

**UJI TOKSISITAS DAN FITOKIMIA EKSTRAK KASAR METANOL,
KLOROFORM DAN *n*-HEKSANA ALGA COKLAT *Sargassum vulgare*
DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA**

SKRIPSI

Oleh:

**MIFTAHUL JANNAH
NIM. 10630028**



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

2014

**UJI TOKSISITAS DAN FITOKIMIA EKSTRAK KASAR METANOL,
KLOROFORM DAN *n*-HEKSANA ALGA COKLAT *Sargassum vulgare*
DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

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

Oleh:

**MIFTAHUL JANNAH
NIM. 10630028**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2014

**UJI TOKSISITAS DAN FITOKIMIA EKSTRAK KASAR METANOL,
KLOROFORM DAN *n*-HEKSANA ALGA COKLAT *Sargassum vulgare*
DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA**

SKRIPSI

Oleh:

**MIFTAHUL JANNAH
NIM. 10630028**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 8 Juli 2014

Pembimbing I

Pembimbing II

Ahmad Hanapi, M.Sc
NIPT. 20140201 1 422

Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag
NIP. 19720420 200212 1 003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

**UJI TOKSISITAS DAN FITOKIMIA EKSTRAK KASAR METANOL,
KLOROFORM DAN *n*-HEKSANA ALGA COKLAT *Sargassum vulgare*
DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA**

SKRIPSI

Oleh:

**MIFTAHUL JANNAH
NIM. 10630028**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 8 Juli 2014

Penguji Utama	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 19770720 200312 2 001	(.....)
Ketua Penguji	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Sekretaris Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIPT. 20140201 1 422	(.....)
Anggota Penguji	: Dr. Munirul Abidin, M.Ag NIP. 19720420 200212 1 003	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Miftahul Jannah

NIM : 10630028

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol,
Kloroform dan *n*-Heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare*
dari Pantai Kapong Pamekasan Madura.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 24 Juni 2014
Yang Membuat Pernyataan,

Miftahul Jannah
NIM. 10630028

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillah,,,. Terimakasih ya Allah SWT. atas apa yang telah Engkau berikan kepadaku, mulai dari kesehatan, kekuatan dan kelancaran sampai akhirnya aku dapat menyelesaikan skripsiku. Kupersembahkan karya ini untuk:

Kedua orang tuaku bapak Mis Jai dan ibu Uswatul Muawanah yang telah memberikan curahan kasih sayang, dukungan moral dan materi sejak aku lahir hingga kuliah dan menyelesaikan skripsi ini dengan lancar. Untuk adikku Amilatul Muyassaro, Mawaddatun Nadia dan seluruh keluargaku terimakasih atas motivasi dan doanya.

Thanks to:

Bapak/Ibu dosen pembimbing, konsultan dan penguji

Sahabat-sahabatku

Teman-teman kimia angkatan '10

Laboran Kimia dan Biologi

MOTTO

من جدّ وجد

“BARANG SIAPA YANG BERSUNGGUH-SUNGGUH, MAKA IA AKAN
MENDAPATKAN”

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Maha Besar Allah SWT. segala puji syukur ke hadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan *n*-Heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura”**.

Tersusunnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada:

1. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc, selaku Pembimbing.
2. Bapak Ghanaim Fasya, M.Si, selaku Konsultan.
3. Bapak Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag, selaku Pembimbing Agama.
4. Ibu Diana Candra Dewi, M.Si, selaku Penguji Utama.
5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Ketua Penguji.

Atas bimbingan, pengarahan, dan nasehat serta segala bantuannya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, menghaturkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul M., drh., M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, UIN Maliki Malang.
4. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
5. Seluruh staf Laboratorium dan Administrasi Jurusan Kimia atas seluruh bantuan dan sumbangan pemikiran selama penyelesaian skripsi ini.
6. Kedua orang tuaku dan seluruh keluarga besar yang dengan penuh kasih sayang dan keikhlasan telah memberikan segala kebutuhan kepada penulis, memberi dorongan dan motivasi baik secara materiil maupun spirituil.
7. Teman-teman angkatan 2010 yang telah berbagi kebersamaannya selama ini dalam senang maupun susah sehingga tetap terjaga persaudaraan kita.
8. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 24 Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMA JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR PERSAMAAN.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Prespektif Islam	7
2.2 Alga (Rumput Laut)	8
2.3 Alga Coklat <i>Sargassum vulgare</i>	9
2.4 Ekstraksi Maserasi	11
2.5 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality</i> (BSLT)	14
2.6 Identifikasi Senyawa Aktif.....	17
2.6.1 Flavonoid.....	17
2.6.2 Tanin.....	18
2.6.3 Alkaloid	19
2.6.4 Triterpenoid	20
2.6.5 Steroid	21
2.6.6 Saponin.....	22
2.7 Pemisahan Senyawa dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	23
2.8 Analisis Probit.....	27
 BAB III METODE PENELITIAN	 28
3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	28
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	28
3.2.1 Alat.....	28

3.2.2 Bahan	28
3.3 Rancangan Penelitian	29
3.4 Tahapan Penelitian	30
3.5 Pelaksanaan Penelitian	31
3.5.1 Uji Taksonomi	31
3.5.2 Preparasi Sampel	31
3.5.3 Penentuan Kadar Secara Thermogravimetri	31
3.5.4 Penentuan Kadar Garam	32
3.5.5 Ekstraksi Alga Coklat <i>Sargassum vulgare</i>	32
3.5.6 Uji Toksisitas Ekstrak dengan Larva Udang <i>A. salina</i> Leach	33
3.5.6.1 Penetasan Larva Udang	33
3.5.6.2 Uji Tosisitas	33
3.5.7 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen	35
3.5.7.1 Uji Alkaloid	35
3.5.7.2 Uji Flovonoid	35
3.5.7.3 Uji Saponin	35
3.5.7.4 Uji Triterpenoid dan Steroid	36
3.5.7.5 Uji Tanin	36
3.5.7.5.1 Uji dengan FeCl ₃	36
3.5.7.5.2 Uji dengan Larutan Gelatin	36
3.5.8 Uji Senyawa Aktif dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)	36
3.6 Analisis Data	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Uji Taksonomi	40
4.2 Preparasi Sampel	40
4.3 Analisis Kadar Air	41
4.4 Analisis Kadar Garam	42
4.5 Ekstraksi Maserasi	43
4.6 Uji Toksisitas Ekstrak <i>S. vulgare</i> dengan Larva Udang <i>S. salina</i> L	45
4.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif	49
4.8 Pemisahan Senyawa dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	52
4.9 Pemanfaatan <i>Sargassum vulgare</i> dalam Perspektif Islam	57
BAB V PENUTUP	61
5.1 Kesimpulan	61
5.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput Laut Coklat (<i>Sargassum vulgare</i>)	11
Gambar 2.2 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach	15
Gambar 2.3 Tahap Penetasan <i>Artemia salina</i> Leach	17
Gambar 2.4 Struktur Inti Senyawa Flavonoid	17
Gambar 2.5 Contoh Struktur Senyawa Tanin	18
Gambar 2.6 Contoh Struktur Senyawa Alkaloid.....	19
Gambar 2.7 Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid.....	20
Gambar 2.8 Struktur Inti Senyawa Steroid	22
Gambar 2.9 Struktur Inti Senyawa Saponin.....	23
Gambar 4.1 Grafik Uji Toksisitas (LC ₅₀) Ekstrak Metanol	47
Gambar 4.2 Grafik Uji Toksisitas (LC ₅₀) Ekstrak Kloroform	47
Gambar 4.3 Grafik Uji Toksisitas (LC ₅₀) Ekstrak <i>n</i> -Heksana	48
Gambar 4.4 Contoh Reaksi Fukosterol dengan Reagen Lieberman-Burchard ...	52
Gambar 4.5 Hasil KLT Senyawa Steroid <i>n</i> -Heksana:Etil Asetat (7:3).....	53
Gambar 4.6 Hasil KLT Senyawa Steroid <i>n</i> -Heksana:Aseton (7:3)	54
Gambar 4.7 Hasil KLT Senyawa Steroid <i>n</i> -Heksana:Etil Asetat (7:3).....	56

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Kimia <i>Sargassum sp</i>	10
Tabel 2.2 Konstanta Dielektrik dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut	12
Tabel 4.1 Kadar Air Sampel <i>Sargassum vulgare</i>	42
Tabel 4.2 Hasil Rendemen Ekstrak Metanol, Kloroform dan <i>n</i> -Heksana	46
Tabel 4.3 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak <i>S. vulgare</i> pada Berbagai Konsentrasi ...	48
Tabel 4.4 Hasil Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol	50
Tabel 4.5 Hasil Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform	50
Tabel 4.6 Hasil Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak <i>n</i> -Heksana	51
Tabel 4.7 Data Penampakan Noda Senyawa Steroid dari KLTA Ekstrak Metanol <i>S. vulgare</i> pada Eluen Terbaik <i>n</i> -Heksana:Etil Asetat (7:3)	53
Tabel 4.8 Data Penampakan Noda Senyawa Steroid dari KLTA Ekstrak Kloroform <i>S. vulgare</i> pada Eluen Terbaik <i>n</i> -Heksana:Aseton (7:3) ..	55
Tabel 4.9 Data Penampakan Noda Senyawa Steroid KLTA Ekstrak <i>n</i> -Heksana <i>S. vulgare</i> pada Eluen Terbaik <i>n</i> -Heksana:Etil Asetat (7:3)	56

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Kadar Air	31
Persamaan 2.2 Faktor Koreksi	32
Persamaan 3.3 Persentase Rendemen	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	70
Lampiran 2. Skema Kerja	71
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen Larutan	78
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air	84
Lampiran 5. Perhitungan Kadar Garam	86
Lampiran 6. Perhitungan Rendemen	87
Lampiran 7. Data Kematian Larva dan Perhitungan LC_{50} Uji Toksisitas	88
Lampiran 8. Dokumentasi	95
Lampiran 9. Rangkuman Refrensi untuk KLTA	103

ABSTRAK

Jannah, M. 2014. **Uji Toksisitas dan Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan *n*-Heksana Alga Coklat *Sargassum Vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura**

Pembimbing I: Ahmad Hanapi, M.Sc; Pembimbing II: Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag.

Kata kunci : Alga coklat (*Sargassum vulgare*), toksisitas, uji fitokimia dan KLTA

Sargassum vulgare merupakan spesies alga coklat (*Phaeophyceae*) yang khas dari pantai Kapong Pamekasan Madura, yang diduga memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia farmakologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas dan golongan senyawa aktif pada *Sargassum vulgare*.

Ekstraksi senyawa aktif *Sargassum vulgare* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, kloroform dan *n*-heksana. Masing-masing ekstrak diuji toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* L. Data kematian *A. salina* dianalisis dengan analisis probit Minitab 16 untuk mengetahui nilai LC₅₀ masing-masing ekstrak. Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa aktif dengan uji reagen dan dilanjutkan dengan KLTA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana terhadap larva udang *S. salina* L. diperoleh nilai LC₅₀ secara berturut-turut sebesar 139,098 ppm, 39,6343 ppm dan 39,8759 ppm. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana adalah steroid. Hasil ini diperkuat dengan KLTA menggunakan eluen terbaik, untuk ekstrak metanol eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 5 spot dengan nilai Rf 0,075-0,875. Ekstrak kloroform eluen *n*-heksana:aseton (7:3) menghasilkan 18 spot dengan nilai Rf 0,037-0,975. Dan ekstrak *n*-heksana eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 8 spot dengan nilai Rf 0,05-0,962.

ABSTRACT

Jannah, M. 2014. **Toxicity Test and Phytochemical Methanol, Chloroform and *n*-Hexane Extracts Crude of Brown Algae *Sargassum Vulgare* from Kapong Beach Pamekasan Madura**. Advisor I: Ahmad Hanapi, M.Sc; Advisor II: Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag.

Keywords: Brown algae (*Sargassum vulgare*), toxicity, phytochemical test and KLTA.

Sargassum vulgare is a brown algae (*Phaeophyceae*) specific in Kapong beach Pamekasan Madura, suspected of secondary metabolic compound. This compound may be bioactive compounds that can be used in the medical world pharmacology. This research aims to know the toxicity level and its active compound *Sargassum vulgare*'s.

Extraction of active compound in *Sargassum vulgare* done by maceration method uses methanol, chloroform, and *n*-hexane as solutions. Each extract was tested of its toxicity to shrimp larval *Artemia salina* L. *A. Salina* mortality data analyzed by probit Minitab 16 analysis to know the LC₅₀ value of each extract. After that, the researcher identifies the classes of active compound by reagent test and continued by KLTA.

The result of research shows that the toxicity and crude methanol extracts, chloroform and *n*-hexane test to shrimp larval *S. Salina* L. obtains LC₅₀ successive value at 139,098 ppm, 39, 6343 ppm and 39, 8759 ppm. Phytochemical test result shows that methanol extract, chloroform, and *n*-hexane is a steroid. The results were confirmed by using KLTA's best eluent. For methanol extract eluent, *n*-hexane:ethyl acetate (7:3) create 5 spots by Rf 0,075-0,875 value. Chloroform extract, *n*-hexane:acetone (7:3) create 18 spots by Rf 0,037-0,975. Thus *n*-hexane eluent, *n*-hexane:ethyl acetate (7:3) create 8 spots by Rf 0,05-0,962 value.

المستخلص

جنة، م. 2014. اختبار السمية والنباتية من الخلاصة الخشن ميتانول وكلوروفورم ون-هيكسانا من الطحالب السمراء سارغاسوم فولغاري من الساحل كافونج باميكاسان مادورا. بحث علمي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف: (1) أحمد حانفي الماجيستير، (2) الدكتور الحاج منير العابدين.

الكلمة الأساسية: الطحالب السمراء سارغاسوم فولغاري ، السمية، اختبار وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

الطحالب السمراء سارغاسوم فولغاري هو نوع من أنواع الطحالب براون (فايوفيسي) نموذجية الساحل كافونج باميكاسان مادورا، وادعي أن يكون مركبات المستقلب الثانوية. هذه المركبات هي المركبات الحيوية النشطة التي يحتمل استخدامها في عالم الصيدلة. وأهداف هذا البحث وهي لمعرفة درجة السمية وتقسيم الإتحاد الكلي في سارغاسوم فولغاري.

استخلاص الإتحاد الكلي سارغاسوم فولغاري يؤديه بطريقة ماسيراسي "واستخدام محلول ميتانول، كلوروفورم، ون-هيكسانا. واختبر كل الخلاصة سميتها إلى يرقة الأربيان أرتيميا ساليانا. حلت البيانات من وفاة أرتيميا ساليانا بتحليل فروبيت مينيتم معرفة قيمة LC_{50} في كل الخلاصة. فيحدد تقسيم الإتحاد الكلي باختبار الكواشف كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

وننتج البحث يشير إلى أن اختبار السمية والنباتية من الخلاصة الخشن ميتانول وكلوروفورم ون-هيكسانا إلى يرقة الأربيان أرتيميا ساليانا. وهو بقيمة LC_{50} التوالي ppm 139,098، ppm 39,6343 و ppm 39,8759 نتائج اختبار النباتية يشير إلى أن خلاصة ميتانول، كلوروفورم ون-هيكسانا وهي ستيرويد. وهذه النتائج مؤيدة بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة بالشايط الجيد، ولخلاصة ميتانول بالشايط-هيكسانا: إتيل أسيتات (7:3) ينال خمسة سبوت بقيمة Rf 0,075-0,875. وخلاصة كلوروفورم بالشايط ن-هيكسانا: أسيتون (7:3) ينال ثمان عشرة سبوت بقيمة Rf 0,037-0,975. وخلاصة ن-هيكسانا بالشايط ن-هيكسانا: إتيل أسيتات (7:3) ينال ثمان سبوت بقيمة Rf 0,05-0,962.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki 17.504 pulau dan garis pantai lebih dari 81.000 Km dengan luas perairan laut sekitar 5,8 juta Km² (75 % dari total wilayah Indonesia). Hal ini menjadikan Indonesia memiliki keanekaragaman hayati laut yang cukup besar. Keanekaragaman ini memberi peluang untuk lebih memanfaatkan biota laut Indonesia dalam pencarian senyawa bioaktif yang baru khususnya sebagai sumber obat (Astuti, *et al.*, 2005).

Potensi-potensi alam yang terdapat di laut merupakan salah satu respon untuk berbagai kebutuhan makhluk hidup yang tidak ternilai harganya, karena Allah telah menciptakan segala sesuatu di bumi ini dengan manfaatnya masing-masing, salah satunya adalah laut dan segala sesuatu yang ada di dalamnya, sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al Maidah ayat 96:

أُحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِلْغِيَّارِ ۚ وَحُرِّمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ مَا دُمْتُمْ حُرُمًا ۚ
وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ ﴿٩٦﴾

“Dihalalkan bagi kalian binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagi kalian, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan; dan diharamkan atas kalian (menangkap binatang buruan darat), selama kalian dalam ihram. Dan bertakwalah kepada Allah Yang kepada-Nyalah kalian akan dikumpulkan” (QS. Al-Maidah: 96).

Berdasarkan potongan ayat dari kata ‘*’uhilla lakum shoidul bahri wa thoamuh*’ yaitu Allah telah menghalalkan semua makanan yang berasal dari laut baik dalam keadaan mati maupun dalam keadaan hidup. Yang dimaksud kata *Tha’am* dalam ayat di atas adalah segala sesuatu yang dimuntahkan dan dimunculkan laut ke permukaan. Sekelompok ulama’ berkata bahwa makanan (yang berasal) dari laut adalah garam laut yang terbentuk dari air laut, berbagai jenis tumbuhan yang ada di laut dan berbagai hal lainnya (Qurthubi, 2008). Alga merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari laut yang Allah SWT. ciptakan agar manusia dapat memanfaatkannya. Salah satunya sebagai sumber makanan dan obat.

Pantai Indonesia memiliki potensi alga yang sangat tinggi (Bengen, 2001). Tercatat sedikitnya terdapat 555 jenis alga yang ada di perairan Indonesia. Kelompok umumnya yaitu alga biru (*Cyanophyceae*), alga hijau (*Clorophyceae*), alga merah (*Rhodophyceae*), dan alga coklat (*Phaeophyceae*). Alga dalam masyarakat lebih dikenal sebagai rumput laut.

Phaeophyceaea merupakan salah satu alga yang tersusun atas zat warna atau pigmentasinya. Menurut Permana (2008) pemanfaatan alga coklat dalam bidang industri sangat luas, diantaranya untuk industri makanan, minuman, kosmetik, kertas, detergen, cat, tekstil, vernis, fotografi, obat-obatan dan lain-lain. Hastarina (2011) menyatakan bahwa *Sargassum* yang merupakan salah satu jenis alga coklat dapat dibuat sebagai minuman sejenis *slimming tea* yang direkomendasikan bagi seseorang yang memiliki kelebihan berat badan dan ingin mencoba menurunkan berat badannya. Beberapa jenis alga coklat diantaranya

adalah *Sargassum duplicatum*, *S. hystrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, *S. polyceratium* dan *S. cristaeifolium* (Rachmat, 1999).

Sargassum vulgare merupakan salah satu golongan alga coklat. Makro alga jenis ini belum dimanfaatkan dan dibudidayakan. Menurut Asmad (2012) dalam Alfiaturrahmah (2013), menurut para penduduk dan nelayan pantai Kapong Pamekasan Madura, keberadaan *S. vulgare* di pantai tersebut melimpah. Berdasarkan informasi tersebut alga coklat *S. vulgare* perlu ditingkatkan potensinya dengan cara diteliti guna mengetahui kandungan senyawa bioaktif khususnya yang berpotensi sebagai senyawa obat.

Potensi toksisitas metabolit sekunder pada penelitian Alfiaturrahmah (2013) senyawa bioaktif dalam *S. vulgare* ekstrak kloroform adalah flavonoid dan steroid. Sedangkan menurut Fahri (2010) ekstrak kasar *S. cristaeifolium* metanol mengandung terpenoid, steroid, alkaloid, flavon dan flavonoid. Sedangkan ekstrak kloroform mengandung flavon, flavonoid, alkaloid, terpenoid dan terpenoid.

Skrining awal untuk menguji bahan alam dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. sering digunakan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman, karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Ledenberg, 1992). Uji toksisitas dengan menggunakan *A. salina* L. metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik karena ada kaitannya antara uji toksisitas dengan uji sitotoksik jika harga LC_{50} toksisitas akut lebih kecil dari 1000 ppm. Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan

adanya biologi pada suatu senyawa pada *A. salina* L. adalah kematiannya. Kelebihan lain dari *A. salina* Leach yaitu kesederhanaan dalam pelaksanaan, waktu relatif singkat dan konsentrasi kecil sudah dapat menimbulkan aktivitas biologis (Meyer, *et al.*, 1982).

Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa hasil uji toksisitas metode BSLT ekstrak kasar *S. cristaefolium*, diperoleh nilai LC_{50} dari masing-masing yaitu ekstrak kloroform sebesar 1, 88 ppm, diikuti oleh ekstrak metanol sebesar 3,20 ppm dan ekstrak aseton sebesar 3,97 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak *S. cristaefolium* mempunyai prospek dapat dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif dalam dunia farmasi, misalnya sebagai obat (Fahri, 2010). *S. vulgare*, yaitu alga yang memiliki kesamaan genus dengan *S. cristaefolium*, sehingga diharapkan akan memiliki bioaktivitas yang hampir sama dan dapat dikembangkan di bidang farmokologi.

Penelitian ini akan dilakukan pemisahan senyawa aktif *S. vulgare* dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut yang memiliki perbedaan kepolaran yaitu metanol, kloroform dan *n*-heksana. Selanjutnya dilakukan uji toksisitas pada setiap ekstrak *S. vulgare* dengan metode BSLT menggunakan *A. salina* L. sehingga nantinya akan diketahui ekstrak yang memiliki bioaktifitas tertinggi (LC_{50} paling rendah). Masing-masing ekstrak kemudian akan dilakukan uji fitokimia golongan senyawa aktifnya yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid. Senyawa aktif yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA)

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah toksisitas ekstrak *sargassum vulgare* yang didapatkan pada variasi pelarut?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat pada ekstrak *Sargassum vulgare* yang didapatkan pada variasi pelarut dan bagaimana hasil pemisahan senyawa dengan menggunakan KLTA?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui tingkat toksisitas alga coklat jenis *Sargassum vulgare* yang didapatkan pada variasi pelarut,
2. Mengetahui golongan senyawa apa yang terdapat pada ekstrak *Sargassum vulgare* yang didapatkan pada variasi pelarut.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah alga coklat jenis *Sargassum vulgare* yang diperoleh dari pantai Kapong Pamekasan Madura,
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi, dengan pelarut metanol p.a, kloroform p.a dan *n*-heksana p.a,
3. Metode pengujian aktivitas toksisitas yaitu metode BSLT menggunakan *A. salina*. Tingkat toksisitas ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ yang diukur dengan analisis probit. Golongan senyawa yang diidentifikasi meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid,

4. Pemisahan senyawa dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai bioaktivitas toksisitas alga coklat jenis *Sargassum vulgare*, sehingga dapat dimanfaatkan di bidang farmakologi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Prespektif Islam

Indonesia merupakan Negara dengan wilayah laut yang lebih besar dibanding darat. Sumber daya laut merupakan kekayaan alam yang memiliki peluang besar untuk dimanfaatkan (Hijjaz, 2009). Firman Allah SWT. dalam surat an Nahl /16:14:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

“Dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu) agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur”. (QS. an Nahl /16:14).

Ayat di atas tampak bahwa Allah SWT menciptakan laut dengan beberapa kandunagn kekayaan yang terdapat di dalamnya. Diantaranya yaitu: Kekayaan makanan, yang terdapat dalam firman Allah SWT. لِنَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا menjelaskan bahwa bahwa laut menyediakan sumber makanan/daging yang segar (an Nahl/16:14) diantaranya ikan, udang, kepiting, rumput laut dan lain.

Kekayaan berupa perhiasan, yang terdapat dalam firman Allah SWT. وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً yang berarti bahwa Allah SWT. memberikan manusia

bahan-bahan perhiasan (حُلِيِّة) (an Nahl/16:14) seperti mutiara (Ar-Rahman/55:19-24), timah, emas, perak dan lain sebagainya.

Kekayaan berupa sarana transportasi, yang terdapat dalam firman Allah Swt. وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ. menjelaskan bahwa Allah SWT. memberikan manusia alat transportasi yaitu kapal (Luqman/3:31 dan alJatsiyah/45:12) untuk berlayar di laut. Pengelolaan kekayaan tersebut bisa digunakan untuk kegiatan pelayaran dan juga untuk mata pencaharian (bagi nelayan).

Syaikh Imam alQurthubi (2008) menyatakan bahwa penundukkan laut adalah untuk mengoptimalkan manusia dalam berbuat berkenan dengannya dan pengendaliannya, sehingga manusia bisa berlabuh dan lain sebagainya. Ini adalah nikmat di antara nikmat-nikmat Allah SWT untuk manusia. Hal ini menunjukkan bahwasanya Allah SWT telah menundukkan laut sebagai salah satu sumber daya alam. Manusia bisa menggali kekayaan laut untuk mengambil manfaat dari segala sesuatu yang sudah disediakan di laut olehNya baik berupa hewan maupun tumbuhan laut. Diantara tumbuhan laut dapat dimanfaatkan adalah alga

2.2 Alga (Rumput Laut)

Rumput laut (*seaweed*) merupakan alga (ganggang) multiseluler fotosintetik yang seluruh anggota tubuhnya hidup terendam di dalam air. Selain klorofil yang terdapat dalam kloroplas, rumput laut juga memiliki pigmen lain antara lain fikosianin (biru), fikoeritrin (merah), fikosantin (coklat), xantofil (kuning), dan karoten (keemasan) yang membantu dalam proses fotosintesis. Secara umum, berdasarkan pigmen yang menyusun tubuhnya rumput laut

dibedakan menjadi 3 divisi, yaitu *Chlorophyta* (alga hijau), *Pheophyta* (alga coklat), dan *Rhodophyta* (alga merah) (Campbell, 2000).

Rumput laut digolongkan ke dalam kingdom protista karena belum memiliki akar, batang, dan daun sejati. Seluruh tubuh rumput laut disebut *thallus*. Bagian *thallus* yang berdiferensiasi menyerupai daun disebut *blade*, bagian *thallus* yang berdiferensiasi menyerupai batang disebut *stipe*, sedangkan bagian *thallus* yang berdiferensiasi menyerupai akar disebut *holdfast*. *Blade* berfungsi sebagai tempat pertukaran gas yang dapat membantu memaksimalkan aktivitas fotosintesis. *Stipe* merupakan batang utama yang berisi percabangan dari *blade* sedangkan *holdfast* berfungsi sebagai tempat untuk melekatnya rumput laut pada substrat (Anggadireja, dkk., 2006).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa alga selain banyak mengandung zat gizi utama seperti karbohidrat, protein dan lemak juga mengandung zat gizi spesifik seperti mineral. Karbohidrat yang terkandung pada alga banyak mengandung selulosa dan hemiselulosa yang merupakan gizi yang tidak dapat dicerna seluruhnya oleh enzim dalam tubuh (Haryanti, *et al.*, 2008). Beberapa alga yang memiliki nilai ekonomi tinggi di Indonesia dan sudah diperdagangkan yaitu *Eucheuma sp.*, *Hynea sp.*, *Gracillaria sp.*, dan *Gelidium sp.*, dari kelas *Rhodophyceae* serta *Sargassum sp.*, dari kelas *Phaeophyceae*.

2.3 Alga Coklat *Sargassum vulgare*

Rumput laut jenis *Sargassum* umumnya merupakan tanaman perairan yang mempunyai warna coklat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada

substrat dasar yang kuat. Bagian atas tanaman menyerupai semak yang berbentuk simetris bilateral atau radial serta dilengkapi bagian sisi pertumbuhan (Atmadja, *et al.*, 1996). Rumput laut coklat memiliki pigmen yang memberikan warna coklat dan dapat menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa, fikoidin dan manitol yang komposisinya sangat tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuhnya (Maharani dan Widyayanti, 2009).

Komponen utama dari alga adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potasium) dan air 80-90 %. Komposisi kimia *Sargassum* menurut Yunizal (2004) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi Kimia *Sargassum* sp.

	Komposisi Kimia	Persentase (%)
1	Karbohidrat	19,06
2	Protein	5,53
3	Lemak	0,74
4	Air	11,71
5	Abu	34,57
6	Serat Kasar	28,39

Sargassum merupakan alga coklat yang terdiri dari kurang lebih 400 jenis di dunia. Jenis-jenis *Sargassum* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu : *Sargassum duplicatum*, *S. hystrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Rachmat, 1999).

Sargassum vulgare memiliki bentuk agak gepeng, licin, tetapi batang utama bulat agak kasar, *holdfast* cakram menggaruk. Cabang pertama timbul pada bagian pangkal sekitar 1 cm dari *holdfast*. Percabangan berselang-seling teratur. Daun oval atau memanjang, 40 x 10 mm, urat tengah daun. *Sargassum* biasanya

dicirikan oleh tiga sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis terhimpun dalam bentuk laminaran dan alginat serta adanya flagel (Tjondronegoro, *et al.*, 1989). Klasifikasi *Sargassum vulgare* (Guriy, 2005) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Thallophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Family	: Fucaceae
Genus	: Sargassum
Jenis	: <i>Sargassum vulgare</i>



Gambar 2.1 Rumput laut coklat (*Sargassum vulgare*)

2.4 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi beberapa senyawa metabolit sekunder dari alga menggunakan ekstraksi maserasi (Lenny, 2006). Maserasi dilakukan dengan merendam alga dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Pada penyarian dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan untuk meratakan

konsentrasi larutan di luar serbuk, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Lenny, 2006).

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006). Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat polaritas pelarut yang ditentukan oleh konstanta dielektrikum, pada Tabel 2.2 (Sax dan Lewis, 1998).

Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

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

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit larut; L = larut dalam berbagai proporsi
 Sumber: Sax dan Lewis (1998), Mulyono (2006) dan Fessenden dan Fessenden (1982).

Kepolaran timbul dari perbedaan dua kutub (*pole*) kelarutan. Kecenderungan suatu bahan yang lebih larut dalam air disebut memiliki sifat yang polar dan sebaliknya yang cenderung lebih larut dalam pelarut organik disebut non polar. Secara fisika, tingkat polaritas ini dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum (D) suatu pelarut. Semakin besar konstanta dielektrikum suatu zat maka semakin polar (Sudarmadji, dkk., 1997).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu metanol, kloroform dan *n*-heksana yang didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut digunakan karena memenuhi beberapa syarat-syarat pelarut. Suatu pelarut harus memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai kepolaranya, serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 1987).

Berdasarkan penelitian Fahri (2010) diketahui bahwa pelarut kloroform menghasilkan ekstrak terbesar yang merupakan ekstrak paling toksik dengan nilai tosisitas LC_{50} sebesar 1,88 ppm, diikuti oleh metanol dan aseton dengan nilai tosisitas LC_{50} sebesar 3,20 ppm dan 3,97 ppm. Berat ekstrak pekat yang dihasilkan oleh pelarut semi polar lebih besar daripada pelarut polar dan nonpolar, sehingga diduga bahwa senyawa yang terdapat pada alga coklat *Sargassum cristaefolium* yaitu flavon, flavonoid, alkaloid, terpenoid dan steroid.

Hasil penelitian Habibah (2012) menunjukkan masing-masing ekstrak alga merah *Eucheuma conttoni* menggunakan pelarut metanol dan *n*-heksana diperoleh masing-masing rendemen sebesar 16,25 % dan 0,88 %, dengan nilai toksisitas

LC₅₀ terhadap larva udang *A. salina* Leach yaitu 136,49 ppm dan 184,44 ppm. Kandungan senyawa aktif terhadap pelarut metanol yaitu triterpenoid dan saponin, pelarut *n*-heksana yaitu triterpenoid. Menurut Alfiaturrahmah (2012) hasil penelitian alga coklat *S. vulgare* dimaserasi dengan etanol, klorofom dan *n*-heksana diperoleh masing-masing rendemen sebesar 1,76; 1,60; dan 0,50 %.

2.5 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan atau menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa. Kadar racun suatu zat kimia salah satunya dapat dinyatakan dengan LC₅₀ (*Lethal Concentration-50*). Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Oleh karena itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk menguji ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas. Salah satu organisme yang sangat sesuai untuk uji toksisitas adalah *brine shrimp* (Lenny, 2006).

BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metode ini digunakan sebagai *bioassay-guided fractionation* dari bahan alam, karena mudah, cepat, murah, dan cukup *reproducible*. Bioaktivitas yang dapat dideteksi dari skrining awal dengan metode BSLT diantaranya adalah antikanker, antitumor, antimalaria, antimikroba, *immunosuppressive*, *antifeedant* dan residu pestisida (Colegate dan Molyneux, 2007).

Jenis *Brine Shrimp* (udang laut) yang biasa digunakan untuk uji toksisitas adalah *A. salina*. Klasifikasi *A. salina* adalah sebagai berikut (Mudjiman, 1985):

Kerajaan : Animalia
 Divisi : Arthropoda
 Subdivisi : Crustacea
 Kelas : Branchiopoda
 Bangsa : Anostraca
 Suku : Artemiidae
 Marga : Artemia L.
 Jenis : *Artemia salina* Leach



Gambar 2.2 Larva Udang *Artemia salina* Leach

A. salina sering digunakan sebagai hewan uji toksisitas. Telur *A. salina* dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada suhu 23 °C maka ia akan menetas dalam 1-2 hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat hanya berupa immobilisasi ke dalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. Immobilisasi ini sudah dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *A. salina*. LC_{50} diperoleh dengan ekstrapolasi kurva

(Soemirat, 2005). Parameter yang ditunjukkan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologi pada suatu senyawa pada *A. salina* Leach adalah kematiannya (Meyer, *et al.*, 1982).

Meyer, *et al.*, (1982) menggolongkan toksisitas atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya untuk harga LC_{50} dibedakan menjadi:

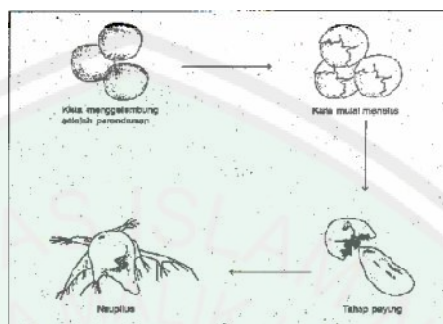
- a. Toksik ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ mL}$)
- b. Tidak toksik ($LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ mL}$)

Meyer *et al* (1982) menyatakan bahwa senyawa uji dikatakan toksik jika harga LC_{50} lebih kecil dari $1000 \mu\text{g/ mL}$. Penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai LC_{50} masing-masing ekstrak dengan ketentuan (Zuhud, 2011):

- $LC_{50} < 10$ ppm aktivitas tinggi sebagai sitotoksik
- $LC_{50} > 10 < 50$ ppm aktif sebagai sitotoksik
- $LC_{50} > 50 < 100$ ppm aktif sedang sebagai sitotoksik
- $LC_{50} > 100$ ppm tidak aktif sebagai sitotoksik

Penetasan telur dilakukan dengan memasukkan telur *A. salina* Leach ke dalam air laut sambil diaerasi untuk mengontakkan dengan udara selama 48 jam. Proses penetasan *A. salina* Leach ada beberapa tahapan yaitu tahap hidrasi, pecahnya cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga telur yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya yaitu tahap pecahnya cangkang yang disusul dengan tahap pecahnya payung yang terjadi

beberapa saat sebelum naupli (larva) keluar dari cangkang sebagaimana pada gambar 2.4 (Farihah, 2006).

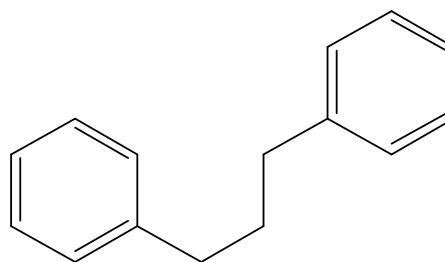


Gambar 2.3 Tahap penetasan *Artemia salina* L. (Farihah, 2006)

2.6 Identifikasi Senyawa Aktif

2.6.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C₃ sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).

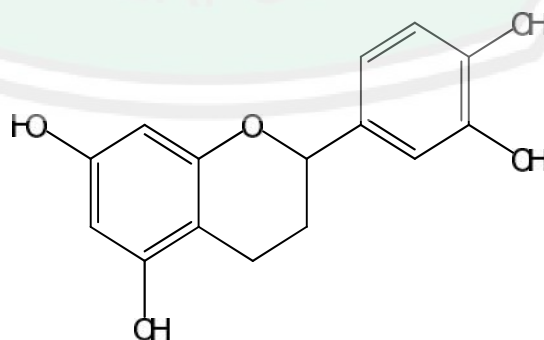


Gambar 2.4 Struktur Inti Senyawa Flavonoid (Robinson, 1995)

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus $-OH$ dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen. Purwaningsih (2003) mengisolasi senyawa flavonoid dari biji kacang tunggak dengan pelarut metanol menghasilkan ekstrak berwarna kuning. Praptiwi, dkk. (2007) dalam penelitiannya tentang antimalaria ekstraksi pahit menunjukkan adanya senyawa flavonoid dari fraksi diklorometana.

2.6.2 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).



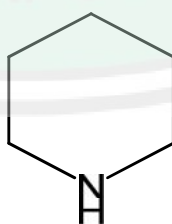
Gambar 2.5 Contoh Struktur Senyawa Tanin (Robinson, 1995)

Deny (2007) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa tanin dapat

diekstrak dari bagian-bagian tumbuhan tertentu dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang umum adalah aseton, etanol, maupun metanol dan secara komersial tanin dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut air tetapi yang paling efektif untuk mengekstrak tanin dari kulit kayu dapat digunakan larutan air dengan etanol atau aseton dengan perbandingan 1:1.

2.6.3 Alkaloid

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



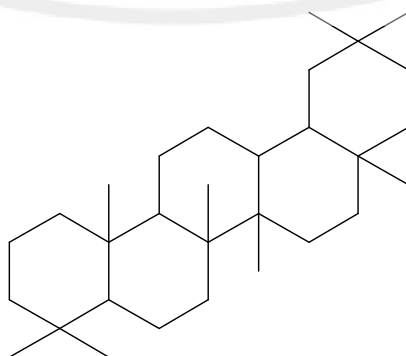
Gambar 2.6 Contoh Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan

hampir semua alkaloid (Robinson, 1995). Pada penelitian Sumaryanto (2009) alkaloid diekstraksi menggunakan pelarut polar (etanol) dan dapat digunakan sebagai antibakteri.

2.6.4 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Triterpenoid alkohol monohidroksi dalam tumbuhan tidak bersamaan dengan pigmen, sedangkan triterpenadiol berada bersama-sama dengan karotenoid dan triterpenoid asam dengan flavonoid (Robinson, 1995).

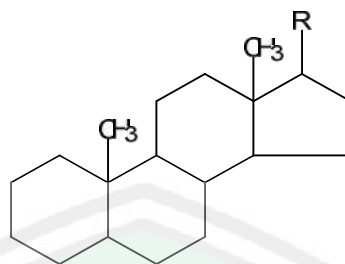


Gambar 2.7 Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Pereaksi yang umumnya digunakan untuk mendeteksi triterpenoid adalah Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Bawa (2009) menyebutkan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard yaitu akan terjadi perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua.

2.6.5 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjiadi, 1994). Steroid tersusun dari isopren- isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus –OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya yang cenderung lebih polar. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid. Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol. Beberapa senyawa ini jika terdapat dalam tumbuhan akan dapat berperan menjadi pelindung. Senyawa ini tidak hanya bekerja menolak beberapa serangga tetapi juga menarik beberapa serangga lain (Robinson, 1995).

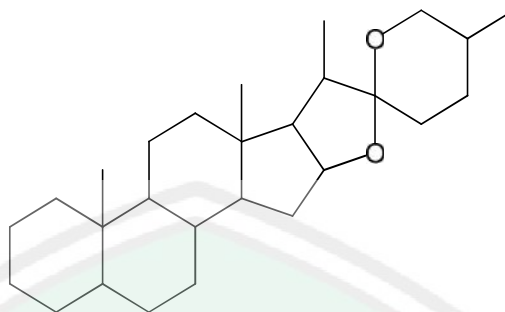


Gambar 2.8 Struktur inti senyawa steroid (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994)

Reaksi warna yang digunakan untuk uji warna pada steroid adalah dengan reaksi Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna hijau biru. Reaksi warna yang lain pada steroid dilakukan dengan Brieskorn dan Briner (asam klorosulfonat dan Sesolvan NK) menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995).

2.6.6 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer dapat sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai antimikroba, dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam asam atau menggunakan enzim (Robinson, 1995).



Gambar 2.9 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

Pemisahan saponin melalui plat silika gel KLT menggunakan larutan pengembang seperti butanol yang dijenuhkan dengan air atau kloroform-metanol-air (13:7:2) (Harborne, 1987).

2.7 Pemisahan Senyawa dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan fase diam dan fase gerak. Teknik kromatografi dapat digunakan sebagai alat untuk pemisahan komponen-komponen dalam suatu campuran yang secara simultan dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif berbagai macam komponen yang kompleks, baik komponen organik maupun anorganik. Dalam analisis kualitatif, parameter yang digunakan adalah nilai R_f , dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai R_f yang sama jika diukur dengan kondisi KLT yang sama. Sedangkan untuk analisis kuantitatif *spot* dapat diukur langsung dengan menggunakan ukuran luas atau mengerok *spot* lalu menetapkan kadar senyawa yang terdapat dalam *spot* tersebut dengan metode analisis yang lain. Terdapat beberapa teknis untuk melakukan pengembangan dalam kromatografi lapis tipis, yaitu pengembangan menaik (*ascending*), pengembangan menurun

(*descending*), melingkar, dan mendatar. Pada penelitian ini digunakan metode *ascending* sebab cara pengembangan menaik merupakan cara yang paling populer dibandingkan dengan cara lain.

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia, fisika, maupun biologi. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyeprotan sehingga bercak menjadi jelas. Untuk penyemprotan lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak. Dalam penelitian ini menggunakan pereaksi Lieberman-Buchard, vanilin, dan asam sulfat.

Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, membuat bercak akan terlihat jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berfluoresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan terlihat berfluoresensi (Gadjar dan Rohman, 2007). Sinar UV yang digunakan biasanya pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Sudjadi (1988) pada UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm

adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi.

Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik jenis apa saja, sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator fluoresensi, dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya ialah bercak gelap dengan latar belakang yang bersinar (Gritter, 1991).

Pada UV 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut. fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Sudjadi, 1988).

Lapisan silika gel alumina yang akan dipakai sebagai penyerap diusahakan tidak mengandung banyak air, karena jika tidak maka air akan menempati semua titik penyerapan sehingga tidak akan ada pelarut yang melekat. Menurut Gritter (1991), penampakan bercak pada KLT menggunakan larutan ninhidrin dan

senyawa yang terpisah dapat diidentifikasi dengan menghitung harga Rf (*Retardation Factor*) yaitu:

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{Jarak pelarut yang mengelusi}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Rf ialah angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0-100 (Stahl, 1985).

Sriwahyuni (2010) menyatakan bahwa identifikasi golongan alkaloid dari ekstrak etil asetat tanaman anting-anting menggunakan eluen kloroform-metanol (9:1) setelah disemprot dengan reagen Dragendorff menunjukkan 4 noda di bawah sinar UV 366 nm yang berwarna ungu kecoklatan–hijau kecoklatan. Purwaningsih (2003) menyatakan bahwa eluen untuk pemisahan flavonoid campuran butanol-asam asetat-air (4:1:5), kemudian diuapi dengan uap amoniak akan berwarna biru kehijauan dengan noda sebanyak 8 dengan Rf antara 0,14-0,94.

Gunawan (2003) memisahkan senyawa triterpenoid dari ekstrak kloroform daun Jati Belanda menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (2:1) dengan pereaksi LB menghasilkan 12 noda berwarna merah ungu dibawah sinar UV. Penelitian Hayati (2012) menyatakan bahwa identifikasi senyawa steroid pada tanaman anting-anting dapat menggunakan KLT dengan eluen heksana:etil asetat (7:3) dan disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya noda berwarna hijau, biru ungu sampai coklat. Kristianingsih (2005) melakukan penelitian untuk senyawa saponin menggunakan KLT dengan eluen kloroform, metanol dan air (20:60:10) menghasilkan 3 noda dengan Rf antara 0,55-0,73.

2.8 Analisis Probit

Analisis data uji toksisitas dengan metode BSLT biasanya dilakukan dengan analisis probit untuk menghitung nilai LC_{50} (Lenny, 2006). Penggunaan analisis regresi probit sejauh ini sering digunakan untuk menguji daya racun suatu jenis pestisida terhadap hama atau penyakit, sehingga bermanfaat untuk menentukan tingkat dosis terhadap persentase kematian hama yang diinginkan (Setyawati, 1999 dalam Khumaidah, 2000). Analisis data uji toksisitas dengan metode BSLT biasanya dilakukan dengan analisis probit untuk menghitung nilai LC_{50} (Lenny, 2006).

Analisis probit digunakan dalam pengujian biologis untuk mengetahui respon obyek yang diteliti oleh adanya stimuli (hewan uji) dengan mengetahui respon berupa mortalitas. Nilai toksisitas suatu ekstrak terhadap hewan uji diukur dengan nilai LC_{50} , yaitu suatu konsentrasi yang tepat yang dapat menyebabkan kematian 50 % hewan yang diuji.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Maret 2014 di Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Pengembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah hot plate, pisau, blender, oven, timbangan analitik, kaca arloji, cawan penguap, tabung reaksi, pengaduk kaca, pipet tetes, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 10 mL, pipet ukur 1 mL, pipet mikro, penjepit, gelas beaker 100 mL, bola hisap, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 100 mL, desikator, corong kaca, corong *Buchner*, *aluminium foil*, kertas saring, labu ukur 10 mL, plat silika GF₂₅₄, lampu penerang, *vacum rotary evaporator*, *shaker*.

3.2.2 Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga coklat jenis (*Sargassum vulgare*) berasal dari pantai Kapong Pamekasan Madura.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah methanol p.a, kloroform p.a, *n*-heksana p.a, DMSO, ragi roti, air laut, etil asetat, HCl 37 %, HCl 1N, HCl 2 %, metanol 50 %, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrida, aseton, FeCl₃ 1 %, gelatin, pereaksi Mayer dan Dragendorff, serbuk logam Mg, NaCl, pereaksi Liberman-Burchard, aquades, air.

3.3 Rancangan Penelitian

Sebelum dilakukan pengujian secara eksperimental di laboratorium, terlebih dahulu dilakukan uji taksonomi terhadap sampel yang akan digunakan. Kemudian sampel diambil dari seluruh bagian alga coklat dikeringkan menggunakan oven lalu dihaluskan. Sampel yang sudah dihaluskan ditentukan kadar air dan garamnya. Kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda yaitu metanol (polar), kloroform (semi polar) dan *n*-heksana (non polar). Selanjutnya ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri gas N₂, lalu dihitung nilai rendemen.

Ekstrak pekat dari hasil maserasi, diuji toksisitasnya dengan metode BSLT menggunakan hewan uji larva udang *A. Salina*. Sebelumnya larutan ekstrak dibuat dengan variasi konsentrasi 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm. Parameter pengamatan yang digunakan adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat dari immobilisasi hewan uji dalam botol vial yang berisi konsentrasi ekstrak yang berbeda dan 10 ekor larva udang *A. Salina* dan disertai

dengan tabung kontrol. Data yang diperoleh dari masing-masing pengamatan kemudian ditentukan nilai LC_{50} nya.

Ekstrak dengan toksisitas tertinggi selanjutnya diuji keberadaan kandungan golongan senyawa aktifnya melalui uji fitokimia dengan uji reagen meliputi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan tanin, dilanjutkan dengan uji golongan senyawa aktifnya menggunakan KLT. Uji dengan KLT menggunakan plat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diamnya dan parameter yang digunakan adalah banyaknya *spot* yang dihasilkan.

3.4 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut:

- 1) Uji taksonomi alga coklat *Sargassum vulgare*
- 2) Preparasi sampel
- 3) Penentuan kadar air
- 4) Penentuan kadar garam
- 5) Ekstraksi *S. vulgare* menggunakan metode maserasi
- 6) Uji toksisitas dengan menggunakan larva udang *A. Salina*
- 7) Identifikasi golongan senyawa aktif
- 8) Pemisahan Senyawa dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
- 9) Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Taksonomi

Uji taksonomi alga coklat *S. vulgare* dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Pengembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.

3.5.2 Preparasi Sampel

Alga coklat *S. vulgare* sebanyak 4 Kg dicuci dengan air, kemudian diiris kecil-kecil, lalu dioven pada suhu 38 °C selama 24 jam dan dihaluskan menggunakan blender hingga halus. Serbuk *S. vulgare* diayak menggunakan ayakan yang berukuran 60-100 mesh (Rita, *et al.*, 2008).

3.5.3 Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri (AOAC, 1984)

Pada penentuan kadar air, disiapkan cawan porselen terlebih dahulu, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, sebanyak 5 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 100-105 °C sekitar ±15 menit, kemudian sampel disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam *S. vulgare* dihitung menggunakan persamaan (3.1) (AOAC, 1984):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \quad (\text{AOAC, 1984}) \dots \dots \dots (3.1)$$

Dimana : a = bobot cawan kosong

b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}} \dots\dots\dots (3.2)$$

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

3.5.4 Penentuan Kadar Garam

Sebanyak 5 gram sampel *S. vulgare* dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 10 mL akuades dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Ekstraksi diulangi sebanyak 6 kali pada sampel agar garam dalam sampel larut dalam akuades. Kemudian disaring menggunakan penyaring corong *buchner* agar proses penyaringan lebih maksimal. Garam yang sudah terekstrak ke dalam pelarut akuades diukur kadarnya menggunakan alat salinometer.

3.5.5 Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum vulgare*

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman. Sampel *S. vulgare* yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 100 g dan diekstraksi secara maserasi menggunakan 300 mL pelarut metanol dan dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* selama 3×24 jam dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*), setelah itu dilakukan penyaringan menggunakan corong *Buchner* (Nimah, dkk., 2012). Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 5 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama, setelah itu dilakukan penyaringan. Kelima filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu (Halimah, 2010). Perlakuan yang sama juga dilakukan

terhadap 100 g sampel alga yang diekstrak menggunakan pelarut kloroform dan *n*-heksana.

Ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, setelah itu dialiri gas N₂. Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya dengan Persamaan 3.2.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.3)$$

3.5.6 Uji Toksisitas Ekstrak dengan Larva Udang *A. salina* Leach

3.5.6.1 Penetasan Larva Udang

Telur udang *A. salina* 2,5 mg dimasukkan dalam wadah penetasan yang berisi air laut sebanyak 250 mL dan diaerasi. Wadah atau bejana diberi sekat menjadi 2 bagian, bagian terang diberi cahaya lampu neon dan gelap dengan cara ditutup dengan kertas aluminium *foil* (Juniarti, 2009). Telur akan menetas setelah ± 48 jam dan akan menuju daerah terang melalui sekat dan siap digunakan sebagai target uji toksisitas.

3.5.6.2 Uji Toksisitas (Rita, *et al.*, 2008)

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Botol disiapkan untuk pengujian, masing-masing ekstrak membutuhkan 18 botol dan 3 botol sebagai kontrol. Ekstrak pekat metanol, kloroform dan *n*-heksana ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 5 μL , 25 μL , 50 μL , 100 μL , 150 μL dan 200 μL , kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan

pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan air laut sampai tanda batas (volumenya menjadi 10 mL), kemudian dikocok. Konsentrasi masing-masing larutan menjadi 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan dilakukan pengamatan selama 24 jam terhadap kematian larva udang.

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini ada 2 yakni kontrol media (DMSO tanpa ekstrak) dan kontrol pelarut masing-masing ekstrak. Kontrol media dibuat dengan cara dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dikocok sampai dapat larut dalam air laut. Kemudian ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL. Selanjutnya larutan kontrol dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang ke dalam botol vial yang telah berisi larutan kontrol.

Kontrol pelarut dibuat dengan 200 μ L pelarut *n*-heksana dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian diuapkan sampai kering. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 10 mL, dan ditambahkan air laut sampai tanda batas (volumenya menjadi 10 mL), kemudian dikocok. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam botol vial, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan dilakukan

pengamatan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Kontrol pelarut juga dibuat dengan 200 μ L pelarut metanol dan kloroform dimasukkan dalam botol vial dan diberi perlakuan yang sama seperti kontrol pelarut *n*-heksana. Masing-masing larutan kontrol dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

3.5.7 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan golongan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat metanol, kloroform dan *n*-heksana dari *S. vulgare* dilakukan terhadap uji alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin (Indrayani, *et al.*, 2006).

3.5.7.1 Uji Alkaloid (Kristanti, *et al.*, 2008)

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.7.2 Uji Flavonoid

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.7.3 Uji Saponin (Harborne, 1987)

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N,

busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.7.4 Uji Triterpenoid dan Steroid (Kristanti, *et al.*, 2008)

Ekstrak *S. vulgare* dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

3.5.7.5 Uji Tanin

3.5.7.5.1 Uji dengan FeCl_3

Ekstrak *S. vulgare* ditambahkan dengan 3 tetes larutan FeCl_3 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka mengandung tanin.

3.5.7.5.2 Uji dengan Larutan Gelatin

Ekstrak *S. vulgare* sebanyak 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin

3.5.8 Uji Senyawa Aktif dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi dengan KLT dilakukan dengan menggunakan plat silika gel F_{254} sebagai fase diam. Plat silika diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 60-70 °C selama 10 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat.

Masing-masing plat disiapkan dengan ukuran 1x10 cm. Sebanyak 1000 mg ekstrak *S. vulgae* diencerkan dengan penambahan pelarut 1 mL yang memberikan hasil positif pada uji fitokimia, kemudian ditotolkan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat silika gel F₂₅₄ dengan pipa kapiler dan dalam 1 tempat totolan diberikan 3-5 kali penotolan. Plat KLT tersebut kemudian dimasukkan dalam bejana kromatografi yang telah jenuh dengan larutan pengembang, kemudian dikeringkan plat silika gel. Hasil penotolan dielusi dengan menggunakan eluen atau fase gerak yaitu berupa campuran pelarut yang sesuai (Handayani, *et al.*, 2008). Eluen untuk pengembang ini dilakukan penjenjuran terlebih dahulu dalam suatu bejana tertutup. Setelah fase gerak sampai pada garis batas elusi dihentikan. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya. Pengembang dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

1. Golongan alkaloid: digunakan eluen (fase gerak) kloroform:etanol (9:1) (Ekasari *et al.*, 2005), kloroform:metanol (9,5:0,5) (Sriwahyuni, 2010), diklorometana : metanol (1:1) (Lusiana, 2009), kloroform:n-heksana (2:1) (Susilaningsih, 2007), dan metanol:kloroform (2:8) (Aripin, 2007) dengan penampak noda Dragendroff yang memberikan perubahan warna menjadi jingga.
2. Golongan Flavonoid: digunakan eluen campuran etil asetat dan metanol dengan perbandingan 9:1 (Morina, 2007), butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Halimah, 2010), *n*-heksana:kloroform:etil asetat (9:1:0,5) (Asih, 2009),

Kloroform:Metanol (9:1) (Akbar, 2010) dan kloroform:metanol (3:2) (Sukadana, 2010) yang kemudian dengan diuapi uap amoniak akan berwarna biru kehijauan atau memberikan noda-noda dengan warna florosensi biru, kuning-hijau, ungu dan biru-ungu yang terpisah dengan baik setelah disinari menggunakan lampu UV 254 nm.

3. Golongan Tanin: digunakan eluen butanol:asam asetat:air (14:1:5) (Harborne, 1987), butanol asam asetat:air (2:0,5:1,1) (Yulia, 2006), asetat glacial:H₂O:HCl (30:10:3) (Nuraini, 2002), butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Sa'adah *et al.*, 2010), dan n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Sidik, 2012). Bercak noda diperiksa dengan sinar UV lalu dengan penyemprot FeCl₃ menghasilkan warna lembayung.
4. Golongan senyawa Saponin: digunakan eluen kloroform:metanol:air (13:7:2) (Harborne, 1987), kloroform:metanol:air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005) kloroform:metanol:air (3:1:0,1) dan kloroform:metanol:air (14:6:1) (Bogoriani *et al.*, 2007), dan kloroform:aseton (4:1) (Suryanti, 2005). Dan ketika ditambah H₂SO₄ 0,1 M akan menimbulkan warna ungu-ungu gelap.
5. Golongan Terpenoid: digunakan eluen campuran, eluen *n*-heksana:etil asetat (4,5:0,5) (Panambunan, 2013), eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) (Hayati, 2012), eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2) dan (6:4) (Reveny, 2011), eluen *n*-heksana:aseton (7:3) (syamsudin, 2007). Menggunakan reagen penyemprot Lieberman Burchard.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Tingkat toksisitas larva udang *Artemia salina* Leach dapat diketahui dengan melakukan uji LC_{50} menggunakan analisis probit pada program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95 %.

Penggolongan senyawa aktif dapat dilakukan dengan identifikasi hasil uji warna dengan kepekatan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut:

1. +++ = kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
2. ++ = mengandung senyawa (warna cukup pekat)
3. + = mengandung senyawa (sedikit berwarna)
4. - = tidak mengandung senyawa

Identifikasi kemurnian senyawa aktif dapat diketahui dengan melakukan analisis hasil uji KLT dari pengukuran jarak migrasi dan bentuk bercak noda senyawa pada dua fasa yang berbeda menggunakan parameter nilai R_f .

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Taksonomi

Uji taksonomi dilakukan untuk mengetahui jenis alga coklat yang digunakan dalam penelitian ini. Uji taksonomi dilakukan di Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Pengembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya. Hasil uji taksonomi pada Lampiran 10 menunjukkan bahwa makroalga yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri yaitu bentuk agak gepeng, licin, batang utama silindris, percabangan selang-seling, mempunyai kantong udara, dan daunnya memanjang lurus pinggirnya bergelombang. Berdasarkan ciri-ciri tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel memiliki ciri-ciri yang sama dengan alga coklat jenis *Sargassum vulgare*. Hal ini sesuai dengan ciri-ciri yang disebutkan oleh Tjondronegoro, *et al.*, (1989).

4.2 Preparasi Sampel

Alga coklat *S. vulgare* dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pasir maupun lumpur yang menempel pada tallusnya, kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 38 °C. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama, tidak mudah rusak, dan komposisi senyawa metabolit sekunder juga tidak mengalami perubahan.

S. vulgare yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak. Pemplenderan dan pengayakan ini dimaksudkan untuk memperluas permukaan bahan sehingga mempermudah pada tahap ekstraksi, interaksi antara pelarut dengan sampel yang diekstraksi menjadi lebih efektif dan hasil ekstrak yang diperoleh maksimal (Sembiring, dkk., 2006). Semakin besar kontak antara partikel dengan pelarutnya maka kemungkinan rusaknya dinding sel juga semakin besar, sehingga memudahkan pengambilan kandungan metabolit sekunder dari sampel oleh pelarut tertentu. Dari 5 Kg sampel basah *S. vulgare* diperoleh serbuk kering *S. vulgare* sebanyak 400 gram.

4.3 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air di dalam sampel, menentukan kesegaran dan daya tahan suatu bahan. Penentuan kadar air pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan yang disimpan dalam selang waktu yang lama, karena kandungan air tinggi dalam suatu bahan merupakan medium tumbuh yang baik bagi mikroba (Winarno, 2002).

Analisis kadar air dilakukan pada *Sargassum vulgare* basah dan kering menggunakan metode thermogravimetri, yaitu mengeluarkan kandungan air dari suatu bahan dengan jalan pemanasan. Sampel *S. vulgare* dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, kemudian dikeringkan sampel dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Air yang terikat secara fisik dapat dihilangkan dengan pemanasan pada suhu 100-105 °C (Hardaji, 1993). Selanjutnya sampel disimpan dalam desikator selama 15

menit, kemudian ditimbang. Perlakuan ini dilakukan berulang hingga beratnya konstan. Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang diuapkan. Hasil pengukuran kadar air *S. vulgare* dapat dilihat pada Tabel 4.1:

Tabel 4.1 Kadar air sampel *Sargassum vulgare*

Alga Coklat (<i>Sargassum vulgare</i>)	Kadar Air %	Kadar Air Terkoreksi %
Sampel basah	83,7970	77,6254
Sampel kering	10,4697	9,3528

Kadar air pada *S. vulgare* basah sebesar 77,6254 %. Astwan, *et al.*, (2001) menyatakan bahwa kandungan air rumput laut segar berkisar 80-90 % dan setelah pengeringan menjadi 10-20 %. Sedangkan kadar air *S. vulgare* kering sebesar 9,3528 %. Menurut Winarno (2002) kadar air yang baik adalah kurang dari 10 %, karena pada tingkat kadar air tersebut waktu simpan sampel akan relatif lebih lama dan terhindar dari pencemaran yang disebabkan mikroba. Oleh karena itu, *S. vulgare* kering yang dihasilkan dapat dilakukan penyimpanan dalam selang waktu yang cukup lama.

4.4 Analisis Kadar Garam

Pengukuran kadar garam *S. vulgare* menggunakan salinometer Atago PAL-06S refraktometer. Instrumen tersebut memiliki satuan permil (‰), atau sering disebut dengan ppt (*parts per thousand*). Prinsip kerja salinometr yaitu berdasarkan pada refraksi optik larutan sampel yang disebabkan oleh padatan garam yang terlarut, semakin besar kandungan garam yang terlarut, maka

menyebabkan indek refraksi larutan semakin besar. Serbuk *S. vulgare* diekstrak menggunakan aquades sebanyak 6 kali, agar garam yang terkandung dalam sampel dapat larut atau terekstrak maksimal. Garam yang sudah terekstrak ke dalam pelarut aquades diukur kadarnya menggunakan salinometer.

Hasil uji kadar garam *S. vulgare*, pada penelitian ini sebesar 15,6 ppt. Menurut Pitoyo (2004) *Artemia salina* akan menetas dalam waktu 24-36 jam pada salinitas 15-35 ppt. Matthew (1982) yang menyatakan bahwa paparan salinitas antara 22,7 dan 33 ppt ada pengaruh meski tidak signifikan pada sampel mikroalga terhadap perkembangan embrio normal. Sehingga dari kedua pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa kadar garam pada sampel tidak mempengaruhi tingkat kematian pada larva udang *Artemia salina* L.

4.5 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena selain metode yang dilakukan cenderung mudah dan alat yang digunakan tergolong sederhana. Sedangkan kerugian dari ekstraksi maserasi sendiri adalah waktu pengerjaannya lama (Guenther, 1987).

Maserasi sampel dilakukan dengan cara merendam *S. vulgare* seberat 100 gram ke dalam masing-masing pelarutnya yaitu metanol, kloroform dan *n*-heksana. Alasan pemilihan pelarut, untuk mendapatkan senyawa metabolit

sekunder berdasarkan sifat kepolaranya. Senyawa polar akan terekstrak dalam pelarut metanol, senyawa semipolar akan terekstrak dalam pelarut kloroform dan senyawa non polar akan terekstrak dalam pelarut *n*-heksana.

Selama proses perendaman dilakukan pengadukan 3 jam dengan kecepatan 120 rpm dengan bantuan *shaker*, perlakuan ini dilakukan agar kontak antara pelarut dengan sampel berjalan lebih cepat, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna. Proses ekstraksi dihentikan apabila warna filtrat berubah menjadi lebih pucat atau filtrat berwarna lebih bening, karena filtrat yang berubah warna menjadi bening mengindikasikan bahwa senyawa yang terkandung dalam sampel telah terekstrak sempurna.

Maserat yang diperoleh disaring dengan menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Prinsip penyaringan dengan corong *Buchner* adalah suatu metode penyaringan secara mekanis berdasarkan ukuran molekul, sehingga molekul-molekul yang berukuran lebih besar akan tertahan pada media filter (kertas saring).

Filtrat hasil maserasi dari masing-masing pelarut yang telah diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotasy evaporator vaccum* untuk memperoleh ekstrak pekat *S. vulgare*. Prinsip utama dari *rotasy evaporator vaccum* adalah penurunan tekanan pada alas bulat sehingga pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya (Vogel, 1978). Pelarut akan menguap menuju kondensor dan tertampung dalam labu alas bulat penampung sehingga terpisah dari ekstrak.

Penguapan pelarut dengan *rotasy evaporator vaccum* dihentikan sampai pelarut tidak menetes lagi dari kondensor dan diperoleh ekstrak yang cukup

pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dialiri gas N₂ agar sisa-sisa pelarut yang masih terdapat dalam ekstrak dapat dihilangkan. Hasil rendemen dari masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 4.2:

Tabel 4.2 Hasil rendemen ekstrak metanol, kloroform dan *n*-Heksana

Pelarut	Warna filtrat	Warna Ekstrak Pekat	Rendemen (%) (b/b)
Metanol	Hijau Pekat	Hiaju Pekat Kehitaman	3,39
Kloroform	Hijau Kecoklatan	Hiaju Pekat Kehitaman	1,1596
<i>n</i> -Heksana	Hijau Pekat	Hijau Pekat	0,4228

Nilai rendemen ekstrak metanol lebih besar dari kloroform dan *n*-Heksana, hal ini kemungkinan disebabkan karena pada *S. vulgare* banyak mengandung senyawa polar, selain itu diduga senyawa yang terkandung di dalam ekstrak *S. vulgare* masih berbentuk glikosida, sehingga akan lebih larut ke dalam pelarut polar. Keberadaan senyawa-senyawa yang masih berbentuk glikosida sangat mempengaruhi jumlah rendemen hasil ekstraksi, karena umumnya senyawa metabolit sekunder yang terikat pada gula akan terekstrak pada pelarut polar.

4.6 Uji Toksisitas Ekstrak *S. vulgare* dengan Larva Udang *A. salina* Leach

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah salah satu metode skrining untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak secara aktif dengan menggunakan hewan coba *A. salina*. Prinsip metode BSLT adalah uji toksisitas akut (mematikan) terhadap *A. salina* dengan penentuan nilai LC₅₀ setelah pemaparan larutan ekstrak selama 24 jam (Meyer *et. al.*, 1982).

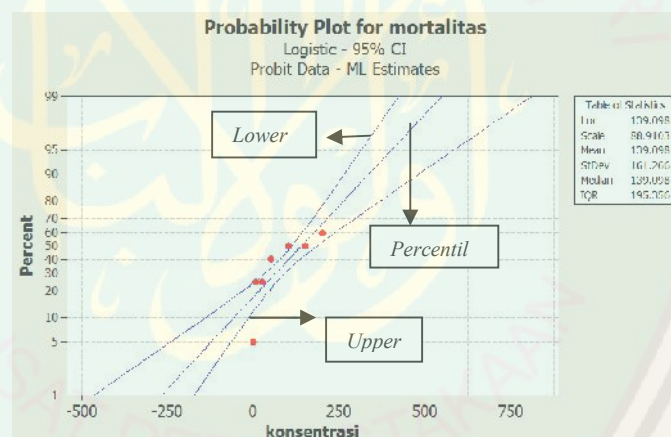
Pada metode BSLT ini larutan ekstrak yang digunakan harus larut sempurna dalam air laut, karena air laut merupakan media hidup *A. salina* sehingga konsentrasi sampel yang digunakan merupakan konsentrasi yang sebenarnya, dan kematian *A. salina* disebabkan oleh kandungan senyawa aktif pada ekstrak *S. vulgare*. Dalam metode ini *A. salina* yang digunakan berumur 48 jam. Karena pada umur 48 jam anggota tubuh larva sudah lengkap, sehingga tingkat kematian *A. salina* pada uji toksisitas lebih akurat dan tidak dipengaruhi oleh faktor umur *A. salina*, karena faktor umur akan mempengaruhi kelengkapan organ tubuh *A. salina*.

Pada penelitian ini, masing-masing larutan ekstrak *S. vulgare* dibuat larutan stok 10000 ppm. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan uji toksisitas adalah 5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm, serta kontrol 0 ppm. Pembuatan variasi konsentrasi bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari beberapa variasi konsentrasi terhadap kematian *A. salina*. Kontrol dibuat 2 yakni kontrol pelarut (pelarut masing-masing ekstrak) dan kontrol media (DMSO tanpa ekstrak). Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut dan DMSO terhadap kematian *A. salina*, sehingga dapat dipastikan kematian *A. salina* disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *S. vulgare*.

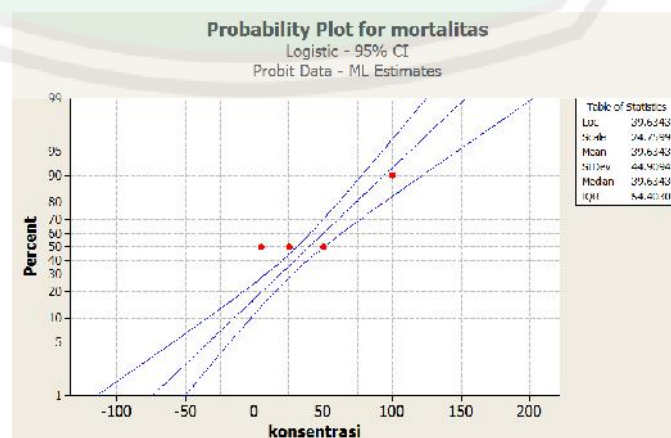
Larutan stok dibuat dengan melarutkan 100 mg masing-masing ekstrak ke dalam pelarutnya hingga volume 10 mL menggunakan labu takar. Selanjutnya pelarut masing-masing ekstrak diuapkan sampai kering dalam lemari asam, agar kematian larva tidak dipengaruhi oleh pelarutnya. Setelah pelarutnya kering, ditambahkan DMSO dan sedikit air laut. DMSO digunakan sebagai surfaktan,

karena memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik, sehingga dapat melarutkan ekstrak polar maupun non polar. Kemudian ditambahkan setetes larutan ragi roti sebagai makanan larva dan ditambahkan air laut sampai volume 10 mL. *A. salina* yang telah berumur 48 jam dimasukkan ke dalam media uji sebanyak 10 ekor, selanjutnya pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian *A. salina* untuk mengetahui potensi pada masing-masing ekstrak dengan menentukan nilai LC_{50} .

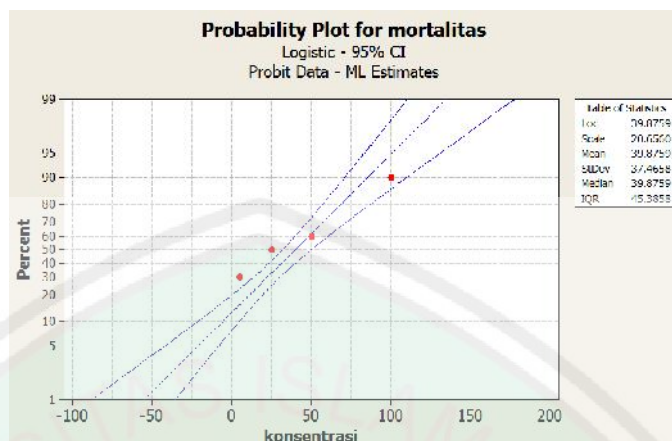
Berikut ini kurva hasil analisis dengan program minitab 16 dengan tingkat kepercayaan 95 % ditunjukkan pada Gambar 4.1, 4.2 dan 4.3:



Gambar 4.1. Grafik Uji Toksisitas (LC_{50}) Ekstrak Metanol



Gambar 4.2. Grafik Uji Toksisitas (LC_{50}) Ekstrak kloroform



Gambar 4.3. Grafik Uji Toksisitas (LC_{50}) Ekstrak *n*-Heksana

Ketiga kurva di atas dapat dilihat bahwa nilai konsentrasi berbanding lurus dengan persen mortalitas. Sebagaimana Harbone (1994) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya terhadap hewan uji semakin tinggi. Kurva mortalitas menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dengan persentase mortalitas (sumbu y). Kurva masing-masing ekstrak terdapat 3 garis (*lower, percentile, dan upper*). Garis *lower line* adalah batas bawah yang menunjukkan konsentrasi terendah pada setiap persentase mortalitas, garis *percentile line* adalah konsentrasi pada setiap persentase mortalitas sedangkan garis *upper line* adalah batas atas yang menunjukkan konsentrasi tertinggi pada setiap persentase mortalitas. Nilai LC_{50} menunjukkan kemampuan ekstrak sebagai bioaktivitas ekstrak yang diujikan.

Berdasarkan kurva mortalitas masing-masing ekstrak pelarut, diperoleh nilai LC_{50} sebagaimana pada tabel 4.3:

Tabel 4.3 Hasil uji toksisitas ekstrak *S. vulgare* pada berbagai konsentrasi

Ekstrak	LC_{50} (ppm)
Metanol	139,098
Kloroform	39,6343
<i>n</i> -Heksana	39,8759

Mayer, *et al.*, (1982) menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT, jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Dari pernyataan tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksasna *S. vulgare* bersifat toksik terhadap larva udang *A. salina* L. karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

Mekanisme kematian larva udang menurut Padua, *et al.*, (1999) ekstrak pekat bertindak sebagai racun perut. Bila senyawa aktif ini masuk ke dalam tubuh larva udang, alat pencernaanya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini juga menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Akibatnya, larva gagal mendapatkan stimulus rasa yang mengakibatkan larva tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

4.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif

Uji fitokimia merupakan suatu tahapan pengujian secara kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder suatu sampel. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna dengan beberapa pereaksi pendeteksi golongan senyawa aktif (Rita, 2008). Hasil uji fitokimia ekstrak metanol *S. vulgare* ditunjukkan pada Tabel 4.4. Berdasarkan uji fitokimia dari ekstrak metanol, menunjukkan bahwa *S. vulgare* positif mengandung senyawa steroid. Sedangkan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan tidak terbentuknya perubahan standar warna.

Tabel 4.4 Hasil uji kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol

Golongan Senyawa	Perubahan warna		Standar warna	Keterangan
	sebelum	sesudah		
Alkaloid - Meyer - Dragendroff	Hijau bening	Hijau kekuningan	Endapan kekuningan	-
	Hijau bening	Merah kecoklatan	Endapan jingga	-
Flavonoid	Hijau bening	Hijau bening	Merah/jingga	-
Triterpenoid	Hijau bening	Hijau kebiruan	Cincin kecoklatan/violet	-
Steroid	Hijau bening	Hijau kebiruan	Hijau kebiruan	+++
Saponin	Hijau bening	Hijau bening	Terbentuk busa	-
Tanin - FeCl - Gelatin	Hijau bening	Kuning kehitaman	Hijau kehitamn/Biru tinta	-
	Hijau bening	Hijau bening	Endapan putih	-

Keterangan:

+++ = kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

++ = mengandung senyawa (warna cukup pekat)

+ = mengandung senyawa (sedikit berwarna)

- = tidak mengandung senyawa

Hasil uji fitokimia ekstrak kloroform *S. vulgare* ditunjukkan pada Tabel

4.5. Berdasarkan uji fitokimia dari ekstrak kloroform, menunjukkan bahwa *S. vulgare* positif mengandung senyawa steroid. Sedangkan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin menunjukkan hasil negatif.

Tabel 4.5 Hasil uji kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak kloroform

Golongan Senyawa	Perubahan warna		Standar warna	Keterangan
	sebelum	sesudah		
Alkaloid - Meyer - Dragendroff	Hijau kehitaman	Hitam	Endapan kekuningan	-
	Hijau kehitaman	Hitam	Endapan jingga	-
Flavonoid	Hijau bening	Hijau bening	Merah/jingga	-
Triterpenoid	Hijau bening	Hijau kebiruan	Cincin kecoklatan/violet	-
Steroid	Hijau bening	Hijau kebiruan	Hijau kebiruan	+++
Saponin	Hijau kehitaman	Hijau bening	Terbentuk busa	-
Tanin - FeCl - Gelatin	Hijau bening	Kuning bening	Hijau kehitamn/Biru tinta	-
	Hijau bening	Hijau bening	Endapan putih	-

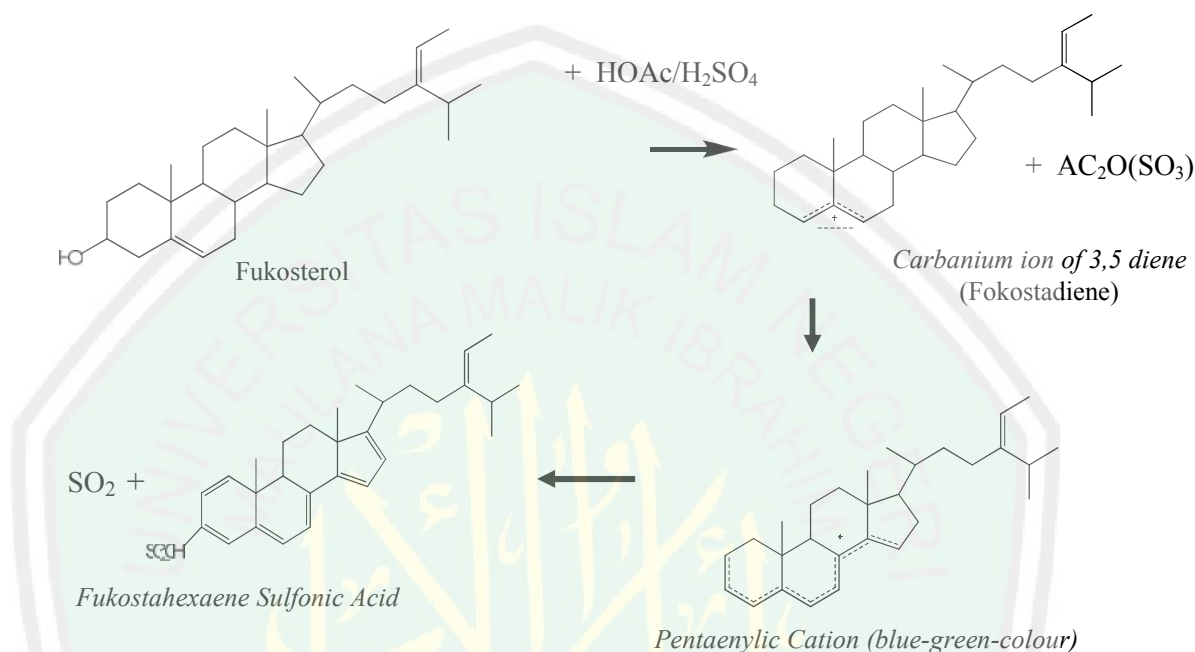
Hasil uji fitokimia ekstrak *n*-heksana *S. vulgare* ditunjukkan pada Tabel 4.6. Berdasarkan uji fitokimia dari ekstrak *n*-heksana, menunjukkan bahwa *S. vulgare* positif mengandung senyawa steroid. Sedangkan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin menunjukkan hasil negatif.

Tabel 4.6 Hasil uji kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak *n*-heksana

Golongan Senyawa	Perubahan warna		Standar warna	Keterangan
	sebelum	sesudah		
Alkaloid - Meyer - Dragendroff	Hijau	Hijau kecoklatan	Endapan kekuningan	-
	Hijau	Kuning kecoklatan	Endapan jingga	-
Flavonoid	Hijau	Hijau bening	Merah/jingga	-
Triterpenoid	Hijau	Hijau kebiruan	Cincin kecoklatan/violet	-
Steroid	Hijau	Hijau kebiruan	Hijau kebiruan	+++
Saponin	Hijau	Hijau	Terbentuk busa	-
Tanin - FeCl - Gelatin	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau kehitamn/Biru tinta	-
	Hijau	Hijau bening	Endapan putih	-

Harbone (1987) steroid yang terdapat pada tumbuhan alga coklat adalah fukosterol. Adanya golongan senyawa steroid ditunjukkan dengan reaksi terbentuknya warna hijau sampai biru ketika ekstrak ditambahkan dengan pereaksi Limberman-Bucard (Burke, 1974). Pengujian senyawaan golongan steroid ini diawali dengan penambahan pelarut kloroform, bertujuan untuk melarutkan senyawaan steroid karena senyawaan ini dapat larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air (Halimah, 2010). Selanjutnya penambahan asam asetat anhidrida berfungsi untuk membentuk turunan asetil setelah di dalam kloroform. Sedangkan penambahan H_2SO_4 pekat akan menyebabkan senyawa steroid mengalami dehidrasi (kehilangan H_2O), sehingga menghasilkan produk ion carbonium 3,5 diene. Ion carbonium 3,5 diene

merupakan produk pertama yang terbentuk dalam serangkaian reaksi pembentukan warna (Burke, 1974).

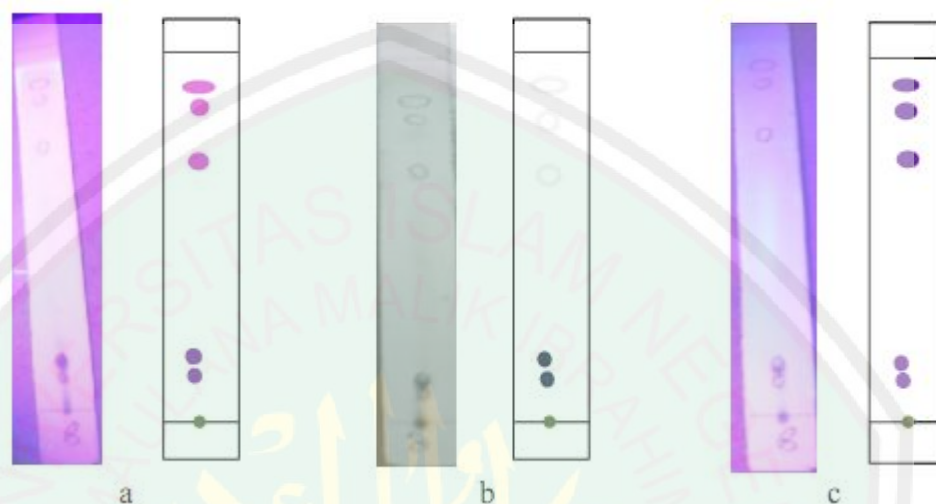


Gambar 4.4 Contoh reaksi fukosterol dengan reagen Lieberman-Burchard (Burke, 1974).

4.8 Pemisahan Senyawa dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase yakni fase gerak (eluen) dan fase diam (adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya (Sastrohamidjojo, 1991). Pemisahan dikatakan baik apabila menghasilkan komponen senyawa berupa noda yang banyak, noda yang terbentuk bulat tidak berekor dan pemisahan nodanya jelas (Gandjar dan Rohman, 2007). Diantara beberapa variasi eluen yang digunakan, eluen menggunakan *n*-Heksana:Etil

Asetat (7:3) menunjukkan pemisahan yang terbaik, sebagaimana pada Gambar 4.5:



Gambar 4.4 Hasil KLT senyawa steroid *n*-heksana:etil asetat (7:3)

Keterangan:

- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sebelum disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil elusi sebelum dideteksi dengan UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil pengamatan dengan UV 366 nm setelah disemprot reagen Liberman-Burchard

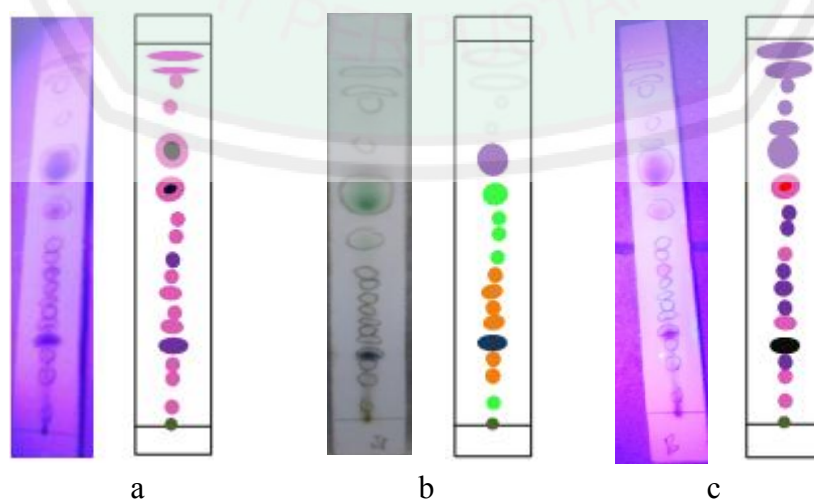
Tabel 4.7 Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak metanol *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3) dengan lampu UV 366 nm

Rf	Warna noda dibawah sinar UV pada λ 366 nm			Dugaan senyawa
	Warna noda dengan sinar UV	Warna noda tanpa sinar UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard	Warna noda dengan sinar UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard	
0,075	Ungu	Biru kehitaman	Ungu	Steroid
0,112	Ungu	Biru kehitaman	Ungu	Steroid
0,675	Merah muda	Tidak berwarna	Ungu	Steroid
0,825	Merah muda	Tidak berwarna	Ungu	Steroid
0,875	Merah muda	Tidak berwarna	Ungu	Steroid

Pada Tabel 4.7 menunjukkan terdapat 6 spot, setiap spot memiliki nilai Rf yang berbeda-beda. Nilai Rf hasil pemisahan yaitu 0,075; 0,112; 0,675; 0,825 dan 0,875. Spot yang dihasilkan pada plat dapat menggambarkan jumlah senyawa

yang terdapat pada ekstrak, sedangkan nilai R_f pada spot menunjukkan tingkat kepolaran dari senyawa yang telah dipisahkan. Spot yang memiliki nilai R_f kecil menunjukkan senyawa lebih terdistribusi pada fase diamnya sedangkan spot yang memiliki nilai R_f besar menunjukkan senyawa lebih terdistribusi pada fase geraknya. Fase gerak *n*-heksana:etil asetat (7:3) merupakan eluen yang memiliki kecenderungan non polar karena sifat *n*-heksana lebih non polar dibandingkan dengan etil asetat, hal ini dapat terlihat dari konstanta dielektrik *n*-heksana lebih kecil dibandingkan etil asetat. Pada penelitian Handayani, dkk (2008) golongan senyawa steroid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Liberman-Burchard dengan terbentuknya bercak noda hijau. Menurut Syamsudin (2007) golongan senyawa steroid setelah disemprot dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV λ_{366} menghasilkan warna biru, ungu sampai coklat.

Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid dari ekstrak *S. vulgare* kloroform dengan menggunakan eluen *n*-Heksana:Aseton (7:3) menunjukkan pemisahan yang terbaik, sebagaimana pada Gambar 4.6:



Gambar 4.6 Hasil KLT senyawa steroid *n*-heksana:aseton (7:3)

Keterangan:

- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sebelum disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil elusi sebelum dideteksi dengan UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil pengamatan dengan UV 366 nm setelah disemprot reagen Liberman-Burchard

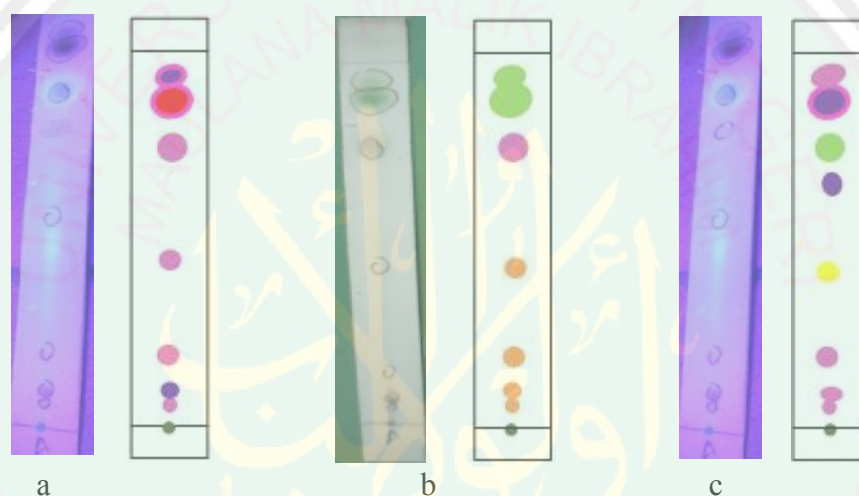
Tabel 4.8 Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Aseton (7:3).

Rf	Warna noda dibawah sinar UV pada λ 366 nm			Dugaan senyawa
	Warna noda dengan sinar UV	Warna noda tanpa sinar UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard	Warna noda dengan sinar UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard	
0,037	Merah muda	Hijau	Merah muda	Steroid
0,125	Merah muda	Coklat muda	Merah muda	Steroid
0,162	Merah muda	Coklat muda	Ungu	Steroid
0,2	Ungu	Biru tinta	Hitam	-
0,237	Merah muda	Coklat muda	Merah muda	Steroid
0,262	Merah muda	Coklat muda	Ungu	Steroid
0,3	Merah muda	Coklat muda	Ungu	Steroid
0,325	Merah muda	Coklat muda	Ungu	Steroid
0,362	Ungu	Hijau muda	Merah muda	Steroid
0,412	Merah muda	Hijau muda	Ungu	Steroid
0,437	Merah muda	Hijau muda	Ungu	Steroid
0,537	Merah muda	Hijau muda	Merah muda	Steroid
0,662	Merah muda tengah hitam	Hijau	Merah muda tengah merah	Steroid
0,725	Merah muda tengah hitam	Tidak berwarna	Ungu	Steroid
0,787	Merah muda	Tidak berwarna	Ungu	Steroid
0,9	Merah muda	Tidak berwarna	Ungu	Steroid
0,925	ungu	Tidak berwarna	Ungu	Steroid
0,975	Orange muda	Tidak berwarna	Ungu	Steroid

Pada Tabel 4.9 menunjukkan terdapat 18 spot, setiap spot memiliki nilai Rf yang berbeda-beda. Nilai Rf hasil pemisahan yaitu 0,073; 0,125; 0,162; 0,2; 0,237; 0,262; 0,3; 0,325; 0,362; 0,412; 0,437; 0,537; 0,662; 0,725; 0,787; 0,9; 0,925 dan 0,975. Menurut Syamsudin (2007) yang menyatakan bahwa eluen *n*-Heksana:Aseton (7:3) merupakan eluen yang baik dalam memisahkan senyawa steroid yang menghasilkan warna biru, ungu sampai coklat, setelah disemprot

dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV λ_{366} yang diduga merupakan golongan senyawa steroid. Hayati (2012) senyawa steroid setelah disemprot LB terbentuk bercak noda ungu, merah muda dan hijau.

Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid dari ekstrak *S. vulgare* *n*-heksana dengan menggunakan eluen *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3) menunjukkan pemisahan yang terbaik, sebagaimana pada Gambar 4.7:



Gambar 4.7 Hasil KLT senyawa steroid *n*-heksana:etil asetat (7:3)

Tabel 4.9 Data penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak *n*-heksana *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3).

Rf	Warna noda dibawah sinar UV pada λ 366 nm			Dugaan senyawa
	Warna noda dengan sinar UV	Warna noda tanpa sinar UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard	Warna noda dengan sinar UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard	
0,05	Merah muda	Coklat	Merah muda	Steroid
0,075	Ungu	Coklat	Merah muda	Steroid
0,162	Merah muda	Coklat	Merah muda	Steroid
0,462	Merah muda	Coklat	Kuning	-
0,687	-	-	Ungu	Steroid
0,787	Merah muda	Ungu	Hijau	Steroid
0,912	Merah muda tengah merah	Hijau	Merah muda tengah ungu	Steroid
0,962	Merah muda tengah ungu	Hijau	Merah muda	Steroid

Pada Tabel 4.9 menunjukkan terdapat 8 spot, setiap spot memiliki nilai Rf yang berbeda-beda. Nilai Rf hasil pemisahan yaitu 0,05; 0,075; 0,162; 0,462; 0,687; 0,787; 0,912; 0,962. Pada penelitian Handayani, dkk (2008) golongan senyawa steroid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Liberman-Burchard dengan terbentuknya bercak noda hijau. Hayati (2012) senyawa steroid setelah disemprot LB terbentuk bercak noda ungu, merah muda dan hijau. Menurut Syamsudin (2007) golongan senyawa steroid setelah disemprot dengan reagen LB dan diamati pada sinar UV λ_{366} menghasilkan warna biru, ungu sampai coklat.

4.9 Pemanfaatan *Sargassum vulgare* dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu nikmat yang diberikan Allah SWT. kepada manusia yang memiliki banyak manfaat. Dalam al Quran lebih dari 45 ayat yang memberikan isyarat fenomena ekologi tumbuhan (Rossidy, 2008). Firman Allah SWT. dalam surat asy Syu'araa ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

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

Berdasarkan ayat tersebut kata زَوْجٍ كَرِيمٍ antara lain digunakan untuk menggambarkan berbagai macam tumbuhan yang baik yang telah ditumbuhkan oleh Allah SWT. di bumi ini. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat. Manfaat tumbuhan salah satunya digunakan sebagai tanaman obat penyembuh penyakit. Sebagaimana dalam penelitian ini yang memanfaatkan alga

coklat *Sargassum vulgare* yang dianggap sampah laut oleh masyarakat untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Sehingga dapat meningkatkan nilai guna dari tumbuhan tersebut.

Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu untuk kebutuhan hambaNya dengan manfaat dan menurut ukuran tertentu. Sebagaimana dalam firman Allah SWT dalam surat al Hjr ayat 21:

وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنْزِلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ ﴿٢١﴾

“Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnyadan kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu”(Q.S al Hjr ayat 21)

Firman Allah dalam surat al Hjr ayat 21 tersebut menjelaskan bahwa sesuatu apapun yang dimanfaatkan oleh hamba-Nya itu tidak diberikan, kecuali menurut ukuran yang telah ditentukan dan di dalamnya terdapat kecukupan bagi orang yang membutuhkan dan rahmat bagi hamba-hamba-Ku (Al-Maragy, 1970). Sebagaimana kata بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ dalam potongan ayat tersebut secara ilmiah memberikan makna bahwa sesungguhnya Allah memberikan nikmat dengan ukuran tertentu. Ukuran dalam penelitian ini merupakan kadar dalam bentuk konsentrasi (ppm) yang digunakan sebagai ukuran seberapa besar tingkat toksisitas dari suatu senyawa yang terkandung di dalam alga coklat *S. vulgare* yang telah ditumbuhkan Allah SWT, yang berpotensi sebagai farmakologi.

Firman Allah dalam surat Ali Imran ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka.”(QS. Ali-‘Imran: 191).

Firman Allah SWT di atas menegaskan tentang sekelumit penciptaan-Nya atas alam raya ini serta memerintahkan agar memikirkannya untuk membuktikan tentang keesaan dan kekuasaan Allah SWT (Shihab, 2006). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *S. vulgare* memiliki bioaktivitas. Hal ini dilihat dari nilai LC₅₀ dari ekstrak *S. vulgare*. Nilai LC₅₀ ekstrak metanol sebesar 139,098 ppm, ekstrak kloroform sebesar 39,6343 ppm dan ekstrak *n*-heksana sebesar 39,8759 ppm. Mayer, *et al.*, (1982) menyatakan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT, jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50 % hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *S. vulgare* mempunyai potensi sebagai tanaman obat, sebagaimana firman Allah SWT. “*Rabbanaa ma kholaqta haadzaa baathilan*” merupakan suatu bukti bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di langit dan di bumi tidaklah sia sia, salah satunya adalah tumbuhan alga.

Pemanfaatan *S. vulgare* sebagai bahan farmakologi juga merupakan salah satu upaya mengikuti sunnah Rasul Nabi Muhammad SAW. menganjurkan pengobatan. Sebagaimana hadits Rasulullah SAW, dari Usamah bin Syarik

berkata ‘*saya pernah berada di sisi Rasulullah, lalu datang sekelompok Arab Badui. Mereka berkata, ‘Wahai Rasulullah, apakah kami bisa berobat?’ Nabi menjawab, ‘Wahai para hamba Allah carilah obat karena sesungguhnya Allah tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan obatnya, selain satu penyakit saja.’ ‘Mereka bertanya: ‘Penyakit apa itu?’ Jawab Beliau: ‘Penyakit usia tua.’*’ (HR. Ahmad) (Mahmud,2007).

Hadits di atas membuktikan bahwa Allah SWT. yang memberikan penyakit sekaligus obatnya, sehingga bagi manusia yang tepat dalam mencari obat niscaya akan diberi kemudahan oleh Allah SWT.

Dari Ibnu Mas’ud, bahwa Rasulullah bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلُهُ

‘‘Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya’’ (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim) (Fattah, 2010).

Hadist di atas memberikan pengertian kepada manusia bahwa semua penyakit yang menimpa manusia maka Allah SWT turunkan obatnya. Kadang ada orang yang menemukan obatnya, dan ada juga oaring yang belum bisa menemukannya. Ungkapan hadits dan ayat di atas dapat memberikan penguatan jiwa manusia untuk mengambil pelajaran dari segala ciptaan Allah SWT. terutama tumbuh-tumbuhan, selain itu juga mengandung anjuran mencari obat dan meneliti kegunaanya, karena Allah SWT menciptakan semua yang ada di dunia ini tidaklah sia-sia dari yang kecil hingga besar. Makhluk hidup (hewan, tumbuhan dan lain-lain) semuanya dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu mau berfikir.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil uji toksisitas Ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *Sargassum vulgare* memiliki toksik terhadap larva udang *A. salina* L. Nilai LC_{50} dari ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* secara berturut turut sebesar 139,098 ppm, 39,6343 ppm dan 39,8759 ppm.
2. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksana *S. vulgare* mengandung senyawa golongan steroid. Sedangkan hasil pemisahan KLTA menggunakan eluen terbaik, untuk ekstrak metanol eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 5 spot. Ekstrak kloroform eluen *n*-heksana:aseton (7:3) menghasilkan 18 spot. Dan ekstrak *n*-heksana eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) menghasilkan 8 spot.

5.2 Saran

Diperlukan pemisahan lebih lanjut terhadap ekstrak kasar dengan menggunakan metode hidrolisis, kemudian dilanjutkan dengan isolasi senyawa dengan menggunakan kromatografi kolom dan diidentifikasi menggunakan instrument LC-MS untuk menentukan struktur senyawanya

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, H. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Alfiaturrahmah. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Kloroform dan *n*-heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* Asal Pantai Kapong Pamekasan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN malang.
- Al-Qurthubi, I. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 10 Surah Al-Hijr-Al-Kahfi*. Jakarta: Pustaka Azam.
- Anggadireja, J., Zatnika., Purwoto, H. dan Istini, S. 2006. *Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Anwar, C. 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Jogjakarta: FMIPA UGM.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, Inc.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Aripin, S. 2007. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Bunga Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Asih, I.A.R., dan Astiti. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia*. Volume 3, Nomor 1: 33-40.
- Asmad. 2012. Wawancara komunikasi. *Kelimpahan alga coklat jenis Sargassum vulgare di Pantai Kapong Kabupaten Pamekasan*. 17 Maret 2012.
- Astuti, P., Alam, G., Ilartati, M.S., Sari, D. dan Wahyuono, S. 2005. Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari Spons Petrosia sp. :Potensial Pengembangan Sebagai Antikanker. *Majalah Farmasi Indonesia*, Volume 16 (1): Hal 58-62.
- Astawan, M., Muchtadi, D., Tutik, W., 2001. Pemanfaatan Rumput Laut pada Berbagai Makanan Jajanan Untuk Mencegah Timbulnya Defisiensi Iodium dan Penyakit Degeneratif. Laporan Penelitian. Bogor: IPB.

- Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo, dan Rachmaniar. 1996. *Pengenalan Jenis-jenis Rumpun Laut Indoneia*. Jakarta: PuslitBang Oseanologi- LIPI.
- Bawa, I.G.A.G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana.
- Bengen, D.G. 2001. *Sinopsis Ekosistem dan Sumber Daya Alam Pesisir dan Laut*. Bogor: Pusat Kajian Sumber Daya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor.
- Bogoriani, N.W.; Santi, Sri, R. dan Asih, R. 2007. Isolasi Senyawa Sitotoksik Dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth). *Jurnal Kimia*. Volume 1, Nomor 1: 1-6.
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R. A dan Menis, O. 1974. *Mechanisms of the Liembermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol*. CLIN. CHEM. 20/7, 794-801.
- Campbell. 2000. *Biology* (Terjemahan Rahayu Lestari). Jakarta: Erlangga.
- Colegate, S.M. and Molyneux, R.J. 2007. *Bioactive Natural Products: Determination, Isolation and Structural Determination Second Edition*. Prancis: CRC Press.
- Deny. 2007. Pemanfaatan Tanin sebagai Perekat. *Jurnal Penelitian*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor.
- Ekasari, W., Widyawaruyanti, dan Hafid. F. 2005. Uji Antimalaria Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Daun *Siamea* pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Laporan Penelitian* Tidak Diterbitkan. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Fahri, M. 2010. Uji Toksisitas Ekstrak Polar, Semipolar dan Nonpolar dari Alga Coklat *Sargassum cristaeifolium*. *Thesis* Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Fariyah. 2006. Toksisitas Ekstrk Daun Ficus Benjamina L terhadap *Artemia Salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fattah, A.b.A.b.A. 2010. *Shahih Thibun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Buku. Jakarta: Pustaka Imam Ahmad.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 1*. Terjemahan Aloysius Handyana Pudjatmaka. Jakarta: Erlangga.

- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka belajar.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi. Edisi kedua*. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinta. Bandung: Penerbit ITB.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Terjemahan Ketaren S. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Gunawan, E. 2003. Uji Ekstrak Metanol dan Kloroform Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) terhadap konsistensi Aktivitas Lipase dan Karakterisasi Ekstrak. *Srkipsi*. Bogor: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Guriy, G.M. 2005. Algaebase, Wordl-Wide Electronic Publication, National University Of Irland, Galaway, [http://www. Algaebase. Org](http://www.Algaebase.Org); (Searcheat On 31 Mei 2013).
- Habibah, H. 2012. Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma spinosum* Pantai Lobuk Madura Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN malang.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Handayani, D., Sayuti, N. dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epidioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*, Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.
- Harborne. J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinta dan Iwang Soediro. Bandung. Penerbit ITB.
- Hardaji, W. 1993. *Ilmu Analitik Dasar*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Haryanti, M.A., Darmanti, S. dan Izzati, M. 2008. Kapasitas Penyerapan dan Penyimpanan Air pada Berbagai Ukuran Potgan Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* sebagai Bahan Dasar Pupuk Organik. *Jurnal BIOMA*. Semarang: Lab. Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas. MIPA Universitas Diponegoro. 10 (1): 1-6.

- Hastarina, P.K. 2011. Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargassum sp.*) Sebagai Serbuk Minuman Pelangsing Tubuh. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hayati, E.K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa Dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica L.*). *molekul*, Vol. 7. NO.1. hal:20-32.
- Hijaz, M.N. 2009. Uji Aktifitas Antioksidan Karaginan Dalam Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dan *Gracillaria verrucosa*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, UIN.
- Iriawan, N. dan Astuti, S. 2006. *Mengolah Data Statistika dengan Mudah Menggunakan Minitab 14*. Yogyakarta: CV Andi Offset.
- Juniarti. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius L.*). *Jurnal Kimia Fakultas Kedokteran Universitas YARSI Jakarta*. Vol 13, No 1: 50-54.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M. dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kristianingsih. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (*Polyscias fruticosa*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Ledenberg, J. 1992. *Encyclopedia of Microbiology*, Volume Academic Press Inc, Rockefeller University, New York
- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp. *Jurnal*. Medan: USU.
- Lusiana, H. 2009. Isolasi dan Uji *Plasmodium* Secara *In Vitro* Senyawa Alkaloid dari *Albertisia papuana* BECC. *Tesis*. Bandung: Sekolah Pascasarjana ITB Bogor.
- Maharani. M. dan Widyayanti. 2009. *Pembuatan Alginat dari Rumput Laut Untuk Menghasilkan Produk dengan Rendemen dan Viskositas yang Tinggi*. Universitas Dipenogoro.
- Mahmud, M.H. 2007. *Mukjizat Kedokteran nabi*. Jakarta: Qultum Media.
- Matthew P. Coglianese. 1982. *The Effects of Salinity on Copper and Silver Toxicity to Embryos of the Pacific Oyster*. California Department of Fish

and Game, Marine Bioassay Laboratory, 2201 Garden Road, Monterey, California.

Meyer, B.N., Fergini, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nicholas, D.E. dan Mc Laughin, J.L. 1982. *Brine Shrimp; a Convient General Bioassay for Active Plant Constituents*. Plant Medica.

Morina, A. 2007. Isolasi Senyawa Aktif Flavonoid Berkhasiat Sitotoksik Dari Daun Kemuning (*Murraya Panicullata* L. Jack). *Jurnal Gradien*. Volume 3, Nomor 2: 262-266.

Mudjiman, A. 1985. *Makanan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.

Nimah, S., Ma'ruf, W.F. dan Trianto, A. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Jurusan Perikanan Universitas Diponegoro*. Volume 1, Nomor 2.

Nuraini, F. 2002. Isolasi dan Identifikasi Tanaman dari Daun Gamal (*Gliricidia seium (jackquin) Kunth ex Walp*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

Padua, L. S. N., Bunyapraphatsana, R. H., Lemmens, M. J. (eds.). 1999. Medicinal and Poisonous Plant Research of South-East Asia 12. *Pudoc Scientific Publisher*. Wageningen, the Netherland. p.353-359.

Panambunan, R.F. 2013. Penentuan Dosis Letal (LD₅₀) Ekstrak Metanol dan Dosis Efektif (ED₅₀) Ekstrak Diklorometan Daun Bunga Matahari (*Helianthus annus* L.) pada Hewan Coba Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Tekdologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Permana, R.A. 2008. Karakteristik Serbuk Minuman Sari Buah Jeruk lemon (*Citrus medica* var lemon) dengan Penambahan na-alginat yang Diekstraksi dari Rumput Laut *Sargassum filipendula*. *skripsi*. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Pitoyo, Ahmad. 2004. perikanan-nusantara.blogspot.com/artemia.html diakses pada Maret 2014.

Poedjiadi, A. dan Supriyanti. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.

- Purwaningsih, Y. 2003. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L, Walp). *Skripsi* Tidak Diterbitkan Malang: Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya.
- Praptiwi, Harapini, M. dan Chairul. 2007. Uji Aktivitas Antimalaria Secara In-Vivo Ekstrak Ki Pahit (*Picrasma javanica*) pada Mencit yang Diinfeksi Plasmodium berghei. *Jurnal*. Bogor: Bidang Botani, Puslit Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 16911.
- Rahmat R. 1999. *Kandungan dan Karakteristik Fisiko Kimia Alginat dari Sargassum sp. yang Dikumpulkan dari Perairan Indonesia*. Jakarta : Laboratorium Produk Alam Laut, Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Rita,W.S., Suirta, I.W. dan Sabirin, A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi Sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (*Momordica carantia* L). *Jurnal Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana* 2(1), ISSN 1907-9850: 1-6.
- Reveny, J. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). Daya Antimikroba. Sumatra Utara: Fakultas Farmasi Sumatra Utara.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rossidy, I. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dalam Perspektif Al-Quran*. Malang: UIN Malang Press.
- Sa'adah, L., Hayati, E.K. dan Fasyah, G. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. Volume 4, Nomor 2: 193-200.
- Sax, N.I. and Lewis, R.J. 1987. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Sembiring, B.B., Ma'mun dan Ginting. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Bul. Litro*. Vol.17, No.53 – 58.
- Sidik, K. dan Soediro, S. 2012. Analgetika. Dalam: *Penapisan Farmakologi Pengujian Fitofarmaka dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Bahan Obat Alami Phyto Medica.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an vol 7 dan 10*. Jakarta: Penerbit Lenteran Hati.

- Soemirat, J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp* (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sukadana, I.M. 2010. Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica* Burm F.). *Jurnal Kimia*. Volume 4, Nomor 1: 63-70.
- Summaryanto, A. 2009. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitas Biologisnya dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Malang: Universitas Brawijaya
- Suryanti, V., Martiana, S.M. dan Kristinawati, D. 2005. Komponen Kimia Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.). *Jurnal Alchemy*. Volume 4, Nomor 2: 28-34.
- Susilaningsih, R. 2007. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*). *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan.
- Syamsudin, Tjokrosonto, S., Wahyuno, S dan Mustofa. 2007. Aktivitas Anti-plasmodium dari dua fraksi Ekstrak n-heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Gracinia parvifoli* Miq). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18 (4), 210-215.
- Tjondronegoro dan Dewi, P. 1989. *Botani Umum II*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Vogel. 1978. *Text Book of Practical Organic Chemistry*, 4th Edition. London: Longman Group Limited.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Yulia, R. 2006. Kandungan Tanin dan Potensi Anti *Streptococcus mutans* Daun Teh Var. *Assamica* Pada Berbagai Tahap Pengolahan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

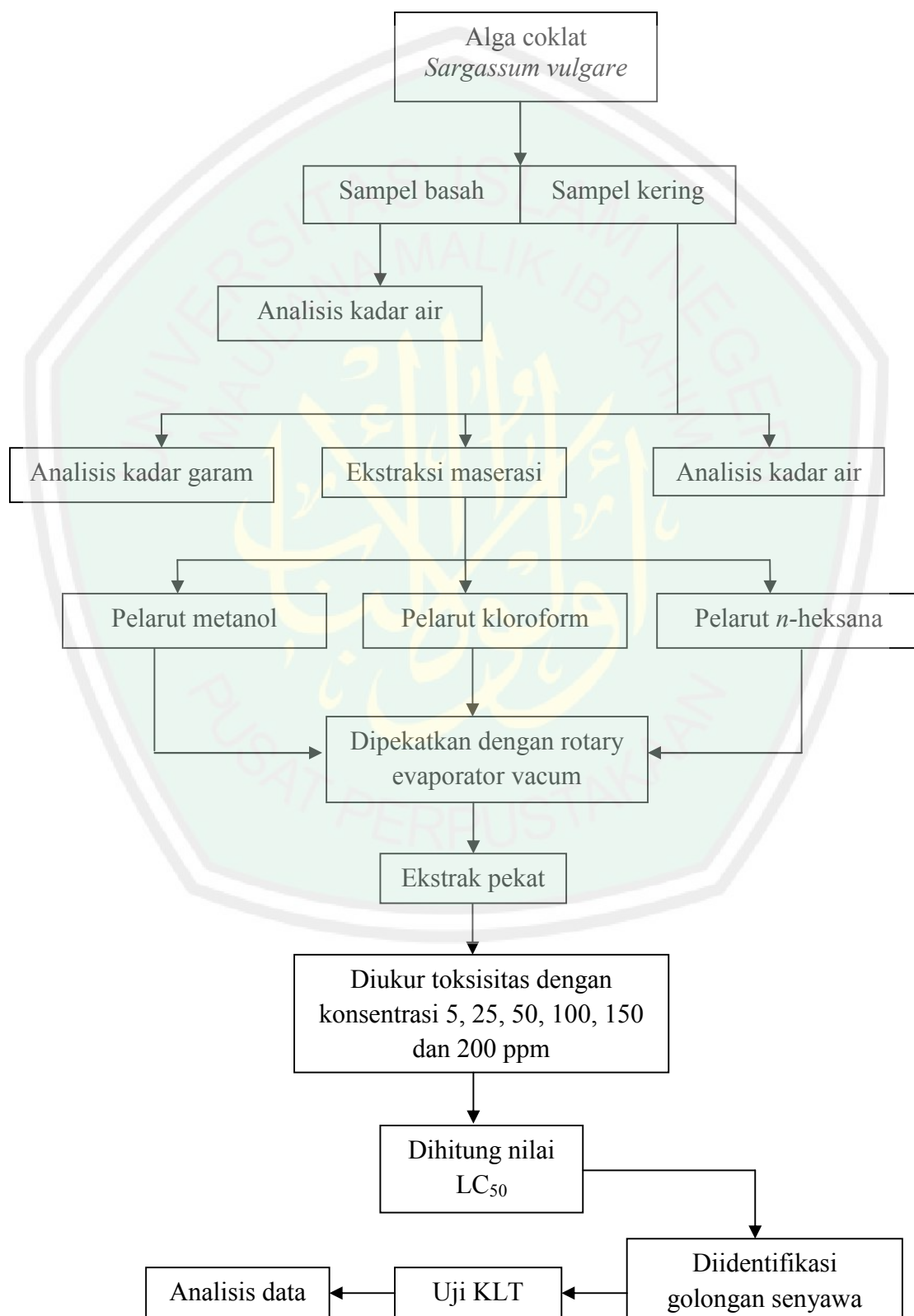
Yunizal. 2004. *Teknik Pengolahan Alginat* . Jakarta : Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan.

Zuhud, Ervizar. 2011. *Kanker Lenyap Berkat Sirsak*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka.



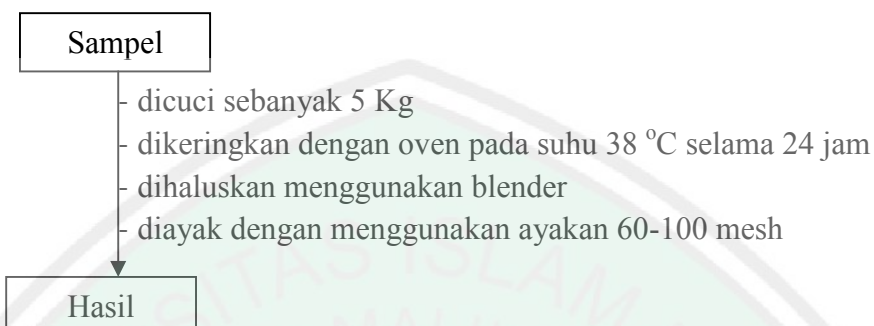
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

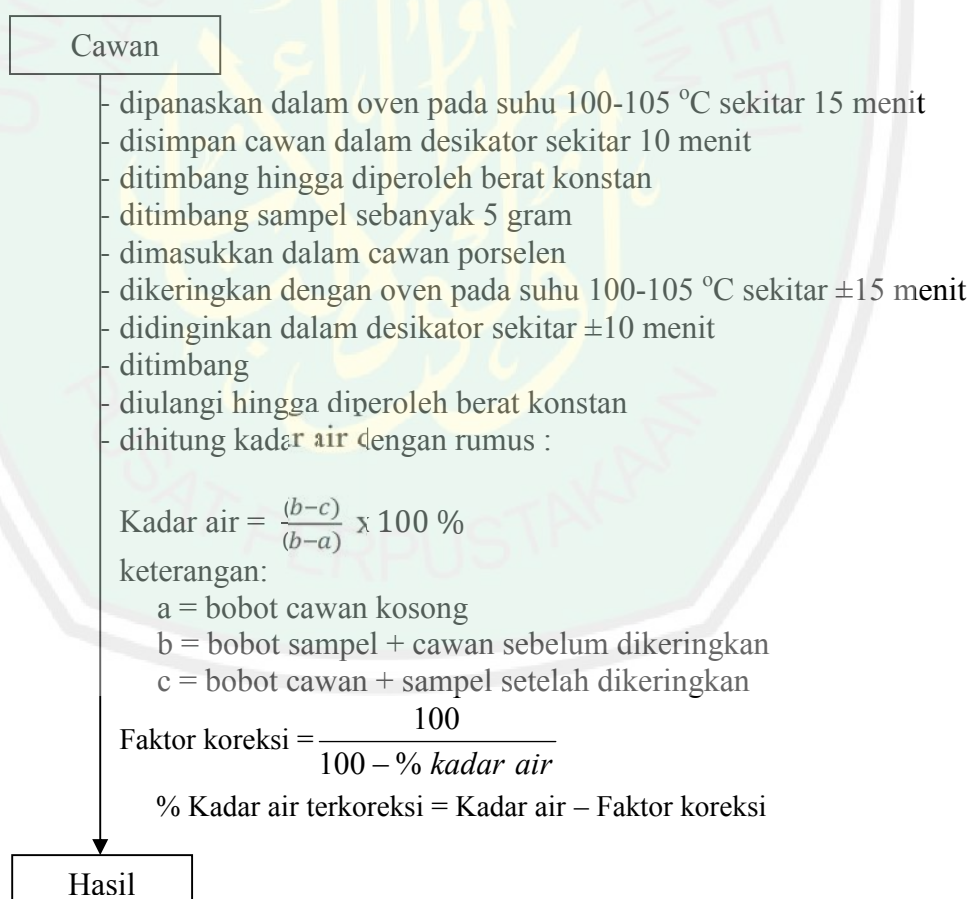


Lampiran 2. Skema Kerja

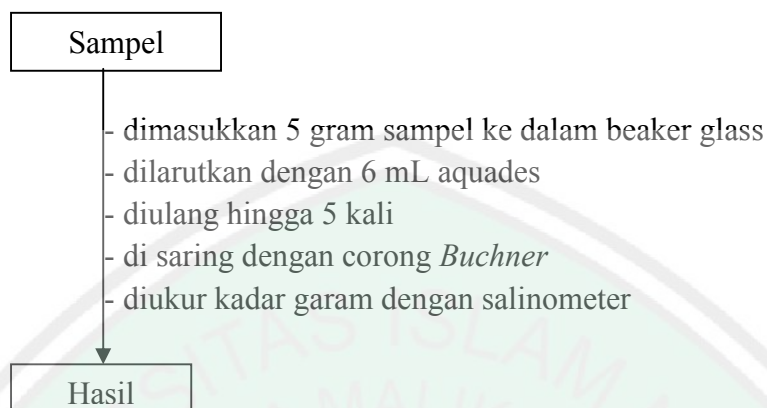
L.2.1 Preparasi Sampel



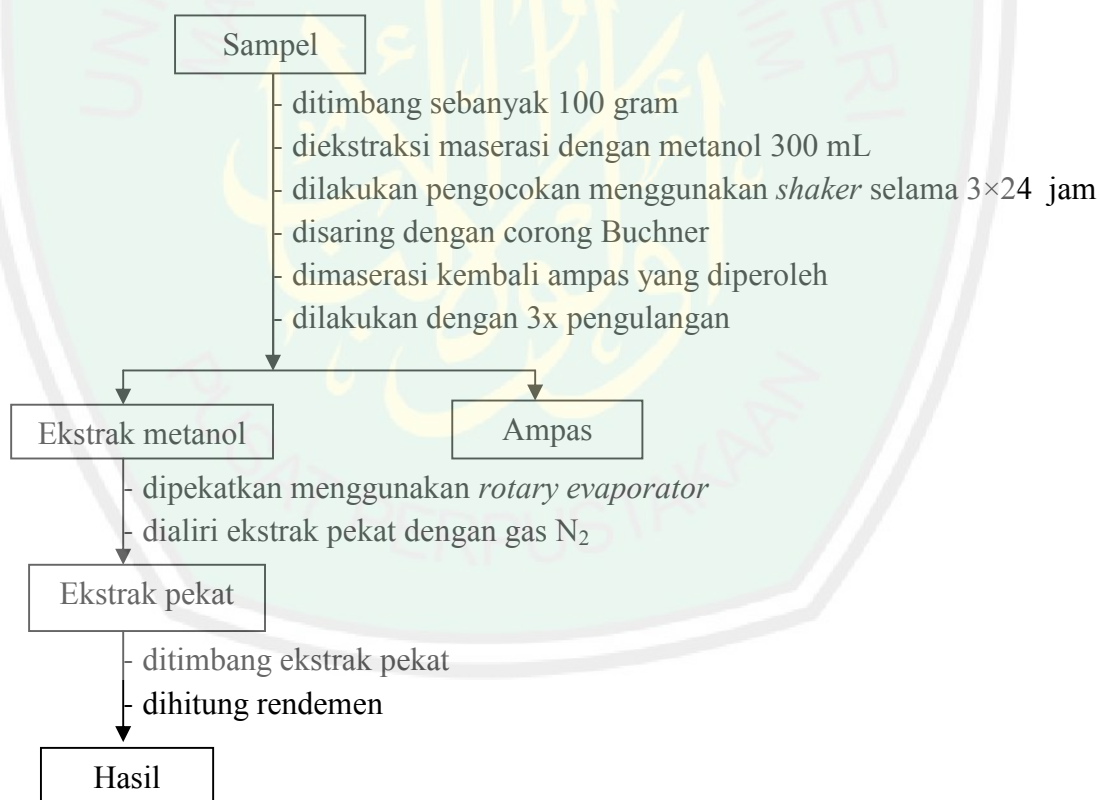
L.2.2 Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri (AOAC, 1984)



L.2.3 Penentuan Kadar Garam



L.2.4 Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum vulgare*

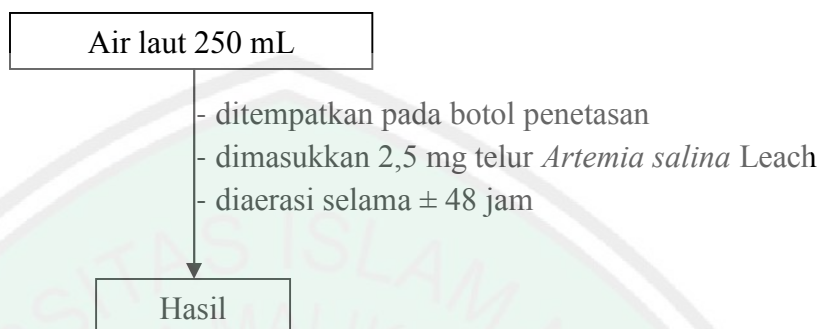


Keterangan:

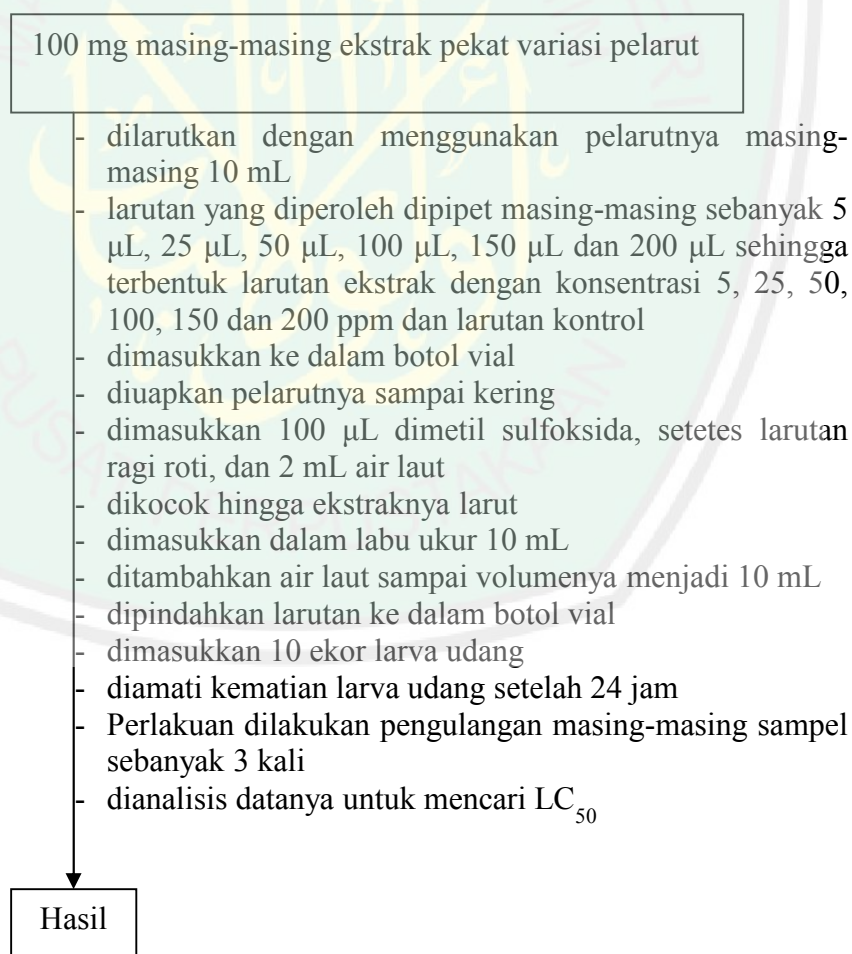
Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap 100 g sampel *Sargassum vulgare* yang diekstraksi menggunakan pelarut kloroform dan *n*-heksan.

L.2.5 Uji Toksisitas dengan Larva Udang *Artemia salina* Leach

2.5.1 Penetasan Telur



2.5.2 Uji Toksisitas

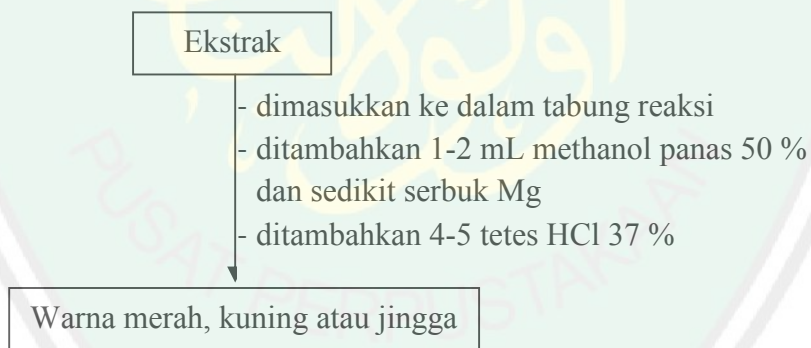


L.2.6 Identifikasi Golongan Senyawa Toksisitas Secara Kualitatif

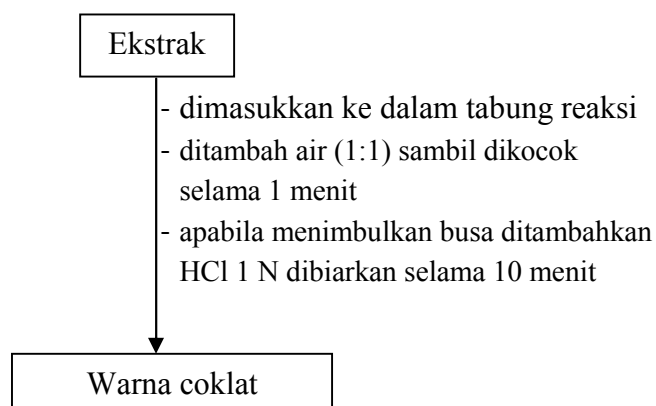
2.6.1 Identifikasi Alkaloid



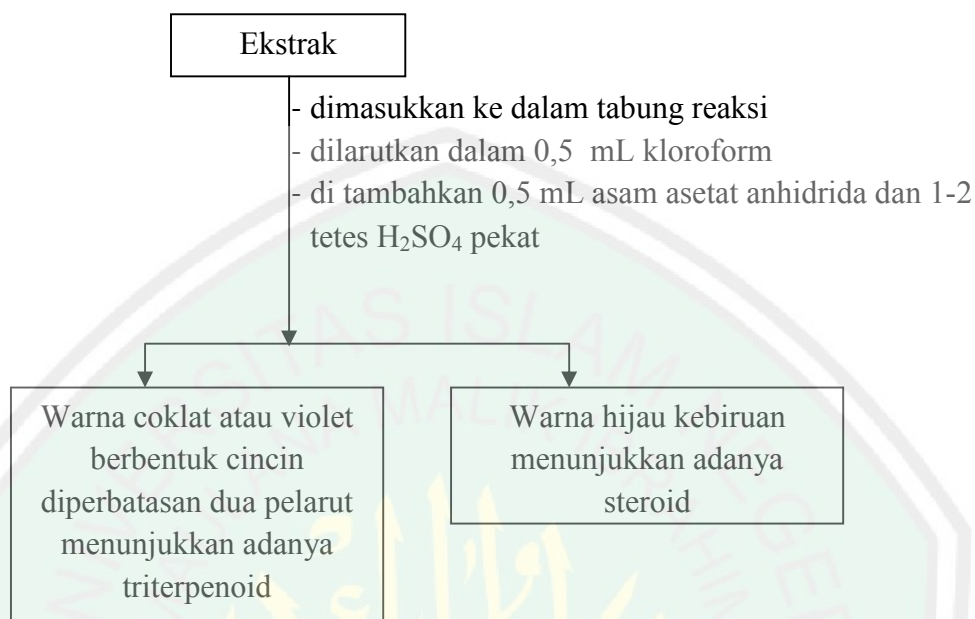
2.6.2 Identifikasi Flavonoid



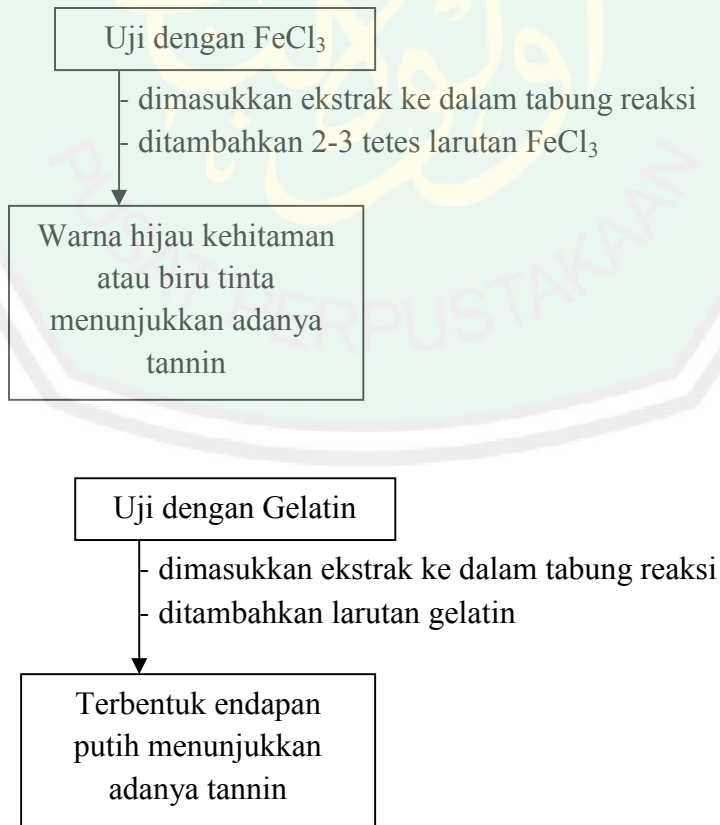
2.6.3 Identifikasi Saponin



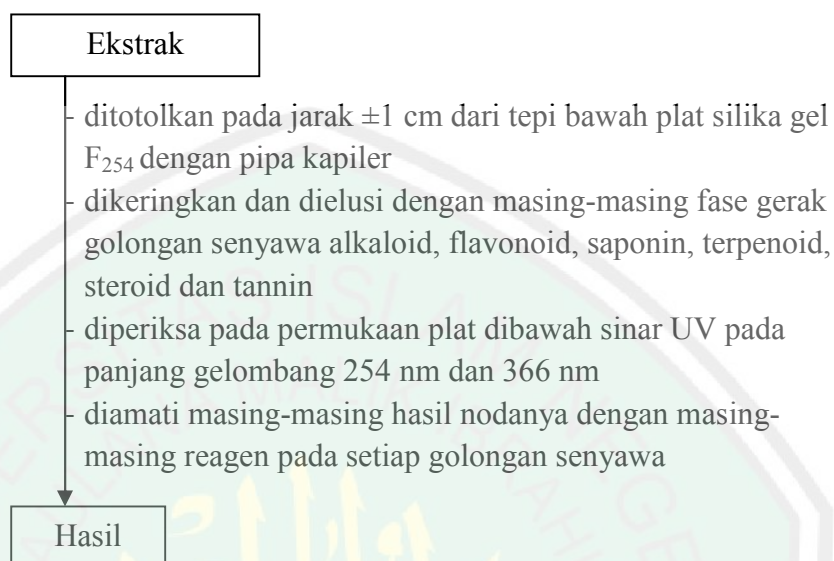
2.6.4 Identifikasi Triterpenoid dan Steroid



2.6.6 Identifikasi Tanin



L.2.7 Pemisahan Senyawa dengan KLT



Tabel L.2.8 Jenis-jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

Golongan Senyawa	Fasa Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Alkaloid	kloroform: etanol (9:1) (Ekasari <i>et al.</i> , 2005), Kloroform:metanol (9,5:0,5) (Sriwahyuni, 2010), diklorometana:metanol (1:1) (Lusiana, 2009), metanol:kloroform (0,5:9,5) (Lutfillah, 2008), kloroform:n-heksana (2:1) (Susilaningsih, 2007), metanol:kloroform (2:8) (Aripin, 2007)	Reagen Dragendorf	Coklat jingga
Flavonoid	etil asetat:metanol (9:1) (Morina, 2007), butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Halimah, 2010), n-heksana:kloroform:etil asetat (9:1:0,5) (Asih, 2009). Kloroform:Metanol (9:1) (Akbar, 2010), kloroform:metanol (3:2) (Sukadana, 2010).	Uap amoniak	biru kehijauan

Tanin	Butanol:asam asetat:air (14:1:5), (Harborne, 1987), butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1) (Yulia, 2006), asam asetat glasial:H ₂ O:HCl (30:10:3) (Nuraini, 2002). n-butanol:asam asetat:air (BAA) (4:1:5) (Sa'adah <i>et al.</i> , 2010) n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Sidik, 2012)	Penyemprot FeCl ₃ 1 %	Lembayung
Saponin	Kloroform:metanol:air (13:7:2) (Harborne, 1987). Kloroform:metanol:air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005) Kloroform:metanol:air (3:1:0,1) (Bogorani <i>et al.</i> , 2007), kloroform:metanol:air (14:6:1), kloroform:aseton (4:1) (Suryanti, 2005)	H ₂ SO ₄ 0,1 M	Ungu-ungu gelap
Terpenoid	n-heksana:etil asetat (4,5:0,5) (Panambunan, 2013), n-heksana:etil asetat (7:3) (Hayati, 2012), n-heksana:etil asetat (8:2) dan (6:4) (Reveny, 2001), n-heksana:aseton (7:3) (Syamsudin, 2007)	Lieberman Burchard	Ungu dan merah keunguan

Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan larutan HCl 1 N

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

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

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

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

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

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

$$= \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}$$

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

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

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37 % sebanyak 8,3 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi ± 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.2 Pembuatan HCl 2 %

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 2 \% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades.

Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.3 Pembuatan Reagen Dragendorff

- Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O .
- Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 g KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, 2001).

L.3.4 Pembuatan Reagen Mayer

- Larutan I. HgCl_2 1,358 g dalam aquades 60 mL
- Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan HgCl_2 1,358 g yang dilarutkan dengan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan KI 5 g yang dilarutkan dengan aquades 10 mL. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

L.3.5 Pembuatan reagen Lieberman-Burchard

- Asam sulfat pekat = 5 mL
- Anhidrida asetat = 5 mL
- Etanol absolut = 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 5 mL dan anhidrida asetat 5 mL dicampur ke dalam etanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari

pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 2001).

L.3.6 Pembuatan metanol 50%

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

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

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.7 Pembuatan FeCl_3

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

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

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

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

$$\text{volume pelarut} = \frac{\text{g pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/ml}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan 99 mL aquades.

L.3.8 Pembuatan NH_3 10%

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

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

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan NH_3 50% sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.9 Pembuatan Larutan Gelatin

Cara pembuatannya adalah 2,5 g serbuk gelatin dicampur dengan 50 mL larutan garam NaCl jenuh, kemudian dipanaskan sampai gelatin larut seluruhnya. Setelah dingin, ditambah larutan garam NaCl jenuh dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen (Sudarmadji, 2007).

L.3.10 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Uji Toksisitas

a. Pembuatan larutan stok 10000 ppm ekstrak alga coklat *Sargassum vulgare*

$$\begin{aligned} \text{ppm} &= \text{mg/L} \\ \text{larutan stok 10000 ppm} &= \text{mg/L dalam 10 mL pelarutnya} \\ 10000 \text{ ppm} &= \frac{\text{mg}}{10 \cdot 10^{-3} \text{ L}} \\ \text{mg} &= 10000 \text{ mg/L} \cdot 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \\ \text{mg} &= 100 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, larutan stok 10000 ppm pada masing-masing ekstrak dibuat dengan memasukkan 100 mg sampel ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan pelarutnya sampai tanda batas.

b. Pembuatan larutan ekstrak 200 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times \text{ppm}_1 &= V_2 \times \text{ppm}_2 \\ V_1 \times 10000 \text{ ppm} &= 10 \cdot 10^{-3} \text{ L} \times 200 \text{ ppm} \\ V_1 &= 2 \text{ L} \cdot \text{ppm} / 10000 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,0002 \text{ L} = 0,2 \text{ mL} = 200 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 200 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,2 mL..

c. Pembuatan larutan ekstrak 150 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times \text{ppm}_1 &= V_2 \times \text{ppm}_2 \\
 V_1 \times 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 150 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 1,5 \text{ L.ppm} / 10000 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 0,00015 \text{ L} = 0,15 \text{ mL} = 150 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 150 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,15 mL.

d Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times \text{ppm}_1 &= V_2 \times \text{ppm}_2 \\
 V_1 \times 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 100 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 1 \text{ L.ppm} / 10000 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 0,0001 \text{ L} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 100 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,1 mL.

e. Pembuatan larutan ekstrak 50 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times \text{ppm}_1 &= V_2 \times \text{ppm}_2 \\
 V_1 \times 10000 \text{ ppm} &= 10. 10^{-3} \text{ L} \times 50 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 0,5 \text{ L.ppm} / 10000 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 0,00005 \text{ L} = 0,05 \text{ mL} = 50 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 50 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,05 mL.

f. Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 10000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ L.ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,000025 \text{ L} = 0,025 \text{ mL} = 25 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 25 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,025 mL.

g. Pembuatan larutan ekstrak 5 ppm

$$V_1 \times \text{ppm}_1 = V_2 \times \text{ppm}_2$$

$$V_1 \times 10000 \text{ ppm} = 10. 10^{-3} \text{ L} \times 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ L.ppm} / 10000 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,000005 \text{ L} = 0,005 \text{ mL} = 5 \mu\text{L}$$

Jadi, untuk membuat 10 mL larutan ekstrak 5 ppm diperlukan larutan stok 10000 ppm sebanyak 0,005 mL.

Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air

L.4.1 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Basah Alga Coklat *Sargassum vulgare*

Pengukuran	Berat kering (gr)				Rata-rata berat konstan (gr)
	Sebelum dioven	P ₁	P ₂	P ₃	
Cawan kosong	53,0979	53,0958	53,0953	53,0953	53,0954
Cawan + Sampel serbuk	58,0939	53,9115	53,9054	53,9054	53,9074

➤ Perhitungan Kadar Air Sampel Basah

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

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

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}}$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi}$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan + sampel setelah dikeringkan

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100 \% \\ &= \frac{58,0939 \text{ gram} - 53,9074 \text{ gram}}{58,0939 \text{ gram} - 53,0979 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 83,7970 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}} \\ &= \frac{100}{100 \% - 83,7970 \%} \\ &= 6,1716 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 83,7970 \% - 6,1716 \% \\
 &= 77,6254 \%
 \end{aligned}$$

L.4.2 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Alga Coklat *Sargassum vulgare*

Pengukuran	Berat kering (gr)				Rata-rata berat konstan (gr)
	Sebelum dioven	P ₁	P ₂	P ₃	
Cawan kosong	53,8172	53,8105	53,8090	53,8090	53,8095
Cawan + Sampel serbuk	58,8125	58,3109	58,2776	58,2776	58,2887

➤ Perhitungan Kadar Air Sampel Kering

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100 \% \\
 &= \frac{58,8125 \text{ gram} - 58,2887 \text{ gram}}{58,8125 \text{ gram} - 53,8095 \text{ gram}} \times 100 \% \\
 &= 10,4697 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100 \% - 10,4697 \%} \\
 &= 1,1169 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\
 &= 10,4697 \% - 1,1169 \% \\
 &= 9,3528 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Kadar Garam

➤ Sampel Kering

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
<i>Sargassum vulgare</i>	13‰	13 ‰	13 ‰	13

$$13 \text{ ‰} = 13 \text{ PPT}$$

$$13 \text{ PPT} = \text{g/L}$$

$$\text{g} = 13 \times 0,06$$

$$= 0,78$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar garam} &= \frac{\text{massa garam terlarut (gr)}}{\text{massa sampel awal (gr)}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,78 \text{ gr}}{5 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 15,6 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6 Perhitungan Rendemen

L.6.1 Ekstrak Pekat Metanol

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 94,7998 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 98,19 gram

Berat sampel = 3,4 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{3,4 \text{ gram}}{100,0061 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 3,39 \%\end{aligned}$$

L.6.2 Ekstrak Pekat Kloroform

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 89,9275 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 90,9595 gram

Berat sampel = 1,1597 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,1597 \text{ gram}}{100,0026 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 1,1596 \%\end{aligned}$$

L.6.3 Ekstrak Pekat *n*-Heksana

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 89,2105 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 89,6334 gram

Berat sampel = 0,4229 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,4229 \text{ gram}}{100,0056 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 0,4228 \%\end{aligned}$$

**Lampiran 7 Data Kematian Larva dan Perhitungan LC₅₀ Uji Toksisitas
Ekstrak *Sargassum vulgare***

L.7.1 Ekstrak Pekat Metanol

Konsentrasi	Jumlah Artemia salina yang mati				% Mortalitas Terkoreksi
	I	II	III	Modus	
0*	0	0	0	0	0
0**	1	1	1	1	10
5	3	3	3	3	30
25	2	2	2	2	20
50	4	4	3	4	40
100	4	5	5	5	50
150	5	5	3	5	50
200	6	6	5	6	60

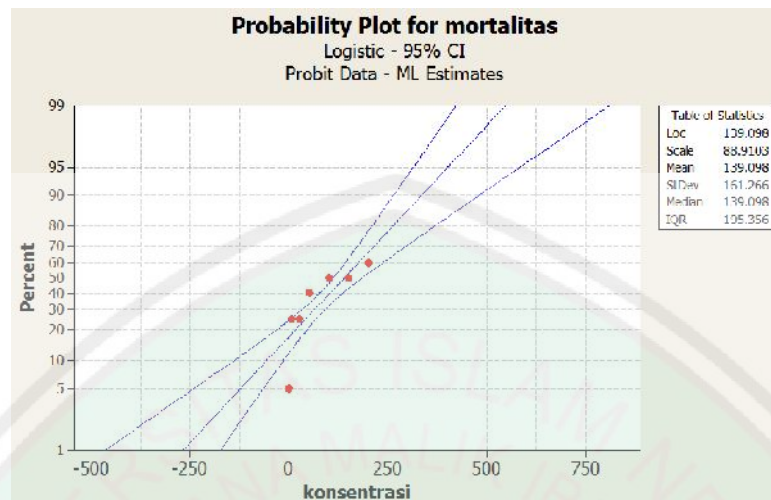
0* kontrol DMSO

0** kontrol pelarut

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Modus}}{\text{Jumlah larva yang diujikan}} \times 100\%$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah hewan uji}$$

Mortalitas	Jumlah hewan	Konsentrasi
0	30	0*
3	30	0**
9	30	5
6	30	25
12	30	50
15	30	100
15	30	150
18	30	200



Probit Analysis: mortalitas, jumlah hewan versus konsentrasi

Distribution: Logistic

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	78
	Non-event	162
jumlah hewan	Total	240

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.56447	0.221331	-7.07	0.000
konsentrasi	0.0112473	0.0020566	5.47	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -134.937

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	14.0428	5	0.015
Deviance	15.4368	5	0.009

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
Location	139.098	17.0878	Lower	Upper
Scale	88.9103	16.2575	62.1309	127.232

Table of Percentiles

Standard 95.0% Fiducial CI

Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
1	-269.456	65.2116	-467.184	-174.662
2	-206.925	54.0642	-370.290	-128.065
3	-169.963	47.5390	-313.143	-100.394
4	-143.464	42.9053	-272.261	-80.4678
5	-122.693	39.3091	-240.288	-64.7775
6	-105.542	36.3705	-213.949	-51.7596
7	-90.8857	33.8874	-191.497	-40.5787
8	-78.0522	31.7394	-171.890	-30.7353
9	-66.6083	29.8493	-154.459	-21.9067
10	-56.2583	28.1645	-138.743	-13.8716
20	15.8418	17.6384	-31.7928	44.6287
30	63.7642	13.5267	32.9062	89.8989
40	103.048	13.8734	77.1480	135.802
50	139.098	17.0878	110.914	184.761
60	175.148	21.8727	141.178	237.223
70	214.431	27.9376	172.355	296.191
80	262.354	35.8993	209.232	369.283
90	334.454	48.4022	263.658	480.308
91	344.804	50.2256	271.413	496.303
92	356.248	52.2474	279.977	513.999
93	369.081	54.5211	289.569	533.857
94	383.738	57.1250	300.509	556.551
95	400.889	60.1805	313.293	583.123
96	421.660	63.8914	328.756	615.324
97	448.159	68.6395	348.455	656.433
98	485.121	75.2831	375.892	713.815
99	547.651	86.5629	422.227	810.970

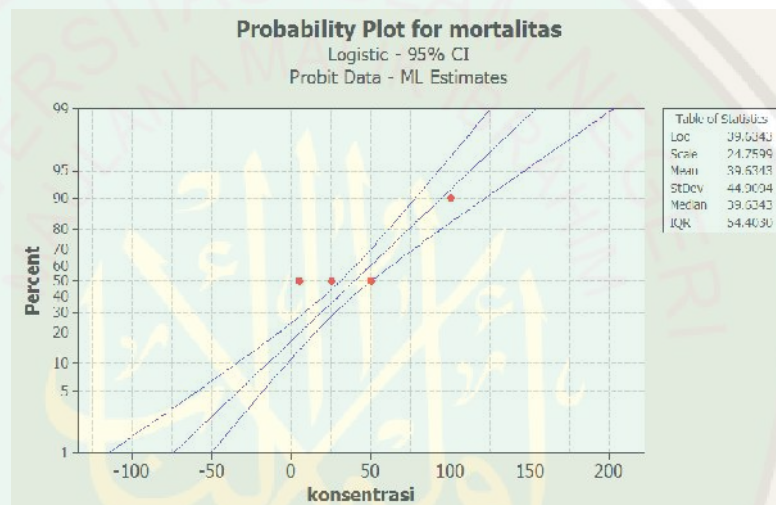
L.7.2 Ekstrak Pekat Kloroform

Konsentrasi	Jumlah Artemia salina yang mati				% Mortalitas Terkoreksi
	I	II	III	Modus	
0*	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0
5	5	5	4	5	50
25	5	6	5	5	50
50	5	5	6	5	50
100	10	9	9	9	90
150	10	10	10	10	100
200	10	10	10	10	100

0* kontrol DMSO

0** kontrol pelarut

Mortalitas	Jumlah hewan	Konsentrasi
0	30	0*
0	30	0**
15	30	5
15	30	25
15	30	50
27	30	100
30	30	150
30	30	200



Probit Analysis: mortalitas, jumlah hewan versus konsentrasi

Distribution: Logistic
Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	132
	Non-event	108
jumlah hewan	Total	240

Estimation Method: Maximum Likelihood
Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.60075	0.243607	-6.57	0.000
konsentrasi	0.0403879	0.0057226	7.06	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -92.379

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	33.9165	5	0.000

Deviance 40.4861 5 0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Location	39.6343	4.82202	30.1834	49.0853
Scale	24.7599	3.50826	18.7560	32.6856

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-74.1402	15.1753	-114.799	-50.5640
2	-56.7266	12.8419	-90.9543	-36.6711
3	-46.4334	11.4890	-76.9120	-28.4066
4	-39.0539	10.5363	-66.8792	-22.4468
5	-33.2696	9.80291	-59.0418	-17.7489
6	-28.4933	9.20825	-52.5922	-13.8477
7	-24.4118	8.70958	-47.0999	-10.4947
8	-20.8379	8.28145	-42.3079	-7.54155
9	-17.6510	7.90748	-38.0507	-4.89234
10	-14.7687	7.57654	-34.2152	-2.48150
20	5.30986	5.56445	-8.10277	14.9189
30	18.6553	4.72694	8.19282	27.5448
40	29.5951	4.54010	20.4591	38.9864
50	39.6343	4.82202	30.7156	50.4863
60	49.6736	5.47157	40.1709	62.7875
70	60.6133	6.46774	49.8602	76.8061
80	73.9588	7.92764	61.1713	94.4164
90	94.0373	10.3894	77.6485	121.452
91	96.9196	10.7583	79.9826	125.364
92	100.107	11.1694	82.5569	129.697
93	103.680	11.6340	85.4367	134.562
94	107.762	12.1687	88.7174	140.126
95	112.538	12.7992	92.5470	146.648
96	118.323	13.5687	97.1728	154.557
97	125.702	14.5584	103.059	164.664
98	135.995	15.9507	111.245	178.784
99	153.409	18.3297	125.048	202.719

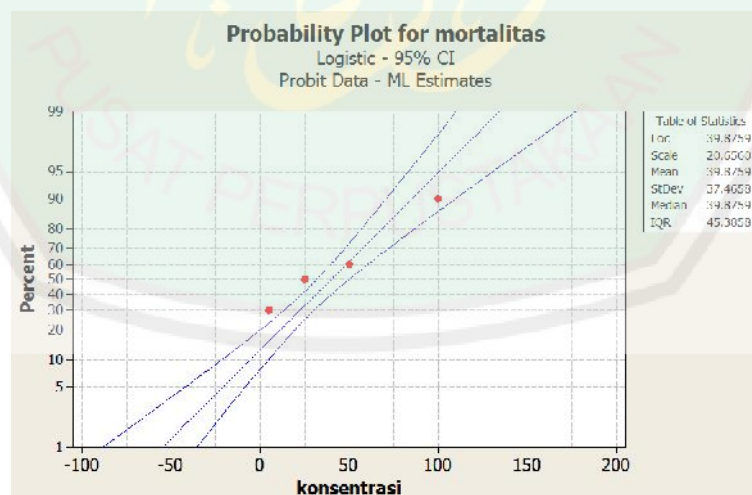
L.7.3 Ekstrak Pekat *n*-Heksana

Konsentrasi	Jumlah Artemia salina yang mati				% Mortalitas Terkoreksi
	I	II	III	Modus	
0*	0	0	0	0	0
0**	0	0	0	0	0
5	3	3	4	3	30
25	5	5	5	5	50
50	7	6	6	6	60
100	9	9	9	9	90
150	10	10	10	10	100
200	10	10	10	10	100

0* kontrol DMSO

0** kontrol pelarut

Mortalitas	Jumlah hewan	Konsentrasi
0	30	0*
0	30	0**
9	30	5
15	30	25
18	30	50
27	30	100
30	30	150
30	30	200



Probit Analysis: mortalitas, jumlah hewan versus konsentrasi

Distribution: Logistic

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	129

Non-event 111
jumlah hewan Total 240

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.93048	0.273038	-7.07	0.000
konsentrasi	0.0484122	0.0069172	7.00	0.000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -81.806

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	19.1354	5	0.002
Deviance	25.4866	5	0.000

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI Lower	95.0% Normal CI Upper
Location	39.8759	4.43401	31.1854	48.5664
Scale	20.6560	2.95137	15.6107	27.3317

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI Lower	95.0% Fiducial CI Upper
1	-55.0406	12.4591	-88.4431	-35.6691
2	-40.5133	10.5185	-68.5318	-24.0533
3	-31.9262	9.39857	-56.8163	-17.1330
4	-25.7698	8.61362	-48.4531	-12.1356
5	-20.9443	8.01212	-41.9256	-8.19082
6	-16.9597	7.52682	-36.5585	-4.91047
7	-13.5546	7.12198	-31.9921	-2.08723
8	-10.5731	6.77631	-28.0117	0.402833
9	-7.91440	6.47616	-24.4788	2.63979
10	-5.50984	6.21222	-21.2990	4.67840
20	11.2407	4.67038	0.231729	19.4996
30	22.3742	4.12282	13.5183	30.3748
40	31.5007	4.10192	23.4677	40.2317
50	39.8759	4.43401	31.8229	50.0525
60	48.2512	5.03580	39.5923	60.4591
70	57.3777	5.90170	47.6125	72.2452
80	68.5112	7.14064	57.0171	87.0024
90	85.2617	9.21059	70.7469	109.625
91	87.6663	9.52019	72.6927	112.897
92	90.3249	9.86512	74.8390	116.521
93	93.3065	10.2549	77.2399	120.590
94	96.7115	10.7034	79.9752	125.245
95	100.696	11.2322	83.1681	130.699
96	105.522	11.8777	87.0248	137.315
97	111.678	12.7080	91.9318	145.768
98	120.265	13.8761	98.7561	157.580
99	134.793	15.8726	110.261	177.602

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

❖ Preparasi Sampel



Sampel alga kering



Sampel alga halus
ukuran 60-100 mesh

❖ Penentuan Kadar Air



Sampel alga kering

❖ Penentuan Kadar Garam



Kadar garam sampel
kering

❖ Ekstraksi Maserasi



Maserasi Pelarut
Metanol



Maserasi Pelarut
Kloroform



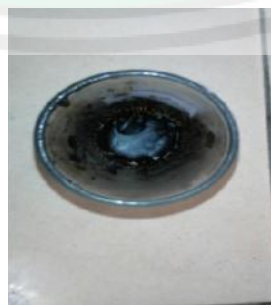
Maserasi Pelarut
n-Heksana



Penguapan Pelarut dengan
Rotary Evaporator Vacum



Ekstrak Pekat
Metanol



Ekstrak Pekat
Kloroform



Ekstrak Pekat
n-Heksana

❖ Uji Toksisitas



Penetasan Larva
Udang *Artemia salina*



Uji Toksisitas Ekstrak
Metanol



Uji Toksisitas Ekstrak
Kloroform



Uji Toksisitas Ekstrak
n-Heksana

❖ **Identifikasi Golonga Seyawa Aktif**

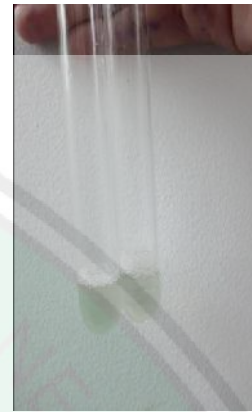
- **Uji Reagen Ekstrak Pekat Metanol**



Alkaloid
Dragendrof



Alkaloid
Meyer



Flavonoid



Triterpenoid
dan Steroid



Saponin



Tanin FeCl_3

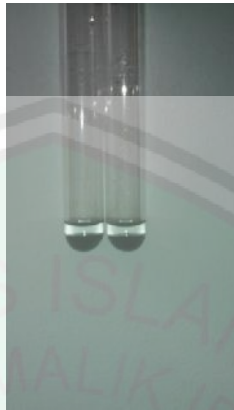


Tanin Gelatin

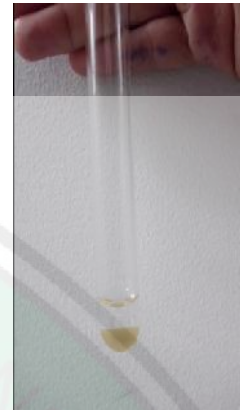
- **Uji Reagen Ekstrak Pekat Kloroform**



Alkaloid
Dragendrof



Alkaloid
Meyer



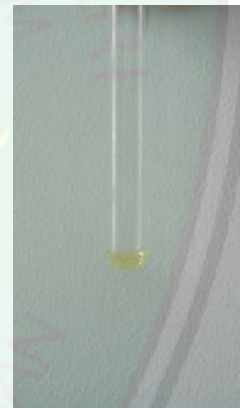
Flavonoid



Triterpenoid
dan Steroid



Saponin

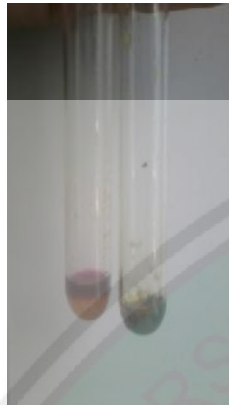


Tanin FeCl₃

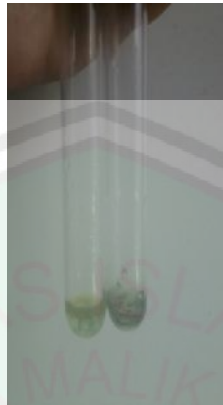


Tanin Gelatin

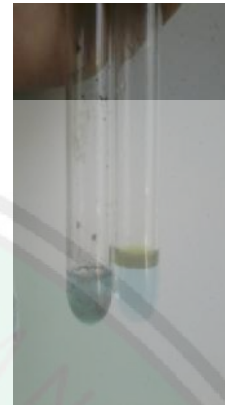
- Uji Reagen Ekstrak *n*-Heksana



Alkaloid
Dragendrof



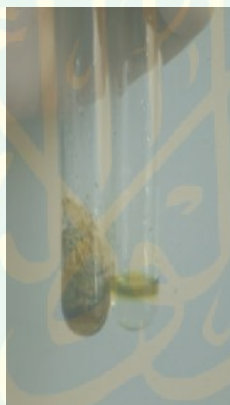
Alkaloid
Meyer



Flavonoid



Triterpenoid
dan Steroid



Saponin



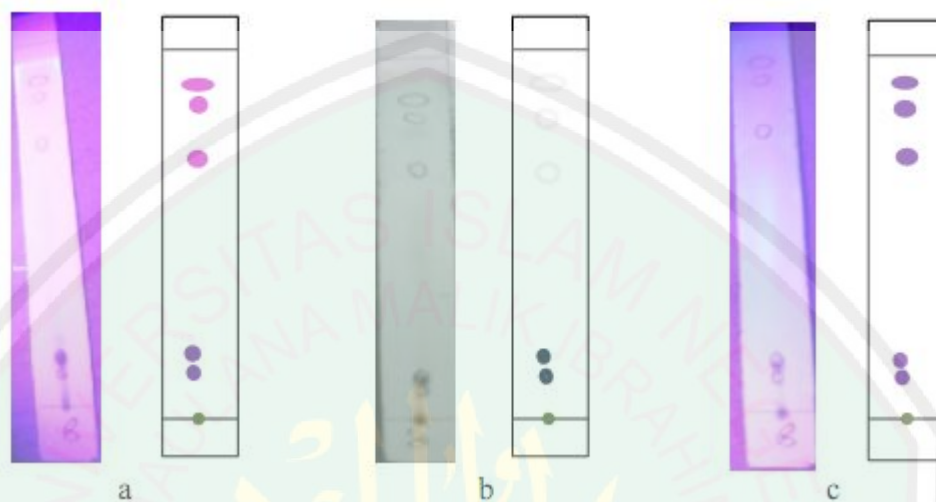
Tanin FeCl₃



Tanin Gelatin

- **Pemisahan Senyawa dengan KLTA**

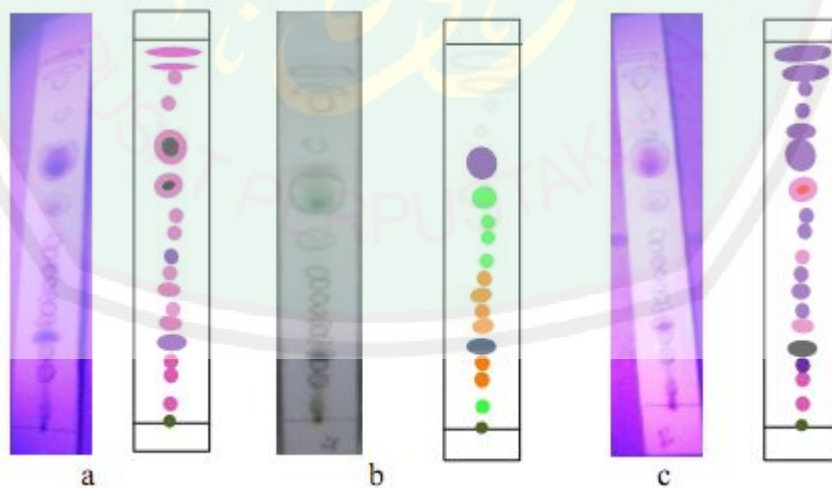
- Penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak metanol *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3)



Keterangan:

- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sebelum disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil elusi sebelum dideteksi dengan UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil pengamatan dengan UV 366 nm setelah disemprot reagen Liberman-Burchard

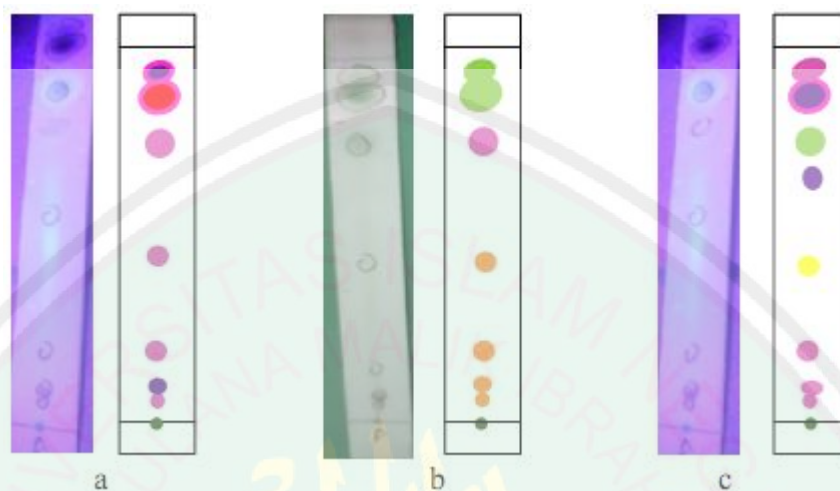
- Penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak kloroform *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Aseton (7:3).



Keterangan:

- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sebelum disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil elusi sebelum dideteksi dengan UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil pengamatan dengan UV 366 nm setelah disemprot reagen Liberman-Burchard

- Penampakan noda senyawa steroid dari KLTA ekstrak *n*-heksana *S. vulgare* pada eluen terbaik *n*-Heksana:Etil Asetat (7:3).



Keterangan:

- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sebelum disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil elusi sebelum dideteksi dengan UV setelah disemprot reagen Liberman-Burchard
- Hasil pengamatan dengan UV 366 nm setelah disemprot reagen Liberman-Burchard

Lampiran 9. Rangkuman Refrensi Untuk KLTA

	Rf	Warna	Dugaan Senyawa
Syamsudin (2007)	-	Biru	Steroid
	-	Biru	Steroid
	-	Biru	Steroid
	-	Biru	Steroid
	-	Coklat	Steroid
	-	Ungu	Steroid
Handayani (2008)	-	Hijau	Steroid
Hayati (2012)	0,06	Hijau kebiruan	Steroid
	0,11	Hijau kebiruan	Steroid
	0,38	Merah muda	Steroid
	0,47	Hijau	Steroid
	0,56	Merah muda	Steroid
	0,68	Ungu tengah biru kehijauan	Steroid
	0,77	Oranye	-
	0,8	Hijau kebiruan	Steroid
	0,83	Hijau kebiruan muda	Steroid