

**PENGARUH KONSENTRASI PELARUT DAN SUHU PEMBEKUAN
LAMBAT TERHADAP RENDEMEN DAN MUTU ANTIOKSIDAN
ALGA COKLAT(*Sargassum filipendula*)**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

OLEH :

RAHADIAN AJASATERU

NIM. 0910830058



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2013

**PENGARUH KONSENTRASI PELARUT DAN SUHU PEMBEKUAN
LAMBAT TERHADAP RENDEMEN DAN MUTU ANTIOKSIDAN
ALGA COKLAT (*Sargassum filipendula*)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

Universitas Brawijaya

Oleh :

RAHADIAN AJASATERU

NIM. 0910830058



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2013

SKRIPSI
PENGARUH KONSENTRASI PELARUT DAN SUHU PEMBEKUAN LAMBAT
TERHADAP RENDEMEN DAN MUTU ANTIOKSIDAN
ALGA COKLAT (*Sargassum filipendula*)

Oleh :
RAHADIAN AJASATERU
NIM. 0910830058

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 26 Juli 2013
dan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Menyetujui
Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Hardoko, MS)
NIP. 19620108 198802 1 001

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes)
NIP. 19611022 19 8802 2 001

Menyetujui
Dosen Pembimbing I

(Ir. Bambang Budi S., MS)
NIP. 19570119 198601 1 001

Dosen Pembimbing II

(Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP)
NIP. 19581231 198601 2 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)
NIP. 19600322 198601 1 001

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah tertulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai dengan hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 25 Juli 2013
Mahasiswa,

RAHADIAN JASATERU
0910830058

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan YESUS KRISTUS atas perlindungan dan penuntunnya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi dengan judul Pengaruh Konsentrasi Pelarut dan Suhu Pembekuan Lambat Terhadap Rendemen dan Mutu Antioksidan Alga Coklat (*Sargassum filipendula*). Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan penambahan konsentrasi pelarut dan suhu terbaik pada pembekuan lambat untuk mengekstrak antioksidan dari *Sargassum filipendula*.

Atas terselesaikannya laporan Skripsi, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- Ir. Bambang Budi Sasmiito, MS selaku dosen pembimbing pertama dan Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MPselaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan serta pengarahan dalam penyusunan laporan Skripsi.
- Kedua Orang Tua, kakak dan orang yang tercinta atas doa yang selalu dipanjatkan, serta saran dan dukungannya baik moril maupun materil.
- Untuk saudara – saudaraku CORAL yang telah mendukung dan saran dalam mengerjakan laporan skripsi dan penyusunan.
- Teman-teman THP angkatan 2009 yang telah banyak memberikan informasi, bantuan serta dukungan selama penulis mengerjakan laporan Skripsi.
- Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan Skripsi. Kritik dan saran diharapkan demi penyempurnaan laporan ini. Semoga laporan ini memberikan manfaat bagi para pembaca.

Malang, Juli2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis Penelitian.....	3
1.5 Kegunaan Penelitian	4
1.6 Tempat dan Waktu	4

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat (<i>Phaeophyceae</i>)	5
2.1.1 Karakteristik <i>Sargassum filipendula</i>	7
2.2 Antioksidan.....	9
2.2.1 Mekanisme kerja Antioksidan	11
2.3 Radikal Bebas	14
2.4 Pembekuan Lambat	15
2.5 Ekstraksi.....	17
2.6 Pelarut	19
2.7 Suhu Pembekuan Lambat	23
2.8 Uji Aktifitas Antioksidan	25

3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.2 Metode Penelitian.....	30
3.2.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan	30
3.2.2 Parameter Uji Coba	31
3.3 Prosedur Penelitian	31
3.3.1 Penanganan Sampel	31
3.3.2 Pembekuan Sampel	32
3.3.3 Ekstraksi Kasar (Crude Extract).....	32
3.3.4 Analisa Kadar Air	33
3.3.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan	34
3.3.6 Uji Fitokimia	35
3.3.6 Uji Total Phenol Content (TPC)	37
3.4 Skema Kerja Penelitian	37
3.5 Analisis Data	40

4. HASIL dan PEMBAHASAN

4.1 Kadar Air	42
---------------------	----

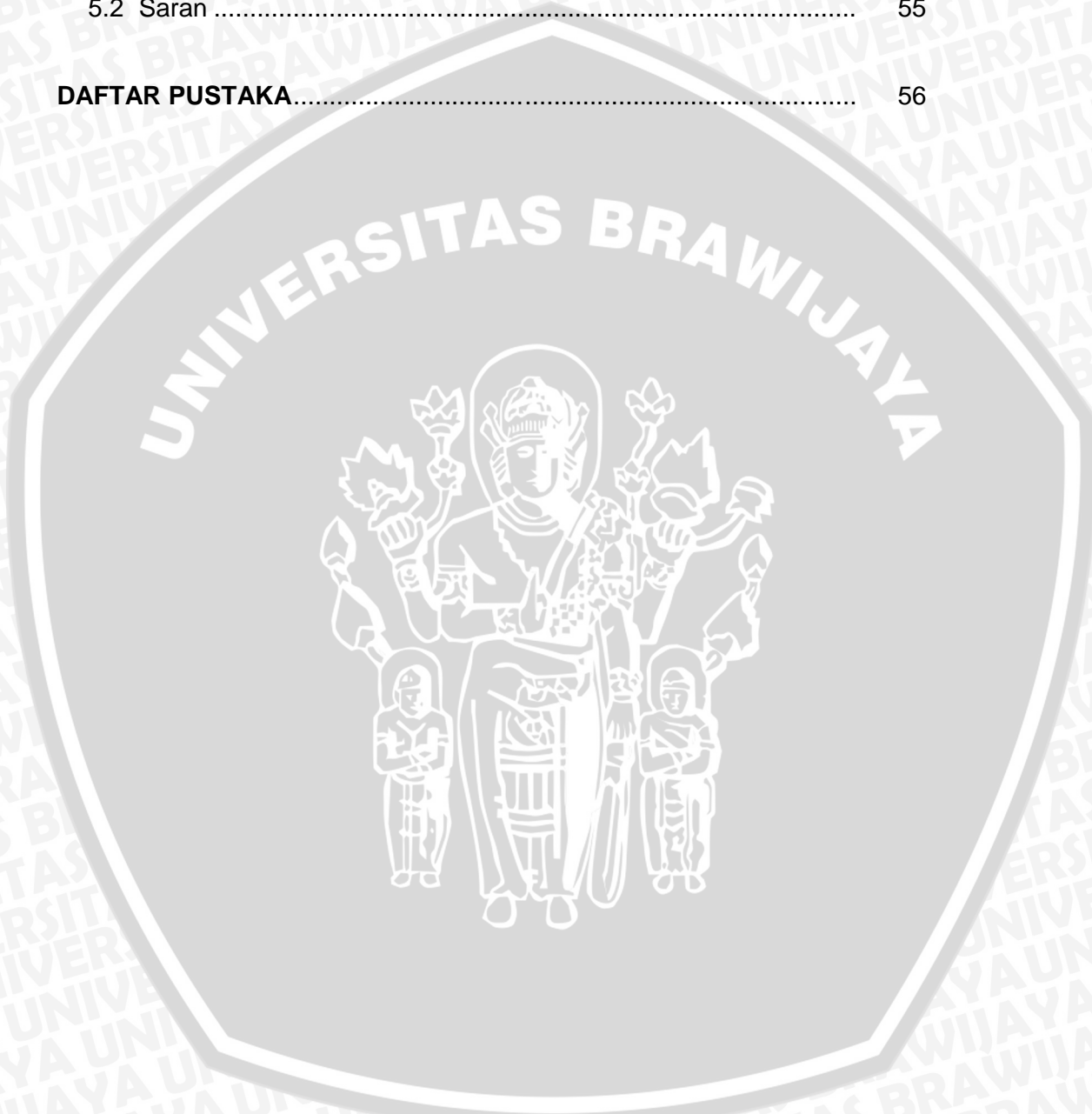


4.2 Rendemen.....	43
4.3 Komponen Bioaktif <i>S.Filipendula</i>	45
4.4 Total Polyphenol Content (TPC) <i>S.Filipendula</i>	48
4.5 Aktifitas Antioksidan <i>S.Filipendula</i> dengan Metode DPPH	52

5. KESIMPULAN dan SARAN

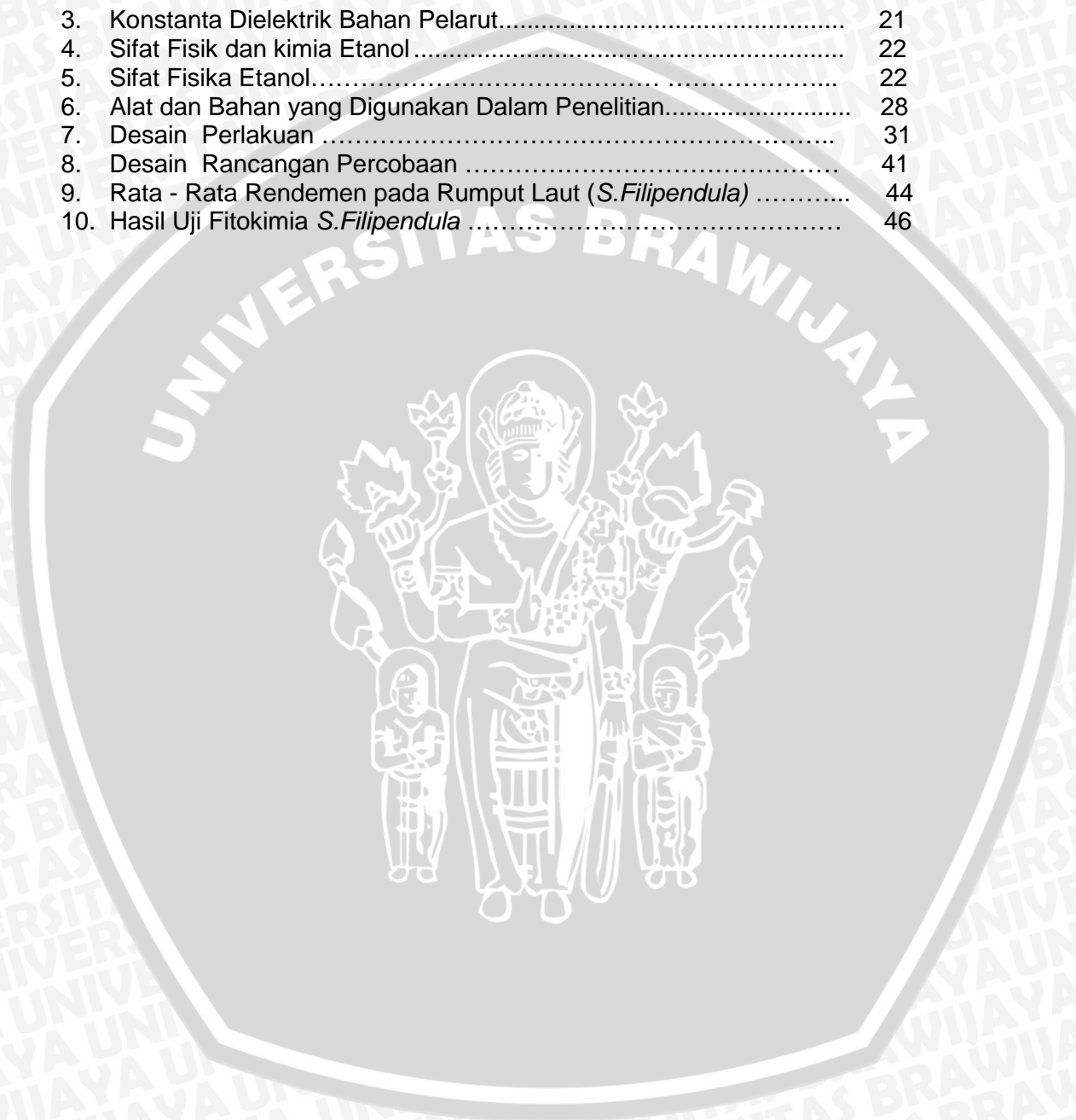
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55

DAFTAR PUSTAKA.....	56
----------------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia <i>Sargassum sp.</i>	6
2. Sifat – sifat Pelarut Umum.....	20
3. Konstanta Dielektrik Bahan Pelarut.....	21
4. Sifat Fisik dan kimia Etanol.....	22
5. Sifat Fisika Etanol.....	22
6. Alat dan Bahan yang Digunakan Dalam Penelitian.....	28
7. Desain Perlakuan	31
8. Desain Rancangan Percobaan	41
9. Rata - Rata Rendemen pada Rumput Laut (<i>S.Filipendula</i>)	44
10. Hasil Uji Fitokimia <i>S.Filipendula</i>	46



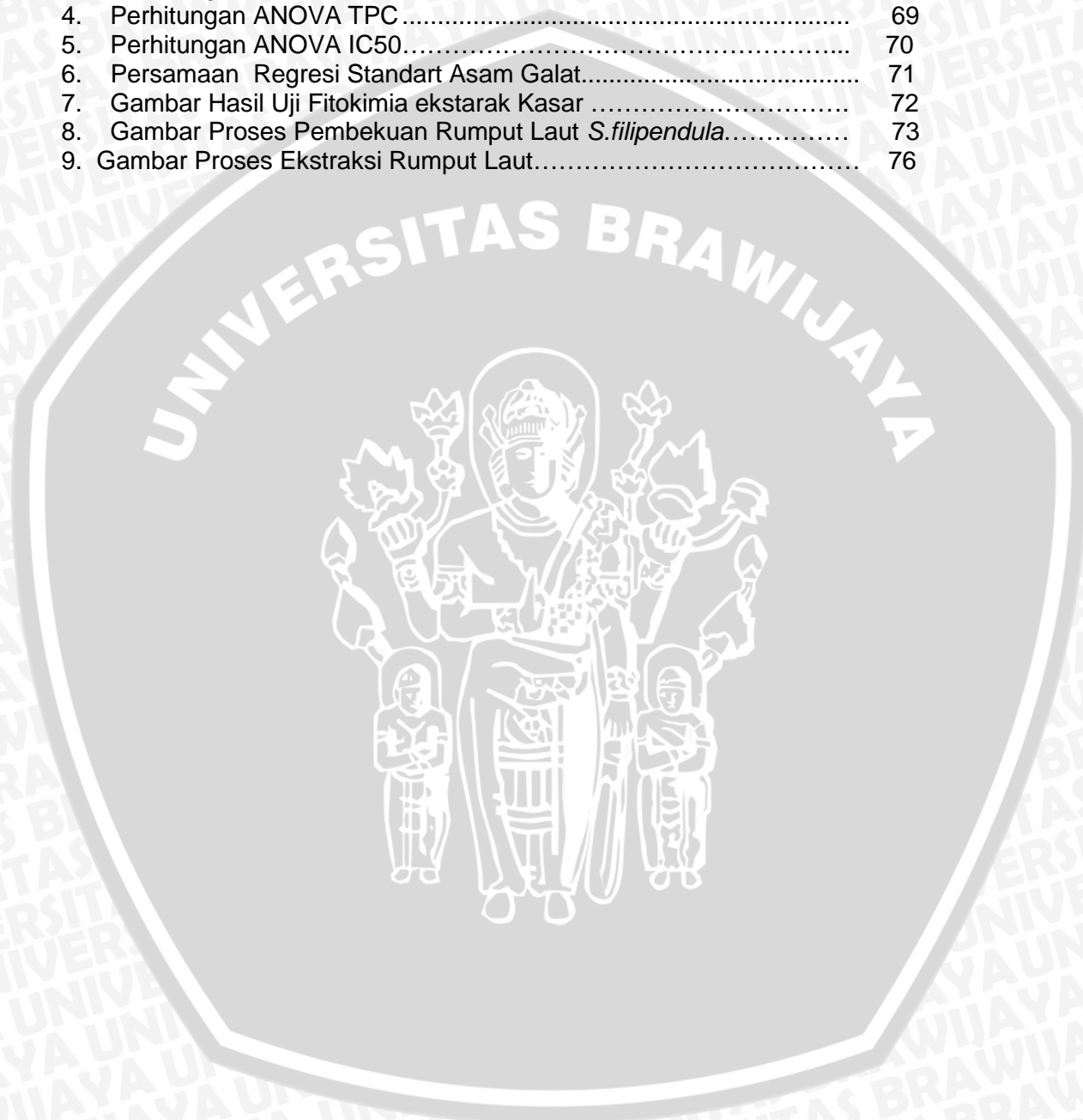
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alga Coklat Jenis <i>Sargassum filipendula</i>	7
2. Fisiologi, Morfologi, Daur hidup alga coklat.....	8
3. Mekanisme Oksidasi Pada Minyak/Lemak.....	12
4. Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer Terhadap Radikal Lipida ..	13
5. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi.....	14
6. Pengaruh Pembekuan pada Jaringan Tumbuhan.....	23
7. Contoh mekanisme reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH.....	26
8. Struktur <i>Diphenylpicrylhydrazil</i> dan <i>Diphenylpicrylhydrazine</i>	27
9. Skema Kerja Proses Ekstrak Kasar <i>S.Filipendula</i>	38
10. Skema Kerja Pembuatan Preparat Mikroskopis <i>S.Filipendula</i>	39
11. Hubungan Grafik konsentarsi dan suhu pembekuan lambat terhadap kadar air.....	43
12. Grafik Respon Hubungan Konsentrasi Terhadap Suhu Pembekuan Lambat Pada Rendemen.....	44
13. Perbedaan Sel Daun rumput laut <i>S.Filipendula</i> segar dan diberi perlakuan Perbesaran 200 μm	50
14. Perbedaan Sel Batang Rumput Laut <i>S.Filipendula</i> segar dan diberi perlakuan Perbesaran 200 μm	51
15. Gambar Sel Batang Rumput Laut <i>Sargassum Filipendula</i>	51
16. Grafik Respon Hubungan Konsentarsi Pelarut dan Suhu Pembekuan Terhadap TPC.....	52
17. Grafik Respon HubunganKonsentrasi Pelarut dan Suhu Pembekuan Terhadap DPPH.....	54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Hasil Penelitian.....	66
2. Perhitungan ANOVA Kadar Air.....	67
3. Perhitungan ANOVA Rendemen.....	68
4. Perhitungan ANOVA TPC.....	69
5. Perhitungan ANOVA IC50.....	70
6. Persamaan Regresi Standart Asam Galat.....	71
7. Gambar Hasil Uji Fitokimia ekstarak Kasar	72
8. Gambar Proses Pembekuan Rumput Laut <i>S.filipendula</i>	73
9. Gambar Proses Ekstraksi Rumput Laut.....	76



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perairan Indonesia memiliki sumberdaya rumput laut yang berlimpah. Sebagian dari rumput laut tersebut mempunyai nilai ekonomi yang penting. Sebagian komoditi hasil perikanan yang terutama sebagai sumber untuk industri agar-agar, karaginan dan alginat (Sulistyo, 1998).

Diantara banyak warna dari alga yang membedakannya yaitu dari pigmennya. Meskipun hampir semua mengandung klorofil dan bersifat autotrof. Selama beberapa tahun ini alga diklasifikasikan berdasarkan pigmennya yang dipisahkan dalam empat kelompok yaitu, biru kehijauan, hijau, coklat dan merah (Wilson *et al.*, 1952).

Dewasa ini telah banyak diketahui rumput laut mengandung senyawa bioaktif yang dapat menetralkan radikal bebas yaitu senyawa antioksidan. Banyak penelitian yang telah membuktikan hal tersebut, yang dapat menjadikan rumput laut sebagai sumber antioksidan alami yang dapat diperoleh dengan mudah. Menurut Muawwanah *et al.*, (1997), salah satu hasil metabolit sekunder dari alga laut adalah sebagai senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan salah satu bahan aditif yang dapat melindungi bahan pangan dari kerusakan oksidasi penyebab ketengikan. Berdasarkan sumbernya, antioksidan terbagi atas antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami dianggap lebih aman dari pada antioksidan sintetik.

Di dalam tubuh kita terdapat senyawa yang disebut antioksidan yaitu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, seperti: enzim SOD (Superoksida Dismutase), glutathione, dan katalase. Antioksidan juga dapat diperoleh dari asupan makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E dan betakaroten serta senyawa fenolik. Bahan pangan yang dapat menjadi

sumber antioksidan alami, seperti rempah-rempah, coklat, biji-bijian, buah-buahan, sayur-sayuran seperti buah tomat, pepaya, jeruk dan sebagainya (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya (Sudirman, 2011).

Oleh karena banyaknya penyakit berbahaya yang dapat ditimbulkan oleh radikal bebas tersebut maka banyak pula yang mencari solusi untuk menetralkan radikal tersebut tanpa menimbulkan penyakit baru, yaitu pemakaian antioksidan alami. Banyak penelitian yang menunjukkan antioksidan dapat diperoleh dari ekstrak rumput laut. Dari penelitian terdahulu tersebut, penelitian yang akan dilakukan akan mengembangkan cara untuk memperoleh ekstrak rumput laut yang lebih besar dan aktivitas antioksidan yang lebih besar, yaitu dengan cara pembekuan lambat.

Laju pembekuan merupakan salah satu faktor kritis yang menentukan mutu produk beku yang dihasilkan. Proses pembekuan lambat akan menghasilkan Kristal-kristal es dengan jumlah yang lebih sedikit tetapi dengan ukuran yang lebih besar berpeluang untuk menusuk dan merusak sel-sel jaringan pangan, sehingga menyebabkan sel kehilangan air dan keteguhan tekstur (Food Review Indonesia, 2007). Kerusakan sel tersebut yang digunakan untuk mengeluarkan zat antioksidan dari dalam sel rumput laut, sehingga ekstrak dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan sehingga rendemen yang dihasilkan lebih besar dan mutu antioksidan akan lebih baik.

Dengan hal tersebut, jika dilakukan pada pembekuan lambat dengan penambahan konsentrasi pelarut yang dapat menurunkan suhu sampai batas titik

kritis pembekuan dan dapat mengekstrak bioaktif yang terdapat dalam bahan lebih banyak sehingga rendemen akan lebih besar ditambahkan dansuhu yang digunakan suhu penyimpanan yang baik untuk sayuran atau tumbuhan menurut Desrosier dan Tressler (1977), yaitu suhu $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut dan suhu pembekuan lambat terhadap rendemen dan mutu antioksidan pada *Sargassum filipendula*.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas diperoleh permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana proses pembekuan lambat dapat mempengaruhi rendemen dan mutu antioksidan pada rumput laut *Sargassum filipendula*?
2. Bagaimana pemberian konsentrasi pelarut dan suhu pembekuan lambat yang berbeda dapat mempengaruhi rendemen dan mutu antioksidan pada rumput laut *Sargassum filipendula*?

1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan suhu pembekuan lambat yang berbeda terhadap rendemen dan mutu antioksidan pada rumput laut *Sargassum filipendula*. Sedangkan tujuan penelitian ini secara khusus yaitu untuk menentukan terhadap konsentrasi pelarut dan suhu terbaik pembekuan antioksidan dari *Sargassum filipendula*.

1.4 Hipotesis

Perlakuan konsentrasi pelarut yang ditambahkan saat dilakukan pembekuan lambat untuk menurunkan sampai batas titik kritis pembekuan dari

alga coklat *Sargassum filipendula* dapat berpengaruh rendemen dan mutu antioksidan tersebut.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, serta institusi lain mengenai manfaat senyawa antioksidan pada *Sargassum filipendula* sehingga masyarakat dapat memanfaatkan *Sargassum filipendula* ini sebagai alternatif antioksidan alami yang potensial. Selain itu penelitian ini juga dapat memberikan informasi tentang pengaruh konsentrasi pelarut dan suhu pembekuan lambat terhadap rendemen dan mutu antioksidan pada *Sargassum filipendula*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan laboratorium Biologi Dasar, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, pada bulan November 2012 – Januari 2013.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat

Makroalga (rumput laut) dapat diklasifikasikan menjadi 3 kelompok berdasarkan kandungan pigmen fotosintetik dan pigmen asesoris, yaitu: *Rhodophyta*, *Phaeophyta*, *Chlorophyta* (Atmaja dan Sulistijo, 1991). Istini, *et al.* (2009) menambahkan, rumput laut dibagi dalam empat kelas yaitu: *Chlorophyceae* (alga hijau), *Rhodophyceae* (alga merah), *Cyanophyceae* (alga biru), dan *Phaeophyceae* (alga coklat). Jenis alga coklat yang terdapat di perairan Indonesia ada 28 spesies yang berasal dari 6 genus yaitu *Sargassum*, *Turbinaria*, *Padina*, *Dictyota*, *Hormophysa* dan *Hydroclathrus*. Sedangkan jenis yang potensial sebagai penghasil alginat di Indonesia adalah jenis-jenis *Sargassum polycystum* J.G.Agardh, *Sargassum crassifolium* J.A. Agardh, *Turbinaria conoides* (J.C.A.G) Kuetzing dan *Hormophysa triquetra* (Yunizal, 2004). *Sargassum* merupakan salah satu marga yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. Ada 150 jenis Marga *Sargassum* yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin (Nizamuddin, 1970).

Hampir semua jenis alga coklat hidup di perairan laut yaitu di pinggiran pantai dengan kedalaman yang tidak lebih dari 20 meter dan melekat pada substrat keras. Alga coklat dapat tumbuh subur bila hidup di lautan yang bersuhu dingin, dimana hanya sebagian kecil yang hidup di laut panas pada daerah tropis seperti *Sargassum* sp. (Winarno, 1996).

Alga dimasukkan dalam divisi *Thallophyta* karena mempunyai struktur kerangka tubuh yang tidak berdaun, berakar dan berbatang, semuanya terdiri dari thallus. Penentuan divisi dan ciri-ciri hubungan filogenetik di antara kelas alga dipakai komposisi plastida pigmen, persediaan karbohidrat dan komposisi dinding sel. Alga coklat mempunyai ukuran dan bentuk thalli beragam dari yang

berukuran kecil sebagai epifit, sampai yang berukuran besar, bercabang banyak, berbentuk pita atau lembaran, cabangnya ada yang sederhana dan ada pula yang tidak bercabang (Aslan, 1991).

Jenis alga coklat yang banyak digunakan untuk pembuatan obat adalah *Sargassum*, *Padina* dan *Turbinaria*. Pengolahan rumput laut jenis tersebut menghasilkan ekstrak berupa senyawa natrium alginat. Senyawa alginat inilah yang dimanfaatkan dalam pembuatan obat antibakteri, anti tumor, penurunan darah tinggi dan mengatasi gangguan kelenjar. Rumput laut coklat mengandung besi, yodium, dan mineral-mineral lainnya (Junanto, 2009).

Komponen utama dari alga adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potassium) dan air 80-90 % (Manurung, 2011). Komposisi kimia *Sargassum sp*, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum sp*

Komposisi Kimia	Kadar (%)
Karbohidrat	19.06
Protein	5.53
Lemak	0.74
Air	11.71
Abu	34.57
Serat Kasar	28.39

Sumber: Yunizal (2004)

2.1.1 Karakteristik *Sargassum filipendula*

Klasifikasi alga coklat *Sargassum filipendula* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Chromista
Subkingdom	: Harosa
Filum	: Ochrophyta
Subfilum	: Phaeista
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum filipendula</i> C. Agardh

Dan alga coklat dapat di lihat pada Gambar 1.

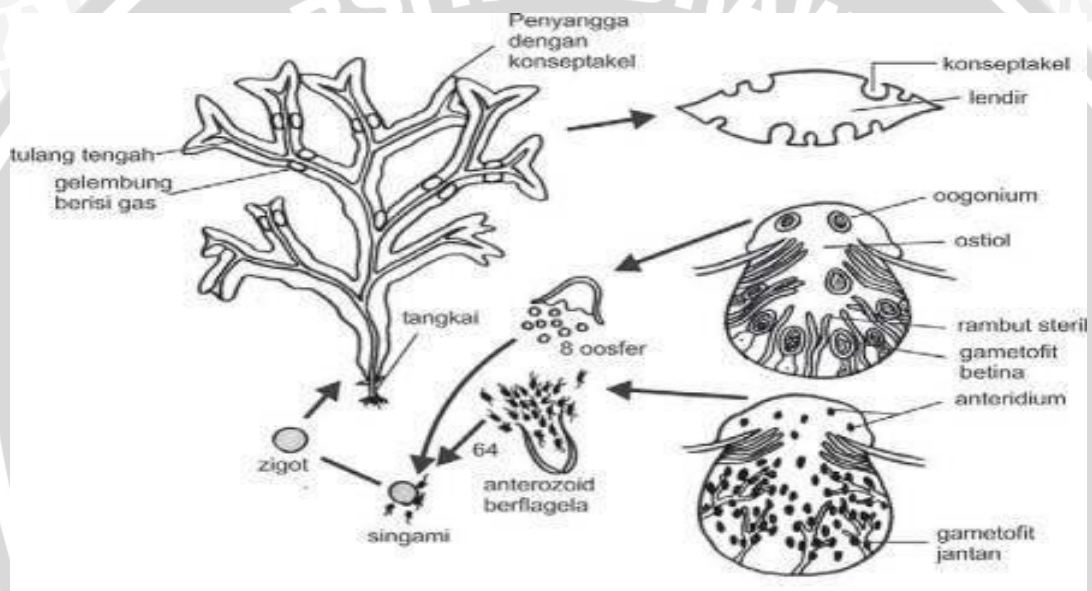
Sumber : Anonymous^a (2012)



Gambar 1. Alga Coklat (*Sargassum filipendula*)

Kelompok alga coklat memiliki bentuk yang bervariasi dan sebagian besar jenis-jenisnya berwarna coklat atau pirang. Alga coklat biasanya dicirikan oleh 3 sifat, yaitu (1) adanya pigmen coklat, yaitu fukosantin yang menutupi warna hijau dari pigmen klorofil a dan c, (2) hasil fotosintesis terhimpun dalam bentuk laminaran dan (3) adanya flagel. *Sargassum* memiliki bentuk thallus silindris atau gepeng, banyak percabangan yang menyerupai pepohonan darat, bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter, panjangnya mencapai 7 meter di Indonesia terdapat spesies yang panjangnya 3 meter) dan warna thallus umumnya coklat (Aryanti,

2011). Glembung udara (*bladder*) terdapat pada bagian tubuh berbentuk seperti buah yang berwarna cokelat juga. Bagian ini berguna sebagai cadangan udara untuk respirasi, jadi merupakan alat pengapung sehingga talusnya dapat terapung di perairan (Anonymous^a, 2012)..Batang utama bulat agak kasar, dan *holdfast* (bagian yang digunakan untuk melekat) berbentuk cakram., pinggir daun bergerigi jarang, berombak, dan ujung melengkung atau meruncing (Manurung, 2011). Gambar fisiologi, morfologi dan daur hidup alga coklat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Fisiologi, Morfologi dan Daur Hidup Alga Coklat

Sumber: Anonymous^b (2012)

Sargassum sp. memiliki ciri-ciri tergolong dalam bentuk thallus yang umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara, panjangnya mencapai 7 meter dan warna thallus umumnya coklat (Aslan, 1991). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh tiga sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis terhimpun dalam bentuk laminaran dan alginat serta adanya flagel (Tjondronegoro *et al.*, 1989). Rumput laut merupakan makro alga yang hidup di laut yang tidak memiliki akar, batang dan

daun sejati dan pada umumnya hidup di dasar perairan dan menempel pada substrat (benda lain). Fungsi dari akar, batang dan daun yang tidak dimiliki oleh rumput laut tersebut digantikan dengan thallus. Karena tidak memiliki akar, batang dan daun seperti umumnya pada tanaman, maka rumput laut digolongkan ke dalam tumbuhan tingkat rendah (Atmadja, *et al.*, 1996).

2.2 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan (Tamat *et al.*, 2007). Berdasarkan sumber perolehannya menurut Kuncahyo dan Sunardi (2007), ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan.

Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Meningkatnya minat untuk mendapatkan antioksidan alami terjadi beberapa tahun terakhir ini. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya (Sunarni, 2005).

Menurut Hudson (1990), berkaitan dengan fungsinya senyawa-senyawa antioksidan dapat diklasifikasikan dalam 5 tipe antioksidan yaitu:

- 1) *Primary Antioxidant* yaitu senyawa-senyawa, terutama senyawa - senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal

bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini misalnya: BHA, BHT, TBHQ, PG dan tokoferol.

- 2) *Oxygen Scavengers* yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat) askorbil palmitat, asam eritorbat dan sulfit.
- 3) *Secondary Antioxydant* yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk mendekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Pada umumnya tipe antioksidan ini digunakan untuk menstabilkan polyoefin resin contohnya adalah asam tiodipropionat dan dilauril tipropionat.
- 4) *Antioxidant Enzyme* yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya: glukosaoksidase, superoksiddismutase (SOD) glutation peroksidase dan katalase.
- 5) *Chelator Sequestrants* yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu) yang mampu mengkatalisa reaksi oksidasi lemak. Senyawa antioksidan yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, etylenediaminetetra aceticacid (EDTA) dan fosfolipid.

Antioksidan dapat berbentuk gizi seperti vitamin E dan C, non-gizi (pigmen karoten, likopen, flavonoid, dan klorofil), dan enzim (glutation peroksidase, koenzim Q10 atau ubiquinon). Antioksidan dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan preventif (enzim superoksida dismutase, katalase,

dan glutathion peroksidase), antioksidan primer (vitamin A, fenolat, flavonoid, katekin, kuersetin), dan antioksidan komplementer (vitamin C, β -karoten, retinoid) (Tamat *et al.*, 2007).

Antioksidan berfungsi mengatasi atau menetralkan radikal bebas dan melindungi tubuh dari beragam penyakit, termasuk penyakit degeneratif pada usia lanjut seperti arteriosklerosis, demensu penyakit Alzheimer serta membantu menekan proses tua. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan, mendapat pasangan elektron sehingga tidak liar lagi. Peran positif dari antioksidan adalah membantu sistem pertahanan tubuh bila ada unsur pembangkit penyakit memasuki dan menyerang tubuh (Barus, 2009).

Menurut Winarsih (2007), antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini 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. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat.

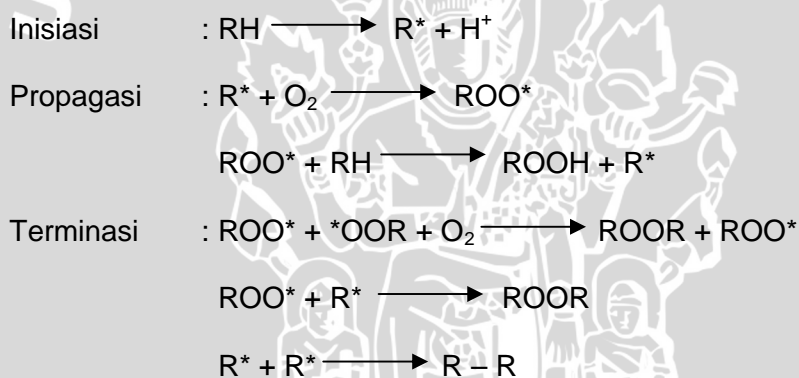
Efek antioksidan terutama disebabkan oleh adanya senyawa fenolat seperti flavonoid dan asam fenolat. Pada umumnya senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenol yang mempunyai gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus -OH dan -OR (Kuntorini *et al.*, 2011).

2.2.1 Mekanisme Kerja Antioksidan

Aktivitas penghambatan antioksidan dalam reaksi oksidasi berdasarkan reaksi keseimbangan dan reaksi oksidasi reduksi. Molekul antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas (R^{\cdot}) dan membentuk molekul yang tidak reaktif

(RH) dan dengan demikian reaksi berantai pembentukan radikal bebas dapat dihentikan (Belitz dan Grosch, 1999).

Mekanisme kerja antioksidan secara umum menurut Wiratmaja, I. Gede (2011), adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Ditambahkan oleh Barus (2009), antioksidan dalam bahan makanan berlemak berperan sebagai inhibitor atau pemecah peroksida. Mekanisme oksidasi pada lemak/minyak pada prinsipnya merupakan proses pemecahan yang terjadi di sekitar ikatan rangkap dalam molekul gliserida. Proses oksidasi ini terjadi dalam satu seri tahap reaksi yaitu tahap inisiasi, diikuti oleh tahap propagasi dan tahap terminasi yang disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme Oksidasi Pada Minyak/Lemak

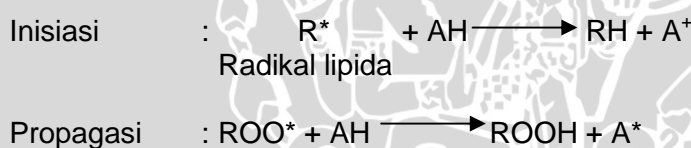
Sumber : Barus (2009)

Mekanisme oksidasi pada minyak/lemak penting dalam perencanaan operasi dan optimasi proses.

Antioksidan pada umumnya mengandung struktur inti yang sama, yaitu mengandung cincin benzena tidak jenuh disertai gugusan hidroksi atau gugusan amino. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai radikal bebas menurut Ketaren (1986), terdiri atas empat tahap yaitu:

- 1) Pelepasan hidrogen dari antioksidan,
- 2) Pelepasan elektron dari antioksidan,
- 3) Adisi lemak (molekul teroksidasi) ke dalam cincin aromatik antioksidan,
- 4) Pembentukan senyawa kompleks antara lemak (molekul teroksidasi) dan cincin aromatik antioksidan.

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relative stabil dan tidak mempunyai cukup energy untuk dapat bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipida baru (Wiratmaja, 2011). Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer Terhadap Radikal Lipida

Sumber : Wiratmaja, I. Gede (2011)

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Gordon 1993).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung koroner, katarak, penuaan dini. Oleh karena itu, tubuh memerlukan suatu substansi penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Andayani *et al.*, 2008).

Setiap molekul yang berkontak langsung dengan radikal bebas mengalami penarikan elektron dan membentuk radikal bebas yang baru dalam reaksi berantai oksidatif sitotoksik. Oksigen reaktif yang sangat berpotensi dan mungkin menjadi inisiator pembentuk radikal organik adalah radikal hidroksil (Marks *et al.*, 2000).

Suyoso (2011), yang dimaksud radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Jika elektron yang terikat oleh senyawa radikal yang bersifat ionik, dampak yang timbul memang tidak begitu bahaya. Akan tetapi, bila elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, akan sangat

berbahaya karena ikatan digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya.

Tanpa disadari, dalam tubuh kita secara terus menerus terbentuk radikal bebas melalui peristiwa metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi lingkungan, asap rokok. Lingkungan yang tercemar justru merangsang tumbuhnya radikal bebas (*free radical*) yang dapat merusak tubuh. Penelitian bidang gizi membuktikan bahwa antioksidan mampu melindungi jaringan tubuh dari efek negatif radikal bebas (Mega dan Dewa, 2010).

Radikal bebas secara umum dapat dihambat oleh antioksidan tertentu baik alami maupun sintetis. Sebagian besar antioksidan alami berasal dari tanaman antara lain berupa senyawa tokoferol, karotenoid, asam askorbat, fenol dan flavonoid (Juniarti *et al.*, 2009).

Reaksi rantai radikal bebas meliputi tahap inisiasi, propagasi, dan terminasi. Inisiasi merupakan tahap pemutusan molekul halogen menjadi dua atom halogen. Tahap propagasi terjadi saat suatu radikal bereaksi dengan molekul lainnya membentuk radikal yang selanjutnya dapat bereaksi seperti reaksi sebelumnya. Proses tersebut berhenti saat dua radikal berantai bergabung, sehingga rantai terterminasi atau putus karena tidak ada radikal baru yang terbentuk (Hart *et al.*, 2003).

2.4 Pembekuan Lambat

Adawyah (2007), menyatakan berdasarkan cepat lambatnya waktu pembekuan, pembekuan dapat dibedakan menjadi dua yaitu :

- 1.) Pembekuan cepat (*quick freezing*), yaitu pembekuan dengan *thermal arrest time* tidak lebih dari dua jam sehingga kristal-kristal es yang dihasilkan kecil-kecil di dalam jaringan daging. Jika dicairkan kembali, kristal-kristal yang

mencair diserap kembali oleh daging dan hanya sejumlah kecil yang lolos keluar sebagai drip.

- 2.) Pembekuan lambat (*slow freezing* atau *sharp freezing*), yaitu bila *thermal arrest time* lebih dari dua jam sehingga kristal-kristal es yang dihasilkan besar-besar. Kristal es ini mendesak dan merusak susunan jaringan daging. Tekstur daging ketika dicairkan menjadi kurang baik, menjadi berongga-rongga dan banyak sekali drip yang berbentuk.

Laju pembekuan merupakan salah satu faktor kritis yang menentukan mutu produk beku yang dihasilkan. Proses pembekuan lambat akan menghasilkan Kristal-kristal es dengan jumlah yang lebih sedikit tetapi dengan ukuran yang lebih besar berpeluang untuk menusuk dan merusak sel-sel jaringan pangan, sehingga menyebabkan sel kehilangan air dan keteguhan tekstur (Food Review Indonesia, 2007).

Pembekuan lambat disebut juga dengan pembekuan tajam (*sharp freezing*). Di dalam metode ini, bahan ditempatkan dalam ruang pembekuan pada suhu antara -4°C hingga -29°C . Pembekuan membutuhkan waktu 3 hingga 72 jam di bawah kondisi yang demikian (Srilakshmi, 2005). Kemampuan jaringan bertahan hidup lebih baik pada pembekuan cepat dibandingkan dengan pembekuan lambat karena air tidak memiliki waktu untuk bermigrasi membentuk kristal besar (Vaclavik dan Christian, 2008).

Menurut Campbell *et al.*, (2003), pada suhu di bawah pembekuan, kristal es mulai terbentuk pada sebagian besar tumbuhan. Jika es terbatas hanya pada dinding sel dan ruangan antar sel, tumbuhan kemungkinan akan bertahan hidup. Namun demikian, jika es mulai terbentuk di dalam protoplas, kristal es yang tajam itu akan merobek membran dan organel, yang dapat membunuh sel tersebut.

Kerusakan tekstur terjadi karena terbentuknya kristal-kristal es di bagian sitoplasma maupun di ruang-ruang antar sel yang dapat mengakibatkan kerusakan dinding sel (Somogyi *et al.*, 1996). Disamping kerusakan secara mekanis pada jaringan tanaman, proses ini mengakibatkan dehidrasi secara cepat dari isi sel dan suatu peningkatan kosentrasi cairan sel. Pencairan yang cepat dapat juga mempunyai pengaruh mematikan pada tanaman yang membeku karena gangguan dalam hubungan metabolisme sel dan air yang lebih jauh (Fitter dan Hay, 1991).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah istilah yang digunakan untuk operasi yang melibatkan perpindahan suatu konstituen padat atau cair (*solute*) ke dalam cairan lain yaitu *solvent* atau pelarut. Prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan. Untuk memisahkan zat terlarut yang diinginkan atau menghilangkan komponen zat terlarut yang tidak diinginkan dari fasa padat, maka fasa padat dikontakkan dengan fasa cair. Pada kontak dua fasa tersebut, zat terlarut terdifusi dari fasa padat ke fasa cair sehingga terjadi pemisahan dari komponen padat. (Wassil, 1995).

Menurut Utami *et al.*, (2009) Ekstraksi adalah proses penarikan komponen/zat aktif suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu. Pemikiran metode ekstraksi senyawa bukan atom dipergunakan oleh beberapa faktor yaitu sifat jaringan tanaman, sifat kandungan zat aktif dan kelarutan dalam pelarut yang digunakan. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Secara umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan) lalu pelarut yang kepolarannya menengah (diklor metan atau etil

asetat) kemudian pelarut yang bersifat polar (metanol atau etanol). Prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan, untuk memisahkan zat terlarut yang diinginkan atau menghilangkan komponen zat terlarut yang tidak diinginkan dari fase padat, maka fase padat dikontakkan dengan fase cair. Pada kontak dua fase tersebut, zat terlarut terdifusi dari fase padat ke fase cair sehingga terjadi pemisahan dari komponen padat.

Metode yang umum mendasari proses ekstraksi adalah maserasi. Kata maserasi berasal dari bahasa Latin *maceratus* yang berarti melunakkan. Maserasi merupakan proses perendaman bahan yang dilakukan dengan atau tanpa pengadukan. Bahan yang akan dimaserasi bersama pelarut ditempatkan dalam wadah tertutup bertujuan untuk mencegah terjadinya penguapan. Larutan alkohol dalam jumlah yang cukup dapat ditambahkan dalam wadah apabila pelarut yang digunakan adalah air. Hal tersebut bertujuan untuk mencegah pertumbuhan mikroba (Podungge, Fitriany 2012).

Menurut Suyoso (2011), dalam proses ekstraksi maserasi pelarut menembus dinding sel masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam dan di luar sel, maka cairan hipertonis akan masuk ke cairan yang hipertonis sehingga terjadi keseimbangan. Pengadukan juga diperlukan untuk meratakan konsentrasi di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel.

Sebagai tenaga pemisah, solven harus dipilih sedemikian hingga kelarutannya terhadap salah satu komponen murninya adalah terbatas atau sama sekali tidak saling melarutkan. Karenanya, dalam proses ekstraksi akan terbentuk dua fase cairan yang saling bersinggungan dan selalu mengadakan kontak. Fase yang banyak mengandung diluen disebut fase rafinat sedangkan

fase yang banyak mengandung solven dinamakan ekstrak (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

2.6 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor utama yang menentukan keberhasilan dalam proses ekstraksi. Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non-polar (Vogel, 1987).

Senyawa polar adalah Senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsurnya. Hal ini terjadi karena unsur yang berikatan tersebut mempunyai nilai keelektronegatifitas yang berbeda.

Sedangkan Senyawa non polar : Senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsur yang membentuknya. Hal ini terjadi karena unsur yang berikatan mempunyai nilai elektronegatifitas yang sama/hampir sama (Fitrimarwaningsih, 2013). Sifat pelarut umum dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat-sifat Pelarut Umum

Solvent	Rumus Kimia	Titik Didih(° C)	Konstanta Dielektrik	Massa jenis(g/ml)
Pelarut Non-Polar				
Heksana	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	69	2.0	0.655
Benzena	C ₆ H ₆	80	2.3	0.879
Toluena	C ₆ H ₅ -CH ₃	111	2.4	0.867
Dietil eter	CH ₃ CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃	35	4.3	0.713
Kloroform	CHCl ₃	61	4.8	1.498
Etil asetat	CH ₃ -C(=O)-O-CH ₂ -CH ₃	77	6.0	0.894
Pelarut Polar Aprotik				
1,4-Dioksana	/-CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₂ -O-\	101	2.3	1.033
Tetrahidrofuran (THF)	/-CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₂ -\	66	7.5	0.886
Diklorometana (DCM)	CH ₂ Cl ₂	40	9.1	1.326
Asetona	CH ₃ -C(=O)-CH ₃	56	21	0.786
Asetonitril (MeCN)	CH ₃ -C N	82	37	0.786
Dimetilformamida (DM F)	H-C(=O)N(CH ₃) ₂	153	38	0.944
Dimetil sulfoksida (DMSO)	CH ₃ -S(=O)-CH ₃	189	47	1.092
Pelarut Polar Protik				
Asam asetat	CH ₃ -C(=O)OH	118	6.2	1.049
<i>n</i> -Butanol	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -OH	118	18	0.810
Isopropanol (IPA)	CH ₃ -CH(-OH)-CH ₃	82	18	0.785
<i>n</i> -Propanol	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -OH	97	20	0.803
Etanol	CH ₃ -CH ₂ -OH	79	30	0.789
Metanol	CH ₃ -OH	65	33	0.791
Asam format	H-C(=O)OH	100	58	1.21
Air	H-O-H	100	80	1.000

Sumber : Anonymous^c (2012)

Pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi harus memenuhi syarat tertentu, yaitu tidak toksik, tidak meninggalkan residu, harganya murah, tidak korosif, aman dan tidak mudah meledak. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi jenis bahan yang akan terekstrak. Kelarutan suatu senyawa dalam pelarut tergantung dari gugus-gugus yang terikat pada pelarut tersebut. Pelarut yang mempunyai gugus hidroksil (alkohol) dan karbonil (keton) termasuk pelarut polar, sedangkan hidrokarbon termasuk ke dalam non polar (Nurmillah, 2009). Konstanta dielektrik berbagai pelarut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Konstanta Dielektrik Bahan Pelarut

No	Pelarut	Konstanta Dielektrik (D)	Tingkat kelarutan Dalam Air
1	Kloroform	4,806	Sedikit
2	Etil Asetat	6,02	Sedikit
3	n-Butanol	17,80	Sedikit
4	2-Propanol	18,30	Misibel
5	1-Propanol	20,10	Sedikit
6	Aseton	20,70	Misibel
7	Etanol	24,30	Misibel
8	Metanol	33,60	Misibel
9	Air	80,40	Misibel

Keterangan : Misibel = dapat bercampur dengan air dalam berbagai konsentrasi
Sumber : Sudarmadji *et al.*, (1997)

Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Larutan pengekstraksi yang digunakan saat proses ekstraksi yaitu ethanol. Etanol, disebut juga etil alkohol adalah jenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna. Etanol termasuk ke dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O . Ia merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil (C_2H_5). Sifat kimia dari etanol banyak dipengaruhi dari gugus hidroksilnya (Vogel, 1987).

Etanol termasuk golongan alkohol yang merupakan senyawa organik yang mengandung gugus hidroksil dengan rumus umum : $R-OH$ atau $C_nH_{2n+1}OH$. Alkohol dapat dianggap sebagai turunan alkana, dimana atom H diganti oleh gugus hidroksil. Penamaan jenis alkohol tergantung dari jumlah n pada alkilnya, jika $n = 1$ diberi nama metanol dan bila $n=2$ dikenal dengan nama etanol yang merupakan kependekan dari etil alkohol. Etanol dengan formula C_2H_5OH merupakan larutan jernih, tidak berwarna, volatil dengan bau khas, mendidih pada suhu $78,5^\circ C$, larut dalam air, eter, kloroform dan aseton (Basri, 1996).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut.Keuntungan lainnya adalah sifatnya yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Harborne, 1987). Sifat-sifat fisik dan kimia etanol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sifat-Sifat Fisik dan Kimia Etanol

No.	Karakteristik	Etanol
1.	Nama lain	Etanol, metil karbinol, etil alkohol, ansol
2.	Rumus bangun	C ₂ H ₅ OH
3.	Sifat	Mudah menguap, berbau khas, tidak beresidu
4.	Berat molekul	46,7
5.	Titik leleh	-117,3 sampai -112°C
6.	Titik didih	78,4°C
7.	Berat jenis	6,6 lbs/gal pada 20°C
8.	Kelarutan	Dalam air, eter, kloroform dan metil alkohol
9.	Densitas	1,59

Sumber : Schelfan *et al.* (1983)

Etanol bersumber dari bahan baku gula sederhana, pati dan selulosa. Setelah melalui proses fermentasi dan distilasi maka dihasilkan etanol. Etanol adalah senyawa organik yang merupakan zat cair, tidak berwarna, berbau spesifik, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dalam air dengan segala perbandingan. Secara garis besar penggunaan etanol adalah sebagai pelarut untuk zat organik maupun anorganik, bahan dasar industri asam cuka, ester, spirtus, asetaldehid, antiseptik (Wiratmaja, I Gede 2011). Sifat fisika etanol dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Sifat Fisika Etanol

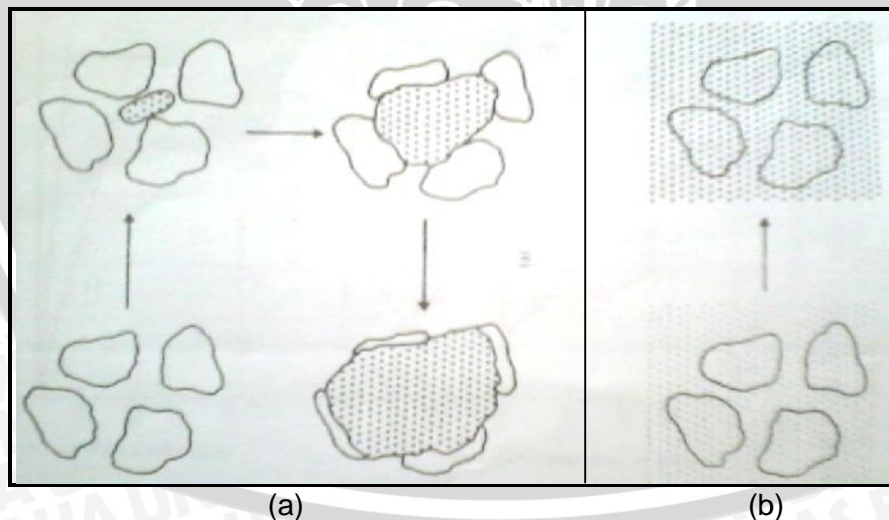
Sifat	Jumlah
Massa molekul relative (g/mol)	46,07
Titik Beku (°C)	-114,1
Titik didih normal (°C)	78,32
Densitas pada 20°C (g/ml)	0,7893
Kelarutan dalam air (20°C)	Sangat larut
Viskositas pada 20°C (cP)	1,17
Kalor Spesifik, 20°C (kal/g°C)	0,579
Kalor pembakaran, 25°C (kal/g)	092,1
Kalor Penguapan 78,32°C (kal/g)	200,6

Sumber : Wiratmaja (2011)



2.7 Suhu Pembekuan Lambat

Selama pembekuan lambat, kristal es tumbuh di ruang antar sel yang dapat merubah bentuk dan dapat merusak dinding sel didekatnya (Gambar 6a). Kristal es memiliki tekanan uap air lebih rendah dibandingkan di dalam sel, maka air akan bergerak keluar sel menuju kristal yang sedang tumbuh. Sel menjadi dehidrasi dan membuat kerusakan permanen oleh peningkatan konsentrasi solute dan merusak struktur sel. Pada proses *thawing*, sel tidak kembali ke bentuk awal. Bahan tersebut menjadi lunak dan material sel merembes keluar dari sel yang pecah (*drip*). Pada pembekuan cepat, terbentuk kristal es lebih kecil di ruang antar sel maupun didalam sel. Akibatnya kerusakan fisik lebih rendah dan tidak terbentuk tekanan uap air, sehingga dehidrasi menjadi rendah. Tekstur dari bahan dapat menahan pada tingkat yang lebih baik (Gambar 6b). Namun, pembekuan yang sangat cepat dapat menyebabkan tekanan pada bahan sehingga menyebabkan keretakan pada jaringan (Fellows, 2000). Pengaruh laju pembekuan pada jaringan tumbuhan terdapat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengaruh Pembekuan pada Jaringan Tumbuhan
(a) Pembekuan Lambat dan (b) pembekuan cepat
Sumber: Fellows (2000)

Menurut Rohanah (2002), laju pembekuan suatu massa pangan adalah ratio antara jarak minimal antara permukaan dengan titik pusat termal dibanding

dengan waktu yang diperlukan oleh produk pangan mencapai suhu 0°C pada permukaan bahan sampai mencapai suhu -5°C pada pusat termal bahan. Salah satu variasi terhadap definisi Lembaga Refrigerasi International ialah *Thermal Arrest Time* (TAR), menurut definisi ini, laju pembekuan ialah pengukuran waktu yang dibutuhkan titik yang paling lambat membeku pada produk, untuk menurunkan suhu dari 0°C menjadi -5°C .

Pembekuan atau freezing ialah penyimpanan di bawah titik beku bahan, jadi bahan disimpan dalam keadaan beku. Pembekuan yang baik dapat dilakukan pada suhu kira-kira -17°C atau lebih rendah lagi. Pada suhu ini pertumbuhan bakteri sama sekali berhenti. Pembekuan yang baik biasanya dilakukan pada suhu antara -12°C sampai -24°C . Dengan pembekuan, bahan akan tahan sampai beberapa bulan, bahkan kadang-kadang beberapa tahun (Hudaya, 2013)

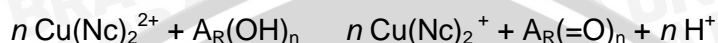
Menurut Ndilo (2011) berdasarkan panjang pendeknya waktu thermal arrest ini pembekuan dibagi menjadi 2 yaitu :

1. Pembekuan lambat (slow freezing), yaitu bila thermal arrest time lebih dari 2 jam.
2. Pembekuan cepat (quick freezing), yaitu pembekuan dengan thermal arrest time tidak lebih dari 2 jam.

Kristal-kristal es yang terbentuk selama pembekuan dapat berbeda-beda ukurannya tergantung pada kecepatan pembekuan.

2.8 Uji Aktivitas Antoksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode di antaranya CUPRAC, DPPH, dan FRAP. Metode CUPRAC (Apak *et al.*, 2007) menggunakan bis(neokuproin) tembaga(II) ($\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$) sebagai pereaksi kromogenik. Pereaksi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$ yang berwarna kuning dengan reaksi:



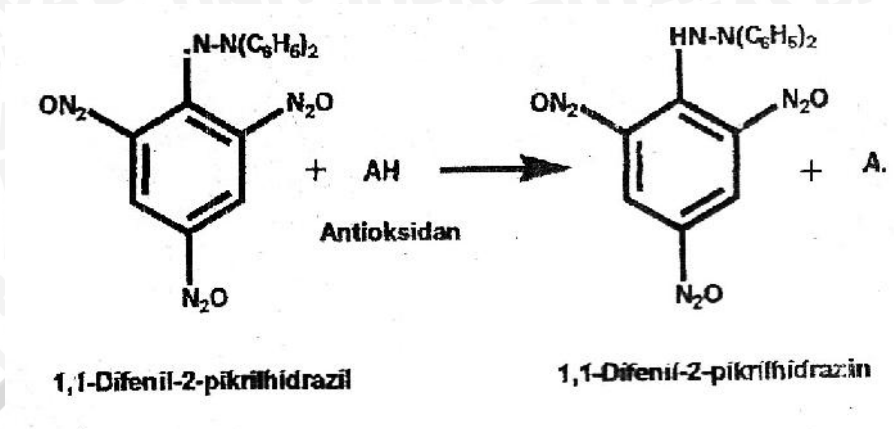
Metode FRAP (Benzie *dan* Strain, 1996) menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besiligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$ yang berwarna kuning dengan reaksi berikut:



Keberadaan senyawa antioksidan dalam suatu bahan dapat diketahui melalui uji aktivitas antioksidan. Terdapat berbagai metode pengukuran aktivitas antioksidan. Pada prinsipnya metode-metode tersebut digunakan untuk mengevaluasi adanya aktivitas penghambatan proses oksidasi oleh senyawa antioksidan yang terdapat dalam bahan pangan atau contoh ekstrak bahan alam (Setyaningsih 2003).

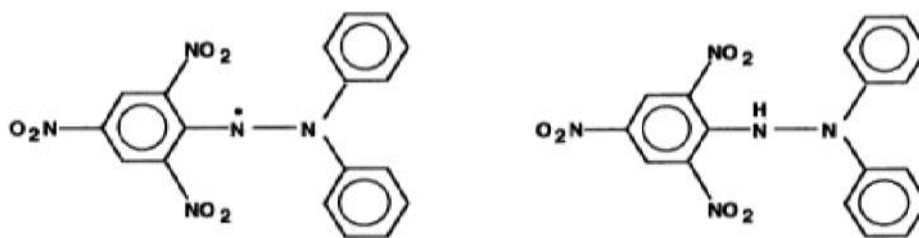
DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang. Perubahan ini dapat diukur secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya

zat antioksidan (Suratmo, 2009). Contoh mekanisme reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH terdapat pada Gambar 7.



Gambar 7. Contoh mekanisme reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH (Suratmo, 2009)

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Kuncahyo dan Sunardi, 2007). Berdasarkan Apriandi (2011), metode ini, larutan DPPH yang berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan senyawa antioksidan, sehingga DPPH akan berubah menjadi *diphenilpicrylhydrazine* yang bersifat non-radikal yang tidak berbahaya sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 8. Meningkatnya jumlah *diphenilpicrylhydrazine* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu pada larutan menjadi warna kuning pucat.



Gambar 8. Struktur *Diphenylpicrylhydrazil* dan *Diphenylpicrylhydrazine*
Sumber : Apriandi (2012)

Antioksidan dalam tubuh bekerja mengikat radikal-radikal bebas yang akan merusak sel-sel tubuh sehingga mendorong terjadinya pertumbuhan sel-sel tidak normal (kanker). Penetapan aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan Inhibition Concentration (IC_{50}) pada masing-masing sampel uji. IC_{50} adalah konsentrasi suatu zat antioksidan yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Zat antioksidan yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi akan mempunyai nilai IC_{50} yang rendah (Kuntorini *et al.*, 2011).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi preparasi sampel, pembekuan sampel, *thawing*, ekstraksi kasar, pengujian aktivitas antioksidan dan identifikasi senyawa fitokimia yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Alat dan Bahan yang Digunakan Dalam Penelitian

Tahapan	Alat	Bahan
1. Preparasi Sampel	Cool Box, Blender	<i>S. filipendula</i> , Es Balok Plastik dan Air
2. Pembekuan Sampel	Freezer, Termocouple, Pipet Volume, Beaker Glass, Gelas Ukur, Timbangan Digital, Bak	<i>S. filipendula</i> , Wadah Plastik, Etanol Pro Analysis dan Aquades Air
3. Ekstraksi Kasar	Rotary Vacuum Evaporator, Botol Vial, Bola Hisap, Pipet Volume Shaker	<i>S. filipendula</i> , Alumunium Foil, Etanol 96%, Kertas Saring Whatman no. 42 dan Kain Saring
4. Analisa Kadar Air	Oven, Botol Timbang Timbangan Analitik, Desikator dan <i>Crushable Tank</i>	<i>S. filipendula</i> Segar dan Ekstrak Kasar <i>S. filipendula</i>
5. Pengujian Aktivitas Antioksidan	Pipet Volume, Bola Hisap Beaker Glass, Gelas Ukur, Spektrofotometer UV-Vis, dan Botol Vial	Ekstrak Kasar, Etanol 96% dan Larutan DPPH 0,1mM
6. Uji Fitokimia	Tabung reaksi, Pipet Volume, Pipet tetes, beaker glass dan Rak Tabung Reaksi	Ekstrak Kasar, Serbuk Mg, HCl 2N, FeCl ₃ 1%, NH ₃ , Aquades, H ₂ SO ₄ , Kloroform, Amil Alkohol, Alkohol Klorhidrat, Pereaksi Meyer, Wagner dan Dragendorf
7. Uji Total Phenol Content (TPC)	Botol Vial Pipet Volum Beaker Glass Spektrofotometer Uv-Vis	Ekstrak Kasar, Reagen <i>Follin-ciocalteau</i> 50%, Na ₂ CO ₃ 5%, Etanol 96%, Aquades dan Asam Galat

Bahan baku digunakan pada penelitian ini adalah alga coklat *S. filipendula* yang diambil langsung dari daerah budidaya rumput laut yang berada di perairan Pulau Talango, Desa Ponjuk, wilayah timur pulau Madura Kabupaten Sumenep, Jawa Timur. Bahan baku yang telah dipanen dicuci dengan air tawar untuk menghilangkan lumpur, kotoran serta pasir yang masih menempel. Menurut Fateha (2007), dilakukan pencucian dengan air tawar dan sortasi untuk menghilangkan kotoran seperti pasir, garam, tanah, batu, kulit kerang dan rumput laut lainnya sehingga benar-benar bersih dari lumpur dan kotoran yang melekat.

Setelah itu bahan baku yang telah dicuci dimasukkan dalam *cool box* dan diberi es balok dan bagian luar *cool box* diberisegel menggunakan lakban untuk menjaga suhu rendah di dalamnya selama proses transportasi sehingga bahan baku penelitian tetap terjaga kesegarannya. Waktu pengangkutan dari tempat pemanenan ke laboratorium membutuhkan waktu selama sehari semalam. Bahan baku yang telah sampai langsung dipisahkan daun dan batangnya. Dalam penelitian ini yang digunakan adalah daunnya yang masih muda dan segar. Seperti halnya yang ditunjukkan dari hasil penelitian Djukri (2005), yang menyatakan bahwa bagian tumbuhan yang memiliki aktivitas komponen bioaktif tinggi terletak pada bagian daun dan pucuknya yang masih muda.

Daun *S. filipendula* dihancurkan menggunakan blender untuk memperoleh permukaan yang lebih kecil seperti pernyataan Sudirman (2011), yaitu bahan baku yang berbentuk halus tersebut dapat mempermudah saat proses ekstraksi karena permukaan bahan baku yang kontak langsung dengan pelarut lebih luas.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam metode penelitian adalah metode eksperimen. Menurut Fataruba (2010), metode eksperimen merupakan bagian dari metode kuantitatif dan memiliki ciri khas tersendiri terutama dengan adanya kelompok kontrol. Dalam bidang sains, penelitian-penelitian dapat menggunakan desain eksperimen karena variabel-variabel dapat dipilih dan variabel-variabel lain yang dapat mempengaruhi proses eksperimen itu dapat dikontrol secara ketat.

Eksperimen yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pengaruh konsentrasi pelarut dan suhu pembekuan lambat terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan yang diekstrak dari alga coklat *Sargassum filipendula*.

3.2.1 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Menurut Surachmad (1994), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Variabel terikat (variabel yang menjadi pusat penelitian) adalah aktivitas antioksidan dari alga coklat jenis *Sargassum filipendula* pada Kadar Air, Rendemen, TPC (*Total Phenol Content*), dan DPPH. Sedangkan yang menjadi variabel bebas (variabel yang diselidiki pengaruhnya terhadap variabel terikat) adalah konsentrasi pelarut pembekuan dan suhu pembekuan. Desain Perlakuan pada Tabel 7.

Tabel 7. Desain Perlakuan

Perlakuan		Ulangan		Total	Rata-Rata
Konsentrasi	Suhu	1	2		
10	-18	(K ₁ S ₁) ₁	(K ₁ S ₁) ₂		
	-22	(K ₁ S ₂) ₁	(K ₁ S ₂) ₂		
	-26	(K ₁ S ₃) ₁	(K ₁ S ₃) ₂		
17,5	-18	(K ₂ S ₁) ₁	(K ₂ S ₁) ₂		
	-22	(K ₂ S ₂) ₁	(K ₂ S ₂) ₂		
	-26	(K ₂ S ₃) ₁	(K ₂ S ₃) ₂		
25	-18	(K ₃ S ₁) ₁	(K ₃ S ₁) ₂		
	-22	(K ₃ S ₂) ₁	(K ₃ S ₂) ₂		
	-26	(K ₃ S ₃) ₁	(K ₃ S ₃) ₂		

Ket: K₁= konsentrasi 10
 K₂= konsentrasi 17,5
 K₃= konsentrasi 25
 S₁= suhu -18
 S₂= suhu -22
 S₃= suhu -26

3.2.2 Parameter Uji Coba

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji fitokimia, uji kadar air, uji *total polyphenol content*, uji aktivitas antioksidan. Uji kualitatif fitokimia berupa senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenol berdasarkan metode Harborne (1987). Uji kadar air berdasarkan metode *thermogravimetri* oleh Sudarmadji *et al.*, (1997). Uji *total polyphenol content* (TPC) dilakukan menggunakan metode reagen *Follin-Ciocalteau* oleh Lim *et al.*, (2002) dan Ogawa (2003), dalam Santoso *et al.*, (2009). Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode Vijayabaskar dan Shiyamala (2012), yaitu dengan menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penanganan Sampel

Sampel rumput laut merupakan bahan utama yang digunakan pada penelitian ini. Rumput laut tersebut adalah alga coklat *Sargassum*

fiipendula dalam bentuk segar yang diperoleh dari Desa Ponjuk, Pulau Talango, Kabupaten Sumenep, Pulau Madura, Jawa Timur. *Sargassum filipendula* ini dikirim langsung dari daerah budidaya rumput laut yang dikirim menggunakan *coolbox* yang didinginkan dengan es balok agar rumput laut masih tetap terjaga kesegarannya. *S. filipendula* ini kemudian dicuci menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel dirumput laut. Setelah bersih *S. filipendula* dipisahkan dari batangnya dan diambil daunnya yang muda untuk diberikan perlakuan. Daun *S. filipendula* dihancurkan hingga berukuran kecil menggunakan blender.

3.3.2 Pembekuan Sampel

Sargassum filipendula yang telah dihancurkan ditimbang menggunakan timbangan digital sebanyak 200 g dan dimasukkan kedalam wadah berbentuk tabung. Sampel diberikan perlakuan sesuai dengan konsentrasi pelarut (10%, 17,5%, 25%) dan suhu pembekuan (-18°, -22°, -26°C) yang ada pada desain rancangan penelitian Tabel 7.

Penentuan suhu pembekuan yang diberikan berdasarkan pada suhu penyimpanan produk pangan (terutama produk perikanan) dalam *cold storage* secara komersial dan pada suhu -18 °C, air dalam bahan pangan hampir 90% berubah menjadi es (Johnston *et al.*, 1994; Thomas, 2006).

Waktu pembekuan diamati tiap 5 menit sejak sampel diletakkan dalam *freezer* sampai waktu dari masing-masing perlakuan selesai dan dihitung laju pembekuan. Laju pembekuan ditentukan dengan menggunakan konsep TAR (*Thermal Arrest Time*) yaitu waktu yang dibutuhkan oleh titik yang paling lambat membeku pada produk untuk menurunkan suhu dari 0 °C sampai -5 °C (Heldman dan Singh, 1981). Sampel yang telah dibekukan *dithawing* pada suhu ruang dengan merendam wadah yang berisi sampel beku dalam bak yang berisi air sampai mendekati penutup wadah. Seluruh sampel dibuat preperat penempang

melintang dan diamati kerusakan sel yang terjadi akibat pembekuan lambat dibawah mikroskop.

3.3.3 Ekstraksi Kasar (*Crude Extract*)

Sampel *S. filipendula* yang telah *thawing*, kemudian di ekstraksi berdasarkan hasil penelitian Suryaningrum *et al.*, (2006), yang telah dimodifikasi. Keseluruhan sampel dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 12 jam didiamkandan menurut Maulana (2012), yang telah dimodifikasi. Keseluruhan sampel dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 24 jam didiamkan pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) kemudian *dishaker* menggunakan *shaker* pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) selama 5 jam dengan kecepatan konstan. Menurut Suyoso (2011), proses pengadukan menggunakan *shaker* yang dilakukan dengan kecepatan konstan untuk mempercepat proses ekstraksi komponen aktif.pada suhu ruang kemudian *dishaker* menggunakan *shaker* pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$). Perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:3 (b/v).setelah dimaserasi, sampel disaring menggunakan kain saring (blancu) dan dilanjutkan dengan dengan kertas saring Whatman no. 42. Hasil penyaringan (filtrate) di evaporasi pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C selama ± 2 jam untuk memisahkan pelarut dengan sampel sehingga diperoleh *crude extract* etanol, dihitung nilai rendemen, uji aktivitas antioksidan, uji senyawa fitokimia, uji kadar air dan *total phenol content* (TPC).

3.3.4 Analisa Kadar Air

Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar air bebas sampel ekstrak etanol 96%. Uji yang dilakukan berdasarkan metode *thermogravimetri* (Sudarmadji *et al.*, 1997), yaitu dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu $105-110^{\circ}\text{C}$ selama 3 jam atau sampai diperoleh berat konstan. Selisih berat tersebut dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air diuapkan.Prosedurnya yaitu sampel yang telah diketahui beratnya dimasukkan

dalam botol timbang yang juga telah diukur beratnya lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105 °C selama 3 jam. Ditimbang berat akhir sampel setelah dikeringkan lalu dihitung persen kadar air dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(A + B) - C}{B} \times 100 \%$$

Keterangan : A = Berat Botol Timbang

B = Berat Sampel

C= Berat Akhir (Berat Botol Timbang + Sampel)

3.3.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak *S.filipendula* berdasarkan metode yang digunakan oleh Vijayabaskar dan Shiyamala (2012), yang telah dimodifikasi. Ekstrak dari *Sargassum filipendula* dilarutkan dalam etanol dan dibuat dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm. Ekstrak dari masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 3 ml yang kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,1 mM yang disiapkan dalam larutan etanol. Setelah 10 menit, diukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Dilakukan juga pengukuran absorbansi pada blanko. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

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

Nilai konsentrasi dan hambatan ekstrak diplot masing-masing pada sumbu x dan y. Persamaan garis yang diperoleh dalam bentuk $y = b \ln(x) + a$ digunakan untuk mencari nilai IC (*inhibitor concentration*), dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai IC₅₀ menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50% (Suryaningrum *et al.*, 2006).

Hasil perhitungan % inhibisi, kemudian dilanjutkan dengan perhitungan IC₅₀ yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi fraksi dari

ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa (sampel) uji (x) dengan % inhibisi (y) dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} -nya maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai antioksidan yang lebih baik (Cholisoh dan Utami, 2008).

3.3.6 Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan yang terdapat pada alga coklat *Padina australis* dengan berbagai pelarut. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji fenol, uji flavonoid, dan uji alkaloid. Metode uji yang dilakukan berdasarkan Harborne (1987), yaitu sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid

Larutan ekstrak sebanyak 3 ml ditambahkan dengan 1 ml HCL 2N, dan 6 ml aquadest, kemudian filtrat diperiksa adanya senyawa alkaloid dengan terdapatnya endapan berwarna putih.

2. **Uji Fenol:** Sebanyak 20 ml etanol 96% dimasukan 1 g sampel ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$. Senyawa fenol ditunjukkan dengan pembentukan warna hijau tua atau hitam.

3. **Uji Flavonoid:** Larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambahkan dengan sedikit serbuk magnesium (Mg) dan 2 ml HCL 2N. Senyawa flavonoid ditunjukkan dengan pembentukan warna jingga hingga merah.

Metode uji yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid (Marlinda, et al. 2012)

Sampel *Sargassum filipendula* segar berukuran kecil sebanyak 4 g dtambahkan kloroform secukupnya, selanjutnya ditambahkan 10 ml amoniak dan 10 ml klorofom. Kemudian larutan disaring ke dalam tabung reaksi dan

filtrat ditambahkan 10 tetes $H_2SO_4 2N$. campuran dikocok teratur dan dibiarkan beberapa menit sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas dipindahkan pada 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 ml. kemudian pada masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan beberapa tetes pereaksi Meyer, Wagner dan Dragendorff. Apabila terbentuk endapan menunjukkan sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Meyer memberikan endapan putih, dengan pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat dan pereaksi dragendorff memberikan endapan berwarna jingga.

2. Uji Flavonoid (Rahayu, 2006)

Sampel segar *Sargassum filipendula* sebanyak 0,5 g ditambahkan serbuk magnesium (0,5 g), 1 ml alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 96% dengan volume sama), dan amil alkohol, kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya golongan flavonoid.

3. Tanin (Marlinda, et al. 2012)

Sampel *Sargassum filipendula* berukuran kecil sebanyak 20 mg ditambahkan etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

4. Saponin

Sampel *Sargassum filipendula* berukuran kecil sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

5. Uji Triterpenoid dan Steroid (Marlinda, et al. 2012)

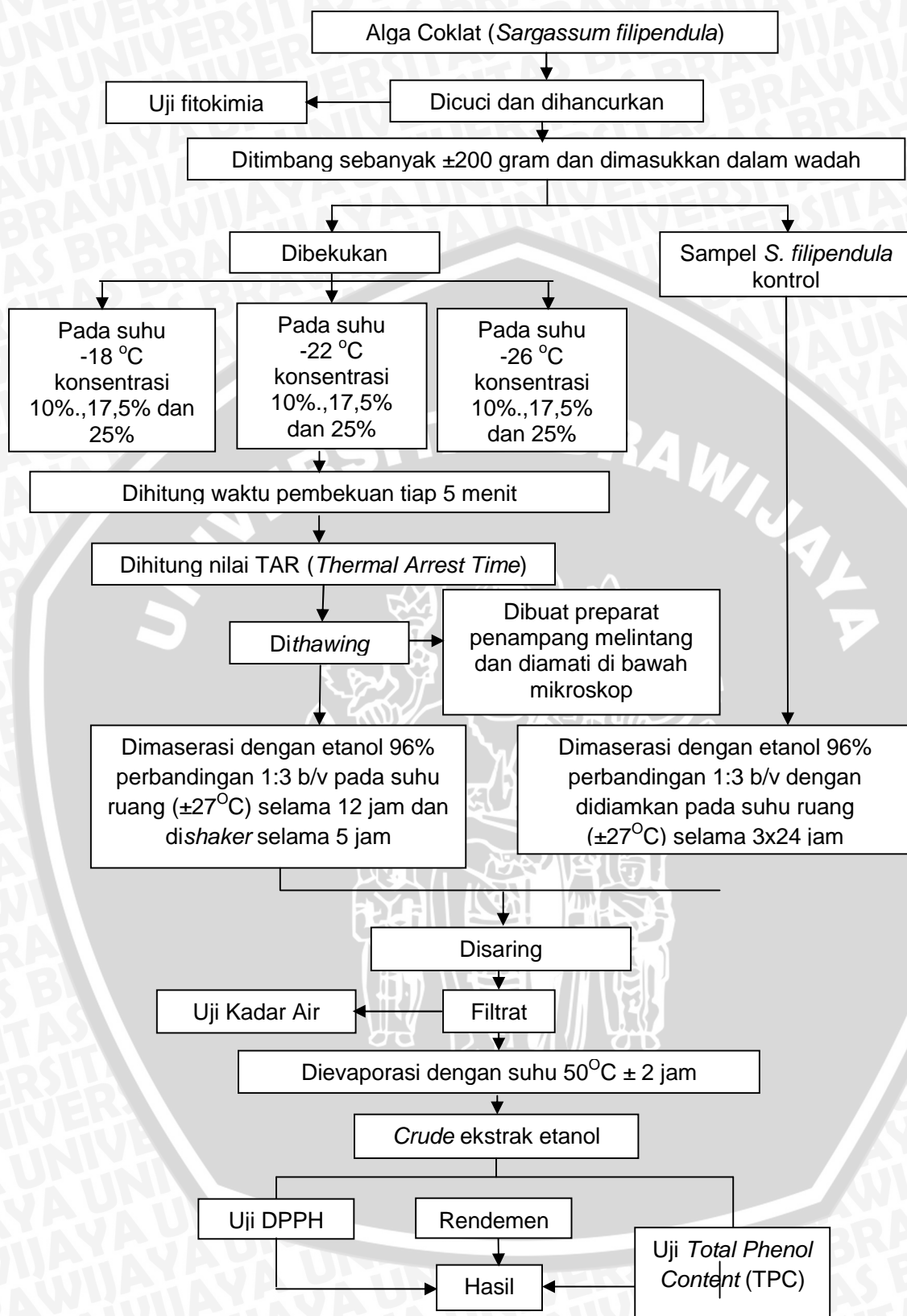
Sampel *Sargassum filipendula* yang berukuran kecil sebanyak 50-100 mg ditambahkan asam asetat glasial sampai semua sampel terendam, dibiarkan selama 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu, sedangkan steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru.

3.3.7 Uji Total Phenol Content (TPC)

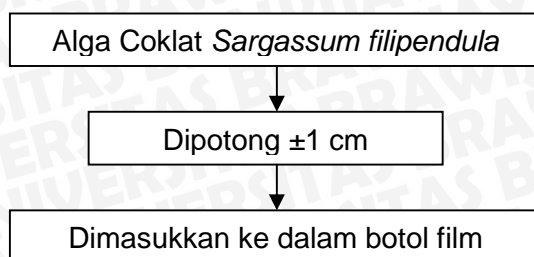
Kandungan TPC diukur dengan spektrofotometer menggunakan metode reagen *Follin-Ciocalteau* (Lim *et al.*, 2002; Ogawa, 2003, dalam Santoso *et al.*, 2009). Ekstrak rumput laut sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 2 ml etanol 96% dalam botol vial. Ditambahkan 5 ml aquades dan 0,5 ml reagen *Follin-Ciocalteau* 50 % (v/v) kemudian didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 5% (b/v), dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam dalam kondisi tanpa cahaya (gelap). Kandungan total fenol diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 725 nm. Kandungan TPC diinterpretasikan sebagai milligram ekuivalen asam galat (mg GAE/g Sampel).

3.4 Skema Kerja Penelitian

Skema kerja proses ekstrak kasar *sargassum filipendula* disajikan pada Gambar 9 dan Gambar 10 skema kerja pembuatan preparat mikroskopis *Sargassum filipendula*.



Gambar 9. Skema Kerja Proses Ekstraksi Kasar *Sargassum filipendula*





**Gambar 10. Skema Kerja Pembuatan Preparat Mikroskopis
*Sargassum filipendula***

3.5 Analisis Data

Pada analisis data dilakukan dengan menggunakan bantuan *software Design Expert* ®8. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan desain percobaan pada *Design Expert*®8 adalah RAL Faktorial. Faktor yang akan dioptimasi adalah konsentrasi pelarut dan suhu pembekuan lambat serta respon yang dianalisis yaitu rendemen, total fenol dan aktifitas antioksidan. Penentuan titik beku dan konsentrasi pelarut yang dapat membekukan sampel dilakukan dengan melakukan uji coba pendahuluan. Dari hasil uji coba pendahuluan diperoleh kisaran minimum dan maksimum untuk masing-masing faktor percobaan antara lain suhu pembekuan -18°C sampai -26°C dan konsentrasi pelarut 10% sampai 25% dengan 2 kali pengulangan, sehingga berdasarkan rancangan penelitian sesuai pada Tabel 8.

Tabel 8. Desain Rancangan Penelitian

Std	Run	Faktor		Respon		
		Konsentrasi	Suhu (°C)	Y1 (%)	Y2 (mg GAE/g Sampel)	Y3
1	12	10.00	-18.00			
2	1	10.00	-18.00			
3	18	17.5	-18.00			
4	8	17.5	-18.00			
5	17	25.00	-18.00			
6	9	25.00	-18.00			
7	7	10.00	-22.00			
8	4	10.00	-22.00			
9	16	17.5	-22.00			
10	14	17.5	-22.00			
11	3	25.00	-22.00			
12	10	25.00	-22.00			
13	15	10.00	-26.00			
14	6	10.00	-26.00			
15	5	17.5	-26.00			
16	2	17.5	-26.00			
17	11	25.00	-26.00			
18	13	25.00	-26.00			

Keterangan:

1. Respon : Parameter Uji
2. Y1 : Rendemen
3. Y2 : TPC
4. Y3 : DPPH/IC₅₀

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

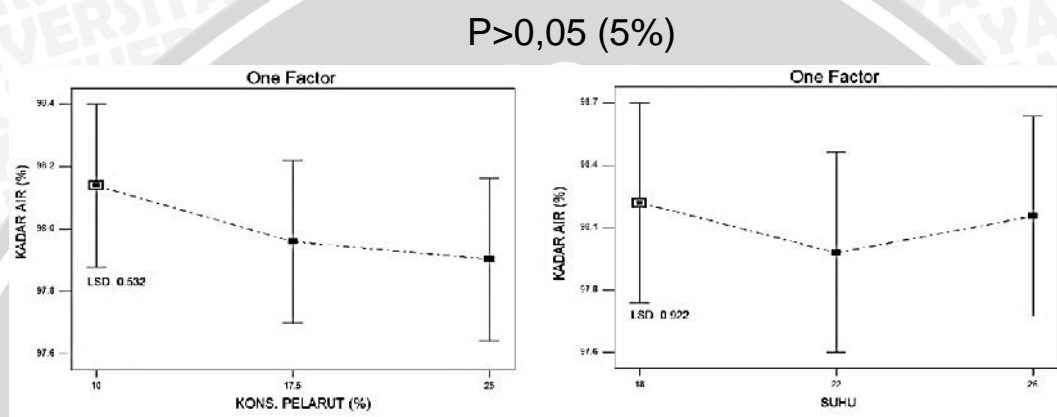
4.1 Kadar Air

Dalam pengujian kadar air di dapatkan hasil kadar air yang dilakukan pada sampel segar *Sargassum filipendula* yaitu sebesar $(91,97 \pm 0,41)\%$. Persentase kadar air yang diperoleh tersebut didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Sumirat (2005) yaitu kadar air rumput laut *Sargassum* sp. Segar adalah 90,96% untuk sampel utuh dan 93,25% untuk sampel yang dihancurkan dan di tambahkan menurut Maulida (2007), komposisi kimia rumput laut bervariasi antar individu, spesies, habitat, umur panen dan kondisi lingkungan. Kandungan air rumput laut segar, sama seperti tanaman pada umumnya yaitu berkisar antara 80-90% dan setelah pengeringan dengan udara menjadi 10-20%

Uji kadar air juga dilakukan pada ekstrak kasar *S. filipendula* pada masing-masing perlakuan. Hal ini bertujuan untuk menentukan rendemen kering ekstrak etanol *S. filipendula* ini. Hasil kadar air ekstrak kasar *S. filipendula* berkisar antara $(97,59 \pm 0,41)\%$ dan $(98,24 \pm 0,41)\%$ dan diperoleh rata-rata kadar air sebesar $(98,01 \pm 0,41)\%$ dan standart deviasi 0,41.

Dengan hasil kadar air tersebut dapat diperoleh bahwa ekstrak kasar *S. filipendula* memiliki kadar air lebih tinggi dibandingkan dengan sampel segarnya. Hal ini dikarenakan dipengaruhi oleh adanya penambahan etanol teknis 96% pada proses ekstraksi. Dengan proses pemisahan antara ekstrak kasar sama pelarut dalam penguapan yang kurang maksimal dikarenakan etanol teknis (96%) mengandung air yang tidak bisa diuapkan dengan proses evaporasi, karena pada proses evaporasi hanya menggunakan suhu 50 °C sedangkan air yang mempunyai titik didih 100 °C sehingga tidak dapat menguap pada suhu yang mendekati 100 °C, sehingga ekstrak kasar *S. filipendula* memiliki kadar air yang lebih tinggi dibandingkan sampel segarnya. Sedangkan pada analisis

ragam (ANOVA) yang di lakukan menggunakan model factorial di dapatkan bahwa hasil model menunjukkan tidak signifikan di karenakan bahwa nilai $p > 0,05$ (5%) yang di mana menunjukkan tidak adanya hubungan interaksi dan berbeda nyata konsentrasi dan suhu pada kadar air. Perhitungan analisis ragam (ANOVA) dapat di lihat pada Lampiran 2 dan hubungan grafik konsentrasi dan suhu pada kadar air dapat di lihat pada Gambar 11.

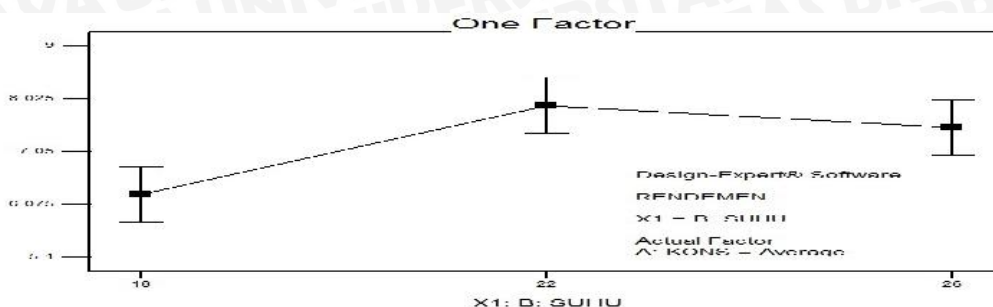


Gambar 11. Hubungan Grafik Konsentrasi Pelarut dan Suhu Pembekuan Lambat Terhadap Kadar Air

4.2 Rendemen

Hasil rendemen yang diperoleh yang menggunakan *software Design Expert* ®8. dengan desain model yang terpilih pada model ini adalah factorial. Pada analisis ragam (ANOVA) pada Lampiran 3 dengan menunjukkan $p < 0,05$ (5%). Hal tersebut menunjukkan bahwa faktor konsentrasi terhadap suhu pembekuan lambat tidak berbeda nyata atau berpengaruh nyata dan model menunjukkan signifikan yang di mana adanya hubungan interaksi konsentrasi terhadap suhu pada rendemen. Dari hasil rata – rata rendemen didapatkan hasil sebesar 7,22% dengan standart deviasi 0,79. Dari hasil konsentrasi terhadap suhu yang berpengaruh nyata dapat di lihat pada Gambar 12 dan Tabel 9.

P<0,05 (5%)



Gambar 12. Grafik Respon Hubungan Suhu Pembekuan Lambat Pada Rendemen

Tabel 9. Rata - Rata Rendemen pada Rumput Laut (*S.Fillipendula*)

Perlakuan Suhu (°C)	Rendemen	
	Rata – Rata ± St.Dev	NOTASI
-18	+6.26101 ± 0.79	a
-22	+7.90365 ± 0.79	b
-26	+7.49428 ± 0.79	b

Ket: Notasi a: Tidak Berbeda Nyata (tidak saling berpotongan)

Notasi b: Berbeda Nyata (saling berpotongan)

Notasi b: Berbeda Nyata (saling berpotongan)

Bahwa dari Gambar 13 dapat di lihat pada suhu -18° tidak berbeda nyata karena tidak saling berpotongan dengan suhu -22° dan suhu -26° dinyatakan dengan notasi A sedangkan pada suhu -22° tidak berbeda nyata dengan suhu -18° dan berbeda nyata dengan suhu -26° karena saling berpotongan dinyatakan dengan notasi B. Dan untuk Suhu -26° tidak berbeda nyata dengan suhu -18° dan berbeda nyata dengan suhu -22° karena saling berpotongan dinyatakan dengan notasi B. Hasil terendah di peroleh sebesar 6,26% pada konsentrasi 10% dan suhu -18° sedangkan hasil tertinggi di peroleh sebesar 7,90% terdapat pada konsentrasi 17,5% dan suhu -22°.

Nilai rendemen ini digunakan untuk mengukur nilai bioaktif yang terdapat pada bahan sampel *Sargassum filipendula*. Sampel *S. filipendula* yang memiliki nilai rendemen tinggi maka semakin tinggi pula bioaktifnya tersebut, dan sebaliknya jika nilai rendemen rendah maka semakin rendah pula bioaktifnya

tersebut. Bahan yang memiliki nilai rendemen tinggi akan lebih efektif digunakan jika dibandingkan dengan bahan yang memiliki nilai rendemen yang rendah. Nilai rendah tersebut karena dinding sel dari *S. filipendula* telah terpecah akibat dari pembekuan lambat yang dilakukan sehingga bioaktif yang terdapat di dalam sel dapat keluar. Menurut Fellows (2000), selama pembekuan lambat, kristal es tumbuh pada ruang intraseluler yang dapat merusak bentuk dan dapat memecah dinding sel. Kristal es memiliki tekanan uap air lebih rendah dibandingkan daerah di dalam sel, maka air akan bergerak keluar sel untuk membentuk Kristal. Sel menjadi dehidrasi yang membuat kerusakan permanen oleh peningkatan konsentrasi yang terlarut dan merusak struktur sel. Pada proses *thawing* sel tidak kembali ke bentuk awal. Bahan tersebut menjadi lunak dan material sel merembes keluar dan memecah sel (*drip*).

4.3 Komponen Bioaktif Pada *Sargassum filipendula*

Uji fitokimia *Sargassum filipendula* dalam hal ini perlu dilakukan, karena dengan pengujian fitokimia dapat diketahui senyawa bioaktif yang terdapat pada rumput laut tersebut. Senyawa bioaktif yang terdapat pada *sargassum filipendula* tersebut menunjukkan bahwa adanya potensi antioksidan di dalamnya. Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid. Hasil pengujian fitokimia *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji Fitokimia *Sargassum filipendula*

Uji	Hasil (+/-)	Keterangan
1. Alkaloid:		
a. Mayer	+	Terbentuk endapan putih
b. Wagner	+	Terbentuk endapan cokelat
c. Dragendorf	-	Tidak terjadi perubahan
2. Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning di lapisan amil alkohol
3. Tanin	+	Terdapat warna hitam kehijauan
4. Saponin	+	Terdapat busa selama 2-3 menit
5. Triterpenoid	-	Hanya terbentuk warna biru
6. Steroid	+	Terbentuk warna biru

Keterangan : (+) = mengandung senyawa fitokimia

(-) = tidak mengandung senyawa fitokimia

Dari hasil uji fitokimia pada Tabel 9 menunjukkan bahwa sampel segar *Sargassum filipendula* mengandung 5 senyawa bioaktif dari 6 senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif tersebut antara lain senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid, sedangkan senyawa non bioaktif adalah Triterpenoid.

1. Alkaloid

Dari hasil pengujian fitokimia pada sampel *Sargassum filipendula* mengandung senyawa alkaloid. Hal ini ditunjukkan dengan adanya tanda positif yang ditunjukkan oleh dua dari tiga pereaksi yang digunakan untuk menguji senyawa alkaloid pada sampel, yaitu dari pereaksi Mayer dan Wagner sedangkan dengan pereaksi Dragendorf menunjukkan hasil yang negatif. Pada pereaksi Mayer terbentuk endapan putih, pada pereaksi Wagner terbentuk endapan coklat dan pereaksi Dragendorf tidak terjadi perubahan. Hal tersebut sesuai dengan Marlinda *et al.*, (2012), yaitu pereaksi Mayer akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna putih. Dengan pereaksi Wagner akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna coklat. Sedangkan dengan pereaksi Dragendorf membentuk endapan berwarna jingga.

2. Flavonoid

Dari sampel *Sargassum filipendula* yang dilakukan uji fitokimia menunjukkan sampel tersebut mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid di tunjukkan dengan hasil positif yang di mana terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol. Menurut Harborne (1987), senyawa ini diekstrak dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan tahun ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Giorgio, 2000). Flavonoid berupa senyawa fenol, oleh karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak.

3. Tanin

Pada hasil uji fitokimia diketahui sampel *Sargassum filipendula* mengandung senyawa tanin. Hal tersebut ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman setelah sampel ditambah larutan FeCl_3 1%. Menurut Marlinda *et al.*, (2012), pada penambahan larutan FeCl_3 1% diperkirakan larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Pereaksi FeCl_3 dipergunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin.

4. Saponin

Dari hasil uji fitokimia pada sampel *Sargassum filipendula* terdapat kandungan saponin yang dimana terbentuk busa ketika sampel tersebut setelah ditambahkan aquades dan didihkan selama 2-3 menit yang kemudian dikocok terlihat busa yang stabil. Menurut Harborne, (1987) pada pengujian saponin terdapat pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin dan Menurut Marlinda *et al.*, (2012), senyawa yang membentuk gugus

polar dan non polar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel dan buihnya stabil. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Keadaan tersebut yang nampak seperti busa.

5. Triterpenoid dan Steroid

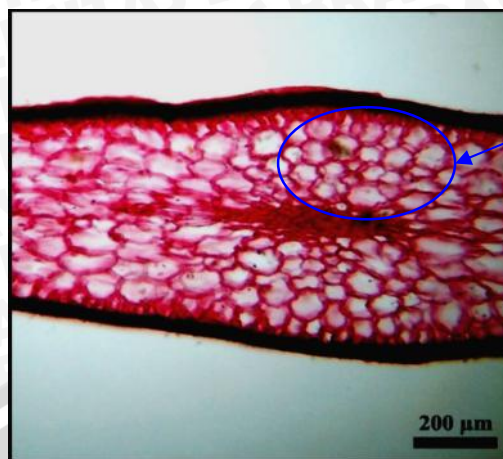
Kandungan triterpenoid dan steroid dalam tumbuhan diuji dengan menggunakan metode Liebermann-Buchard yang nantinya akan memberikan warna jingga atau ungu untuk triterpenoid dan warna biru untuk steroid (Marlinda *et al.*, 2012). Uji kandungan triterpenoid dan steroid ini berdasarkan pada adanya senyawa triterpenoid dan steroid yang membentuk warna biru akibat H_2SO_4 yang bercampur dengan pelarut asetat glasial. Hal tersebut menunjukkan sampel *Sargassum filipendula* mengandung senyawa steroid karena terbentuk warna biru dan tidak mengandung senyawa triterpenoid karena tidak terbentuk warna jingga atau ungu.

4.4 Total Polyphenol Content (TPC) *Sargassum filipendula*

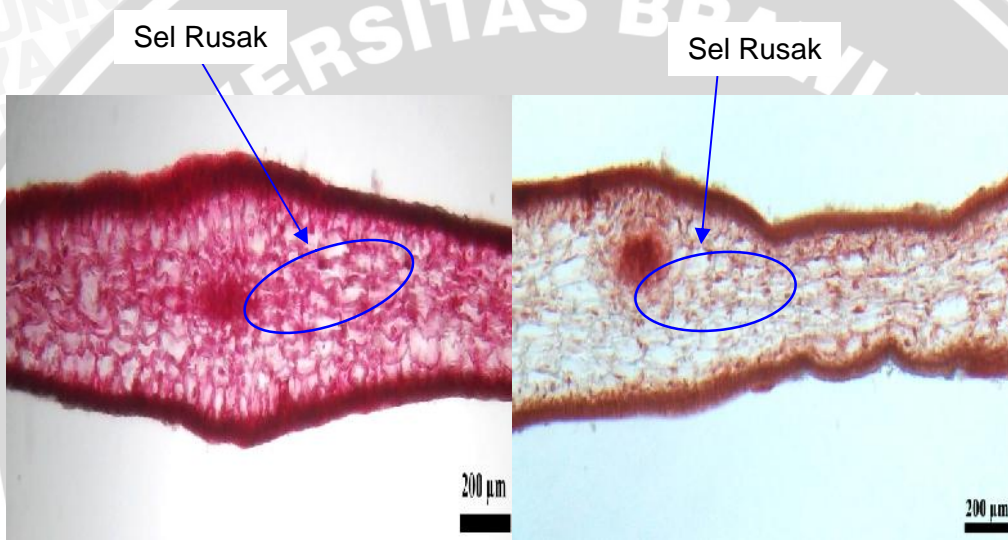
Dari hasil uji *total polyphenol content* (TPC) diperoleh hasil TPC berkisar antara 82,18-108,43 mg GAE/g ekstrak dan diperoleh rata-ratanya yaitu 92,88 mg GAE/g ekstrak. Untuk hasil analisis TPC yang diperoleh menggunakan desain model faktorial. Model *faktorial* ini menunjukkan standar deviasi yaitu 13,50 dan pada analisis ragam (ANOVA) bahwa model yang didapatkan tidak signifikan atau berbeda nyata karena nilai $p > 0,05$ (5%) yang di mana menunjukkan bahwa faktor konsentrasi dan faktor suhu pada penelitian tentang pembekuan lambat terhadap *total polyphenol content* (TPC) ini tidak adanya hubungan interaksi. Akan tetapi dari rata-rata TPC tersebut jika dibandingkan dengan sampel kontrol yang tidak diberi perlakuan atau yang tidak dibekukan maka hasil TPC yang dibekukan lebih besar yaitu 92,88 mg GAE/g ekstrak dibandingkan dengan

sampel yang kontrol yang memiliki nilai TPC rata-rata sebesar 54,125 mg GAE/g ekstrak. Dari hasil tersebut maka untuk memperoleh hasil TPC yang tinggi maka di gunakan pembekuan lambat karena yang digunakan ini lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

Hasil TPC terendah yaitu 82,18 mg GAE/g ekstrak diperoleh dari perlakuan pembekuan lambat pada suhu -26°C dengan konsentrasi sebesar 17,5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut *polyphenol* belum terekstrak secara maksimal. Berdasarkan hasil foto mikroskop yang dilakukan pada sel rumput laut hanya memberikan sedikit kerusakan pada sel. Sedangkan dari hasil tertinggi, yaitu sebesar 108,43 mg GAE/g ekstrak yang diperoleh dari perlakuan pembekuan lambat pada suhu -26°C dengan konsentrasi sebesar 25%. Kerusakan ini terjadi secara maksimal pada pembekuan lambat dengan suhu -26°C dengan konsentrasi 25% karena semakin besar pada penambahan konsentrasi pada pembekuan tersebut menjadikan TPC pada perlakuan ini lebih besar sehingga bioaktif termasuk *polyphenol* yang di hasilkan terekstrak semakin besar. Kerusakan yang terjadi pada sel daun dan batang dapat dilihat dari dinding selnya rumput laut *S. filipendula* terdapat pada Gambar 13 dan Gambar 14. Sedangkan untuk melihat grafik konsentrasi dan suhu pada pembekuan lambat terhadap TPC dengan model one factor dapat dilihat pada Gambar 16. Untuk melihat analisis ragam (ANOVA) dapat dilihat pada Lampiran 4.



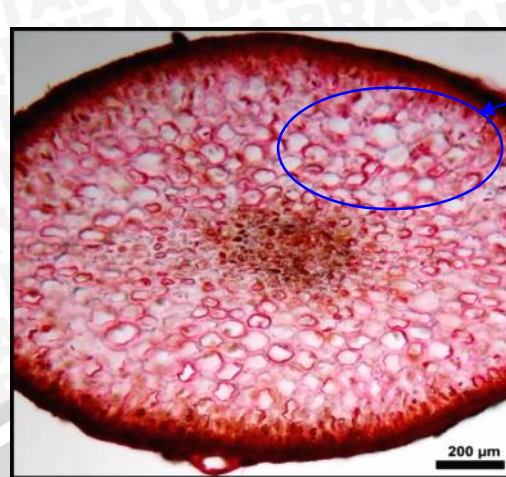
(a)



(b)

(c)

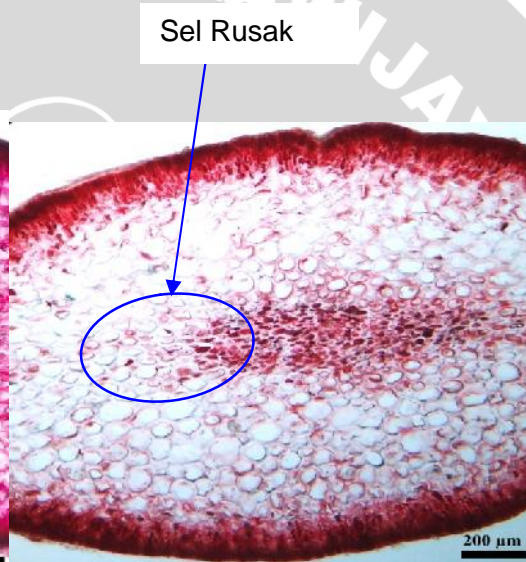
Gambar 13. Perbedaan Sel Daun Rumput Laut *Sargassum filipendula* Segar dan Diberi Perlakuan Pembekuan Lambat dengan Perbesaran 200 μm. (a) Segar, (b) Pembekuan Pada Suhu -26°C dengan konsentrasi 17,5% dan (c) Pembekuan Pada Suhu -26°C dengan konsentrasi 25%



(a)

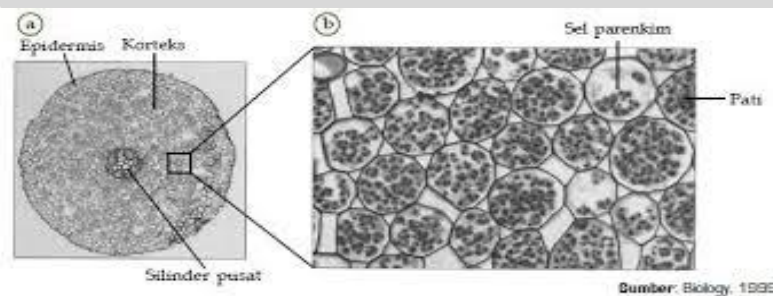


(b)



(c)

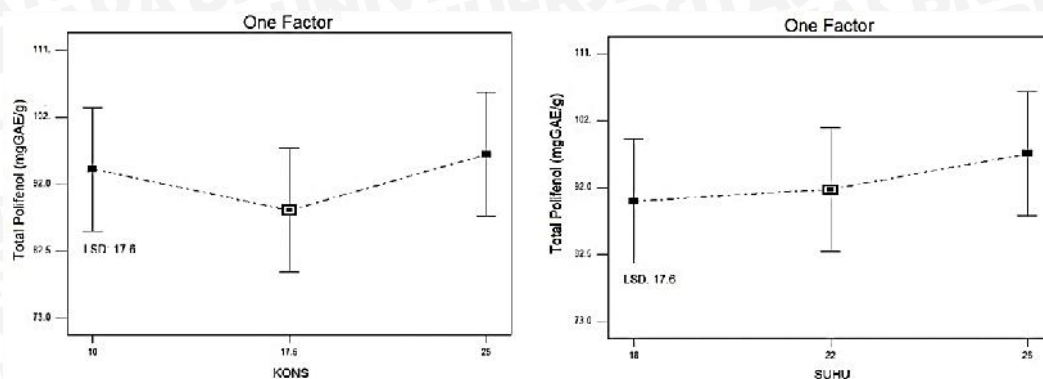
Gambar 14. Perbedaan Sel Batang Rumput Laut *Sargassum filipendula* Segar dan Diberi Perlakuan Pembekuan Lambat dengan Perbesaran 200 μm .
 (a) Segar, (b) Pembekuan Pada Suhu -26°C dengan konsentrasi 17,5% dan
 (c) Pembekuan Pada Suhu -26°C dengan konsentrasi 25%



Gambar 15. Sel Batang Rumput Laut *Sargassum filipendula*

Sumber Anonymous^d (2013)

P>0,05 (5%)



Gambar 16. Grafik Respon Hubungan Konsentrasi Pelarut dan Suhu Pembekuan Lambat Terhadap TPC (*Total Polyphenol Content*)

4.5 Aktifitas Antioksidan *Sargassum filipendula* dengan Metode DPPH

Metode DPPH mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Konsentrasi DPPH pada akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkap radikal (Naik, *et al.*, 2003), metode ini sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel. Penggunaan DPPH sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan antioksidan yang ada pada ekstrak sampel, yaitu dapat diketahui dengan perubahan warna yang terjadi pada larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu setelah bereaksi dengan ekstrak yang mengandung antioksidan akan berubah warna menjadi warna kuning. Pada metode ini, DPPH yang telah mencapai keadaan stabil akibat peranan antioksidan yang diujikan, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm

Dari hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC₅₀ pada ekstrak berkisar antara 89,98 – 102,36 ppm dan diperoleh rata-rata yaitu sebesar 97,35 ppm. Aktivitas antioksidan dari masing-masing perlakuan ini sama halnya dengan hasil dari TPC yang menggunakan analisis ragam (ANOVA) yang menunjukkan

hasil yang berbeda nyata karena nilai $p > 0,05$ (5%) yang di mana menunjukkan bahwa faktor konsentrasi dan suhu pada penelitian tentang pembekuan lambat terhadap IC_{50} ini tidak adanya hubungan interaksi dan model yang terbentuk tidak signifikan.

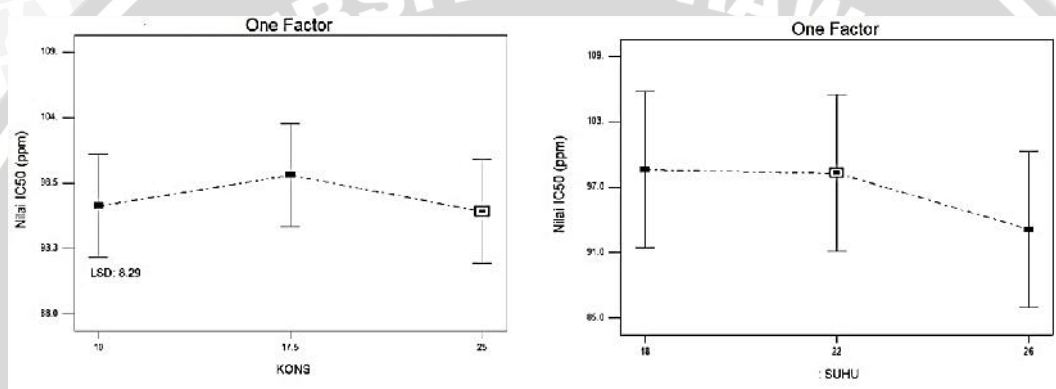
Pada kisaran hasil aktivitas antioksidan yang memiliki IC_{50} terendah yaitu 89,98 ppm diperoleh dari perlakuan pembekuan lambat yang diberikan pada sampel dengan suhu pembekuan $-26^{\circ}C$ yang dibekukan dengan konsentrasi 25 % menunjukkan perlakuan ini dapat menghasilkan antioksidan yang kuat. Sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 102,36 ppm diperoleh dari perlakuan pembekuan lambat pada suhu $-26^{\circ}C$ yang dibekukan dengan konsentrasi sebesar 17,5% menunjukkan pada perlakuan ini menghasilkan antioksidan yang kurang baik. Hasil IC_{50} berbeda dengan hasil TPC yang dimana hasil tertinggi pada suhu $-26^{\circ}C$ dengan konsentrasi sebesar 25% sedangkan yang terendah pada suhu $-26^{\circ}C$ dengan konsentrasi 17,5%.

Hasil rata-rata pengaruh konsentrasi dan suhu pembekuan lambat terhadap respon IC_{50} sebesar 97,35 ppm menunjukkan bahwa hasil dari pembekuan lambat ini menghasilkan aktivitas antioksidan yang tergolong kuat karena berada pada kisaran 50 - 100 ppm. Menurut Blois (1968) menambahkan bahwa IC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang mampu memberikan persen penangkapan radikal sebanyak 50 % dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 200$ ppm dan menurut Sudirman (2011), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila memiliki IC_{50} kurang dari 0,05 mg/ml, kuat apabila nilai IC_{50} antara 0,05-0,10 mg/ml, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 0,10-0,15 mg/ml dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 0,15-0,20 mg/ml. Aktivitas antioksidan rumput laut *S. filipendula* yang diberi perlakuan pembekuan lambat memiliki aktivitas yang lebih besar jika

dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang hanya memiliki rata-rata sebesar 167,965 ppm yang tergolong antioksidan lemah.

Untuk melihat grafik konsentrasi dan suhu pada pembekuan lambat dalam melihat DPPH dengan model one factor dapat dilihat pada Gambar 17 yang dimana tidak ada pengaruh besar atau respon yang berbeda nyata. Untuk melihat analisis ragam (ANOVA) dapat dilihat pada Lampiran 5.

$P > 0,05$ (5%)



Gambar 17. Grafik Respon Hubungan Konsentrasi Pelarut dan Suhu Pembekuan Lambat Terhadap DPPH

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh konsentrasi dan suhu pembekuan lambat terhadap rendemen dan mutu antioksidan Alga Coklat (*Sargassum filipendula*) dapat disimpulkan sebagai berikut :

- Rumput laut coklat *Sargassum filipendula* segar memiliki kadar air sebesar $(92,00 \pm 0,41)\%$ dan ekstrak kasarnya setelah dibekukan memiliki kadar air rata-rata sebesar $(98,01 \pm 0,41)\%$.
- Hasil uji fitokimia pada sampel *Sargassum filipendula* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid yang merupakan senyawa antioksidan.
- Untuk hasil Rendemen mendapatkan hasil yang optimal yaitu sebesar 7.90% pada suhu - 22° dan konsentrasi pelarut sebesar 17,5%.
- Untuk hasil TPC (*total polyphenol content*) di dapatkan hasil tertinggi pada suhu -26°C dengan konsentrasi pelarut sebanyak 25% yaitu sebesar 108,43 mg GAE/g
- Pada respon IC₅₀ diperoleh hasil terbaik yaitu sebesar 89,98 ppm dengan perlakuan suhu pembekuan -26°C dengan konsentrasi pelarut 25%.

5.1 Saran

Pada ekstraksi *Sargassum filipendula* perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh konsentrasi dan suhu pembekuan lambat, sehingga senyawa antioksidan yang dihasilkan lebih optimal dan mendapatkan hasil suhu dan faktor konsentrasi lebih nyata.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah, R. 2007. **Pengolahan dan Pengawetan Ikan**. PT Bumi Aksara. Jakarta. 159 Hlm.
- Anonymous^a. 2012. **Taxonomi *Sargassum filipendula***
http://algaebase.org/search/species/detail/?species_id=823&sk=0&from=results. Diakses 29 november 2012
- _____.^b. 2012. **Fisiologi, Morfologi dan Daur Hidup Alga Coklat**.
<http://budisma.web.id/materi/sma/biologi-kelas-x/ciri-ciri-alga-cokelat-phaeophyta/>. Diakses 3 Desember 2012
- _____.^c. 2012. **Etanol**. <http://id.wikipedia.org/wiki/etanol>. Diakses 10 Desember 2012
- _____.^d. 2012. **Gambar Sel Rumput Laut**. <http://googleimages.com/search?q=gambar+rumpumlaut>. Diakses 2 Agustus 2013
- Andayani, R., Yovita L., dan Maimunah. 2008. **Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L)**. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Sumatra Barat.
- Aryanti, Linda. 2011. **Pemanfaatan Rumput Laut *Sargassum* Sp. Sebagai Adsorben Limbah Cair Industri Rumah Tangga Perikanan**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Atmadja, W. S., A. Kadi, Sulistijo dan Rachmaniar. 1996. **Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia**. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Jakarta
- Apriandi, Azwin. 2011. **Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-ipong (*Fasciolaria salmo*)**. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Apak, R., Guclu K., Ozyurek M., and Karademir S.E. 2004. **Novel Total Antioxidant Capacity Index For Dietary Polyphenols And Vitamins C And E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability In The Presence Of Neocuproine: CUPRAC method**. J Agric Food Chem 52:7970_7981
- Aslan, L.M. 1991. **Rumput Laut**. Kanisinus. Yogyakarta.
- Barus, P. 2009. **Pemanfaatan Bahan Pengawet dan Antioksidan Alami Pada Industri Bahan Makanan**. Universitas Sumatera Utara. Medan. 27 hlm.
- Basri, S. 1996. **Kamus Kimia**. Rineka Cipta. Jakarta.
- Benzie, I.F.F. and Strain J.J. 1996. **Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP assay**. Anal Biochem 239:70-76.

- Belitz HD, Grosch W. 1999. **Food Chemistry**. New York. Springer Verlag.
- Campbell, N.A., Reece, J.B. dan Mitchell, L. G. 2003. **Biologi**. Penerjemah, Wasmen Manalu. Penerbit Erlangga. Jakarta. 472 Halaman. Hal 399.
- Fataruba, H. 2010. **Penelitian Eksperimen**. <http://taliabupomai.blogspot.com/2010/11/metode-penelitian-eksperimen.html>. Diakses tanggal 24 April 2012.1 halaman.
- Fellows, P. J. 2000. **Food Processing Technology**. Woodhead Publishing Limited. USA.
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1991. **Fisiologi Lingkungan Tanaman (Environmental Physiology of Plantnngq)**. Penerjemah Andani, S. dan E. D. Purbayanti. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 421 Hal.
- Fitrimawarningsih. 2013. **Senyawa Polar dan Senyawa Non Polar**. <file:///SENYAWA%20POLAR%20DAN%20NON%20POLAR/fitrimarwaningsih.htm>
- Food Review Indonesia. 2007. **Teknologi Pembekuan Pangan**. Vol. II, No. 7
- Gordon, M.H. 1993. **The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro**. Applied Science. New York.
- Harborne. J. B. 1987. **Metode Fitokimia**. Terjemahan K. Padmawinatadan I. Soediso. penerbit ITB. Bandung. Hal 69-94, 142-158, 234-238.
- Hart H, Craine LE, Hart DJ. 2003. **Organic Chemistry (Kimia Organik)**. Achmadi SS, penerjemah. Jakarta: Erlangga.
- Heldman, D. R. dan R. P. Singh. 1981. **Food Process Engineering**. The AVI Pub. Co. Inc. Westport.
- Hudaya, Saripah. 2013. **Pengawetan Pada Suhu Rendah**. <http://pengawetan-pada-suhu-rendah.html>. Diakses pada tanggal 22 Juni 2013.
- Hudson, B.J.F. 1990. **Food Antioxidant**. Elsevier Applied Science. London
- Istini, S., A. Zatznika dan Suhaimi. 2009. **Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut**. Jurnal Penelitian. BPPT. Jakarta.
- Junanto, T. 2009. **Rumput Laut Sebagai Obat dan Makanan Yang Baik Bagi Kesehatan**. Program Studi Biosains. UNS Surakarta.
- Juniarti, D., Osmeli., dan Yuhernita. 2009. **Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) dari Ekstrak Daun Saga (Abrus precatorius L.)**. Fakultas Kedokteran Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia.

- Johnston, W.A., F.J. Nicholson, A. Roger dan G.D. Stroud. 1994. **Freezing and Refrigerated Storage in Fisheries**. FAO Fisheries Technical paper 340. Roma.
- Ketaren, S. 1986. **Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan**. UI Press. Jakarta.
- Kuncahyo, I dan Sunardi. 2007. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoabelimbi.L) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picryhidrazyl (DPPH)**. Seminar Nasional Teknologi. ISSN 1977-1978.
- Kuntorini, E. M., M. D. Astuti, dan N. Milina. 2011. **Struktur Anatomi dan Kerapatan Sel Sekresi Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Asal Kecamatan Pengaron Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan**. Bioscientiae. Vol. 8, No. 1
- Maulana, A. 2012. **Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Eucheuma spinosum***. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Maulida, D dan N. Zulkarnaen. 2010. **Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton dan Etanol**. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Manurung, Motto. 2011. **Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan (SFS) Dari Limbah Ekstraksi Alginat Untuk Pembuatan Bioetanol**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Marks D, Marks A, Smith C. 2000. **Basic Medical Biochemistry: a clinical approach (Biokimia Kedokteran Dasar : sebuah pendekatan klinis)**. Pendit B, Penerjemah. Jakarta : Buku Kedokteran.
- Mega, I. M. dan Dewa A.S. 2010. **Screening Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegi*)**. Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali.
- Muawwanah, I. Setyaningsih, W. Zahiruddin, dan J. Anggadiredja. 1997. **Ekstraksi Antioksidan dari Alga Laut *Sargassum sp.* Dan Efektivitasnya Dalam Menghambat Kerusakan Awal Emulsi Minyak Ikan**.
- Ndilo. 2011. **Pengawetan Ikan Dengan Menggunakan Metode Pembekuan**. <http://pengawetan-ikan-dengan-menggunakan.html>. Diakses pada tanggal 22 Juni 2013.
- Nizamuddin, M. 1970. **Phytogeography Of The Fucales and Their Seasonal Growth**. Bot. Mar. 13 : 131-139.
- Nurmillah, O. Y. 2009. **Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)**. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 71 Hlm.

- Podungge, Fitriany. 2012. **Kandungan Fenol, Senyawa Fitokimia, dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Padina australis***. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Rohanah, Ainun. 2002. **Pembekuan**. Jurnal pembekuan hal 2. Sumatra Utara.
- Santoso, J., N. Aryudhani, S. H. Suseno. 2009. **Kandungan Senyawa Fenol Rumput Laut Hijau *Caulerparacemosa* dan Aktivitas Antioksidan**. Jurnal Kelautan Nasional. Vol. 2. Hal 109-118
- Schelfan, Leopold dan M.B. Jacobs. 1983. **The Handbook of Solvent**. D. Van Nostrand Comp. Inc. New York.
- Setyaningsih, S., Suparmo dan Retno I. 2004. **Pengaruh Perendaman Buah Nangka dalam Larutan Garam Kalsium Terhadap Tekstur Buah Setelah Pembekuan**. Agrosains 17 (3) : 379-387.
- Siswanto, S. 2008. **Keanekaragaman Hayati**. Makalah. Medan: Jurusan Biologi. Universitas Sumatera Utara.
- Somogyi, L.P., M.D. Barret, dan Y.H. Hui.1996. **Major Processed Products**. Technomic Publishing Company. USA.
- Srilakshmi, B. 2005. **Food Science Third Edition**. New Age International Publisher. New Delhi. Hal. 334.
- Sudarmadji. S. B., Haryonodan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty. Yogyakarta.
- Sudirman, S. 2011. **Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (*Ipomoea aquatica* Forsk.)**. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 79 Hlm
- Sulistyo.1998. **Pengaruh Dalinitas Terhadap Pertumbuhan Zygote Rumput Laut *Sargassum***. Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia. Jakarta.
- Sulisetijono. 2009. **BahanSerahan Alga**. Malang: UIN Malang.
- Sunarni,T. 2005. **Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae**. Jurnal Farmasi Indonesia2 (2), 2001, 53-61
- Surakhmad, W. 1994. **Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar**. Tarsito. Bandung. 239 hlm.
- Suratmo. 2009. **Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antioksidan**. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Malang. Indonesia. 5 hal.
- Suryaningrum, D., Wikanta, T., dan Kristiana, H. 2006.**Uji Aktivitas Antioksidan dari Rumput Laut *Halymenia harveyana* dan *Euchema cottonii***. Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan 1 (1) : 51-63.

- Suyoso, H. C. 2011. **Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalyphaindica*L.)**. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Tamat, S. R., T. Wikanta, dan Lina S. Maulina. 2007. **Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal**. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. Vol. 5, No.1. Hal. 31-36
- Thomas, M. 2006. **Frozen Fish on Reefer Vessels and in Containers**. Thomas Miller P&I Ltd. United Kingdom.
- Tjondronegoro, P.D., Natasaputra M., Kusumaningrat T., Gunawan A.W., Djaelani M. dan Suwanto A. 1989. **Botani Umum II**. PAU Ilmu Hayati. IPB. Bogor.
- Triadmodjo, B. 1999. **Teknik Pantai**. Yogyakarta: Beta Offset.
- Utami, T. S., Arbianti, R., Hermansyah, H., dan Reza, A. 2009. **Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpup (*Dillenia indica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA**. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok. 6 hal.
- Vijayabaskar, P. dan Shiyamala, V. 2011. **Antioxidant Properties of Seaweed Polyphenol from *Tubinaria ornata* (Turner) J. Agardh, 1848**. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* : 1-9.
- Vaclavik, V.A. dan E.W. Christian. 2008. **Essentials of Food Science Third Edition**. Springer. New York.
- Vogel, A.I. 1987. **Textbook of Practical Organic Chemistry**. Revised by Furnies B.S. 4th Edition. New York.
- Wassil, K. Jan. 1995. **Unit Operation**. Chapman & Hall. London.
- Wilson, C. L. dan W. E. Loomis. 1952. **Botany**. Holt, Rinehart and Winston, Inc. United States America.
- Winarno, F.G., 1996. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut**. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Kanisius. Yogyakarta.
- Wiratmaja, I. Gede. 2011. **Proses Fermentasi Limbah Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Sebagai Tahap Awal Pembuatan Etanol Generasi Kedua**.
- Yudha, I.G. 2004. **Pemanfaatan Pesisir dan Laut untuk Kegiatan Budidaya Perikanan Berbasis Ekosistem dan Masyarakat**. Makalah Pelatihan untuk Pelatih Pengelolaan (TOT) Wilayah Pesisir Terpadu. Bogor. Kerjasama PKSPL IPB – Proyek Pesisir CRC URI.

Yunizal. 2004. **Teknologi Pengolahan Alginat**. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 66 Hal.

Yunizal. 1999. **Teknologi Ekstraksi Alginat Dari Rumput Laut Coklat (*Phaeophyceae*)**. Balai Penelitian Perikanan Laut. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.



Lampiran1

Data Hasil Penelitian

Std	Run	Faktor		Respon			
		X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄
1	12	10.00	-18.00	5.66	98.04	108.87	90.942
2	1	10.00	-18.00	5.19	98.44	78.00	106.275
3	18	17.50	-18.00	5.19	97.66	84.75	102.079
4	8	17.50	-18.00	7.53	97.52	88.62	98.049
5	17	25.00	-18.00	7.13	97.81	94.87	97.822
6	9	25.00	-18.00	6.83	97.44	85.37	99.444
7	7	10.00	-22.00	8.81	97.86	91.87	96.768
8	4	10.00	-22.00	8.33	98.17	86.00	99.830
9	16	17.50	-22.00	8.90	97.96	84.50	99.748
10	14	17.50	-22.00	8.45	98.18	107.50	90.257
11	3	25.00	-22.00	6.16	98.72	73.50	108.052
12	10	25.00	-22.00	6.74	97.77	106.87	92.058
13	15	10.00	-26.00	6.18	98.04	110.12	88.755
14	6	10.00	-26.00	7.02	98.33	89.62	97.501
15	5	17.50	-26.00	8.47	98.20	87.75	99.258
16	2	17.50	-26.00	7.65	98.25	76.62	105.468
17	11	25.00	-26.00	8.71	97.22	107.75	90.516
18	13	25.00	-26.00	6.91	98.46	109.12	89.463

Keterangan : Respon = Parameter Uji

X₁ = Konsentrasi (%)

X₂ = Suhu (°C)

Y₁ = Rendemen (%)

Y₂ = Kadar Air (%)

Y₃ = Total polyphenol content (mg GAE/g ekstrak)

Y₄ = DPPH / IC₅₀(ppm)

Lampiran 2

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response 2 Kadar Air

ANOVA for selected factorial model

Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	1.07	8	0.13	0.81	0.6128
not significant					
A-KONS	0.19	2	0.095	0.57	0.5830
B-SUHU	0.31	2	0.15	0.92	0.4326
AB	0.58	4	0.14	0.87	0.5183
Pure Error	1.49	9	0.17		
Cor Total	2.57	17			

The "Model F-value" of 0.81 implies the model is not significant relative to the noise. There is a 61.28 % chance that a "Model F-value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case there are no significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	0.41	R-Squared	0.4180
Mean	98.01	Adj R-Squared	-0.0993
C.V. %	0.42	Pred R-Squared	-1.3279
PRESS	5.98	Adeq Precision	2.260

A negative "Pred R-Squared" implies that the overall mean is a better predictor of your response than the current model.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio of 2.26 indicates an inadequate signal and we should not use this model to navigate the design space.

Lampiran 3

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response 1 RENDEMEN ANOVA for selected factorial model

Block term includes A, AB

Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]

valueSource	Sum of Squares	df	Mean Square	Fp-Value	Prob > F	
Block	11.21	6	1.87			
Model	18.77	2	4.39	7.08	0.0142	significant
B-SUHU	8.77	2	4.39	7.08	0.0142	0.0142
Pure Error	5.58	9	0.62			
Cor Total	25.56	17				

The Model F-value of 7.08 implies the model is significant. There is only a 1.42% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case B are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	0.79	R-Squared	0.6113
Mean	7.22	Adj R-Squared	0.5250
C.V. %	10.90	Pred R-Squared	-0.5546
PRESS	22.31	Adeq Precision	5.843

A negative "Pred R-Squared" implies that the overall mean is a better predictor of your response than the current model.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 5.843 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Lampiran 4

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response	3	TPC			
ANOVA for selected factorial model					
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	968.14	8	121.02	0.66	0.7127
not significant					
A-KONS	203.15	2	101.57	0.56	0.5914
B-SUHU	148.94	2	74.47	0.41	0.6764
AB	616.06	4	154.01	0.84	0.5309
Pure Error	1640.92	9	182.32		
Cor Total	2609.06	17			

The "Model F-value" of 0.66 implies the model is not significant relative to the noise. There is a 71.27 % chance that a "Model F-value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case there are no significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	13.50	R-Squared	0.3711
Mean	92.88	Adj R-Squared	-0.1880
C.V. %	14.54	Pred R-Squared	-1.5157
PRESS	6563.69	Adeq Precision	2.749

A negative "Pred R-Squared" implies that the overall mean is a better predictor of your response than the current model.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio of 2.75 indicates an inadequate signal and we should not use this model to navigate the design space.

Lampiran 5

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response	4	IC50			
ANOVA for selected factorial model					
Analysis of variance table [Classical sum of squares - Type II]					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	242.91	8	30.36	0.75	0.6498
not significant					
A-KONS	29.58	2	14.79	0.37	0.7027
B-SUHU	48.32	2	24.16	0.60	0.5696
AB	165.01	4	41.25	1.02	0.4453
Pure Error	362.70	9	40.30		
Cor Total	605.61	17			

The "Model F-value" of 0.75 implies the model is not significant relative to the noise. There is a 64.98 % chance that a "Model F-value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case there are no significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Std. Dev.	6.35	R-Squared	0.4011
Mean	97.35	Adj R-Squared	-0.1313
C.V. %	6.52	Pred R-Squared	-1.3956
PRESS	1450.81	Adeq Precision	2.757

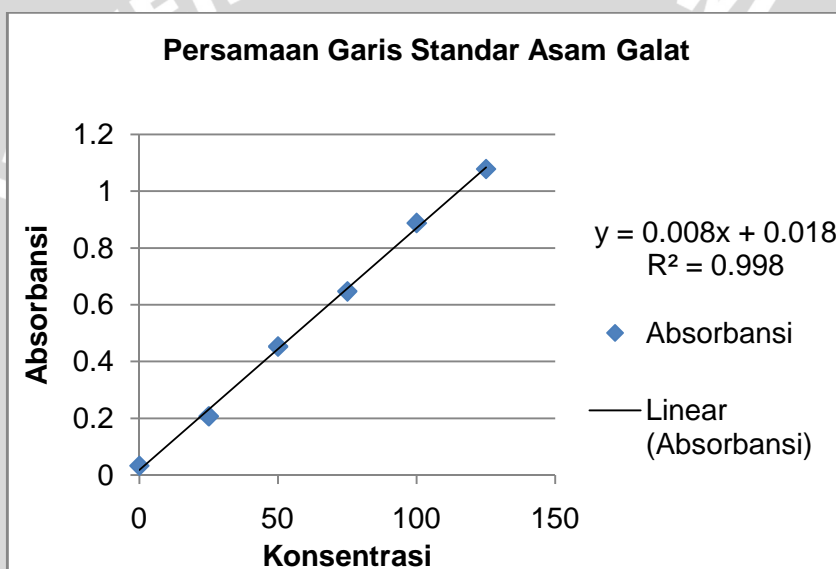
A negative "Pred R-Squared" implies that the overall mean is a better predictor of your response than the current model.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio of 2.76 indicates an inadequate signal and we should not use this model to navigate the design space.

Lampiran 6

Persamaan regresi standar asam galat

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Garis
Asam Galat	0	0.033	$y = 0,008 + 0,018x$
	25	0.207	
	50	0.453	
	75	0.647	
	100	0.888	
	125	1.078	



Lampiran 7

Gambar hasil uji fitokimia ekstrak kasar (crude extract) rumput laut cokelat *Sargassum filipendula*



Uji Alkaloid



Uji Flavonoid



Uji Saponin



Uji Triterpenoid dan Steroid



Uji Tanin

Lampiran8

Gambar proses pembekuan rumput laut *Sargassum filipendula*



Rumput laut coklat *Sargassum filipendula*



Proses pemisahan daun dan batang



Proses penimbangan sampel



(a) (b)
Proses pembekuan. (a) keadaansampeldalamfreezer dan
(b) *thermocouple* yang menunjukkansuhudalamfreezer



Proses *thawing*

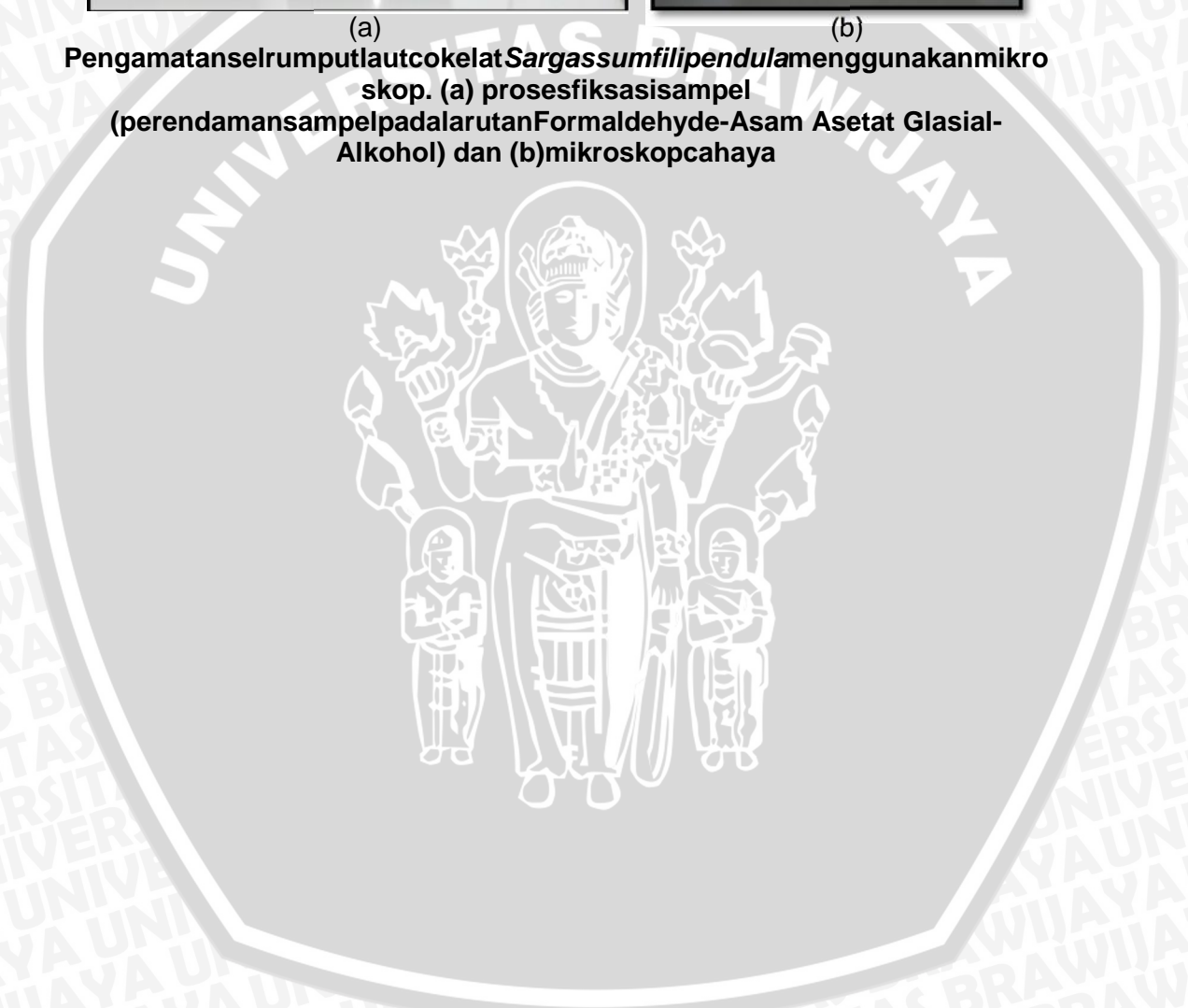


(a)



(b)

Pengamatan sel rumput laut coklat *Sargassum filipendula* menggunakan mikroskop. (a) proses fiksasi sampel (perendam sampel pada larutan Formaldehyde-Asam Asetat Glisial-Alkohol) dan (b) mikroskop cahaya



Lampiran9

Gambar proses ekstraksi rumput laut *Sargassum filipendula*



Proses maserasi pada suhu ruang ($\pm 27^\circ\text{C}$)



Proses maserasi dengan Shaker pada suhu ruang ($\pm 27^\circ\text{C}$)



Proses penyaringan menggunakan kain saring



Proses penyaringan menggunakan kertas Whatman no. 42





Proses evaporasi filtrate menggunakan rotary vacuum evaporator

