

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA
FRAKSI ETIL ASETAT, KLOROFORM, DAN n-HEKSANA
EKSTRAK METANOL ALGA COKLAT
*Sargassum cristaefolium***

SKRIPSI

oleh:

**NUR LAILAH
NIM. 10630030**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA
FRAKSI ETIL ASETAT, KLOROFORM, DAN n-HEKSANA
EKSTRAK METANOL ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium***

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:

**NUR LAILAH
NIM. 10630030**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Lailah

NIM : 10630030

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat,
Kloroform, Dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat
Sargassum cristaefolium

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 mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 13 Juli 2014

Yang Membuat Pernyataan

Nur Lailah
NIM. 10630030

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA
FRAKSI ETIL ASETAT, KLOROFORM, DAN n-HEKSANA
EKSTRAK METANOL ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium***

SKRIPSI

Oleh:

**NUR LAILAH
NIM.10630030**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 08 Juli 2014

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Ahmad Hanapi, M. Sc
NIPT. 20140201 1 422

Ahmad Abtokhi, M. Pd
NIP. 19761003 200312 1 004

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 AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FITOKIMIA
FRAKSI ETIL ASETAT, KLOOROFORM, DAN n-HEKSANA
EKSTRAK METANOL ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium***

SKRIPSI

Oleh:

**NUR LAILAH
NIM. 09630004**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu
Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 08 Juli 2014**

Susunan Dewan Penguji :

Tanda Tangan

- | | | |
|-----------------------|---|---------|
| 1. Penguji Utama | : Rachmawati Ningsih, M.Si.
NIP. 19810811 200801 2 010 | (.....) |
| 2. Ketua Penguji | : Nur Aini, M.Si.
NIPT. 20130910 2 316 | (.....) |
| 3. Sekretaris Penguji | : Ahmad Hanapi, MSc.
NIPT. 20140201 1 422 | (.....) |
| 4. Anggota Penguji | : Ahmad Abtokhi, M.Pd.
NIP. 19761003 200312 1 004 | (.....) |

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

L F M B A R P F R S F M B A H A N

Yang Utama Dari Segalanya...

Sembah sujud serta syukur kepada Allah ﷻ atas limpahan Rahmat dan kasih sayang-Mu yang memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi yang sederhana ini dapat terselesaikan. Sholawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad ﷺ.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasihi dan kusayangi. mamak dan bapak Tercinta

(lilik nur hayati dan moh rozikan)

Sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada mamak dan bapak yang telah membesarkanku, mendidikku, dan mengajarkanku pentingnya arti kehidupan. Kalian adalah sebaik-baik panutan meski tak sempurna. Jerimakasih atas segala cinta kasih, dorongan, motivasi serta do'a yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas. Hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata cinta dan persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat mamak dan bapak bahagia karena kusadar, selama ini belum bisa berbuat yang lebih. Untuk mamak dan bapak yang selalu membuatku termotivasi, selalu menyiramiku kasih sayang, selalu mendoakanku, selalu menasehatiku untuk menjadi lebih baik dan sholehah.

My Brother's

(si jaim heru dan si imoet dani)

Untuk adik-adikku yang tersayang, tiada yang paling menyenangkan dan mengharukan saat kumpul bersama kalian, walaupun sering bertengkar tapi hal itu selalu menjadi warna yang tak akan bisa tergantikan, terima kasih atas doa dan bantuan kalian selama ini, hanya karya kecil ini yang dapat mbak persembahkan. Maaf belum bisa menjadi panutan seutuhnya, tapi mbak akan selalu menjadi yang terbaik untuk kalian semua...dan semoga kalian akan lebih baik dariq

My Sweet Heart

(Khoirul ngibad, S.Si)

laila persembahkan karya kecil ini buat mas. Terima kasih atas kasih sayang, perhatian, dukungan, doa, dan kesabaranmu yang telah memberikanku semangat dan inspirasi serta motivasi dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini, semoga engkau pilihan yang terbaik buatku dan masa depanku.

My Family's

buat seluruh keluarga besar nyai simpen dan yai' yamadi serta keluarga besar mbah H kastur dan Hj kartonah terima kasih atas segala do'a dan kasih sayang buat cucumu ini, spesial buat tanteku mbak r, jannah terimakasih telah menyayangiku dan memperhatikanku, mas dan mbak sepupuku, keluarga de mukaromah dan de azifah terima kasih telah menjadikan aku seperti anakmu sendiri love you so much

My Best friend's

Buat sahabatku "trio makroalga" mifta and khoir terima kasih atas bantuan, doa, nasehat, hiburan, dan semangat yang kalian berikan selama aku kuliah, aku tak akan melupakan semua yang telah kalian berikan selama ini. Buat anak-anak chemist "A" khususnya jenk kholida, fery, asih n mbak fida" terima kasih atas bantuan kalian, semangat kalian dan candaan kalian, yang mampu mewarnai 4 th kuliahq. Buat kawan-kawanku angkatan chem '10 yang turut membantu selama ini, "aan, tomen, putri, mbak desi, alvin, andry, aris dan semua teman-teman yang lain" terima kasih atas bantuan kalian, semoga keakraban di antara chemist'10 selalu terjaga. Jemen A, B, A, K, A, M, A, R 26, temen kost lilik yang super bawelll yang menemaniku disaat2 terakhir, fidho, ana dan temen-temen main leli, linda serta kakak dan adek tingkat kimia semuanya.

Dosen Pembimbing Serta Dosen Waliku

Pak tri, pak hanapi serta pak naim, terima kasih banyak sudah membantu saya selama ini, sudah dinasehati, sudah diajari, saya tidak akan pernah melupakan bantuan dan kesabaran dari bapak.

My notebook

Terimakasih sahabatku yang paling baik trims ya si merah acer cayank and si manja dall, engkau adalah teman terindah yang menemaniku 24 jam selama 3 tahun ini tanpa dikau aku takkan mampu membuat karya indah ini, serta buat mbah google thanx atas wawasan ilmunya.

"your dreams today, can be your future tomorrow"

NUR LAILAH, S.Si

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٥﴾

*“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”
(QS. Al insyiroh:5)*

“Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi sesama”

“Life is like a song, so Don't give up if you can do it”

(Nur Lailah)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya atas terselesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*)”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

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. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, UIN Maliki Malang yang telah memberikan arahan dan nasehat kepada penulis.
4. Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing I, terima kasih yang telah sabar dan ikhlas menuntun dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir.
5. Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku pembimbing II, terima kasih atas saran dan masukannya.

6. A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penelitian demi terselesainya penelitian ini.
7. Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Penguji Utama serta Nur Aini, M.Si selaku Ketua Penguji terimakasih atas saran dan masukannya untuk perbaikan naskah ini.
8. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
9. Seluruh staf Laboratorium serta staf Administrasi Jurusan Kimia atas seluruh bantuan dan sumbangan pemikiran selama penyelesaian skripsi ini.
10. 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 material maupun spiritual.
11. Khoirul ngibad, S.Si terimakasih atas segala motivasi dan nasehat yang mampu menjadikan penulis menjadi tegar dan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Teman-teman angkatan 2010 yang telah berbagi kebersamaannya selama ini dalam senang maupun susah sehingga tetap terjaga persaudaraan kita.
13. Kakak-kakak dan adik-adik keluarga besar kimia tetap semangat dan terus semangat, tidak ada kesulitan yang tak dapat diatasi. Semoga ilmu kita dapat bermanfaat untuk masyarakat.
14. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi Hazana
Pengetahuan terutama dalam bidang kimia.

Malang, 07 Juli 2014

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR PERSAMAAN.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga (Rumput Laut)	8
2.2 Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	10
2.3 Ekstraksi Maserasi	12
2.4 Hidrolisis Glikosida	13
2.5 Partisi (Ekstraksi Cair-Cair).....	15
2.6 Antioksidan	16
2.7 Radikal Bebas.....	18
2.8 Mekanisme Antioksidatif.....	19
2.9 Uji Aktivitas Antioksidan	21
2.10 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif.....	25
2.10.1 Golongan Senyawa Steroid	26
2.10.2 Golongan Senyawa Triterpenoid.....	29
2.10.3 Golongan Senyawa Flavonoid	30
2.10.4 Golongan Senyawa Alkaloid.....	33
2.10.5 Asam Askorbat.....	35
2.11 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLTA).....	35

BAB III METODOLOGI	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	37
3.2 Alat dan Bahan	37
3.2.1 Alat-alat	37
3.2.2 Bahan-bahan	37
3.3 Rancangan Penelitian	38
3.4 Tahapan Penelitian	39
3.5 Pelaksanaan Penelitian	39
3.5.1 Uji Taksonomi	39
3.5.2 Preparasi Sampel	40
3.5.3 Penentuan Kadar Air	40
3.5.4 Ekstraksi Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	41
3.5.5 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol	41
3.5.6 Uji Antioksidan dengan DPPH	42
3.5.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	42
3.5.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan	42
3.5.6.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	43
3.5.7 Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Secara Kualitatif	44
3.5.7.1 Identifikasi Golongan Senyawa Steroid/Terpenoid	44
3.5.7.2 Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid	44
3.5.7.3 Identifikasi Golongan Senyawa Alkaloid	45
3.5.7.3 Identifikasi Asam Askorbat	45
3.5.8 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLTA)	45
3.6 Analisa Data	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Uji Taksonomi Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	48
4.2 Preparasi Sampel	49
4.3 Penentuan Kadar Air	50
4.4 Ekstraksi alga coklat (<i>Sargassum cristaefolium</i>)	51
4.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	56
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	56
4.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan	57
4.5.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel	59
4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Ekstrak Kloroform dengan Penambahan Reagen	62
4.6.1 Golongan Senyawa Steroid	63
4.7 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan KLTA	65
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	74
5.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	86

DAFTAR TABEL

2.1 Komposisi nilai nutrisi alga merah <i>E. spinosum</i>	11
2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut.....	13
2.3 Ketentuan kekuatan antioksidan	25
4.1 Kadar air dalam alga coklat (<i>S.cristaeofolium</i>).....	50
4.2 Hasil maserasi serbuk alga coklat <i>Sargassum cristaeofolium</i>	53
4.3 Hasil partisi ekstrak metanol dengan variasi pelarut.....	55
4.4 Waktu kestabilan masing-masing sampel	57
4.5 Nilai EC ₅₀ masing-masing sampel.....	62
4.6 Hasil identifikasi golongan senyawa aktif fraksi kloroform alga coklat (<i>S. cristaeofolium</i>)	63
4.7 Data penampakan noda senyawa steroid dari hasil KLTA fraksi kloroform alga coklat <i>Sargassum cristaeofolium</i> dengan variasi eluen	66
4.8 Hasil KLTA senyawa steroid fraksi kloroform alga coklat <i>S. cristaeofolium</i> dengan eluen heksana-aseton (7:3).....	67

DAFTAR GAMBAR

2.1	Gambar alga coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	10
2.2	Dugaan reaksi hidrolisis ikatan <i>O</i> -glikosida.....	15
2.3	Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat	15
2.4	<i>Butylated hydroxytoluene</i> (BHT).....	17
2.5	Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas.....	20
2.6	Reaksi penetralan DPPH [•] menjadi DPPD-H.....	21
2.7	Resonansi DPPH.....	22
2.8	Reaksi antara DPPH dengan atom H yang berasal dari antioksidan	22
2.9	Reaksi asam askorbat dengan DPPH.....	23
2.10	Struktur dasar golongan senyawa steroid	27
2.11	Struktur Sitosterol.....	27
2.12	Dugaan reaksi senyawa steroid dengan radikal DPPH.....	27
2.13	Skualena (Struktur dasar golongan senyawa triterpenoid) (Robinson, 1995) dan (b) senyawa Lanosterol (senyawa triterpenoid tetrasiklik).....	29
2.14	Struktur dasar golongan senyawa flavonoid.....	30
2.15	Struktur Kuersetin.....	31
2.16	Reaksi senyawa flavonoid dengan radikal DPPH	32
2.17	Struktur Inti Alkaloid.....	33
2.18	Struktur Solanidina	33
2.19	Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan DPPH.....	34
2.20	Struktur Asam Askorbat (Vitamin C).....	35
4.1	Dugaan mekanisme reaksi hidrolisis glikosida	54
4.2	Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat.....	55
4.3	Spektra UV-VIS larutan DPPH 0,2 mM.....	56
4.4	Persen (%) aktivitas antioksidan pada sampel alga coklat (<i>S.cristaefolium</i>).....	60
4.5	Dugaan reaksi senyawa Fukosterol dengan radikal DPPH.....	64
4.6	Hasil KLTA senyawa steroid fraksi kloroform alga coklat <i>S. cristaefolium</i> dengan eluen heksana-aseton (7:3).....	67

DAFTAR PERSAMAAN

2.1 Rumus persen aktivitas antioksidan	24
3.1 Rumus perhitungan kadar air	41
3.2 Perhitungan rendemen.....	42
3.3 Rumus perhitungan aktivitas antioksidan	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram alir Penelitian.....	86
Lampiran 2 Pembuatan Reagen dan Larutan	95
Lampiran 3 Data Penelitian.....	99
Lampiran 4 Perhitungan Nilai Rf (<i>Retardation Factor</i>)	115
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	117
Lampiran 6 Hasil Uji Taksonomi.....	129



ABSTRAK

Lailah, N. 2014. **Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan n-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum cristaefolium***. Pembimbing I: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd.; Konsultan: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Kata kunci : Aktivitas antioksidan, Fitokimia, Fraksi Etil Asetat, Kloroform, n-Heksana, Ekstrak Metanol, Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*).

Sumber daya alam laut yang sangat beranekaragam merupakan salah satu kekayaan alam yang memiliki peluang besar untuk dimanfaatkan. Sebagaimana yang telah disebutkan dalam QS. ar Rahman; 06, QS. al An'am; 99, QS. Ali'Imran; 190 – 191, QS.as Syuara; 07. Segala ciptaan Allah SWT diperuntukkan kepada manusia sebagai makanan, obat dan lain-lain, salah satunya adalah alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi serta mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak pekat metanol kemudian dibagi menjadi 4 bagian masing-masing sebanyak 3 g. Kemudian ekstrak pekat metanol dihidrolisis dengan HCl 2 N dan dinetralkan dengan NaHCO₃, hidrolisat diekstraksi cair-cair menggunakan variasi pelarut yaitu etil asetat, kloroform, dan n-heksana. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan variasi konsentrasi. Identifikasi golongan senyawa dilakukan pada ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan penambahan reagen dan diamati secara kualitatif kemudian dipisahkan golongan senyawa menggunakan KLTA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa alga coklat *Sargassum cristaefolium* fraksi kloroform merupakan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan *Effective concentration* (EC₅₀) 9,245 ppm, diikuti oleh ekstrak metanol EC₅₀ 16,37 ppm, etil asetat EC₅₀ 53,08 ppm dan n-heksana EC₅₀ 84,87 ppm. Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa fraksi kloroform mengandung golongan senyawa steroid. Hasil pemisahan menggunakan KLTA menunjukkan bahwa eluen terbaik dalam pemisahan senyawa steroid adalah n-heksana:aseton (7:3) yang menghasilkan 12 spot dengan nilai Rf 0,01–0,98 dan 7 spot positif sebagai senyawa steroid ditandai dengan warna spot biru, ungu, dan coklat.

ABSTRACT

Lailah, N. 2014. Antioxidant Activities and Phytochemicals of Ethyl Acetate, Chloroform, n-Hexane fractions of Brown Algae *Sargassum cristaefolium* Methanol Extracts. Supervisor I: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd.; Consultant: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Keywords: Antioxidant Activity, Phytochemicals, Ethyl Acetate Fraction, Chloroform, n-Hexane, Methanol Extracts, Brown Algae *Sargassum cristaefolium*

Diverse of marine natural resources is one the opportunities to be exploited. As mentioned in the QS. ar Rohman; 06, QS. al An'am; 99, QS. Ali 'Imran; 190-191, QS. as Syuara; 07. All of his creations are destined to humans as medicine. One of his creations is a brown alga *Sargassum cristaefolium*. The purpose of this study was to determine the *Sargassum cristaefolium* brown algae extract which has the highest antioxidant activity and identify the classes of compounds contained in the extract that has the highest antioxidant activity.

Extraction of active compounds is done by maceration method using methanol solvent. The concentrated methanol extract was divided into 4 sections, each as much as 3 g. Concentrated methanol extract is hydrolyzed with 2 N HCl and neutralized with NaHCO₃. The hydrolyzate is extracted using liquid-liquid solvent variation: ethyl acetate, chloroform, and n-hexane. Antioxidant activity test used *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) method with various concentrations. The identification of compound groups are done with the addition of reagents. Compound groups are observed qualitatively then separated using analytical thin-layer chromatography.

The results showed that the chloroform fraction of brown alga *Sargassum cristaefolium* has the highest antioxidant activity with *Effective Concentration* (EC₅₀): 9,245 ppm, followed by methanol extract: 16,37 ppm, ethyl acetate: 53,08 ppm and n-hexane: 84,87 ppm,. The results showed that the identification of phytochemical chloroform fractions contains group of steroid compounds. The results indicated that the best eluent of the separation using analytical thin-layer chromatography in the separation of steroid compounds are n-hexane: acetone (7:3) whose result is 12 spots with R_f values 0,01 to 0,98 and 7 positive spots as steroid compounds and marked in blue, purple, and brown.

ملاخض البحث

ليلة نور. 2014. اختبار النشاطا لمضادة للأكسدة والكيميائي النباتي جزيناتها خلات الإيثيل، وكلوروفورم، و ن-هكسان و استخراج الميثانو لأطحاببراون لسراغسوم خرتثيفوليوم. المشرفالأول: احمدحنافي، ماجستير. المشرفالثاني: احمدباطاخي، ماجستير. مستشار: أ. غنامفشي، ماجستير.

الكلمات الرئيسية : النشاطالمضادة للأكسدة، الكيميائي النباتي، جزيناتها خلات الإيثيل، وكلوروفورم، ون-هكسان، استخراج الميثانول، الطحاببراون (السراغسوم خرتثيفوليوم)

الموارد المعدنية البحرية المتنوعة من احدالموارد الطبيعية التي لديها فرصكبيرة لمنفعتهم. كما ذكر فيالقرآن الكريمسورة الرحمن: (06)، الأنعام: (99)، العمران: (199-190). كل خلق الله مقدر للإنسانكطعاموالدواء وغيرها، احدها وكان الغرض منهذه الدراسة لتحديداستخراجالطحاببراون (السراغسوم خرتثيفوليوم) التي لديها أعلنشاط مضاد للأكسدة وتحديدفات منالمركباتالواردة فياستخراجالتيلديها أعلنشاط مضادات الأكسدة.

أغراضالبحث هي استخراجالمركبات النشطة باستخدام طريقة النقعبا استخدام الميثانولا لمذبيات. تقسيم انيتركزاستخراجالميثانولإلى أربعة أقسامالتو اليثلاثة غرام. استخراجتتركزالميثانولوتحلل معحمض الهيدروكلوريك 2 نرماليتاس. متعادلة مع ناتريوم هيدرو كربونات، تم استخراجحلامة باستخدامالمذبياتالاختلافا لسانلا سائل هوخلات الإيثيل، كلوروفورم، والهكسان. وأجريا اختبارمضادات الأكسدةالنشاط بطريقة دفعهاباستخدام الاختلافالتركيز. تحديدفئة من المركباتالتي أجريت علمقنطفاتالتيلو حطاً أعلنشاط مضاد للأكسدةمع إضافةالكواشفونوعيا ثمفصلها باستخدامفئة من المركبات بطريقة اللوني طبقة رقيق التحليلية.

في النتائج أنالطحاببراون (السراغسوم خرتثيفوليوم) كلوروفورما لكسرهو جزء الذي يحتوي على أعلى نشاطمضاد للأكسدة بالتركيز الفعال خمسون: (9,245) جزء في المليون و يليهمستخلصا لميثانول: (16,37) جزء في المليون وخلات الإيثيل: (53,08) جزء في المليون ون-الهكسان: (84,87) جزء في المليون. أن النتائجأن تحديد الكسورالنباتية التي تحتوي علمجموعة من المركباتا لكلوروفورما لسثيرويد. النتائج إلى أن الفصلباستخدام اللوني طبقة رقيق التحليلية أفضلشا طففيفصلمركباتالستيريويدهيال هكسان (7:3) مما أدى إلى اثنا عشر بقعة بقيمة بالترددات اللاسلكية (0,01-0,98) وسبعة بؤرايجابية مركباتالستير ويدملحوظ معالألوان الموضعية الأزرق والأرجواني، والبنّي.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara bahari dengan keanekaragaman hayati laut terbesar di dunia yang memiliki total luas perairan Nusantara seluas 2,8 juta Km² dan laut teritorial seluas 0,3 juta Km². Indonesia mempunyai luas daratan sekitar 1,9 juta Km², panjang garis pantai lebih dari 81.000 Km dan jumlah pulau lebih dari 18.000 pulau. Laut beserta kawasan pesisir Indonesia mempunyai manfaat dan potensi ekonomi (pembangunan) yang sangat besar dan beraneka ragam (Kusumastanto, 2011), seperti tumbuhan, hewan maupun barang-barang tambang yang terdapat di dalamnya.

Segala macam potensi alam baik yang terdapat di laut maupun di darat merupakan salah satu respon untuk berbagai kebutuhan makhluk hidup yang tidak ternilai harganya. Salah satunya adalah tumbuh-tumbuhan dan pohon-pohonan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, sebagaimana firman Allah dalam surat ar Rahman juz 27 ayat 06:

وَالنَّجْمِ وَالشَّجَرِ يَسْجُدَانِ ﴿٦﴾

“Dan tumbuh-tumbuhan dan pohon-pohonan kedua-duanya tunduk kepada-Nya.”(QS. 55:06)

Dari ayat di atas tersirat makna bahwa segala apa yang diciptakan Allah SWT di bumi ini termasuk tumbuh-tumbuhan dan pohon-pohonan akan selalu sujud, taat dan tunduk kepada-Nya. Hal ini memberikan kesadaran kepada

manusia untuk tunduk dan patuh kepadaNya. Salah satunya dengan cara bersyukur dan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan dan pepohonan tersebut untuk kemaslahatan umat manusia, misalnya dimanfaatkan sebagai obat.

Salah satu karunia Allah SWT dan merupakan tumbuhan (sumber daya hayati) kelautan yang melimpah di Indonesia adalah alga. Kelimpahan alga dapat diketahui dengan jumlah jenis alga yang sudah ditemukan (Moosa, 1999). Alga makro atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut merupakan salah satu potensi biota laut perairan Indonesia. Saat ini sudah ditemukan 555 jenis alga yang berdasarkan kandungan pigmennya dikelompokkan menjadi 4 kelas, yakni : Rhodophyceae, Phaeophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae (Anggadiredja, *et al.*, 2006).

Alga, baik yang liar maupun yang telah dibudidayakan secara tradisional digunakan sebagai obat diet (Wibowo, 2001), bahan makanan dan obat-obatan, karena kaya akan protein, lipid, vitamin dan mineral yang sangat penting bagi manusia. Temuan terakhir membuktikan bahwa rumput laut (alga) berpotensi sebagai antivirus (Manilal, *et al.*, 2009), antibakteri (Izzati, 2007), antijamur (Khazanda, *et al.*, 2007), antitumor (Zandi, *et al.*, 2010) dan antioksidan (Lestario, *et al.*, 2008).

Phaeophyta disebut juga alga coklat, warna ini disebabkan xantofil yang dihasilkan melebihi karoten dan klorofil. Alga ini mempunyai pigmen fotosintetik yang terdiri atas klorofil a dan c, karoten, fukoxantin dan xantofil. Komponen utama dari alga coklat adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potasium) dan air 80-90 % (Chapman, 1970).

Salah satu jenis alga coklat adalah *Sargassum sp* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu : *Sargassum duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. cristaefolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Rachmat, 1999). Salah satu jenis *Sargassum sp* adalah *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu jenis alga coklat yang banyak dibudidayakan di Indonesia, dimana genus ini mempunyai mempunyai *thalli* bulat pada batang utama dan agak gepeng pada percabangan, permukaan halus atau licin. Percabangan *dichotomous* dengan daun bulat lonjong, pinggir bergerigi, tebal dan duplikasi (*double edged*). *Vesicle* melekat pada batang daun, bulat telur atau elip, bentuk *bladder* bulat lonjong (Ajisaka, 2006).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kandungan senyawa antioksidan pada rumput laut terutama berupa senyawa antioksidatif polifenol yang dapat menghambat oksidasi radikal bebas. Mawaddah (2012) melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan antimikroba ekstrak *Sargassum polycystum*. Penelitian ini menggunakan ekstraksi maserasi tunggal dengan pelarut yang berbeda yaitu metanol (polar), etil asetat (semipolar) dan n-heksana (nonpolar). Hasil rendemen ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut adalah 17,93, 1, dan 0,57 %. Senyawa fitokimia yang terkandung pada *S. polycystum* adalah steroid, flavonoid, dan fenol hidroquinon. Kandungan total fenol tertinggi diperoleh dari ekstrak kasar metanol yaitu sebesar 35,37 mg GAE/100 g sampel sedangkan ekstrak kasar etil asetat dan n-heksana berturut-turut adalah 18,00 mg GAE/100 g sampel dan 3,08 mg GAE/100 g sampel. Komponen fitokimia dan

total fenol memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antioksidan. Berdasarkan hasil pengujian antioksidan dengan metode DPPH, aktivitas antioksidan yang masuk dalam kategori sedang terdapat pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} sebesar 109,4 ppm dan ekstrak etil asetat nilai IC_{50} sebesar 129,4 ppm diikuti oleh n-heksana dalam kategori lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 1174,98 ppm.

Lailiyah (2013) melakukan uji kapasitas antioksidan dan kandungan total senyawa fenolik total ekstrak kasar alga coklat jenis *Sargassum cristaefolium* dari pantai Sumenep Madura. Ekstraksi alga coklat dilakukan dengan metode maserasi menggunakan dua variasi pelarut yakni metanol dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol memiliki kandungan fenolik total sebesar 74,63 mg GAE/g sampel lebih tinggi daripada ekstrak kasar n-heksana 35,85 mg GAE/g. Sedangkan kapasitas antioksidan ekstrak kasar metanol sebesar 80,785 % lebih besar dibandingkan dengan ekstrak n-heksana 74,98 %. Kedua ekstrak tersebut memiliki kapasitas antioksidan yang tergolong sedang jika dibandingkan dengan antioksidan kuat, asam askorbat 99,26 % dan BHT 99,09 %. Identifikasi golongan senyawa dengan menggunakan uji reagen ekstrak kasar metanol pada alga coklat menunjukkan keberadaan senyawa golongan steroid.

Yan, *et al.* (1998) menyebutkan bahwa antioksidan memiliki peranan penting dalam mencegah oksidasi radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti karsinogenik dan penuaan. Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbital terluar. Banyak dari radikal bebas adalah dalam bentuk oksigen dan nitrogen reaktif (Wong, 2000). Saat ini antioksidan yang umum digunakan merupakan

antioksidan sintetis diantaranya butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluena (BHT), *propylgallate* (PG) dan tetrabutylhidroksitoluena (TBHQ) (Sherwin, 1990). Akan tetapi, senyawa tersebut dicurigai dapat menyebabkan kerusakan hati dan karsinogenik pada hewan uji (Wichi, 1988; Grice, 1986). Oleh karena itu, pengembangan serta pemanfaatan antioksidan yang lebih efektif dan berasal dari alam sangat penting untuk dilakukan (Oktay, *et al.*, 2003).

Perbandingan penelitian hasil pengujian aktivitas antioksidan dari alga merah *Eucheuma Spinosum* antara metode ekstraksi disertai dengan hidrolisis dan tanpa disertai dengan hidrolisis dapat dilihat dalam penelitian Kutsiyah (2013) dan Mardiyah (2012). Kutsiyah (2013) mengekstrak *E. spinosum* dengan n-heksana dengan tanpa hidrolisis. Nilai EC_{50} yang diperoleh sebesar 131,7 ppm. Mardiyah (2012) juga mengekstrak *E. spinosum* dengan metanol yang disertai hidrolisis dan partisi menggunakan pelarut n-heksana. Nilai EC_{50} yang diperoleh sebesar 80,32 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa nilai EC_{50} dari ekstrak yang disertai dengan hidrolisis dan partisi lebih berpotensi sebagai antioksidan daripada ekstrak yang tidak disertai dengan hidrolisis.

Penelitian Lailiyah (2013) yang menggunakan metode ekstraksi tanpa hidrolisis masih memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang sedang. Penggunaan metode ekstraksi disertai dengan hidrolisis diharapkan menghasilkan rendemen metabolit sekunder lebih besar. Hal ini dikarenakan pada umumnya metabolit sekunder di alam berupa glikosida (mengandung komponen gula dan bukan gula), komponen gula dikenal sebagai glikon dan komponen bukan gula sebagai aglikon.

Pemisahan antara glikon dan aglikon dapat dilakukan dengan metode hidrolisis. Pada metode hidrolisis, glikosida akan terurai kembali atas komponen-komponennya menghasilkan gula dan aglikon yang sebanding, penguraian komponennya tersebut dapat dilakukan dengan cara mendidihkannya bersama asam dan menggunakan enzim yang terdapat dalam jaringan tumbuhan yang sama. Proses partisi pada ekstrak dilakukan dengan beberapa pelarut yang kepolarannya lebih rendah dari metanol seperti 1-butanol, etil asetat, kloroform, petroleum eter dan *n*-heksana. Dengan adanya hidrolisis senyawa metabolit yang bebas dan yang terikat dengan glikon akan bergabung sehingga diharapkan aktivitasnya akan meningkat.

Berdasarkan beberapa alasan di atas maka akan dilakukan suatu penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan *n*-Heksana Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Fraksi hidrolisis alga coklat *S. cristaefolium* manakah yang memiliki potensi antioksidan tertinggi yang didapatkan pada variasi pelarut?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat pada fraksi hidrolisis alga coklat *S. cristaefolium* pada identifikasi fitokimia?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui fraksi hidrolisis alga coklat *S. cristaefolium* yang memiliki potensi antioksidan tertinggi yang didapatkan pada variasi pelarut.

2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada fraksi hidrolisis alga coklat *S. cristaefolium* dari hasil identifikasi fitokimia.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah alga coklat *S. cristaefolium* yang diperoleh dari perairan Sumenep Madura.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi, hidrolisis, dan ekstraksi cair-cair (partisi).
3. Pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat, kloroform, dan *n*-heksana.
4. Metode pengujian aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).
5. Golongan senyawa yang diidentifikasi meliputi triterpenoid, steroid, flavonoid, alkaloid dan asam askorbat.
6. Uji senyawa aktif dengan KLTA.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat atau kalangan akademik mengenai manfaat alga coklat *Sargassum cristaefolium* bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga (Rumput Laut)

Secara morfologi alga tidak dapat dibedakan antara akar, batang dan daun. Alga mempunyai *thallus* dengan bentuk bermacam-macam. *Thallus* ini ada yang uniseluler dan multiseluler. Sifat substansi *thallus* beraneka ragam, ada yang lunak seperti gelatin (*gelatinous*), atau mengandung zat kapur (*calcareous*), lunak seperti tulang rawan (*cartilagenous*), berserabut (*spongiuous*) dan sebagainya (Aslan, 1995). Alga memiliki kemampuan penyerapan dan penyimpanan air yang berbeda dengan tanaman lain yang tumbuh di darat (Haryanti, *et al.*, 2008). Berdasarkan kandungan pigmennya, alga dikelompokkan menjadi 4 kelas (Anggadiredja, *et al.*, 2006) yaitu: *Rhodophyceae* (alga merah), *Phaeophyceae* (alga coklat), *Chlorophyceae* (alga hijau), *Cyanophyceae* (alga biru hijau).

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 hemisolulosa yang merupakan gizi yang tidak dapat dicerna seluruhnya oleh enzim dalam tubuh (Haryanti, *et al.*, 2008).

Keanekaragaman tumbuhan yang dimiliki Indonesia merupakan salah satu nikmat yang diberikan oleh Allah SWT sehingga kita patut bersyukur dan memanfaatkannya dengan baik. Dalam firman-Nya, Allah SWT telah menjelaskan dalam surat al An'am ayat 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ قِنَوانٌ دَانِيَةٌ وَجَدْتِ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

"Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur. (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman (QS. al-An'am/6: 99)."

Allah SWT menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuhan dengan hikmah yang amat besar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam ciptaan-Nya. Manusia diberi kesempatan seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan. Allah SWT telah menumbuhkan dari bermacam-macam tumbuhan yang baik untuk makhluk-Nya yaitu tumbuhan yang bermanfaat. Manfaat tumbuhan salah satunya digunakan sebagai tanaman obat, seperti halnya sabda Nabi Muhammad SAW dalam HR. Ibnu Majah di bawah ini (Farooqi, 2005):

ما أَنْزَلَ اللهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

"Allah tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya (HR. Ibnu Majah)".

Terjemahan hadits di atas menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah SWT yang memberikan suatu penyakit beserta penawarnya (obat). Pengetahuan yang akan menuntun manusia untuk menemukan obat-obatan yang telah tersedia dari tanaman. Jika manusia tidak mengembangkan ilmu pengetahuan, maka tidak akan pernah tahu adanya obat yang berasal dari tanaman yang biasanya dihiraukan (Savitri, 2008), tidak terkecuali tanaman yang tumbuh di laut bisa diteliti seperti alga coklat yang berkhasiat sebagai tanaman obat. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian lebih lanjut sebagai pendukung akan potensinya sebagai tanaman obat.

2.2 Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Phaeophyta disebut juga alga coklat, warna ini disebabkan xantofil yang dihasilkan melebihi karoten dan klorofil. Alga ini mempunyai pigmen fotosintetik yang terdiri atas klorofil a dan c, karoten, fukoxantin dan xantofil. Cadangan makanan di dalam selnya berupa laminarin dan manitol, dengan dinding sel tersusun dari selulosa, asam alginat, dan mukopolisakarida sulfat. Anggota alga ini yang banyak hidup di laut adalah genera *Sargassum*, *Macrocystis*, *Nereocystis*, dan *Laminaria* (Ajisaka, 2006).

Morfologi dari *Sargassum cristaefolium* C. Agardh dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut ini:



Gambar 2.1 Gambar alga coklat *S. cristaefolium*.

Sargassum cristaefolium mempunyai taksonomi sebagai berikut (Silva, *et al.*, 1996) :

Divisio : Ochrophyta
 Kelas : Phaeophyceae
 Bangsa : Fucales
 Suku : Sargassaceae
 Marga : Sargassum
 Jenis : *Sargassum cristaefolium*

S. cristaefolium merupakan salah satu marga *Sargassum* yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin (Nizamuddin dalam Fahri, 2010). Habitat alga *S. cristaefolium* tumbuh diperairan pada kedalaman 0,5–10 m, ada arus dan ombak melekat pada substrat dasar perairan. Di daerah tubir tumbuh membentuk rumpun besar, panjang thalli utama mencapai 0,5-3 m dengan untaian cabang thalli terdapat kantong udara (*bladder*), berfungsi untuk menopang cabang-cabang thalli yang terapung ke arah permukaan air dalam mendapatkan intensitas cahaya matahari. Kandungan nilai nutrisi alga coklat *S. cristaefolium* terdapat dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi nilai nutrisi alga coklat *Sargassum* sp.

Komponen	Jumlah
Kadar air (%)	19,6
Karbohidrat (%)	5,53
Protein (%)	0,74
Lemak (%)	11,71
Serat kasar (%)	34,57
Abu (%)	28,39

Sumber : Subagya, 1987

Tabel 2.1 menunjukkan bahwa dalam *Sargassum* sp. memiliki nilai komposisi nutrisi yang cukup banyak dalam membantu perkembangan sel dalam

tubuh, selain itu juga alga coklat banyak menghasilkan alginat. Alginat banyak digunakan untuk kosmetik, industri tekstil, menurunkan kolesterol, pengobatan kanker dan sebagainya (Winarno, 1990).

2.3 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Penekanan utama dalam maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam. Karena dengan perendaman sampel, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Voight, 1995).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan waktu yang cukup lama dan menggunakan jumlah pelarut yang banyak (Voight, 1995).

Salamah, *et al.* (2008) menyebutkan bahwasanya dalam mengekstrak komponen bioaktif dari kijang Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) sebagai

senyawa antioksidan dilakukan dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dengan waktu maserasi selama 24, 48 dan 72 jam, dan didapatkan efek antioksidan tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol dengan waktu maserasi selama 72 jam. Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.2 (Sax, 1998).

Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

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

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

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

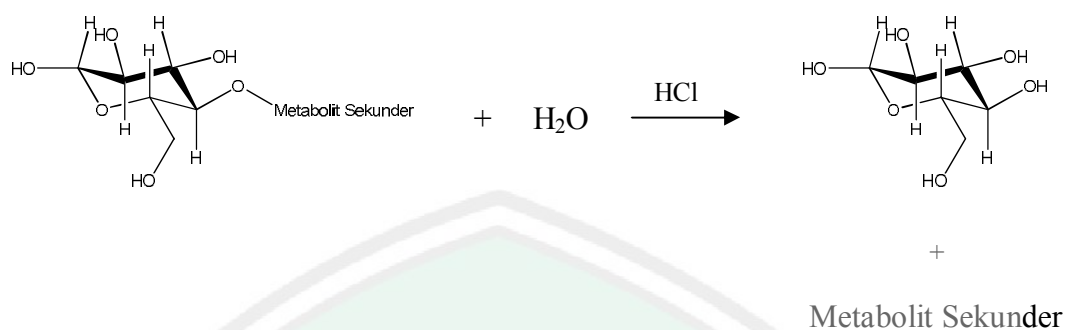
2.4 Hidrolisis Glikosida

Hidrolisis adalah reaksi peruraian senyawa dengan air (Saifudin *et al.*, 2006). Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula

(aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar maupun non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, 2004).

Adanya perubahan struktur suatu senyawa ke bentuk glikosida, menyebabkan senyawa tersebut mengalami perubahan sifat fisika, kimia dan aktivitas biologi. Apabila suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosidanya maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar. Sehingga pada proses ekstraksi, senyawa metabolit sekunder akan lebih terekstrak pada pelarut-pelarut polar, senyawa yang bekerja kurang spesifik karena terikat dengan gugus gula dan pada proses pemisahan senyawa dengan KLT akan cenderung tertahan pada fase diamnya (Saifudin *et al.*, 2006). Fungsi glikosida dalam tanaman adalah sebagai cadangan gula temporer, menjaga diri terhadap pengaruh luar yang mengganggu dan sebagai petunjuk sistemik (Gunawan, 2004).

Reaksi hidrolisis yang menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (seperti asam). Katalisator asam yang sering digunakan dalam industri adalah asam klorida (HCl) karena garam yang terbentuk tidak berbahaya (NaCl). Hasil penelitian Kaur and Murphy (2012) menyebutkan bahwa melalui proses hidrolisis asam (HCl 2 N) dapat meningkatkan kandungan isoflavon (daidzein dan genistein) dari tanaman *Vigna unguiculata* L. yang ditunjukkan dengan meningkatnya peak/puncak daidzein dan genistein ketika dianalisis dengan HPLC. Reaksi pemutusan ikatan glikosida dengan HCl dan penetralan membentuk garam adalah:



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Mardiyah, 2012)



Gambar 2.3 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat (Mardiyah, 2012)

2.5 Partisi (Ekstraksi Cair-Cair)

Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, yakni sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Khopkar, 2008). Kelebihan dari metode partisi adalah dapat memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik dan waktunya ujinya cepat (waktu total ekstraksi pendek) (Dewi *et al.*, 2010).

Lenny (2006) mengatakan bahwa pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder secara maksimal. Salah satu pelarut alkohol yang digunakan untuk ekstraksi maserasi

adalah metanol. Metanol mempunyai beberapa kelebihan sebagai pelarut ekstraksi karena termasuk pelarut universal, tidak menyebabkan pembengkakan sel, menghambat kerja enzim, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, mengendapkan protein, dan melarutkan hampir semua senyawa organik (baik polar, semi polar maupun non polar), sehingga menghasilkan bahan aktif yang optimal (Arifin *et al.*, 2006).

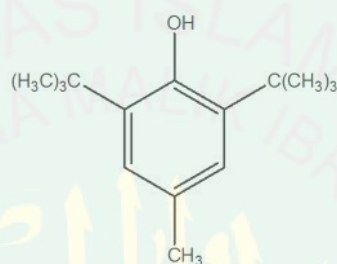
2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Penggunaan senyawa antioksidan juga antiradikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas (Tahir, *et al.*, 2003).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa

reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu BHT, PG, TBHQ dan tokoferol. Adapun struktur molekul dari BHT dapat dilihat pada Gambar 2.4 (Cahyadi, 2006).



Gambar 2.4 *Butylated hydroxytoluene* (BHT) (Cahyadi, 2006)

Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, *et al.*, 1996). Antioksidan sintesis BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Oleh karena itu penelitian dan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam kini sedang giat-giatnya dilakukan sebagai alternatif pengganti antioksidan sintesis (Shahidi, *et al.*, 1995).

Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintesis, karena itu, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintesis (Paiva, *et al.*, 1999).

2.7 Radikal Bebas

Menurut Soematmaji (1998), yang dimaksud radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif (Leong dan Shui, 2001).

Radikal bebas memiliki dua sifat, yaitu (Suryohudoyo, 1993):

1. Reaktivitas tinggi, karena kecenderungan menarik elektron.
2. Dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal.

Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Itulah sebabnya dalam kepustakaan kedokteran, radikal bebas digolongkan dalam oksidan. Namun perlu diingat bahwa radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas (Suryohudoyo, 1993).

Keseimbangan antara kandungan antioksidan dan radikal bebas di dalam tubuh merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan tubuh. Apabila jumlah radikal bebas terus bertambah sedangkan antioksidan endogen jumlahnya tetap, maka kelebihan radikal bebas tidak dapat dinetralkan. Akibatnya radikal bebas akan bereaksi dengan komponen-komponen sel dan menimbulkan kerusakan sel (Arnelia, 2002). Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas

bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), dan diabetes mellitus.

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya sinar UV. Di samping itu, radikal bebas eksogen dapat berasal dari aktifitas lingkungan. Menurut Supari (1996), aktifitas lingkungan yang dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, asap rokok, makanan, minuman, ozon dan pestisida.

2.8 Mekanisme Antioksidatif

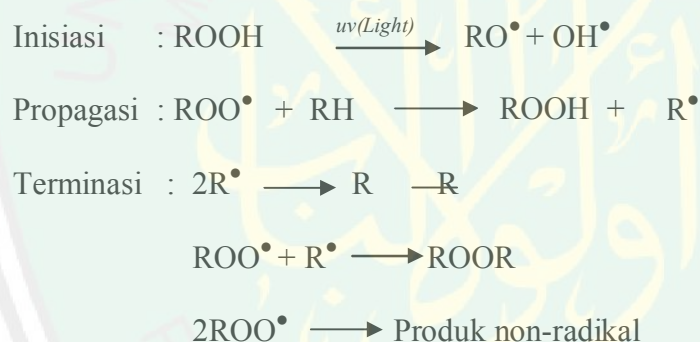
Menurut Gordon (1990), antioksidan mempunyai dua fungsi berdasarkan mekanisme kerjanya adalah sebagai berikut:

Pertama, fungsi utama antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) tersebut disebut juga sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid (R^\bullet , ROO^\bullet) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara hasil reaksi radikal antioksidan (A^\bullet) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding dengan radikal lipid.

Kedua, fungsi kedua antioksidan merupakan antioksidan sekunder, yaitu berfungsi untuk memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme

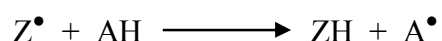
pemutusan rantai oksidasi di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi, dimana hal itu melalui perubahan radikal ke bentuk yang lebih stabil.

Terbentuknya senyawa radikal, baik radikal bebas endogen maupun eksogen terjadi melalui sederetan reaksi. Mula-mula terjadi pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir yaitu pemusnahan atau perubahan senyawa radikal menjadi non radikal (terminasi). Deretan reaksi tersebut dapat berlangsung seperti berikut (Mark, 2013) :



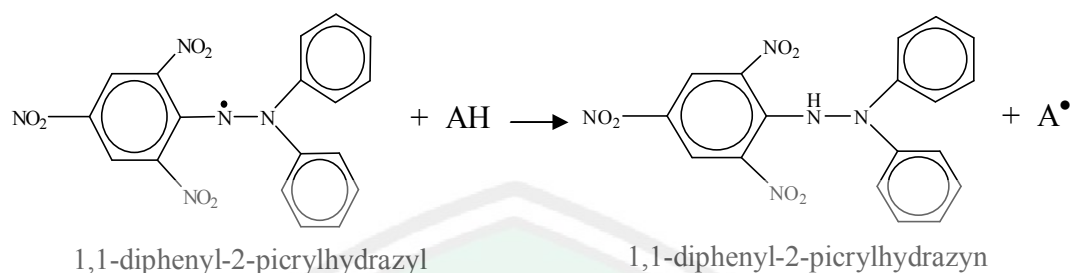
Gambar 2.5 Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas

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



Keterangan :

Z^\bullet = radikal bebas, AH = non radikal, ZH = non radikal, A^\bullet = radikal baru bersifat lebih stabil



Gambar 2.6 Reaksi penetralan DPPH• menjadi DPPH-H

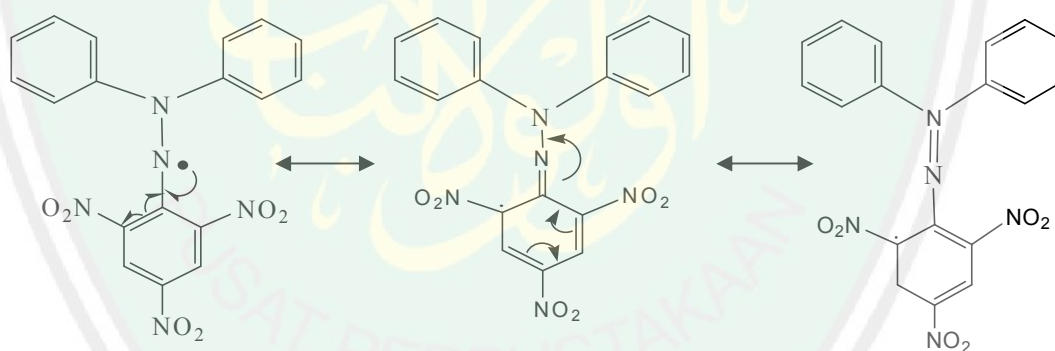
2.9 Uji Aktivitas Antioksidan

Terdapat beberapa metode uji aktivitas antioksidan secara *in-vitro* di antaranya metode DPPH, aktivitas peredaman radikal superoksida, aktivitas penghambat radikal hidroksil, metode kekuatan pereduksi, metode ABTS, kapasitas serapan radikal oksigen, metode FRAP, lipid peroksidasi mikrosomal atau uji asam tobarbiturat (Febriany, 2012).

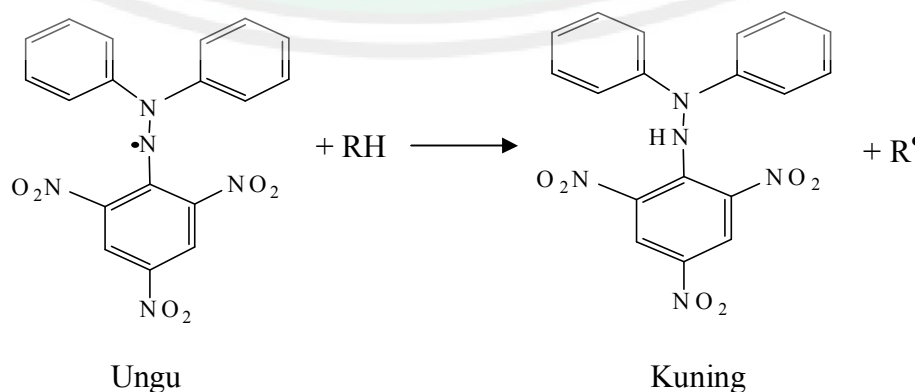
Salah satu metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan adalah metode DPPH. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Beberapa metode lain terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisa. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak (non polar) atau pun dalam air (polar) (Prakash, *et al.*, 2001). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005).

Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna

mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antiradikal maka DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi dimana perubahan ini dapat diukur dan dicatat dengan spektrofotometer (Asih, *et al.*, 2012). Mekanisme resonansi DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.7.



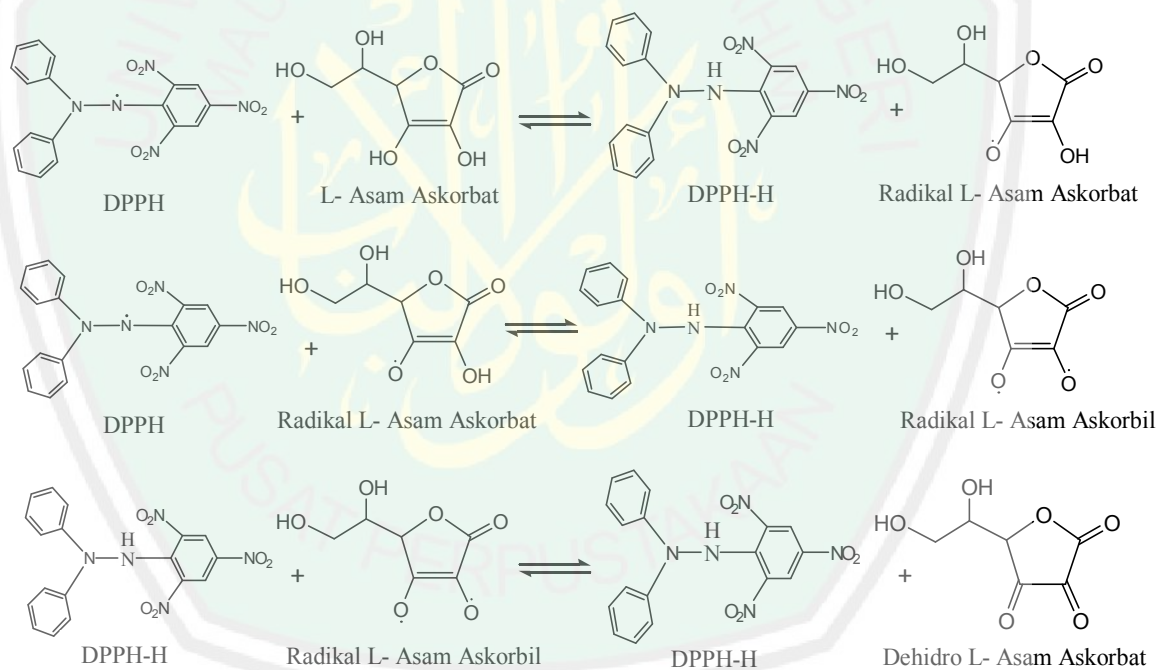
Gambar 2.7 Resonansi DPPH



Gambar 2.8 Reaksi antara DPPH dengan atom H yang berasal dari antioksidan

Dengan kata lain, aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, *et al.*, 2001).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan (Prakash, *et al.*, 2001). Reaksi antara asam askorbat dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Reaksi asam askorbat dengan DPPH (Nishizawa, 2005 dalam Arindah, 2010)

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektron

berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen.

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan Persamaan 2.1 (Molyneux, 2003).

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

Nilai 0 % berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100 % berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50 % (Parwata, *et al.*, 2009). Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2003).

Dalam metode DPPH terdapat parameter EC₅₀. Parameter EC₅₀ merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 % yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin

kecil EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman, *et al.*, 2005).

Mardawati (2008) menyebutkan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis menggunakan DPPH pada fraksi metanol memberikan nilai EC_{50} sebesar 8,00 mg/L. Secara spesifik, ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Ketentuan kekuatan antioksidan

Nilai EC_{50}	Kekuatan
< 50 ppm	Sangat kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat lemah

Sumber: Hidajat (2005)

Faten, *et al.* (2009) menyebutkan bahwa dalam pengujian aktivitas antioksidan ekstrak alga merah *Gracilaria verucosa* dengan metode DPPH, dan didapatkan hasil untuk ekstrak kasar etanol memiliki nilai IC_{50} 85 mg/L, sedangkan untuk ekstrak petroleum eter dan etil asetat memberikan nilai IC_{50} 130 mg/L dan 135 mg/L, dan untuk ekstrak air dan *n*-butanol memberikan nilai IC_{50} 180 mg/L dan 190 mg/L.

2.10 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif

Tanaman menghasilkan beragam senyawa organik yang tampaknya tidak memiliki fungsi langsung dalam pertumbuhan dan pembangunan. Zat-zat ini dikenal sebagai metabolit sekunder, produk sekunder, atau produk alami.

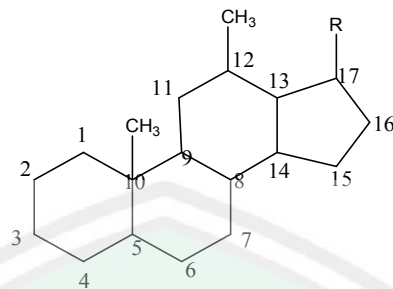
Metabolit sekunder tidak diakui secara umum memiliki peran langsung dalam proses fotosintesis, respirasi, transport solute, translokasi, sintesis protein, asimilasi gizi, diferensiasi, atau pembentukan karbohidrat, protein, dan lipid. Metabolit sekunder tertentu sering ditemukan hanya pada satu jenis tumbuhan atau kelompok spesies, sedangkan metabolit primer ditemukan pada seluruh tanaman.

Terdapat banyak penelitian yang menyebutkan tentang kandungan metabolit sekunder pada semua jenis alga. Bhadury, *et al.* (2004) mengisolasi senyawa aktif dalam beberapa alga laut baik mikro maupun makro yang berfungsi sebagai antifoulant, dan didapatkan bahwasanya dalam alga laut tersebut mengandung asam lemak, alkaloid, terpenoid, lakton dan steroid.

Meenakshi dan Gnanambigai (2009) melakukan pengukuran total flavonoid pada dua jenis alga, *Ulva lactuca* yang tergolong alga hijau dan *Sargassum wightii* yang tergolong alga coklat, dan didapatkan total flavonoid untuk *U. lactuca* dan *S. wightii* masing-masing $2,02 \pm 0,07$ mg GAE/g dan $1,35 \pm 0,04$ mg GAE/g. Selain itu Elsie *et al.* (2011) melakukan uji fitokimia terhadap alga merah *Geledium acerosa* yang terbukti mengandung berbagai macam metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, fitosterol, flavonoid dan tanin.

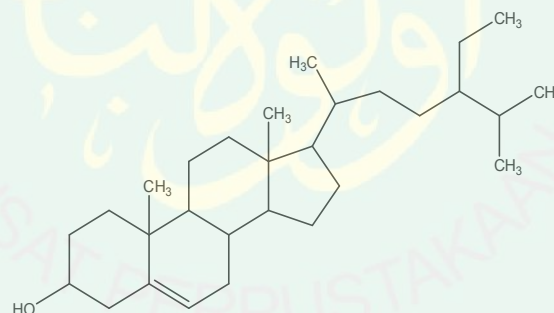
2.10.1 Golongan Senyawa Steroid

Steroid atau sterol adalah triterpenoid yang mempunyai bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar (Febriany, 2004).

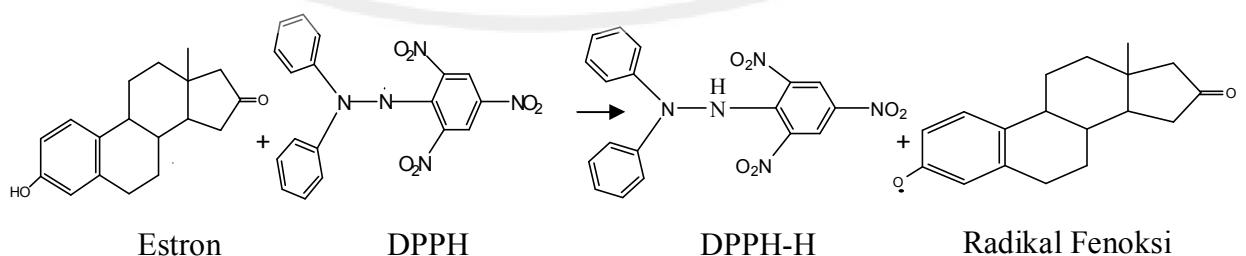


Gambar 2.10 Struktur dasar golongan senyawa steroid

Semua sterol diduga hanya pada binatang, namun sekarang telah diketahui bahwa sterol juga terdapat dalam tumbuhan (fitosterol). Fitosterol ini berbeda secara struktural dengan sterol binatang. Perbedaannya terutama pada substitusi gugus metil dan etil (Febriany, 2004). Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu: sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne, 1987; Robinson, 1995).



Gambar 2.11 Struktur Sitosterol



Gambar 2.12 Dugaan reaksi senyawa steroid dengan radikal DPPH

Reaksi warna yang digunakan untuk uji warna pada steroid adalah 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).

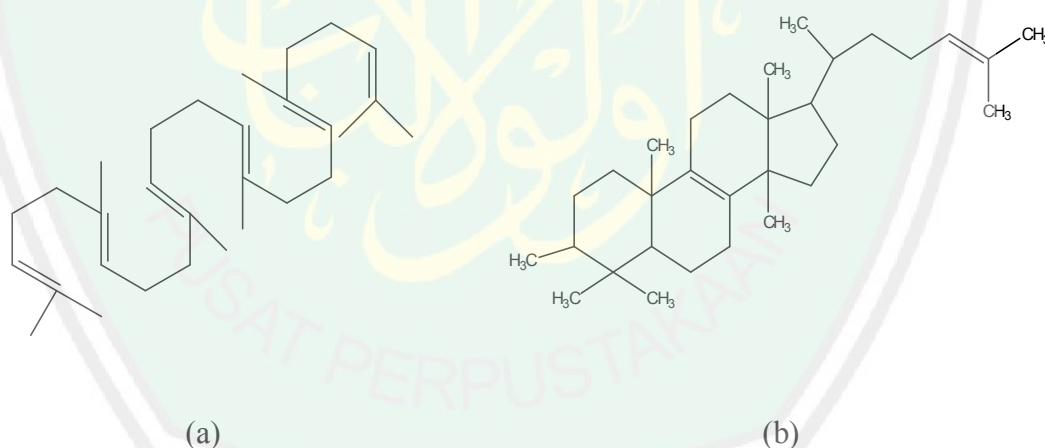
Pemisahan senyawa steroid dapat dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan pereaksi Lieberman-Buchard sebagai penampak noda. Syamsudin, *et al.*, (2007) dengan menggunakan eluen yaitu n-heksana:aseton (7:3) untuk memisahkan senyawa steroid dari ekstrak n-heksana kulit batang asam kandis. Setelah disemprot dengan pereaksi Lieberman-Buchard menghasilkan enam bercak yang berwarna biru, ungu sampai coklat yang diduga merupakan senyawa steroid/triterpenoid.

Sulastry dan Kurniawati (2010) menyatakan bahwa senyawa steroid setelah disemprot dengan reagen Liebermann-Buchard menghasilkan warna hijau. Sriwahyuni (2010) memisahkan senyawa steroid, menggunakan eluen sikloheksana-etil asetat (1:1) dengan pereaksi LB menghasilkan 12 noda (hijau kebiruan, hijau kehitaman, dan berwarna ungu yang tengahnya berwarna hijau kebiruan pada UV 366 nm) dari ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting.

Hayati, *et al.*, (2012) menyebutkan bahwasanya pemisahan senyawa steroid pada ekstrak etil asetat tanaman anting-anting eluen n-heksana:etil asetat (7:3) dengan pereaksi Liebermann-Buchard menghasilkan 9 noda menunjukkan warna hijau kebiruan, hijau, ungu yang tengahnya berwarna biru kehijauan, hijau kebiruan muda. Senyawa-senyawa tersebut diduga merupakan senyawa steroid.

2.10.2 Golongan Senyawa Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} 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, bebas dan sebagai glikosida. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995).



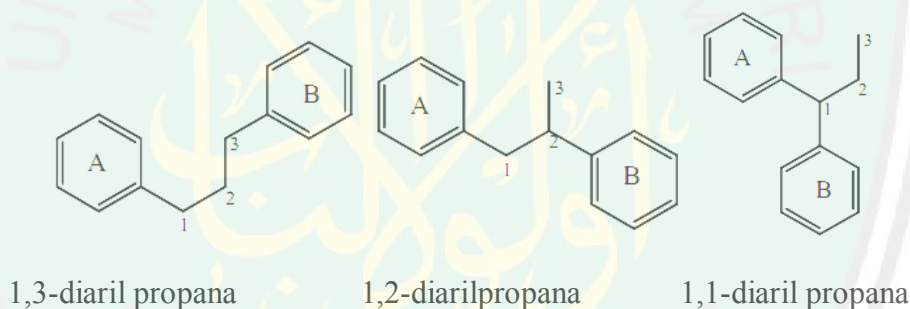
Gambar 2.13 (a) Skualena (Struktur dasar golongan senyawa triterpenoid) (Robinson, 1995) dan (b) senyawa Lanosterol (senyawa triterpenoid tetrasiklik)

Triterpenoid biasanya terdapat dalam daun dan buah, seperti apel dan per, yang berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba. Triterpenoid juga terdapat dalam damar, kulit batang dan getah. Triterpenoid tertentu dikenal karena rasanya, terutama kepahitannya. Senyawa

triterpenoid/steroid dapat mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1995).

2.10.3. Golongan Senyawa Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis senyawa flavonoid, yaitu: Flavonoid atau 1,3-diaril propana, Isoflavonoid atau 1,2-diarilpropana dan Neoflavonoid atau 1,1-diaril propana (Lenny, 2006).

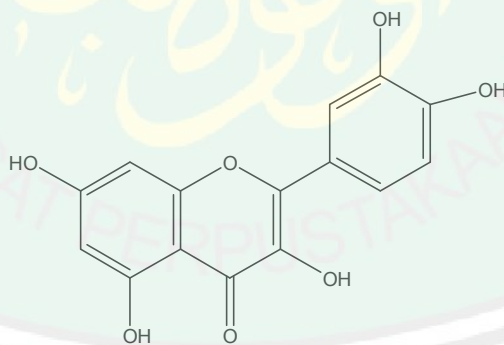


Gambar 2.14 Struktur dasar senyawa flavonoid

Senyawa-senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dari sistem 1,3-diaril propana. Flavon, flavonol dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga sering disebut sebagai flavonoid utama (Lenny, 2006). Perlu diperhatikan bahwa cincin A selalu memiliki gugus hidroksil yang letaknya sedemikian hingga memberikan kemungkinan untuk terbentuknya cincin heterosiklis dalam senyawa trisiklis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.11. Flavonoid dapat digolongkan sebagai

fenol karena biasanya cincin A dan B mengandung gugus hidroksil (Sastrohamidjojo, 1996).

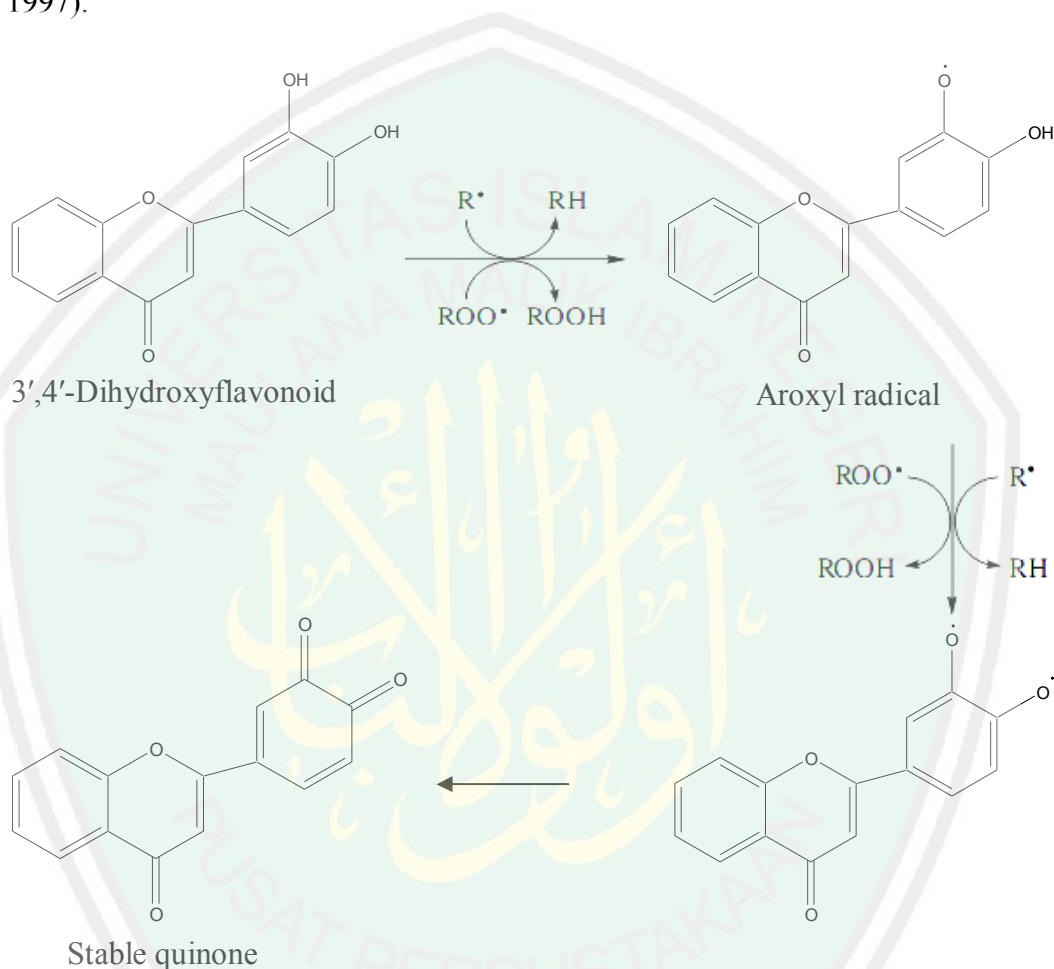
Sebagian besar senyawa flavonoid di alam ditemukan dalam bentuk glikosida, di mana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron atau sebuah atom hidrogen ke senyawa radikal bebas, sehingga dapat menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim. Senyawa-senyawa flavonoid termasuk didalamnya adalah *resveratrol*, *anthocyanin*, *quercetin*, *hesperidin*, *tangeritin*, *kaemferol*, *myricetin*, dan *apigenin*.



Gambar 2.15 Struktur Kuersetin

Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono-, di- atau triglikosida, yaitu satu, dua atau tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula (Lenny, 2006). Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron atau sebuah atom hidrogen ke senyawa radikal bebas,

sehingga dapat menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Kandaswami & Middleton, 1997).

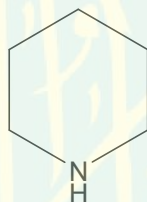


Gambar 2.16 Reaksi senyawa flavonoid dengan radikal DPPH (Wanasundara & Shahidi, 2005)

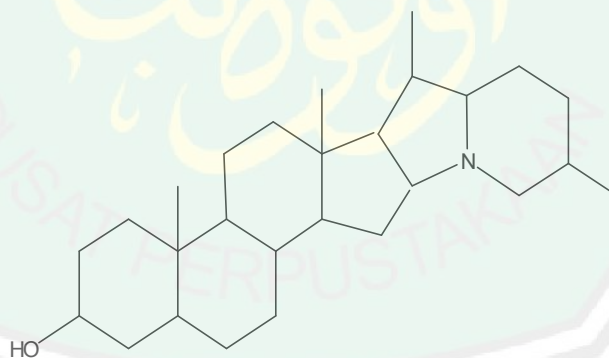
Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dapat diekstraksi dengan etanol 70 % dan tetap ada pada lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi (Harborne, 1987). Flavonoid dapat direduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga (Sastrohamidjojo, 1996).

2.10.4 Golongan Senyawa Alkaloid

Semua alkaloid mengandung paling sedikit sebuah nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Achmad dalam Widodo, 2007). Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal dan hanya sedikit yang berbentuk cairan pada suhu kamar, contohnya pada nikotina. Senyawa-senyawa golongan alkaloid misalnya *caffeine*, *theobromine*, dan *theophylline* (Sirait, 2007).

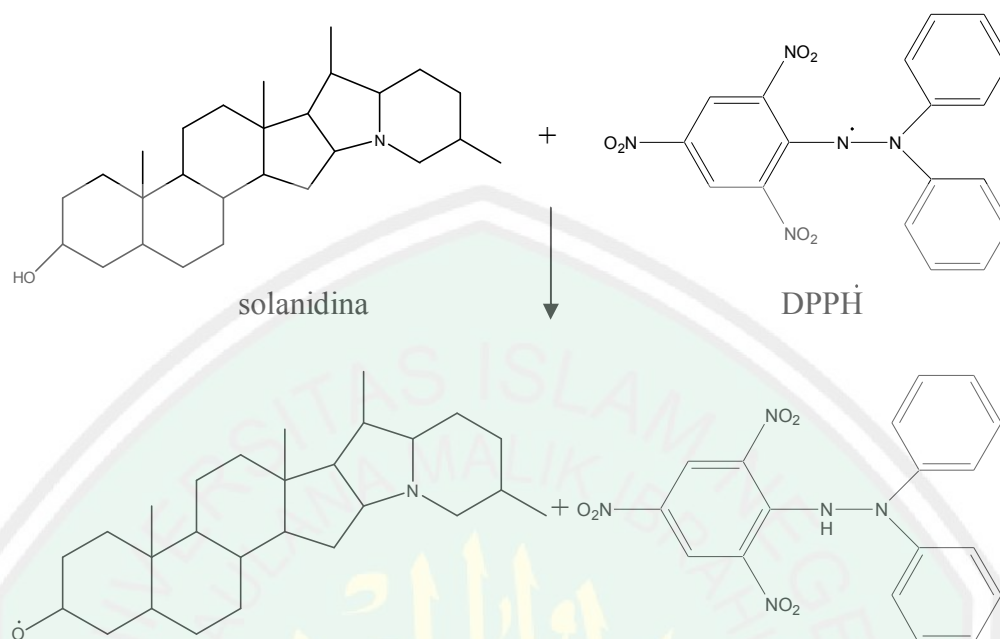


Gambar 2.17 Struktur Inti Alkaloid (Robinson, 1995)



Gambar 2.18 Struktur Solanidina (Robinson, 1995)

Dugaan reaksi yang terjadi antara senyawa alkaloid dengan DPPH yang berfungsi untuk meredam radikal adalah sebagai berikut (Husnah, 2008).



Gambar 2.19 Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan DPPH

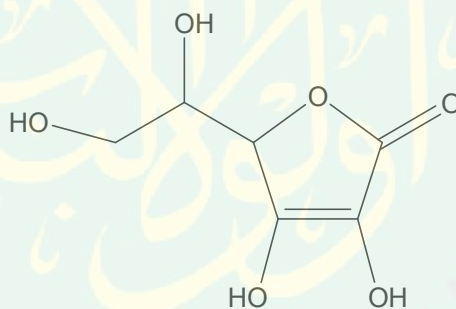
Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan untuk uji alkaloid adalah pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5 %, asam tanat 5 %, pereaksi Dragendrof (kalium tetraiodobismutat). Hasil positif alkaloid dengan menggunakan reagen Dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga.

Kebanyakan alkaloid tidak larut dalam petroleum eter. Namun demikian ekstrak harus selalu dicek untuk mengetahui adanya alkaloid dengan menggunakan salah satu pereaksi pengendap alkaloid. Pereaksi sering didasarkan pada kesanggupan alkaloid untuk bergabung dengan logam yang memiliki berat atom tinggi seperti merkuri, bismut, tungsten, atau iod. Pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida. Pereaksi Dragendorff

mengandung bismut nitrat dan merkuri klorida dalam asam nitrit berair (Sastrohamidjojo, 1996).

2.10.5 Asam Askorbat

Vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan penting yang larut dalam air. Reaksi reversibel dari oksidasi asam askorbat ditunjukkan pada Gambar 2.20. Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Vitamin C dapat melindungi membran biologis dan LDL (*Low Density Lipid*) dari kerusakan prooksidatif dengan cara mengikat radikal peroksil dalam fase berair dari plasma atau sitosol (Silalahi, 2006).



L- Asam Askorbat

Gambar 2.20 Asam Askorbat (Vitamin C)

2.11 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan yang pertama kali digunakan untuk memisahkan zat-zat warna tanaman yang didasarkan atas istilah yang digunakan yaitu *kroma* yang berarti zat warna. Metode pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen dalam dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak yang berbeda tingkat kepolarannya. Apabila

molekul-molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fasa diam. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak (Hendayana, 2006).

Gritter (1991) menyatakan bahwa kromatografi lapis tipis (KLT) pada hakikatnya melibatkan dua peubah yaitu sifat fasa diam atau sifat lapisan dan sifat fasa gerak atau campuran pelarut pengembang. Fasa diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap atau berfungsi sebagai penyangga atau lapisan zat cair. Pada penelitian ini digunakan fasa diam dari silika gel yang mampu menjerap senyawa yang akan dipisahkan. Fasa gerak dapat berupa hampir segala macam pelarut atau campuran pelarut sebagaimana dalam penelitian ini digunakan campuran pelarut yang efektif untuk memisahkan masing-masing komponen senyawanya yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

Lapisan tipis seperti pada plat silika gel F₂₅₄ yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator flouresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator flouresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar, seperti dengan lampu UV (Gritter, 1991).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga R_f. Harga R_f didefinisikan sebagai berikut:

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang digerakkan dari titik asal}}{\text{Jarak pelarut yang digerakkan dari titik asal}} \dots\dots\dots (2.2)$$

Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standart. Harga Rf dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya, serta jumlah cuplikan yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 1991).

KLT analitik ini digunakan untuk mengetahui berapa noda yang terpisah dari hasil eluen terbaik. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa yang ditandai dengan munculnya noda yang tidak berekor dan jarak antara noda yang muncul sangat jelas. Noda yang dihasilkan akan dideteksi dengan pereaksi yang sesuai dengan golongan senyawa yang dipisahkan. Pereaksi ini akan memberikan sebuah kepekaan dan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan, jika senyawa diamati dibawah lampu UV (Harborne, 1987).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang bulan Januari sampai April 2014.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik, bola hisap, mortar, pisau, kertas saring, corong buchner *vacum*, inkubator, *rotary evaporator vacum*, shaker, vortex, corong pisah, desikator, oven, *hot plate*, stirer, botol larutan, bejana pengembang, plat silika gel F₂₅₄, spektronik 20+, dan spektrofotometer UV-Vis *Varian Carry*.

3.2.2 Bahan

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

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, metanol *p.a*, etil asetat *p.a*, kloroform *p.a*, *n*-heksana, *DPPH* (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) *p.a*, KMnO_4 0,1 %, *BHT* (*Butylated hydroxytoluene*) *p.a*, standar vitamin C, gas N_2 , HCl 37 %, HCl 2 N, etanol 95 %, H_2SO_4 pekat, natrium bikarbonat (NaHCO_3),

asam asetat anhidrida, amonia, aseton, pereaksi Mayer, Dragendorff, dan serbuk logam Mg.

3.3 Rancangan Penelitian

Pertama-tama dilakukan uji taksonomi terhadap sampel yang akan digunakan. Kemudian sampel diambil dari seluruh bagian alga coklat lalu dikeringkan menggunakan oven lalu dihaluskan. Sampel yang sudah dihaluskan ditentukan kadar airnya. Kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi maserasi selama 24 jam dengan dishaker menggunakan pelarut metanol selanjutnya ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri gas N₂. Ekstrak pekat fraksi metanol dihitung rendemennya, kemudian ekstrak pekat metanol sebanyak 12 gram dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C dan D) yang masing-masing sebanyak 3 gram, lalu bagian B, C dan D masing-masing dihidrolisis dengan asam klorida (HCl) 2 N lalu dipartisi menggunakan etil asetat, kloroform, dan *n*-heksana. Masing-masing ekstrak hasil partisi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri gas N₂, lalu dihitung nilai rendemen.

Ekstrak dari hasil maserasi dan partisi, begitu pula untuk pembanding BHT dan asam askorbat (vitamin C) diuji aktivitas antioksidannya pada konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm, kemudian dihitung persen aktivitas antioksidannya dan ditentukan nilai EC₅₀ (*effective concentration*) menggunakan persamaan regresi, lalu diidentifikasi golongan senyawa dalam masing-masing ekstrak secara fitokimia dengan penambahan reagen, kemudian dilakukan uji senyawa aktif dengan menggunakan KLTA.

3.4 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut:

- 1) Uji Taksonomi alga coklat *Sargassum cristaefolium*,
- 2) Preparasi sampel,
- 3) Penentuan kadar air,
- 4) Ekstraksi alga coklat *Sargassum cristaefolium* menggunakan metode maserasi dilanjutkan dengan proses hidrolisis kemudian diekstraksi kembali dengan metode partisi,
- 5) Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm,
- 6) Identifikasi golongan senyawa aktif dalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan penambahan reagen,
- 7) Uji senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA),
- 8) Analisis data.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Taksonomi

Uji taksonomi alga coklat *Sargassum cristaefolium* dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

3.5.2 Preparasi Sampel

Alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebanyak 4 Kg dicuci dengan air, kemudian diiris kecil-kecil lalu dikeringanginkan selama 4 hari pada ruangan terbuka yang terlindung dari sinar matahari pada suhu 25-27 °C dan dihaluskan menggunakan blender hingga halus. Serbuk alga coklat (*S. cristaefolium*) diayak menggunakan ayakan yang berukuran 60 – 120 mesh.

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 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 105 °C selama ±15 menit, kemudian sampel disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dalam alga coklat *S.cristaefolium* 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

3.5.4 Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Ekstraksi komponen senyawa aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman. Alga coklat yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 300 gram, dimana pada tahapan ini sampel di bagi menjadi tiga. Proses maserasi yang pertama, sampel sebanyak 100 gram diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 300 mL selama 24 jam kemudian dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*) selama 3 jam. Selanjutnya maserasi yang ke-2 dan ke-3 dilakukan dengan perlakuan yang sama. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan corong *Buchner*. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan pelarut yang sama sebanyak 3 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama sampai filtrat yang didapatkan bening. Setelah itu, dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu. Lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* setelah itu dialiri gas N₂. Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya dengan Persamaan 3.2.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

3.5.5 Hidrolisis dan Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) Ekstrak Pekat Metanol

Ekstrak pekat fraksi metanol sebanyak 12 gram dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C dan D), dimana masing-masing bagian sebanyak 3 gram. Kemudian bagian A langsung dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Sedangkan bagian B, C dan D masing-masing dimasukan ke dalam beaker glass, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 6 mL asam klorida (HCl) 2 N ke dalam ekstrak

pekat dengan perbandingan (1:2). Hidrolisis dilakukan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang (Tensiska, *et al.*, 2007).

Masing-masing hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan natrium bikarbonat (NaHCO_3) sampai pH-nya netral, lalu masing-masing hidrolisat dipartisi, bagian B dipartisi dengan 25 mL pelarut etil asetat, bagian C dipartisi dengan 25 mL pelarut kloroform dan bagian D dipartisi dengan 25 mL pelarut *n*-heksana. Proses partisi dilakukan dengan dua kali pengulangan. Masing-masing ekstrak hasil partisi dipekatkan dengan *rotary evaporator* lalu dialiri dengan gas N_2 , ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya, setelah didapatkan rendemen untuk masing-masing ekstrak dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan DPPH.

3.5.6 Uji Antioksidan dengan DPPH

3.5.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 4,5 mL etanol lalu didiamkan \pm 10 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Dicari λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, *et al.*, 2010).

3.5.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Larutan ekstrak 200 ppm dibuat sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL. Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan setelah inkubasi dan sebelum inkubasi dalam rentangan waktu 5 – 120 menit dengan interval 5 menit pada suhu 37 °C, kemudian dicari waktu kestabilan. Sampel

diukur menggunakan spektrometri UV pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

3.5.6.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

- a) Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM diambil sebanyak 1,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan.
- b) Sampel dari masing-masing fraksi dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm. Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} . Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan Persamaan 3.3 (Arindah, 2010).

$$\text{c) } \begin{array}{l} \% \text{ Aktivitas} \\ \text{antioksidan} \end{array} = \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100 \% \dots (3.3)$$

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

- d) Perbandingan BHT dan asam askorbat (Vitamin C): diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan asam askorbat (vitamin C).

3.5.7 Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Uji Fitokimia

3.5.7.1 Identifikasi Steroid/Terpenoid

Ekstrak alga coklat *S. cristaefolium* sebanyak 1 mL 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. 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 (Hayati, 2010).

3.5.7.2 Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak alga coklat *S. cristaefolium* dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Hayati, 2010).

3.5.7.3 Identifikasi Alkaloid

Ekstrak alga coklat *S. cristaefolium* sebanyak 3 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 1 mL HCl 1 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambah 2–3 tetes reagen Dragendroff, tabung II ditambah 2–3 tetes reagen Mayer. Jika tabung 1 terbentuk endapan jingga dan tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid (Hayati, 2010).

3.5.7.4 Identifikasi Asam Askorbat

Ekstrak kasar diambil 5 mg dilarutkan dalam aquadest 5 mL, kemudian ditambahkan 10 mL larutan KMnO_4 0,1 %. Jika terbentuk warna coklat maka menunjukkan adanya asam askorbat (Auterhoff, *et al.*, 1987).

3.5.8 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Uji fitokimia dengan KLT dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji fitokimia dengan uji reagen. Identifikasi dengan KLTA digunakan plat silika gel F_{254} yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60-70 °C selama 10 menit. Masing-masing plat dengan ukuran 1x10 cm². Ekstrak sampel ditotolkan sebanyak 5-20 totolan pada jarak \pm 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya. Adapun yang dilakukakan uji KLTA adalah pada fraksi kloroform yang positif mengandung golongan senyawa steroid. Pengembang dan reagen golongan

senyawa steroid adalah sebagai berikut : digunakan pengembang n-heksana:etil asetat (6:4) (Reveny, 2011), heksana-etil asetat (8:2) (Reveny, 2011), heksana-etil asetat (7:3) (Handayani, 2008), heksana-etil asetat (1:1) (Sriwahyuni, 2010), dan n-heksana-aseton (7:3) (Syamsudin, 2007) dengan penampak noda Lieberman Buchard akan terbentuk noda berwarna biru, ungu sampai coklat.

3.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi dari masing-masing ekstrak kasar dan pembanding asam askorbat dan BHT pada konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm. Setelah didapatkan data persen (%) aktivitas antioksidan pada masing-masing konsentrasi sampel dan pembanding, kemudian dilakukan perhitungan nilai EC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara log konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) aktivitas antioksidan (y). Dibandingkan nilai EC_{50} pada masing-masing sampel. Sampel yang mempunyai nilai EC_{50} terendah menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang tinggi. Selanjutnya, membandingkan nilai EC_{50} pada masing-masing sampel dengan pembanding untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami dengan antioksidan sintetik. Identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium* dilakukan secara kualitatif melalui uji reagen dan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dan pembahasan ini disusun berdasarkan tahapan penelitian yang telah dilakukan yaitu: *Pertama*, Uji Taksonomi alga coklat *Sargassum cristaefolium*. *Kedua*, Preparasi sampel. *Ketiga*, Penentuan kadar air. *Keempat*, Penentuan kadar garam. *Kelima*, Ekstraksi alga coklat *Sargassum cristaefolium* menggunakan metode maserasi dilanjutkan dengan proses hidrolisis kemudian diekstraksi kembali dengan metode partisi. *Keenam*, Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm. *Ketujuh*, Identifikasi golongan senyawa aktif dalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan penambahan reagen. *Kedelapan*, Uji senyawa aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).

4.1 Uji Taksonomi Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Uji taksonomi alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang berasal dari pantai Sumenep Madura dilakukan secara kualitatif di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya (UB) Malang. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Adapun ciri-ciri Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*: *Thalli* bulat pada batang utama dan agak gepeng pada percabangan, permukaan halus atau licin. Percabangan *dichotomous* dengan daun bulat lonjong, pinggir bergerigi, tebal dan duplikasi (*double edged*), *Vesicle* melekat pada batang

daun, bulat telur atau elip, bentuk *blader* bulat lonjong (Ajisaka *et al.*, 1997). Bukti hasil uji taksonomi dapat dilihat pada Lampiran 6.

4.2 Preparasi Sampel

Sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang segar ditimbang sebanyak 4 kg kemudian dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang berupa kerak lumut atau pengotor lainnya yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Sampel diiris kecil-kecil untuk memperluas permukaan sehingga dapat mempercepat proses pengeringan dan mempermudah penggilingan sampel menjadi serbuk.

Selanjutnya sampel dikeringanginkan selama 4 hari pada ruangan terbuka yang terlindung dari sinar matahari. Proses pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang, bakteri, jamur, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif sehingga dapat disimpan lebih lama dan komposisi kimianya tidak mengalami perubahan. Selain itu, dengan adanya pengeringan yang terlindung dari sinar matahari dapat menghindari kerusakan bahan aktif yang terkandung dalam sampel. Menurut Rusli dan Darmawan (1988) bahwa pengeringan suatu bahan yang terlalu lama dan suhunya yang terlalu tinggi dapat menurunkan mutu karena dapat merusak komponen-komponen yang terdapat di dalamnya.

Sampel yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan saringan 60 – 120 mesh sehingga didapatkan serbuk sampel halus sebesar 200 g. Semakin kecil ukuran serbuk

sampel maka semakin besar luas permukaannya sehingga interaksi antara pelarut dengan sampel akan semakin besar dan senyawa aktif yang terekstrak semakin banyak serta proses ekstraksi akan semakin efektif (Baraja, 2008).

4.3 Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan pada sampel basah dan kering. Kadar air menentukan kesegaran dan daya tahan suatu sampel (Winarno, 2002). Sampel diuapkan dalam cawan penguap dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 105 °C. Penggunaan suhu ini dikarenakan untuk menguapkan air murni diperlukan suhu 100 °C sehingga untuk menguapkan air yang terkandung dalam sampel harus menggunakan suhu di atas 100 °C. Selanjutnya cawan yang berisi sampel ditaruh dalam desikator agar air yang masih tersisa teruapkan secara sempurna. Proses penguapan bertujuan untuk meminimalisir tumbuhnya jamur atau mikroba pada sampel yang nantinya dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Kemudian sampel ditimbang. Perlakuan sampel tersebut diulang-ulang sampai diperoleh berat konstan. Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang telah diuapkan. Kadar air alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kadar air alga coklat *Sargassum cristaefolium*

Alga coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	Warna Alga coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	Kadar air (% b/b)
Sampel basah	Coklat kekuningan	89,5 %
Sampel kering	Coklat kehitaman	8,398 %

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel kering sebesar 8,398 %, hal ini menunjukkan bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air cukup

baik untuk dilakukan proses ekstraksi. Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen yang semakin besar. Apabila kadar air yang terkandung dalam suatu bahan kurang dari 10 % maka kestabilan optimum bahan akan dapat dicapai, pertumbuhan mikroba dapat dikurangi dan proses ekstraksi dapat berjalan lancar (Puspita, 2009).

4.4 Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Pada prinsipnya metode maserasi adalah diperlukan waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan bahan yang diekstrak dan adanya distribusi pelarut organik yang secara terus menerus ke dalam sel tumbuhan yang mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel sehingga senyawa aktif metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Djarwis, 2004).

Menurut Yustina (2008), kelebihan metode maserasi adalah pengerjaannya cukup sederhana, murah, mudah dilakukan dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006). Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode soxhlet karena dikhawatirkan terdapatnya golongan senyawa aktif metabolit sekunder yang tidak tahan panas dalam sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol. Kelebihan dari metanol adalah bersifat inert, memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi (Guenther, 2006). Sampel yang dimaserasi sebanyak 100 g yang dilarutkan dengan metanol sebanyak 300 mL selama 24 jam kemudian dilakukan pengadukan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*) selama 3 jam.

Pengadukan (pengocokan) dengan menggunakan *shaker* diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Baraja, 2008). Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan corong *Buchner*. untuk memisahkan filtrat dan ampas. Penyaringan menggunakan corong *Buchner* dapat membantu mempercepat proses penyaringan karena dilengkapi dengan pipa vakum sehingga tekanan di dalam corong lebih besar daripada tekanan di luar dan menyebabkan filtrat tertarik lebih kuat dan cepat.

Proses maserasi dilakukan sampai diperoleh filtrat yang berwarna bening (pucat), dengan harapan senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran yang sesuai dengan pelarutnya dapat terekstrak secara maksimal pada pelarutnya. Maserasi dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan dengan perlakuan yang sama. Perubahan filtrat yang diperoleh untuk sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah dari warna hijau tua pekat hingga berwarna hijau pucat.

Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator vaccum* untuk mendapatkan ekstrak pekat yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Prinsip utama alat ini terletak pada

penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik didihnya.

Penguapan pelarut metanol dengan *rotary evaporator vaccum* dilakukan pada suhu 50 °C. Penguapan dihentikan sampai diperoleh ekstrak yang cukup pekat yang ditandai dengan berhentinya penetesannya pada labu penampung. Selanjutnya pelarut yang masih bersisa dalam ekstrak diuapkan dengan dialiri gas N₂. Hasil maserasi serbuk alga coklat *Sargassum cristaefolium* ditunjukkan pada Tabel 4.2 dengan perhitungan rendemen berat ekstrak pekat pada Lampiran 3.

Tabel 4.2 Hasil maserasi serbuk alga coklat *Sargassum cristaefolium*

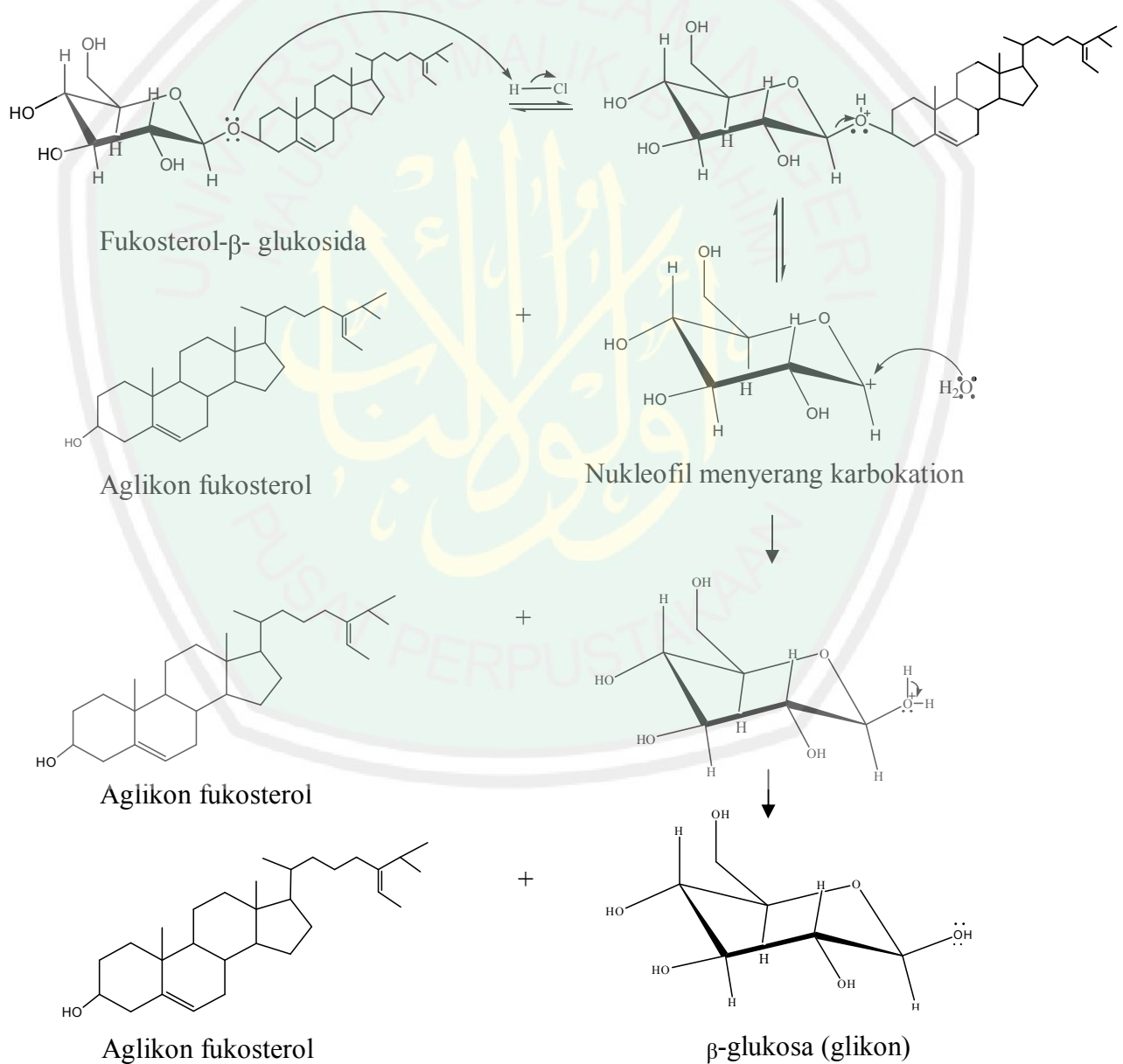
Pelarut	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Serbuk (g)+pelarut (mL)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Metanol	Hijau tua kecoklatan	Coklat pekat	200 g +2400 mL	30,596	15,298 %

Keterangan :Maserasi dilakukan 2 x 100 g

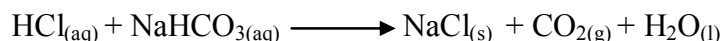
Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak pekat metanol alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebesar 15,298 %. Ekstrak pekat metanol sebanyak 12 g dibagi menjadi 4 bagian (A, B, C dan D), dimana masing-masing bagian sebanyak 3 g. Kemudian bagian A langsung dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. Bagian B, C dan D masing-masing dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 6 mL asam klorida (HCl) 2N ke dalam ekstrak pekat dengan perbandingan (1:2).

Tujuan penambahan HCl 2 N (asam kuat) adalah sebagai katalis untuk mempercepat pemutusan ikatan glikosida antara senyawa glikon (gula) dan aglikon (bukan gula). Reaksi hidrolisis merupakan reaksi *reversible* (dapat balik),

sehingga apabila tidak dihentikan maka akan terbentuk kembali ikatan glikosida antara glikon dan aglikon (Handoko, 2006). Hidrolisat yang di peroleh dinetralkan dengan natrium bikarbonat (NaHCO_3) jenuh. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida yang terjadi ketika penambahan larutan HCl dan penetralan dengan natrium bikarbonat ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.



Gambar 4.1 Dugaan mekanisme reaksi hidrolisis glikosida.



Gambar 4.2 Reaksi antara HCl dan natrium bikarbonat (Mardiyah, 2012)

Proses selanjutnya adalah partisi dengan variasi pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etil asetat, kloroform dan *n*-heksana. Proses partisi dilakukan dengan dua kali pengulangan. Pemilihan pelarut ini dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai (Voight, 1994), dalam proses ini terdapat dua lapisan yang tidak saling bercampur. Lapisan yang bersifat polar (fase air) mengekstrak komponen gula (glikon) sedangkan pelarut semi polar maupun non polar (fase organik) mengekstrak metabolit sekunder (aglikon).

Fraksi hasil partisi dari masing-masing pelarut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga pelarut hampir teruapkan semua, kemudian dihitung rendemen masing-masing fraksi pekat. Rendemen yang diperoleh merupakan hasil dari 3 g berat ekstrak pekat metanol. Nilai rendemen masing-masing pelarut disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil partisi ekstrak metanol dengan variasi pelarut

Pelarut	Warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%) (b/b)
Etil asetat	Hijau kecoklatan	Hitam	3,33 %
Kloroform	Hijau kecoklatan	Hijau kehitaman	3,83 %
<i>n</i> -heksana	Hijau tua kehitaman	Hitam pekat	4,43 %

Nilai rendemen ekstrak pekat fraksi etil asetat dan kloroform lebih kecil dibandingkan ekstrak pekat fraksi *n*-heksana. Diduga kebanyakan senyawa metabolit sekunder yang ada dalam *Sargassum cristaefolium* lebih banyak bersifat

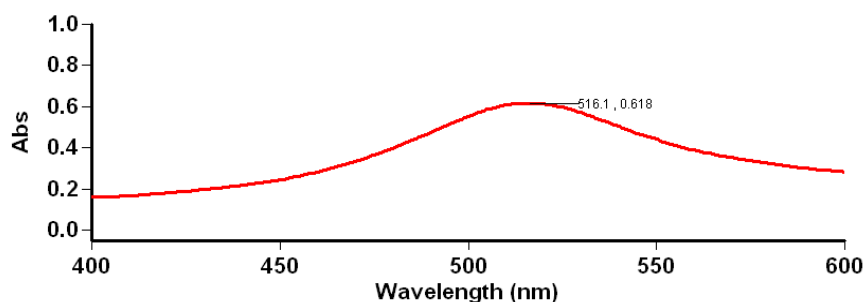
non polar terutama dalam bentuk aglikon. Selanjutnya ekstrak pekat metanol dan ketiga fraksi yang diperoleh dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan DPPH.

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengujian aktivitas antioksidan alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan metode DPPH diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}). Tujuan penentuan λ_{maks} adalah untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi. Menurut Gandjar dan Rohman (2007), pada panjang gelombang maksimum kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Di sekitar panjang gelombang maksimum, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer terpenuhi.

Radikal DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memiliki warna komplementer dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm (Prakash, 2007). Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM diperoleh λ_{maks} sebesar 516,1 nm. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Wulansari (2011) tentang penentuan λ_{maks} DPPH sebesar 516 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

4.5.2 Penentuan Waktu Kestabilan

Penentuan waktu kestabilan ini dilakukan untuk mengetahui waktu di mana sampel dan DPPH sudah bereaksi secara stabil yakni sepenuhnya reaksi antara sampel dengan DPPH yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi (Lu, *et al.*, 2000). Setiap senyawa memiliki waktu kestabilan yang berbeda untuk bereaksi secara sempurna (Brand-William, *et al.*, 2001). Pengukuran waktu kestabilan dilakukan dengan 2 cara yaitu menggunakan inkubasi dengan suhu 37 °C dan tanpa inkubasi (25 – 27) °C. Hasil penentuan waktu kestabilan dari masing-masing fraksi ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Waktu kestabilan masing-masing sampel

Sampel	Waktu kestabilan (menit)	
	Inkubasi	Tanpa inkubasi
Vitamin C	20 – 50	25 – 35
BHT	80 – 120	85 -100
Ekstrak Metanol	35 – 70	25 – 40
Fraksi Etil Asetat	45 – 80	80 – 95
Fraksi Kloroform	95 – 115	45 – 55
Fraksi n-Heksana	65 – 100	75 – 95

Berdasarkan Tabel 4.4 hasil penentuan waktu kestabilan masing-masing sampel menunjukkan bahwa perlakuan inkubasi memberikan waktu kestabilan yang lebih lama dan signifikan dibanding perlakuan tanpa inkubasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Suroso (2011) bahwa sampel yang diinkubasi akan lebih stabil dan memiliki penurunan absorbansi yang lebih signifikan daripada sampel yang tanpa diinkubasi.

Pengujian antioksidan sangat baik jika dinkubasi pada suhu 37 °C karena suhu ini merupakan suhu yang telah terkondisikan sehingga reaksi antara radikal

DPPH dengan senyawa metabolit sekunder akan berlangsung lebih cepat dan optimal. Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang diperoleh stabil. Selain itu, senyawa radikal DPPH akan tereduksi menjadi DPPH-H yang ditandai dengan penurunan intensitas warna dari warna ungu menjadi jingga sampai kuning.

Menurut Gandjar dan Rohman (2007), pada saat awal terjadi reaksi absorbansi senyawa yang berwarna meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh waktu yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak atau terurai sehingga intensitas warnanya turun akibatnya absorbansinya juga turun. Oleh karena itu, sangat penting dilakukan pengukuran senyawa berwarna (hasil suatu reaksi kimia) pada waktu kestabilannya.

Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antiradikal maka DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Adanya penangkapan satu elektron oleh zat antiradikal yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi dimana perubahan ini dapat diukur dan dicatat dengan spektrofotometer (Asih, et al., 2012).

Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning juga disebabkan karena atom N yang memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi $n-\pi^*$. Keadaan dasar pada transisi ini lebih bersifat polar dibandingkan

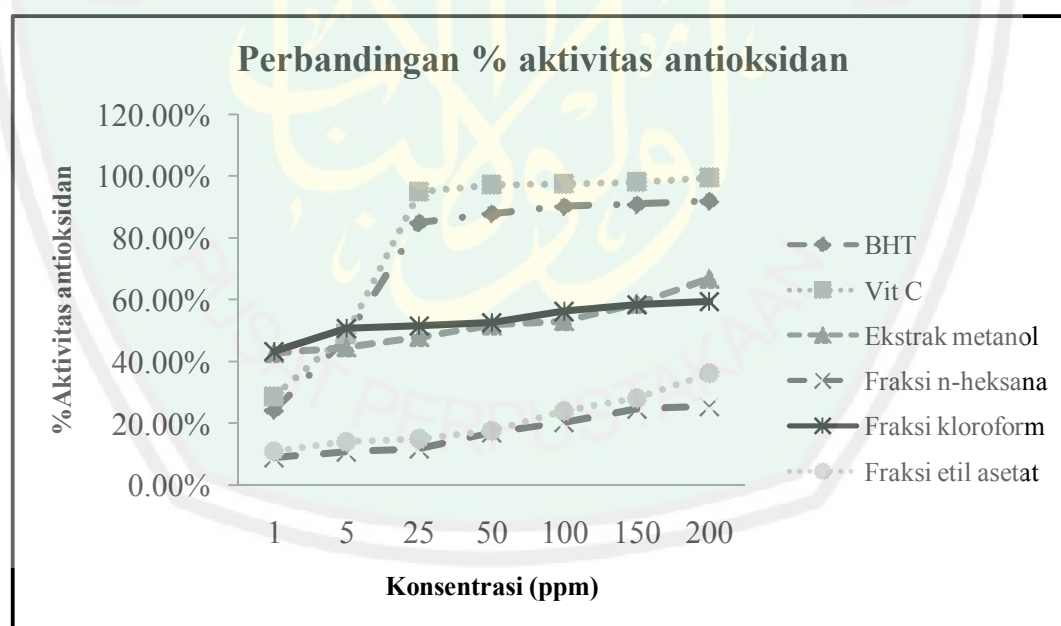
keadaan tereksitasi sehingga ketika DPPH direaksikan dengan senyawa antioksidan maka akan membentuk ikatan hidrogen antara elektron dari atom N dan atom H dari antioksidan. Ikatan hidrogen pada transisi $n-\pi^*$ akan mempunyai energi yang lebih besar sehingga menyebabkan pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih pendek (pergeseran hipsokromik). Hal ini menyebabkan warna DPPH yang awalnya berwarna ungu menjadi DPPH-H yang berwarna kuning. Warna kuning memiliki panjang gelombang 450-480 nm yaitu merupakan perbatasan antara panjang gelombang sinar ultraviolet dan sinar tampak (Gandjar dan Rohman, 2007).

4.5.3 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel dengan Metode DPPH

Pengukuran potensi antioksidan dilakukan pada masing-masing sampel. Setiap sampel dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi yakni 1, 5, 25, 50, 100, 150, dan 200 ppm, kemudian diukur potensi antioksidannya dengan metode DPPH menggunakan UV-Vis pada serapan panjang gelombang 516,1 nm dengan waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Penggunaan kontrol larutan DPPH 0,2 mM pada pengukuran potensi aktivitas antioksidan sangat diperlukan karena larutan kontrol berguna sebagai pembanding dalam menentukan potensi antioksidan sampel (Arindah, 2010).

Persen (%) aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Semakin tinggi persen (%) antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen yang diberikan oleh senyawa aktif kepada radikal DPPH sehingga DPPH tereduksi menjadi DPPH-H (Rahayu, *et al.*, 2010).

Ekstrak *Sargassum cristaefolium* mengalami perubahan warna setelah diinkubasi. Hasil pengukuran masing-masing sampel ketika ditambahkan larutan DPPH mengalami perubahan warna dari ungu tua menjadi ungu pudar sampai kuning. Perubahan warna ini menandakan bahwa masing-masing ekstrak memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Pengurangan intensitas warna ungu tua (DPPH) mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).



Gambar 4.4 Persen (%) aktivitas antioksidan pada sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium*

Pengujian antioksidan pada ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium* dibandingkan dengan antioksidan yang sudah ada yaitu BHT dan asam askorbat. Tujuannya adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada

pada ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Apabila % aktivitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai aktivitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan (Yuliani, 2010). Data persen (%) aktivitas antioksidan pada sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* ditunjukkan pada Gambar 4.4.

Berdasarkan grafik diketahui bahwa persen (%) aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel adalah fraksi kloroform kemudian ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana. Aktivitas antioksidan pada fraksi kloroform meningkat pada konsentrasi 1-200 ppm. Persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh sebesar 50 %. Meskipun demikian, pembanding Vitaimin C dan BHT memiliki persen (%) aktivitas antioksidan yang lebih bagus dibandingkan sampel. Hasil persen (%) aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk mengetahui potensi antioksidan dalam sampel yang ditunjukkan dengan nilai EC_{50} (*effective concentration*). EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 %. Semakin kecil nilai EC_{50} , maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Molyneux, 2004).

Nilai EC_{50} diperoleh dengan mengolah data persen aktivitas antioksidan dan dianalisis menggunakan persamaan regresi non linear dengan menggunakan “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”. Data hasil nilai EC_{50} ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Nilai EC₅₀ pada sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* dan pembandingan asam askorbat dan BHT

No	Sampel	EC ₅₀ (ppm)
1	BHT	4,656 ppm
2	Vit C	3,594 ppm
3	Ekstrak Metanol	16,37 ppm
4	Fraksi Etil asetat	53,08 ppm
5	Fraksi Kloroform	9,245 ppm
6	Fraksi n-Heksana	84,87 ppm

Hasil pengukuran EC₅₀ menunjukkan bahwa sampel yang berpotensi sebagai antioksidan adalah fraksi kloroform dan ekstrak metanol masing-masing sebesar 9,245 dan 16,37 ppm. Nilai EC₅₀ kedua sampel tersebut kurang dari 50 ppm (potensi antioksidan sangat kuat). Hal ini sesuai dengan penelitian Swantara, *et al.* (2012) yang menyebutkan bahwa ekstrak makro alga jenis alga merah (*Gracilaria coronopifolia*) fraksi kloroform yang diperoleh dari daerah Denpasar, Bali memiliki aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 95,24 %.

4.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Ekstrak Kloroform dengan Penambahan Reagen

Identifikasi golongan senyawa aktif (uji fitokimia) merupakan uji kualitatif golongan senyawa aktif pada ekstrak tanaman, dengan tujuan untuk mengetahui senyawa aktif didalamnya. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna (*spot test*) dan busa dengan suatu pereaksi warna serta pemisahannya (Kristanti *et al*, 2006).

Pengujian golongan senyawa aktif dilakukan pada sampel yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yakni fraksi kloroform. Tujuannya adalah untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat pada fraksi kloroform. Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif fraksi kloroform alga coklat *Sargassum cristaefolium* ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji kandungan golongan senyawa aktif fraksi kloroform alga coklat *Sargassum cristaefolium*

Golongan senyawa aktif	Fraksi kloroform	Warna hasil pengamatan	Standar warna
Alkaloid	-	Kuning kecoklatan	Endapan kekuning-kuningan
- Mayer	-	Orange	Endapan jingga
- Dragendorff	-	Putih bening	Merah/ jingga/ hijau
Flavonoid	-	Merah bata	Coklat
Asam askorbat	-	Hijau bening	Terbentuk cincin kecoklatan
Triterpenoid	-	Hijau kebiruan	Hijau kebiruan
Steroid	+++		

Keterangan: +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)

+ = Mengandung senyawa (berwarna)

- = Tidak terkandung senyawa

Berdasarkan hasil uji fitokimia, dapat diketahui bahwa fraksi kloroform mengandung golongan senyawa steroid ditandai dengan perubahan warna sampel dari kuning kecoklatan menjadi biru kehijauan. Menurut Widiyati (2006) banyaknya kandungan senyawa steroid dalam ekstrak tanaman sebanding dengan intensitas warna yang dihasilkan ketika diuji dengan reagen Lieberman Buchard. Artinya, semakin pekat warna yang dihasilkan, dapat diasumsikan kandungan steroid dalam ekstrak juga semakin banyak.

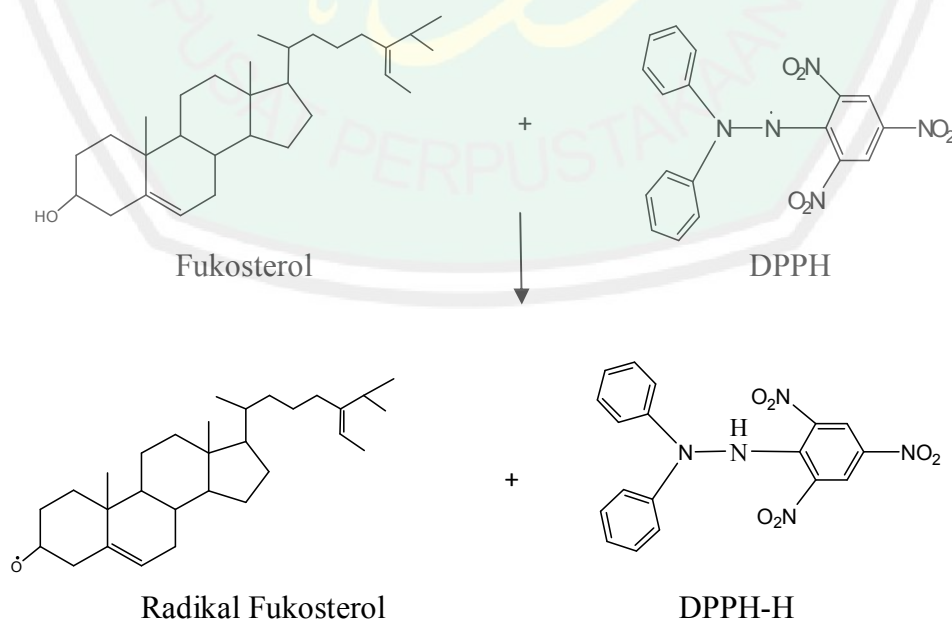
4.6.1 Golongan Senyawa Steroid

Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.7 menunjukkan hasil positif terhadap identifikasi golongan senyawa steroid yang terdapat pada fraksi kloroform yang merupakan fraksi yang merupakan fraksi dengan nilai EC_{50} terendah dengan terbentuknya warna hijau kebiruan setelah ditetesi reagen Liebermann-Burchard.

Beberapa golongan senyawa steroid dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mendonorkan atom H terhadap radikal bebas. Senyawaan steroid

umumnya bersifat non polar namun dengan adanya gugus –OH pada residunya yang sering disebut dengan sterol menyebabkan steroid dapat bersifat semi polar-polar. Gugus hidroksil yang terikat pada rantai hidrokarbon cenderung untuk mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas.

Ahmad, *et al.*, (2013) melakukan uji *antiulcer* dan uji aktivitas antioksidan menggunakan golongan senyawa steroid baru dari tanaman *Morus alba*, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa steroid baru dari tanaman *Morus alba* yaitu albosteroid memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik dalam menghambat proses pembentukan bisul dalam jaringan perut tikus. Selain itu, efek antioksidannya juga semakin meningkat dalam menghambat radikal *lipid peroxidation* (LPO) dalam perut tikus. Dugaan reaksi senyawa steroid yang terdapat dalam alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan DPPH yang berfungsi untuk menghambat radikal bebas ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa Fukosterol dengan radikal DPPH

Berdasarkan mekanisme kerjanya, fukosterol termasuk dalam antioksidan sekunder. Antioksidan yang berfungsi sebagai system pertahanan preventif dengan cara memotong atau memutuskan reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Reaksi pada Gambar 4.5. Fukosterol mampu mereduksi radikal bebas DPPH dengan mendonorkan 1 atom hidrogen sehingga menghasilkan produk radikal, radikal-radikal yang terbentuk bersifat stabil dibanding radikal DPPH.

4.7 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan KLTA

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). KLT analitik digunakan untuk mengetahui eluen terbaik dalam memisahkan senyawa. 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).

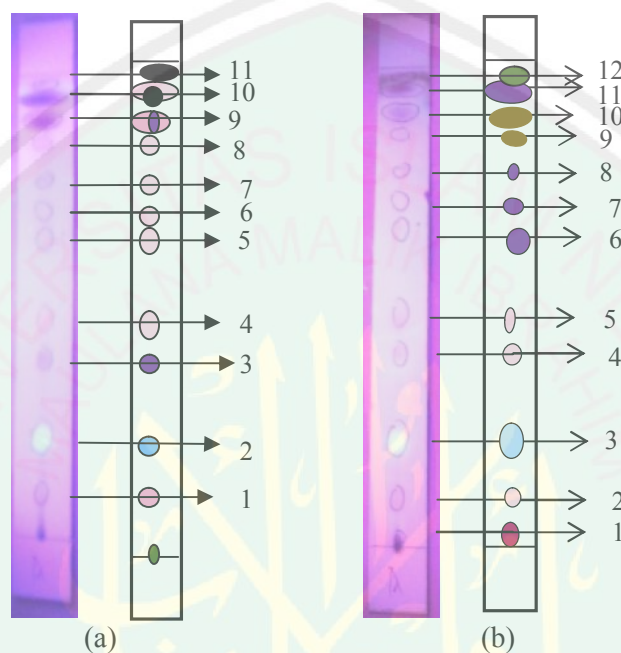
Pada penelitian ini, KLTA dilakukan terhadap sampel yang menghasilkan nilai EC_{50} tertinggi (EC_{50} terkecil) dan memiliki golongan senyawa aktif yang positif pada uji reagen, yakni dilakukan pada fraksi kloroform alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang positif mengandung senyawa steroid. Pengamatan plat dilakukan dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm baik sebelum atau sesudah disemprot dengan pereaksi Lieberman Buchard (LB). Penampakan noda pada λ 366 nm terjadi karena noda terlihat terang pada lampu UV λ 366 nm sedangkan silika gel tidak berfluorosensi pada lampu UV λ 366 nm. Timbulnya

warna pada noda disebabkan karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat pada aoksokrom yang ada pada noda. Fluoresensi cahaya yang nampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula dengan melepaskan energi (Sudjadi, 1988). Senyawa steroid bukan merupakan hidrokarbon aromatik dan bukan merupakan sistem terkonjugasi, sehingga pengamatan noda tidak nampak pada λ 254 nm karena pada λ tersebut hanya menyerap golongan khas dari aromatik, α dan β karbonil tak jenuh dan sistem terkonjugasi (Zahro, 2011). Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid dari fraksi kloroform alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan menggunakan 5 variasi eluen, ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Data penampakan noda senyawa steroid dari hasil KLTA fraksi kloroform alga coklat *Sargassum cristaefolium* pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 366 nm.

No.	Fase Gerak	Jumlah noda dengan pendeteksi Lieberman Buchard	Nilai Rf
1.	n-heksana:etil asetat (4,5:0,5)	8	0,04;0,1;0,19;0,31;0,4;0,56;0,66;0,83
2.	n-heksana:aseton (7:3)	12	0,01;0,09;0,2;0,36;0,45;0,63;0,69;0,75;0,78;0,89;0,94;0,98
3.	n-heksana: etil asetat (6:4)	9	0,06;0,18;0,24;0,39;0,51;0,54;0,68;0,78;0,91
4.	n-heksana:etil asetat (8:2)	7	0,05;0,1;0,16;0,33;0,39;0,45;0,56
5.	n-heksana:etil asetat (7:3)	8	0,05;0,06;0,09;0,26;0,33;0,38;0,46;0,85

Berdasarkan 5 variasi eluen, terdapat satu eluen yang menunjukkan hasil pemisahan yang paling baik. Yakni menggunakan eluen heksana:aseton (7:3) sebagaimana Gambar 4.6 dan Tabel 4.8.



Gambar 4.6 Hasil KLTA senyawa steroid fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* dengan eluen heksana:aseton (7:3). Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm. (a) sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard (b) setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

Tabel 4.8 Hasil KLTA senyawa steroid fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* dengan eluen heksana:aseton (7:3)

No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366 nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	0,01	Merah muda	Merah	-
2	0,09	Biru	Merah muda	-
3	0,2	Ungu	Biru	Steroid
4	0,36	Merah muda	Merah muda	-
5	0,45	Merah muda	Merah muda	-
6	0,63	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,69	Merah muda	Ungu	Steroid
8	0,75	Merah muda	Ungu	Steroid
9	0,78	Merah anggur	Coklat	Steroid
10	0,89	Merah anggur	Coklat	Steroid
11	0,94	Hitam	Ungu	Steroid
12	0,98	-	Hijau tua	-

Nilai R_f (*Retardation Factor*) merupakan jarak yang ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh eluen. Tabel 4.8 menunjukkan nilai R_f berada pada jarak (0,01– 0,98) dengan warna noda yang dihasilkan. Nilai R_f berbeda-beda terkait dengan sifat eluen yang digunakan yakni heksana:aseton (7:3) yang bersifat non polar dan semi polar. Noda dengan R_f terkecil (0,01) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih polar dibandingkan noda pada R_f di atasnya (0,09-0,98). Noda ini bersifat polar karena memiliki nilai koefisien distribusi (D) senyawa yang besar. Koefisien distribusi (D) didefinisikan sebagai perbandingan konsentrasi solut dalam fase diam (C_s) dan dalam fase gerak (C_m). $D = C_s/C_m$, sehingga ketika nilai koefisien distribusi besar maka noda akan lebih tertahan pada fase diam dikarenakan $C_{stasioner} > C_{mobile}$. Sedangkan noda yang mempunyai R_f tertinggi (0,93) menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih non polar dibandingkan noda pada R_f dibawahnya (0,01-0,94). Noda ini bersifat non polar karena lebih terikat kuat pada fase geraknya yang bersifat non polar atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa yang kecil disebabkan $C_{stasioner} < C_{mobile}$.

Diantara 12 noda yang dihasilkan, diduga noda ke-3,6,7,8,9,10 dan noda ke-11 menunjukkan senyawa steroid. Noda ini memiliki nilai R_f dan warna berturut-turut adalah 0,2 (biru); 0,63 (ungu); 0,69 (ungu); noda 0,75 (ungu); 0,78 (coklat); 0,89 (coklat) dan 0,94 (ungu). Dugaan tersebut didukung dari hasil penelitian Syamsudin *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa eluen heksana:aseton (7:3) merupakan eluen terbaik untuk memisahkan senyawa steroid dari ekstrak etanol n-heksana kulit batang asam kandis (*G. parvifolia* Miq) dengan noda yang

terbentuk berwarna biru, ungu sampai coklat. Serta penelitian Handayani *et al.* (2008) menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (7:3) untuk memisahkan senyawa Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*, hasil KLT golongan senyawa steroid dengan pereaksi LB menunjukkan terbentuknya noda berwarna hijau, Biru ungu sampai coklat setelah dideteksi di bawah lampu UV 366 nm. Senyawa steroid dalam fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* yang dihasilkan pada pemisahan ini, diduga bersifat semi polar dan non polar.

4.8 Pemanfaatan Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*) sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Banyak penelitian yang dilakukan pada tumbuhan yang merupakan ciptaan Allah SWT. Salah satunya adalah penelitian tentang uji aktivitas antioksidan dan fitokimia fraksi etil asetat, kloroform, dan n-heksana ekstrak metanol alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Allah seringkali menyeru kepada manusia untuk mempelajari alam dan menyaksikan “ayat-ayat” yang ada padanya. Semua makhluk hidup dan tak hidup di jagad raya ini dipenuhi “ayat” yang menunjukkan bahwa alam semesta beserta isinya telah diciptakan. Disamping itu, alam ini adalah pencerminan dari Kemahakuasaan, Ilmu dan Kreasi pencipta-Nya. Hal ini tidak lain adalah bertujuan untuk meningkatkan keimanan manusia dan merupakan salah satu bentuk ibadah kepada Allah SWT yang berupa kepatuhan manusia dalam menjalankan perintah-Nya dengan memikirkan, mengkaji, melakukan penelitian, dan mengamati segala fenomena alam yang menggambarkan akan kebesaran dan

kekuasaan Allah SWT. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat Ali ‘Imran ayat 190–191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

“*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (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 ‘Imron/3: 190 - 191).

Surat Ali ‘Imran ayat 190 – 191 di atas menjelaskan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT tidak ada yang sia-sia, yang artinya bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan memberikan manfaat yang terkandung di dalamnya yang dapat digunakan untuk kemaslahatan hidup umat manusia. Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu di bumi ini dengan penuh kesempurnaan. Segala ciptaan-Nya menunjukkan betapa Maha Sempurna dan Maha Kuasa Allah sebagai *Rabbul ‘alamin* (Tuhan semesta alam). Selain itu, segala apa yang ada di bumi ini juga menunjukkan betapa besar kasih sayang Allah SWT kepada manusia.

Dalam mengkaji dan mempelajari al Qur’an, Allah SWT menyuruh umat manusia untuk mempelajari fenomena alam yang ada. Kita diperintahkan untuk menghayati dan meneliti ciptaan-ciptaan Allah SWT, terutama tumbuhan. Tumbuhan merupakan ciptaan Allah SWT yang paling banyak manfaatnya bagi

manusia (Mahran dan Mubasyir, 2006). Tumbuhan mengandung banyak manfaat yang dapat digunakan dalam kemaslahatan hidup manusia. Allah SWT berfirman dalam surat as Syuara ayat 7 yang berbunyi:

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 berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. as Syuara: 7).

Berdasarkan ayat tersebut, kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Maka manusia dengan kelebihan akal yang dimiliki harus berfikir dengan memanfaatkan nikmat alam yang telah Allah SWT berikan seperti tumbuhan yang hidup di laut misal alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

Penelitian yang dilakukan telah membuktikan bahwa alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat berpotensi sebagai antioksidan. Hal ini ditunjukkan dalam hasil penelitian Lailiyah (2013) tentang uji kapasitas antioksidan dan kandungan total senyawa fenolik total ekstrak kasar alga coklat jenis (*Sargassum cristaefolium*) dari pantai Sumenep Madura dengan menggunakan metode DPPH. Menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol memiliki kandungan fenolik total sebesar 74,63 mg GAE/g sampel lebih tinggi daripada ekstrak kasar n-heksana 35,85 mg GAE/g. Sedangkan kapasitas antioksidan ekstrak kasar metanol sebesar 80,785 % lebih besar dibandingkan dengan ekstrak n-heksana 74,98 %. Kedua ekstrak tersebut memiliki kapasitas antioksidan yang tergolong sedang jika dibandingkan dengan antioksidan kuat, asam askorbat 99,26

% dan BHT 99,09 %. Hasil identifikasi golongan senyawa dengan menggunakan uji reagen ekstrak kasar metanol pada alga coklat *Sargassum cristaefolium* mengandung golongan senyawa steroid.

Dalam penelitian ini, mengenai uji aktivitas antioksidan dan fitokimia fraksi etil asetat, kloroform, dan *n*-heksana ekstrak metanol alga coklat *Sargassum cristaefolium* dari perairan Sumenep Madura didapatkan hasil bahwa ekstrak kloroform alga coklat *Sargassum cristaefolium* dari perairan Sumenep Madura menghasilkan nilai EC₅₀ sebesar 9,245 ppm. Nilai EC₅₀ kedua ekstrak tersebut kurang dari 50 ppm (potensi antioksidan sangat kuat). Pemanfaatan alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebagai antioksidan merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan kebesaran Allah SWT. Allah SWT menciptakan penyakit dan Dia juga yang membuat obatnya.

"Allah tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya. Barang siapa mengerti hal ini, ia mengetahuinya dan barang siapa tidak mengerti hal ini, ia tidak mengetahuinya kecuali kematian ." (HR. Ibnu Majah).

Seperti halnya Rasulullah SAW telah memberikan petunjuk tentang cara mengobati diri beliau sendiri, keluarganya dan para sahabat yaitu menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran kimia. Pengobatan Nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat alamiah, obat ilahiyah dan kombinasi obat alamiah dan ilahiyah. Pengobatannya berdasarkan wahyu Allah SWT tentang apa yang bermanfaat dan yang tidak berbahaya, misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat merupakan salah satu

sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah SWT dan meneladani cara pengobatan Nabi (Al-Jauziyah, 2008).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Fraksi hidrolisis alga coklat *S. cristaefolium* yang memiliki potensi antioksidan tertinggi adalah fraksi kloroform dengan nilai *Effective concentration* (EC₅₀) sebesar 9,245 ppm.
2. Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* mengandung golongan senyawa steroid.

5.2 Saran

Perlu dilakukan isolasi (pemisahan) dan pemurnian dari fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* untuk mengetahui senyawa murni dari golongan steroid yang berpotensi sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1986. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Karunika Universitas Terbuka.
- Ahmad, M. M. 2006. Anti Inflammatory Activities of *Nigella Sativa* Linn. (kalogi, black seed), (online), ([http:// lailanurhayati. Multiply.com/ jurnal](http://lailanurhayati.Multiply.com/jurnal)) (diunduh pada tanggal 29 Juni 2012).
- Ahmad, A., Gaurav G., Muhammad A., Imran K., Firoz A. 2013. Antiulcer and antioxidant activities of a new steroid from *Morus alba*. *Life sciences* 92: 202-210. Health Information Technology Department, Jeddah Community College.
- Ajisaka, T., Huynh, Q.N., Nguyen, H.D., Lu, B., Put, A., Jr, Phang Siew Moi, Noro, T., dan Yoshida, T. 1997. Taxonomic and Nomenclature study of *Sargassum duplicatum* Bory and Related Species. In: *Taxonomic Of Economic Seaweeds*. (Abbott, I.A. Eds) Vol.6, pp.27-36. La Jolla, California: California Sea Grant College System.
- Al-Jauziyah. 2008. *Ath-thibbun Nabawi, Pengobatan Cara Nabi Muhammad SAW*. Surabaya: Arkola.
- Anggadiredja, J., Irawati, S., dan Kusmiyati. 2006. *Rumput Laut: Pembudidayaan, Pengolahan, dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, Inc.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arifin, H., Anggraini, N., Dian, H., dan Rasyid, R. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia cumini* Merr. *Jurnal*. Jakarta: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas.
- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum muricatum* Aiton) yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Arnelia. 2002. Fitokimia, Komponen Ajaib Cegah PJK, Diabetes Mellitus & Kanker. [http://:www.kimianet.lipi.go.id/ utama.cgi](http://www.kimianet.lipi.go.id/utama.cgi). artikel.

- Asih I. A. R. Astiti dan Setiawan I M. A. 2010. *Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak n-Butanol Kulit Batang Bungur (Lagerstroemia speciosa Pers.)*. Bali: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. ISSN 1907-9850.
- Aslan, L. M. 1995. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta: Kanisius.
- Auterhoff, H., dan Kovar, K.A. 1987. *Identifikasi Obat*. Bandung: ITB.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak daun Ficus elastic nois ex lume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tips. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Brand, W.W. 1995. *Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant activity*. London: Elsivier Applied Science. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology.
- Bhadury P, Wright PC. 2004. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *P lanta* 219:561578 doi: 10.1007/s00425-004-1307-5.
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Bandung: Bumi Aksara.
- Chapman, VJ. 1970. *Seaweeds and Their Uses*. London: Methuen and Co. LTD.
- Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., dan Rahmawati, R. 2010. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Jurnal*. Lampung: Universitas Lampung.
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS JAKARTA.
- Elsie, B.H., Dhanarajan, M.S., dan Sudha, P.N. 2011. Invitro Screening Of Secondary Metabolites And Antimicrobial Activities Of Ethanol And Acetone Extracts From Red Seaweed Gelidium Acerosa. *Journal Of Chemistry Research*. India: Department Of Bio-Chemistry, Jaya College of Arts and Science, Thirunindravur, TamilNadu. 2(2), 1-3.
- Fahri, M., Risjani, Y., dan Sasangka, P. 2010. *Isolation and Identification of Flavonoids Compounds and Toxicity Test Of Methanol extract From Brown Algae (Sargassum cristaefolium)*. Malang: UB.

- Farooqi, M. I. H. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam; Manfaat Tumbuhan menurut Al-Qur'an dan Sunah Nabi*. Penj. Ahmad Y. Samantho. Jakarta: Penerbit Hikmah (PT Mizan Publika).
- Faten, M., Abou, E., and Emad, A.S. 2009. Antioxidant Activity of Extract and Semi-Purified Fractions of Marine Red Macroalga, *Gracilaria Verrucosa*. Australian. *Journal of Basic and Applied Sciences*. Kairo: Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Cairo University. 3(4), 3179-318.
- Febriany, S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara *In Vitro*. *Skripsi* tidak diterbitkan. Bogor: Fakultas MIPA IPB.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I.B., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. London: Elsvier Applied Science.
- Grice, H.C.1986. Safety Evaluation of Butylated Hydroxy Toluene (BHT) in The Liver, Lung and Gastrointestinal Tract. *Journal of Food Chemistry and Toxicology*. 24: 1127-1130.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jakarta : Universitas Jakarta.
- Gunawan, D. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya..
- HAM, M., 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Hanani, E., Abdul, M., dan Ryany, S. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia sp dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II (3) :127-133. ISSN: 1693-9883.
- Handayani D., N. Sayuti dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*, Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.

- Handoko, D.S.P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis. *Jurnal*. Jember: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember. *SIGMA*. Vol.9 No.1 ISSN 1410-5888.
- Harborne, J. 1987. Metode Fitokimia: *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan Kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- 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.
- Hayati, E.K., dan Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethally Test Against *Artemia salina* Leach Anting-anting (*Achalypha indica* Linn.) Plant Ekstrak. *ALCHEMY* Vol. No. 2, hal 53-103.
- 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.). *Jurnal Molekul*. Vol. 7. No. 1.
- Hendayana, S. 2006. Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern. Bandung: Remaja Posdakarya.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Artikel Kimia. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Husnah, M. 2009. Identifikasi dan Uji Anktivitas Golongan senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar buah Pepino (*Solanum Muricatum* Aiton) Berdasarkan Variasi Pelarut. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Izzati, M. 2007. Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. *Jurnal BIOMA*. Semarang: Universitas. Vol. 9, No. 2, 62 – 67. ISSN: 1410-8801.
- Kaur, N., and Murphy, J.B. 2012. Enhanced Isoflavone Biosynthesis in transgenic Cowpea (*Vigna unguiculata* L) Callus. Urbana-Campaign, USA: University of Illinois Departement of Crop Sciences. *Academy Journal-Plant Mol Biol Biotechnol* 2012 3(1):1-8.
- Khazanda, K.A., Wazir, S.T.G., Samina, K., dan Shahzadi, S. 2007. *Antifungal Activity, Elemental Analysis And Determination Of Total Protein Of Seaweed, Solieria Robusta (Greville) Kylin From The Coast Of Karachi*.

National Center of Excellence for Analytical Chemistry. Pakistan: University of Sindh, Jamshoro-76080.

- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniai, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kumala, L.D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Kusumastanto, T. 2011. Pengembangan Sumberdaya Kelautan Dalam Memperkokoh Perokonomian Nasional Abad 21. *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan. Bogor: Insitut Pertanian Bogor.
- Kutsiyah. 2012. Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Total dan Kapasitas Antioksidan Algh Merah *Euchema spinosum* dari Pantai Lobuk Madura. *Skripsi* tidak diterbitkan Fakultas Sains Dan Teknologi Jurusan Kimia Uin Maliki Malang.
- Lailiyah, A. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Total Estrak Kasar Alga Coklat Jenis *Sargassum cristaefolium* dari Pantai Sumenep Madura. *Skripsi* tidak diterbitkan Fakultas Sains Dan Teknologi Jurusan Kimia Uin Maliki Malang.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah* Tidak Diterbitkan. Medan: MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lestario, N.L., Sugiarto, S., dan Timotius, K.H. 2008. Aktivits antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana. Vol XIX No 2.
- Leong, L.P., dan Shui, G. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry*, 76: 69–75.
- Lu Y., Foo F.Y. 2000. Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Polyphenols from Apple. *Journal of Food Chemistry*, 68: 81–85.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspective*. New York: Marcell Dekker Inc.

- Mahran, J., Mubasyir, A.A.H. 2006. *Al-Qur'an Bertutur Tentang Makanan dan Obat-obatan*. Yogyakarta: Mitra Pustaka.
- Manilal. A., Sujith, S., Selvin, J., Kiran, G.S., dan Shakir, C. 2009. In vivo Antiviral Activity of Polysaccharide from the Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management, *Journal of Fish and Marine Sciences*. Department of Microbiology. India: Bharathidasan University. 1 (4): 278-282.
- Mardawati, E. 2008. Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Laporan Akhir Penelitian*. Bandung: Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran.
- Mardiyah, U. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri (UIN) Maliki Malang.
- Mark, H.F. 2013. *Encyclopedia Of Polymer Science and Technology, Concise*. John Wiley and Sons. ISBN 0470073691, 9780470073698.
- Mawaddah, R. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Skripsi IPB Bogor*.
- Meenakshi, S., dan Gnanambigai, D.M. 2009. Total Flavanoid and in vitro Antioxidant Activity of Two Seaweeds of Rameshwaram Coast. *Global Journal of Pharmacology*. India: Tamil Nadu. 3(2), 59-62.
- Molyneux, P. 2003. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. Institute of Food Research Colney, Norwich, United Kingdom. Vol 26(2) : 211-219.
- Moosa, M.K. 1999. Sumberdaya Laut Nusantara, Keanekaragaman Hayati Laut dan Pelestariannya. Loka Karya Keanekaragaman Hayati Laut, Pemanfaatan secara Lestari dilandasi Penelitian dan Penyelamatan. Jakarta: Widy Graha LIPI.
- Mulyono, 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Nishizawa. 2005. *Non Reductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) by Peroxyradical: A Useful Method for Quantitative Analysis of Peroxyradical*, Japan, Published Online. [www.53714 DPPH&ASCORBAT](http://www.53714.DPPH&ASCORBAT) =

- print.pdf*. Diakses tanggal 30 Juli 2010.
- Okta, M., Gulcin, I., and Kufrevioglu, O. 2003. Determination of In Vitro Antioxidant Activity of Fennel (*Foeniculum vulgare*) Seed Extract. *Journal Of Food Science & Technology*. London: Published/Hosted by Elsevier Science. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology, Vol. 36: 263-271.
- Paiva, S.A., and Russell, M.R. 1999. β -Carotene and Carotenoids As Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. Brazil: Estadual Paulista University. 18(5): 426-433.
- Parwata, I.M.O.A., Wiwik, S.R., dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*. Vol. 3 (1): 7-13. ISSN: 1907-9850.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of Analytical Chemistry*. Medallion Laboratories: Analytical Progress. Vol 10, No. 2.
- Puspita, M.D.A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran untuk Pemisahan Komponen Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*). *Skripsi Diterbitkan*. Bogor: Departemen Kimia Fakultas MIPA IPB.
- Rahayu, D.S., Dewi, K., dan Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH). *Skripsi Diterbitkan*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Rachmat, R. 1999. Kandungan dan Karakteristik Fisiko Kimia Alginat dari *Sargassum* sp. yang Dikumpulkan dari Perairan Indonesia. Jakarta : Laboratorium Produk Alam Laut, Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Reveny, J. 2009. *Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle* Linn.). Medan: Fakultas farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB
- Rohman, A., dan Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *Journal Agritech*. Vol, 25 No 3;131-136.
- Rohmatussolihat.2009. Antioksidan dan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *BioTrends/Vol. 4/No.1*.
- Rusli, S. dan D. Darmawan, 1998. Pengaruh Cara Pengeringan dan Type Pengeringan Terhadap Mutu Jahe Kering. *Buletin*. Litro 3(2) : 80 – 83.

- Saifudin, A., Suparti, Fuad, A., dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus* [L] G. Don Berbunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* Vol. 7 No. 2 2006-92-102.
- Salamah, E., Ayuningrat, E., dan Purwaningsih, S. 2008. Penapisan Awal Komponen Bioaktif dari Kijing Taiwan (*Anodonta Woodiana* Lea.) Sebagai Senyawa Antioksidan. *Buletin Teknologi Perikanan*. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Savitri, E. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Malang.
- Sax, D., dan Lewis, R., 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.
- Shahidi, F., Wanasundoro, U., and Amarowicz, . 1995. *Isolation and Partial Characterization of Oil Seed Phenolics and Evaluation of Their Antioxidant Activity, Dalam Charolambous, editor, Food Flavors; Generation, Analysis and Process Influence*. London: Elvisier Applied Science.
- Sherwin, F.R., 1990. *Antioxidant. In: Food Additive* (ed. Branen R). New York: Marcel Dekker.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Silva, C., P. Basson, and R. Moe. 1996. *Catalogue of the Benthic Marine Algae of the Indian Ocean*. Volume 79 of University of California Publications in Botany (ISBN 0-520-09810-2).
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Soematmadji, D.W. 1998. Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM. dalam: *Medica*. 5 (24): 318-325.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalipha Indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). *Skripsi* Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Subagya, H. 1987. *Budidaya Alga Sargassum sp.* Jakarta: Ganox.

- Sudjaji. 1988. *Metode Pemisahan. Buku*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sulastry, S dan Kurniawati, N. 2010. Isolasi Steroid dari Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Plucea indica* L). *Jurnal Chemichal*. Vol.11 No.1 Hal 52-56
- Supari F. 1996. Radikal Bebas dan Patofisiologi Beberapa Penyakit. Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan: Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Bogor: Kerjasama Pusat Studi Pangan & Gizi IPB dengan Kedaulatan Perancis.
- Suroso, H.C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif pada Tanaman Ating-anting (*Achalypha Indica* L.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Suryohudoyo, P. 1993. Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNAIR.
- Swantara, D.I., Parwata, A.,O. 2012. *Kajian Senyawa Antioksidan pada Rumput Laut dari Pantai Sekitar Bali*. Bali: Universitas Udayana.
- Syamsudin, S. Tjokrosonto., S. Wahyuono dan Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplasmodium dari Dua Fraksi Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Skripsi* tidak diterbitkan. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta.
- Tahir, I., Wijaya, K., dan Widianingsih, D. 2003. Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/Flavonol. *Artikel Seminar Chemometrics- Chemistry*. Yogyakarta: Dept Gajah Mada University.
- Tensiska, Marsetio, dan Silvia, O.N.Y. 2007. *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon Dari Ampas Tahu*. Hasil Penelitian Dosen Jurusan Teknologi Industri Pangan. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N.S., Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Wanasundara, P., & Shahidi, F. (2005). *Antioxidants: Science, Technology, and Applications. Agriculture*. Canada: Memorial University Of Newfoudland.
- Wibowo, S.T. 2001. Potensi Jenis-Jenis Rumput Laut dari Pantai Sayang Heulang-Pameungpeuk Garut Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi*. Bogor: Jurusan biologi, Institut Pertanian Bogor.

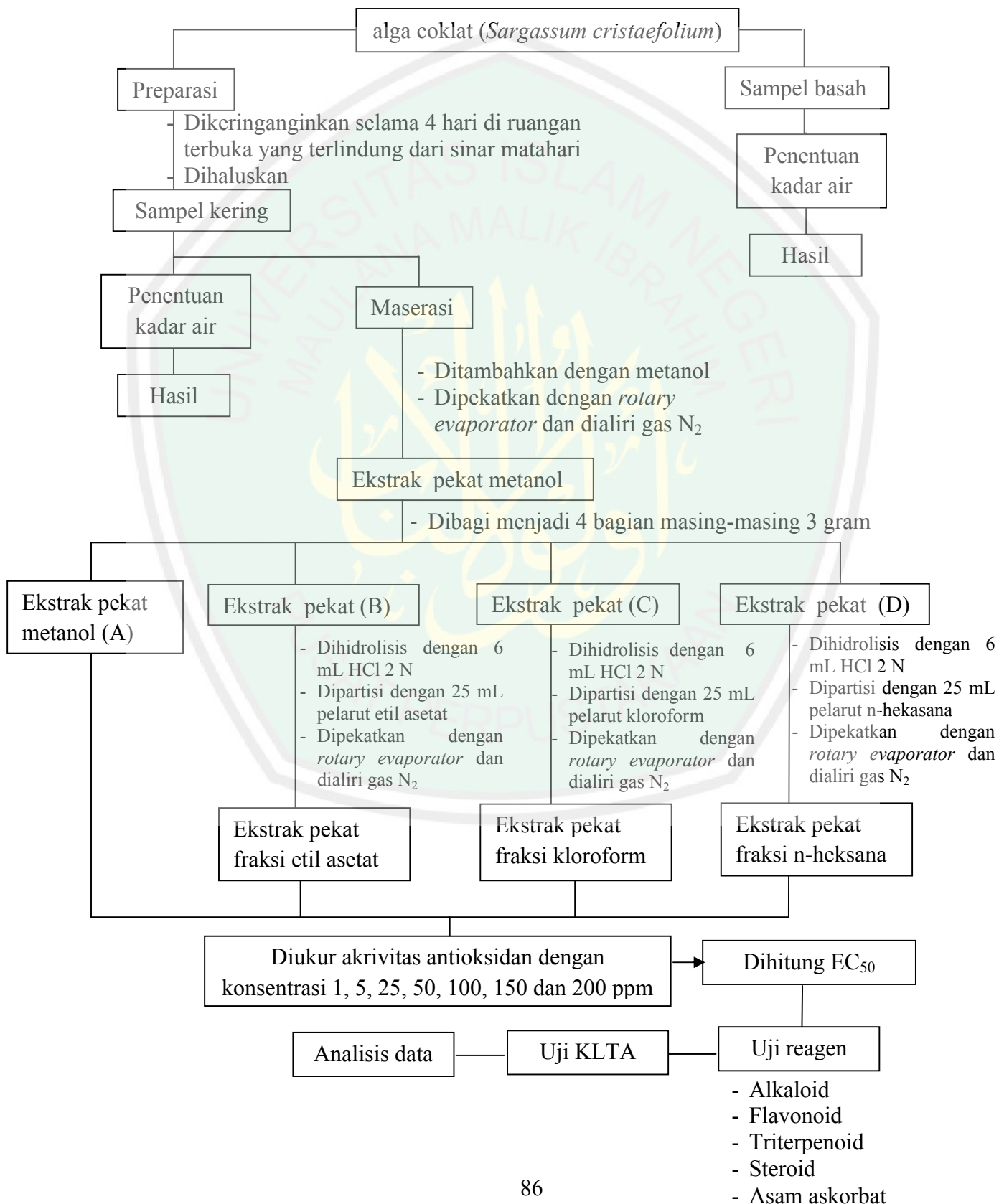
- Wichi, H.P. 1988. Enhanced Tumor Development By Butylated Hydroxyanisole (BHA) From The Prospective of Effect on Forestomach and Oesophageal Squamous Epithelium. *Journal Of Food Chemistry and Toxicology*. Vol. 26: 717-723.
- Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. Bengkulu: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu. *Jurnal Gradien* Vol.2 No.1 Januari 2006: 116-122.
- Winarno F.G. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT, Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wong, K.H., and Cheung, C.K. 2000. Nutritional Evaluation Some Subtropical Red And Green Seaweeds. Part I-Proximate Composition, Amino Acid Profiles and Some Physico-Chemical Properties. *Journal of Food Chemistry*. Hongkong: Department of Biology, The Chinese University of Hong Kong. 71: 475-482.
- Wulansari, D., Chairul. 2011. Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2,2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (DPPH). *Majalah Obat Tradisional*. Bogor: Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Yan, X., Nagata, T., and Xiao, F. 1998. Antioxidative Activities in Some Common Seaweeds. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition Institute of Oceanology*. Japan: Academic Publisher. 52: 253–262.
- Yuliani, D. 2011. *Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (Nigella sativa, L.)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Yustina. 2008. *Daya Antibakteri Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (Foeniculumvulgare mill) dan Kulit Batang Pulasari (Alyxia reinwardtii bl)*http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/yustina.pdf. (diunduh tanggal 01 Desember 2009).
- Zahro, I.M. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak n-Heksana Tanaman Anting-Anting (*Acalipha indica* Linn.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Zandi, K., Saeed, T., Iraj, N., Zahra, R., Forough, Y., Samin, S., dan Kohzad, S. 2010. *In Vitro* Antitumor Activity of *Gracilaria corticata* (A Red Alga) Against Jurkat And Molt-4 Human Cancer Cell Lines. *Journal of Biotechnology*. Bushehr Iran: University of Medical Sciences. 9(40): 6787-6790.

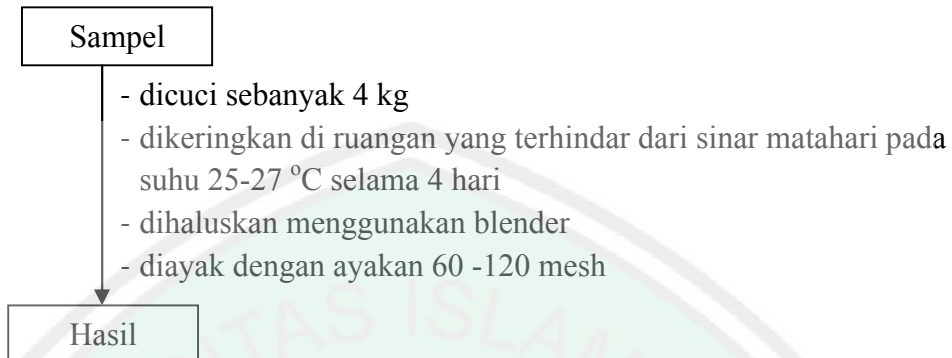


Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

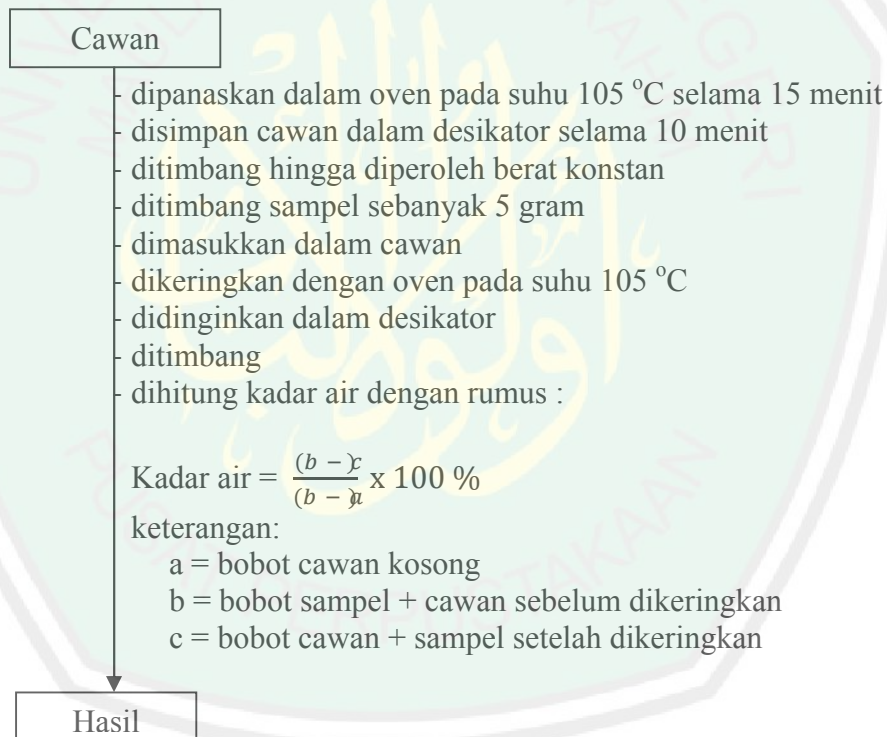
Rancangan Penelitian



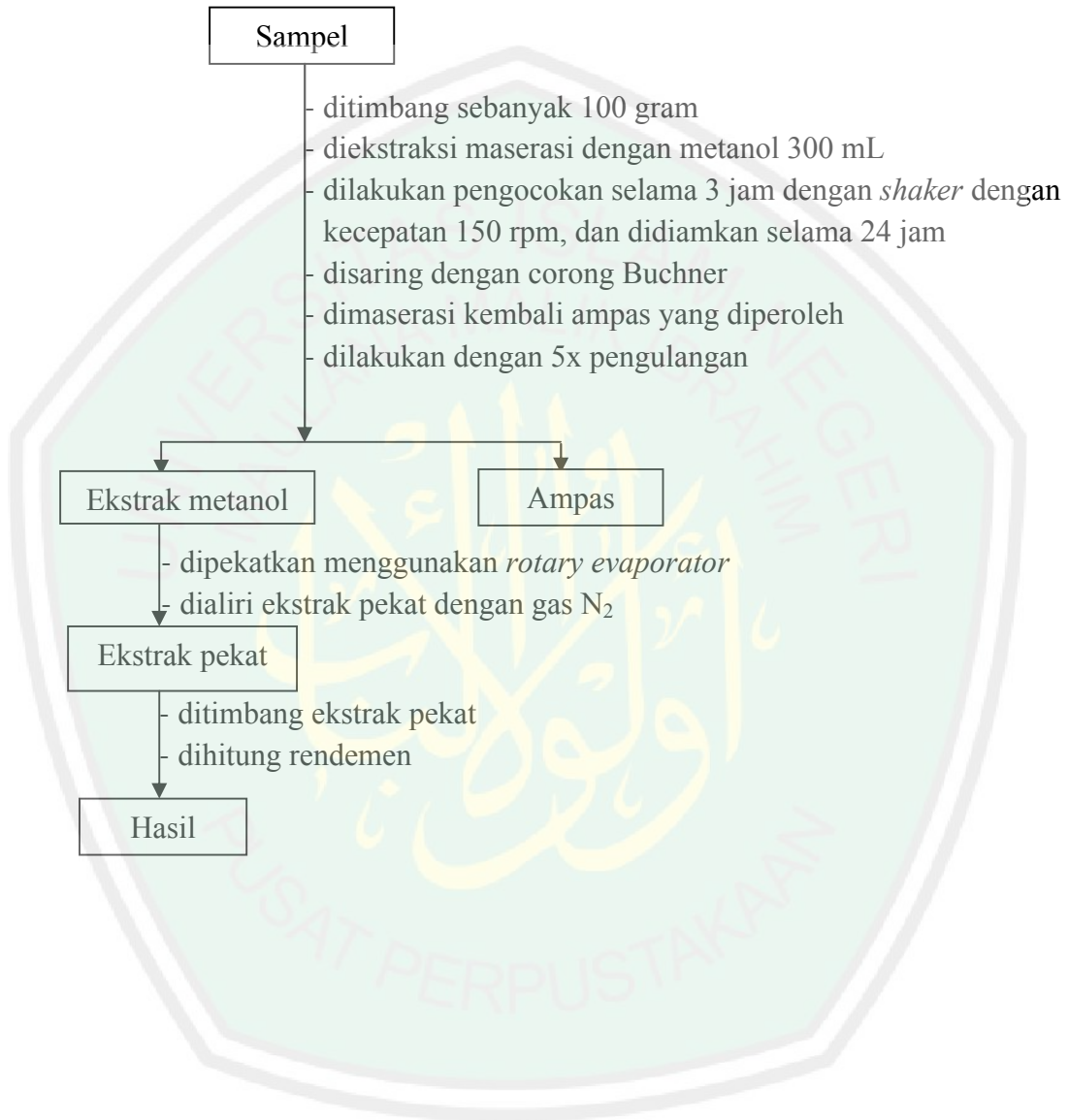
A. Preparasi Sampel

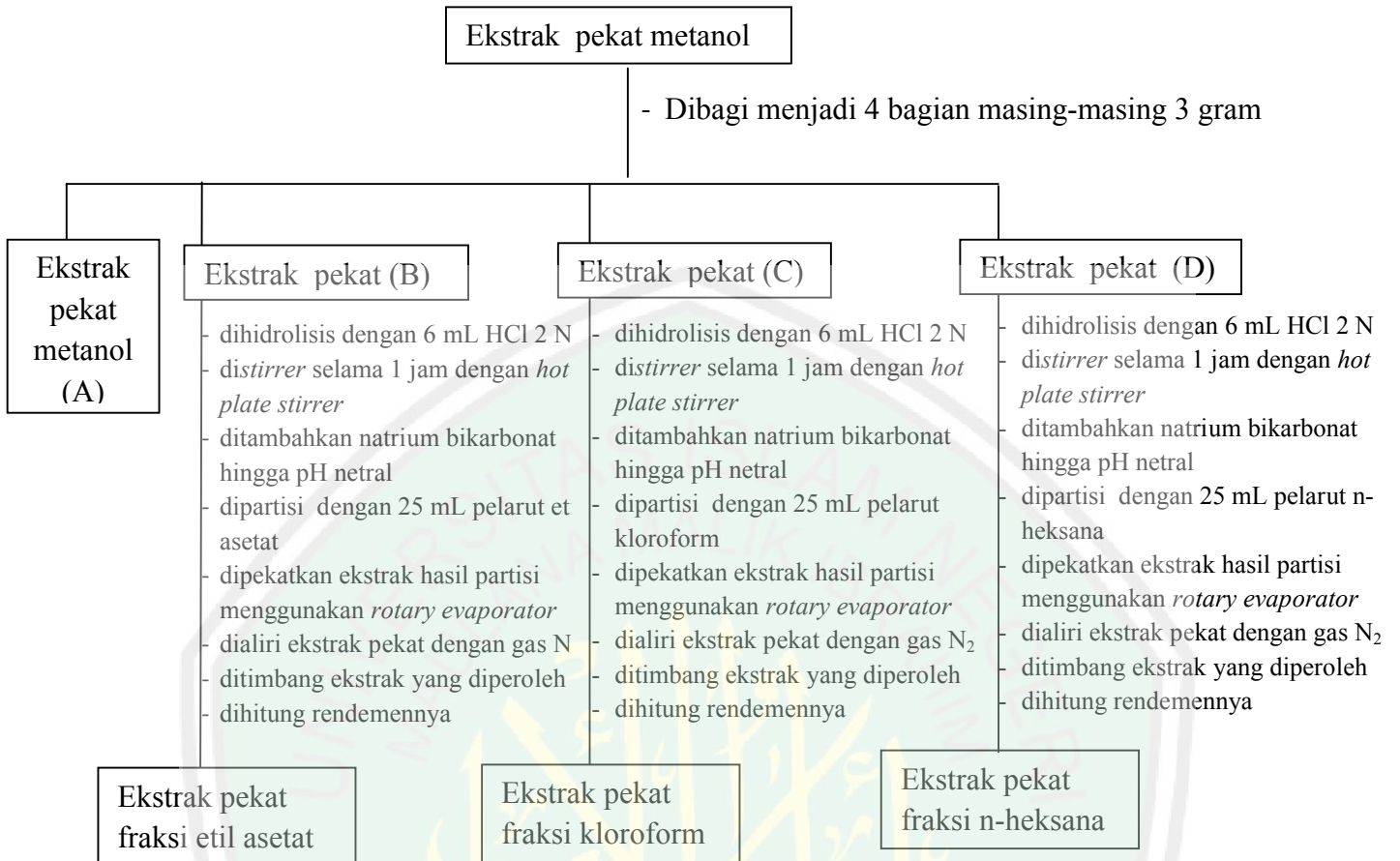


B. Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri (AOAC, 1984)



C. Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*





D. Uji Antioksidan dengan DPPH

- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- ditambah 4,5 mL etanol
- didiamkan selama ± 10 menit
- dimasukkan ke dalam kuvet

Hasil

- Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Larutan ekstrak

- dibuat larutan ekstrak 200 ppm sebanyak 4,5 mL
- ditambahkan 1,5 mL larutan DPPH 0,2 mM
- diinkubasi pada suhu 37 °C
- dimasukkan campuran ke dalam kuvet
- diukur absorbansi pada λ_{maks}
- dicari waktu kestabilan pada rentang waktu 5 – 120 menit

Hasil

- Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Konsentrasi 100 ppm

a. Absorbansi Kontrol

DPPH 0,2 mM

- diambil sebanyak 1,5 mL
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan pelarut dari masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan
- dipindahkan ke dalam kuvet
- diukur absorbansinya pada λ_{maks}

Hasil

b. Absorbansi Sampel variasi konsentrasi

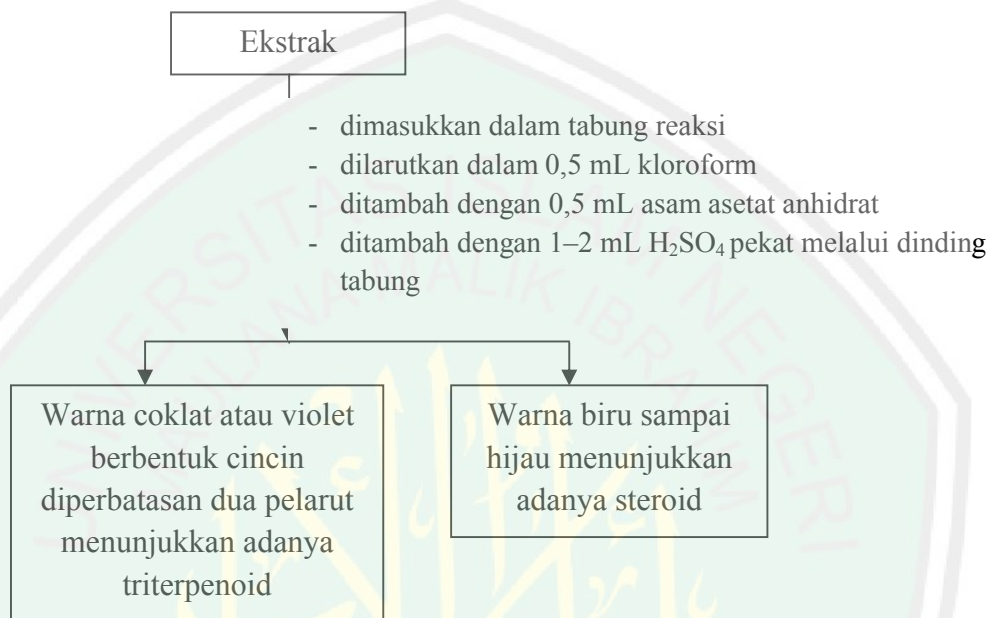
Ekstrak kasar masing-masing fraksi

- dilarutkan pada pelarutnya dengan konsentrasi 1, 5, 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm
- diambil masing-masing larutan ekstrak sebanyak 4,5 mL
- ditambahkan 0,2 mM DPPH sebanyak 1,5 mL
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan
- dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansi pada λ_{maks}

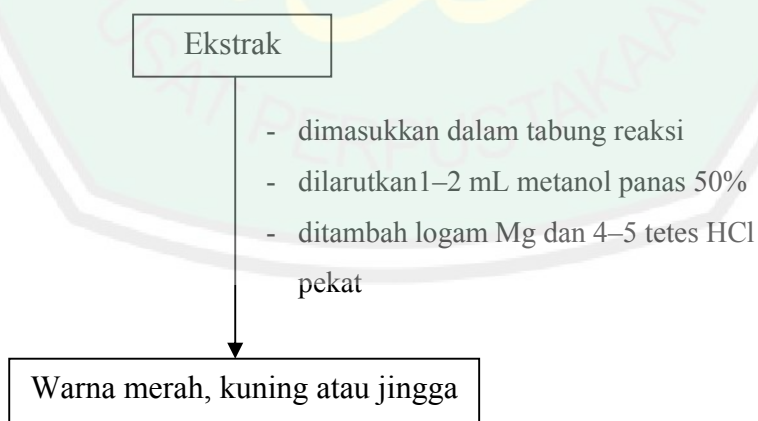
Hasil

E. Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Secara Kualitatif

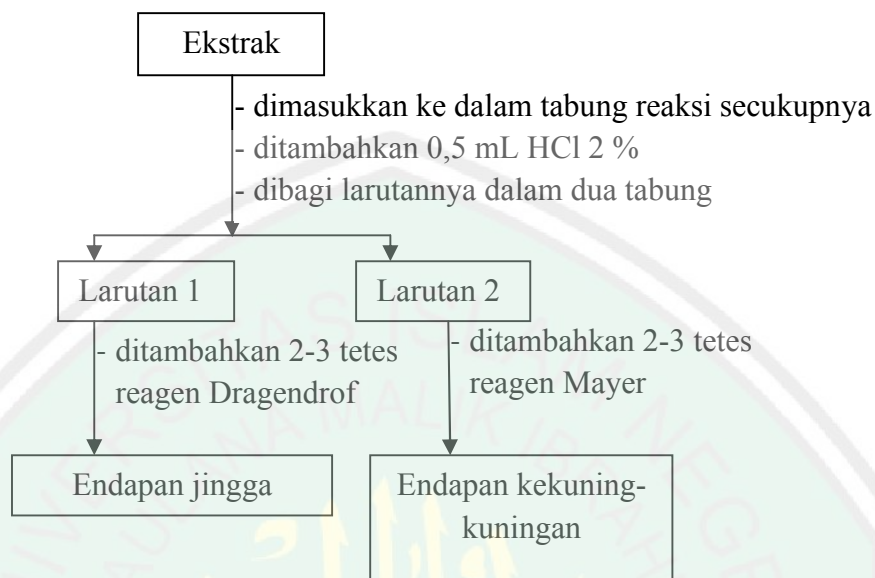
- Identifikasi Triterpenoid dan Steroid



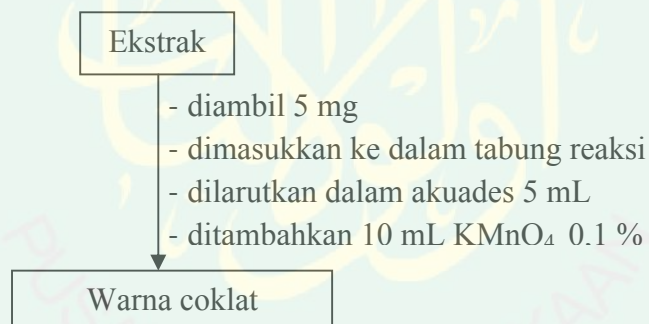
- Identifikasi Flavonoid



- Identifikasi Alkaloid

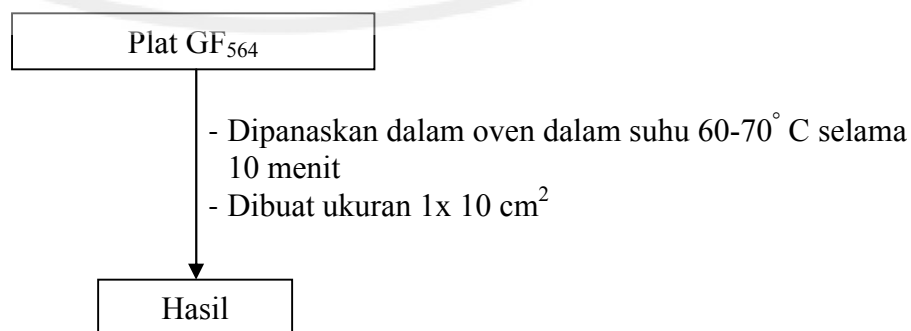


- Identifikasi Asam Askorbat



F. Uji Fitokimia dengan KLT

- Aktifasi plat



Ekstrak pekat

- ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat silika gel F₂₅₄ ukuran 1x10 cm yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 80 °C selama 30 menit
- dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak berikut ini:

Golongan senyawa	Fase gerak
Alkaloid	Metanol:kloroform (0,5:95)
Flavonoid	Kloroform: metanol (9:1)
Saponin	<i>n</i> -heksan:aseton (4:1)
Triterpenoid	<i>n</i> -heksan:etil asetat (1:1)
Steroid	Kloroform:metanol (99:1)

- dihentikan elusi setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas
- dikeringanginkan dan dapat diukur nilai Rf nya
- diperiksa di bawah sinar UV noda-noda pada permukaan plat pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm pada masing-masing hasil nodanya.

Hasil

Tabel 1. Jenis-jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Alkaloid	<ol style="list-style-type: none"> 1. etil asetat-metanol (3:1) 2. benzena-etil asetat (1:4) 3. kloroform-metanol (1:4) 4. kloroform-metanol (9,5:0,5) 5. kloroform-metanol (8:3) 	Pereaksi Dragendorff	Oranye-merah, coklat, coklat jingga
Flavonoid	<ol style="list-style-type: none"> 1. butanol-asam asetat-air (3:1:1) 2. butanol-asam asetat-air (9:2:6) 3. butanol-asam asetat-air (4:1:5) 4. kloroform-metanol-air (9,7:0,2:0,1) 5. metanol-kloroform (1:39) 	Diuapi dengan amoniak	biru kehijauan, hijau kekuningan lembayung dan kuning kecoklatan
Saponin	<ol style="list-style-type: none"> 1. kloroform-metanol-air (64:50:10) 2. kloroform-metanol-air (13:7:2) 3. kloroform-metanol (95:5) 	Pereaksi Lieberman-Burchard dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit	Biru, ungu, ungu-ungu gelap
	<ol style="list-style-type: none"> 4. kloroform-metanol-air (3:1:0,1) 5. kloroform-metanol-air (20:60:10) 	H ₂ SO ₄ 50 % diikuti dengan pengeringan selama 15 menit pada suhu kamar dan dipanaskan pada suhu 105 °C selama 3 menit dalam oven	
Triterpenoid	<ol style="list-style-type: none"> 1. heksana-etil asetat (6:4) 2. heksana-etil asetat (1:1) 3. heksana-kloroform(1:1) 4. kloroform-metanol (3:7) 5. heksana-etilasetat (2:8) 	Pereaksi Lieberman-Burchard	merah-ungu (Violet), ungu tua, merahmuda
Steroid	<ol style="list-style-type: none"> 1. heksana-etil asetat (7:3) 2. kloroform-metanol (3:7) 3. sikloheksana-etil asetat (1:1) 4. heksana-etil asetat (2:1) 5. kloroform-aseton (6:5) 	Pereaksi Lieberman-Burchard	Hijau, hijau-biru

Lampiran 2. Pembuatan Reagen dan Larutan

L. 2.1 Pembuatan Reagen

1. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 500 mL etanol (99,9 %)

Mr DPPH = 394,33 g/mol

$$\begin{aligned} \text{Mol DPPH} &= 500 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 500 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000} \\ &= 0,1 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mg DPPH} &= 0,1 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 0,1 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 39,433 \text{ mg} \end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan HCl 2 N dalam 50 mL

Densitas : 1,19 gr/mL

Konsentrasi : 37 %

Volume : 50 mL

Mr HCl : 36,5 gr/mol

2 N ~ 2 M

$$\begin{aligned} \text{Molaritas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\ &= \frac{1 \times 37\% \times 1190 \text{ g}}{36,5 \text{ g/mol}} \\ &= 12,09 \text{ N} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 &= \frac{V_2 \times N_2}{N_1} \\ &= \frac{50 \text{ mL} \times 2 \text{ N}}{12,09} = 8,27 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 50 mL dibutuhkan HCl 37 % sebanyak 8,27 mL.

3. Pembuatan Larutan metanol 50%

$$\begin{aligned} \%_1 \times V_1 &= \%_2 \times V_2 \\ 99.8 \% \times V_1 &= 50 \% \times 25 \text{ mL} \\ V_1 &= 12,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 12,5 mL kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas.

4. Pembuatan Larutan HCl 1 %

$$\begin{aligned} \%_1 \times V_1 &= \%_2 \times V_2 \\ 37 \% \times V_1 &= 1 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,3 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 1 % diambil sebanyak 0,3 mL larutan HCl pekat 37 %, dilarutkan dalam labu ukur 10 mL.

5. Pembuatan Larutan NaHCO₃ 5 % (b/v)

Sebanyak 5 gram natrium bikarbonat dilarutkan dengan akuades dalam beaker glass. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan akuades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

6. Perekasi mayer:

- a, 1,358 g HgCl₂ dalam 60 ml akuades,
- b, KI 5 mg dalam 10 ml akuades,

Larutan a dituangkan ke dalam larutan b, diencerkan dengan akuades sampai 100 ml (HAM, 2006).

7. Perekasi dragendorff :

Bi(NO₃),5H₂O sebanyak 8 gr dilarutkan dalam 50 ml HNO₃ pekat dan KI sebanyak 27,2 gr dilarutkan dalam 50 ml aquadest, Kedua larutan dicampur dan jika terbentuk endapan disaring, kemudian disimpan dalam botol coklat (HAM, 2006).

8. 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 and Bladt, 2001).

L 2.2 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

a. Pembuatan antioksidan pembanding 400 ppm

$$400 \text{ ppm ekstrak kasar atau pembanding} = \frac{20 \text{ mg}}{0,05 \text{ L}} = 400 \text{ ppm}$$

b. Pembuatan Larutan Sampel 200 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 12,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 200 ppm diperlukan larutan stok 400 ppm sebanyak 12,5 mL.

c. Pembuatan Larutan Sampel 150 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 150 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 9,37 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 150 ppm diperlukan larutan stok 400 ppm sebanyak 9,37 mL.

d. Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 6,25 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 400 ppm sebanyak 6,25 mL.

e. Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 3,125 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 50 ppm diperlukan larutan stok 400 ppm sebanyak 3,125 mL.

f. Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 1,56 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 25 ppm diperlukan larutan stok 400 ppm sebanyak 1,56 mL.

g. Pembuatan Larutan Sampel 5 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 0,3 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 5 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,3 mL.

h. Pembuatan Larutan Sampel 1 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}}{400 \text{ ppm}} = 0,0625 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 1 ppm diperlukan larutan stok 400 ppm sebanyak 0,0625 mL.

Lampiran 3. Data Penelitian

L.3.1 Perhitungan Kadar Air

❖ Perhitungan Kadar Air Sampel Basah *S. cristaefolium*

Pengukuran	Berat kering (g)			Rata-rata berat (g)
	P ₁	P ₂	P ₃	
Cawan kosong	65,384	65,379	65,379	65,381
Cawan + Sampel sebelum dikeringkan	70,385	-	-	70,385
Cawan + Sampel sesudah dikeringkan	66,100	65,906	65,820 65,800	65,906

P = Pengulangan

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

Keterangan: a = Berat konstan cawan kosong
 b = Berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
 c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{K a d a r a i r} = \frac{(70385 - 66100)}{(70385 - 65381)} \times 100 \% = 89.5 \%$$

❖ Perhitungan Kadar Air Sampel kering *S. cristaefolium*

Pengukuran	Berat kering (g)			Rata-rata berat (g)
	P ₁	P ₂	P ₃	
Cawan kosong	54,305	54,306	54,306	54,305
Cawan + Sampel sebelum dikeringkan	59,306	-	-	59,306
Cawan + Sampel sesudah dikeringkan	58,954	58,881	58,858 58,851	58,886

P = Pengulangan

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

Keterangan: a = Berat konstan cawan kosong
 b = Berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
 c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{K a d a r a} = \frac{(5,9306 - 8,8)}{(5,930654305)} \times 100 \% = 8,398 \%$$

L.3.2 Perhitungan Rendemen

❖ Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

➤ Ekstrak Pekat Metanol 1

	Berat Wadah (g)	Berat Wadah dan Sampel (g)	Berat sampel (g)
Metanol 1a.	22,879	34,356	11,477
Metanol 1b.	22,097	22,803	0,706
Metanol 1c.	22,421	24,051	1,630
Metanol 1d.	22,985	26,097	3,112
Jumlah			19,237

➤ Ekstrak Pekat Metanol 2

	Berat Wadah (g)	Berat Wadah dan Sampel (g)	Berat sampel (g)
Metanol 2a.	25,922	30,641	4,719
Metanol 2b.	22,971	24,946	1,967
Metanol 2c.	22,365	24,667	2,362
Metanol 2d.	22,327	26,949	4,622
Jumlah			11,359

➤ Rendemen Ekstrak Pekat Metanol 1

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{19,237 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 19,237 \% \end{aligned}$$

➤ Rendemen Ekstrak Pekat Metanol 2

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{11,359 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \% = 11,359 \% \end{aligned}$$

➤ **Rendemen Ekstrak Pekat Metanol**

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{\text{metanol 1} + \text{metanol 2}}{200} \times 100 \% = \frac{(19,237 + 11,359) \text{g}}{200 \text{ g}} \times 100 \% = \mathbf{15,298 \%} \end{aligned}$$

❖ **Perhitungan Rendemen Hasil Partisi**

➤ **Fraksi Etil Asetat**

Berat wadah = 87,603 g

Berat wadah dan sampel = 87,703 g

Berat ekstrak pekat = 0,1 g

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,1 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 3,33 \% \end{aligned}$$

➤ **Fraksi Kloroform**

Berat wadah = 91,382 g

Berat wadah dan sampel = 91,497 g

Berat ekstrak pekat = 0,115 g

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,115 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 3,83 \% \end{aligned}$$

➤ **Fraksi *n*-heksana**

Berat wadah = 87,567 g

Berat wadah dan sampel = 87,700 g

Berat ekstrak pekat = 0,133 g

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

$$= \frac{0,133 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100 \%$$

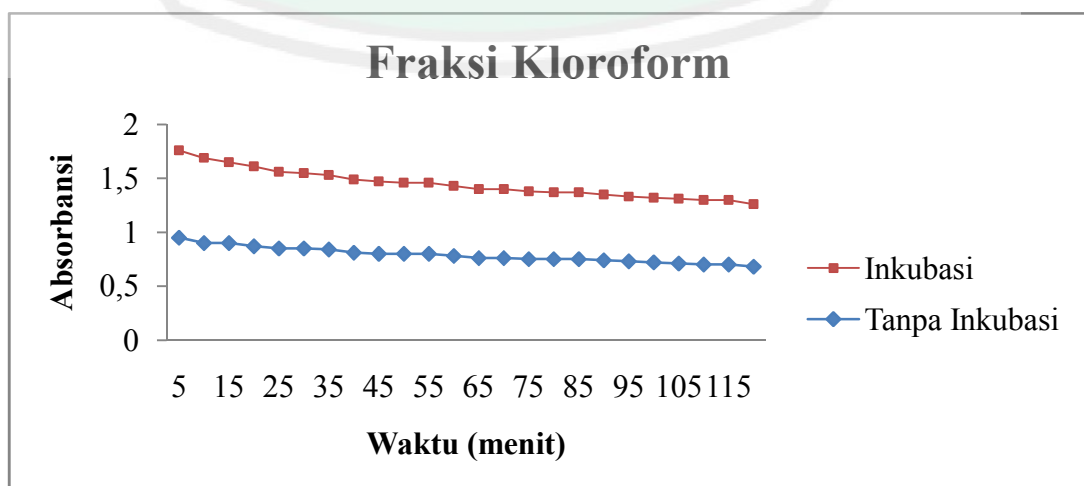
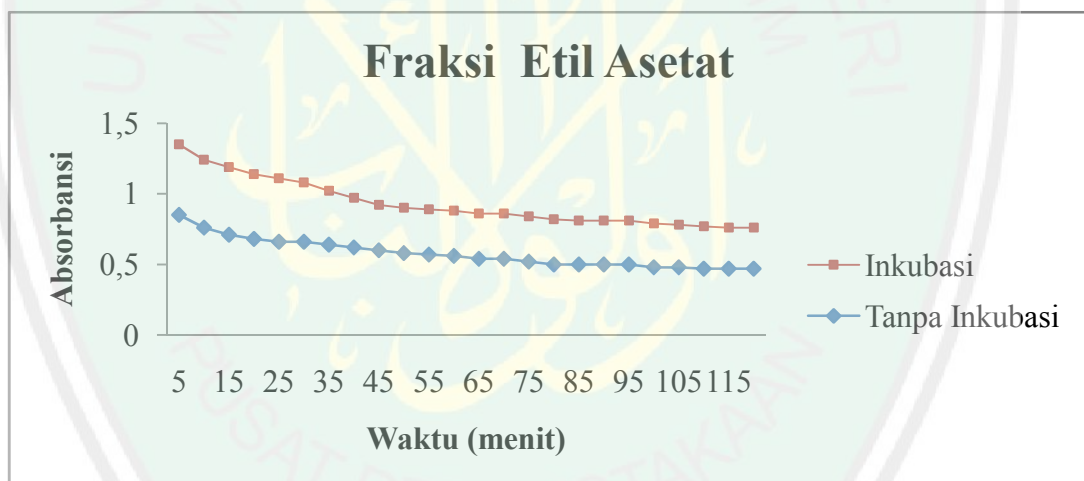
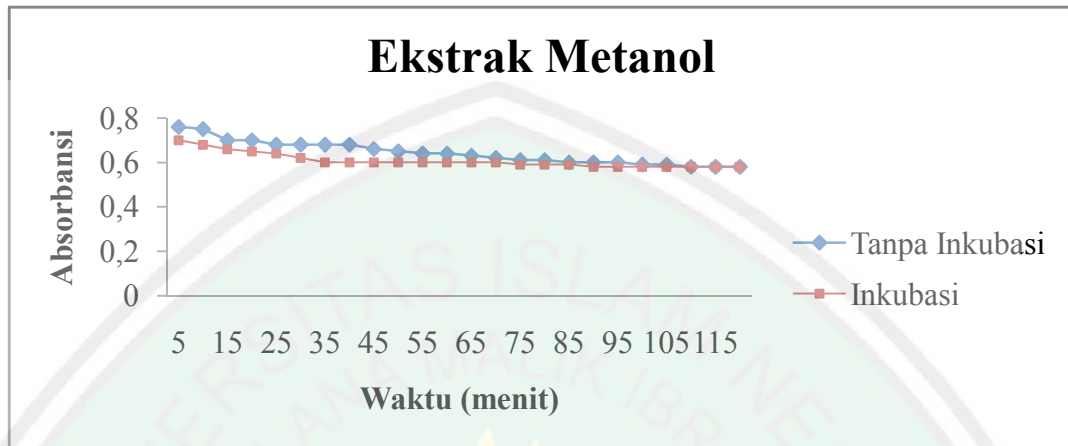
$$= 4,43 \%$$

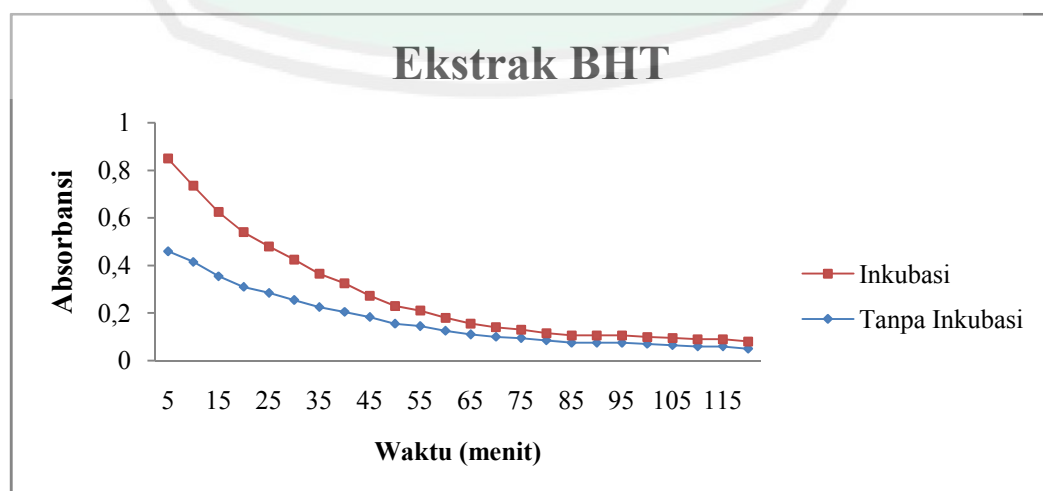
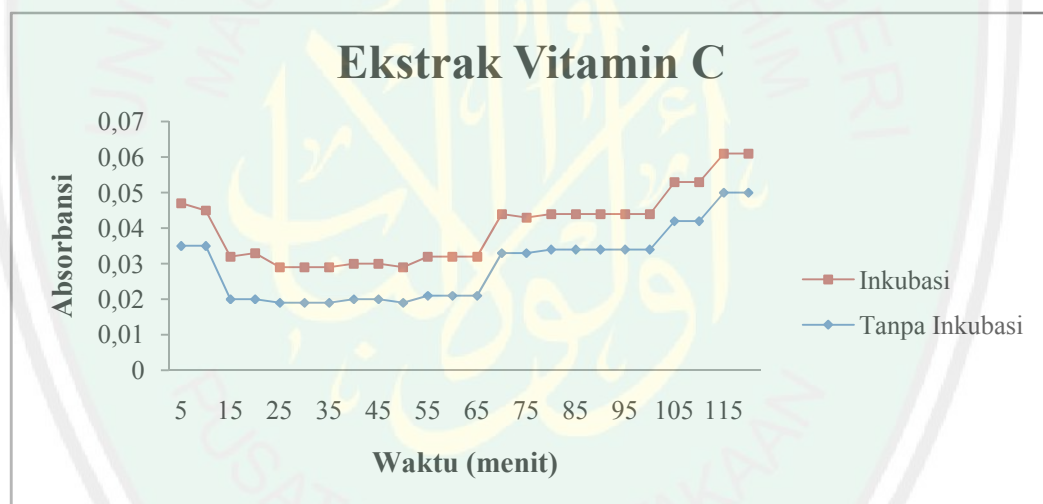
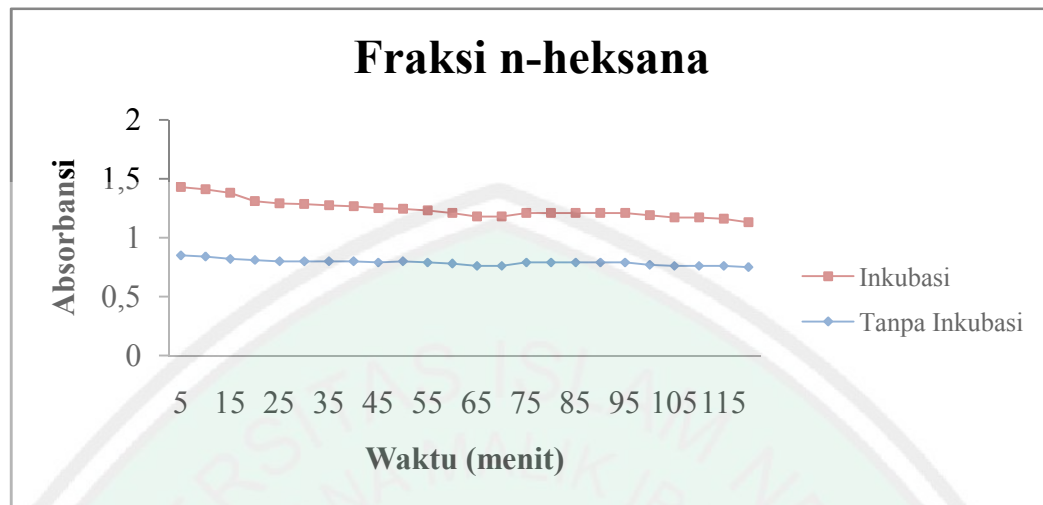
L.3.3 Penentuan Waktu Kestabilan Antioksidan Sampel dan Pembanding

Waktu (menit)	Metanol		Etil asetat		kloroform	
	Tanpa inkubasi	inkubasi	Tanpa	Inkubasi	Tanpa	Inkubasi
5	0,76	0,70	0,85	0,50	0,95	0,81
10	0,75	0,68	0,76	0,48	0,90	0,79
15	0,70	0,66	0,71	0,48	0,90	0,75
20	0,70	0,65	0,68	0,46	0,87	0,74
25	0,68	0,64	0,66	0,45	0,85	0,71
30	0,68	0,62	0,66	0,42	0,85	0,70
35	0,68	0,60	0,64	0,38	0,84	0,69
40	0,68	0,60	0,62	0,35	0,81	0,68
45	0,66	0,60	0,60	0,32	0,80	0,67
50	0,65	0,60	0,58	0,32	0,80	0,66
55	0,64	0,60	0,57	0,32	0,80	0,66
60	0,64	0,60	0,56	0,32	0,78	0,65
65	0,63	0,60	0,54	0,32	0,76	0,64
70	0,62	0,60	0,54	0,32	0,76	0,64
75	0,61	0,59	0,52	0,32	0,75	0,63
80	0,61	0,59	0,50	0,32	0,75	0,62
85	0,60	0,59	0,50	0,31	0,75	0,62
90	0,60	0,58	0,50	0,31	0,74	0,61
95	0,60	0,58	0,50	0,31	0,73	0,60
100	0,59	0,58	0,48	0,31	0,72	0,60
105	0,59	0,58	0,48	0,30	0,71	0,60
110	0,58	0,58	0,47	0,30	0,70	0,60
115	0,58	0,58	0,47	0,29	0,70	0,60
120	0,58	0,58	0,47	0,29	0,68	0,58

Waktu (menit)	n- Heksana		Vit C		BHT	
	Tanpa inkubasi	Inkubasi	Tanpa	Inkubasi	Tanpa	Inkubasi
5	0,85	0,579	0,035	0,012	0,46	0,39
10	0,84	0,569	0,035	0,01	0,415	0,32
15	0,82	0,56	0,02	0,012	0,355	0,27
20	0,81	0,50	0,02	0,013	0,31	0,23
25	0,80	0,49	0,019	0,01	0,285	0,195
30	0,80	0,485	0,019	0,01	0,255	0,17
35	0,80	0,475	0,019	0,01	0,225	0,14
40	0,80	0,465	0,02	0,01	0,205	0,12
45	0,79	0,460	0,02	0,01	0,183	0,09
50	0,80	0,445	0,019	0,01	0,155	0,075
55	0,79	0,440	0,021	0,011	0,145	0,065
60	0,78	0,430	0,021	0,011	0,125	0,055
65	0,76	0,420	0,021	0,011	0,11	0,045
70	0,76	0,420	0,033	0,011	0,1	0,04
75	0,79	0,420	0,033	0,01	0,095	0,035
80	0,79	0,420	0,034	0,01	0,085	0,03
85	0,79	0,420	0,034	0,01	0,075	0,03
90	0,79	0,420	0,034	0,01	0,075	0,03
95	0,79	0,420	0,034	0,01	0,075	0,03
100	0,77	0,420	0,034	0,01	0,07	0,029
105	0,76	0,41	0,042	0,011	0,065	0,03
110	0,76	0,41	0,042	0,011	0,06	0,03
115	0,76	0,40	0,05	0,011	0,06	0,03
120	0,75	0,38	0,05	0,011	0,05	0,03

L.3.4 Grafik Penentuan Waktu Kestabilan Masing-Masing Sampel





L.3.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

➤ BHT

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
1	0,5837	0,4861	0,4310	0,4106	0,4425	24,19%	0
5	0,5840	0,3257	0,3033	0,2846	0,3045	47,85%	0,6990
25	0,5858	0,0987	0,0956	0,0711	0,0884	84,90%	1,3979
50	0,5837	0,0522	0,0927	0,0678	0,0709	87,85%	1,6990
100	0,5838	0,0504	0,0579	0,0634	0,0572	90,18%	2
150	0,5832	0,0557	0,0515	0,0539	0,0537	90,79%	2,1761
200	0,5833	0,0458	0,0490	0,0466	0,0471	91,92%	2,3010

Perhitungan EC₅₀ BHT

Best-fit values

LogEC50 **0.6680**

Bottom = **0.0**

Top = **100.0**

HillSlope **0.7886**

EC50 **4.656**

Std. Error

LogEC50 0.05813

HillSlope 0.06806

95% Confidence Intervals

LogEC5 0.5186 to 0.8175

HillSlope 0.6136 to 0.9636

EC50Control 3.300 to 6.569

Goodness of Fit

Degrees of Freedom

R square 0.9832

Absolute Sum of Squares 73.02

Sy.x

Constraints

LogEC50 LogEC50 is shared

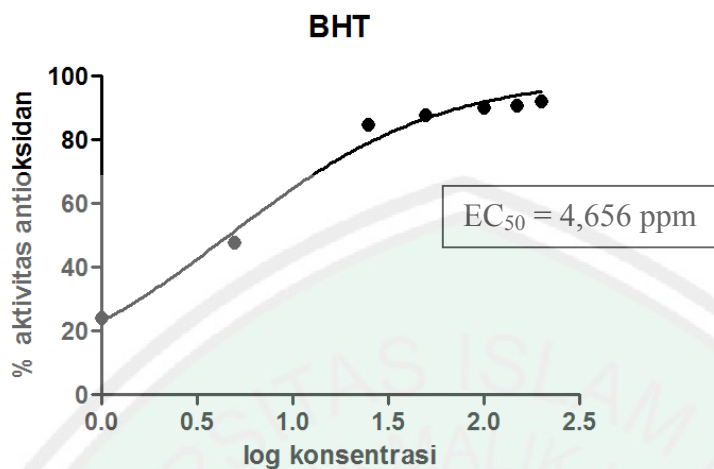
Bottom Bottom = 0.0

Top Top = 100.0

HillSlope HillSlope is shared

Number of points

Analyzed 7



$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{HillSlope})})$$

$$Y = 0,0 + (100, -0,0) / (1 + 10^{(0,6680 - X) * 0,7886})$$

➤ **Vit C**

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
1	0,5437	0,2751	0,4542	0,4330	0,3847	28,74%	0
5	0,5388	0,2714	0,2840	0,2709	0,2754	48,88%	0,6990
25	0,5341	0,0091	0,0362	0,0368	0,0273	94,88%	1,3979
50	0,5294	0,0042	0,0198	0,0192	0,0144	97,27%	1,6990
100	0,5196	0,0042	0,0177	0,0177	0,0132	97,45%	2
150	0,5195	0,0040	0,0183	0,0087	0,0103	98,01%	2,1761
200	0,5185	0,0038	0,0023	0,0022	0,0027	99,47%	2,3010

Perhitungan EC₅₀ Vitamin C

Best-fit values

LogEC₅₀ = 0.5556

Bottom = 0.0

Top = 100.0

HillSlope = 1.011

EC₅₀ = 3.594

Std. Error

LogEC₅₀ = 0.08706

HillSlope = 0.1718

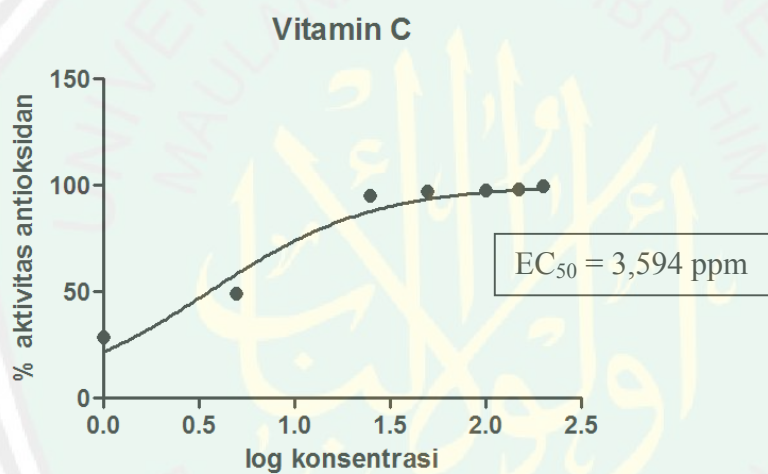
95% Confidence Intervals

LogEC₅₀ = 0.3318 to 0.7795

HillSlope = 0.5689 to 1.452

EC₅₀ = 2.147 to 6.018

Goodness of Fit
 Degrees of Freedom
 R square 0.9592
 Absolute Sum of Squares 208.6
 Sy.x
 Constraints
 LogEC50 LogEC50 is shared
 Bottom Bottom = 0.0
 Top Top = 100.0
 HillSlope HillSlope is shared
 Number of points
 Analyzed 7



$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{HillSlope})})$$

$$Y = 0,0 + (100, -0,0) / (1 + 10^{(0,5556 - X) * 1,011})$$

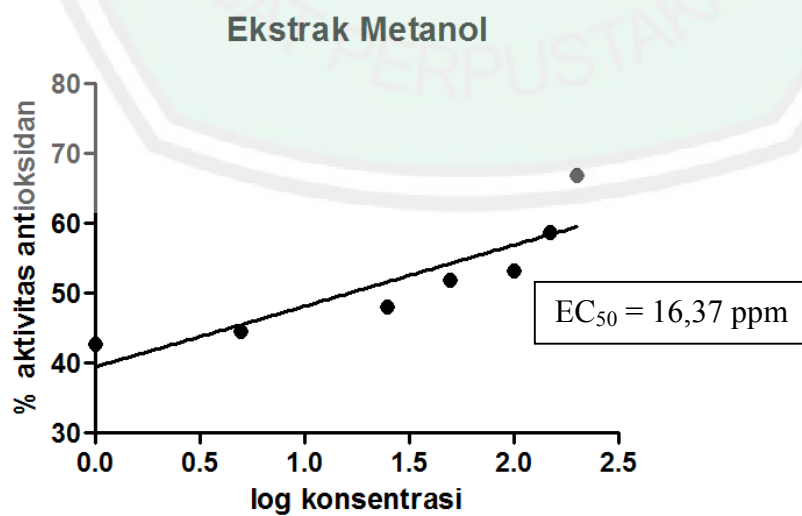
➤ **Metanol**

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
1	0,8088	0,4239	0,4901	0,4751	0,4630	42,75%	0
5	0,8094	0,4066	0,4772	0,4616	0,4484	44,60%	0,6990
25	0,8128	0,4043	0,4280	0,4363	0,4228	47,98%	1,3979
50	0,8128	0,4037	0,3773	0,3943	0,3917	51,80%	1,6990
100	0,8160	0,4023	0,3720	0,3729	0,3824	53,13%	2
150	0,8138	0,3613	0,3228	0,3234	0,3358	58,73%	2,1761
200	0,8137	0,3150	0,2498	0,2434	0,2694	66,89%	2,3010

Perhitungan EC₅₀ Ekstrak Metanol

Best-fit values

LogEC50	1.214
Bottom	= 0.0
Top	= 100.0
HillSlope	0.1530
EC50	16.37
Std. Error	
LogEC50	0.2067
HillSlope	0.03890
95% Confidence Intervals	
LogEC50	0.6825 to 1.745
HillSlope	0.05299 to 0.2530
EC50	4.814 to 55.64
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	
R square	0.7638
Absolute Sum of Squares	100.2
Sy.x	
Constraints	
LogEC50	LogEC50 is shared
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0
HillSlope	HillSlope is shared
Number of points	
Analyzed	7



$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{HillSlope})})$$

$$Y = 0,0 + (100, -0,0) / (1 + 10^{(1,214 - X) * 0,1530})$$

➤ Etil asetat

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
1	0,4755	0,4517	0,4228	0,4245	0,4330	8,93%	0
5	0,4752	0,4490	0,4093	0,4146	0,4243	10,71%	0,6990
25	0,4743	0,4459	0,4178	0,3902	0,4179	11,89%	1,3979
50	0,4725	0,4424	0,4145	0,3195	0,3921	17,01%	1,6990
100	0,4718	0,4394	0,4125	0,2785	0,3759	20,32%	2
150	0,4696	0,4350	0,4088	0,2193	0,3543	24,55%	2,1761
200	0,4726	0,4344	0,4075	0,2154	0,3524	25,43%	2,3010

Perhitungan EC₅₀ Ekstrak Etil Asetat

Best-fit values

Bottom = 0,0

Top = 100,0

LogEC50 = 1,725

HillSlope = 1,988

EC50 = 53,08

Span = 100,0

Std. Error

LogEC50 = 0,02889

HillSlope = 0,2287

95% Confidence Intervals

LogEC50 = 1,662 to 1,788

HillSlope = 1,490 to 2,487

EC50 = 45,92 to 61,36

Goodness of Fit

Degrees of Freedom

R square = 0,9738

Absolute Sum of Squares = 519,3

Sy.x

Constraints

Bottom = 0,0

Top = 100,0

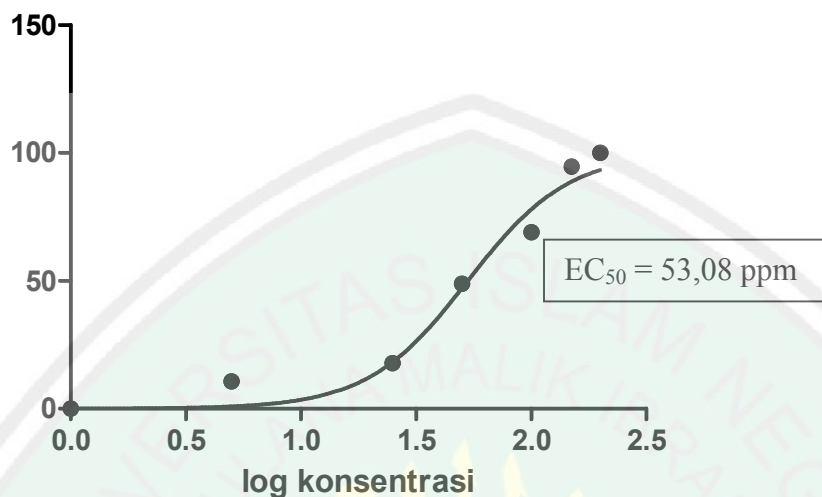
LogEC50 = LogEC50 is shared

HillSlope = HillSlope is shared

Number of points

Analyzed = 7

Fraksi Etil Asetat



$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{HillSlope})})$$

$$Y = 0,0 + (100, -0,0) / (1 + 10^{(1,725 - X) * 1,988})$$

➤ Kloroform

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
1	0,5072	0,1132	0,1428	0,4034	0,2879	43,23%	0
5	0,5088	0,1192	0,1484	0,4849	0,2508	50,70%	0,6990
25	0,5037	0,1173	0,1461	0,4693	0,2442	51,51%	1,3979
50	0,5010	0,1166	0,1455	0,4500	0,2373	52,63%	1,6990
100	0,5019	0,1132	0,1428	0,4034	0,2198	56,20%	2
150	0,5018	0,1107	0,1425	0,3725	0,2085	58,44%	2,1761
200	0,5017	0,0963	0,1430	0,3717	0,2036	59,41%	2,3010

Perhitungan EC₅₀ Ekstrak Kloroform

Best-fit values

LogEC₅₀ **0.9659**

Bottom **= 0.0**

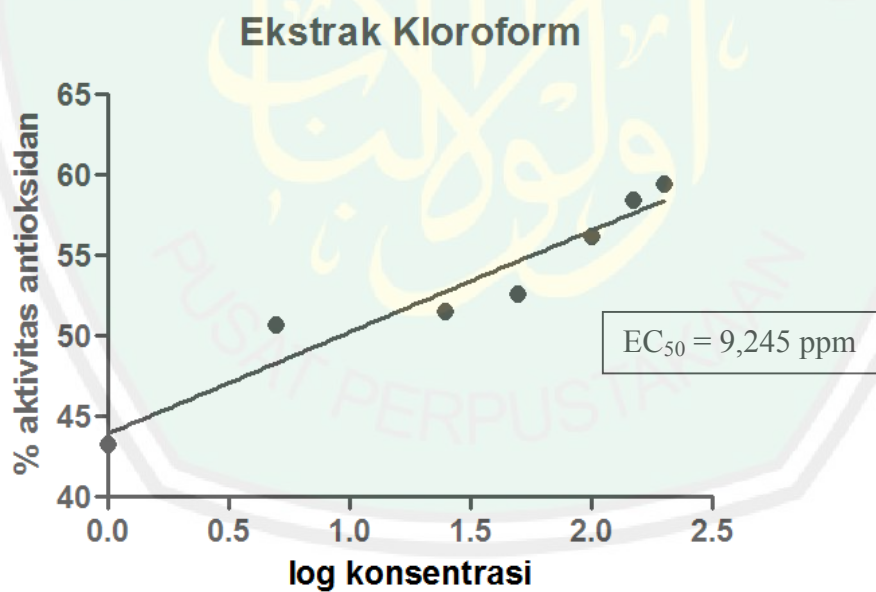
Top **= 100.0**

HillSlope **0.1102**

EC₅₀ **9.245**

Std. Error

LogEC50	0.1177
HillSlope	0.01404
95% Confidence Intervals	
LogEC50	0.6634 to 1.268
HillSlope	0.07406 to 0.1462
EC50	4.607 to 18.55
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	
R square	0.9264
Absolute Sum of Squares	13.54
Sy.x	
Constraints	
LogEC50	LogEC50 is shared
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0
HillSlope	HillSlope is shared
Number of points	
Analyzed	7



$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{HillSlope})})$$

$$Y = 0,0 + (100, -0,0) / (1 + 10^{(0,9659 - X) * 0,1102})$$

➤ n- Heksana

Konsentrasi (ppm)	A kontrol	A Pertamina	A Kedua	A Ketiga	A rata-rata	% Antioksidan (y)	Log konsentrasi (x)
1	0,5842	0,5698	0,5669	0,4241	0,5202	10,95%	0
5	0,5841	0,5689	0,5612	0,3752	0,5017	14,10%	0,6990
25	0,5838	0,5563	0,5577	0,3753	0,4964	14,97%	1,3979
50	0,5828	0,5449	0,5207	0,3758	0,4804	17,57%	1,6990
100	0,5828	0,4877	0,4752	0,3645	0,4427	24,03%	2
150	0,5824	0,4798	0,4551	0,3206	0,4185	28,14%	2,1761
200	0,5822	0,4609	0,4446	0,2099	0,3718	36,13%	2,3010

Perhitungan EC₅₀ Ekstrak n-heksana

Best-fit values

Bottom = 0,0

Top = 100,0

LogEC50 = 1,929

HillSlope = 1,946

EC50 = 84,87

Std. Error

LogEC50 = 0,05998

HillSlope = 0,4962

95% Confidence Intervals

LogEC50 = 1,775 to 2,083

HillSlope = 0,6698 to 3,221

EC50 = 59,50 to 121,1

Goodness of Fit

Degrees of Freedom

R square = 0,9298

Absolute Sum of Squares = 537,8

Sy.x

Constraints

Bottom = 0,0

Top = 100,0

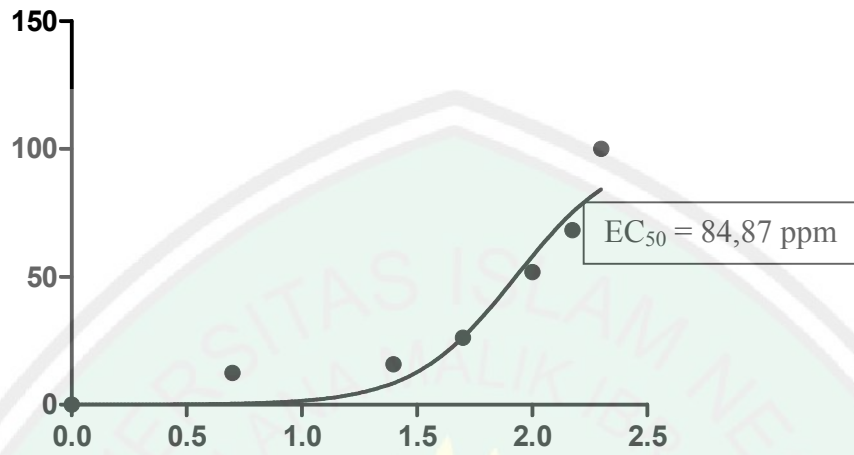
LogEC50 = LogEC50 is shared

HillSlope = HillSlope is shared

Number of points

Analyzed = 7

Fraksi n-Heksana



$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{HillSlope})})$$

$$Y = 0,0 + (100, -0,0) / (1 + 10^{(1,929 - X) * 1,496})$$

Lampiran 4 Perhitungan Nilai R_f (*Retardation Factor*) Hasil KLTA Fraksi Kloroform Hasil Hidrolisis

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang digerakkan dari titik asal}}{\text{Jarak pelarut yang digerakkan dari titik asal}}$$

Jarak elusi pada KLTA adalah 8 cm, dimana semua ekstrak positif mengandung golongan senyawa steroid.

Perhitungan nilai R_f Hasil KLTA Fraksi Kloroform Hasil Hidrolisis

a. Eluen heksana:etil asetat (4,5:0,5)

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga R}_{f1} = \frac{0,3}{8} = 0,04$$

$$\text{Harga R}_{f5} = \frac{3,2}{8} = 0,40$$

$$\text{Harga R}_{f2} = \frac{0,8}{8} = 0,1$$

$$\text{Harga R}_{f6} = \frac{4,5}{8} = 0,56$$

$$\text{Harga R}_{f3} = \frac{1,5}{8} = 0,19$$

$$\text{Harga R}_{f7} = \frac{5,3}{8} = 0,66$$

$$\text{Harga R}_{f4} = \frac{2,5}{8} = 0,31$$

$$\text{Harga R}_{f8} = \frac{6,6}{8} = 0,83$$

b. Eluen heksana:aseton (7:3)

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga R}_{f1} = \frac{0,1}{8} = 0,01$$

$$\text{Harga R}_{f6} = \frac{5}{8} = 0,63$$

$$\text{Harga R}_{f2} = \frac{0,7}{8} = 0,09$$

$$\text{Harga R}_{f7} = \frac{5,5}{8} = 0,69$$

$$\text{Harga R}_{f3} = \frac{1,6}{8} = 0,2$$

$$\text{Harga R}_{f8} = \frac{6}{8} = 0,91$$

$$\text{Harga R}_{f4} = \frac{2,9}{8} = 0,36$$

$$\text{Harga R}_{f9} = \frac{6,2}{8} = 0,78$$

$$\text{Harga R}_{f5} = \frac{3,6}{8} = 0,45$$

$$\text{Harga R}_{f10} = \frac{7,1}{8} = 0,89$$

$$\text{Harga } R_{f11} = \frac{7,5}{8} = 0,94$$

$$\text{Harga } R_{f12} = \frac{7,8}{8} = 0,98$$

c. Eluen heksana:etil asetat (8:2)

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga } R_{f1} = \frac{0,4}{8} = 0,05$$

$$\text{Harga } R_{f4} = \frac{2,6}{8} = 0,33$$

$$\text{Harga } R_{f2} = \frac{0,8}{8} = 0,1$$

$$\text{Harga } R_{f5} = \frac{3,1}{8} = 0,39$$

$$\text{Harga } R_{f3} = \frac{1,3}{8} = 0,16$$

$$\text{Harga } R_{f6} = \frac{3,6}{8} = 0,45$$

$$\text{Harga } R_{f7} = \frac{4,5}{8} = 0,56$$

d. Eluen heksana:etil asetat (7:3)

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga } R_{f1} = \frac{1,3}{8} = 0,16$$

$$\text{Harga } R_{f5} = \frac{3,3}{8} = 0,41$$

$$\text{Harga } R_{f2} = \frac{1,8}{8} = 0,23$$

$$\text{Harga } R_{f6} = \frac{4,2}{8} = 0,53$$

$$\text{Harga } R_{f3} = \frac{2,2}{8} = 0,28$$

$$\text{Harga } R_{f7} = \frac{5,1}{8} = 0,64$$

$$\text{Harga } R_{f4} = \frac{2,9}{8} = 0,36$$

e. Eluen heksana:etil asetat (6:4)

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$\text{Harga } R_{f1} = \frac{0,6}{8} = 0,08$$

$$\text{Harga } R_{f2} = \frac{1,4}{8} = 0,18$$

$$\text{Harga } R_{f3} = \frac{2,1}{8} = 0,26$$

$$\text{Harga } R_{f4} = \frac{3,1}{8} = 0,39$$

$$\text{Harga } R_{f5} = \frac{4,1}{8} = 0,51$$

$$\text{Harga } R_{f6} = \frac{4,8}{8} = 0,6$$

$$\text{Harga } R_{f7} = \frac{5,1}{8} = 0,64$$

$$\text{Harga } R_{f8} = \frac{6,5}{8} = 0,81$$

$$\text{Harga } R_{f9} = \frac{7,4}{8} = 0,93$$

Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian

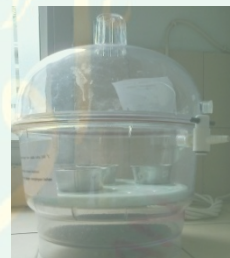
L.5.1 Analisis kadar Air



Sampel kering
alga coklat *S.cristaeifolium*



Pengovenan cawan



Desikator (cawan+sampel)

L.5.2 Preparasi Sampel



Sampel basah yang sudah
dipotong-potong



Sampel kering yang
sudah dipotong-potong



Serbuk Alga coklat
ukuran 60-120 mesh



Pemblenderan



Pengayakan dengan ayakan ukuran 60-120 mesh

L.5.3 Ekstraksi

L.5.3.1 Ekstraksi Maserasi Alga Coklat *S. cristaefolium* dengan Pelarut Metanol



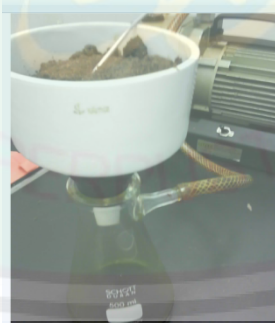
Ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol 1



Ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol 2



Shaker



Penyaringan

Pemekatan dengan *Rotary evaporator vacuum*



Filtrat hasil penyaringan

Ekstrak kasar metanol alga coklat

L.5.3.2 Hidrolisis Ekstrak Kasar Metanol



Ekstrak hidrolisat metanol

L.5.3.3 Partisi Ekstrak Kasar Metanol dengan Etil Asetat p.a



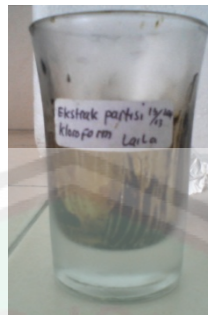
Proses partisi:
Fraksi metanol-air (bawah)
Fraksi etil asetat (atas)

Ekstrak fraksi etil asetat

L.5.3.4 Partisi Ekstrak Kasar Metanol dengan Kloroform p.a



Proses partisi
Fraksi metanol-air (atas)
Fraksi kloroform (bawah)



Ekstrak fraksi
kloroform

L.5.3.5 Partisi Ekstrak Kasar Metanol dengan n-Heksana p.a



Proses partisi
Fraksi metanol-air (bawah)
Fraksi n-heksana (atas)



Ekstrakfraksi
n-heksana

L.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan



Larutan DPPH



Penentuan Waktu Kestabilan

Uji Aktivitas Antioksidan BHT



Larutan Konsentrasi BHT



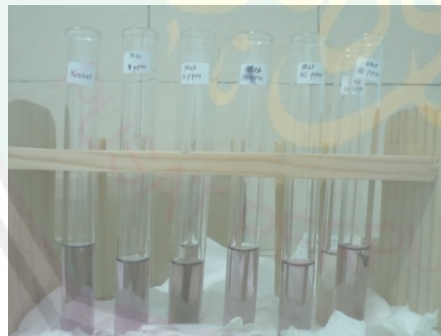
Uji Aktivitas Antioksidan Vit C



Larutan konsentrasi Vit C



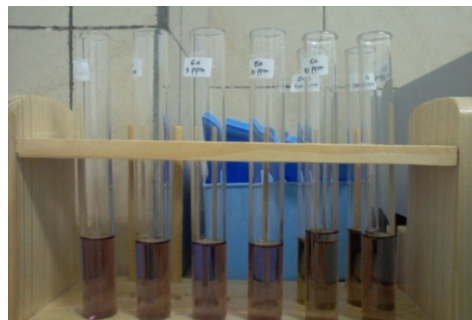
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol



Larutan konsentrasi Metanol



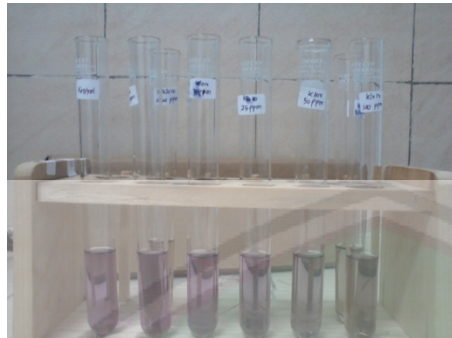
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak etil asetat



Larutan konsentrasi etil asetat



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak kloroform



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-heksana



Larutan konsentrasi kloroform



Larutan konsentrasi n-heksana



L.5.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

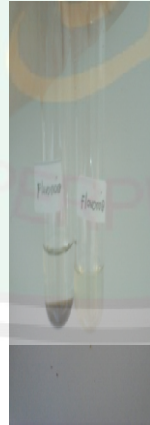
- Fraksi Kloroform Hasil Hidrolisis



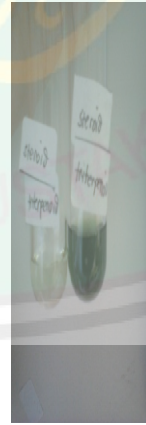
Alkaloid
Dragendorff (-)



Alkaloid
Mayer (-)



Flavonoid
(-)



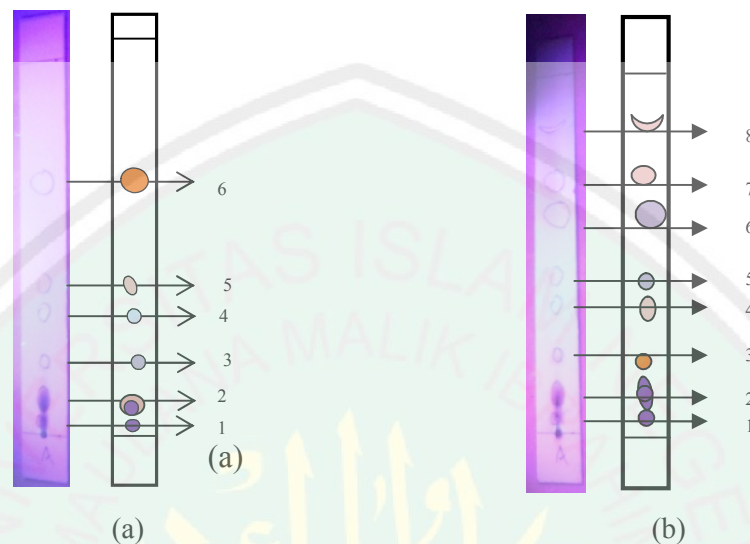
Steroid
(+++)



Vit C
(-)

L.5.6 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif (Steroid) Fraksi Kloroform Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

a. Eluen heksana-etil asetat (4,5:0,5)

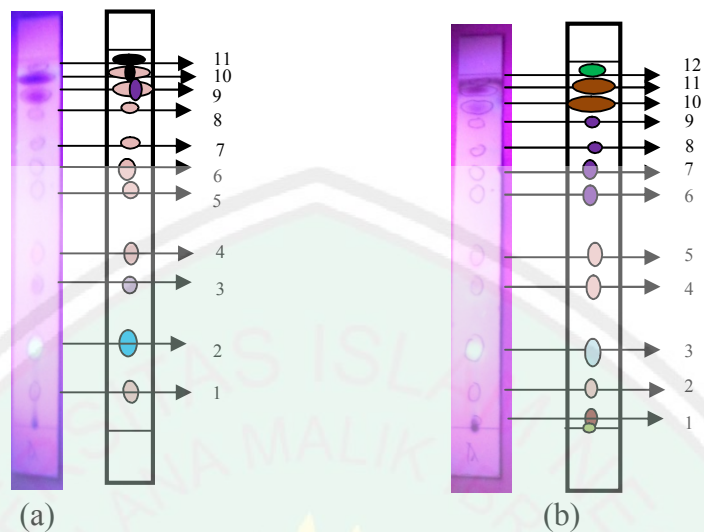


Tabel L.5.6.1 Hasil KLT senyawa steroid pada fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* dengan eluen heksana:etil asetat (4,5:0,5)

No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada λ_{366} nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	0,04	Ungu tua	Merah muda	-
2	0,1	Merah anggur	Merah muda	-
3	0,19	Ungu	Ungu	Steroid
4	0,31	Biru	Ungu	Steroid
5	0,4	Merah muda	Merah muda	-
6	0,56	Orange	Orange	-
7	0,66	-	Ungu	Steroid
8	0,83	-	Ungu	Steroid

Keterangan: a. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard
 b. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

b. Eluen heksana-aseton (7:3)



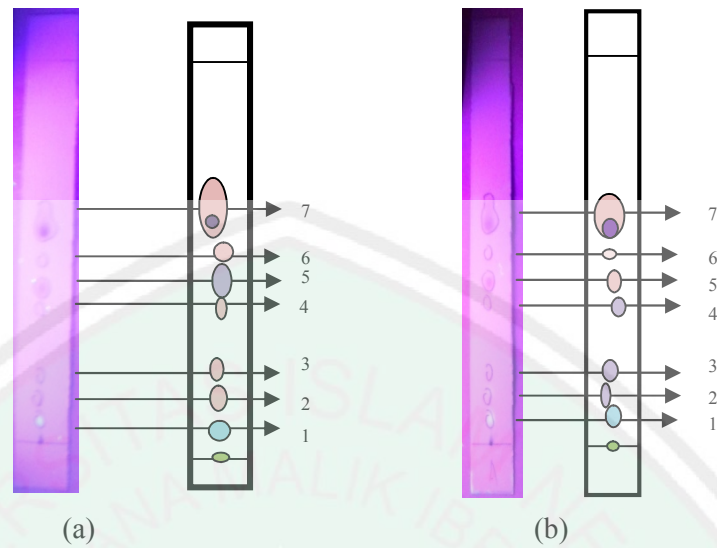
Tabel L.5.6.2 Hasil KLT senyawa steroid pada fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* dengan eluen heksana:aseton (7:3)

No.	Rf tiap node	Warna node di bawah sinar UV pada λ 366 nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	0,01	Merah muda	Merah tua	-
2	0,09	Biru	Merah muda	-
3	0,2	Ungu	Biru	Steroid
4	0,36	Merah muda	Merah muda	-
5	0,45	Merah muda	Merah muda	-
6	0,63	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,69	Merah muda	Ungu	Steroid
8	0,75	Merah muda	Ungu	Steroid
9	0,78	Merah anggur	Coklat	Steroid
10	0,89	Merah hitam	Coklat	Steroid
11	0,94	Hitam	Ungu	Steroid
12	0,98	-	Hijau tua	-

Keterangan: a. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard

b. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

c. Eluen heksana:etil asetat (8:2)



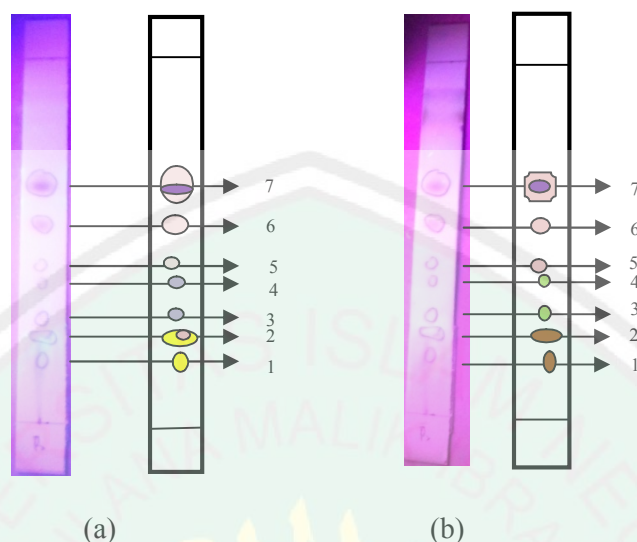
Tabel L.5.6. Hasil KLT senyawa steroid pada fraksi kloroform alga coklat *S. cristaefolium* dengan eluen n-heksana:etil asetat (8:2)

No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda_{366 \text{ nm}}$		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	0,05	Biru	Biru	-
2	0,1	Merah muda	Ungu	Steroid
3	0,16	Merah muda	Ungu	Steroid
4	0,33	Merah muda	Ungu	Steroid
5	0,39	Ungu	Merah muda	-
6	0,45	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,56	Merah anggur	Merah muda	-

Keterangan: a. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada $\lambda_{366 \text{ nm}}$ sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard

b. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada $\lambda_{366 \text{ nm}}$ setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

d. Eluen heksana:etil asetat (7:3)



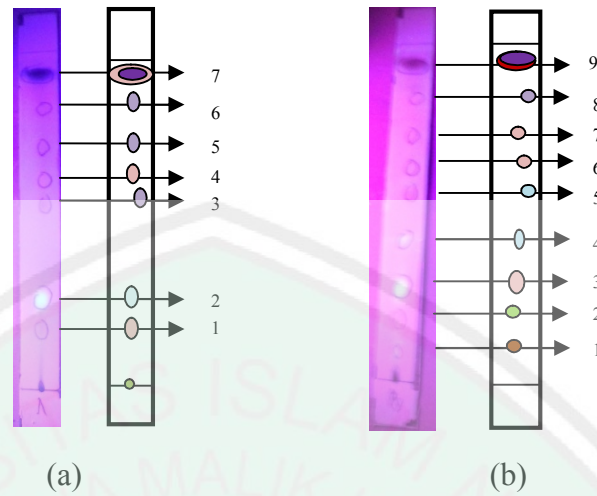
Tabel L.5.6.4 Hasil KLT senyawa steroid pada fraksi kloroform alga coklat *S. Cristaeifolium* dengan eluen n-heksana:etil asetat (7:3)

No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada λ_{366} nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	0,16	Kuning	Coklat	Steroid
2	0,23	Kuning merah	Coklat	Steroid
3	0,28	Ungu	Hijau	Steroid
4	0,36	Ungu	Hijau	Steroid
5	0,41	Merah muda	Merah muda	-
6	0,53	Merah muda	Merah muda	-
7	0,64	Merah anggur	Merah tua	-

Keterangan: a.Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard

b.Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

e. Eluen: heksana-etil asetat (6:4)



Tabel L.5.6.5 Hasil KLT senyawa steroid pada fraksi kasar kloroform alga coklat *S. cristaefolium* dengan eluen heksana-etil asetat (6:4)

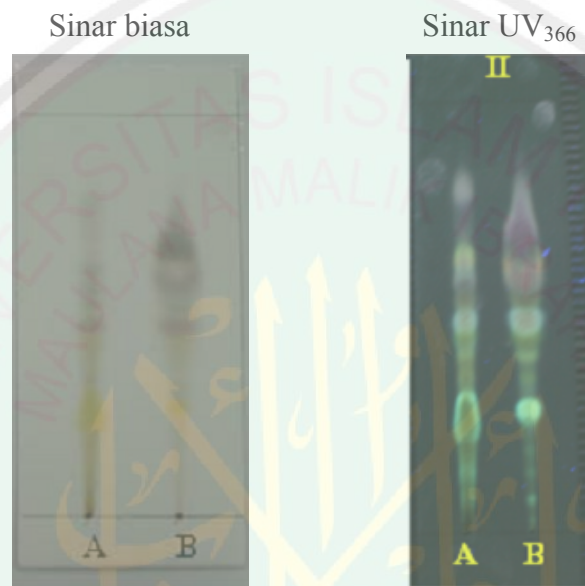
No.	Rf tiap noda	Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366 nm		Dugaan senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	0,08	Merah muda	Coklat	-
2	0,18	Biru	Hijau	Steroid
3	0,26	Ungu	Merah muda	-
4	0,39	Merah muda	Biru	-
5	0,51	Ungu	Biru	-
6	0,6	Ungu	Merah muda	-
7	0,64	Merah anggur	Merah muda	-
8	0,81	-	Ungu	Steroid
9	0,93	-	Ungu merah	Steroid

Keterangan: a. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm sebelum disemprot reagen Liebermann-Burchard

b. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} nm setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard

Adapun hasil KLTA dari Penelitian Aktivitas Antiplasmodium dari Dua Fraksi Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia Parvifolia* Miq) dengan menggunakan eluen (fase gerak) n-heksana: aseton (7:3) dan fase diam plat Silika gel GF₂₅₄ (Syamsudin *et al.*, 2007).

Gambar plat KLT setelah di semprot reagen Liebermann-Burchard



No.	Warna noda fraksi B di bawah sinar UV pada λ 366 nm		Dugaan senyawa
	Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard	
1	Kuning	Biru	Steroid/triterpenoid
2	-	Biru	Steroid/triterpenoid
3	-	Biru	Steroid/triterpenoid
4	Kuning	Ungu	Steroid/triterpenoid
5		Coklat	Steroid/triterpenoid
6		Coklat	Steroid/triterpenoid

Lampiran 6 Hasil Uji Taksonomi



**LABORATORIUM TAKSONOMI, STRUKTUR DAN PERKEMBANGAN TUMBUHAN
JURUSAN BIOLOGI, FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
JALAN VETERAN, MALANG 65145
Telepon/faks: 0341-575841**

KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0124/Takso Identifikasi/03/2014

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Nur Lailah
(NIM 10630030)

Instansi : Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Malik Malang

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Algae (Linda E. Graham dan Lee W. Wilcox, 2000), halaman 341, diidentifikasi sebagai:

Familia : Sargassaceae
Genus : Sargassum
Species : Sargassum cristafolium C. Agardh.

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 5 Februari 2014

Kepala Laboratorium
Taksonomi, Struktur dan
Perkembangan Tumbuhan,




LABORATORIUM TAKSONOMI Dr. Serafinah Indriyani, M.Si.
NIP. 19630909 198802 2 001