rasa syukur kepada:

Kedua orang tua saya, Alm. Wiwit Priyatmoko ayah saya yang saya yakin selalu kebersamai saya dari atas sana dan Ibu Wahidah yang selalu memberikan doa, dukungan, nasihat, motivasi, serta kasih sayang yang tak terhingga kepada saya. Adik saya Salsa yang selalu kebersamai dan mendoakan saya dalam segala hal. Yah, Bu, Dek, gelar ini Kakak persembahkan untuk kalian.

Bapak Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc selaku pembimbing utama, Ibu Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si selaku pembimbing agama, dan Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen wali yang telah sabar membimbing serta memberikan dukungan untuk menyelesaikan skripsi ini. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku penguji yang telah memberikan kritik, saran, masukan, serta arahan dalam proses penyelesaian skripsi ini. Para dosen dan seluruh Laboran khususnya kepada Bapak M. Chalid Al Ayubi, S.Si selaku laboran organik yang senantiasa sabar kebersamai saya saat melakukan penelitian di Laboratorium Organik.

Teruntuk orang-orang baik yang Allah kirimkan untuk kebersamai perjuangan saya baik teman-teman perkuliahan dan organisasi, seluruh teman-teman AURUM 2020, DPO 2021-2022, serta partner tersabar saya Alfian Cahyo Prasetyo yang selalu mendengarkan keluh kesah saya dan kebersamai jungkir balik perjalanan saya selama ini.

Terakhir, terima kasih yang tak terhingga saya ucapkan kepada diri saya sendiri yang walau disertai dengan banyak tangisan tapi tetap kuat dan bertahan sampai detik ini.

Good Job, Rara!

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah atas kehadiran Allah Swt. Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Waktu Pertumbuhan Terhadap Aktivitas Antioksidan, Total Phenolic Content (TPC), dan Total Flavonoid Content (TFC) pada Ekstrak Etanol Rumput Laut (*Gracilaria Verrucosa*) dari Tambak Tanjungsari Sidoarjo”**. Tak lupa selawat dan salam selalu terlimpahkan kepada baginda Nabi Muhammad saw. yang telah menuntun umatnya dari zaman kegelapan menuju zaman terang benderang. Penyusunan penelitian ini tidak luput dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si., selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc., selaku dosen pembimbing yang senantiasa bersabar dan meluangkan banyak waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, nasehat, dan perhatian selama proses penyusunan skripsi.
5. Ibu Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si., selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan banyak pengarahan, bimbingan, saran dan motivasi selama proses penyusunan skripsi.
6. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen penguji I yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan selama proses penyusunan skripsi.
7. Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku dosen penguji II yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan selama proses penyusunan skripsi.
8. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc., selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat, saran, dan motivasi kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi.
9. Seluruh dosen, laboran, dan staff administrasi Program Studi Kimia yang telah memberikan ilmu, pengalaman, wawasan, dan pelayanan yang baik kepada penulis.
10. Kedua orang tua yang senantiasa terus mendukung penulis tanpa henti. Memberikan nasihat, doa, perhatian, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
11. Teman-teman yang senantiasa memberikan semangat dan mendukung penulis tanpa henti

12. Seluruh pihak yang terlibat secara langsung dan tidak langsung yang telah memberikan kontribusi dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan, sehingga penulis membuka kritik dan saran guna perbaikan maupun pengembangan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan dan kesalahan, semoga naskah skripsi ini dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Malang, 4 Juni 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vii
MOTTO.....	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR LAMPIRAN	xxiii
ABSTRAK	xxv
ABSTRACT	xxvii
مستخلص البحث.....	xxix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Rumput Laut.....	5
2.2 Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>).....	6
2.3 Usia Tumbuh.....	10
2.4 Ekstraksi Maserasi dengan Pelarut Etanol	11
2.5 Aktivitas Antioksidan.....	13
2.6 <i>Total Phenolic Content</i> (TPC).....	16
2.7 <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC)	17
2.8 Uji Fitokimia.....	19
2.9 Spektrofotometri UV-Vis	19
2.10 Kerangka Penelitian	20
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.3 Alat dan Bahan.....	21
3.3.1 Alat	21
3.3.2 Bahan.....	21
3.4 Tahapan Penelitian.....	22
3.5 Cara Kerja	22
3.5.1 Preparasi Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>).....	22
3.5.2 Ekstraksi Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>) Menggunakan Metode Maserasi.....	22
3.5.3 Uji Skrining Fitokimia	23
3.5.3.1 Uji Alkaloid.....	23
3.5.3.2 Uji Flavonoid.....	23
3.5.3.3 Uji Saponin	23
3.5.3.4 Uji Golongan Fenolik	23

3.5.3.4.1	Fenol.....	23
3.5.3.4.2	Tanin.....	24
3.5.3.5	Uji Steroid/Triterpenoid	24
3.5.4	Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	24
3.5.4.1	Pembuatan Larutan DPPH.....	24
3.5.4.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	24
3.5.4.3	Pembuatan Larutan Ekstrak Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>) dan DPPH	24
3.5.4.4	Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Vitamin C)	25
3.5.4.5	Pengukuran Absorbansi.....	25
3.5.5	Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC)	26
3.5.5.1	Pembuatan Larutan Standar Asam Galat.....	26
3.5.5.2	Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat.....	26
3.5.5.3	Pembuatan Kurva Standar.....	26
3.5.5.4	Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC) pada Ekstrak Etanol <i>Gracilaria verrucosa</i>	26
3.5.6	Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC).....	27
3.5.6.1	Pembuatan Larutan Standar Kuersetin	27
3.5.6.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin	27
3.5.6.3	Pembuatan Kurva Standar.....	27
3.5.6.4	Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC) pada Ekstrak Etanol <i>Gracilaria verrucosa</i>	27
3.6	Analisis Data.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		29
4.1	Preparasi Sampel	29
4.2	Ekstraksi Sampel.....	31
4.3	Uji Fitokimia.....	33
4.3.1	Uji Fenolik.....	34
4.3.1.1	Uji Fenol	34
4.3.1.2	Uji Tanin	35
4.3.2	Uji Flavonoid.....	35
4.3.3	Uji Steroid	36
4.3.4	Uji Saponin	36
4.4	Uji Aktivitas Antioksidan	37
4.4.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	37
4.4.2	Pengukuran Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	37
4.5	Analisis Data	39
4.6	<i>Total Phenolic Content</i> (TPC)	41
4.6.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	41
4.6.2	Penentuan <i>Total Phenolic Content</i> (TPC) Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>).....	42
4.7	Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC)	43
4.7.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	43
4.7.2	Penentuan <i>Total Flavonoid Content</i> (TFC) Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	44
4.8	Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>) dalam Perspektif Islam.....	45
BAB V PENUTUP		49

5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Rumput laut <i>Gracilaria verrucosa</i>	6
Gambar 2.2	Struktur flavonoid.....	7
Gambar 2.3	Gugus fenol.....	7
Gambar 2.4	Struktur kimia tanin.....	8
Gambar 2.5	Struktur kimia terpenoid.....	8
Gambar 2.6	Struktur kimia steroid.....	9
Gambar 2.7	Struktur kimia saponin.....	9
Gambar 2.8	Struktur kimia alkaloid.....	10
Gambar 2.9	Reaksi antara DPPH dengan antioksidan.....	15
Gambar 2.10	Gugus Fenol.....	16
Gambar 2.11	Reaksi reagen Folin Ciocalteu dengan senyawa fenol.....	17
Gambar 2.12	Reaksi $AlCl_3$ dengan flavonoid.....	18
Gambar 2.13	Struktur kuersetin (a) dan struktur umum flavonoid (b).....	18
Gambar 4.1	Rumput laut merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>) (a) 2 minggu; (b) 4 minggu; (c) 6 - minggu; (d) 8 minggu; (e) 10 minggu.....	29
Gambar 4.2	Serbuk hasil preparasi.....	31
Gambar 4.3	Hasil ekstraksi (a) pengulangan 1; (b) pengulangan 2; (c) pengulangan.....	33
Gambar 4.4	Perkiraan reaksi senyawa fenol dengan $FeCl_3$	34
Gambar 4.5	Perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan logam Mg - dan HCl.....	36
Gambar 4.6	Perkiraan reaksi senyawa tanin dengan $FeCl_3$	35
Gambar 4.7	Perkiraan reaksi antara steroid dengan Liebermann-Burchard.....	36
Gambar 4.8	Perkiraan reaksi antara saponin dengan air.....	37
Gambar 4.9	Panjang gelombang maksimum DPPH.....	37
Gambar 4.10	Hubungan antara usia tumbuh dengan nilai IC_{50}	38
Gambar 4.11	Panjang gelombang maksimum asam galat.....	41
Gambar 4.12	Kurva standar asam galat.....	42
Gambar 4.13	Panjang gelombang maksimum kuersetin.....	43
Gambar 4.14	Kurva standar kuersetin.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil pengamatan terhadap % rendemen dan kadar air pada bubuk <i>Gracilaria - verrucosa</i>	31
Tabel 4.2 Hasil pengamatan terhadap berat ekstrak kasar dan % rendemen	32
Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia kualitatif ekstrak rumput laut merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	34
Tabel 4.4 Hasil uji normalitas.....	40
Tabel 4.5 Hasil uji homogenitas.....	40
Tabel 4.6 Hasil One Way Anova.....	40
Tabel 4.7 Hasil uji BNT	41
Tabel 4.8 Hasil perhitungan kadar fenolik total rumput laut merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)...	43
Tabel 4.9 Hasil perhitungan kadar flavonoid total rumput laut merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	59
Lampiran 2 Diagram Alir	60
Lampiran 3 Perhitungan	68
Lampiran 4 Rancangan Anggaran Belanja Penelitian	75
Lampiran 5 Jadwal Kegiatan Penelitian	77
Lampiran 6 Data Hasil Penelitian.....	77
Lampiran 7 Spektra Hasil Analisis	105
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian	106

ABSTRAK

Azzahra, S. 2024. **Pengaruh Waktu Pertumbuhan terhadap Aktivitas Antioksidan, Total Phenolic Content (TPC) dan Total Flavonoid Content (TFC) pada Ekstrak Etanol Rumput Laut (*Gracilaria Verrucosa*) dari Tambak Tanjungsari Sidoarjo**. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Tri Kustono Adi, M. Sc. Pembimbing II: Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si

Kata Kunci: Antioksidan, *Gracilaria verrucosa*, Fenolik Total, Flavonoid Total, Maserasi

Rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) merupakan tumbuhan laut yang memiliki aktivitas antioksidan dimana tumbuhan tersebut memiliki senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, terpenoid, dan steroid. Rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang dipanen pada usia berbeda diduga akan memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda pula disebabkan karena perbedaan kandungan senyawa di dalamnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh usia panen *Gracilaria verrucosa* terhadap aktivitas antioksidan menggunakan beberapa variasi usia panen yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 minggu. Penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui nilai *Total Phenolic Content* (TPC) dan nilai *Total Flavonoid Content* (TFC) pada usia panen *Gracilaria verrucosa* yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96%. Uji skrining fitokimia pada penelitian ini meliputi fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid/steroid, dan saponin. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH, uji TPC menggunakan metode Folin-Ciocalteu, dan uji TFC menggunakan metode $AlCl_3$. Selanjutnya akan dilakukan analisis data menggunakan SPSS.

Ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* positif mengandung beberapa golongan senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) didapatkan bahwa terdapat pengaruh usia panen terhadap aktivitas antioksidan, di mana *Gracilaria verrucosa* yang dipanen pada usia 2, 4, 6, 8, dan 10 minggu memiliki nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 210,62 ppm, 163,69 ppm, 140,07 ppm, 125,66 ppm, dan 152,53 ppm. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang dipanen pada usia 8 minggu dengan nilai TPC sebesar $10,11 \pm 0,42$ mgGAE/g dan nilai TFC sebesar $5,863 \pm 1,46$ mgQE/g.

ABSTRACT

Azzahra, S. 2024. **The Impact of Growth Process on Antioxidant Activity, Total Phenolic Content (TPC) and Total Flavonoid Content (TFC) in Ethanol Extract of *Gracilaria Verrucosa* from Tambak Tanjungsari Sidoarjo.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc. Advisor II: Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si

Keywords: Antioxidant, *Gracilaria verrucosa*, Phenolic Content, Flavonoid Content, Maseration

Red algae (*Gracilaria verrucosa*) is a marine plant that exhibits antioxidant activity, due to the presence of bioactive compounds such as phenol, flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, terpenoid, and steroid. It is postulated that red algae (*Gracilaria verrucosa*) harvested at different ages may exhibit varying antioxidant activity, due to differences in the compound content present. The objective of this research was to determine the effect of harvest age on antioxidant activity in *Gracilaria verrucosa*. To this end, samples were harvested at five different ages: 2, 4, 6, 8, and 10 weeks. In addition, the total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were quantified at each harvest age to assess the relationship between antioxidant activity and these chemical properties.

This research employed the maceration extraction method with ethanol p.a. 96% as the solvent. The phytochemical screening encompassed phenol, flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoids/steroid, and saponin. The antioxidant activity test was conducted using the DPPH method, the TPC test utilized the Folin-Ciocalteu method, and the TFC test employed the $AlCl_3$ method. Data analysis will be performed using SPSS.

The ethanol extract of *Gracilaria verrucosa* contains a number of bioactive compounds, including phenol, flavonoid, tannin, steroid, and saponin. This research demonstrates a correlation between the growth age of *Gracilaria verrucosa* and its antioxidant activity. The IC value of *Gracilaria verrucosa* harvested at 2, 4, 6, 8, and 10 weeks was 210.62, 163.69, 140.07, 125.66, and 152.53 ppm, respectively. The 50 value was found to be 210.62 ppm, 163.69 ppm, 140.07 ppm, 125.66 ppm, and 152.53 ppm. The highest antioxidant activity was observed in *Gracilaria verrucosa*, harvested at eight weeks, with a total phenolic content (TPC) value of 10.11 ± 0.42 mg GAE/g and a total flavonoid content (TFC) value of 5.863 ± 1.46 mg QE/g.

مستخلص البحث

الزهرة، س. ٢٠٢٤. تأثير وقت النمو على نشاط مضادات الأكسدة والمحتوى الفينولي الكلي (TPC) ومحتوى الفلافونويد الكلي (TFC) في مستخلص إيثانول الأعشاب البحرية (جراسيلاريا فيروكوزا) من تمباك تانجونجساري سيدوارجو. بحث جامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: الدكتور تري كوستونو عدي، الماجستير المشرفة الثانية: ليليك مفتاح الخيرة، الماجستير

الكلمة الرئيسية: مضادات الأكسدة، جراسيلاريا فيروكوزا، إجمالي الفينولات، إجمالي مركبات للفلافونويد، النقع

الأعشاب البحرية الحمراء (جراسيلاريا فيروكوزا) هي نبات بحري له نشاط مضاد للأكسدة حيث يحتوي النبات على مركبات مستقلة ثانوية مثل الفينولات والفلافونويد والعصص والصابونين والقلويات والتيريبيويدات والمنشطات التي يعتقد أنها تعمل كمركبات مضادة للأكسدة. يعتقد أن الأعشاب البحرية الحمراء (جراسيلاريا فيروكوزا) التي يتم حصادها في مختلف الأعمار لها نشاطا مضادا للأكسدة مختلفا بسبب الاختلاف في محتوى المركب فيها. أجريت هذه الدراسة لتحديد تأثير عمر حصاد جراسيلاريا فيروكوزا على نشاط مضادات الأكسدة. أجريت هذه الدراسة أيضا لتحديد قيمة المحتوى الفينولي الكلي (TPC) وإجمالي محتوى الفلافونويد (TFC) في عمر حصاد جراسيلاريا فيروكوزا الذي يحتوي على أعلى نشاط مضاد للأكسدة.

أجريت هذه الدراسة باستخدام طريقة استخراج النقع مع مذيب الإيثانول بنسبة 96%. تشمل اختبارات الفحص الكيميائي النباتي في هذه الدراسة الفينولات والفلافونويد والقلويات والعصص والتيريبيويدات / المنشطات والصابونين. تم إجراء اختبار نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH ، واختبار TPC باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu ، واختبار TFC باستخدام طريقة AICI₃ علاوة على ذلك ، سيتم إجراء تحليل البيانات باستخدام SPSS. يحتوي مستخلص الإيثانول الإيجابي جراسيلاريا فيروكوزا على عدة فئات من مركبات الأيض الثانوية مثل الفينولات والفلافونويد والعصص والمنشطات والصابونين. وجدت نتائج اختبار نشاط مضادات الأكسدة على مستخلص إيثانول الأعشاب البحرية الحمراء (جراسيلاريا فيروكوزا) أن هناك تأثيرا لعمر الحصاد على نشاط مضادات الأكسدة ، حيث كان جراسيلاريا فيروكوزا الذي تم حصاده في عمر ٢ و ٤ و ٦ و ٨ و ١٠ أسابيع قيم IC₅₀ له ٢١٠،٦٢ ppm و ١٦٣،٦٩ ppm و ٤٠،٠٧ ppm و ١٢٥،٦٦ ppm و ١٥٢،٥٣ ppm على التوالي. تم العثور على أعلى نشاط مضاد للأكسدة في الأعشاب البحرية الحمراء (جراسيلاريا فيروكوزا) التي يتم حصادها في عمر ٨ أسابيع. يحتوي مستخلص الإيثانول البالغ من العمر 8 أسابيع من الأعشاب البحرية الحمراء (جراسيلاريا فيروكوزا) على إجمالي محتوى مركب فينولي يبلغ ٤٢ ± ١٠،٠٤ mgGAE/g ومركب فلافونويد إجمالي يبلغ ٦٣ ± ٥،٨ mgQE / g ،

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah Swt. berfirman pada Al-Qur'an surah An-Nahl ayat 14:

﴿ وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حَبْلًا مَلْبَسًا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِيَبْتَلِيَكُمْ مِنْ فَضْلِهِ وَالْعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya, dan agar kamu bersyukur”.

Al-Qur'an surat an Nahl ayat 14 merupakan salah satu ayat yang menggambarkan bahwa Allah telah menundukkan lautan untuk kepentingan manusia. Dalam ayat ini, Allah berfirman bahwa Dia telah menundukkan lautan agar manusia dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, mengeluarkan perhiasan yang dipakai, melihat perahu berlayar padanya, dan mencari sebagian karunia-Nya. Ayat ini menunjukkan bahwa lautan memiliki berbagai fungsi dan manfaat bagi manusia, baik sebagai sumber makanan, perhiasan, transportasi, maupun rezeki. Dalam tafsirnya, Ibnu Katsir menjelaskan bahwa ayat ini mengajak manusia untuk memperhatikan kekuasaan Allah yang telah menciptakan lautan dengan segala isinya, dan menundukkannya untuk kebaikan manusia (Al-Mubarakfuri, 2011). Sedangkan Al-Misbah menafsirkan bahwa ayat ini mengandung makna bahwa Allah telah memberikan kemudahan dan kesejahteraan bagi manusia dengan menundukkan lautan, sehingga manusia dapat memanfaatkannya dengan cara yang halal dan bermanfaat (Shihab, 2001). Ayat tersebut merujuk pada kekayaan alam laut yang sangat melimpah sehingga semua hasil laut dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya. Salah satu kekayaan laut tersebut yaitu tumbuhan laut, yang dalam hal ini adalah rumput laut. Rumput laut secara umum dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya sebagai bahan makanan, suplemen, obat-obatan, produk kecantikan dan sebagainya sebagai bentuk implementasi dari surat an Nahl ayat 14 di mana rumput laut termasuk sebagai sumber makanan maupun sumber rezeki.

Rumput laut merupakan komoditas unggulan dalam sektor perikanan karena kebutuhannya yang terus meningkat baik untuk konsumsi dalam negeri maupun ekspor luar negeri. Indonesia menjadi salah satu negara pengeksport rumput laut terbesar di dunia. BPS mencatat, salah satu negara tujuan Indonesia untuk ekspor rumput laut yaitu Tiongkok dengan nilai ekspor mencapai 336,742 USD dan kuantitas sebesar 194 ribu ton pada tahun 2022 (Badan Pusat Statistik, 2023). Mempertimbangkan kuantitas rumput laut yang dihasilkan oleh Indonesia tersebut, maka sangat diperlukan adanya upaya-upaya pemanfaatan dalam berbagai bidang, salah satunya yaitu penelitian mengenai manfaat rumput laut dalam bidang kesehatan seperti antioksidan.

Rumput laut yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia adalah rumput laut merah *Gracilaria* sp., di mana salah satu spesiesnya adalah *Gracilaria verrucosa*. Rumput laut jenis ini memiliki keunggulan diantaranya adalah paling banyak ditemukan, mudah diperoleh, harganya yang murah, dan pengolahannya yang mudah (Martinah dkk, 2014). Menurut Marseno dkk (2010), kandungan rumput laut merah dipengaruhi oleh waktu/usia panen, cara panen, dan keadaan cuaca pada saat panen. Secara umum, rumput laut dipanen pada usia 1,5 – 2 bulan (6-8 minggu). Apabila rumput laut dipanen kurang dari usia tersebut maka akan dihasilkan rumput laut dengan kandungan yang rendah. Hal tersebut dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Marseno dkk (2010) dengan rumput laut merah *Eucheuma cottonii* bahwa terdapat pengaruh usia panen terhadap kualitas karagenan di mana usia panen terbaik yaitu 45 hari (6 minggu). Menurut (Aripudin dkk., 2022) dikatakan bahwa di dalam karagenan terdapat kandungan senyawa golongan fenol di mana senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa ini merupakan kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan dan banyak terdapat pada hampir semua jenis rumput laut (Loho dkk, 2021). Oleh karena itu diasumsikan bahwa apabila terdapat pengaruh usia panen terhadap kandungan karagenan, maka diharapkan akan terdapat pula pengaruh usia panen terhadap aktivitas antioksidan. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan pengujian mengenai pengaruh usia panen terhadap aktivitas antioksidan pada rumput laut merah *Gracilaria verrucosa*.

Ekstraksi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi maserasi menggunakan etanol p.a 96% dengan lama waktu 48 jam dan dilakukan remaserasi. Menurut Astra dkk (2016), perbandingan hasil rendemen dan aktivitas antioksidan antara metode ekstraksi maserasi, digerasi, dan soxhletasi pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dengan etanol p.a didapatkan hasil aktivitas antioksidan tertinggi pada maserasi sebesar 19,7% dengan aktivitas antioksidan sebesar 60,59 ppm. Kurniawati dkk (2016) melakukan ekstraksi maserasi dengan variasi pelarut polar (aseton, etanol 80%, etanol 96%, dan aquades) dan variasi waktu (24, 48, dan 72 jam) pada rumput laut merah *Gracilaria* sp. Ekstrak paling tinggi didapatkan dari pelarut etanol 96% dengan waktu terbaik selama 48 jam. Oleh karena itu ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol p.a 96% dipilih karena hasil rendemen dan kandungan antioksidannya yang paling besar dibandingkan dengan pelarut lain.

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang didapatkan dari ekstraksi maserasi tersebut selanjutnya akan diukur aktivitas antioksidannya, dengan cara membandingkan hasil IC₅₀ dari rumput laut merah (*gracilaria verrucosa*) dengan kontrol positif vitamin C. Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini akan menggunakan metode DPPH. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Hartanto & Sutriningsih (2018) di mana metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dipilih karena hanya membutuhkan sedikit sampel, mudah, sederhana, cepat, dan sensitif untuk dapat mengetahui aktivitas antioksidan dari suatu senyawa bahan alam.

Proses penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini akan didukung pula dengan penentuan *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) yang akan dilakukan pada variasi usia panen *Gracilaria verrucosa* dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Tujuan dari dilakukannya penentuan kandungan senyawa-senyawa tersebut adalah untuk mengkonfirmasi bahwa pada *Gracilaria verrucosa* dengan usia panen yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi memiliki kandungan senyawa golongan fenolik dan flavonoid. Senyawa golongan fenolik dipilih karena merupakan golongan senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan dan banyak terdapat pada hampir semua jenis rumput laut (Loho dkk, 2021). Sementara itu flavonoid termasuk dalam golongan fenolik terbesar di mana senyawa tersebut mengandung gugus kromofor. Oleh karena itu peneliti juga ingin mengetahui nilai TPC pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*). *Total Phenolic Content* (TPC) akan ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu sedangkan *Total Flavonoid Content* (TFC) akan diukur menggunakan metode $AlCl_3$.

Berdasarkan uraian-uraian yang telah disebutkan, dapat disimpulkan bahwa usia panen rumput laut akan berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan kualitas rumput laut. Karakteristik kualitas rumput laut dapat dilihat dari sifat fisik (kekuatan gel) dan sifat kimia (senyawa antioksidan). Hingga saat ini belum ada penelitian mengenai pengaruh usia atau proses pertumbuhan (*growing process*) terhadap aktivitas antioksidan dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dengan usia panen 2, 4, 6, 8, dan 10 minggu untuk melihat ada tidaknya pengaruh usia panen atau proses pertumbuhan (*growing process*) terhadap aktivitas antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apa saja golongan senyawa yang teridentifikasi pada uji fitokimia dalam ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi maserasi pada berbagai usia tumbuh?
2. Bagaimana pengaruh usia panen terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi maserasi?
3. Berapa kadar senyawa fenolik total dan senyawa flavonoid total dari ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi maserasi pada berbagai usia tumbuh.
2. Untuk mengetahui pengaruh usia panen terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi maserasi.

3. Untuk mengetahui kadar senyawa fenolik total dan senyawa flavonoid total dari ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini hanya mengambil sampel rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dari satu lokasi yaitu tambak Tanjungsari, Kecamatan Jabon, Sidoarjo.
2. Penelitian ini hanya menguji aktivitas antioksidan dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) pada lima usia panen yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 minggu.
3. Penelitian ini hanya menguji *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) dari *Gracilaria verrucosa* yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.
4. Penelitian ini hanya menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol p.a 96% untuk mendapatkan ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*.
5. Penelitian ini menggunakan metode DPPH untuk mengukur aktivitas antioksidan, metode Folin-Ciocalteu untuk mengukur *Total Phenolic Content* (TPC), dan metode $AlCl_3$ untuk mengukur *Total Flavonoid Content* (TFC) pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*).
6. Penelitian ini hanya menggunakan uji fitokimia untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*).

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi baru mengenai pengaruh usia tumbuh terhadap aktivitas antioksidan yang terdapat pada rumput laut *Gracilaria verrucosa* hasil ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96%.
2. Memberikan kontribusi ilmiah bagi perkembangan ilmu pengetahuan mengenai rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi sebagai bahan baku obat dan kosmetik.
3. Memberikan manfaat praktis bagi petani rumput laut, masyarakat umum, dan berbagai industri seperti farmasi dan kosmetik dalam menentukan usia tumbuh optimal untuk mendapatkan aktivitas antioksidan tertinggi dari rumput laut, serta untuk mengetahui golongan senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam ekstraknya.
4. Memberikan inspirasi dan acuan bagi penelitian selanjutnya yang ingin mengkaji lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan, kandungan senyawa fenolik total, dan kandungan senyawa flavonoid total dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* dengan menggunakan metode ekstraksi, pelarut, dan pengujian yang berbeda.
5. Memberikan informasi ilmiah yang dapat digunakan sebagai upaya untuk mentadabburi Al-Qur'an, khususnya surah An-Nahl ayat 1.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut

Rumput laut atau yang biasa disebut dengan *seaweed* merupakan salah satu sumber daya hayati yang melimpah di Indonesia, jumlahnya yaitu sekitar 8,6% dari total biota di laut. Rumput laut adalah tanaman yang tidak bisa dibedakan antara bagian akar, batang, dan daun. Seluruh bagian dari rumput laut disebut *thallus* (Suparmi & Sahri, 2009). Rumput laut merupakan alga makroskopis yang hidup di perairan laut sampai dengan kedalaman 200 meter. Rumput laut hidup dengan cara menempel pada substrat seperti lumpur, pasir, karang mati, kayu, maupun kulit kerang. Rumput laut dapat tumbuh di perairan baik yang memiliki iklim tropis, subtropis, dan perairan dingin. Rumput laut diketahui memiliki berbagai kandungan nutrisi esensial seperti enzim, asam nukleat, asam amino, mineral, *trace elements*, dan vitamin A; B; C; D; E; dan K (Hafsari, 2017). Rumput laut dapat dikatakan sebagai produk unggulan karena memiliki nilai ekonomis yang dapat meningkatkan sektor ekonomi dari petani, produsen, pengolah, dan pengguna (Halimah dkk, 2022).

Rumput laut dibedakan menjadi 4 kelas berdasarkan perbedaan pigmennya, diantaranya adalah rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*), dan rumput laut hijau biru (*Cyanophyta*) (Hafsari, 2017). Di Indonesia terdapat lima jenis rumput laut yang bernilai ekonomis tinggi sebagai komoditi ekspor maupun sebagai konsumsi domestik diantaranya adalah *Euclima* sp., *Gracilaria* sp., *Geldium* sp., *Sargassum* sp., dan *Hypnea* sp. (Marseno dkk, 2010). Rumput laut secara umum dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang diantaranya adalah pada bidang pangan dan non pangan. Adapun pemanfaatan rumput laut pada bidang pangan yaitu agar, asinan, susu, *ice cream*, roti, obat, suplemen, dan sebagainya. Sedangkan dalam bidang non pangan diantaranya adalah bidang industri (cat, keramik, tekstil, kertas), kosmetika, dan pertanian (bahan baku pupuk). Kelebihan dari rumput laut adalah dapat dimanfaatkan dalam bentuk *raw material* (seluruh bagian tumbuhan) maupun sebagai bahan baku campuran.

Pigmen yang terdapat pada rumput laut bukan hanya berfungsi sebagai pewarna, tapi memiliki peranan penting bagi bidang kesehatan. Komposisi berbagai senyawa bioktif yang sangat bervariasi pada rumput laut dapat memberikan keunikan tersendiri pada masing-masing jenis rumput laut. Jenis-jenis fotosintetik pigmen rumput laut terdiri dari klorofil (a, b, c), karotenoid (karoten dan xantofil) serta fikobilin (fikoeritrin dan fikosiain). Rumput laut secara umum dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibakteri, antiperadangan, antikanker, dan sebagainya. Sebagai antioksidan, rumput laut mengandung berbagai molekul antioksidan labil (asam askorbat dan *glutathione*) serta mengandung antioksidan stabil (karotenoid, mikosporin-asam amino, serta beberapa polifenol seperti katekin dan phlorotannin) (Sanger dkk, 2018). Antioksidan pada rumput laut tersebut termasuk dalam antioksidan alami yang

mampu melindungi tubuh dari kerusakan oleh radikal bebas yang disebabkan karena adanya stress oksidatif, sehingga mampu menghambat berbagai penyakit degeneratif dan menghambat peroksidasi lipid. Antioksidan alami lebih bisa dijadikan alternatif pilihan daripada antioksidan sintetik yang dikhawatirkan akan menyebabkan efek samping dari sifatnya yang karsinogenik berdasarkan uji toksikologi yang dapat memicu berkembangnya sel-sel kanker (Ganesan dkk, 2008).

2.2 Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Salah satu rumput laut merah yang dibudidayakan di Indonesia adalah *Gracilaria verrucosa*, tumbuhan ini tergolong dalam makroalga yang banyak hidup di dasar perairan baik di laut maupun air tawar. *Gracilaria verrucosa* memiliki batang daun semu sehingga digolongkan dalam *Thallophyta*. Rumput laut jenis ini tersusun atas jaringan yang kuat, berwarna merah ungu kehijauan, bercabang hingga mencapai tinggi 1-3 dm. Bentuk cabangnya silindris dan meruncing di ujungnya.

Menurut Anggadireja dkk, (2006), *Gracilaria verrucosa* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

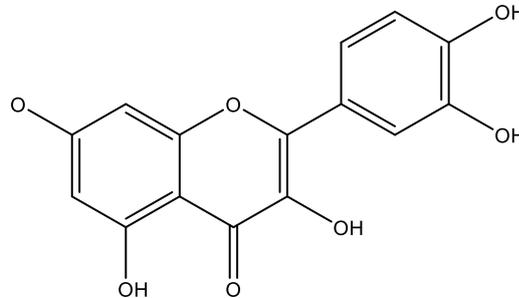
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Gracilariaceae
Genus	: Gracilaria
Spesies	: <i>Gracilaria verrucosa</i>



Gambar 2.1 Rumput laut *Gracilaria verrucosa* (dokumentasi pribadi)

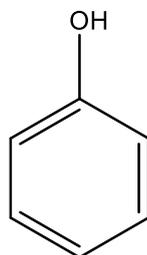
Setiap spesies rumput memiliki pigmen yang berbeda, dan setiap pigmen mengandung senyawa bioaktif yang unik. Rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang termasuk dalam *Rhodophyta* memiliki senyawa aktif seperti fenol, flavonoid, saponin, tanin, hydroquinone, alkaloid, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa sumber yang dapat digunakan untuk menghambat reaksi oksidasi sehingga bersifat sebagai antioksidan. Kemampuan antioksidan yang terdapat pada rumput laut merah dapat membantu menyeimbangkan pasokan antioksidan dalam tubuh sehingga mencegah kerusakan sel yang dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker dan penyakit degeneratif lainnya.

Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$, di mana kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya untuk menetralkan efek toksik dari radikal bebas (Redha, 2010). Febrianto dkk (2019) telah melakukan uji kualitatif flavonoid pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan hasil positif. Struktur dari flavonoid disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur flavonoid (Luringunusa dkk, 2023)

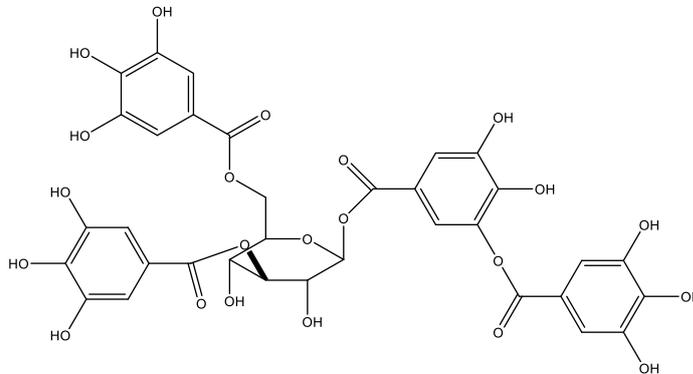
Fenol merupakan golongan metabolit sekunder pada tumbuhan dan termasuk dalam alkohol aromatik karena gugus hidroksilnya terikat pada cincin benzene. Senyawa fenolik alami biasanya terdapat dalam bentuk polifenol seperti flavonoidlignin, tokofenol, kumarin, dan sebagainya (Luringunusa dkk, 2023). Ciri struktur kimia dari senyawa fenol adalah memiliki cincin aromatik dengan adanya salah satu gugus hidroksil (OH) yang terikat. Mekanisme fenol sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogen melalui proses transfer elektron, sehingga fenol akan berubah menjadi radikal fenoksil. Radikal fenoksil yang merupakan hasil dari reaksi fenol dengan radikal bebas kemudian akan mengalami penstabilan diri karena efek resonansi. Oleh karena itu, fenol merupakan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen dengan baik sehingga dapat menghambat reaksi yang terjadi akibat adanya radikal (inhibitor radikal) (Asih dkk., 2022). Febrianto dkk (2019) telah melakukan uji kualitatif alkaloid pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan hasil positif. Struktur dasar gugus fenol disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3 Gugus fenol

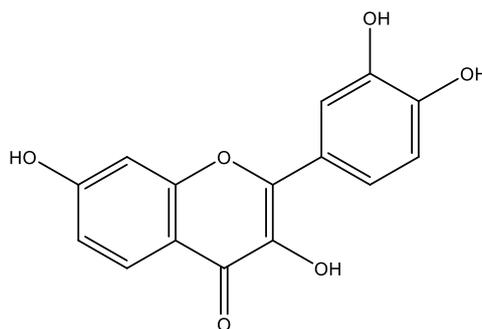
Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder dan komponen zat organik yang sangat kompleks, tannin terdiri atas senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal. Tanin mampu mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Kartika dkk, 2020). Tanin dapat bekerja sebagai antioksidan sekunder dengan cara

menghentikan pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat logam besi. Tanin dapat menekan proses peroksidasi lipid sehingga mencegah terjadinya hiperkolestroleemia (Octaviani dkk, 2021). Luringunusa dkk (2023) telah melakukan uji kualitatif tanin pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan hasil positif. Struktur dari tanin disajikan pada Gambar 2.8



Gambar 2.4 Struktur kimia tanin (Luringunusa dkk, 2023)

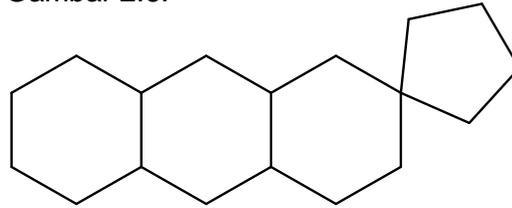
Terpenoid atau terpen merupakan senyawa yang berasal dari molekul isoprene $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun dari dua atau lebih satuan C_5 . Terpenoid terdiri dari beberapa senyawa seperti monoterpena dan seskuiterpena yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, serta triterpenoid dan sterol yang tidak mudah menguap (Illing dkk, 2017). Mekanisme triterpenoid sebagai antioksidan adalah dengan mekanisme kerja antioksidan primer yaitu mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Maulida dkk, 2016). Menurut Hardiningtyas dkk (2014), mekanisme antioksidan dari triterpenoid adalah dengan menangkap spesies reaktif seperti superoksida, dan mengkelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{2+}). Febrianto dkk (2019) telah melakukan uji kualitatif triterpenoid pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan hasil positif. Struktur dari terpenoid disajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur kimia terpenoid (Azalia dkk, 2023)

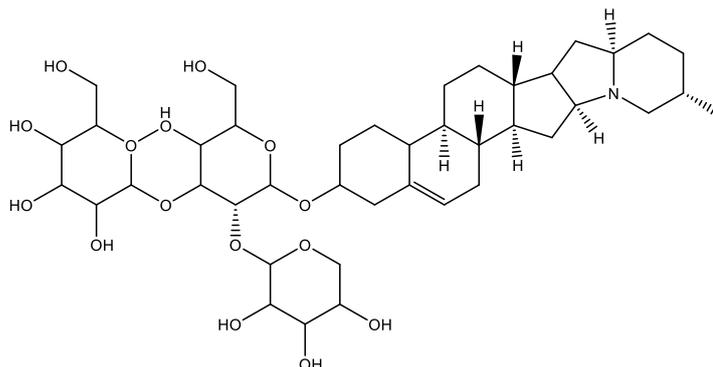
Steroid merupakan senyawa yang tergolong dalam senyawa lemak yang terdiri dari rantai karbon dengan 4 cincin, 3 cincin utama berupa sikloheksana dan 1 cincin lainnya berupa siklopentana. Pengelompokan senyawanya berdasarkan pada gugus yang terikat pada kerangka dasar rangkai karbon (Kristanti, 2008). Menurut Luringunusa (2023) yang telah melakukan uji kualitatif steroid pada *Gracilaria verrucosa*, didapatkan perubahan berupa

adanya cincin kecoklatan pada perbatasan pelarut yang menandakan positif steroid. Struktur dari steroid disajikan pada Gambar 2.6.



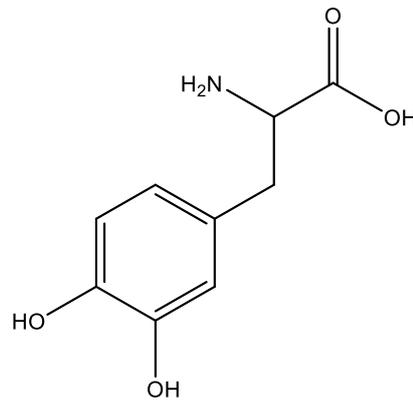
Gambar 2.6 Struktur kimia steroid (Luringunusa, 2023)

Saponin merupakan senyawa aktif yang apabila dikocok dalam air maka akan menimbulkan buih atau busa. Saponin termasuk dalam metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon dengan senyawa aktif permukaan bersifat seperti sabun (Illing dkk, 2017). Sapogenin merupakan bagian dari saponin yang bebas dari glikosida yang biasa disebut dengan aglikon. Senyawa ini memiliki efek antioksidan karena dapat membentuk hidroperoksida sebagai antioksidan sekunder sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Kartika dkk, 2020). Febrianto dkk (2019) telah melakukan uji kualitatif saponin pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan hasil positif. Struktur dari saponin disajikan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur kimia saponin (Luringunusa dkk, 2023)

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki satu buah atom nitrogen atau lebih yang bersifat basa. Alkaloid dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Alkaloid mengandung atom nitrogen pada strukturnya, atom tersebut mempunyai pasangan elektron bebas yang berfungsi untuk meredam aktivitas radikal bebas pada tubuh. Mekanisme atau cara kerja tersebut menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer (Kurniati, 2013). Febrianto dkk (2019) telah melakukan uji kualitatif alkaloid pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan hasil positif. Struktur dari alkaloid disajikan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.8 Struktur kimia alkaloid (Luringunusa dkk, 2023)

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, banyaknya senyawa bioaktif yang terdapat pada rumput laut *Gracilaria verrucosa* menyebabkan rumput laut jenis ini dapat berperan sebagai antioksidan.

2.3 Usia Tumbuh

Usia tumbuh merupakan salah satu faktor intrinsik yang berpengaruh pada aktivitas antioksidan. Pada umumnya rumput laut dipanen pada usia 6-8 minggu. Proses pertumbuhan rumput laut sendiri dipengaruhi oleh intensitas sinar matahari yang digunakan untuk melakukan proses fotosintesis di mana pada proses ini terjadi penyerapan unsur-unsur hara oleh sel pada rumput laut yang dapat memicu pertumbuhan harian rumput laut melalui aktivitas pembelahan sel. Proses fotosintesis pada rumput laut akan mempengaruhi banyaknya sel-sel yang dihasilkan dari proses metabolisme sehingga jumlah dan ukuran *thallus* akan semakin banyak dan besar.

Menurut penelitian pertumbuhan rumput laut yang dilakukan oleh (Antari dkk, 2021) didapatkan informasi bahwa pada minggu ke-1 proses pertumbuhan relatif kecil, hal tersebut dikarenakan rumput laut masih mengalami aklimatisasi atau penyesuaian diri dengan keadaan lingkungan tempat rumput laut tersebut dikembangbiakkan. Adanya proses aklimatisasi menyebabkan *thallus* belum dapat beradaptasi dengan kondisi perairan. Selanjutnya pada minggu ke-2 sampai minggu ke-5 rumput laut sudah mulai mengalami peningkatan pertumbuhan di mana hal tersebut menandakan bahwa rumput laut sudah melewati fase adaptasi. Pertumbuhan rumput laut semakin cepat pada minggu ke-6 dan minggu ke-7, hal tersebut menunjukkan bahwa rumput laut masih dalam fase pertumbuhan dan belum mencapai fase stasioner. Selanjutnya di atas minggu ke-8 terjadi penurunan proses pertumbuhan karena rumput laut telah mencapai fase stasioner.

Menurut Novianty (2019) usia panen akan berpengaruh terhadap kualitas rumput laut. Hal tersebut disebabkan karena keadaan *thallus* (seluruh bagian tubuh rumput laut) akan semakin lemah sehingga akan banyak *thallus* yang terputus dari tubuh rumput laut. Lemahnya

thallus menandakan semakin jelek kualitas rumput laut tersebut karena akan mengakibatkan menurunnya atau rendahnya fungsi-fungsi zat yang terkandung pada rumput laut.

Menurut Nobossé dkk (2018) yang melakukan penelitian aktivitas antioksidan pada daun kelor, dikatakan bahwa aktivitas antioksidan terbukti dipengaruhi oleh beberapa faktor intrinsik dan ekstrinsik, faktor intrinsiknya yaitu usia dan kultivar, sedangkan faktor ekstrinsiknya yaitu musim panen, lokasi, perlakuan pasca panen, pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi, lama ekstraksi, suhu ekstraksi, penyimpanan, cahaya, dan kandungan senyawa kimia. Selain itu dikatakan pula bahwa tahap kematangan optimal untuk aktivitas antioksidan bergantung pada jenis tanamannya.

Berdasarkan uraian-uraian yang telah disebutkan, dapat disimpulkan bahwa usia rumput laut akan berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan kualitas rumput laut. Karakteristik kualitas rumput laut dapat dilihat dari sifat fisik (kekuatan gel) dan sifat kimia (senyawa antioksidan). Namun hingga saat ini belum ada penelitian mengenai pengaruh usia terhadap kualitas aktivitas antioksidan dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* atau dengan kata lain masih belum adanya informasi apakah rumput laut *Gracilaria verrucosa* usia muda, sedang, dan tua memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda. Menurut Rajauria dkk (2016), kandungan polifenol dari rumput laut bervariasi tergantung dari jenis spesies, musim, usia panen, waktu panen, dan letak geografi. Penelitian tersebut menyatakan bahwa terdapat pengaruh dari perbedaan usia panen atau *growing process* terhadap kandungan polifenol rumput laut, namun belum dilakukan penelitian mengenai pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan.

2.4 Ekstraksi Maserasi dengan Pelarut Etanol

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan bahan atau senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Mukhtarini, 2014). Ekstraksi maserasi adalah proses ekstraksi dengan cara merendam bubuk simplisia menggunakan pelarut, sesekali atau terus menerus dilakukan pengocokan dalam waktu tertentu. Metode maserasi merupakan metode yang sederhana dan cepat namun sudah mampu menyari zat aktif dari simplisia dengan maksimal. Kelebihan dari metode maserasi adalah tidak adanya proses pemanasan sehingga dapat mencegah rusak, terurai, dan hilangnya zat aktif yang bersifat termolabil seperti fenolik (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015). Ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi yang menguntungkan untuk isolasi bahan alam karena dengan perendaman sampel, akan terjadi pemecahan dinding sel akibat adanya perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma akan larut bersamaan dengan pelarut dan ekstraksi akan sempurna (Kurniawati dkk, 2016).

Pemilihan pelarut sangat mempengaruhi hasil penyarian, pada penelitian ini digunakan etanol p.a 96% karena pelarut tersebut termasuk dalam pelarut yang tidak toksik, absorpsinya baik, dan kemampuan menyariannya yang tinggi sehingga mampu melarutkan hampir semua

senyawa polar, semi polar, dan non polar (Arifin dkk., 2006). Selain itu, etanol 96% akan lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada etanol lain dengan konsentrasi rendah sehingga mampu menghasilkan ekstrak yang lebih pekat. Semakin tinggi konsentrasi atau kepekatan pelarut maka pelarut tersebut akan lebih mampu menarik zat aktif yang ada di dalam sampel dan menghasilkan hasil maserasi yang lebih besar (Kurniawati dkk, 2016). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lestario dkk (2008), golongan senyawa fenolik total bersifat semi polar, sedangkan menurut Kemit dkk (2016) flavonoid bersifat polar sehingga etanol dengan konsentrasi 96% cocok untuk digunakan dalam ekstraksi maserasi ini.

Waktu ekstraksi juga mempengaruhi hasil ekstraksi, semakin lama waktunya maka akan semakin lama pula waktu antara pelarut dengan sampel untuk bersentuhan sehingga hasilnya akan mencapai titik optimum. Namun, waktu maserasi yang melewati titik optimum justru akan merusak zat terlarut dan mengakibatkan hilangnya senyawa atau zat aktif pada larutan karena proses penguapan (Widodo dkk, 2021). Agar senyawa atau zat aktif di dalam sampel dapat terekstrak secara menyeluruh maka dilakukan re-maserasi atau pengulangan (Langi dkk, 2020). Pengulangan proses maserasi dengan jumlah pelarut yang lebih kecil akan lebih efisien dibandingkan hanya dilakukan sekali dengan jumlah pelarut yang sekaligus banyak (Khopkar, 2008).

Pada penelitian ini akan dilakukan maserasi dengan pelarut etanol p.a 96% dengan lama waktu total 48 jam dan dilakukan remaserasi hingga didapatkan dua filtrat yang nantinya akan digabung menjadi satu. Ramdani dkk (2021) telah membandingkan rendemen hasil ekstraksi maserasi, sonikasi, dan soxhletasi pada rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) dan didapatkan hasil rendemen tertinggi pada maserasi. Hasil rendemen maserasi, sonikasi, dan soxhletasi secara berturut-turut yaitu 41,96%; 17,11%; dan 33,26%. Astra dkk (2016) telah membandingkan hasil rendemen dan aktivitas antioksidan antara metode ekstraksi maserasi, digerasi, dan soxhletasi pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dengan berat sampel 25 gram dalam 250 mL pelarut etanol dan didapatkan hasil aktivitas antioksidan tertinggi pada maserasi. Hasil rendemen dan aktivitas antioksidan maserasi, digerasi dan soxhletasi secara berturut-turut yaitu 19,7% dengan 60,59 ppm, 21,3% dengan 104,34 ppm, dan 20,3% dengan 75 ppm. Kurniawati dkk (2016) telah melakukan ekstraksi maserasi dengan variasi pelarut polar (aseton, etanol 80%, etanol 96%, dan aquades) dan variasi waktu (24, 48, dan 72 jam) pada *Gracilaria* sp. Ekstrak paling tinggi didapatkan dari pelarut etanol 96% dengan waktu terbaik selama 48 jam. Ningsih dkk (2020) membandingkan hasil metode ekstraksi maserasi dengan remaserasi pada rimpang kunyit (*Curcuma domestica*), hasil rendemen paling tinggi berasal dari metode ekstraksi remaserasi yaitu sebesar 23,3% sedangkan ekstraksi maserasi menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 22% dari sampel sebanyak 150 gram dan pelarut sebanyak 450 mL.

2.5 Aktivitas Antioksidan

Allah sang maha pengatur dan pemberi rezeki telah sebaik mungkin menciptakan sesuatu yang memiliki manfaat dan hikmah bagi kepentingan makhluknya. Salah satu ciptaan Allah yang mudah dijumpai dalam lautan yaitu rumput laut. Rumput laut merupakan bukti sederhana dari ciptaan Allah yang memiliki manfaat dan hikmah yang berguna. Allah Swt. berfirman dalam surah Ar-Ra'd ayat 4:

﴿ وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ وَجَنَّتْ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنُونٌ وَغَيْرُ صِنُونٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَتْ بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴾

Artinya: “Di bumi terdapat bagian-bagian yang berdampingan, kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman, dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang. (Semua) disirami dengan air yang sama, tetapi Kami melebihkan tanaman yang satu atas yang lainnya dalam hal rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar (terdapat) tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengerti”.

Firman Allah tersebut menurut Markaz Ta'dzihim Al-Qur'an menyatakan bahwa “Kami melebihkan tanaman yang satu atas yang lainnya” makna tersebut menunjukkan bahwa terdapat berbagai buah-buahan dan tanaman yang memiliki rasa, warna, kualitas, dan manfaat yang berbeda-beda, selain itu menunjukkan bahwa adanya penumbuhan jenis-jenis tumbuhan yang beraneka ragam di suatu kawasan luas yaitu hamparan bumi. Setiap tanaman yang Allah tumbuhkan pasti memiliki manfaat yang berbeda-beda dan khas antar satu dengan yang lain. Dalam tafsirnya, Ibnu Katsir menjelaskan bahwa terdapat banyak sekali tumbuhan tetapi hasilnya (rasa, warna, kualitas, dan manfaat) akan berbeda-beda dengan perbedaan yang tak terhitung (Mubarakfuri, 2011). Hal tersebut menyatakan tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang menggunakan pikirannya. Allah memberikan karunia kepada manusia berupa akal untuk berpikir, khususnya memikirkan mengenai manfaat dari penciptaan tanaman yang beraneka ragam di muka bumi.

Rumput laut merupakan salah satu contoh ciptaan Allah yang memiliki banyak manfaat. Rumput laut akan memunculkan beberapa zat untuk dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, salah satu contohnya adalah manfaat rumput laut sebagai antioksidan melalui berbagai kandungan metabolit sekunder yang ada didalamnya. Kandungan metabolit sekunder dan antioksidan tersebut bisa jadi berbeda antar rumput laut dengan tumbuhan lain karena kadar atau kandungan metabolit sekunder di setiap tanaman pun khas dan berbeda-beda.

Secara garis besar, pertumbuhan tanaman dibagi menjadi 3 fase (muda, dewasa, dan tua. Kandungan senyawa di dalam tanaman akan mengikuti 3 fase pertumbuhan tersebut. Mula-mula kandungannya masih sangat sedikit di usia muda, perlahan-lahan akan meningkat sampai usia dewasa, dan akhirnya konstan atau stasioner sehingga kualitas tanaman akan mengalami penurunan di masa tua. Dalam hal ini, kandungan (metabolit sekunder) rumput

laut pada usia yang berbeda akan mengalami perbedaan pula. Hal tersebut dapat dianalogikan pada Qur'an surah Ar Rum ayat 54.

﴿اللَّهُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ ضَعْفٍ ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ ضَعْفٍ قُوَّةً ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ قُوَّةٍ ضَعْفًا وَشَيْبَةً يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ وَهُوَ الْعَلِيمُ الْقَدِيرُ﴾

Artinya: "Allah adalah Zat yang menciptakanmu dari keadaan lemah, kemudian Dia menjadikan (kamu) kuat setelah keadaan lemah. Lalu, Dia menjadikan (kamu) lemah (kembali) setelah keadaan kuat dan beruban. Dia menciptakan apa yang Dia kehendaki. Dia Maha Mengetahui lagi Maha Kuasa".

Ibnu Katsir mengatakan bahwa ayat tersebut menceritakan mengenai fase kehidupan tahap demi tahap. Kata lemah yang pertama berarti masa ketika masih berupa nutfah. Kata lemah yang kedua berarti masa kanak-kanak. Adapun kata kuat berarti masa muda. Awalnya semua makhluk hidup pasti diciptakan dari fase muda atau fasa lemah. Kemudian berkembang dan memasuki fase dewasa dimana fase ini merupakan fase emas setelah kita melewati fase lemah. Lalu setelah menginjak fase tua/senja, kekuatan dalam diri kita akan semakin melemah. Berdasarkan ayat tersebut dapat disimpulkan bahwa semua ciptaan Allah akan melewati 3 fase dimana antar fase satu dengan yang lain akan memiliki perbedaan kekuatan. Begitu juga dengan rumput laut di usia sedang, dewasa, dan tua diharapkan akan memiliki kandungan yang berbeda karena kandungan senyawa di dalamnya memiliki perbedaan sehingga berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, sesuai dengan implementasi surat Ar Rum ayat 54.

Antioksidan dalam rumput laut dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat atau suplemen. Obat atau suplemen merupakan salah satu cara yang digunakan untuk menyembuhkan atau menangkal adanya penyakit, di mana dalam kehidupan sehari-hari manusia hampir setiap hari bertemu dengan sinar matahari yang memicu adanya radikal bebas dalam tubuh (Febrianti dkk, 2017). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Svabodova (2003), radikal bebas akan menyebabkan beberapa penyakit kulit seperti dermatitis ringan, kerusakan DNA, hingga kanker kulit. Oleh karena itu diperlukan senyawa antioksidan di mana salah satunya berasal rumput laut yang digunakan untuk menghambat radikal bebas dari sinar matahari. Pemanfaatan rumput laut sebagai antioksidan merupakan salah satu bentuk usaha dalam memahami dan mendalami ajaran ayat Al-Qur'an tersebut.

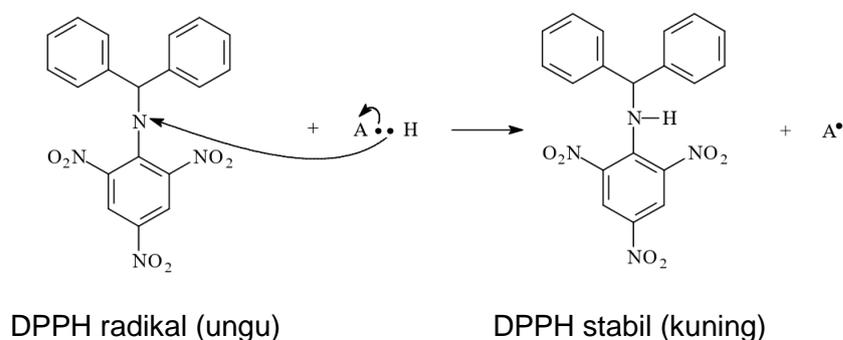
Antioksidan dapat diartikan sebagai senyawa pemberi atom donor. Selain itu, antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal dampak negatif dari senyawa oksidan. Cara kerja antioksidan adalah dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Antioksidan sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk melindungi dari serangan radikal bebas (Winarti, 2010). Radikal bebas adalah senyawa (molekul, atom, beberapa atom) yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit luarnya sehingga membuat senyawa tersebut bersifat reaktif, apabila elektron tersebut tidak berpasangan maka dapat berpotensi untuk

merusak dan mengakibatkan adanya stress oksidatif di mana terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. Hal tersebut dapat pula terjadi karena kelebihan radikal bebas atau kurangnya antioksidan (Puspitasari dkk, 2016).

Antioksidan dapat diproduksi dari dalam tubuh seperti glutathione, ubiquinol, dan asam urat apabila metabolisme sel tubuh dalam keadaan normal. Namun, banyaknya oksidan dalam tubuh mengharuskan kita untuk menambah asupan antioksidan. Antioksidan lain dapat ditemukan dalam beberapa makanan maupun tumbuhan, salah satunya yaitu rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid di mana senyawa tersebut merupakan sumber yang dapat digunakan untuk menghambat reaksi oksidasi sehingga bersifat sebagai antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1- diphenyl-2picrylhydrazyl). DPPH bersifat radikal bebas sintesis dan dapat larut pada pelarut polar seperti methanol dan etanol. Reaksi DPPH dapat terjadi melalui dua cara yaitu donor atom hidrogen dan donor elektron. DPPH yang bersifat radikal tersebut akan mengambil atom hidrogen dari senyawa yang bersifat antioksidan agar elektronnya dapat berpasangan. Radikal bebas DPPH akan ditangkap oleh senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut akan dioksidasi oleh radikal bebas DPPH menghasilkan bentuk radikal yang lebih stabil, yaitu radikal dengan kereaktifan rendah. Senyawa antioksidan akan mendonorkan radikal hidrogen untuk mengurangi radikal bebas yang bersifat toksik sehingga dapat menghasilkan radikal pada senyawa antioksidan yang terstabilkan resonansi dan membuatnya tidak toksik (Amic dkk, 2003).

Adanya aktivitas antioksidan dapat ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning atau dari ungu pekat menjadi ungu pudar akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan sehingga menjadi DPPH-H. Perubahan warna tersebut yang akan menyebabkan menurunnya nilai absorbansi sampel (Molyneux, 2004). Semakin kuat aktivitas antioksidan atau semakin tinggi kandungan antioksidannya maka semakin banyak pula elektron yang akan disumbangkan. Berikut merupakan reaksi antara DPPH dengan antioksidan.



Gambar 2.9 Reaksi antara DPPH dengan antioksidan (Molyneux, 2004)

Intensitas antioksidan dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Aryanti dkk, 2021). Melalui spektrofotometer UV-Vis akan didapatkan persen inhibisi ekstrak etanol

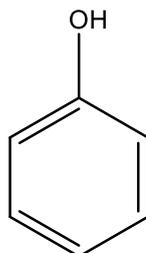
rumpun laut merah (*Gracilaria verrucosa*), di mana persen inhibisi adalah perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dengan absorbansi sampel (Prasetyo dkk, 2021). Persen inhibisi juga merupakan kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menghambat atau menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%. Sampel yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi akan memiliki nilai IC_{50} rendah (Insani dkk, 2022). Nilai IC_{50} dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) nantinya akan dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari vitamin C. Persamaan 2.1 merupakan rumus yang digunakan untuk menghitung persen inhibisi dan nilai IC_{50} .

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\% \dots \dots \dots (2.1)$$

Setelah diperoleh % inhibisi untuk masing-masing larutan, kemudian dicari nilai IC_{50} menggunakan persamaan $y = ax + b$ yang diperoleh dari kurva regresi linier hubungan antara konsentrasi dan presentase inhibisi (%). Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$ (Ningrum dkk, 2017). Menurut Puspitasari dkk (2019), nilai IC_{50} pada asam askorbat sebesar 7,81 ppm. Febrianto dkk (2019) telah melakukan uji aktivitas antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* dan didapatkan nilai IC_{50} ekstrak sampel dari pantai Pok Tunggal dan pantai Ngandong berturut-turut adalah 188,53 ppm dan 168,76 ppm.

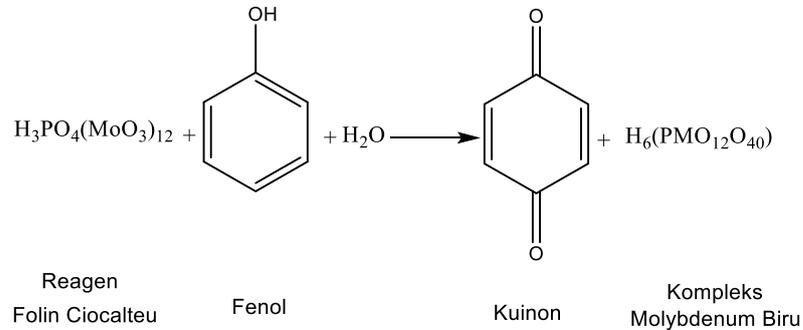
2.6 Total Phenolic Content (TPC)

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada gugus aromatik, dengan kata lain senyawa fenolik adalah senyawa yang setidaknya memiliki satu gugus fenol. Senyawa fenolik memiliki banyak variasi struktur dikarenakan banyaknya variasi gugus yang dapat tersubstitusi pada kerangka aromatik. Terdapat sekitar delapan ribu tumbuhan yang mengandung senyawa golongan fenolik diantaranya adalah senyawa flavonoid, fenil, propanoid, kuinon, dan sebagainya yang sudah diketahui strukturnya (Sundu dkk, 2022). Terdapat tiga kelompok penting yang termasuk dalam fenolik total diantaranya adalah flavonoid, asam fenolat, dan polifenol. Senyawa fenolik ini diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenol maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya (Nurung, 2016).



Gambar 2.10 Gugus Fenol

Penetapan nilai TPC dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu, di mana fosfomolibdat fosfotungstat yang berwarna kuning dalam pereaksi Folin-ciocalteu akan direduksi oleh senyawa fenol menjadi molybdenum yang berwarna biru. Penggunaan metode Folin-ciocalteu dinilai sederhana, cepat, dan minim gangguan dari matrik yang ada pada sampel karena mengasorbsi kromofor pada panjang gelombang tinggi. Reaksi antara reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol disajikan pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11 Reaksi reagen Folin Ciocalteu dengan senyawa fenol (Susiani dkk, 2023)

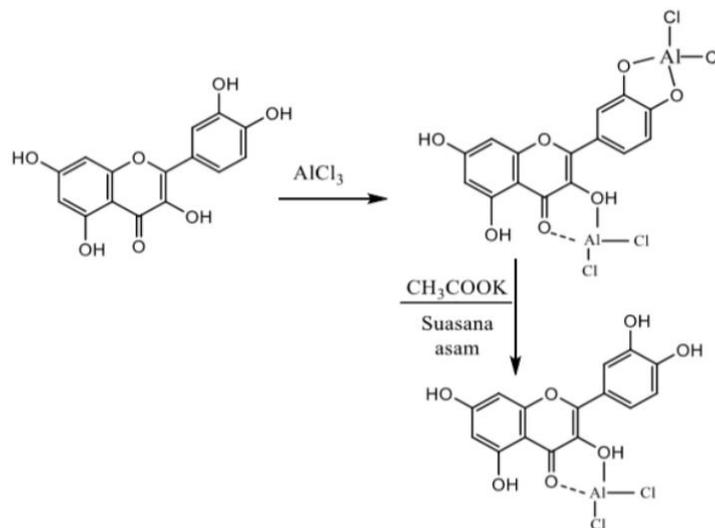
Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan nilai TPC dari persamaan regresi linier kurva standar asam galat (Sundu dkk, 2022). Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran fenolik total karena merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan bersifat stabil (Lee dkk., 2003). Febrianto dkk (2019) telah menentukan nilai TPC pada ekstrak rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) di pantai Pok Tunggal dan pantai Ngandong dengan hasil berturut-turut sebesar 16,527 mgGAE/g dan 17,497 mgGAE/g.

2.7 Total Flavonoid Content (TFC)

Tercatat terdapat sekitar delapan ribu tanaman yang mengandung senyawa fenolik, dan setengah dari senyawa fenolik tersebut adalah flavonoid. Flavonoid termasuk dalam golongan fenol terbesar yang terdapat dalam tanaman. Senyawa ini diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis, oksidatif, dan juga dapat bekerja sebagai antiinflamasi. Untuk mengetahui kadar total flavonoid yang ada pada rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* digunakan metode AlCl_3 dengan spektrofotometer UV-Vis dan larutan standar berupa kuersetin.

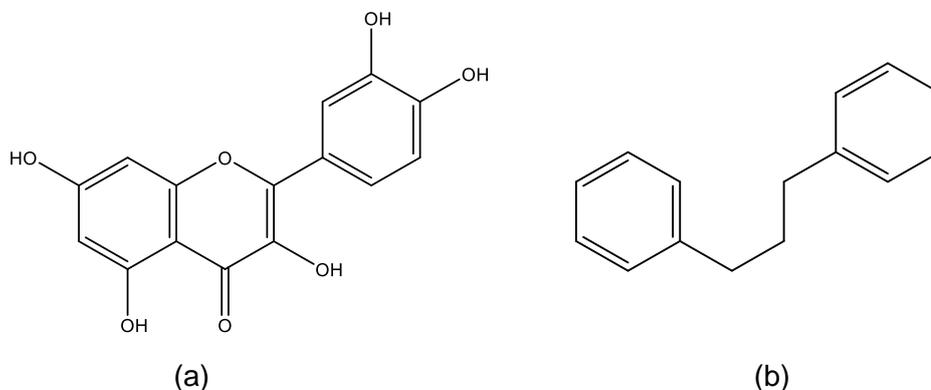
Penentuan nilai TFC dilakukan menggunakan pereaksi berupa AlCl_3 yang ditambahkan dengan CH_3COOK . Larutan AlCl_3 akan membentuk kompleks dengan flavonoid sehingga menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke arah visible ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi kuning yang lebih intens, sedangkan CH_3COOK berfungsi untuk menstabilkan dan mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible tersebut. Prinsip analisis *Total Fenolik Content* dengan AlCl_3 yaitu pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol (Nurmila dkk, 2019). Penggunaan spektrofotometer UV-Vis dikarenakan flavonoid

mengandung sistem aromatik terkonjugasi sehingga dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah sinar ultraviolet dan sinar tampak. Selain itu, pemilihan senyawa kuersetin dikarenakan kuersetin juga merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan gugus hidroksil pada C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Gugus keto dan gugus hidroksil pada kuersetin tersebut dapat membentuk kompleks dengan AlCl_3 sehingga dapat digunakan sebagai standar pembanding. Kuersetin juga sering kali ditemukan pada banyak tanaman sehingga cocok digunakan sebagai pembanding kadar flavonoid pada sampel yang berbeda (Nurlinda dkk., 2021). Reaksi antara AlCl_3 dengan flavonoid disajikan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Reaksi AlCl_3 dengan flavonoid (Lindawati & Ma'ruf, 2020)

Persamaan kurva yang didapatkan dari absorbansi larutan standar kuersetin digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi flavonoid total pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*). Kandungan flavonoid total nantinya dinyatakan sebagai mg ekuivalen tiap 1 gram berat ekstrak (Aminah dkk, 2017). Hidayati dkk (2023) telah menentukan nilai TFC pada *Gracilaria sp.* dan didapatkan hasil sebesar 2.26 mgQE/g.



Gambar 2.13 Struktur kuersetin (a) dan struktur umum flavonoid (b)

2.8 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan langkah pertama yang perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa golongan apa saja yang terdapat pada tanaman yang sedang diteliti. Uji fitokimia dilakukan dengan cara mengamati perubahan warna atau perubahan lainnya seperti busa dari ekstrak sampel yang telah direaksikan dengan pereaksi tertentu. Uji fitokimia juga dapat pula diartikan sebagai cara untuk mengidentifikasi senyawa biokatif yang belum tampak melalui suatu tes atau pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia (Saragih dan Arsita, 2019).

Uji fitokimia dapat dilakukan untuk pengujian senyawa aktif metabolit sekunder secara kualitatif dan semi kuantitatif. Untuk uji kualitatif hanya perlu memperhatikan perubahan yang terjadi apabila sampel ditambahkan dengan pereaksi, tanpa memperhatikan jumlah sampel pada masing-masing uji. Namun pada uji fitokimia semi kuantitatif, perlu adanya takaran sampel yang sama pada masing-masing uji karena akan dibandingkan kepekatan warna ataupun banyaknya busa dan endapan yang didapatkan untuk nantinya dibandingkan antar satu uji dengan uji yang lain. Oleh karena itu berat sampel yang digunakan harus sama untuk setiap uji agar hasil perbandingannya valid. Namun hal yang perlu ditekankan adalah uji fitokimia semi kuantitatif ini hanya bisa menyatakan perkiraan banyak sedikitnya kandungan senyawa metabolit sekunder, namun tidak bisa menyatakan jumlah atau kadar senyawa yang terdapat didalamnya. Pada penelitian ini akan dilakukan beberapa uji fitokimia diantaranya adalah senyawa alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Febrianto dkk (2019) dan Luringunusa dkk (2023) telah melakukan uji fitokimia senyawa-senyawa tersebut pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dan didapatkan hasil positif di mana terjadi perubahan warna atau terdapat perubahan lainnya seperti busa atau buih pada ekstrak sampel yang telah ditambahkan dengan pereaksi tertentu.

2.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur sampel dengan serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-300 nm) dan sinar tampak/visible (350-800 nm). Serapan cahaya pada UV dan Vis akan mengakibatkan transisi elektron, yaitu perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju keadaan tereksitasi (Cairns, 2009). Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila terdapat cahaya monokromatik yang melalui suatu sampel/larutan, maka terdapat beberapa kemungkinan interaksi yaitu cahaya akan diserap, dipantulkan, atau dipancarkan.

Analisis kuantitatif menggunakan UV-Vis ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang nantinya disebut sebagai nilai IC_{50} , kadar dari senyawa fenolik total, dan kadar dari senyawa flavonoid total. Hal tersebut dapat diketahui dengan cara melihat serapan

absorbansi dari masing-masing variasi konsentrasi baik dari larutan standar maupun sampel. Pada pengujian *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) digunakan larutan standar sehingga diperoleh persamaan regresi $y = ax + b$ dengan nilai koefisien relasi (R^2) yang apabila nilai tersebut mendekati satu maka kurva standar telah linear. Hal tersebut menunjukkan bahwa absorbansi berhubungan dengan konsentrasi sesuai dengan hukum Lambert-Beer di mana semakin besar konsentrasi suatu larutan maka semakin besar pula absorbansinya. Persamaan regresi $y = ax + b$ di mana nilai y merupakan absorbansi, a merupakan *gradient* atau kemiringan kurva, dan b menunjukkan *intercept* (Lesnussa dkk, 2019). Landasan dari pengukuran UV-Vis yaitu hukum Lambert-Beer, apabila suatu cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang transparan, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal kepekakan media larutan yang digunakan (Yanlinastuti & Fatimah, 2016).

2.10 Kerangka Penelitian

Kerangka pemikiran adalah gambaran umum tentang hubungan antara variabel penelitian yang didasarkan pada tinjauan pustaka. Kerangka pemikiran dapat berupa diagram atau model yang menggambarkan variabel-variabel penelitian dan hubungan sebab-akibat atau korelasional antara variabel-variabel tersebut. Kerangka pemikiran juga harus mencantumkan hipotesis penelitian, yaitu pernyataan yang menggambarkan dugaan sementara tentang hubungan antara variabel penelitian. Selain itu, kerangka pemikiran juga harus mencantumkan operasionalisasi variabel penelitian, yaitu penjelasan tentang definisi, indikator, dan alat ukur dari masing-masing variabel penelitian. Berdasarkan uraian yang telah disampaikan, dapat disimpulkan bahwa kerangka konsep penelitian merupakan suatu cara yang digunakan untuk menjelaskan hubungan atau kaitan antara variabel yang akan diteliti (Notoatmodjo, 2018).

Variabel penelitian terdiri dari variabel independen (usia tumbuh), variabel dependen (aktivitas antioksidan, nilai TPC, nilai TFC), dan variabel kontrol (metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol p.a 96%). Variabel kontrol adalah variabel yang dijaga agar tetap konstan dalam penelitian agar tidak mempengaruhi variabel dependen. Hubungan antara variabel penelitian dapat dijelaskan sebagai berikut:

- a. Hipotesis 0 (H_0): tidak terdapat pengaruh atau perbedaan signifikan antara aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* dengan variasi usia tumbuh (2, 4, 6, 8, dan 10 minggu).
- b. Hipotesis 1 (H_1): terdapat pengaruh atau perbedaan signifikan antara aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* dengan beberapa variasi usia tumbuh (2, 4, 6, 8, dan 10 minggu).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) karena sampel yang digunakan merupakan satu sampel yang sama yaitu rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* di mana tidak terdapat perbedaan perlakuan pada masing-masing sampel tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh usia tumbuh rumput laut *Gracilaria verrucosa* terhadap aktivitas antioksidan sebagai variabel respon. Hipotesis yang ada pada penelitian ini yaitu:

- a. Hipotesis 0 (H_0): tidak terdapat pengaruh atau perbedaan signifikan antara aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* dengan beberapa variasi usia tumbuh (2, 4, 6, 8, dan 10 minggu).
- b. Hipotesis 1 (H_1): terdapat pengaruh atau perbedaan signifikan antara aktivitas antioksidan rumput laut merah ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* dengan beberapa variasi usia tumbuh (2, 4, 6, 8, dan 10 minggu).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan selama 4 bulan mulai dari Januari – April 2023. Pengambilan sampel *Gracilaria verrucosa* dilakukan di tambak tanjungsari, Kecamatan Jabon, Sidoarjo. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas diantaranya gelas kimia, bola hisap, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, tabung reaksi, dan labu ukur. Peralatan lain yang digunakan yaitu kertas saring, aluminium foil, neraca analitik, corong *buchner*, erlenmeyer vakum, seperangkat pompa saring, *shaker*, inkubator, *rotary vacuum evaporator*, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi rumput laut merah spesies *Gracilaria verrucosa* dari tambak tanjungsari, Kecamatan Jabon, Sidoarjo, etanol p.a (C_2H_5OH) 96%, aquades, reagen Folin-Ciocalteu ($H_3PO_4(MoO_3)_{12}$), natrium karbonat (Na_2CO_3) 7%, $AlCl_3$ 10%, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), HCl 2%, HCl 37%, HCl 2 N, kalium asetat, reagen dragendroff, pereaksi meyer, serbuk Mg, $FeCl_3$ 1%, $FeCl_3$ 5%, kloroform, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 , etanol p.a 80%, vitamin C (asam askorbat).

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi rumput laut merah *Gracilaria verrucosa*.
2. Ekstraksi rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol p.a 96%.
3. Uji fitokimia pada ekstrak rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* meliputi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, steroid, dan triterpenoid.
4. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.
5. Analisis *Total Phenolic Content* (TPC) pada sampel dengan aktivitas antioksidan tertinggi.
6. Analisis *Total Flavonoid Content* (TFC) pada sampel dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Sampel rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dicuci hingga bersih dari kotoran, selanjutnya dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven suhu 45°C sampai mengering. Setelah kering, sampel dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan *mesh* 90 untuk mendapatkan bubuk rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) (Hanapi dkk, 2013).

3.5.2 Ekstraksi Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) Menggunakan Metode Maserasi

Ditimbang 20 gram bubuk rumput laut merah dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan etanol p.a 96% sebanyak 200 mL (1:10), kemudian ditutup dengan aluminium foil (Kemit dkk, 2016). Proses perendaman dilakukan selama 24 jam di suhu ruang menggunakan *shaker* kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*) (Hanapi dkk, 2013). Setelah 24 jam, larutan ekstrak tersebut disaring menggunakan corong Buchner dan filtratnya ditampung (filtrat I). Residu yang dihasilkan dilakukan remaserasi selama 24 jam kemudian disaring menggunakan corong Buchner dan filtratnya ditampung (filtrat II). Filtrat I dan II disatukan dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*. Proses pemekatan dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi ke dalam labu alas bulat (Wendersteyt dkk, 2021). Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Dilakukan tahap ekstraksi maserasi tersebut pada sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.3 Uji Skrining Fitokimia

3.5.3.1 Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,1 gram disiapkan dalam 2 tabung reaksi berbeda. Kedua tabung tersebut ditambahkan sebanyak 0,5 mL larutan HCl 2%. Pada tabung pertama direaksikan dengan 0,5 mL reagen dragendorff dan tabung kedua direaksikan dengan 2-3 tetes pereaksi meyer. Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan. Senyawa alkaloid pada ekstrak akan berinteraksi dengan ion tetraiodomerkurat (II) dan membentuk senyawa kompleks sehingga membentuk endapan. Hal ini terjadi karena ion merkuri termasuk ion logam berat yang dapat mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa (Svehla, 1990). Sedangkan reaksi antara dragendorff dengan senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata (Septiana dkk., 2005). Sedangkan menurut (Sangi dkk., 2013), pengujian dragendorff akan membentuk endapan berwarna coklat orange, atau jingga. Hal itu terjadi karena senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (III). Dilakukan tahap uji alkaloid tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.3.2 Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dalam tabung reaksi dilarutkan pada 2 mL etanol panas lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 2 tetes HCl 2N. Hasil positif pengujian flavonoid dengan terjadinya warna merah, kuning, atau jingga. Pada reaksinya, serbuk logam Mg dan HCl berfungsi mereduksi inti bezopiron yang terdapat pada struktur flavonoid dan membentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga (Khowas, 2021). Dilakukan tahap uji flavonoid tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.3.3 Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dalam tabung reaksi dilarutkan menggunakan 10 mL aquades kemudian dikocok selama 1 menit. Jika menimbulkan busa, tambahkan dengan 2-3 tetes HCl 1N. Untuk mengidentifikasi dapat diamati selama 1 menit jika reaksi mampu menimbulkan terbentuknya busa stabil maka ekstrak tersebut positif mengandung senyawa saponin (Agustanti dkk., 2018). Dilakukan tahap uji saponin tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.3.4 Uji Golongan Fenolik

3.5.3.4.1 Fenol

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dalam tabung reaksi ditambahkan 2 tetes FeCl_3 5% di mana hasil positif pengujian fenol ditandai dengan terjadinya warna hijau atau biru yang gelap kuat (Manongko dkk, 2020). Reaksi ini terjadi karena senyawa fenol memiliki gugus hidroksil

yang dapat bereaksi dengan ion Fe^{3+} pada larutan FeCl_3 5% sehingga terjadinya pembentukan senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman (Harborne, 1996). Dilakukan tahap uji tanin tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.3.4.2 Tanin

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dalam tabung reaksi ditambah 2-3 tetes FeCl_3 1% hingga mendapatkan hasil positifnya dengan ditandai terbentuknya warna hijau kehitaman (Manongko dkk., 2020). Perubahan warna terjadi setelah FeCl_3 bereaksi dengan senyawa tannin. Dilakukan tahap uji tanin tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.3.5 Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, hal tersebut menunjukkan ada senyawa triterpenoid dalam sampel. Apabila terbentuk warna hijau kebiruan maka menunjukkan adanya steroid (Indrayani dkk., 2006). Dilakukan tahap uji steroid/triterpenoid tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

3.5.4.1 Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 1,57 mg kemudian dilarutkan dalam 20 mL etanol p.a 80%, larutan dikocok hingga homogen dan diperoleh DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM. Larutan kontrol dibuat dengan cara dimasukkan larutan DPPH sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 mL etanol p.a 80% (Hartanto & Sutriningsih, 2018).

3.5.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan dengan cara dipipet etanol p.a 80% sebanyak 3 mL, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi. Campuran tersebut kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah itu diukur panjang gelombangnya antara 400 – 800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Aminah dkk., 2020).

3.5.4.3 Pembuatan Larutan Ekstrak Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) dan DPPH

Pembuatan larutan induk ekstrak rumput laut dengan cara ditimbang 50 mg ekstrak rumput laut merah dan dilarutkan ke dalam 5 mL etanol 80% (10.000 ppm). Kemudian dibuat beberapa konsentrasi larutan (50, 100, 150, 200, 250 ppm). Cara membuat larutan 50 ppm

yaitu larutan induk dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 100 mL dan dihomogenkan, selanjutnya diambil 3 mL dari 100 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH. Cara membuat larutan 100 ppm yaitu larutan induk dipipet sebanyak 0,1 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan, selanjutnya diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH. Cara membuat larutan 150 ppm yaitu larutan induk dipipet sebanyak 0,15 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan, selanjutnya diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH. Cara membuat larutan 200 ppm yaitu larutan induk dipipet sebanyak 0,2 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan, selanjutnya diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH. Cara membuat larutan 250 ppm yaitu larutan induk dipipet sebanyak 0,25 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan, selanjutnya diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH (Hartanto & Sutriningsih, 2018). Dilakukan tahap pembuatan larutan ekstrak rumput laut merah tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.4.4 Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Vitamin C)

Cara membuat larutan induk vitamin C yaitu ditimbang 1 mg vitamin C, kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL etanol p.a 80% (100 ppm). Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi larutan (2, 4, 6, 8, 10 ppm). Cara membuat larutan 2 ppm yaitu larutan induk dipipet sebanyak 0,2 mL, kemudian ditambah dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL dan dihomogenkan, kemudian diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH (Hartanto & Sutriningsih, 2018). Lakukan langkah yang sama untuk membuat larutan konsentrasi 4, 6, 8, dan 10 ppm dengan 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL larutan induk.

3.5.4.5 Pengukuran Absorbansi

Sebelum melakukan pengukuran absorbansi, larutan yang sudah dibuat diantaranya adalah larutan kontrol, ekstrak rumput laut merah, dan kontrol positif (vitamin C) diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam keadaan gelap di inkubator. Kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Setelah nilai absorbansi (A) diperoleh, dihitung persen hambatan atau % inhibisi pada masing-masing larutan menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.2)$$

Setelah diperoleh % inhibisi untuk masing-masing larutan, kemudian dicari nilai IC₅₀ menggunakan persamaan $y = ax + b$ yang diperoleh dari kurva regresi linier hubungan antara konsentrasi dan presentase inhibisi (%). Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y

= 50 (Ningrum dkk, 2017). Dilakukan pengukuran absorbansi, perhitungan % inhibisi, dan nilai IC_{50} tersebut pada setiap sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu dengan masing-masing 3 kali pengulangan.

3.5.5 Penentuan *Total Phenolic Content* (TPC)

3.5.5.1 Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Asam galat ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a 80% dalam labu ukur 10 mL (1000 ppm). Selanjutnya dibuat beberapa konsentrasi larutan asam galat 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm dengan cara dipipet 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; dan 0,3 mL larutan asam galat 1000 ppm dan ditandabatkan dalam labu ukur 10 mL (Pontoh dkk, 2019).

3.5.5.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Penentuan panjang gelombang maksimum asam galat dilakukan dengan cara larutan asam galat 20 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL, ditambahkan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu yang sudah diencerkan menggunakan aquades dengan perbandingan 1:10, dan 2 mL Na_2CO_3 7%. Campuran tersebut kemudian divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C di inkubator. Setelah itu diukur panjang gelombangnya antara 400 – 800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Pontoh dkk, 2019).

3.5.5.3 Pembuatan Kurva Standar

Variasi larutan asam galat yang sudah dibuat kemudian dipipet masing-masing 0,5 mL, ditambahkan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu yang sudah diencerkan menggunakan aquades dengan perbandingan 1:10, dan 2 mL Na_2CO_3 7%. Campuran tersebut kemudian divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C di inkubator. Absorbansi masing-masing larutan tersebut kemudian dibaca pada panjang gelombang maksimum yang sudah ditentukan sebelumnya (Pontoh dkk, 2019).

3.5.5.4 Penentuan *Total Phenolic Content* (TPC) pada Ekstrak Etanol *Gracilaria verrucosa*

Ekstrak rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL etanol. Kemudian dipipet sampel sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu yang sudah diencerkan menggunakan aquades dengan perbandingan 1:10, 2 mL Na_2CO_3 7%. Selanjutnya sampel divortex dan diinkubasi selama 45 menit dalam inkubator, sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Kandungan total senyawa fenolik dihitung menggunakan persamaan regresi linier dari larutan standar dan dinyatakan sebagai setara asam galat (*milligram gallic acid equivalent*, mgGAE/g ekstrak) (Sundu dkk, 2022). Dilakukan tahap uji fenolik total tersebut pada sampel yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Setelah didapatkan persamaan kurva standar asam galat $y = ax + b$, dihitung kadar fenolik total dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{TPC} = \frac{C.V.DF}{w} \dots\dots\dots (3.3)$$

Keterangan:

- TPC : *Total Phenol Concentration*
 C : *Phenol Concentration* (nilai x)
 V : *Volume ekstrak* (mL)
 DF : *Dilution Factor*
 w : *berat sampel* (mg)

3.5.6 Penentuan *Total Flavonoid Content* (TFC)

3.5.6.1 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL (1000 ppm). Selanjutnya dibuat beberapa konsentrasi larutan kuersetin 2, 4, 6, 8, 10 ppm dengan cara dipipet 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; dan 0,1 mL kuersetin 1000 ppm, kemudian ditandabatkan dalam labu ukur 10 mL (Sundu dkk, 2022).

3.5.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan cara larutan kuersetin 4 ppm dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan 1,5 mL etanol, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL kalium asetat 1M, dan ditandabatkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL. Campuran tersebut kemudian divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C di inkubator. Setelah itu diukur panjang gelombangnya antara 400 – 800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sundu dkk, 2022).

3.5.6.3 Pembuatan Kurva Standar

Variasi larutan kuersetin yang sudah dibuat kemudian dipipet masing-masing sebanyak 1 mL, ditambahkan 1,5 mL etanol p.a 80%, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL kalium asetat 1M, dan ditandabatkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL. Campuran tersebut kemudian divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C . Diukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang sudah didapatkan dari tahap sebelumnya (Sundu dkk, 2022).

3.5.6.4 Penentuan *Total Flavonoid Content* (TFC) pada Ekstrak Etanol *Gracilaria verrucosa*

Dimasukkan 1 mL larutan ekstrak 1000 ppm ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 1,5 mL etanol 70%, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL kalium asetat dan ditandabatkan dengan aquades. Kemudian diinkubasi selama 45 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang sudah didapatkan sebelumnya. Kandungan total senyawa

flavonoid dihitung menggunakan persamaan regresi linier dari larutan standard dan dinyatakan setara kuersetin (*milligram quercetine equivalent*, mgQE/g ekstrak) (Sundu dkk, 2022). Dilakukan tahap uji total flavonoid tersebut pada sampel yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Setelah didapatkan persamaan kurva standar asam galat $y = ax + b$, dihitung kadar flavonoid total dengan rumus sebagai berikut:

$$TFC = \frac{C.V.DF}{w} \dots\dots\dots (3.4)$$

Keterangan:

- TFC : *Total Flavonoid Concentration*
 C : *Phenol Concentration* (nilai x)
 V : Volume ekstrak (mL)
 DF : *Dilution Factor*
 w : berat sampel (mg)

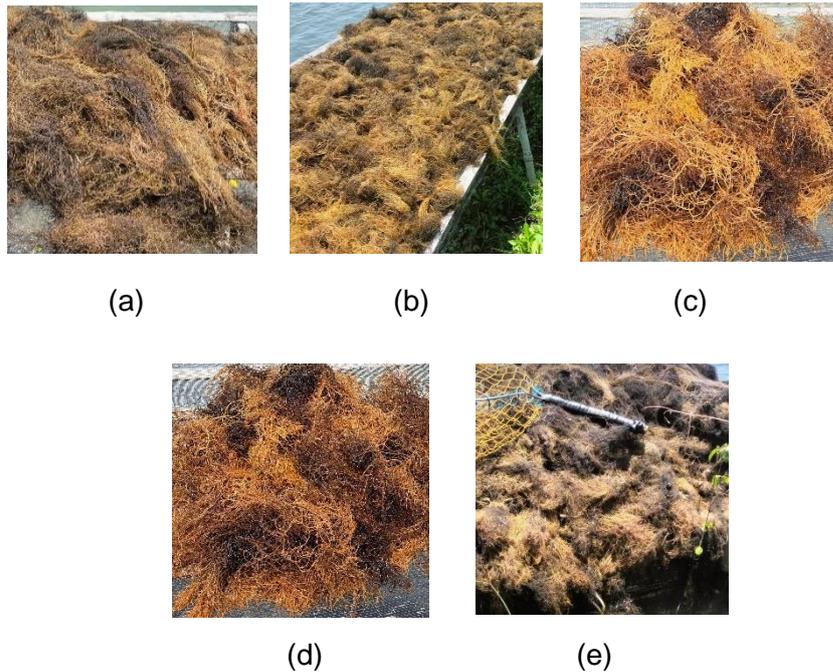
3.6 Analisis Data

Setelah diperoleh data yakni nilai aktivitas antioksidan pada masing-masing usia panen, maka selanjutnya akan dilakukan analisis data menggunakan program SPSS. Analisis data ini terdiri dari analisis deskriptif dan analisis inferensial. Analisis deskriptif mencakup perhitungan nilai rata-rata, standar deviasi minimum dan maksimum, serta koefisien variasi dari masing-masing variabel respon. Sedangkan analisis inferensial mencakup uji normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov, uji homogenitas dengan Levene, uji *one way anova*, dan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf signifikansi 5% menggunakan LSD (*Least Significant Different*). Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan nyata nilai akitivitas antioksidan pada masing-masing usia tumbuh.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah seluruh bagian tumbuhan (*thallus*) rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) pada usia 2, 4, 6, 8, dan 10 minggu. Sampel rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang dipanen pada beberapa variasi usia panen disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) (a) 2 minggu; (b) 4 minggu; (c) 6 minggu; (d) 8 minggu; (e) 10 minggu

Berdasarkan pengamatan secara langsung, tidak terdapat perbedaan secara kuantitas, namun terdapat perbedaan warna pada masing-masing usia panen. Warnanya akan semakin merah seiring bertambahnya usia, namun ketika sudah mencapai usia 10 minggu warnanya berangsur-angsur berubah menjadi coklat. Adanya perbedaan warna pada sampel dipengaruhi oleh kandungan senyawa zat warna salah satunya adalah antosianin. Antosianin merupakan pigmen warna yang dapat memberikan warna merah, ungu, dan biru serta memiliki sifat larut dalam air (Prabawaningrum dkk., 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Prabawaningrum dkk (2020) menyatakan bahwa telah diekstrak pigmen antosianin pada bunga *Celosia plumosa* yang berwarna merah dan dihasilkan bahwa pigmen antosianin yang terekstrak memiliki kecenderungan berwarna merah pekat sesuai dengan kepekatan warna pada bunga asli *Celosia plumosa*. Prabawaningrum dkk (2020) juga menyebutkan bahwa pada konsentrasi antosianin yang tinggi, intensitas warna merah pada bunga *Celosia plumosa* juga tinggi, dan apabila terjadi penurunan konsentrasi antosianin, maka intensitas warna merah pada bunga *Celosia plumosa* juga menurun.

Ada pula pernyataan menurut Ghasemzadeh dkk (2010), yang menyatakan bahwa produksi senyawa flavonoid erat hubungannya dengan pigmen warna pada tumbuhan. Kandungan flavonoid tertinggi terletak pada bunga berwarna merah diduga karena banyaknya pigmen antosianin pada bunga tersebut di mana antosianin merupakan kelompok pigmen utama pengusung warna merah. Zhao dkk (2012) menyebutkan bahwa flavonoid terdiri dari pigmen utama berupa antosianin dan pigmen lainnya berupa *chalcones* dan *anthoxanthine*. Berdasarkan pernyataan-pernyataan yang telah disampaikan, dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman dalam hal ini adalah rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) akan dipengaruhi oleh kepekatan warna merah, semakin pekat warna merah pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) maka semakin banyak kandungan pigmen antosianinnya yang berarti semakin banyak pula kandungan senyawa bioaktifnya seperti flavonoid dan lain-lain. Apabila kandungan senyawa bioaktifnya semakin banyak, maka diduga aktivitas antioksidannya pun akan semakin besar.

Rumput laut yang sudah dipanen kemudian dilanjutkan melalui tahap preparasi meliputi pencucian, pencacahan, pengeringan, dan penghalusan. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan sampel dalam bentuk serbuk. Langkah pertama yaitu dilakukan pencucian untuk menghilangkan kotoran pada sampel. Selanjutnya dilakukan proses pencacahan untuk memudahkan pada saat proses penghalusan dan dilakukan proses pengeringan untuk menghilangkan kadar air serta mencegah tumbuhnya jamur pada sampel. Pengeringan dilakukan di Laboratorium Materia Medika menggunakan oven dengan suhu 45°C sampai sampel mengering. Pemilihan metode pengeringan menggunakan oven dikarenakan oven dianggap lebih efektif untuk menghilangkan kandungan air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat apabila dibandingkan dengan sinar matahari (Müller & Heindl, 2006). Selain itu, pengeringan pada suhu 45°C tergolong aman bagi komponen bioaktif yang ada pada sampel. Beberapa komponen bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan fenol akan mengalami kerusakan pada suhu di atas 50°C karena dapat mengalami perubahan struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah (Yuliantari dkk., 2017).

Langkah selanjutnya yaitu dilakukan proses penghalusan dengan blender dan pengayakan dengan *mesh* 90 untuk mendapatkan serbuk sampel yang siap dilakukan proses pengujian. Penghalusan sampai berbentuk serbuk ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga kontak antara serbuk dan pelarut akan semakin besar sehingga proses ekstraksi akan optimal (Senduk dkk., 2020). Hasil dari proses preparasi ini yaitu serbuk rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) berwarna coklat kehijauan.



Gambar 4.2 Serbuk hasil preparasi

Hasil rendemen dari proses preparasi dan kadar air pada bubuk rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) disajikan pada Tabel 4.1 (lampiran 6.1).

Tabel 4.1 Hasil pengamatan terhadap % rendemen dan kadar air pada bubuk *Gracilaria verrucosa*

Usia Sampel	Berat Sampel Awal (Kg)	Berat Sampel Bubuk (Kg)	% Rendemen	Kadar Air (%)
2 minggu	3,31	0,260	7,85	8,2
4 minggu	2,44	0,215	8,81	8,0
6 minggu	3,45	0,300	8,69	7,9
8 minggu	3,92	0,265	6,76	6,6
10 minggu	2,86	0,210	7,34	8,4

Data kadar air penting dicantumkan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat pada serbuk sampel rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) karena berkaitan dengan lama waktu penyimpanan dan proses ekstraksi. Apabila kadar air pada serbuk terlalu tinggi maka akan lebih mudah bagi sampel untuk ditumbuhi mikroba dan jamur dikarenakan keadaan serbuk yang lembab. Hasil kadar air pada serbuk rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) berada dibawah 10%. Nilai tersebut sudah sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh Depkes RI (1994) di mana batas maksimum kadar air yang ada pada serbuk sampel adalah 10%. Nilai tersebut termasuk dalam rentang yang aman di mana dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan jamur sehingga waktu penyimpanan sampel akan lebih lama. Selain berpengaruh terhadap lama waktu penyimpanan, kadar air juga berpengaruh terhadap proses ekstraksi. Apabila kadar air dalam sampel terlalu banyak maka akan sulit untuk membuat ekstrak menjadi pasta hanya dengan alat *rotary evaporator* saja, sehingga diperlukan alat tambahan berupa *freeze drying* untuk menghilangkan kandungan air berlebih pada sampel hasil ekstraksi.

4.2 Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi berlangsung melalui perendaman sampel, di mana akan terjadi pemecahan dinding sel akibat adanya perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma akan larut bersamaan dengan pelarut dan proses ekstraksi akan sempurna (Kurniawati dkk, 2016).

Proses ekstraksi rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dilakukan dengan lama waktu total 48 jam dan dilakukan remaserasi (setiap 24 jam) hingga didapatkan dua filtrat. Perbandingan sampel:pelarut yang digunakan yaitu 1:10 di mana 20 gram sampel direndam dalam 200 mL pelarut etanol p.a 96%. Hal yang sama juga dilakukan pada proses remaserasi di mana setelah didapatkan filtrat pertama, sampel kemudian direndam kembali dalam 200 mL pelarut, oleh karena itu akan didapatkan dua filtrat. Filtrat pertama dan kedua kemudian dicampurkan dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Hasil pengamatan terhadap berat ekstrak kasar dan % rendemen disajikan pada Tabel 4.2 (lampiran 6.2).

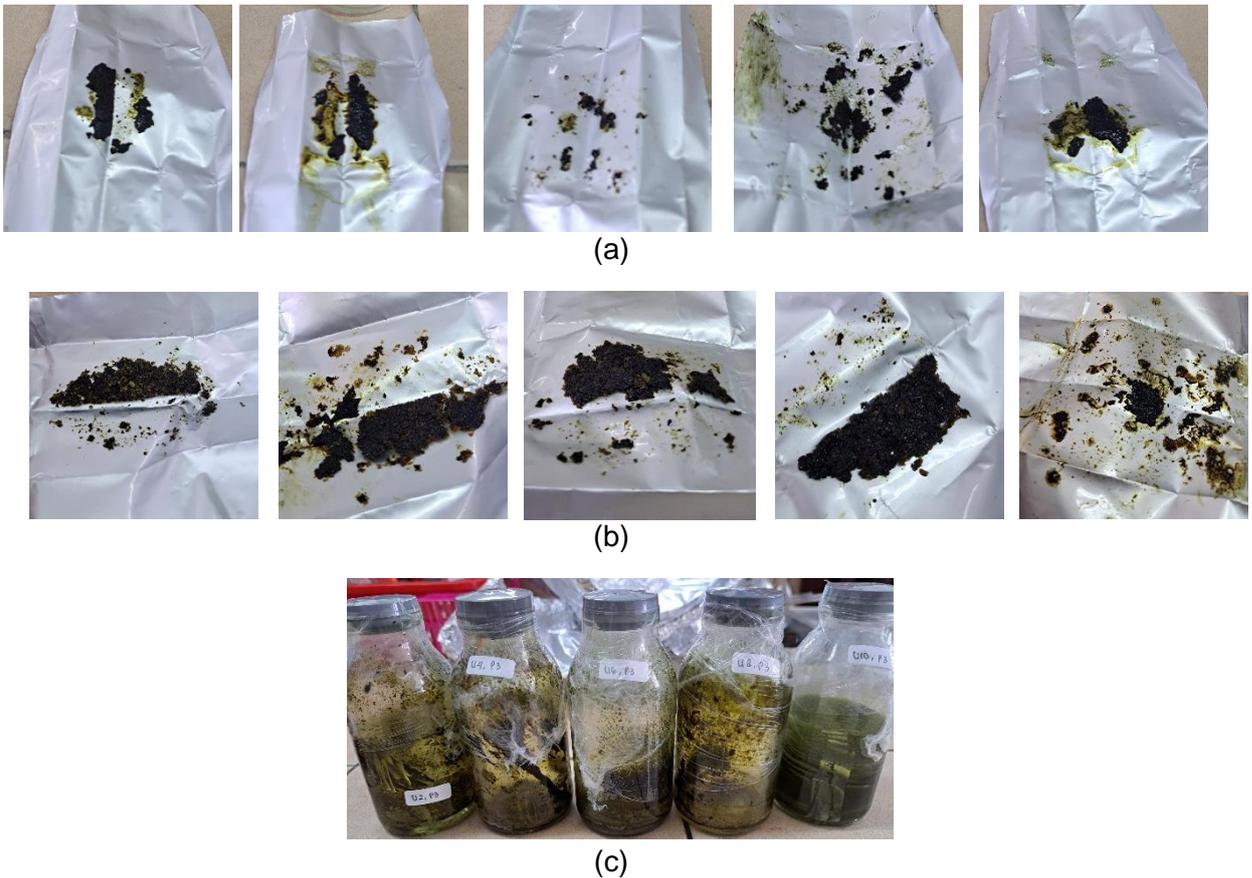
Tabel 4.2 Hasil pengamatan terhadap berat ekstrak kasar dan % rendemen

Usia Sampel	Berat Ekstrak Kasar (gram)			Rendemen (%)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
2 minggu	0,3337	0,7302	9,1923	1,66	3,65	45,96
4 minggu	0,3191	1,2785	11,8252	1,59	6,39	59,12
6 minggu	0,0408	0,7025	5,2543	0,204	3,51	26,27
8 minggu	0,3151	0,5963	6,00302	1,57	2,98	30,15
10 minggu	0,2413	0,2453	8,3646	1,20	1,23	41,82

Keterangan: huruf P merupakan kepanjangan dari pengulangan

Tabel 4.2 menunjukkan hasil yang diperoleh dari ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol p.a 96%. Menurut (Zela & Diah, 2021), etanol mempunyai dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksi dan gugus alkil. Gugus hidroksi bersifat polar sehingga mampu menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti senyawa golongan flavonoid. Sedangkan gugus alkil bersifat non polar sehingga mampu menarik senyawa-senyawa yang bersifat semi polar atau non polar seperti senyawa golongan fenolik.

Hasil % rendemen pada pengulangan ketiga terdapat perbedaan yang cukup signifikan dibandingkan dengan pengulangan pertama dan kedua, hal tersebut diduga karena perbedaan alat *rotary evaporator* yang digunakan. Pengulangan pertama dan kedua menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan pengeringan menggunakan metode *freeze drying*, hal tersebut dikarenakan *rotary evaporator* yang digunakan tidak maksimal untuk menguapkan pelarut sehingga diperlukan metode tambahan yaitu *freeze drying*. Lain halnya dengan pengulangan ketiga yang menggunakan *rotary evaporator* dengan versi berbeda di mana *rotary evaporator* tersebut sudah maksimal untuk menguapkan pelarut sehingga tidak diperlukan proses lanjutan menggunakan *freeze drying*. Uraian-uraian yang telah disampaikan tersebut menjadi alasan terbesar adanya perbedaan hasil rendemen pada pengulangan pertama, kedua, dan ketiga. Ekstrak pekat hasil ekstraksi akan ditampilkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil ekstraksi dari kiri ke kanan usia sampel 2, 4, 6, 8, 10 minggu (a) pengulangan 1 (*rotary evaporator* + *freeze drying*); (b) pengulangan 2 (*rotary evaporator* + *freeze drying*); (c) pengulangan 3 (*rotary evaporator*)

4.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan *screening* awal yang dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif apa saja yang terdapat pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*). Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini diantaranya adalah uji fenol, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, triterpenoid, dan saponin. Adapun uji fitokimia ini dilakukan dengan cara mereaksikan sampel dengan reagen tertentu sesuai dengan senyawa yang ingin diamati, apabila terdapat perubahan maka bisa dikatakan sampel tersebut positif mengandung senyawa bioaktif sesuai dengan reagenya. Pengamatan hasil uji fitokimia pada sampel rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) akan disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia kualitatif ekstrak rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

Jenis Senyawa	Hasil Uji
Fenolik	+
- Fenol	+
- Tanin	+
Flavonoid	+
Alkaloid	
- Reagen dragendorff	-
- Reagen Mayer	-
Steroid	+
Triterpenoid	-
Saponin	+

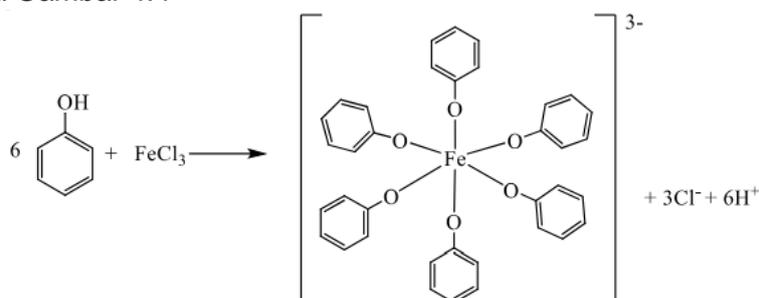
Keterangan: (+) Hasil positif, (-) Hasil negatif

Berdasarkan Tabel 4.3, ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) positif mengandung senyawa golongan fenol, flavonoid, tanin, dan steroid. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Luringunusa dkk., 2023) di mana rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) positif mengandung senyawa golongan fenol, flavonoid, tanin, steroid dan negatif pada golongan triterpenoid. Begitu juga dengan penelitian yang dilakukan oleh (Aprinaldi dkk., 2020) di mana rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) negatif mengandung alkaloid. Berikut merupakan penjelasan dari masing-masing golongan senyawa bioaktif yang telah diuji.

4.3.1 Uji Fenolik

4.3.1.1 Uji Fenol

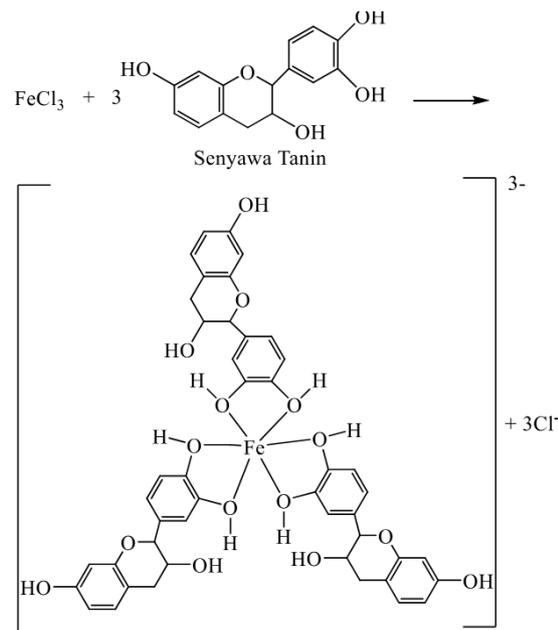
Salah satu senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang berperan besar sebagai senyawa antioksidan adalah fenol. Senyawa ini termasuk dalam alkohol aromatik karena gugus hidroksilnya terikat pada cincin benzene. Pada dasarnya, senyawa fenolik cenderung larut dalam pelarut polar seperti etanol dan air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida. Uji kualitatif fenol dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl_3 5%. FeCl_3 memiliki ion Fe^{3+} yang nantinya akan bereaksi dengan gugus hidroksil pada senyawa fenol sehingga larutan akan berubah warna menjadi hijau atau biru gelap (Harborne, 1996). Pada penelitian ini ditemukan adanya senyawa fenol karena terdapat perubahan warna menjadi hijau pada ekstrak sampel setelah direaksikan dengan FeCl_3 5%. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji fenol disajikan pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Perkiraan reaksi senyawa fenol dengan FeCl_3 (Nugrahani dkk., 2016)

4.3.1.2 Uji Tanin

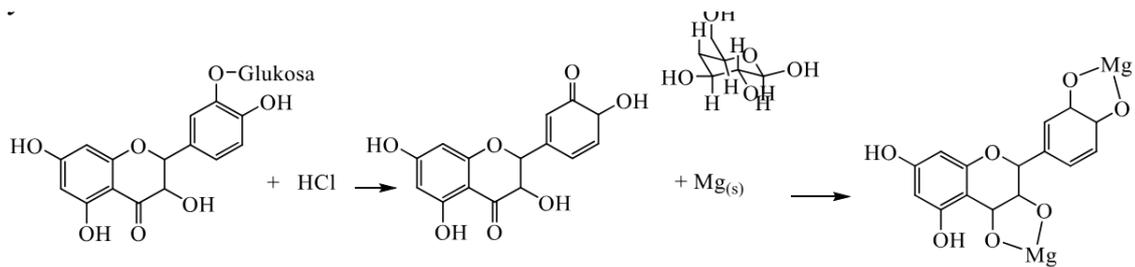
Uji kualitatif senyawa tanin dilakukan melalui penambahan larutan FeCl_3 1%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hijau kehitaman. Saat ekstrak sampel ditambahkan dengan FeCl_3 1% maka akan terjadi reaksi antara gugus senyawa tanin dengan ion Fe^{3+} sehingga membentuk senyawa kompleks trisianoferitrikaliumFerri (III) yang berwarna hijau kehitaman (Setyowati & Damayanti, 2014). Pada penelitian ini ditemukan adanya senyawa tanin karena terdapat perubahan warna menjadi hijau kehitaman pada ekstrak sampel setelah direaksikan dengan FeCl_3 1%. Perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan FeCl_3 disajikan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Perkiraan reaksi senyawa tanin dengan FeCl_3 (Perron & Brumaghim, 2009)

4.3.2 Uji Flavonoid

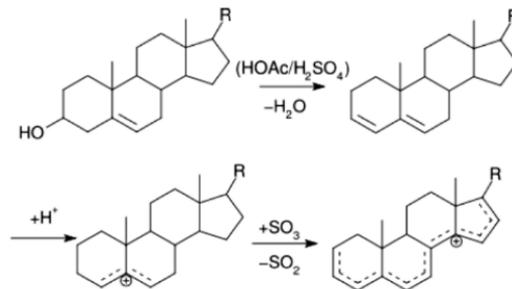
Uji kualitatif senyawa golongan flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan etanol panas, serbuk Mg, dan HCl pekat. Flavonoid pada dasarnya bersifat polar sehingga diperlukan etanol panas untuk membantu melarutkan flavonoid pada ekstrak. Penambahan serbuk Mg dilakukan dengan tujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg. Kemudian, penambahan HCl pekat berfungsi untuk menghidrolisis dan memutus flavonoid menjadi aglikonnya, caranya dengan menghidrolisis O- glikosil flavonoid di mana H^+ dari asam yang bersifat elektrofilik akan menggantikan glikosil tersebut (Susiloningrum & Indrawati, 2020). Oleh karena itu, akan dihasilkan senyawa kompleks garam flavilium yang berwarna merah, kuning, atau jingga pada senyawa flavonol, flavonon, flavononol, dan xanton akibat dari adanya reduksi oleh serbuk Mg dan HCl pekat. Pada penelitian ini ditemukan adanya senyawa flavonoid karena terdapat perubahan warna menjadi merah atau jingga pada ekstrak sampel setelah direaksikan dengan logam Mg dan HCl pekat. Perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl disajikan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl (Nugrahani dkk., 2016)

4.3.3 Uji Steroid

Uji kualitatif steroid dilakukan melalui penambahan reagen Liebermann-Burchard, tujuannya adalah agar terbentuk turunan asetil dari reaksi asetilasi gugus OH membentuk larutan berwarna hijau atau biru. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya kondensasi atau pelepasan H_2O serta penggabungan dengan karbokation (Nurjannah dkk., 2022). Pada penelitian ini ditemukan adanya senyawa steroid karena terdapat perubahan warna menjadi hijau atau biru pada ekstrak sampel setelah direaksikan dengan reagen Liebermann-Burchard. Perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa steroid dengan reagen Liebermann-Burchard disajikan pada Gambar 4.7.

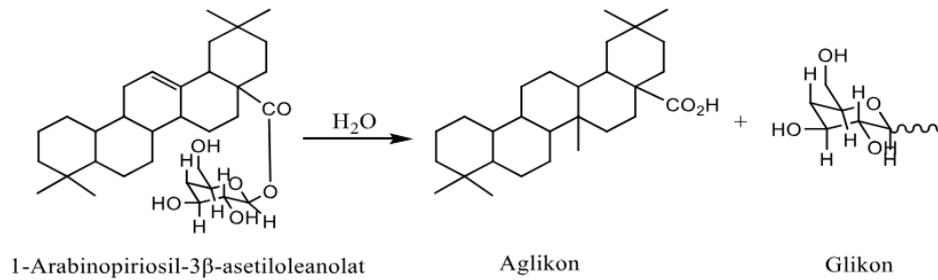


Gambar 4.7 Perkiraan reaksi antara steroid dengan reagen Liebermann-Burchard (Zaini & Shofia, 2020)

4.3.4 Uji Saponin

Saponin merupakan glikosida yang terdiri dari gula di mana gula tersebut terikat dengan aglikon. Sapogenin yang biasa disebut dengan aglikogen mempunyai struktur yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid yang bersifat non polar. Dalam hal ini, saponin memiliki gugus polar dan non polar yang merupakan senyawa aktif permukaan. Oleh karena itu, apabila senyawa saponin dikocok kuat dengan air maka akan membentuk busa. Uji kualitatif saponin dilakukan melalui penambahan air dan pengocokan selama beberapa menit. Apabila timbul buih yang bertahan selama lebih dari 1 menit maka menunjukkan adanya glikosida atau saponin (Melati & Parbuntari, 2022). Pada penelitian ini ditemukan adanya senyawa saponin karena terdapat buih yang bertahan lebih dari 1 menit pada ekstrak sampel

setelah direaksikan dengan air. Perkiraan reaksi yang terjadi antara senyawa saponin dengan air disajikan pada gambar 4.8.

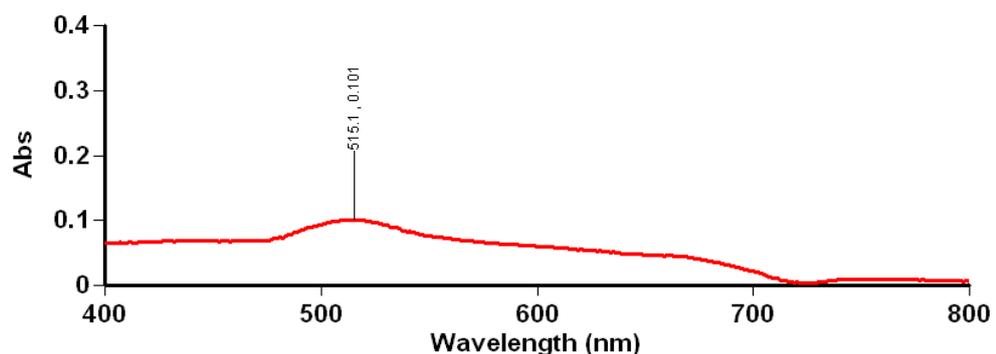


Gambar 4.8 Perkiraan reaksi antara saponin dengan air (Marliana & Suryanti, 2005)

4.4 Uji Aktivitas Antioksidan

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Langkah awal yang perlu dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH adalah menentukan panjang gelombang maksimumnya. Langkah tersebut penting dilakukan karena berkenaan dengan kepekaan analisis di mana setiap orang kemungkinan akan memiliki hasil yang berbeda. Perubahan absorbansi pada satuan konsentrasi adalah hal paling besar yang akan mempengaruhi kepekaan analisis. Apabila kepekaan analisis sudah maksimum maka diharapkan akan didapatkan pula hasil uji yang maksimum (Chow dkk., 2003). Uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH memiliki serapan panjang gelombang maksimum antara 515 – 520 nm (Marxen dkk., 2007). Pada penelitian ini, didapatkan hasil serapan panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM sebesar 515 nm. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saptari dkk (2019) yang juga mendapatkan panjang gelombang maksimum DPPH sebesar 515 nm. Hasil spektra UV-Vis serapan panjang gelombang maksimum DPPH ditampilkan pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Panjang gelombang maksimum DPPH

4.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Pengukuran aktivitas antioksidan rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dilakukan menggunakan metode DPPH, di mana metode DPPH ini merupakan metode kuantitatif yang sederhana dan peka terhadap aktivitas antioksidan dari senyawa uji bahan alam. Pengukuran

ini menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang yang telah ditentukan pada tahap sebelumnya yaitu 515 nm. Beberapa variasi konsentrasi sampel yang digunakan diantaranya 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm.

Setelah ekstrak diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, ekstrak tersebut dicampurkan dengan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit di dalam inkubator pada suhu 37°C. Hal tersebut bertujuan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH dengan sampel. Ketika DPPH bereaksi dengan sampel, maka akan terjadi perubahan warna larutan dari ungu pekat menjadi ungu pudar. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya peredaman radikal bebas DPPH dari atom H yang dilepas oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa *1,1-difenil-2-picrylhydrazine* (DPPH-H) (Rizkayanti dkk., 2017). Perubahan warna tersebut akan menyebabkan perubahan absorbansi sehingga dapat dihitung aktivitas peredaman radikal bebasnya atau biasa dikenal dengan IC_{50} , di mana IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% aktivitas radikal bebas, dalam hal ini adalah DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebasnya semakin tinggi. Hubungan antara usia panen dengan nilai IC_{50} pada sampel rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) disajikan pada Gambar 4.10 (Lampiran 6.3).



Gambar 4.10 Hubungan antara usia tumbuh dengan nilai IC_{50}

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.10 diketahui bahwa pada usia 2 minggu menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 210,61 ppm, usia 4 minggu menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 163,69 ppm, usia 6 minggu menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 140,07 ppm, usia 8 minggu menghasilkan IC_{50} sebesar 125,66 ppm, dan usia 10 minggu menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 152,53 ppm. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} diantara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} diantara 100-150 ppm, lemah apabila nilai IC_{50} diantara 151-200 ppm, dan sangat lemah apabila nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm (Molyneux, 2004). Berdasarkan pernyataan tersebut maka aktivitas antioksidan tertinggi pada usia panen 8 minggu termasuk dalam antioksidan sedang.

Pada Gambar 4.10 tergambar jelas bahwa nilai IC_{50} dari usia 2, 4, 6, dan 8 minggu mengalami penurunan, yang berarti aktivitas antioksidannya semakin bagus, sedangkan nilai

IC₅₀ pada usia 10 minggu mengalami kenaikan yang berarti aktivitas antioksidannya semakin buruk. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Antari dkk., 2021) didapatkan informasi bahwa pada minggu ke-1 rumput laut masih mengalami aklimatisasi. Adanya proses aklimatisasi menyebabkan *thallus* belum dapat beradaptasi dengan kondisi perairan. Selanjutnya pada minggu ke-2 sampai minggu ke-5 rumput laut sudah mulai mengalami peningkatan pertumbuhan di mana hal tersebut menandakan bahwa rumput laut sudah melewati fase adaptasi. Pertumbuhan rumput laut semakin cepat pada minggu ke-6 dan minggu ke-7, hal tersebut menunjukkan bahwa rumput laut masih dalam fase pertumbuhan dan belum mencapai fase stasioner. Selanjutnya di atas minggu ke-8 terjadi penurunan proses pertumbuhan karena rumput laut telah mencapai fase stasioner.

Selain itu, pernyataan yang diungkapkan oleh Novianty (2019) bahwa apabila rumput laut sudah mencapai fase stasioner, maka keadaan *thallus* (seluruh bagian tubuh rumput laut) akan semakin lemah sehingga banyak *thallus* yang terputus dari tubuh rumput laut. Lemahnya *thallus* menandakan jeleknya kualitas rumput laut karena akan mengakibatkan turunnya atau rendahnya fungsi-fungsi zat yang terkandung. Berdasarkan pernyataan-pernyataan yang telah disampaikan, dapat disimpulkan bahwa apabila rumput laut belum mencapai fase stasioner maka semakin tinggi usia rumput laut, semakin banyak pula zat-zat atau senyawa bioaktif (metabolit sekunder) yang masih terkandung dalam rumput laut, zat-zat atau senyawa-senyawa tersebut salah satunya berperan sebagai antioksidan, sehingga semakin banyak kandungan zat atau senyawanya maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya untuk meredam radikal bebas. Pernyataan tersebut sesuai dengan nilai IC₅₀ pada penelitian ini di mana semakin tinggi usia rumput laut, semakin besar pula aktivitas antioksidannya, namun pada usia 10 minggu aktivitas antioksidannya mengalami penurunan yang diduga karena rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) sudah mencapai fase stasioner. Oleh karena itu rumput laut (*Gracilaria verrucosa*) yang akan dimanfaatkan kandungan antioksidannya harus dipanen pada usia yang tepat yaitu 8 minggu.

Setelah diketahui aktivitas antioksidan pada masing-masing usia panen tersebut, selanjutnya nilai IC₅₀ dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) akan dibandingkan dengan nilai IC₅₀ dari vitamin C (asam askorbat). Tujuannya adalah agar dapat mengetahui seberapa kuat aktivitas antioksidan dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) apabila dibandingkan dengan vitamin C. Nilai IC₅₀ dari asam askorbat yang diperoleh pada penelitian ini termasuk dalam antioksidan yang sangat kuat dengan nilai sebesar 3,44 ppm. Sehingga aktivitas antioksidan dari vitamin C lebih tinggi apabila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*).

4.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh usia panen rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) terhadap kandungan aktivitas antioksidan. Penelitian ini menggunakan analisis data *One Way Anova* (analisis ragam satu

arah) dengan taraf kepercayaan 95%. *Anova* dilakukan untuk membandingkan suatu hal dengan hal lain. Apakah dengan perlakuan tertentu bisa menghasilkan hasil yang berbeda apabila dibandingkan dengan perlakuan tertentu lainnya. Pada hasil uji *Anova* apabila *p-Value* $< \alpha$ (0.05) maka H_1 diterima, hal tersebut dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan. Namun sebelum dilakukan uji *One Way Anova*, terlebih dahulu dilakukan uji prasyarat berupa uji normalitas dan uji homogenitas. Berikut disajikan Tabel 4.4 hasil uji normalitas pada penelitian ini.

Tabel 4.4 Hasil uji normalitas

Usia Tanaman	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
2 minggu	.130	15	.200*
4 minggu	.146	15	.200*
%Inhibisi 6 minggu	.131	15	.200*
8 minggu	.161	15	.200*
10 minggu	.112	15	.200*

Pada Tabel 4.4 ditampilkan hasil uji normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov. Bisa dilihat pada nilai Sig. di mana semua usia panen nilainya lebih besar dari α (0.05). Maka dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini data yang didapatkan telah terdistribusi normal. Selanjutnya akan ditampilkan data hasil uji homogenitas pada Tabel 4.5 sebagai berikut.

Tabel 4.5 Hasil uji homogenitas

%Inhibisi			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.884	4	70	.478

Pada Tabel 4.5 ditampilkan data hasil uji homogenitas di mana nilai Sig. lebih besar dari α (0.05). Maka dapat disimpulkan bahwa data yang didapatkan pada penelitian ini telah homogen. Setelah dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas, maka data baru bisa dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil analisis *One Way Anova* pengaruh usia panen rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) terhadap aktivitas antioksidan ditampilkan pada Tabel 4.6 sebagai berikut.

Tabel 4.6 Hasil *One Way Anova*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	531.196	4	132.799	3.143	.020
Within Groups	2957.840	70	42.255		
Total	3489.036	74			

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih besar dari F tabel dengan nilai 3,143 $> 2,50$. Selain itu didapatkan hasil dari nilai signifikansi (*p-Value*) sebesar 0,020 di mana nilai tersebut kurang dari α (0.05). Hasil tersebut dapat diinterpretasikan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima yang berarti terdapat pengaruh atau perbedaan signifikan aktivitas antioksidan pada masing-masing usia panen. Selanjutnya diperlukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk

mengetahui letak perbedaan aktivitas antioksidan pada masing-masing usia panen. Hasil dari uji BNT ditunjukkan pada Tabel 4.7 sebagai berikut.

Tabel 4.7 Hasil uji BNT

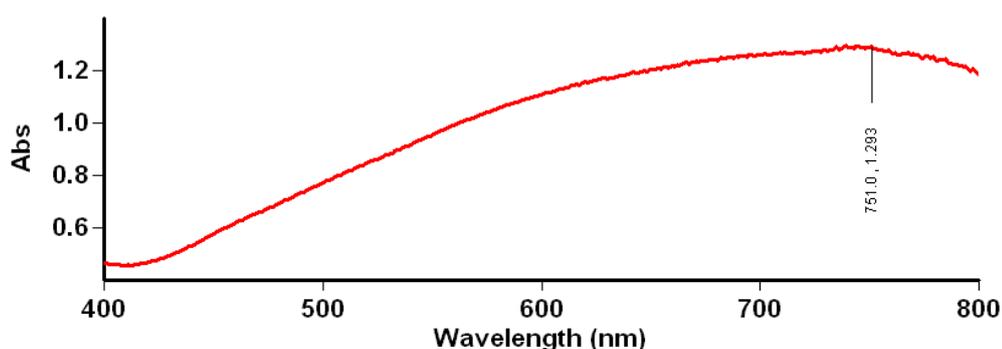
Variasi Usia Panen	Rata-Rata (%)	Notasi
2 minggu	45,53	a
4 minggu	49,66	ab
6 minggu	51,33	b
8 minggu	52,43	b
10 minggu	52,89	b

Tabel 4.7 menunjukkan hasil uji BNT yang diinterpretasikan dengan notasi huruf. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata, sedangkan notasi huruf yang sama menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata antar variasi usia panen. Berdasarkan Tabel 4.7 dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan pada usia 2 minggu terdapat perbedaan nyata dengan usia 6, 8 dan 10 minggu. Sedangkan pada usia 4 minggu tidak terdapat perbedaan nyata dengan usia lainnya. Berdasarkan hasil tersebut juga dapat disimpulkan bahwa usia di atas 6 minggu merupakan usia terbaik dimana aktivitas antioksidannya sudah terdapat perbedaan nyata dengan usia yang lain, hal tersebut membuktikan pernyataan bahwa petani umumnya memanen rumput laut di usia 6 – 8 minggu.

4.6 Total Phenolic Content (TPC)

4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Langkah awal yang perlu dilakukan untuk mengetahui nilai TPC adalah menentukan panjang gelombang maksimum. Data panjang gelombang maksimum nantinya akan memberikan kepekaan terhadap sampel secara maksimal pada saat pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pada penelitian ini digunakan larutan asam galat sebagai larutan standar yang memiliki serapan panjang gelombang maksimum sebesar 751 nm. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saptari dkk (2019) di mana panjang gelombang maksimum asam galat yang didapatkan adalah sebesar 750 nm. Berikut ditampilkan hasil spektra UV-Vis serapan panjang gelombang maksimum asam galat pada Gambar 4.11

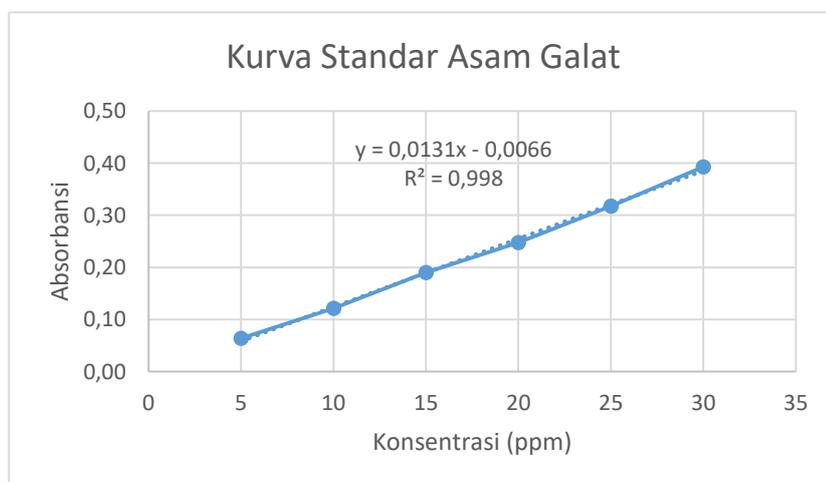


Gambar 4.11 Panjang gelombang maksimum asam galat

4.6.2 Penentuan *Total Phenolic Content* (TPC) Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Penentuan nilai TPC dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa fenol yang berperan sebagai antioksidan. Adapun metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu reagen *Folin-Ciocalteu* dan larutan Na_2CO_3 . Metode tersebut didasarkan pada kekuatan reduksi gugus hidroksi senyawa fenolik pada reagen *Folin-Ciocalteu* (Safitri & Herdyastuti, 2021). Reagen *Folin-Ciocalteu* merupakan larutan yang terdiri dari kompleks ion polimerik dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat. Apabila terdapat senyawa polifenol pada ekstrak sampel, maka akan terjadi reaksi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dengan gugus hidroksi polifenol. Hal tersebut menyebabkan tereduksinya reagen *Folin-Ciocalteu* menjadi kompleks fosfat-fosfomolibdenum berwarna biru sehingga serapannya dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Saptari dkk., 2019). Sedangkan senyawa fenolik akan teroksidasi menjadi ion fenolat. Kemudian, fungsi dari penambahan larutan Na_2CO_3 disini adalah untuk membuat suasana larutan menjadi basa sehingga senyawa fenolik dapat mengalami disosiasi proton menjadi ion fenolat (Safitri & Herdyastuti, 2021).

Pengukuran nilai TPC pada penelitian ini menggunakan kurva standar dari asam galat. Pengukuran ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang yang telah ditentukan pada tahap sebelumnya yaitu 751 nm. Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran fenolik total karena merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana dan bersifat stabil (Lee dkk, 2003). Asam galat juga merupakan salah satu senyawa fenolik yang umum ditemukan pada tumbuhan. Selain itu, penggunaan asam galat sebagai larutan standar dikarenakan asam galat merupakan asam heteropoli yang memiliki 3 gugus *hidroxyphenolic* yang akan dioksidasi oleh reagen *Folin-Ciocalteu* (Safitri & Herdyastuti, 2021). Pada penelitian ini, larutan asam galat dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm untuk membuat kurva standar. Berikut disajikan hasil kurva standar asam galat pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Kurva standar asam galat

Gambar 4.12 menunjukkan regresi linier kurva standar asam galat yang menghasilkan persamaan $y = 0,0131x - 0,0066$ dengan nilai $R^2 = 0,998$. Nilai R^2 tersebut menandakan

linearitas kurva standar ini telah mendekati 1. Sumbu X menunjukkan konsentrasi asam galat (ppm) sedangkan sumbu Y menunjukkan absorbansi. Pengukuran kadar fenolik total ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dihitung melalui persamaan $y = 0,0131x - 0,0066$ yang dilanjutkan dengan rumus *Total Phenolic Content* (TPC). Berikut disajikan Tabel 4.8 hasil pengukuran TPC *Gracilaria verrucosa* pada usia panen yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik yaitu usia 8 minggu dengan pengulangan 1, 2 dan 3.

Tabel 4.8 Hasil perhitungan *Total Phenolic Content* (TPC) rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

Pengulangan	Absorbansi	TPC (mgGAE/g)	Rata-Rata TPC (mgGAE/g)
P1	0,1207	9,7	10,11
P2	0,1257	10,09	
P3	0,1316	10,54	

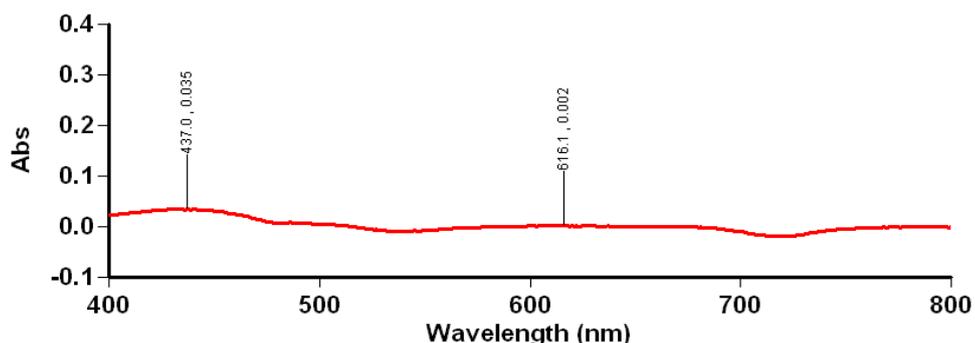
Keterangan: P merupakan singkatan dari pengulangan. Hasil yang disajikan disertai dengan standar deviasi sebesar 0,42

Tabel 4.8 menunjukkan nilai TPC yang terdapat pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) usia 8 minggu sebesar $10,11 \pm 0,42$ mgGAE/g. Hasil tersebut tidak jauh dengan penelitian yang dilakukan oleh Febrianto dkk (2019) di mana nilai TPC dari rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) adalah sebesar 16,52 mgGAE/g.

4.7 Penentuan *Total Flavonoid Content* (TFC)

4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Langkah awal yang perlu dilakukan untuk mengetahui nilai TFC adalah menentukan panjang gelombang maksimum. Serapan absorbansi sampel harus berada pada panjang gelombang maksimumnya supaya didapatkan nilai yang maksimal. Kondisi preparasi sampel akan berbeda antara satu peneliti dengan yang lain, sehingga perlu dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum. Pada penelitian ini digunakan kuersetin sebagai larutan standar yang memiliki serapan panjang gelombang maksimum sebesar 437 nm. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Aminah dkk (2017) di mana panjang gelombang maksimum kuersetin yang didapatkan sebesar 435 nm, nilai tersebut tidak jauh dari panjang gelombang yang didapatkan pada penelitian ini. Berikut ditampilkan hasil spektra UV-Vis serapan panjang gelombang maksimum kuersetin pada Gambar 4.13.

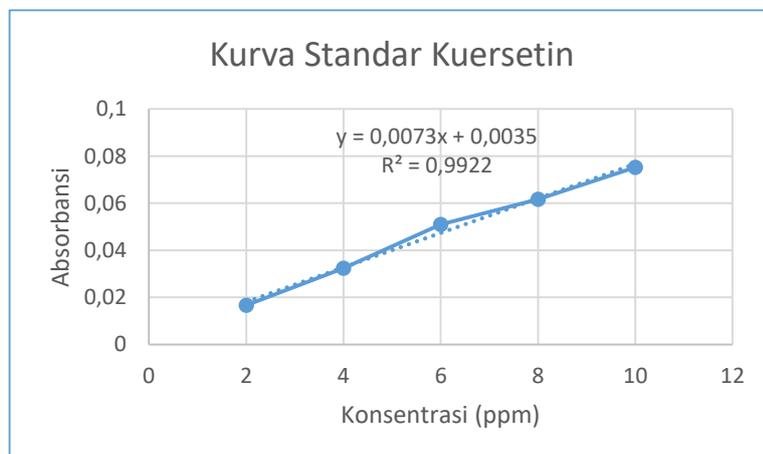


Gambar 4.13 Panjang gelombang maksimum kuersetin

4.7.2 Penentuan *Total Flavonoid Content* (TFC) Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Penentuan nilai TFC dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak kadar senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Penentuan ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis karena pada flavonoid terdapat sistem aromatik terkonjugasi yang dapat menunjukkan pita serapan kuat pada spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak. Pada penelitian ini digunakan larutan AlCl_3 dan larutan kalium asetat. AlCl_3 berfungsi untuk membentuk kompleks apabila bereaksi dengan senyawa flavonoid, kompleks tersebut menyebabkan adanya pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (sinar tampak) ditandai dengan warna larutan yang menjadi lebih kuning. Sedangkan kalium asetat berfungsi untuk menstabilkan dan mempertahankan panjang gelombang di daerah *visible* tersebut. Sebelum diukur, sampel yang sudah ditambahkan dengan AlCl_3 dan kalium asetat terlebih dahulu diinkubasi selama 45 menit yang berfungsi agar proses reaksi antara reagen dengan sampel berjalan lebih maksimal (Aminah dkk., 2017).

Pengukuran nilai TFC pada penelitian ini menggunakan standar dari kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai standar karena termasuk dalam flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Pada penelitian ini larutan standar kuersetin dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Berikut disajikan hasil kurva standar kuersetin pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14 Kurva standar kuersetin

Gambar 4.14 menunjukkan regresi linier kurva standar kuersetin yang menghasilkan persamaan $y = 0,0073x + 0,0035$ dengan nilai $R^2 = 0,9922$. Nilai R^2 tersebut menandakan linearitas kurva standar ini telah mendekati 1. Sumbu X menunjukkan konsentrasi kuersetin (ppm) sedangkan sumbu Y menunjukkan absorbansi. Pengukuran nilai TFC ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dihitung melalui persamaan $y = 0,0073x + 0,0035$ yang dilanjutkan dengan rumus *Total Flavonoid Content* (TFC). Berikut disajikan tabel 4.9 hasil pengukuran nilai TFC *Gracilaria verrucosa* pada usia panen yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik yaitu usia 8 minggu pengulangan 1, 2 dan 3.

Tabel 4.9 Hasil perhitungan *Total Flavonoid Content* (TFC) rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

Pengulangan	Absorbansi	TFC (mgQE/g)	Rata-Rata TFC (mgQE/g)
P1	0,0575	7,39	5,863
P2	0,0362	4,47	
P3	0,0454	5,73	

Keterangan: P merupakan singkatan dari pengulangan. Hasil yang disajikan disertai dengan standar deviasi sebesar 1,46

Tabel 4.9 menunjukkan nilai TFC yang terdapat pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) usia 8 minggu yaitu sebesar $5,863 \pm 1,46$ mgQE/g. Hasil tersebut tidak jauh dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidayati dkk (2023) di mana nilai TFC dari rumput laut merah (*Gracilaria* sp.) didapatkan hasil sebesar 2.26 mgQE/g. Berdasarkan nilai TFC yang telah diperoleh, nilai tersebut telah sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Loho dkk (2021) di mana senyawa golongan flavonoid termasuk dalam senyawa golongan fenolik terbesar yang bertanggung jawab sebagai antioksidan. Pada penelitian ini didapatkan nilai TFC rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) adalah setengah dari nilai TPC yang diperoleh. Setengah dari senyawa golongan fenolik lainnya diduga merupakan gabungan dari senyawa-senyawa bioaktif selain flavonoid yang juga berperan sebagai antioksidan.

4.8 Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) dalam Perspektif Islam

Allah Swt. menciptakan semua hal yang ada di alam semesta pasti memiliki maksud, tujuan, dan manfaat. Salah satunya adalah penciptaan tumbuh-tumbuhan sebagai bukti kekuasaan Allah Swt. Sebagaimana firman Allah Swt. dalam surah asy Syu'ara ayat 7:

﴿ أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴾

Artinya: "Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di bumi berbagai jenis tumbuhan yang tumbuh baik"

Firman Allah tersebut menurut tafsir Al-Madinah Al-Munawwarah atau Markaz Ta'dzhim al-Qur'an menyatakan bahwa Allah tidak akan menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang indah apabila tidak memiliki manfaat. Adanya tumbuh-tumbuhan tersebut merupakan bukti nyata atas besarnya kuasa Allah. Selain itu, menurut tafsir Quraish Shihab menyatakan bahwa banyak sekali manusia yang masih berbuat kufur serta tidak merenungi ciptaan Allah yang ada di bumi. Sebenarnya, apabila mereka bersedia untuk merenungi dan mengamati ciptaan Allah, niscaya mereka akan mendapatkan petunjuk. Hal tersebut berarti Allah sebenarnya telah menciptakan segala sesuatu di bumi dengan berbagai macam manfaat, namun kurangnya ketersediaan manusia untuk merenungi dan memahami berbagai ciptaan Allah menjadikan berbagai ciptaan Allah tersebut masih kurang untuk dieksplorasi. Oleh karena itu kita sebagai manusia patutlah bersyukur dengan cara merenungi, mengamati, dan memanfaatkan dengan sebaik-baiknya ciptaan-ciptaan Allah tersebut. Hal tersebut semakin diperjelas pada Qur'an surah Ali Imran ayat 191:

﴿ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan 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”

Firman Allah tersebut menyatakan bahwa kita sebagai makhluk Allah sudah sepantasnya merenungi, mengamati, dan memanfaatkan berbagai ciptaan Allah di bumi. Orang-orang yang selalu berdzikir untuk mengingat tanda-tanda kekuasaan Allah akan senantiasa berpikir positif. Apapun yang dilihat, didengar, dan dirasakan akan mengandung keindahan dan akan memberikan hikmah yang luar biasa. Apabila terdapat seseorang yang berpikir dan merenung kemudian meneliti, maka ia akan menghadap kepada Allah secara sungguh-sungguh dengan keyakinan yang ada pada dirinya bahwa Allah menciptakan semua makhluk di bumi pasti memiliki manfaat. Menurut Tafsir Al-Qurthubi dalam kitab Al-Jami’ul Ahkamil Qur’an menyatakan bahwa ayat tersebut memerintahkan kita untuk melihat, merenung, dan mengambil pelajaran pada tanda-tanda kekuasaan-Nya. Semua itu tidak mungkin ada kecuali diciptakan oleh Allah dengan tujuan yang bermanfaat (Al-Qurthubi & Ahmad, 2006). Salah satu ciptaan Allah yang sudah sepantasnya kita renungi, amati, dan memanfaatkan adalah tumbuh-tumbuhan.

Setelah mengetahui bahwa kita harus merenungi, mengamati, dan memanfaatkan ciptaan Allah dengan sebaik-baiknya semasa hidup di dunia, kita juga perlu ingat bahwasannya kita hidup di dunia hanyalah sementara, maka dari itu penting bagi kita untuk menghargai dan menghormati waktu. Sebagaimana perintah Allah dalam surat Al ‘Asr ayat 1-3 sebagai berikut:

﴿ وَالْعَصْرُ إِنَّ الْإِنْسَانَ لَفِي خُسْرٍ إِلَّا الَّذِينَ آمَنُوا وَعَمِلُوا الصَّالِحَاتِ وَتَوَاصَوْا بِالْحَقِّ وَتَوَاصَوْا بِالصَّبْرِ ﴾

Artinya: “Demi masa, sesungguhnya manusia benar-benar berada dalam kerugian, kecuali orang-orang yang beriman dan beramal saleh serta saling menasihati untuk kebenaran dan kesabaran”

Firman Allah tersebut menurut tafsir Al-Mishbah dari Quraisy Shihab menjelaskan mengenai pentingnya memanfaatkan waktu dengan sebaik mungkin, serta mengisinya dengan kegiatan yang berfaedah. Apabila manusia hidup di bumi hanya untuk berfoya-foya tanpa mengingat Allah, maka sesungguhnya mereka akan mengalami kerugian. Selain itu, firman Allah tersebut didukung dengan hadist Rasulullah SAW, dari Ibnu ‘Abbas sebagai berikut:

إِعْتَنِمَ خَمْسًا قَبْلَ خَمْسٍ : شَبَابِكَ قَبْلَ هَرَمِكَ وَصِحَّتِكَ قَبْلَ سَقَمِكَ وَغِنَاكَ قَبْلَ فُقْرِكَ وَفَرَاغَكَ قَبْلَ شُغْلِكَ وَحَيَاتِكَ قَبْلَ مَوْتِكَ

Artinya: “manfaatkan lima perkara sebelum datangnya lima perkara: (1) Waktu mudamu sebelum datang waktu tuamu (2) Waktu sehatmu sebelum datang waktu sakitmu (3) Waktu kayamu sebelum datang masa kefakiranmu (4) Masa luangmu sebelum datang masa sibukmu (5) Hidupmu sebelum datang kematianmu”

Poin 1 pada hadist tersebut mengingatkan kita bahwa seseorang akan mengalami masa kecil, masa muda (dewasa), dan masa tua. Masa kecil dan masa tua adalah masa sulit untuk beramal, berbeda dengan masa muda (dewasa) di mana manusia masih memiliki segala hal dari mulai kesehatan, kekuatan, dan kesempatan. Pada masa itu, akal dan pikiran manusia juga sudah memasuki masa yang matang, oleh karena itu masa muda (dewasa) adalah masa emas untuk beribadah. Apabila kita sudah menua, kesempatan itu tidak akan datang lagi dan hanya sebatas harapan, karena tubuh kita sudah mulai melemah dan tidak mampu untuk mengerjakan sesuatu dengan maksimal karena akal serta ingatan kita perlahan telah memudar. Perumpamaan tersebut juga dapat diibaratkan pada tubuh tumbuhan. Tumbuhan yang terlalu kecil masih perlu beradaptasi dengan lingkungan, selain itu akar, batang, dan daunnya masih belum tumbuh secara maksimal. Berbeda dengan tumbuhan dewasa yang sudah melewati masa adaptasi, tumbuhan pada masa ini sudah memiliki seluruh bagian tubuhnya secara lengkap sehingga kandungan senyawa-senyawa didalamnya pun telah maksimal. Kemudian, apabila tumbuhan memasuki masa tua, tumbuhan tersebut akan memasuki masa stasioner di mana tubuhnya mulai melemah yang menandakan sedikitnya kandungan senyawa didalam tubuh tumbuhan, sehingga tumbuhan tersebut sudah tidak dapat dimanfaatkan kandungannya secara maksimal seperti pada masa dewasa.

Sebagaimana hasil dari penelitian ini yang menyatakan bahwa apabila rumput laut dipanen pada usia yang berbeda-beda (muda, dewasa (matang), dan tua) maka akan memiliki kandungan antioksidan yang berbeda pula. Terbukti bahwa rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang dipanen pada usia matang (8 minggu) memiliki manfaat antioksidan yang paling baik dibandingkan dengan usia-usia lainnya nilai IC_{50} sebesar 125,66 ppm. Aktivitas antioksidan tersebut didukung dengan adanya berbagai senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Selain itu, terdapat pula kandungan senyawa golongan fenolik sebesar 10,11 mgGAE/g dan senyawa golongan flavonoid sebesar 5,863 mgQE/g yang ada pada laut merah (*Gracilaria verrucosa*). Pernyataan tersebut merupakan salah satu bukti bahwa manfaat suatu tanaman akan optimal apabila dipanen pada usia atau waktu yang tepat.

Adanya manfaat rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) akan semakin memperkuat firman Allah mengenai penciptaan tumbuh-tumbuhan yang memiliki segudang manfaat. Penelitian mengenai pemanfaatan rumput laut sebagai antioksidan pada usia yang tepat merupakan salah satu bentuk usaha dalam merenungi, memahami, dan memanfaatkan ajaran ayat-ayat al-Qur'an. Selain itu juga menjadi salah satu bentuk dari ikhtiar manusia dalam memanfaatkan kandungan rumput laut. Hal tersebut menjadi pembuktian kebenaran ayat-ayat al-Qur'an di mana segala sesuatu yang diciptakan Allah ke bumi pasti memiliki manfaat yang luar biasa dan tidak akan sia-sia. Oleh karena itu, bukti dari kekuasaan Allah ini diharapkan mampu memperkuat dan mempererat iman kita agar senantiasa berfikir, berdzikir, dan mengingat Allah dalam keadaan apapun.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) positif mengandung beberapa golongan senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin yang diuji secara kualitatif menggunakan pereaksi tertentu pada skrining fitokimia.
2. Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh usia panen terhadap aktivitas antioksidan, di mana aktivitas antioksidan *Gracilaria verrucosa* yang dipanen pada usia 2, 4, 6, dan 8 minggu mengalami kenaikan, sedangkan pada usia 10 minggu mengalami penurunan. Nilai IC₅₀ pada usia 2, 4, 6, 8, 10 minggu berturut-turut sebesar 210,62 ppm, 163,69 ppm, 140,07 ppm, 125,66 ppm, dan 152,53 ppm. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) yang dipanen pada usia 8 minggu.
3. Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucoa*) usia 8 minggu memiliki kandungan senyawa golongan fenolik sebesar $10,11 \pm 0,42$ mgGAE/g dan senyawa golongan flavonoid sebesar $5,863 \pm 1,46$ mgQE/g.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penggunaan metode uji aktivitas antioksidan selain metode DPPH sebagai pembanding. Selain itu, disarankan pemisahan senyawa golongan metabolit sekunder yang berperan besar pada aktivitas antioksidan menggunakan metode kromatografi kolom atau Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Selanjutnya, identifikasi lebih lanjut dapat dilakukan dengan menggunakan spektroskopi.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Svobodová, J. Psotová, D. Walterová, dan others. (2003). Natural Phenolics in the Prevention of Uvinduced Skin Damage, a review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, vol. 147, no. 2, hlm. 137–145.
- Al-Mubarakfuri, Shafiyyurrahman, Al-Atsari, A. I. (2011). *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir.
- Al-Qurthubi dan Ahmad, M.I. 2006. *Al-Jami' li Ahkam Al-Qur'an*. Beirut: Mu'assasah ar-Risalah
- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N., & Davidovic. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Jurnal Croatia Chem Acta*, 76(1), 55-56.
- Agustanti, Eka, K. N., & Putri, O. K. (2018). *Perbandingan Kadar Saponin Ekstrak Lerak (Sapindus rarak) dengan Variasi Jumlah Pelarut Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS*. Malang: Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang.
- Aminah, Hamsinah, H., Abiwa, N. A., & Anggo, S. (2020). Potensi Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 12(1), 36–41.
- Aminah, Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230.
- Antari, N. P. P. S. D., Watiniasih, N. L., & Dewi, A. P. W. K. (2021). Pertumbuhan Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) dengan Berat Bibit Awal Berbeda di Pantai Pandawa, Bali. *Jurnal Biologi Udayana*, 25(2), 122–129.
- Aprinaldi, B., Idacahyati, K., & Lestari, T. (2020). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Journal of Pharmacopolium*, 3(1), 36–42.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., & Rasyid, R. (2006). Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 11(2), 88–93.
- Aripudin, Wulansari, D., & Fernanda, E. (2022). Pengaruh Penambahan Karagenan Terhadap Tingkat Penerimaan Sediaan Krim Wajah. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 10(2), 99–106.
- Aryanti, R., Perdana, F., & Mahendra, R. A. R. (2021). Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24.
- Asih, D. J., Warditiani, N. K., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review Artikel: Aktivitas Antioksidan

- Ekstrak Amla (*Phyllanthus emblica* / *Emblica officinalis*). *Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(6), 674–687.
- Astra, M. D. T., Aini, N., & Bintari, Y. R. (2016). *Pengaruh Metode Ekstraksi (Maserasi, Digerasi, Soxhletasi) Terhadap Aktivitas Antioksidan Rumput Laut*. Malang: Universitas Islam Malang.
- Febrianti, P., Prabowo, W. C., & Rijai, L. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 196–204.
- Febrianto, W., Djunaedi, A., Suryono, S., Santosa, W. G., & Sunaryo, S. (2019). Potensi Antioksidan Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* dari Pantai Gunung Kidul, Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, 22(1), 81–86.
- Ganesan, P., Kumar, C. S., & Bhaskar, N. (2008). Antioxidant Properties of Methanol Extract and Its Solvent Fractions Obtained from Selected Indian Red Seaweeds. *Bioresource Technology*, 99(8), 2717–2723.
- Hafsari, S. (2017). Analisis Mutu Tepung Lawi-Lawi (*Caulerpa racemosa* sp.) dengan Berbagai Metode Pengeringan. *Skripsi*. Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.
- Halimah, M., Sari, D. S., & Anggraeni, S. R. (2022). Sosialisasi Konservasi Rumput Laut Terkait Kegiatan Pengolahan Rumput Laut di Pesisir Pantai Karapyak, Desa Bagolo, Pangandaran. *Journal of Berdaya*, 2(2), 47–60.
- Hanapi, A., Fasya, A. G., Mardiyah, U., & Miftahurrahmah. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Alchemy*, 2(2).
- Harborne, J. (1996). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S., & Handharyani, E. (2014). Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), 80–91.
- Hartanto, H., & Sutriningsih. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Serta Uji Stabilitas Pengaruh Konsentrasi Emulgator Asam Stearat dan Trietanolamin Terhadap Formulasi Krim. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 119–130.
- Hidayati, J. R., Karlina, I., Ningsih, D. P. N., Wijaya, A., & Bahry, M. S. (2023). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Tropical Red Algae *Gracilaria* sp. from Bintan Island, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1148(1),

- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., & Sihasale, L. (2006). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Berkala Penelitian Hayati*, 12(1), 57–61.
- Insani, A. N., Hafiludin, & Chandra, A. (2022). Pemanfaatan Ekstrak *Gracilaria* sp. dari Perairan Pamekasan sebagai Antioksidan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, 3(1), 16–25.
- Kartika, L., Ardana, M., & Rusli, R. (2020). Aktivitas Antioksidan Tanaman Genus *Artocarpus liza*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 237–244.
- Kemit, N., Widarta, I. W. R., & Nocianitri, K. A. (2016). Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill). *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 5(2), 130–141.
- Kurniati, R. I. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Buas-Buas (*Premna cordifolia* Linn.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura
- Kurniawati, I., Maftuch, & Hariati, A. M. (2016). Penentuan Pelarut Dan Lama Ekstraksi Terbaik pada Teknik Maserasi *Gracilaria* sp . Serta Pengaruhnya Terhadap Kadar Air. *Jurnal Ilmu Perikanan*, 7(2), 72–77.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H. J, & Lee, C.Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7292–7295.
- Langi, P., Yudistira, A., & Mansauda, K. L. . (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Karang Lunak (*Nepthea* sp.) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*, 9(3), 425–431.
- Lesnussa, T., Hattu, N., & Dulanlebit, Y. H. (2019). Analisis Kadar Kalsium (Ca) dan Fosfor (P) pada Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L) di Pulau Ambon dan Seram Bagian Barat. *Molluca Journal of Chemistry Education (MJoCE)*, 9(1), 46–54.
- Lestario, L. N., Sugiarto, S., & Timotius, K. H. (2008). Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa* L.). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 19(2), 131–139.
- Loho, R. E. M., Tiho, M., & Assa, Y. A. (2021). Kandungan dan Aktivitas Antioksidan pada Rumput Laut Merah. *Medical Scope Journal (MSJ)*, 3(1), 113–120.

- Luringunusa, E., Sanger, G., Sumilat, D. A., Montolalu, R. I., Damongilala, L. J., & Dotulong, V. (2023). Qualitative Phytochemical Analysis of *Gracilaria verrucosa* from North Sulawesi Waters. *Jurnal Ilmiah Platax*, 11(2), 451–463.
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, 9(2), 64–69.
- Marliana, S. D., & Suryanti, V. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Marseno, D. W., Medho, M. S., & Haryadi. (2010). Pengaruh Umur Panen Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Terhadap Sifat Fisik, Kimia dan Fungsional Karagenan. *Agritech*, 30(4), 212–217.
- Martinah, S., Sutamihardja, R., & Sugiarti, L. (2014). Optimasi Perlakuan Polyethylene Glikol (PEG) 6000 Terhadap Isolasi Agarosa Rumput Laut *Glacilaria* sp. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 4(3), 115–128.
- Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U. (2007). Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*, 7, 2080–2095.
- Maulida, W., Fadraersada, J., & Rijai, L. (2016). Isolasi Senyawa Antioksidan dari Daun Pila – Pila (*Mallotus paniculatus*). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-4*, 384–390.
- Melati, & Parbuntari, H. (2022). Screening Fitokimia Awal (Analisis Qualitative) pada Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Asal Siguntur Muda. *Chemistry Journal of Universitas Negeri Padang*, 11(3), 88–92.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Mukhtarini. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361–367.
- Müller, J., & Heindl, A. (2006). Drying of Medicinal Plants in R.J. Bogers, L.E. Craker, and D. Lange (eds.). In *Medicinal and Aromatic Plant*. The Natherlands.
- Ningsih, A. W., Hanifa, I., & Hisbiyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(2), 96–104.

- Nobossé, P., Fombang, E. N., & Mbofung, C. M. F. (2018). Effects of Age And Extraction Solvent on Phytochemical Content And Antioxidant Activity of Fresh *Moringa oleifera* L. Leaves. *Food Science and Nutrition*, 6(8), 2188–2198.
- Novianty, H. (2019). Penentuan Usia Panen Terhadap Karakteristik *Eucheuma Cottonii* dari Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 19(2), 105–116.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Persediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1).
- Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Estrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif pada Sabun Antibakteri. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 4(1), 23–36.
- Nurlinda, Handayani, V., & Rasyid, F. A. (2021). Spectrophotometric Determination of Total Flavonoid Content in Biancaea Sappan (*Caesalpinia sappan* L .) Leaves. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(3), 1–4.
- Nurmila, N., Sinay, H., & Watuguly, T. (2019). Identifikasi dan Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Getah Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) di Dusun Wanath Kecamatan Leihitu Kabupaten Maluku Tengah. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 5(2), 65–71.
- Nurung, S. H. H. (2016). Penentuan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, Dan Karotenoid Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*vigna radiata* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (skripsi). *Skripsi*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Octaviani, Yuniastuti, & Christijanti. (2021). Aktivitas Antioksidan dari Pati Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) pada Tikus Hiperkolestrolema D. *Prosiding Semnas Biologi Ke-9 Tahun 2021*, 172–177.
- Pontoh, F. W., Sanger, G., Kaseger, B. E., Wonggo, D., Montolalu, R. I., Damongilala, L. J., & Makapedua, D. M. (2019). Kandungan Fitokimia, Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Halymenia durvillae*. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 7(3), 62–67.
- Prabawaningrum, D., Kasmiyati, S., & Mahardika, A. (2020). Kandungan Pigmen dan Aktivitas Antioksidan pada Tanaman *Celosia plumosa* Bunga Merah dan Kuning. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 5(2), 119–128.
- Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan

- Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 75–82.
- Puspitasari, A. D., Susanti, E., & Khustiana, A. (2019). Ktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Vitamin C Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus limon* (L .) Osbeck) Menggunakan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, V(2), 99–104.
- Puspitasari, M. L., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., Maligan, J. M., & Nugrahini, N. I. P. (2016). Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L .) dan KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L .). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 283–290.
- Rajauria, G., Foley, B., & Abu-ghannam, N. (2016). Identification and Characterization of Phenolic Antioxidant Compounds from Brown Irish Seaweed *Himanthalia elongata* using LC-DAD-ESI-MS/MS. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37(part B), 261–268.
- Ramdani, Y., Ananto, A. D., & Hajrin, W. (2021). Variasi Metode Ekstraksi dan Penetapan Nilai SPF Ekstrak Rumput Laut Merah (*Eucheuma cottonii*). *Acta Pharm Indo*, 9(1), 31–43. <https://doi.org/10.20884/1.api.2021.9.1.4001>.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*, 9(2), 196–202.
- Rizkayanti, Diah, A. W. M., & Jura, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2), 125–131.
- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2015). Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149–153.
- Safitri, I. N., & Herdyastuti, N. (2021). Pengaruh Suhu Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Bawang Putih Bubuk dan Bawang Hitam Bubuk. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(3), 348–355.
- Sanger, G., Kaseger, B. E., Rarung, L. K., & Damongilala, L. (2018). Potensi Beberapa Jenis Rumput Laut sebagai Bahan Pangan Fungsional, Sumber Pigmen dan Antioksidan Alami. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), 208–2017.
- Sangi, M. S., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2013). Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arange pinnata*). Universitas Sam Ratulangi.
- Saptari, T., Triastinurmiatiningsih, Lohita, B., & Sayyidah, I. N. (2019). Kadar Fenolik dan

- Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Laut Coklat (*Padina australis*). *Fitofarmaka*, 9(1), 1–14.
- Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). Kandungan Fitokimia *Zanthoxylum scanthopodium* dan Potensinya Sebagai Tanaman Obat di Wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 5(1), 71–76.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- Septiana, A. T., Dwiyantri, H., Muchtadi, D., & Zakaria, F. (2005). Kajian Antioksidan Zingiberaceae sebagai Penghambat Oksidasi Lipoprotein Densitas Rendah (LDL) dan Akumulasi Kolesterol pada Makrofag. *Laporan Penelitian Hibah Pekerti Tahun 2*.
- Setyowati, W. A. E., & Damayanti, D. R. (2014). *Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (Durio zibethinus Murr) Varietas Petruk*. Solo: Universitas Sebelas Maret.
- Sundu, R., Supriningrum, R., & Fatimah, N. (2022a). Kandungan Total Senyawa Fenol, Total Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Sekilang (*Embelia borneensis* Scheff.). *Bivalen: Chemical Studies Journal*, 5(2), 31–36.
- Sundu, R., Supriningrum, R., & Fatimah, N. (2022). Kandungan Total Senyawa Fenol, Total Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Sekilang (*Embelia borneensis* Scheff.) Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Sekilang. *Bivalen: Chemical Studies Journal*, 5(November), 31–36.
- Suparmi, & Sahri, A. (2009). Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri dan Kesehatan. *Sultan Agung*, XLIV(118), 95–116.
- Susiloningrum, D., & Indrawati, D. (2020). Penapisan Fitokimia dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*, 9(2), 126–136.
- Svehla, G. (1990). *Vogel (Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro)*. PT. Kalman Media Pusaka.
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak dan Fraksi *Ascidian herdmania* momus dari Perairan Pulau Bangka

Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* DAN *Candida albicans*. *Pharmakon*, 10(1), 706–712.

Widodo, S., Yusa, N. M., & Ina, P. T. (2021). Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mundu (*Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(1), 14–23.

Winarti, S. (2010). *Makanan Fungsional*. Graha Ilmu.

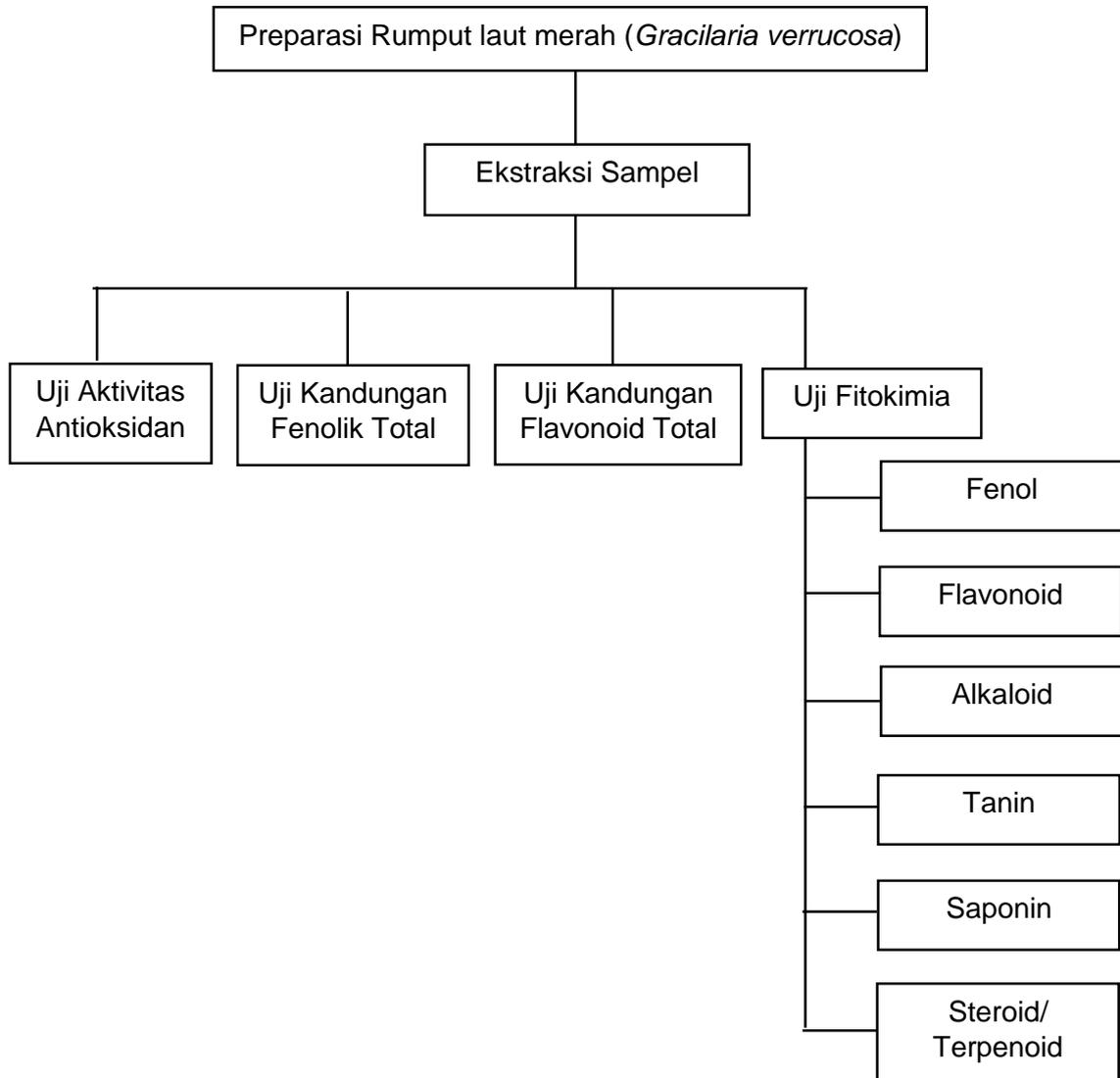
Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), 35–42.

Zaini, M., & Shofia, V. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak *Carica Papaya Radix*, *Piper Ornatum Folium* dan *Nephelium Lappaceum* Semen Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan Dan Teknologi*, 2(1), 15–28.

Zela, A. W. M., & Diah. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil A. *Media Eksakta*, 17(2), 85–90.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian



Lampiran 2 Diagram Alir

L.2.1 Preparasi Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- dicuci hingga bersih dari kotoran
- dipotong menjadi kecil-kecil dan dikeringkan secara manual dengan oven suhu 30-38°C sampai mongering (24 jam)
- dilakukan penggilingan dengan blender
- diayak

Hasil

L.2.2 Ekstraksi Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) Menggunakan Metode Maserasi

Bubuk rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 20 gram bubuk rumput laut merah dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- ditambahkan etanol 96% sebanyak 200 ml (perbandingan sampel dan etanol 1:10)
- diaduk atau dikocok dan ditutup dengan alumunium foil, proses perendaman dilakukan selama 24 jam di suhu ruang dengan bantuan *shaker* kecepatan 150 rpm
- setelah 24 jam, disaring larutan ekstrak menggunakan corong Buchner dan ditampung filtratnya (filtrat I)
- residu yang dihasilkan dilakukan remaserasi selama 24 jam kemudian disaring menggunakan corong Buchner dan ditampung filtratnya (filtrat II)
- disatukan filtrat I dan filtrat II dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*
- ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya

Hasil

L.2.3 Uji Skrining Fitokimia

L.2.3.1 Uji Tanin

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 0,1 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% (hasil positif akan terbentuk warna hijau kehitaman)

Hasil

L.2.3.2 Uji Alkaloid

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 0,1 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi yang berbeda
- ditambahkan sebanyak 0,5 mL larutan HCl 2% pada kedua tabung
- ditambahkan sebanyak 0,5 mL reagen dragendorff pada tabung pertama (hasil positif akan terbentuk endapan berwarna merah bata/jingga/cokelat orange)
- ditambahkan sebanyak 2-3 tetes pereaksi meyer pada tabung kedua (hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan)

Hasil

L.2.3.3 Uji Flavonoid

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 0,1 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- dilarutkan dengan 2 mL etanol panas
- ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg
- ditambahkan 2 tetes HCl 2N (hasil positif larutan akan berubah warna menjadi merah, kuning, atau jingga)

Hasil

L.2.3.4 Uji Saponin

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 0,1 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- dilarutkan menggunakan 10 mL aquades
- dikocok selama 1 menit
- ditambahkan 2-3 tetes HCl 1N jika menimbulkan busa
- diamati selama 1 menit (hasil positif akan terbentuk busa stabil)

Hasil

L.2.3.5 Uji Fenol

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 0,1 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabun reaksi
- ditambahkan 2 tetes FeCl_3 5% (hasil positif akan terbentuk warna hijau atau biru gelap yang kuat)

Hasil

L.2.3.6 Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 0,1 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabun reaksi
- dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform
- ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat
- ditambahkan dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi (Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, hal tersebut menunjukkan ada senyawa triterpenoid dalam sampel. Apabila terbentuk warna hijau kebiruan maka menunjukkan adanya steroid.)

Hasil

L.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan dan IC_{50} dengan Metode DPPH

L.2.4.1 Pembuatan Larutan DPPH

DPPH padat

- ditimbang DPPH sebanyak 1,57 mg
- dilarutkan dengan etanol 80% dalam labu ukur 20 mL dihomogenkan

Larutan DPPH 0,2 mM

- dibuat larutan kontrol dengan cara dimasukkan 1 mL larutan DPPH ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 3 mL etanol 80%

Hasil

L.2.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,2 mM

- dipipet 1 mL larutan DPPH 0,2 mL ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 3 mL etanol 80%
- divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- diukur panjang gelombang maksimumnya antara 400 – 800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

L.2.4.3 Pembuatan Larutan Ekstrak Rumput Laut Merah + DPPH

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- dibuat larutan induk ekstrak rumput laut dengan cara ditimbang 50 mg ekstrak rumput laut merah
- dilarutkan ke dalam 5 mL etanol 80% (10.000 ppm)

Larutan Induk

- dibuat larutan konsentrasi 50 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,5 mL larutan induk
- ditambahkan etanol 80% hingga volumenya 100 mL dan dihomogenkan
- diambil 3 mL dari 100 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH
- dibuat larutan konsentrasi 100 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,1 mL larutan induk
- ditambahkan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan
- diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH
- dibuat larutan konsentrasi 150 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,15 mL larutan induk
- ditambahkan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan
- diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH
- dibuat larutan konsentrasi 200 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,2 mL larutan induk
- ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan
- diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH
- dibuat larutan konsentrasi 250 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,25 mL larutan induk
- ditambahkan dengan etanol 80% hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan
- diambil 3 mL dari 10 mL tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH

Hasil

L.2.4.4 Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Vitamin C)

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- dibuat larutan induk vitamin C dengan cara ditimbang 1 mg vitamin C
- dilarutkan ke dalam 10 mL etanol 80% (100 ppm)

Larutan induk vitamin C 100 ppm

- dibuat beberapa konsentrasi larutan (2, 4, 6, 8, 10 ppm) dengan cara ditimbang 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL larutan induk untuk masing-masing tabung reaksi yang berbeda
- ditambahkan dengan etanol 80% sampai volumenya 10 mL dan dihomogenkan
- diambil 3 mL dari 10 mL masing-masing larutan tersebut untuk dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH pada tabung reaksi yang berbeda

Hasil

L.2.4.5 Pengukuran Absorbansi

Larutan kontrol, ekstrak sampel, dan larutan kontrol positif vitamin C

- diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam keadaan gelap
- diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan pada tahap sebelumnya
- setelah nilai absorbansi diperoleh, dihitung persen hambatan atau % inhibisi pada masing-masing larutan menggunakan rumus
- setelah diperoleh % inhibisi untuk masing-masing larutan, kemudian dicari nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan $ax + b$ yang diperoleh kurva regresi linier hubungan antara konsentrasi dan presentase inhibisi (%). Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$

Hasil

L.2.5 Uji *Total Phenolic Content* (TPC)

L.2.5.1 Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Asam galat

- Ditimbang 10 mg asam galat
- Dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%

Larutan asam galat 1000 ppm

- dibuat beberapa konsentrasi larutan (5, 10, 15, 20, 25, 30 ppm) dengan cara dipipet 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; dan 0,3 mL larutan asam galat 1000 ppm
- ditandabatkan masing-masing larutan tersebut dengan etanol 96% dalam labu ukur 10 mL

Hasil

L.2.5.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Asam galat 20 ppm

- dipipet 0,5 mL larutan asam galat 20 ppm
- ditambahkan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu
- ditambahkan 2 mL Na₂CO₃ 7 %
- divortex dan diinkubasi selama 45 menit
- diukur panjang gelombang maksimumnya pada rentang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

L.2.5.3 Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Variasi konsentrasi asam galat

- dipipet 0,5 mL larutan asam galat 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm
- ditambahkan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu
- ditambahkan 2 mL Na₂CO₃ 7 %
- divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C
- diukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya
- dibuat kurva regresi linier dari absorbansi larutan standar asam galat, dan didapatkan persamaan $y = ax + b$

Hasil

L.2.5.4 Penentuan Nilai TPC pada Ekstrak Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 10 mg ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)
- dilarutkan dalam 10 mL etanol

Larutan Sampel 1000 ppm

- dipipet larutan sampel sebanyak 0,5 mL ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteu
- ditambahkan 2 mL Na_2CO_3 7%
- divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C
- diukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya
- dihitung kadarnya (TPC) dengan dimasukkan hasil absorbansi ekstrak ke dalam persamaan $y = ax + b$

Hasil

L.2.6 Uji *Total Flavonoid Content* (TFC)

L.2.6.1 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Kuersetin

- Ditimbang 10 mg kuersetin
- Dilarutkan dalam 10 mL aquades

Larutan kuersetin 1000 ppm

- dibuat beberapa konsentrasi larutan (2, 4, 6, 8, 10 ppm) dengan cara ditimbang 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; dan 0,1 mL larutan kuersetin 1000 ppm
- ditandabatkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL

Hasil

L.2.6.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Kuersetin 4 ppm

- dipipet 1 mL larutan kuersetin 4 ppm
- ditambahkan 1,5 mL etanol
- ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%
- ditambahkan 0,2 mL kalium asetat 1M
- ditandabatkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL
- divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C
- diukur panjang gelombang maksimumnya pada rentang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

L.2.6.3 Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Variasi konsentrasi kuersetin

- Dipipet 1 mL larutan kuersetin 2, 4, 6, 8, 10 ppm
- ditambahkan 1,5 mL etanol
- ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%
- ditambahkan 0,2 mL kalium asetat 1M
- ditandabatkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL
- divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C
- diukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya
- dibuat kurva regresi linier dari absorbansi larutan standar kuersetin, dan didapatkan persamaan $y = ax + b$

Hasil

L.2.6.4 Penentuan Nilai TFC pada Ekstrak Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)

- ditimbang 10 mg ekstrak etanol rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*)
- dilarutkan dalam 10 mL aquades

Larutan sampel 1000 ppm

- dipipet sampel sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 1,5 mL etanol 70%
- ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%
- ditambahkan 0,2 mL kalium asetat
- ditandabatkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL
- divortex dan diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C
- diukur serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya
- dihitung kadarnya (TFC) dengan dimasukkan hasil absorbansi ekstrak ke dalam persamaan $y = ax + b$

Hasil

Lampiran 3 Perhitungan

L.3.1 Pembuatan larutan HCl 2%

HCl	→	HCl
37%	→	2%
x	→	50 mL

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 50 \text{ mL}$$

$$0,37 \times V_1 = 0,02 \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,702 \text{ mL}$$

L.3.2 Pembuatan larutan HCl 1N

$$\rho \text{ HCl } 37\% = 1,19 \text{ gr/mL} = 1190 \text{ gr/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37\% = 0,37$$

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

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

Normalitas HCl

$$= n \times \frac{37\% \times \rho}{Mr}$$

$$= 1 \times \frac{37\% \times 1190 \frac{\text{gr}}{\text{L}}}{36,5 \frac{\text{gr}}{\text{mol}}}$$

$$= 12,063 \text{ N}$$

Volume HCl

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

$$12,063 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 4,144 \text{ mL}$$

L.3.3 Pembuatan larutan AlCl₃ 10%

$$\% \text{ konsentrasi} = b/v$$

$$10\% = b / 10 \text{ mL}$$

$$b \text{ (gr)} = 0,1 \times 10 \text{ mL}$$

$$= 1 \text{ g}$$

L.3.4 Pembuatan larutan FeCl₃ 1%

$$\% \text{ konsentrasi} = b/v$$

$$1\% = b / 100 \text{ mL}$$

$$b \text{ (gr)} = 0,01 \times 100 \text{ mL}$$

$$= 1 \text{ g}$$

L.3.5 Pembuatan larutan FeCl₃ 3%

$$\% \text{ konsentrasi} = b/v$$

$$3\% = b / 100 \text{ mL}$$

$$b \text{ (gr)} = 0,03 \times 100 \text{ mL}$$

$$= 3 \text{ gr}$$

L.3.6 Pembuatan larutan Na₂CO₃ 7%

$$\% \text{ konsentrasi} = b/v$$

$$7\% = b / 10 \text{ mL}$$

$$b \text{ (gr)} = 0,07 \times 10 \text{ mL}$$

$$= 0,7 \text{ gr}$$

L.3.7 Pembuatan Kalium Asetat 1M

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{g}{V}$$

$$1 = \frac{g}{98,14} \times \frac{1000}{10 \text{ mL}}$$

$$100 = 98,14 \text{ g}$$

$$g = 0,9814$$

L.3.8 Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM

$$\begin{aligned} \text{Mr DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\ n \text{ DPPH} &= \text{Volume DPPH} \times M \text{ DPPH} \\ &= 20 \text{ mL} \times 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ M} \\ &= 0,004 \text{ mmol} \\ &= 4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \\ \text{Massa DPPH} &= n \text{ DPPH} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \times 394,333 \text{ g/mol} \\ &= 158 \cdot 10^{-5} \text{ g} \\ &= 1,58 \text{ mg} \end{aligned}$$

L.3.9 Pembuatan Larutan induk ekstrak etanol rumput laut merah + DPPH (10.000 ppm)

$$\begin{aligned} 10.000 \text{ ppm} &= 10.000 \text{ mg} / 1000 \text{ mL} \\ &= 50 \text{ mg} / 5 \text{ mL} \\ &= 0,05 \text{ g} / 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

L.3.10 Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak rumput laut merah**50 ppm**

$$\begin{aligned} M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\ 10.000 \text{ ppm} \times V_1 &= 50 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

100 ppm

$$\begin{aligned} M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\ 10.000 \text{ ppm} \times V_1 &= 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,1 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & \mathbf{150\ ppm} \\
 & M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2 \\
 10.000\ ppm \quad \times \quad V_1 \quad & = \quad 150\ ppm \quad \times \quad 10\ mL \\
 & V_1 \quad = \quad 0,15\ mL
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & \mathbf{200\ ppm} \\
 & M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2 \\
 10.000\ ppm \quad \times \quad V_1 \quad & = \quad 200\ ppm \quad \times \quad 10\ mL \\
 & V_1 \quad = \quad 0,2\ mL
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & \mathbf{250\ ppm} \\
 & M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2 \\
 10.000\ ppm \quad \times \quad V_1 \quad & = \quad 250\ ppm \quad \times \quad 10\ mL \\
 & V_1 \quad = \quad 0,25\ mL
 \end{aligned}$$

L.3.11 Pembuatan larutan induk kontrol vitamin C 100 ppm

$$\begin{aligned}
 100\ ppm & = 100\ \text{mg} / 1000\ \text{mL} \\
 & = 1\ \text{mg} / 10\ \text{mL}
 \end{aligned}$$

L.3.12 Pembuatan variasi konsentrasi larutan kontrol vitamin C

2 ppm

$$\begin{aligned}
 & M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2 \\
 100\ ppm \quad \times \quad V_1 \quad & = \quad 1\ ppm \quad \times \quad 10\ mL \\
 & V_1 \quad = \quad 0,2\ mL
 \end{aligned}$$

4 ppm

$$\begin{aligned}
 & M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2 \\
 100\ ppm \quad \times \quad V_1 \quad & = \quad 2\ ppm \quad \times \quad 10\ mL
 \end{aligned}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

6 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 6 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,6 \text{ mL} \end{aligned}$$

8 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 8 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,8 \text{ mL} \end{aligned}$$

10 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \text{ ppm} \times V_1 &= 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

L.3.13 Pembuatan larutan standar asam galat 1000 ppm

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ppm} &= 1000 \text{ mg} / 1000 \text{ mL} \\ &= 10 \text{ mg} / 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

L.3.14 Pembuatan variasi konsentrasi asam galat**5 ppm**

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

10 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,1 \text{ mL} \end{aligned}$$

15 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,15 \text{ mL} \end{aligned}$$

20 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

25 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ mL}$$

30 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,3 \text{ mL}$$

L.3.15 Pembuatan ekstrak rumput laut merah 1000 ppm

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg} / 1000 \text{ mL}$$

$$= 10 \text{ mg} / 10 \text{ mL}$$

L.3.16 Pembuatan larutan standar kuersetin

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg} / 1000 \text{ mL}$$

$$= 10 \text{ mg} / 10 \text{ mL}$$

**L.3.17 Pembuatan variasi larutan standar kuersetin
2 ppm**

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,02 \text{ mL}$$

4 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,04 \text{ mL}$$

$$\mathbf{6 \text{ ppm}}$$
$$M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2$$

$$1000 \text{ ppm} \quad \times \quad V_1 \quad = \quad 6 \text{ ppm} \quad \times \quad 10 \text{ mL}$$

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

8 ppm

$$M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2$$

$$1000 \text{ ppm} \quad \times \quad V_1 \quad = \quad 8 \text{ ppm} \quad \times \quad 10 \text{ mL}$$

$$V_1 \quad = \quad 0,08 \text{ mL}$$

10 ppm

$$M1 \quad \times \quad V1 \quad = \quad M2 \quad \times \quad V2$$

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

$$V_1 \quad = \quad 0,1 \text{ mL}$$

Lampiran 4 Rancangan Anggaran Belanja Penelitian

No	Uraian	Merk	Volume	Satuan	Harga Satuan (Rp)	Jumlah	Sumber Dana	Tempat Pembelian /Anlisa
1	Penyerbuk an rumput Laut Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	-	5	kg	42.000	252.000	Mandiri	Materia Medika
2	Etanol p.a 96%	Sigma Aldrich	8	liter	450.000	3.600.000	Mandiri	Duta Jaya Labware
3	Aquades	-	15	liter	1.000	15.000	Mandiri	Nura Gemilang
4	Analisis UV Vis	-	90	sampel	1.000	90.000	Mandiri	Lab Analitik UIN Malang
5	Kertas Saring	-	2	lembar	8.500	17.000	Mandiri	Nura Gemilang
6.	HCl teknis	-	1	100 mL	11.000	11.000	Mandiri	Phy Edumedia
7.	Mayer	-	1	5 mL	5.000	25.000	Mandiri	Phy Edumedia
8.	Dragendorff	-	10	mL	9.000	90.000	Mandiri	Phy Edumedia
9.	Serbuk Mg	Merck	1	10 gram	10.000	10.000	Mandiri	Panadia Laboratory
10.	FeCl ₃	Merck	4	gram	5.000	20.000	Mandiri	Phy Edumedia
11.	Kloroform	-	10	mL	15.000	15.000	Mandiri	Panadia Laboratory
12.	Asam asetat anhidrat		10	mL	2.000	20.000	Mandiri	Phy Edumedia
13.	H ₂ SO ₄ pekat	Merck	50	mL	7.000	7.000	Mandiri	Duta Jaya Labware
14.	DPPH	Sigma Aldrich	50	mg	350.000	350.000	Hibah dosen	-

15.	Vitamin C (asam askorbat)	Merck	1	gram	3.500	3.500	Mandiri	Duta Jaya Labware
16.	Folin Cioucalteu	Merck	5	mL	14.000	70.000	Mandiri	Duta Jaya Labware
17.	Na ₂ CO ₃	Merck	2	gram	2.500	5.000	Mandiri	Duta Jaya Labware
18.	Asam galat p.a	Merck	20	gram	6000	1.800	Mandiri	Duta Jaya Labware
19.	AlCl ₃	Merck	3	gram	5.500	16.500	Mandiri	Duta Jaya Labware
20.	Kalium asetat	Merck	1	gram	14.000	14.000	Mandiri	Duta Jaya Labware
21.	Kuersetin		100	mg	130.000	130.000	Mandiri	Duta Jaya Labware
	Jumlah					4.762.000		

Lampiran 5 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan ke-1				Bulan ke-2				Bulan ke-3				Bulan ke-4				Bulan ke-5				Bulan ke-6			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
		1.	Seminar proposal																						
2.	Persiapan penelitian																								
3.	Penelitian																								
4.	Persiapan seminar hasil dan seminar hasil																								
5.	Revisi dan sidang skripsi																								

Lampiran 6 Data Hasil Penelitian

L.6.1 Hasil Preparasi

Usia Sampel	Berat Sampel Awal (kg)	Berat Sampel Bubuk (kg)	% Rendemen	Kadar Air (%)
2 minggu	3,31	0,260	7,85	8,2
4 minggu	2,44	0,215	8,81	8,0
6 minggu	3,45	0,300	8,69	7,9
8 minggu	3,92	0,265	6,76	6,6
10 minggu	2,86	0,210	7,34	8,4

$$\begin{aligned}
 (2 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,260 \text{ kg}}{3,31 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 7,85\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (4 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,215 \text{ kg}}{2,44 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 8,81\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (6 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,300 \text{ kg}}{3,45 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 8,69\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (8 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,265 \text{ kg}}{3,92 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 6,76\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (10 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,210 \text{ kg}}{2,86 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 7,34\%
 \end{aligned}$$

L.6.2 Hasil Ekstraksi

Usia Sampel	Berat Ekstrak Kasar (gram)			Rendemen (%)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
2 minggu	0,3337	0,7302	9,1923	1,66	3,65	45,96
4 minggu	0,3191	1,2785	11,8252	1,59	6,39	59,12
6 minggu	0,0408	0,7025	5,2543	0,204	3,51	26,27
8 minggu	0,3151	0,5963	6,00302	1,57	2,98	30,15
10 minggu	0,2413	0,2453	8,3646	1,20	1,23	41,82

$$\begin{aligned}
 \text{P1 (2 minggu)} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,3337 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 1,66 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 (2 minggu)} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,7302 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 3,65 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 (2 minggu)} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{9,1923 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 45,96 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P1 (4 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3191 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 1,59 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P2 (4 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{1,2785 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 6,39 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P3 (4 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{11,8252 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 59,12 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P1 (6 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0408 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 0,204 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P2 (6 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,7025 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 3,51 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P3 (6 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{5,2543 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 26,27 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P1 (8 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3151 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 1,57 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P2 (8 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,5963 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,98 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P3 (8 minggu) \% rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{6,00302 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= 30,15 \%$$

$$P1 (10 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,2413 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 1,20 \%$$

$$P2 (10 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,2453 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 1,23 \%$$

$$P1 (10 \text{ minggu}) \% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{8,3646 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

L.6.3 Aktivitas Antioksidan

Usia Panen	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
2 minggu	50	45,29	210,61
	100	44,26	
	150	46,17	
	200	50,38	
	250	52,04	
4 minggu	50	44,94	163,69
	100	47,66	
	150	50,65	
	200	51,12	
	250	52,96	
6 minggu	50	44,52	140,07
	100	49,59	
	150	49,92	
	200	52,21	
	250	56,42	
8 minggu	50	44,56	125,66
	100	49,27	
	150	51,44	
	200	55,22	
	250	56,98	
10 minggu	50	42,35	152,53
	100	45,97	
	150	49,70	
	200	50,64	
	250	60,31	
Vitamin C (Asam askorbat)	2	47,74	3,44
	4	51,57	
	6	53,21	
	8	61,92	
	10	67,69	

L.6.3.1 Usia 2 minggu

Konsent rasi (ppm)	Absorbansi				% Inhibisi				IC ₅₀ (ppm)
	Kontr ol	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Rata-Rata	
50 ppm	0,800	0,4621	0,3989	0,4517	42,22	50,13	43,52	45,29	210,61
100 ppm	0,800	0,4490	0,4523	0,4361	43,86	43,45	45,47	44,26	
150 ppm	0,800	0,4101	0,4498	0,4317	48,72	43,76	46,02	46,17	
200 ppm	0,800	0,4087	0,4201	0,3618	48,90	47,47	54,76	50,38	
250 ppm	0,800	0,3879	0,3987	0,3642	51,50	50,15	54,46	52,04	

% Inhibisi

$$\begin{aligned}
 \text{P1 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4621}{0,800} \times 100\% \\
 &= 42,22\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3989}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,13\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4517}{0,800} \times 100\% \\
 &= 43,52\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{\text{P1} + \text{P2} + \text{P3}}{3} \\
 &= \frac{42,22\% + 50,13\% + 43,52\%}{3} \\
 &= 45,29\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4490}{0,800} \times 100\% \\
 &= 43,86\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4523}{0,800} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$= 43,45\%$$

$$\text{P3 100 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4361}{0,800} \times 100\%$$

$$= 45,47\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\ &= \frac{43,86\% + 43,45\% + 45,47\%}{3} \\ &= 44,26\% \end{aligned}$$

$$\text{P1 150 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4101}{0,800} \times 100\%$$

$$= 48,72\%$$

$$\text{P2 150 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4498}{0,800} \times 100\%$$

$$= 43,76\%$$

$$\text{P3 150 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4317}{0,800} \times 100\%$$

$$= 46,02\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\ &= \frac{48,72\% + 43,76\% + 46,02\%}{3} \\ &= 46,17\% \end{aligned}$$

$$\text{P1 200 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4087}{0,800} \times 100\%$$

$$= 48,90\%$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4201}{0,800} \times 100\% \\
 &= 47,47\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3618}{0,800} \times 100\% \\
 &= 54,76\%
 \end{aligned}$$

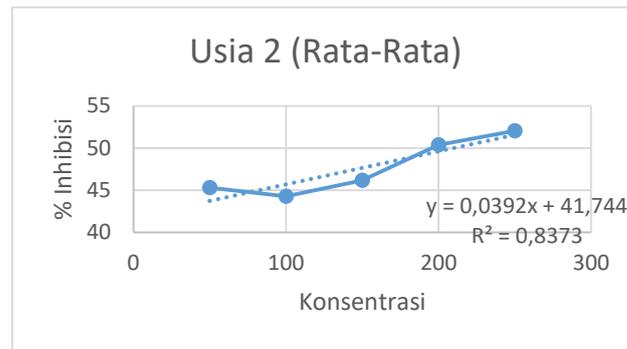
$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{48,90\% + 47,47\% + 54,76\%}{3} \\
 &= 50,38\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3879}{0,800} \times 100\% \\
 &= 51,50\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3987}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,15\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3642}{0,800} \times 100\% \\
 &= 54,46\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{51,50\% + 50,15\% + 54,46\%}{3} \\
 &= 52,04\%
 \end{aligned}$$

**Nilai IC₅₀**

$$y = 0,0392x + 41,744$$

$$50 = 0,0392x + 41,744$$

$$0,0392x = 50 - 41,744$$

$$x = 210,61 \text{ ppm}$$

L.6.3.2 Usia 4 minggu

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi				% Inhibisi				IC ₅₀ (ppm)
	Kontrol	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Rata-Rata	
50 ppm	0,800	0,4143	0,4194	0,4874	48,20	47,56	39,06	44,94	163,69
100 ppm	0,800	0,3974	0,3946	0,4639	50,31	50,66	42,00	47,66	
150 ppm	0,800	0,3589	0,3821	0,4431	55,13	52,23	44,60	50,65	
200 ppm	0,800	0,3622	0,3799	0,4307	54,71	52,50	46,15	51,12	
250 ppm	0,800	0,3387	0,3677	0,4223	57,65	54,03	47,20	52,96	

% Inhibisi

$$\begin{aligned} \text{P1 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,800 - 0,4143}{0,800} \times 100\% \\ &= 48,20\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{P2 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,800 - 0,4194}{0,800} \times 100\% \\ &= 47,56\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4874}{0,800} \times 100\% \\
 &= 39,06\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{48,20\% + 47,56\% + 39,06\%}{3} \\
 &= 44,94\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3974}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,31\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3946}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,66\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,46,39}{0,800} \times 100\% \\
 &= 42\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{50,31\% + 50,66\% + 42\%}{3} \\
 &= 47,66\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3589}{0,800} \times 100\% \\
 &= 52,13\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$= \frac{0,800 - 0,3821}{0,800} \times 100\%$$

$$= 52,23\%$$

P3 150 ppm % inhibisi

$$= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4431}{0,800} \times 100\%$$

$$= 44,60\%$$

Rata-Rata

$$= \frac{P1 + P2 + P3}{3}$$

$$= \frac{55,13\% + 52,23\% + 44,60\%}{3}$$

$$= 50,65\%$$

P1 200 ppm % inhibisi

$$= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,3622}{0,800} \times 100\%$$

$$= 54,71\%$$

P2 200 ppm % inhibisi

$$= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,3799}{0,800} \times 100\%$$

$$= 52,50\%$$

P3 200 ppm % inhibisi

$$= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4307}{0,800} \times 100\%$$

$$= 46,15\%$$

Rata-Rata

$$= \frac{P1 + P2 + P3}{3}$$

$$= \frac{54,71\% + 52,50\% + 46,15\%}{3}$$

$$= 51,12\%$$

P1 250 ppm % inhibisi

$$= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

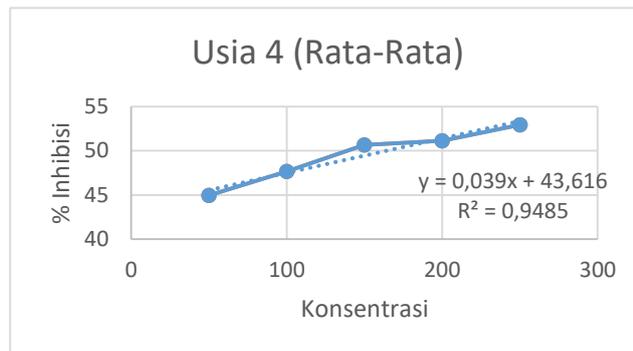
$$= \frac{0,800 - 0,3387}{0,800} \times 100\%$$

$$= 57,65\%$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3677}{0,800} \times 100\% \\
 &= 54,03\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4223}{0,800} \times 100\% \\
 &= 47,20\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{57,65\% + 53,03\% + 47,20\%}{3} \\
 &= 52,96\%
 \end{aligned}$$



Nilai IC₅₀

$$y = 0,039x + 43,616$$

$$50 = 0,039x + 43,616$$

$$0,039x = 50 - 43,616$$

$$x = 163,69 \text{ ppm}$$

L.6.3.3 Usia 6 minggu

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi				% Inhibisi				IC ₅₀ (ppm)
	Kontrol	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Rata-Rata	
50 ppm	0,800	0,4647	0,4043	0,4623	41,90	49,45	42,20	44,52	140,07
100 ppm	0,800	0,3754	0,3887	0,4454	53,06	51,40	44,31	49,59	
150 ppm	0,800	0,3644	0,3837	0,4535	54,44	52,03	43,30	49,92	
200 ppm	0,800	0,3615	0,3545	0,4307	54,80	55,68	46,15	52,21	
250 ppm	0,800	0,3412	0,2899	0,4146	57,34	63,75	48,16	56,42	

% Inhibisi

$$\begin{aligned}
 \text{P1 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4647}{0,800} \times 100\% \\
 &= 41,90\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4043}{0,800} \times 100\% \\
 &= 49,45\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4623}{0,800} \times 100\% \\
 &= 42,20\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{41,90\% + 49,45\% + 42,20\%}{3} \\
 &= 44,52\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3754}{0,800} \times 100\% \\
 &= 53,06\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3887}{0,800} \times 100\% \\
 &= 51,40\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4454}{0,800} \times 100\% \\
 &= 44,31\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{53,06\% + 51,40\% + 44,31\%}{3} = 49,59\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3644}{0,800} \times 100\% \\
 &= 54,44\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3837}{0,800} \times 100\% \\
 &= 52,03\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4535}{0,800} \times 100\% \\
 &= 43,30\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{54,44\% + 52,03\% + 43,30\%}{3} \\
 &= 49,92\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3615}{0,800} \times 100\% \\
 &= 54,80\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3545}{0,800} \times 100\% \\
 &= 55,68\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4307}{0,800} \times 100\% \\
 &= 46,15\%
 \end{aligned}$$

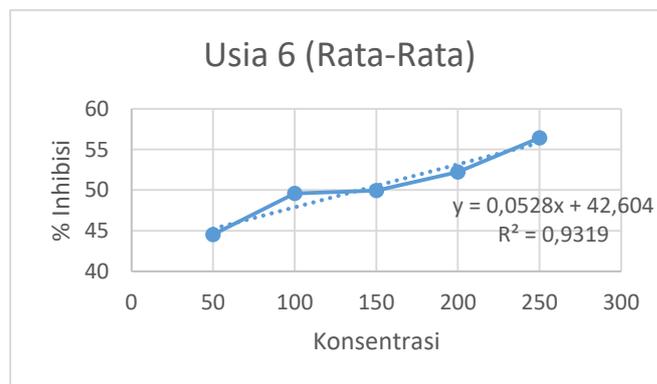
$$\begin{aligned} \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\ &= \frac{54,80\% + 55,68\% + 46,15\%}{3} \\ &= 52,21\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} P1 \text{ 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,800 - 0,3412}{0,800} \times 100\% \\ &= 57,34\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} P2 \text{ 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,800 - 0,2889}{0,800} \times 100\% \\ &= 63,75\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} P3 \text{ 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,800 - 0,4146}{0,800} \times 100\% \\ &= 48,16\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\ &= \frac{57,75\% + 63,75\% + 48,16\%}{3} \\ &= 56,42\% \end{aligned}$$



Nilai IC₅₀

$$\begin{aligned} y &= 0,0528x + 42,604 \\ 50 &= 0,0528x + 42,604 \\ 0,0528x &= 50 - 42,604 \\ x &= 140,07 \text{ ppm} \end{aligned}$$

L.6.3.4 Usia 8 minggu

Konsent rasi (ppm)	Absorbansi				% Inhibisi				IC ₅₀ (ppm)
	Kontr ol	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Rata-Rata	
50 ppm	0,800	0,4721	0,3878	0,4703	40,97	51,51	41,20	44,56	125,66
100 ppm	0,800	0,4536	0,3015	0,4621	43,29	62,30	42,22	49,27	
150 ppm	0,800	0,4398	0,2842	0,4411	45,01	64,47	44,85	51,44	
200 ppm	0,800	0,3725	0,2787	0,4233	53,43	65,15	47,07	55,22	
250 ppm	0,800	0,3687	0,2655	0,3980	53,90	66,80	50,24	56,98	

% Inhibisi

$$\begin{aligned}
 \text{P1 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4721}{0,800} \times 100\% \\
 &= 40,97\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3878}{0,800} \times 100\% \\
 &= 51,51\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 50 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4703}{0,800} \times 100\% \\
 &= 41,20\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{\text{P1} + \text{P2} + \text{P3}}{3} \\
 &= \frac{40,97\% + 51,51\% + 41,20\%}{3} \\
 &= 44,56\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4536}{0,800} \times 100\% \\
 &= 43,29\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3015}{0,800} \times 100\% \\
 &= 62,30\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4621}{0,800} \times 100\% \\
 &= 42,22\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{43,29\% + 62,30\% + 42,22\%}{3} \\
 &= 49,27\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4398}{0,800} \times 100\% \\
 &= 45,01\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,2842}{0,800} \times 100\% \\
 &= 64,47\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4411}{0,800} \times 100\% \\
 &= 44,85\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{45,01\% + 64,47\% + 44,85\%}{3} \\
 &= 51,44\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3725}{0,800} \times 100\% \\
 &= 53,43\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,2787}{0,800} \times 100\% \\
 &= 65,15\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4233}{0,800} \times 100\% \\
 &= 47,07\%
 \end{aligned}$$

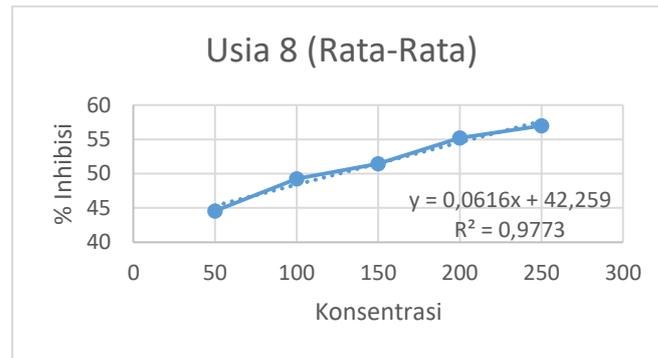
$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{53,43\% + 65,15\% + 47,07\%}{3} \\
 &= 55,22\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3687}{0,800} \times 100\% \\
 &= 53,90\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,2655}{0,800} \times 100\% \\
 &= 66,80\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3980}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,24\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{53,90\% + 66,80\% + 50,24\%}{3} = 56,98\%
 \end{aligned}$$

**Nilai IC₅₀**

$$y = 0,0616x + 42,259$$

$$50 = 0,0616x + 42,259$$

$$0,0616x = 50 - 42,259$$

$$x = 125,66 \text{ ppm}$$

L.6.3.5 Usia 10 minggu

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi				% Inhibisi				IC ₅₀ (ppm)
	Kontrol	P1	P2	P3	P1	P2	P3	Rata-Rata	
50 ppm	0,800	0,4756	0,4465	0,4612	40,54	44,17	42,34	42,35	152,53
100 ppm	0,800	0,4576	0,4077	0,4311	42,79	49,02	46,10	45,97	
150 ppm	0,800	0,4008	0,3941	0,4121	49,89	50,73	48,47	49,70	
200 ppm	0,800	0,3944	0,3922	0,3977	50,69	50,96	50,28	50,64	
250 ppm	0,800	0,2823	0,3048	0,3652	64,70	61,89	54,34	60,31	

% Inhibisi

$$\text{P1 50 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4756}{0,800} \times 100\%$$

$$= 40,54\%$$

$$\text{P2 50 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4465}{0,800} \times 100\%$$

$$= 44,17\%$$

$$\text{P3 50 ppm \% inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,800 - 0,4612}{0,800} \times 100\% = 42,34\%$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{40,54\% + 44,17\% + 42,34\%}{3} \\
 &= 42,35\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4576}{0,800} \times 100\% \\
 &= 42,79\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4077}{0,800} \times 100\% \\
 &= 49,02\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 100 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4311}{0,800} \times 100\% \\
 &= 46,10\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{42,79\% + 49,02\% + 46,10\%}{3} \\
 &= 45,97\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4008}{0,800} \times 100\% \\
 &= 49,89\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3941}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,73\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 150 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,4121}{0,800} \times 100\% \\
 &= 48,47\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{49,89\% + 50,73\% + 48,47\%}{3} \\
 &= 49,70\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3944}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,69\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3922}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,96\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 200 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3977}{0,800} \times 100\% \\
 &= 50,28\%
 \end{aligned}$$

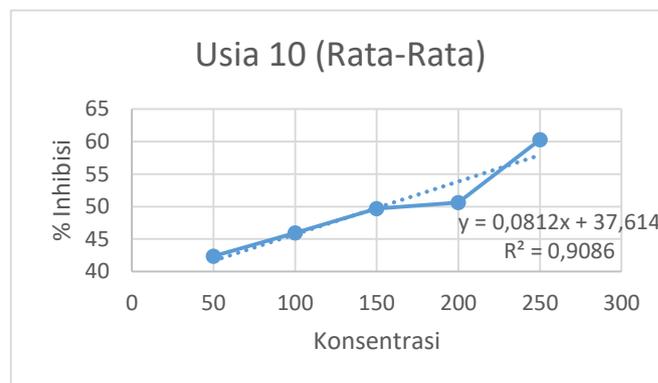
$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{50,69\% + 50,96\% + 50,28\%}{3} \\
 &= 50,64\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P1 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,2823}{0,800} \times 100\% \\
 &= 64,70\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P2 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3048}{0,800} \times 100\% = 61,89\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{P3 250 ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,800 - 0,3652}{0,800} \times 100\% \\
 &= 54,34\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\
 &= \frac{64,70\% + 61,89\% + 54,34\%}{3} \\
 &= 60,31\%
 \end{aligned}$$



Nilai IC₅₀

$$y = 0,0812x + 37,614$$

$$50 = 0,0812x + 37,614$$

$$0,0812x = 50 - 37,614$$

$$x = 152,53 \text{ ppm}$$

L.6.2.6 Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Kontrol	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
2	0,5398	0,2821	47,74	3,44
4	0,5298	0,2566	51,57	
6	0,53	0,248	53,21	
8	0,5342	0,2034	61,92	
10	0,5255	0,1698	67,69	

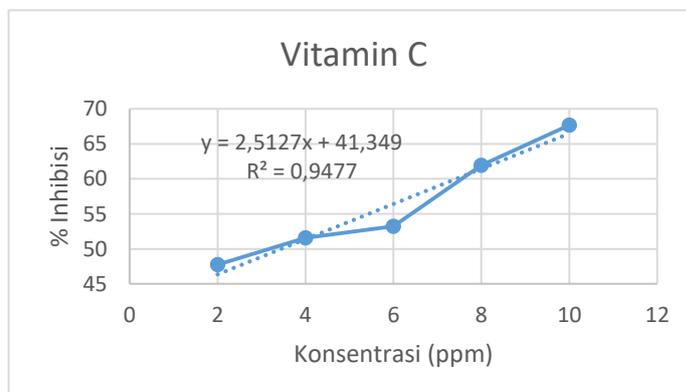
$$\begin{aligned}
 2 \text{ ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,5398 - 0,2821}{0,5398} \times 100\% \\
 &= 47,74\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4 \text{ ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,5298 - 0,2566}{0,5298} \times 100\% \\
 &= 51,57\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6 \text{ ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,53 - 0,248}{0,53} \times 100\% \\
 &= 53,21\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8 \text{ ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,5342 - 0,2034}{0,5342} \times 100\% \\
 &= 61,92\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10 \text{ ppm \% inhibisi} &= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,5255 - 0,1698}{0,5255} \times 100\% \\
 &= 67,69\%
 \end{aligned}$$



Nilai IC₅₀

$$y = 2,5127x + 41,349$$

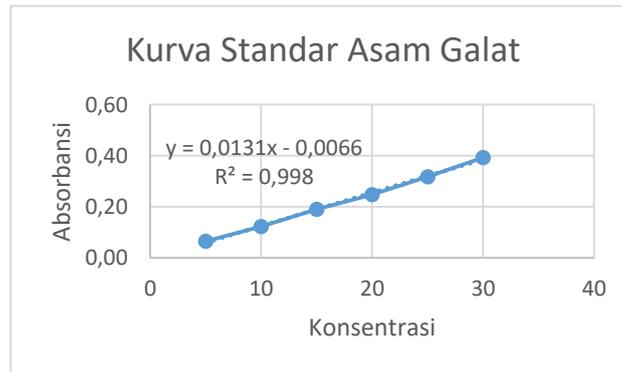
$$50 = 2,5127x + 41,349$$

$$2,5127x = 50 - 41,349$$

$$x = 3,44 \text{ ppm}$$

L.6.4 Kandungan Fenolik Total**L.6.4.1 Hasil Absorbansi Kurva Standar Asam Galat**

Kurva standar asam galat	
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,0640
10	0,1216
15	0,1901
20	0,2477
25	0,3172
30	0,3928

**L.6.4.2 Kandungan Fenolik Total Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) Usia 8 Minggu**

Pengulangan	Absorbansi	TPC (mg GAE/g)	Rata-Rata
P1	0,1207	9,7	10,11
P2	0,1257	10,09	
P3	0,1316	10,54	

P1

$$y = 0,0131x - 0,0066$$

$$0,1207 = 0,0131x - 0,0066$$

$$0,0131x = 0,1207 + 0,0066$$

$$x = 9,717 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,0097 \text{ mg/mL}$$

100

$$\begin{aligned}\text{TPC} &= \frac{C.V}{w} \times 100\% \\ &= \frac{0,0097 \text{ mg/mL} \cdot 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 9,7 \text{ mgGAE/g}\end{aligned}$$

P2

$$y = 0,0131x - 0,0066$$

$$0,1257 = 0,0131x - 0,0066$$

$$0,0131x = 0,1257 + 0,0066$$

$$x = 10,09 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,01009 \text{ mg/mL}$$

$$\begin{aligned}\text{TPC} &= \frac{C.V}{w} \times 100\% \\ &= \frac{0,01009 \text{ mg/mL} \cdot 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,97 \text{ mgGAE/g}\end{aligned}$$

P3

$$y = 0,0131x - 0,0066$$

$$0,1316 = 0,0131x - 0,0066$$

$$0,0131x = 0,1316 + 0,0066$$

$$x = 10,54 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,01054 \text{ mg/mL}$$

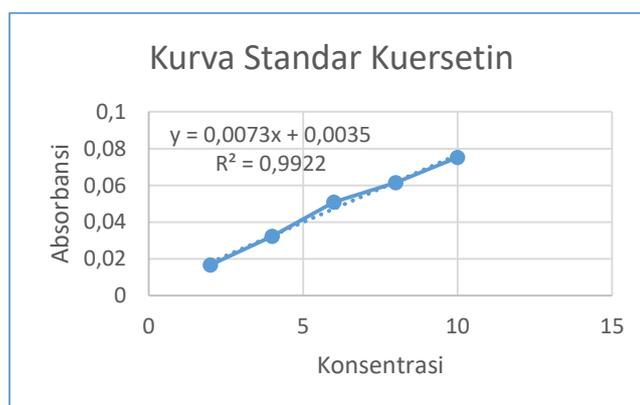
$$\begin{aligned}\text{TPC} &= \frac{C.V}{w} \times 100\% \\ &= \frac{0,01054 \text{ mg/mL} \cdot 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,54 \text{ mgGAE/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\ &= \frac{(9,7 + 10,09 + 10,54) \text{ mgGAE/g}}{3} \\ &= 10,11 \text{ mgGAE/g}\end{aligned}$$

L.6.5 Kandungan Flavonoid Total

L.6.5.1 Hasil Absorbansi Kurva Standar Kuersetin

Kurva standar Kuersetin	
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,0167
4	0,0324
6	0,0509
8	0,0616
10	0,0752



L.6.5.2 Kandungan Flavonoid Total Rumput Laut Merah (*Gracilaria verrucosa*) Usia 8 Minggu

Pengulangan	Absorbansi	TFC (mg QE / g)	Rata-Rata
P1	0,0575	7,39	5,863
P2	0,0362	4,47	
P3	0,0454	5,73	

P1

$$y = 0,0073x + 0,0035$$

$$0,0575 = 0,0073x + 0,0035$$

$$0,0073x = 0,0575 - 0,0035$$

$$x = 7,39 \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,00739 \text{ mg/mL}$$

$$\text{TFC} = \frac{C \cdot V}{w} \times 100\%$$

$$= \frac{0,00739 \text{ mg/mL} \cdot 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 7,39 \text{ mgQE/g}$$

P2

$$y = 0,0073x + 0,0035$$

$$0,0362 = 0,0073x + 0,0035$$

$$0,0073x = 0,0362 - 0,0035$$

$$x = 4,47 \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,00447 \text{ mg/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{TFC} &= \frac{C.V}{w} \times 100\% \\ &= \frac{0,00447 \text{ mg/mL} \cdot 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,47 \text{ mgQE/g} \end{aligned}$$

P3

$$y = 0,0073x + 0,0035$$

$$0,0454 = 0,0073x + 0,0035$$

$$0,0073x = 0,0454 - 0,0035$$

$$x = 5,73 \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,00573 \text{ mg/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{TFC} &= \frac{C.V}{w} \times 100\% \\ &= \frac{0,00575 \text{ mg/mL} \cdot 10 \text{ mL}}{0,01 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,73 \text{ mgQE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-Rata} &= \frac{P1 + P2 + P3}{3} \\ &= \frac{(7,39 + 4,47 + 5,73) \text{ mgQE/g}}{3} \\ &= 5,863 \text{ mgGAE/g} \end{aligned}$$

L.6.6 Standar Deviasi TPC dan TFC

Kandungan	Standar Deviasi
Total Phenolic Content (TPC)	0,42
Total Flavonoid Content (TFC)	1,46

L.6.7 Hasil Uji Statistik

L.6.7.1 Uji Deskriptif

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Usia 2	15		
Usia 4	15	49.6627	7.43050	1.91855	45.5478	53.7775	38.20	60.75
Usia 6	15	52.4273	6.04192	1.56002	49.0814	55.7732	43.29	61.20
Usia 8	15	52.8927	5.61411	1.44956	49.7837	56.0017	39.86	60.13
Usia 10	15	51.3273	7.40484	1.91192	47.2267	55.4280	39.54	62.34
Usia	75	50.3685	6.86652	.79288	48.7887	51.9484	37.56	62.34

L.6.7.2 Uji Normalitas

Tests of Normality

	Usia Tanaman	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
%Inhibisi	Usia 2	.130	15	.200 [*]	.925	15	.232
	Usia 4	.146	15	.200 [*]	.942	15	.403
	Usia 6	.131	15	.200 [*]	.936	15	.332
	Usia 8	.161	15	.200 [*]	.938	15	.363
	Usia 10	.112	15	.200 [*]	.957	15	.644

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

L.6.7.3 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.884	4	70	.478

L.6.7.4 Uji One Way Anova

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	531.196	4	132.799	3.143	.020
Within Groups	2957.840	70	42.255		
Total	3489.036	74			

L.6.7.5 Uji Beda Nyata (LSD)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: %Inhibisi

LSD

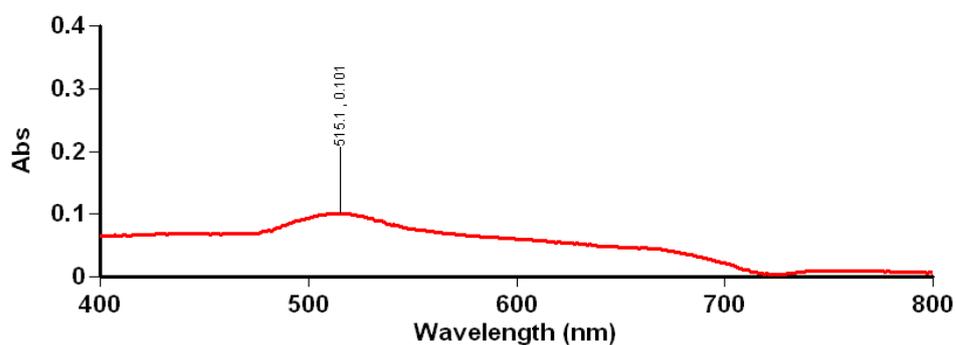
(I) Usia Tanaman	(J) Usia Tanaman	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Usia 2	Usia 4	-4.13000	2.37360	.086	-8.8640	.6040
	Usia 6	-6.89467*	2.37360	.005	-11.6287	-2.1607
	Usia 8	-7.36000*	2.37360	.003	-12.0940	-2.6260
	Usia 10	-5.79467*	2.37360	.017	-10.5287	-1.0607
Usia 4	Usia 2	4.13000	2.37360	.086	-.6040	8.8640
	Usia 6	-2.76467	2.37360	.248	-7.4987	1.9693
	Usia 8	-3.23000	2.37360	.178	-7.9640	1.5040
	Usia 10	-1.66467	2.37360	.485	-6.3987	3.0693
Usia 6	Usia 2	6.89467*	2.37360	.005	2.1607	11.6287
	Usia 4	2.76467	2.37360	.248	-1.9693	7.4987
	Usia 8	-.46533	2.37360	.845	-5.1993	4.2687
	Usia 10	1.10000	2.37360	.644	-3.6340	5.8340
Usia 8	Usia 2	7.36000*	2.37360	.003	2.6260	12.0940
	Usia 4	3.23000	2.37360	.178	-1.5040	7.9640
	Usia 6	.46533	2.37360	.845	-4.2687	5.1993
	Usia 10	1.56533	2.37360	.512	-3.1687	6.2993
Usia 10	Usia 2	5.79467*	2.37360	.017	1.0607	10.5287
	Usia 4	1.66467	2.37360	.485	-3.0693	6.3987
	Usia 6	-1.10000	2.37360	.644	-5.8340	3.6340
	Usia 8	-1.56533	2.37360	.512	-6.2993	3.1687

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

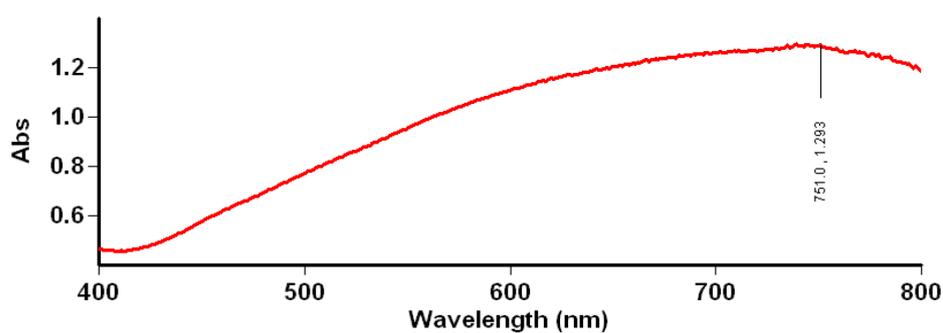
Usia	Rata-rata	Notasi
2	45.53	a
4	49.66	ab
10	51.33	b
6	52.43	b
8	52.89	b

Lampiran 7 Spektra Hasil Analisis

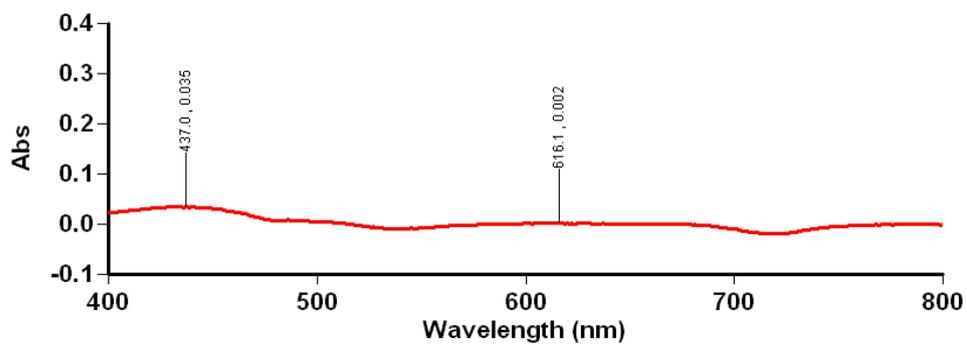
L.7.1 Spektra Panjang Gelombang Maksimum DPPH



L.7.2 Spektra Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat



L.7.3 Spektra Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin



Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian

L.8.1 Preparasi dan Ekstraksi Sampel



Serbuk rumput laut merah
(*Gracilaria verrucosa*)



Ekstraksi maserasi



Penyaringan ekstrak



Penguapan pelarut
menggunakan *rotary*
evaporator

L.8.2 Hasil Ekstraksi



Usia 2 minggu,
pengulangan 1



Usia 4 minggu,
pengulangan 1



Usia 6 minggu, pengulangan
1



Usia 8 minggu,
pengulangan 1



Usia 10 minggu,
pengulangan 1



Usia 2 minggu, pengulangan
2



Usia 4 minggu,
pengulangan 2



Usia 6 minggu, pengulangan 2



Usia 8 minggu,
pengulangan 2



Usia 10 minggu,
pengulangan 2

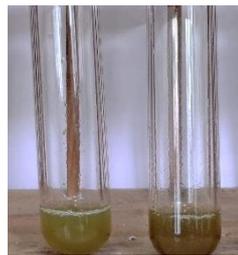


pengulangan 3

L.8.3 Uji Fitokimia



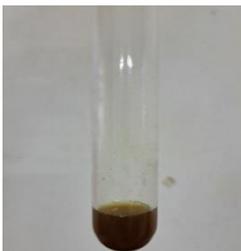
Tanin



Fenol



Saponin



Flavonoid



Steroid

L.8.4 Uji Aktivitas Antioksidan



Sampel



Vitamin C

L.8.5 Uji Fenolik Total



Asam Galat



Sampel

L.8.6 Uji Flavonoid Total



Kuersetin



Sampel