

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL
ALGA COKLAT *Sargassum filipendula* DIFERMENTASI**

SKRIPSI

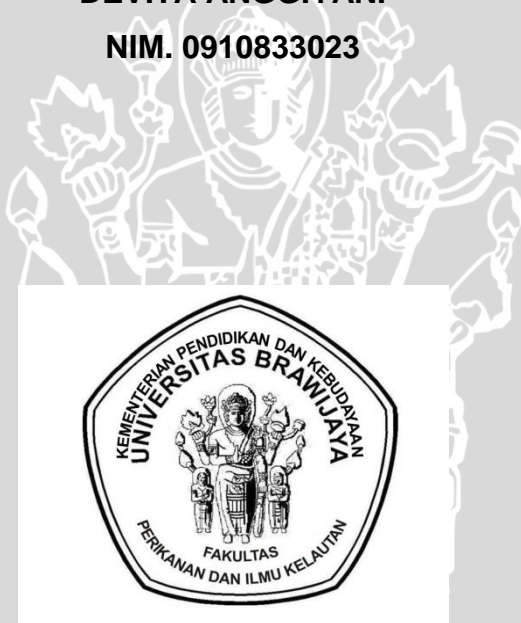
**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh :

DEVITA ANGGIYANI

NIM. 0910833023

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2014**

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL
ALGA COKLAT *Sargassum filipendula* DIFERMENTASI**

SKRIPSI

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

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

Universitas Brawijaya

Oleh :

DEVITA ANGGIYANI

NIM. 0910833023



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL
ALGA COKLAT *Sargassum filipendula* DIFERMENTASI**

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI INDUSTRI HASIL PERIKANAN**

Oleh:

DEVITA ANGGIYANI

NIM. 0910833023

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Dr.Ir. Hartati Kartikaningsih, MS)

NIP : 19640726 198903 2 004

Tanggal :

Dosen Penguji II

(Ir. Darius, M. Biotech.)

NIP : 19500531 198103 1 003

Tanggal :

Dosen Pembimbing I

(Ir. Bambang Budi Sasmito, MS)

NIP : 19570119 198601 1 001

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Eko Waluyo, S.Pi., M. Sc)

NIP : 19800424 200501 1 001

Tanggal :

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

NIP: 19600322 198601 1 001

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dalam naskah Skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis 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 hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 23 Februari 2014

Mahasiswa,

Devita Anggiyani



RINGKASAN

DEVITA ANGGIYANI 0910833023. Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Alga Coklat *Sargassum filipendula* Difermentasi (dibawah bimbingan Ir. **BAMBANG BUDI SASMITA, Msi.** Dan **EKO WALUYO, S. Pi., M. Sc..**)

Rumput laut adalah tumbuhan tingkat rendah yang tidak dapat dibedakan antara bagian akar, batang dan daun. Semua bagian tumbuhannya disebut *thallus*. Alga coklat adalah salah satu kelompok makroalga yang diketahui sebagai sumber yang kaya akan senyawa bioaktif dan potensial untuk diteliti dan dikembangkan. *Sargassum filipendula* pemanfaatannya sangat terbatas, bahkan masih dianggap sebagai sampah laut karena pada musim tertentu hanyut dipermukaan laut dan terdampar di pantai karena tercabut atau patah akibat ombak yang besar atau karena perubahan musim.

Trichoderma viride adalah kapang berfilamen yang sangat dikenal sebagai organisme selulolitik dan menghasilkan enzim-enzim selulolitik, termasuk enzim selobiohidrolase, endoglukanase dan β -glukosidase yang berfungsi dalam membantu proses fermentasi untuk mendegradasi komponen dinding sel alga coklat *Sargassum filipendula*. Senyawa bioaktif yang ada didalam dinding sel dapat keluar dengan maksimal dengan proses fermentasi.

Penelitian ini dilakukan dilaboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2012-September 2013. Tujuan penelitian ini adalah 1).Untuk mengetahui antioksidan dari masing-masing fraksi ekstrak etanolat *Sargassum filipendula* dengan perlakuan fermentasi menggunakan jamur *trichoderma viride* selama 5 hari pH 5,5. 2).Untuk mengetahui senyawa polifenol dari fraksi antioksidan tertinggi ekstrak etanolat *Sargassum filipendula* dengan perlakuan fermentasi menggunakan jamur *trichoderma viride* selama 5 hari pH 5,5

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 6 perlakuan dan 3 kali pengulangan.

Berdasarkan data yang diperoleh, perlakuan terbaik adalah perlakuan fermentasi yang memiliki nilai IC_{50} terendah dan nilai total fenol tertinggi. Nilai IC_{50} sampel hasil residu sebesar 116.0883 ppm, sedangkan nilai IC_{50} terendah terdapat pada sampel etil asetat sebesar 196.2551 ppm. Nilai total fenol tertinggi terdapat pada sampel hasil residu sebesar 39.875 mg GAE/g, sedangkan nilai total fenol terendah terdapat pada sampel etil asetat sebesar 3.75 mg GAE/g.

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur dan keagungan tuhan yang maha esa karena berkat ridho dan hidayah-nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul analisis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol alga coklat *sargassum filipendula* difermentasi

Atas selesainya penulisan laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua saya yang selalu memberikan dukungan.
2. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS dan Bapak Eko Waluyo, S.Pi., M.Sc. sebagai Dosen Pembimbing dan arahan dalam mengerjakan laporan ini.
3. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS dan Bapak Ir. Darius, M. Biotech.. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran.
4. Teman-teman dan semua pihak yang telah membantu dan memberikan dorongan dalam menyelesaikan penyusunan laporan ini.

Penulis menyadari atas keterbatasan ilmu dan pengetahuannya sehingga diharapkan adanya kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan tulisan ini. Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak untuk pengembangan wawasan kita semua. Amin

Malang, Februari 2014

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirobbil'alamin, akhirnya tugas belajar di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan ini dapat terselesaikan. Saya (Devita Anggiyani), ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Allah SWT, yang selalu mengabulkan doa saya. Terimakasih atas nikmat yang selalu Engkau berikan.
2. Kedua orang tua terhebat saya, Bapak Riadi dan Ibu Lilis Suryani, yang selalu memberikan semangat, perhatian, juga memberikan apa yang saya butuhkan.
3. Bapak Ir. Bambang Budi Sasmito, MS. dan Bapak Eko Waluyo, S.Pi., M.Sc selaku dosen pembimbing saya yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama mengerjakan skripsi.
4. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS dan Bapak Ir. Darius, M. Biotech. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran untuk laporan skripsi saya.
5. My Team, Niken, dan Maretty, teman seperjuangan selama mengerjakan skripsi, terima kasih atas bantuannya.
6. Teman-teman tersayang Teman-teman main Rina, Sendy, Kakak Kecil Yeni, dan Teman- Teman kos 225C . Terima kasih atas semangatnya.. 😊
7. Misua Khoirul Imam, Terima kasih supportnya, omelannya, galaknya, ceramahnya, kesabarannya, juga senyumannya. 😊
8. Teman-teman THP '09, teman seperjuangan selama di THP, sukses buat kalian.

Penulis

Devita Anggiyani

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan Penelitian	5
1.6 Tempat dan Waktu	5

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat (<i>Sargassum filipendula</i>)	6
2.2 Fermentasi	8
2.3 <i>Trichoderma viride</i>	10
2.4 Ekstraksi	12
2.5 Radikal Bebas	13
2.6 Antioksidan	14
2.7 Mekanisme Kerja Antioksidan	16

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi penelitian	18
3.1.1. Bahan penelitian	18
3.1.2. Alat penelitian	19
3.2 Metode penelitian	19
3.3 Variabel Penelitian	20
3.4 Rancangan Percobaan dan Analisis Data	20
3.5 Prosedur Penelitian	22
3.5.1. Penanganan Sampel	22
3.5.2. Poses Fermentasi	22
3.5.3. Perhitungan Koloni Jamur dengan Hemacytometer	23
3.5.4. Ekstraksi Kasar	23
3.5.5. Identifikasi Senyawa Bioaktif	24
3.6 Skema Kerja Penelitian	24
3.7 Parameter Uji	24
3.7.1. Uji Antioksidasi	24
3.7.2. Kadar Air	25



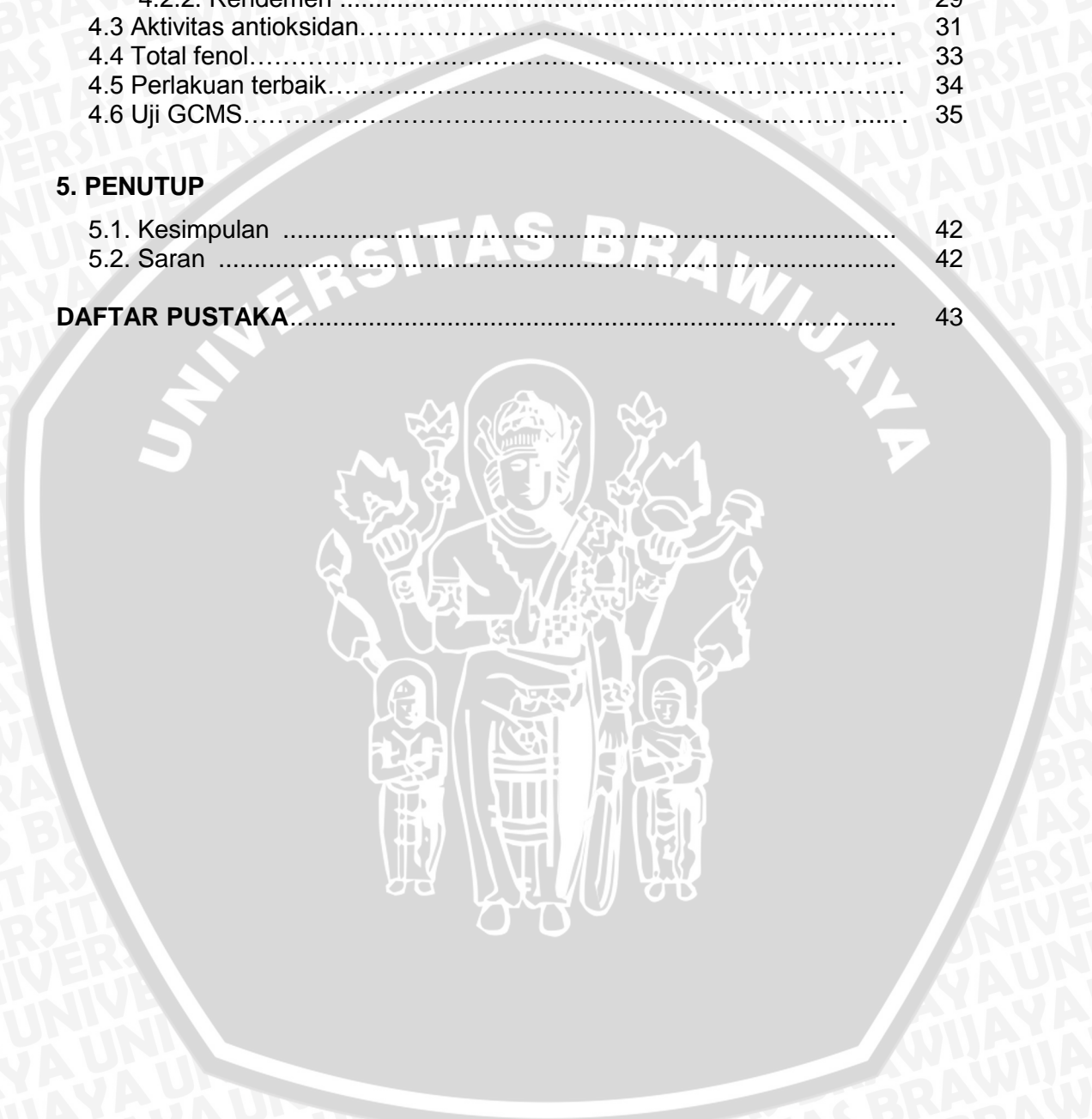
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Fase pertumbuhan <i>Trichoderma viride</i>	26
4.2 Penelitian Utama.....	28
4.2.1. Kadar Air	28
4.2.2. Rendemen	29
4.3 Aktivitas antioksidan.....	31
4.4 Total fenol.....	33
4.5 Perlakuan terbaik.....	34
4.6 Uji GCMS.....	35

5. PENUTUP

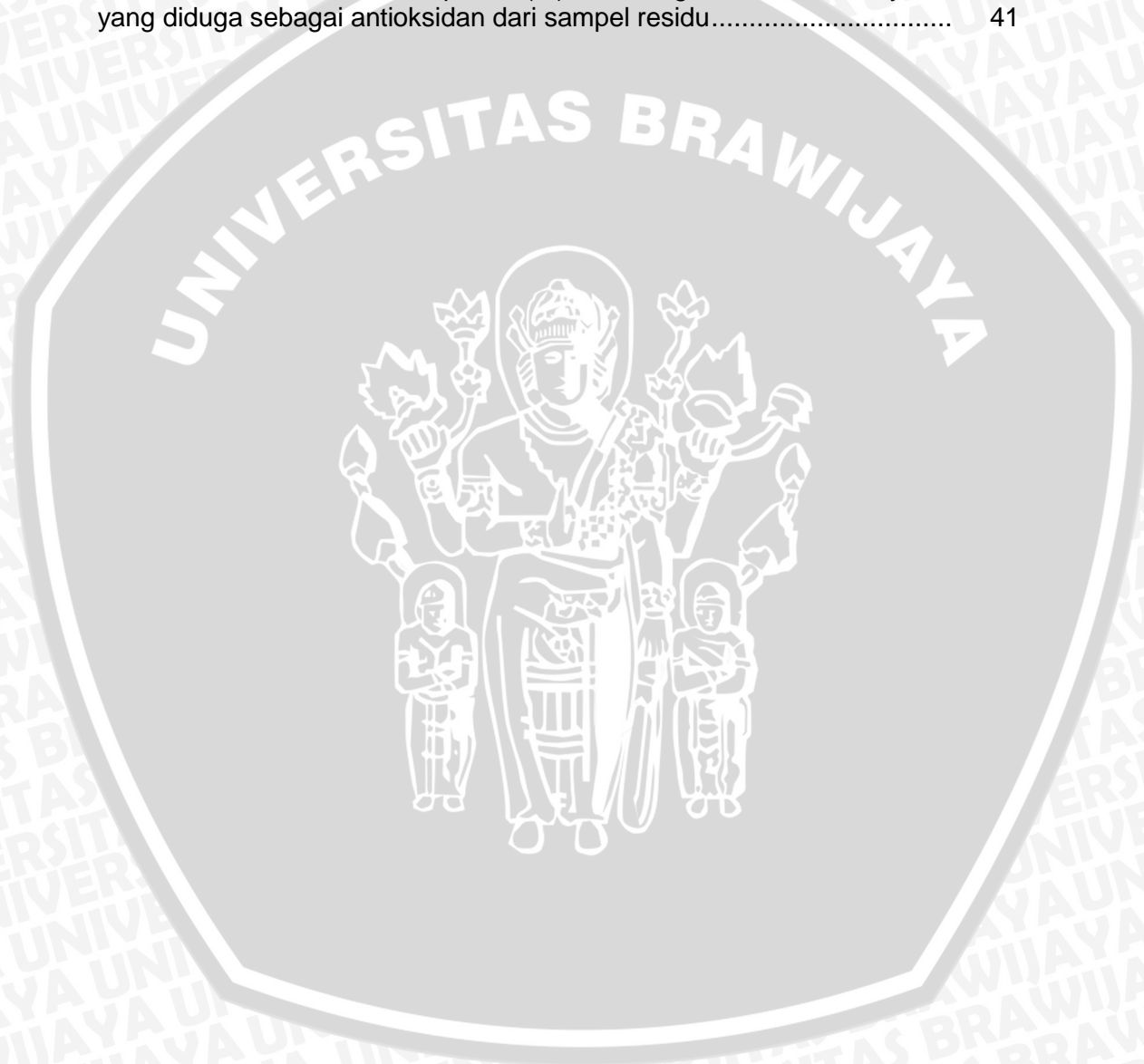
5.1. Kesimpulan	42
5.2. Saran	42

DAFTAR PUSTAKA	43
-----------------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Desain rancangan penelitian.....	21
2. Data waktu retensi dan kelimpahan (%) Kromatogafi Gas serta senyawa yang diduga sebagai antioksidan dari sampel n-Heksana	37
3. Data waktu retensi dan kelimpahan (%) Kromatogafi Gas serta senyawa yang diduga sebagai antioksidan dari sampel eti asetat	39
4. Data waktu retensi dan kelimpahan (%) Kromatogafi Gas serta senyawa yang diduga sebagai antioksidan dari sampel residu.....	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum filipendula</i>	6
2. Bentuk dan komponen sel <i>Trichoderma viride</i>	10
3. Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida.....	17
4. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi.....	17
5. Kurva pertumbuhan jamur <i>Trichoderma viride</i>	23
6. Grafik kadar air ekstrak kasar <i>Sargassum filipendula</i> hasil fermentasi <i>Trichoderma viride</i>	29
7. Grafikrendemen ekstrak kasar <i>Sargassum filipendula</i> hasil fermentasi <i>Trichoderma viride</i>	30
8. Grafik nilai IC ₅₀ ekstrak kasar <i>Sargassum filipendula</i> hasil fermentasi <i>Trichoderma viride</i>	32
9. Grafik nilai total fenol	34
10. Hasil kromatogram gas sampel n-Heksan	36
11. Hasil kromatogram gas sampel etil asetat	38
12. Hasil Kromatogram gas sampel residu.....	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan koloni jamur <i>Trichoderma viride</i> dengan <i>Haemacytometer</i> ...	45
2. Analisis keragaman (ANOVA) persen kadar air <i>Sargassum filipendula</i>	48
3. Analisis Keragaman (ANOVA) persen rendemen <i>Sargassum filipendula</i> .	55
4. Analisis Keragaman (ANOVA) Nilai IC ₅₀ <i>Sargassum filipendula</i>	62
5. Analisis Keragaman (ANOVA) total fenol ekstrak <i>Sargassum filipendula</i> .	69
6. Hasil uji GCMS	75
6. Gambar Proses Penelitian.....	99
7. Flowchart Prosedur Penelitian.....	104



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rumput laut adalah ganggang (alga) yang berbentuk poliseluler dan hidup dilaut. The International Code Botanical Nomenclatur membagi ganggang menjadi 4 kelas, yaitu ganggang hijau (*Clorophyceae*), ganggang merah (*Rhodophyceae*), ganggang coklat (*Phaeophyceae*), dan ganggang biru (*Cyanophyceae*) (Fateha, 2007). Alga hijau dan alga biru banyak tumbuh di air tawar, sedangkan alga coklat dan merah secara eksklusif tumbuh di laut kelompok ini banyak dikenal sebagai rumput laut (*seaweed*) (Winarno, 2007).

Alga *Sargassum* sp. atau alga cokelat merupakan salah satu genus *Sargassum* yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. *Sargassum* sp. mengandung bahan alginat dan iodin yang bermanfaat bagi industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Kadi, 2008). Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik, (Rohdiana, 2001) maka diharapkan antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, dan mampu menghambat penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Beberapa tahun terakhir terjadi peningkatan minat untuk mendapatkan antioksidan alami. Studi

menunjukkan senyawa fenolik seperti flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan penangkap radikal (Cos *et al.*, 2001; Gulcin *et al.*, 2004).



Untuk mendapatkan zat antioksidan dari *Sargassum sp*, maka dilakukan proses ekstraksi. Selama ini, jumlah antioksidan yang didapat dengan metode ini sedikit. Hal ini diduga karena saat proses maserasi, dinding sel rumput laut tidak terpecahkan secara maksimal. Kita ketahui bahwa dinding sel rumput laut mengandung zat algin, selulosa dan pektin dimana semuanya termasuk dalam golongan polisakarida jenis serat pangan. Agar hasil antioksidan yang didapat bisa lebih banyak, maka saat proses maserasi ditambah suatu metode yang dapat memecah dinding sel secara sempurna. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan cara difermentasi.

Fermentasi merupakan kegiatan mikrobial pada bahan pangan sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki. Mikrobial yang umumnya terlibat dalam fermentasi adalah bakteri, khamir dan kapang. Fermentasi adalah segala macam proses metabolik dengan bantuan enzim dari mikroba (jasad renik) untuk melakukan oksidasi, reduksi, hidrolisa dan reaksi kimia lainnya. Proses tersebut menyebabkan terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik dengan menghasilkan produk tertentu yang menyebabkan terjadinya perubahan sifat bahan tersebut (Winarno, 2007). Dengan fermentasi, maka diharapkan pemecahan dinding sel *Sargassum sp* dapat berjalan sempurna karena dibantu oleh pektinase. Pektinase adalah [enzim](#) yang digunakan dalam proses degradasi molekul [pektin](#) (sejenis kompleks [polisakarida](#)). Pektinase merupakan enzim yang mendegradasi pectin yang umumnya terdapat pada dinding sel. Pektinase biasanya ditemukan pada jamur atau mikroorganisme yang tumbuh pada buah-buah yang mulai mengalami pembusukan misalnya *Aspergillus sp* (Septa, 2012).

Ekstraksi menurut Rahayu (2009) merupakan pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam penyiapan pelarut dan bahan yang akan diekstrak diantaranya adalah selektivitas, kelarutan, kemampuan tidak saling bercampur, kerapatan, reaktivitas, dan titik didih.

Maserasi merupakan ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam suatu pelarut selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi bertujuan untuk mengekstrak sampel yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam pelarut, tidak mengandung benzoin dan lilin (Sudjadi 1986). Dilanjutkan dengan metode partisi yang bertujuan untuk memisahkan kedua pelarut dengan perbedaan kepolaran dengan penambahan larutan tertentu. Menurut Sholihah (2010), metode partisi juga disebut penyarian cair-cair, yaitu proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur.

Molyneux (2004) menyatakan bahwa metode yang umum digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah DPPH. Pada metode ini, larutan DPPH yang berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *diphenilpicrylhydrazine* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *diphenilpicrylhydrazine* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu 8 menjadi warna kuning pucat.

1.2. Rumusan masalah

Apakah masing-masing hasil partisi alga coklat *Sargassum filipendula* dari tiga pelarut (n-heksan, etil asetat, dan residu) mengandung senyawa antioksidan ?

1.3. Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Untuk mengetahui senyawa antioksidan dari hasil partisi alga coklat *Sargassum filipendula*

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah :

H_0 : diduga ada perbedaan senyawa antioksidan dalam ekstrak etanol yang dipartisi dengan variasi atau perbedaan pelarut

H_1 : diduga tidak ada perbedaan senyawa antioksidan dalam ekstrak etanol yang dipartisi dengan variasi atau perbedaan pelarut

1.5. Kegunaan penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga dan institusi lain mengenai manfaat senyawa antioksidan yang ada pada *Sargassum filipendula* dan masyarakat dapat memanfaatkan *Sargassum filipendula* sebagai alternatif antioksidan alami yang sangat potensial.

1.6. Waktu dan tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Energi – LPPM ITS, dimulai tanggal 12 Desember 2012 sampai 23 September 2013

2. TUNJAUAN PUSTAKA

2.1. Alga Coklat (*Sargassum filipendula*)

Rumput laut atau makroalga (Phycophyta) merupakan salah satu organisme laut yang berperan dalam siklus rantai makanan sebagai produser primer. Secara umum definisi alga atau rumput laut adalah kelompok tanaman tingkat rendah bersifat fototrof yang tidak mempunyai akar, daun dan batang sebenarnya, namun memiliki thallus yang berfungsi sebagai alat vegetatif (Thallophyta) (Reskika, 2011).

Sargassum adalah salah satu genus dari kelompok rumput laut coklat yang merupakan genera terbesar dari family *Sargassaceae*. Klasifikasi *Sargassum* sp (Anggadiredja *et al.* 2006) adalah sebagai berikut :

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



Gambar 1. Hasil foto *Sargassum*

filipendula

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

Sargassum sp. memiliki bentuk *thallus* gepeng, banyak percabangan yang menyerupai pepohonan di darat, bangun daun melebar, lonjong seperti pedang, memiliki gelembung udara yang umumnya soliter, batang utama bulat agak kasar, dan *holdfast* (bagian yang digunakan untuk melekat) berbentuk cakram. Pinggir daun bergerigi jarang, berombak, dan ujung melengkung atau meruncing (Anggadiredja *et al.* 2008). *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). *Sargassum* tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu. Di Kepulauan Seribu (Jakarta) alga ini biasa disebut *oseng*. Zat yang dapat diekstraksi dari alga ini berupa alginat yaitu suatu garam dari asam alginik yang mengandung ion sodium, kalsium dan barium (Aslan 1999). Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, terutama di daerah rata pasir (*sand flat*). Daerah ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir dan terdapat pula pada karang hidup atau mati. Pada batu-batu ini tumbuh dan melekat rumput laut coklat (Atmadja dan Soelistijo 1988).

Rumput laut jenis *Sargassum* umumnya merupakan tanaman perairan yang mempunyai warna coklat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat. Bagian atas tanaman menyerupai semak yang berbentuk simetris bilateral atau radial serta dilengkapi bagian sisi pertumbuhan. Umumnya rumput laut tumbuh secara liar dan masih belum dimanfaatkan secara baik.. Rumput laut coklat memiliki pigmen yang memberikan warna coklat dan dapat menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa, fikoidin dan manitol yang komposisinya sangat tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuhnya (Maharani dan Widyayanti 2010).

Komponen utama dari alga adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potasium) dan air 80-90% (Chapman 1970).

2.2. Fermentasi

Arti kata fermentasi selama ini berubah-ubah. Kata fermentasi berasal dari Bahasa Latin “fervere” yang berarti merebus (to boil). Arti kata dari Bahasa Latin tersebut dapat dikaitkan dengan kondisi cairan bergelembung atau mendidih. Keadaan ini disebabkan adanya aktivitas ragi pada ekstraksi buah-buahan atau biji-bijian. Gelembung-gelembung karbondioksida dihasilkan dari katabolisme anaerobik terhadap kandungan gula. Arti kata fermentasi berubah pada saat Gay Lussac berhasil melakukan penelitian yang menunjukkan penguraian gula menjadi alkohol dan karbondioksida. Selanjutnya Pasteur melakukan penelitian mengenai penyebab perubahan sifat bahan yang difermentasi, sehingga dihubungkan dengan mikroorganisme dan akhirnya dengan enzim.

Fermentasi merupakan suatu cara pengolahan melalui proses memanfaatkan penguraian senyawa dari bahan-bahan protein kompleks. Protein kompleks tersebut terdapat dalam tubuh ikan yang diubah menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana dengan bantuan enzim yang berasal dari tubuh ikan atau mikroorganisme serta berlangsung dalam keadaan yang terkontrol (Adawyah 2007).

Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik karbohidrat yang menghasilkan alkohol

serta beberapa asam, namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak (Muchtadi dan Ayustaningwarno 2010).

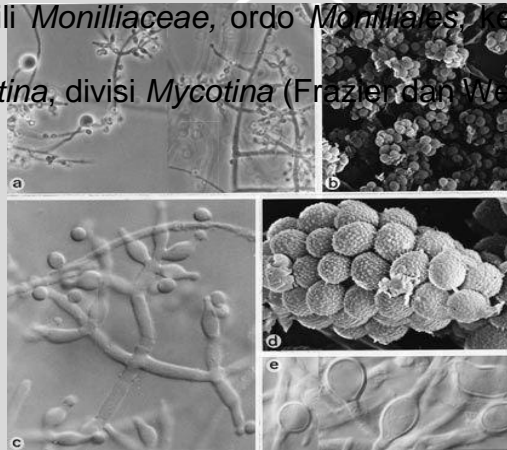
Fermentasi terbagi menjadi dua, yaitu fermentasi spontan dan tidak spontan (membutuhkan starter). Fermentasi spontan adalah fermentasi yang biasa dilakukan menggunakan media penyeleksi, seperti garam, asam organik, asam mineral, nasi atau pati. Media penyeleksi tersebut akan menyeleksi bakteri patogen dan menjadi media yang baik bagi tumbuh kembang bakteri selektif yang membantu jalannya fermentasi. Fermentasi tidak spontan adalah fermentasi yang dilakukan dengan penambahan kultur organisme bersama media penyeleksi sehingga proses fermentasi dapat berlangsung lebih cepat (Rahayu *et al.* 1992).

Hasil fermentasi diperoleh sebagai akibat metabolisme mikroba-mikroba pada suatu bahan pangan dalam keadaan anaerob. Mikroba yang melakukan fermentasi membutuhkan energi yang umumnya diperoleh dari glukosa. Dalam keadaan aerob, mikroba mengubah glukosa menjadi air, CO₂ dan energi (ATP). Beberapa mikroba hanya dapat melangsungkan metabolisme dalam keadaan anaerob dan hasilnya adalah substrat yang setengah terurai. Hasil penguraiannya adalah air, CO₂, energi dan sejumlah asam organik lainnya, seperti asam laktat, asam asetat, etanol serta bahan-bahan organik yang mudah menguap. Perkembangan mikroba-mikroba dalam keadaan anaerob biasanya dicirikan sebagai proses fermentasi (Muchtadi dan Ayustaningwarno 2010).

Fermentasi glukosa pada prinsipnya terdiri dari dua tahap, yaitu (1) pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan paling sedikit dua pasang atom hidrogen, menghasilkan senyawa karbon lainnya yang lebih teroksidasi daripada glukosa, (2) senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa lain sebagai hasil fermentasi (Fardiaz 1989).

2.3. *Trichoderma viride*

Trichoderma viride adalah salah satu jenis kapang tanah yang tersebar luas dan hampir dapat ditemui di lahan-lahan pertanian dan perkebunan. Kapang ini bersifat saprofit pada tanah, kayu, dan juga dapat bersifat parasit pada kapang yang lain (Barnett, 1987). *Trichoderma viride* merupakan jenis yang paling banyak dijumpai diantara genusnya dan mempunyai kelimpahan yang tinggi pada tanah dan bahan yang mengalami dekomposisi. *Trichoderma viride* termasuk dalam genus *Trichoderma*, famili *Monilliaceae*, ordo *Moniliales*, kelas fungi *imperfecti*, sub divisi *Eumycotina*, divisi *Mycotina* (Frazier dan Westhoff, 1988).



Gambar 2. Bentuk dan komponen-komponen sel *Trichoderma viride* :
a.Konidia dan konidiosfor *T.viride* perbesaran 512x,
b.perbesaran 1000x, c.perbesaran 1600x, d.perbesaran 4400x, e.Klamidiospora perbesaran 1600x (de Hoog, 2000)

Pada skala laboratorium, kultur kapang *Trichoderma viride* berwarna hijau, hal ini disebabkan oleh adanya kumpulan konidia pada

ujung hifa kapang tersebut (Pelczar *et al.*, 1974). Susunan sel kapang *Trichoderma viride* bersel banyak, berderet dan membentuk benang halus yang disebut dengan hifa. Hifa pada kapang ini berbentuk pipih, bersekat, dan bercabang-cabang membentuk anyaman yang disebut miselium. Miseliumnya dapat tumbuh dengan cepat dan dapat memproduksi berjuta-juta spora, karena sifatnya inilah maka kapang ini memiliki daya kompetitif yang tinggi (Alexopoulos dan Mims, 1979). Dalam pertumbuhannya, bagian permukaan akan terlihat putih bersih, dan bermiselium kusam. Setelah dewasa, miselium memiliki warna hijau kekuningan (Larry, 1977).

Trichoderma viride berkembangbiak secara aseksual dengan membentuk spora di ujung *filialida* atau cabang dari hifa. Reproduksi *Trichoderma viride* adalah dengan menggunakan caramitosis dan klonal. Pertumbuhan miselia dan pigmen juga dapat dilihat pada media *PotatoDextrose Agar* (Widyastuti, 2007). *Trichoderma viride* dapat tumbuh optimal pada suhu 32-35°C serta pH sekitar 4 (Enari, 1983).

Menurut Wood (1985), *Trichoderma viride* merupakan jenis kapang yang mampu menghancurkan selulosa tingkat tinggi dan memiliki kemampuan mensintesis beberapa factor esensial untuk melarutkan bagian selulosa yang terikat kuat dengan ikatan hidrogen. Selulosa yang terikat tersebut diuraikan menjadi glukosa dan gula sederhana dengan menggunakan enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang tersebut (Mandels, 1982).

Menurut Volk (2004), keunggulan kapang *Trichoderma viride* sebagai penghasil enzim selulase dikarenakan kapang ini dapat

menghasilkan selulase lengkap yang dibutuhkan untuk menghidrolisis selulosa kristal dan dapat menghasilkan protein yang cukup tinggi. Miselium kapang ini dapat menghasilkan suatu enzim yang bermacam-macam, termasuk enzim selulase dan kitinase. Kapang umumnya memiliki selulase karena habitatnya pada bahan-bahan organik yang mengandung selulosa. Selulase terdiri dari komponen endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase dan β -1,4 glukosidase (selobiase). Kapang *Trichoderma viride* menghasilkan ketiga jenis enzim selulase tersebut (Crueger dan Crueger, 1982).

Menurut Gilbert dan Tsao (1983), selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viride* mengandung komponen terbesar berupa selobiase dan β -1,4-glukan-selobiohidrolase dalam jumlah kecil. Semua enzim ini bersifat hidrolitik dan bekerja baik secara berturut-turut atau bersamaan. Selobiohidrolase adalah enzim yang mempunyai afinitas terhadap selulosa tingkat tinggi yang mampu memecah selulosa kristal, sedangkan endoglukanase bekerja pada selulosa amorf (Coughlan, 1989). Selobiohidrolase memecah selulosa melalui pemotongan ikatan hidrogen yang menyebabkan rantai-rantai glukosa mudah untuk dihidrolisis lebih lanjut. Hidrolisis selanjutnya dilakukan oleh β -glukanase dan β -glukosidase, sehingga menghasilkan glukosa.

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen/zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. 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 etilasetat) 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 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 (Utami *et al*, 2009).



Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Salah satu ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan proses dimana simplisia yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut akan melarut. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam dalam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Ansel, 1989).

2.5. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus, atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Adanya 'elektron tidak berpasangan' ini, menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion), atau tidak bermuatan (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

Sumber radikal bebas bisa berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (internal) dan dapat berasal dari luar tubuh (eksternal). Dari dalam tubuh mencakup superoksida (O_2^*), hidroksil (*OH), peroksil (ROO^*), hydrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksida nitrit (NO^*), dan peroksinitrit ($ONOO^*$). Dari luar tubuh antara lain berasal dari: asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, limbah industri, dan ozon (Siswono, 2005).

Radikal bebas pada umumnya dapat mempunyai efek yang sangat menguntungkan, seperti membantu destruksi sel-sel mikroorganisme dan kanker. Akan tetapi, produksi radikal bebas yang berlebihan dan produksi antioksidan yang tidak memadai dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim. Kerusakan jaringan dapat terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas asam lemak atau dikenal sebagai peroksidasi lipid.

Aktivitas radikal bebas dapat menjadi penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologis. Di antara senyawa-senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil (*OH) merupakan senyawa yang paling berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu:

1. Asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel
2. DNA, yang merupakan piranti genetik dari sel.

3. Protein, yang memegang berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matriks, dan sitoskeleton (Halliwell dan Gutteridge, 2000 ; Papas, 1999).

2.6. Antioksidan

Menurut Winarsi (2011) senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Menurut Kumalaningsih (2007), antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Menurut Hillbom dalam Sulistyowati (2006), antioksidan adalah senyawa dalam kadar rendah mampu menghambat oksidasi molekul target sehingga dapat melawan atau menetralkan radikal bebas.

Dikenal ada tiga kelompok antioksidan, yaitu antioksidan enzimatik, antioksidan pemutus rantai dan antioksidan logam transisi terikat protein. Yang termasuk antioksidan enzimatik adalah *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), *gluthathion peroksidase* (GPx), *gluthathion reduktase* (GR) *seruloplasmin*. Mekanisme kerja antioksidan enzimatik adalah mengkatalisir pemusnahan radikal bebas dalam sel. Antioksidan

pemutus rantai adalah molekul kecil yang dapat menerima dan memberi elektron dari atau ke radikal bebas, sehingga membentuk senyawa baru yang stabil, contoh antioksidannya adalah vitamin E dan vitamin C. Sedangkan antioksidan logam transisi terikat protein bekerja mengikat ion logam seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} contohnya Flavonoid dapat mencegah radikal bebas. Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas (Winarsi 2011).

Menurut Winarno (2002) antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Zat-zat yang termasuk golongan antioksidan primer dapat berasal dari alami maupun buatan. Antioksidan alami antara lain vitamin E, vitamin C, lesitin dan gosipol. Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan sehingga digolongkan sebagai sinergik. Beberapa asam organik tertentu, biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (*sequestram*). Sebagai contoh, satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe seperti sering dilakukan pada minyak kacang kedelai. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu: 1). Pelepasan hidrogen dari antioksidan, 2) Pelepasan elektron dari antioksidan, 3). Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, 4). Pembentukan

senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Winarti 2010).

2.6.1. Mekanisme kerja antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

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 (Gambar 3). Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).



Radikal lipida

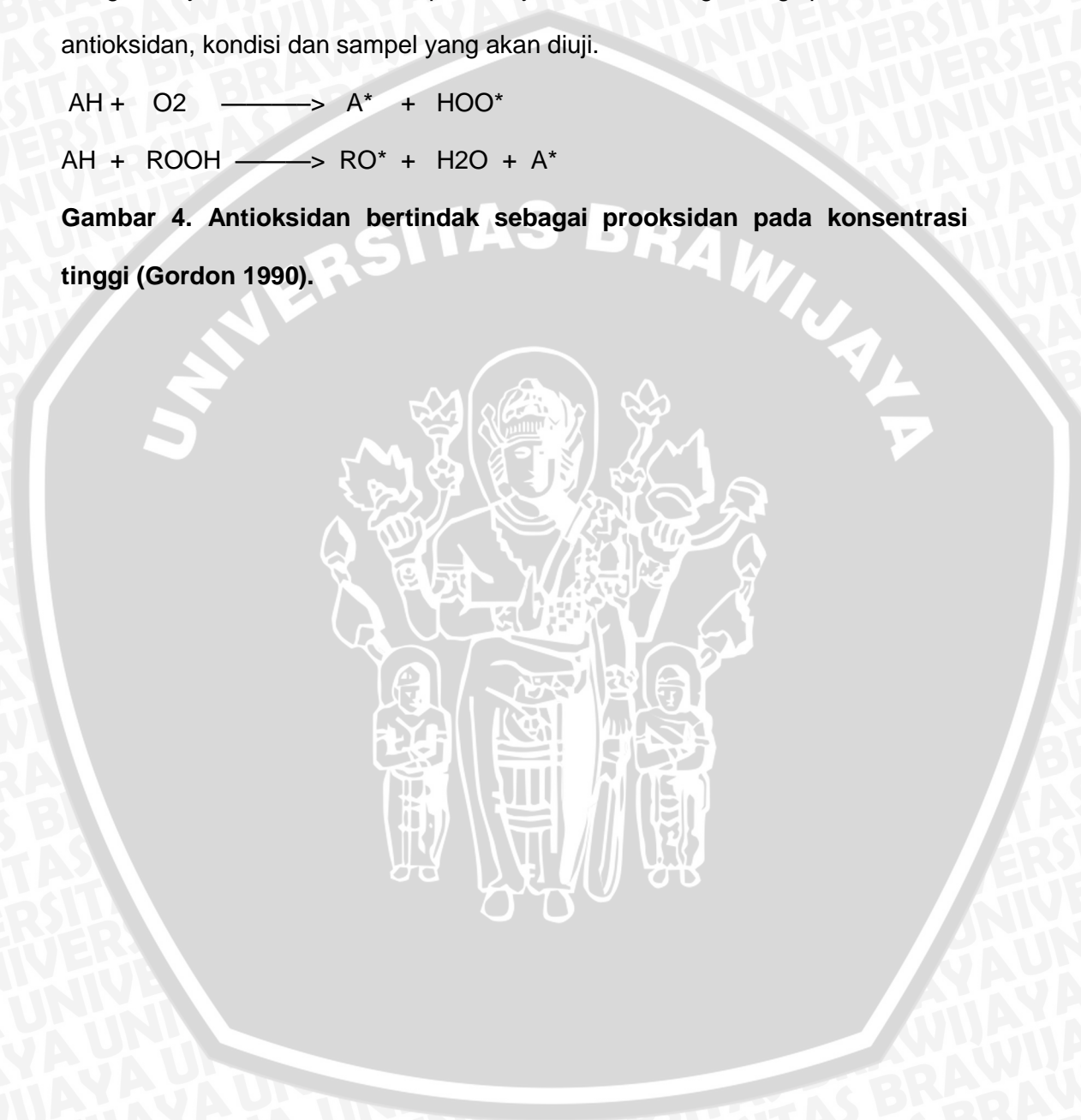


Gambar 3. Reaksi Penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Gordon 1990).

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gambar 4). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.



Gambar 4. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Gordon 1990).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian utama menggunakan alga coklat jenis *Sargassum filipendula* segar diperoleh dari perairan Pulau Talango, Kabupaten Sumenep, Madura, Jawa Timur. Rumpun laut yang dipanen dari daerah budidaya dan saat pemanenan bahan langsung dicuci dengan air laut. Sampel dicuci dengan air laut dengan tujuan untuk membersihkan sisa-sisa lumpur dan pasir yang masih melekat pada rumput laut. Sampel dimasukkan ke dalam *coolbox* lalu diberi dengan es balok dan bagian luar *coolbox* disegel dengan lakban untuk mempertahankan suhu rendah dalam *coolbox* selama proses transportasi dan agar *coolbox* tidak rusak sampai tujuan. Selang waktu pengangkutan dari tempat pemanenan ke laboratorium adalah 9 jam.

Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi antioksidan algae coklat *Sargassum filipendula* yaitu pelarut *Etanol Pro Analysis*, kertas saring kasar, kain blacu, *Aluminium Foil. Etanol Pro Analysis* diperoleh dari Toko Bahan Kimia "Makmur Sejati". Bahan kimia yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah serbuk DPPH, *Etanol Pro Analysis*. Serbuk DPPH diperoleh dari Laboratorium . Bahan kimia yang digunakan untuk uji total *fenol* adalah *Etanol Teknis (96%)*, *aquadest*, *Follin Cioalteau*, Na_2CO_3 .

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada proses maserasi (ekstraksi) senyawa antioksidan pada algae coklat *Sargassum filipendula* adalah baskom, gunting, pisau, timbangan analitik, spatula, erlenmayer 300ml, *beaker glass* 300 ml, gelas corong, gelas ukur, dan shaker. Peralatan yang digunakan pada pengaturan pH bahan ialah menggunakan pH meter, wadah plastik. Peralatan yang digunakan botol plastik, termometer. Peralatan yang digunakan untuk pengaturan konsentrasi biakan ialah pipet volume, erlenmeyer 300ml. Sedangkan pada peralatan yang digunakan pada saat pemisahan pelarut dari ekstrak adalah 1 unit *rotary vacum evaporator* merk IKA RV10 dan botol vial. Dan pada peralatan yang digunakan untuk uji DPPH adalah botol vial, *beaker glass* 50 ml, erlenmeyer 250 ml, bola hisap, pipet volume 5 ml dan pipet volume 10 ml. Untuk mengidentifikasi pada senyawa fitokimia menggunakan alat *beaker glass* 100 ml, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan gelas ukur.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen. Penelitian dapat dilakukan tanpa atau dengan kelompok pembanding (Natzir, 1988).

Metode eksperimen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variasi (perbedaan) kepolaran pelarut yang digunakan saat proses partisi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanolat alga coklat *Sargassum filipendula*.

3.3 Variabel Penelitian

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 (Surachmad, 1994).

Adapun variabel terikat merupakan parameter yang diamati yaitu kadar air, aktivitas antioksidan (menggunakan metode DPPH dengan melihat nilai IC_{50} terendah), total fenol (TPC). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang digunakan adalah variasi pelarut dalam proses partisi, yaitu faktor pertama pelarut n-heksan (S1), faktor kedua pelarut etil asetat (S2) dan faktor ketiga residu yang terdiri dari etanolat dan aquadest (S3).

3.4 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 6 perlakuan dan 3 kali pengulangan. Rancangan acak lengkap (RAL) sederhana digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen (Sastrosupadi, 2000). Model analisis yang digunakan adalah sidik ragam yang mengikuti model sebagai berikut:

$$\gamma_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

γ_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

i = perlakuan

j = ulangan

Desain rancangan penelitian ini dapat dilihat pada tabel 7 berikut ini.

Tabel 1. Desain Rancangan Penelitian

Perlakuan	Ulangan			IC ₅₀	Total penol	Kadar Air	Rendemen	Rerata
	1	2	3					
S1								
S2								
S3								
S1K								
S2K								
S3K								

Keterangan :

S1 = Sargassum fillipendulla ekstraksi menggunakan heksan

S2 = Sargassum fillipendulla ekstraksi menggunakan etil asetat

S3 = Sargassum fillipendulla ekstraksi menggunakan residu

S1K = Sargassum fillipendulla kontrol menggunakan heksan

S2K = Sargassum fillipendulla kontrol menggunakan etil asetat

S3K = Sargassum fillipendulla kontrol menggunakan residu

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of*

Variance).



3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1. Penanganan Sampel

Sampel alga coklat *Sargassum filipendula* di Laboratorium dicuci menggunakan air garam dan dipotong menjadi kecil-kecil untuk memudahkan dalam proses fermentasi.

3.5.2. Proses fermentasi

Pada proses fermentasi dilakukan peremajaan biakan *Trichoderma viride* pada media PDA sebanyak 1,95g dilarutkan dalam 50ml aquadest kemudian diaduk hingga rata. Larutan tersebut dipanaskan hingga semuanya larut. Media PDA tersebut dituangkan pada tabung reaksi sebanyak 3 – 4 cc yang ditutup kapas dan pada cawan petri sebagai stok kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit di dalam *autoclave*. Setelah dingin pada suhu 45 - 50°C medium ditempatkan dalam keadaan miring dengan kemiringan 30° kemudian setelah dingin biakan murni *Trichoderma viride* ditanam pada media agar miring dan disimpan pada suhu kamar (Jaelani, 2007). Setelah 24 jam dilakukan pengenceran berseri untuk dilakukan perhitungan jumlah spora setiap 6 jam sekali dengan menggunakan *haemocytometer* di bawah mikroskop (Gholib, 2006). Perhitungan dilakukan sampai diperoleh jumlah spora. Biakan jamur kemudian diperbanyak pada medium PDB sebanyak 10 gram PDB merek oxoid dilarutkan ke dalam 250 ml aquades, kemudian dipanaskan sampai mendidih, disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah media dingin kemudian diinokulasi dengan 4 potongan koloni *Trichoderma viride*. Koloni *Trichoderma viride* dipotong dengan diameter 5 mm (Herlina, 2009). Inokulum diinkubasi sesuai waktu yang dicapai saat jumlah spora.

3.5.3 Perhitungan Spora Jamur dengan Hemacytometer

Dalam metode *petroff hauser*, hitungan mikroskopik dilakukan dengan pertolongan kotak-kotak skala dimana dalam setiap ukuran skala seluas 1 mm² terdapat 25 buah kotak besar dengan luas 0.04 mm² dan setiap kotak besar terdiri dari 16 kotak kecil. Tinggi sampel yang terletak diantara gelas obyek dan gelas penutup adalah 0.02 mm². Jumlah setiap sel dalam beberapa kotak besar dihitung, kemudian dihitung jumlah sel rata-rata dalam satu kotak besar. Jumlah sel per ml sampel dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{\text{Jumlah sel rata-rata tiap petak} \times 1000 \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Luas petak (mm}^2\text{)} \times \text{kedalaman petak (mm)}}}$$

Catatan : Bila jumlah sel setiap petak terlalu banyak, maka suspensi diencerkan dengan larutan pengencer steril sampai jumlah sel setiap petak sekitar 50. (Zubaidah, 2006)

3.5.4. Maserasi

Sampel dimaserasi menggunakan pelarut *Etanol Pro Analysis* selama 1 x 24 jam dan dishaker suhu ruang $\pm 27^{\circ}\text{C}$. Perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:3 (b/v). Setelah dimaserasi, sampel disaring menggunakan kain blacu dan kertas saring kasar. Tujuan dari disaring adalah untuk memisahkan filtrat dari residu. Filtrat yang diperoleh dirotari dengan *rotary vacuum evaporator* suhu 40°C untuk memisahkan antara pelarut etanol dan sampel. Setelah terpisah, didapatkan ekstrak kasar (etanolat) *Sargassum filipendula*.

3.5.5. Identifikasi Senyawa Bioaktif

Maserasi (etanol) *Sargassum filipendula* dilarutkan dalam 4 ml aquadest, kemudian dipartisi menggunakan *n*-heksan sebanyak 75 ml. Ekstrak *n*-heksan (S1) dikumpulkan dan residunya (ekstrak aquadest dan etanol) dipartisi kembali dengan etil asetat sebanyak 75 ml. Kemudian ekstrak etil asetat (S2) dan residu (aquadest dan etanol atau S3) dikumpulkan. Ketiga ekstrak (S1, S2 dan S3) difreeze-drying dengan gas nitrogen (N₂) sehingga diperoleh ekstrak S1, S2 dan S3. Perbandingan sampel : aquadest : *n*-heksan adalah 1:4:3 (v/v/v). kemudian ditimbang berat kerak dalam satuan gram (gr). Tujuan penimbangan ini adalah untuk mengetahui rendemen dari masing-masing fraksi. Diambil sedikit untuk analisa kadar air, uji DPPH, uji Total Fenol. Terhadap fraksi yang memiliki nilai IC₅₀ (inhibitor concentration) terendah, dilakukan uji golongan senyawanya dan diidentifikasi menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa. (GC-MS). Sehingga diperoleh senyawa bioaktif (polifenol).

3.6 Skema Kerja Penelitian

Skema kerja penelitian dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.7. Parameter Uji

3.7.1. Uji Antioksidan (DPPH)

Analisis DPPH dilakukan terhadap hasil ekstrak kasar ethanol dari *Sargassum fillipendula* dan dilihat nilai anti radikal bebasnya. Analisis DPPH dilakukan berdasarkan metode Blois (1958). Ekstrak ethanol dari *Sargassum fillipendula* dilarutkan dalam ethanol dan dibuat dalam konsentrasi (25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm). Masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 4,5ml. Kedalam tiap tabung reaksi ditambahkan 0,5 mL larutan DPPH 1mM dalam ethanol, selanjutnya diinkubasi pada suhu 30⁰C selama 30 menit. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer

UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan vitamin C. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan 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).

3.7.2. Uji Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui jumlah air bebas ekstrak sampel dalam ethanol 96%. Uji yang dilakukan berdasarkan metode *Thermogravimetri* (Sudarmadji *et al.*, 1997) yaitu dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105-110°C selama 3 jam atau didapat berat yang 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 :

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

Keterangan :

A = Berat botol timbang

4. B = Berat sampel

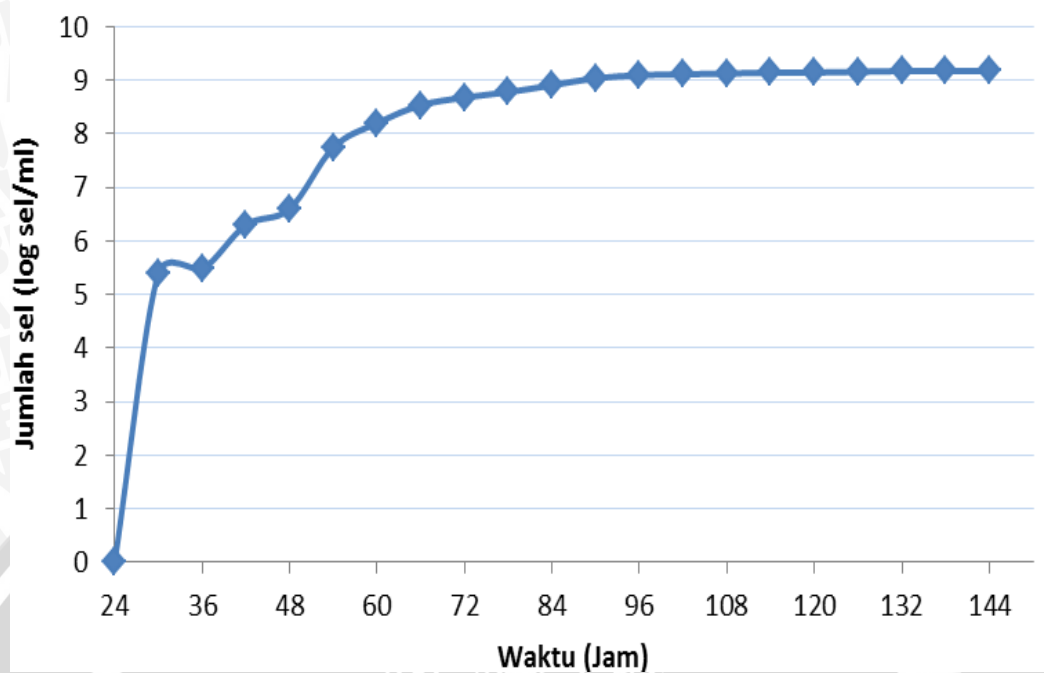
C = Berat akhir (Botol timbang + sampel)

PEMBAHASAN

4.1 Fase pertumbuhan *Trichoderma viride*

Pertumbuhan *Trichoderma viride* dapat diketahui dengan melihat kurva fase pertumbuhan jamur *Trichoderma viride* yang akan diinokulasi. Kurva fase pertumbuhan dibuat berdasarkan perhitungan jumlah koloni / ml PDB dengan menggunakan *haemocytometer*. Menghitung jumlah koloni (spora) / ml setiap hari selama 7 hari. Menurut Arnata (2009), kurva pertumbuhan *T. viride* ditentukan dengan diamati setiap hari selama 7 hari dengan menggunakan *haemocytometer* dan diamati setiap 6 jam sekali (Zubaidah, 2006). Hasil perhitungan jumlah koloni/ ml jamur *Trichoderma viride* dapat dilihat pada Lampiran 1.

Hasil perhitungan jumlah koloni jamur *Trichoderma viride* didapatkan fase stasioner pada hari ke 5 dan ke 6. Dengan jumlah sel spora pada hari ke 5 sebesar $1,5 \times 10^9$ spora/ml dan pada hari ke 6 jumlah sel spora sebesar $1,5 \times 10^9$. Dapat disimpulkan pada hari ke 5 atau 6 jamur *Trichoderma viride* dapat digunakan dalam proses fermentasi pada *Sargassum filipendula*. Sehingga diharapkan dapat bekerja untuk memecah dinding sel dari *Sargassum filipendula* untuk memecah senyawa bioaktif yang terkandung dalam rumput laut. Menurut Arnata (2009), melaporkan bahwa aktivitas maksimal *filter paperase* diperoleh setelah fermentasi selama 7 hari. Pertumbuhan kapang *T. viride* sudah optimal, sehingga kemampuan untuk menghasilkan selulase menjadi meningkat.



Gambar 5. Kurva pertumbuhan jamur *Trichoderma viride*

Berdasarkan kurva tersebut, hari pertama dan kedua merupakan fase adaptasi. Hari ketiga sampai hari kelima merupakan fase eksponensial yang ditandai dengan kenaikan jumlah koloni jamur dari *Trichoderma viride* signifikan, hal tersebut mengindikasikan bahwa pada range waktu tersebut *Trichoderma viride* membelah dengan cepat. Hari kelima sampai hari keenam merupakan fase stasioner. Metabolit yang dihasilkan oleh *Trichoderma viride* pada fase stasioner adalah metabolit sekunder. Dari hasil penelitian, fase stasioner pertumbuhan koloni *T. viride* setelah kultivasi selama 7 hari dengan jumlah koloni maksimum rata-rata $1,5 \times 10^9$ /ml atau 9.18 log/ml. Hal ini yang mendasari dilakukannya massa panen pada fase stasioner yang berada pada hari keenam. Fase stasioner berakhir pada saat jumlah sel menurun disebut fase kematian.

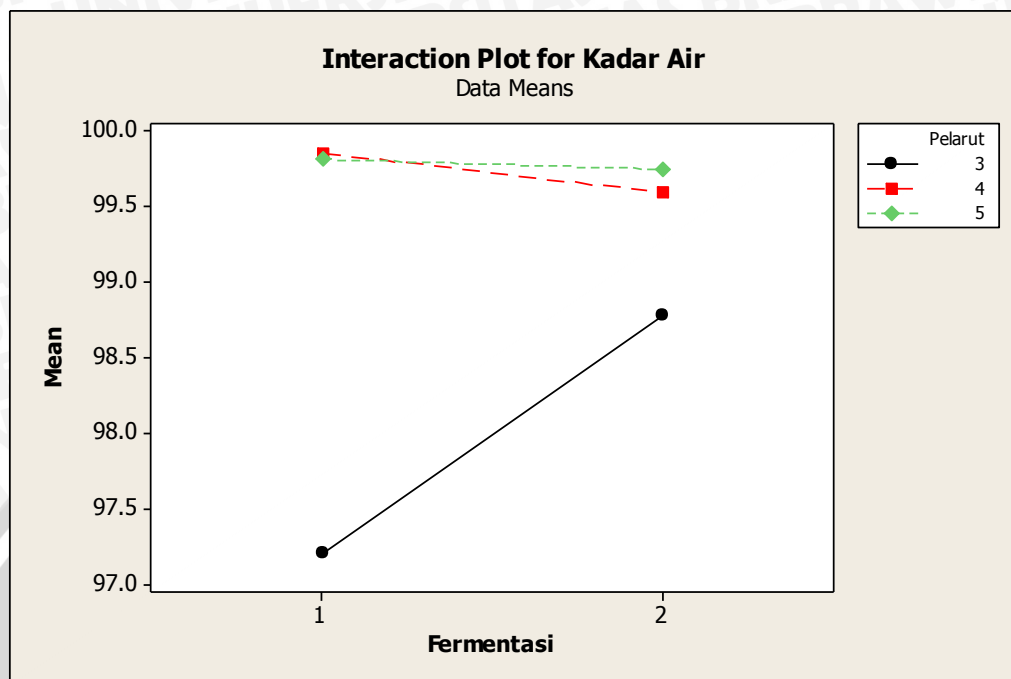


4.2 Penelitian Utama

4.2.1 Kadar Air

Perbedaan perlakuan akan memberikan hasil yang berbeda terhadap ekstrak yang dihasilkan. Kadar air ekstrak merupakan jumlah air yang terkandung dalam ekstrak sampel dan nilainya dinyatakan dalam persen. Dengan mengetahui jumlah kadar air dalam sampel maka dapat diketahui konsentrasi sampel dalam ekstrak kasar.

Perhitungan analisis persen kadar air ekstrak etanol *pro analysis* pada *Sargassum filipendula* disajikan pada Lampira 2. Hasil perhitungan pada uji kadar air perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6. Hasil ANOVA kadar air pada sample *Sargassum filipendula*, perlakuan fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar air. Hal ini dikarenakan, semakin lama waktu pengeringan yang dilakukan, maka kadar air yang terdapat pada suatu bahan pangan akan semakin rendah. Kepekaan suatu komoditi terhadap kehilangan air akibat penguapan tergantung defisit tekanan uap dari atmosfer disekitarnya serta struktur lapisan permukaan komoditi yang bersangkutan (Kartikaningsih H *et al*, 2012). Dan perlakuan perbedaan pelarut dapat berpengaruh nyata pada kadar air. Perlakuan dengan persen kadar air terendah terdapat pada perlakuan hasil residu sebesar 94.708 %, sedangkan persen kadar air tertinggi terdapat pada perlakuan n-heksan sebesar 99.910%.



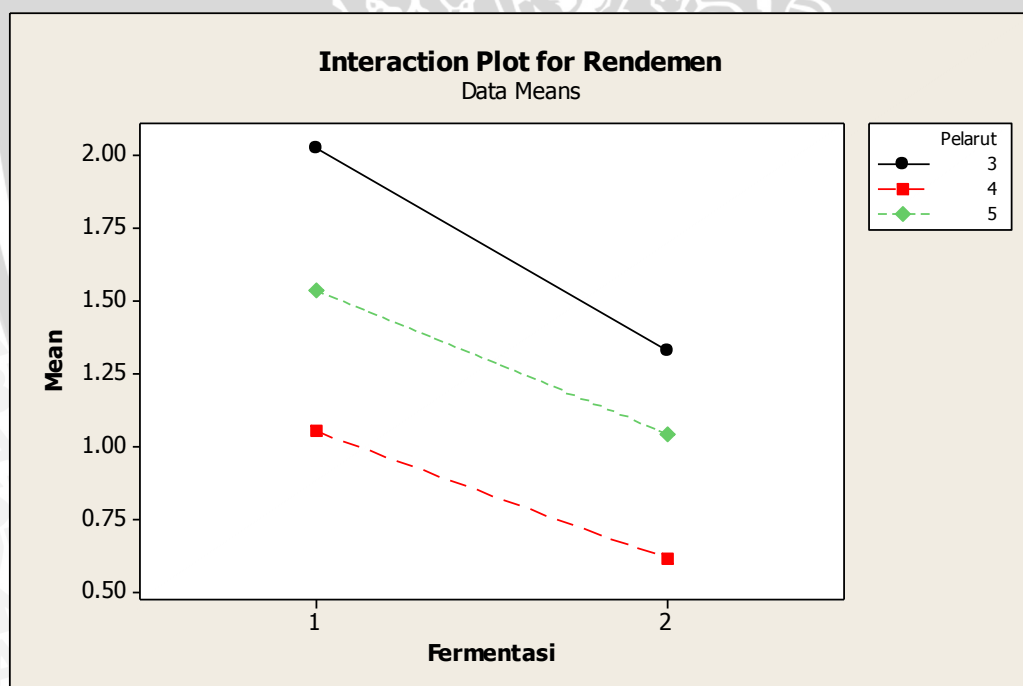
Gambar 6. Kadar air ekstrak kasar *Sargassum filipendula* hasil fermentasi dengan *Trichoderma viride*

4.2.2 Rendemen

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak kasar yang dihasilkan dengan bobot awal yang digunakan dan nilainya dinyatakan dalam bentuk persen. Persen rendemen menunjukkan seberapa banyak ekstrak yang bisa diambil dari sampel. Semakin besar persen rendemen maka semakin banyak ekstrak senyawa bioaktif yang didapatkan.

Perhitungan analisis terhadap persen rendemen ekstrak etanol *Pro analysis Sargassum filipendula* disajikan pada Lampiran 3. Hasil ANOVA rendemen antioksidan, dipengaruhi nyata oleh fermentasi, jumlah rendemen juga dipengaruhi nyata oleh pelarut. Hal ini karena faktor yang mempengaruhi rendemen yaitu metode ekstraksi yang digunakan, ukuran

partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, perbandingan jumlah sampel terhadap jumlah pelarut yang digunakan dan jenis pelarut yang digunakan (Salamah et al., 2008). Perlakuan dengan persen rendemen tertinggi terdapat pada perlakuan pelarut heksan sebesar 2.061 %. Sedangkan persen rendemen terendah terdapat pada perlakuan aquades sebesar 0.497 %. Rendemen pada pelarut etil asetat lebih kecil dibandingkan dengan pelarut n-heksan, hal ini dimungkinkan adanya gugus etoksi yang terdapat pada struktur kimia etil asetat. Adanya gugus tersebut yang menyebabkan etil asetat dapat membentuk ikatan hydrogen dengan senyawa yang terdapat pada sampel (Ardiningsih et al, 2012).



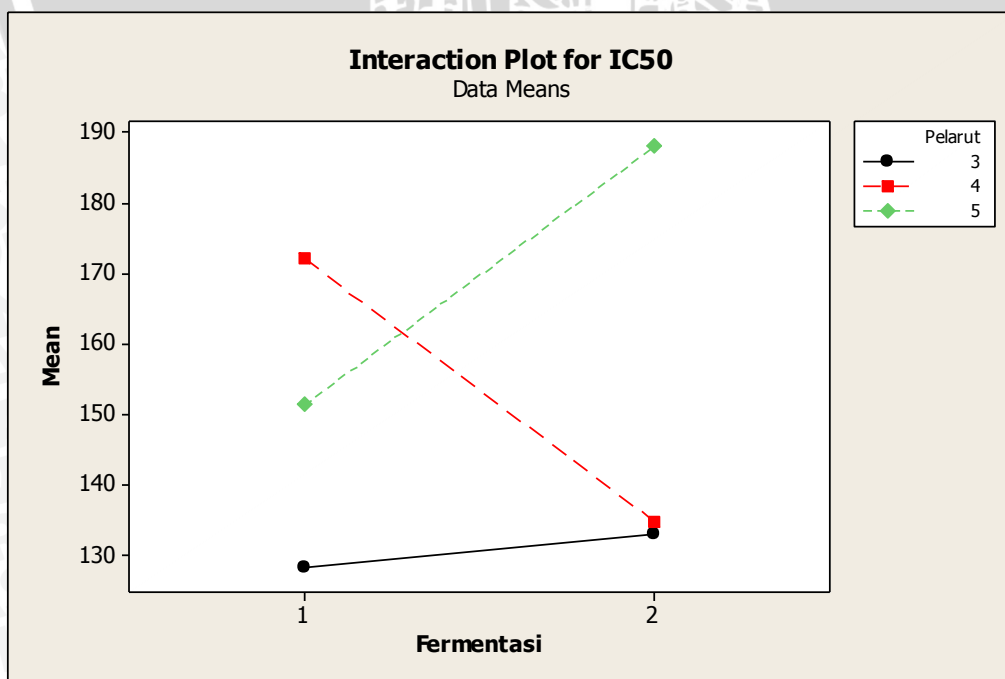
Gambar 7. Rendemen ekstrak kasar *Sargassum filipendula* hasil fermentasi dengan *Trichoderma virede*

4.3 Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan mampu menghambat radikal bebas dan mengubahnya menjadi senyawa non radikal (Romansyah, 2011). Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu singkat (Hanani, 2005). Hasil dari metode DPPH umumnya dibuat dalam bentuk IC_{50} (*Inhibitor Concentration 50*), yang didefinisikan sebagai konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan tereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin besar aktivitas antioksidan maka nilai IC_{50} akan semakin kecil. Molyneux (2004) menyatakan bahwa .Suatu senyawa antioksidan dinyatakan baik jika nilai IC_{50} -nya semakin kecil. IC_{50} menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50% (Suryaningrum *et al.*, 2006). Prinsip uji dengan metode ini yaitu DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji, dimana DPPH akan bereaksi dengan antioksidan tersebut membentuk *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*. Reaksi ini menyebabkan perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning atau kuning gelap yang dapat diukur dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 517 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Sunarni, *et al.*, 2005).

Senyawa polifenol berperan sebagai antioksidatif. Menurut Bravo (1998), aktivitas antioksidan berhubungan dengan kandungan gugus hidroksil polifenol yang mampu menyumbangkan atom hidroksil ke dalam radikal bebas untuk menetralkan sifat radikal.

Hasil perhitungan analisis IC_{50} ekstrak etanol *Pro analysis Sargassum filipendula* disajikan pada Lampiran 3. Hasil ANOVA IC_{50} tidak dipengaruhi secara nyata oleh Fermentasi, sedangkan perlakuan pelarut berbeda nyata terhadap antioksidan. Penggunaan bahan pelarut yang tidak tepat juga dapat merusak aktivitas antioksidan yang ada. Jan *et al.* (2001) menyatakan bahwa penggunaan pelarut yang sama dapat memberikan hasil yang sangat berbeda walaupun partikel dan stabilitas substrat sampel yang diekstraksi hampir sama. Hasil uji lanjut IC_{50} dapat dilihat pada Gambar 8. Perlakuan IC_{50} tertinggi terdapat pada residu sebesar 116.0883 ppm, sedangkan IC_{50} terendah terdapat pada sampel etil asetat sebesar 196.2551 ppm.



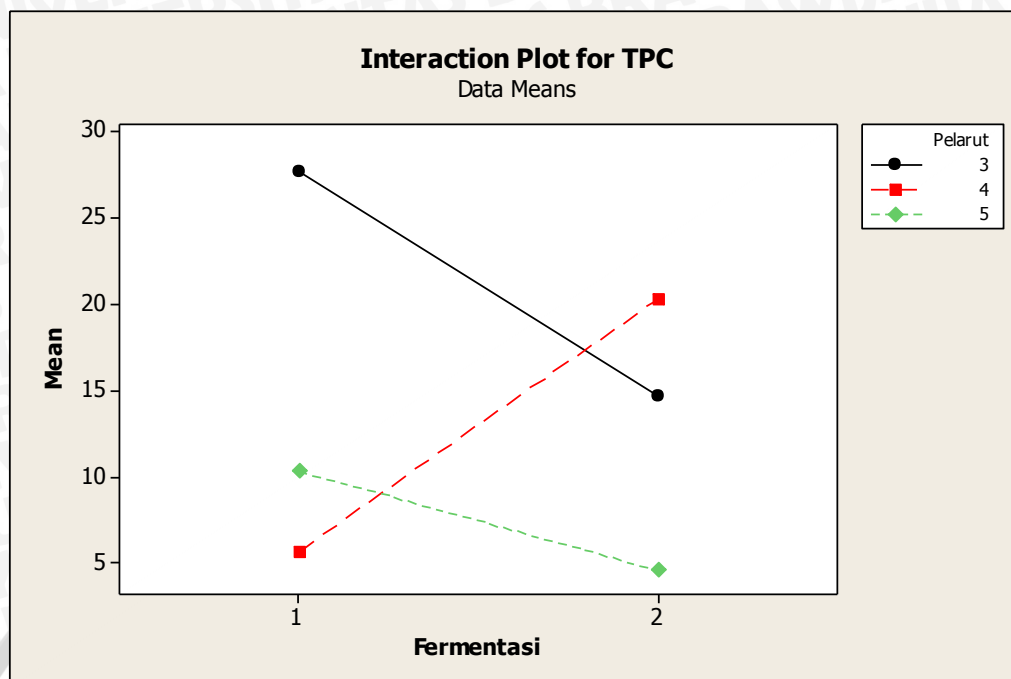
Gambar 8. Nilai IC_{50} ekstrak kasar *Sargassum filipendula* hasil fermentasi *Trichoderma viride*



4.4 Total Fenol

Menurut Lim *et al.* (2002) menyatakan bahwa adanya hubungan antara total fenol dan aktivitas antioksidan dimana jika di dalam suatu bahan memiliki konsentrasi senyawa fenol yang tinggi maka aktivitas antioksidan dalam bahan tersebut juga tinggi. Menurut Andayani *et al.* (2008), senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan biasanya memiliki gugus -OH dan -OR seperti flavonoid dan asam fenolat. Oktaviana (2010) juga menyatakan bahwa senyawa fenol bisa berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya meniadakan radikal-radikal bebas dan radikal peroksida sehingga efektif dalam menghambat oksidasi lipida.

Perhitungan analisis terhadap persen total fenol ekstrak etanol *pro analysis Sargassum filipendula* disajikan pada Lampiran 4. Hasil ANOVA total fenol tidak dipengaruhi secara nyata oleh fermentasi dan dipengaruhi secara nyata oleh pelarut. Menurut Adawiyah *et al.* (2001), kelarutan senyawa fenol ditentukan oleh polaritas pelarut yang digunakan untuk mengekstrak dan tingkat polimerisasi senyawa fenol dibandingkan komponen lain dalam suatu bahan pangan. Hasil perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada Gambar 9. Perlakuan total fenol tertinggi terdapat pada residu sebesar 39.875 mg GAE/g, sedangkan total fenol terendah terdapat pada sampel pelarut etil asetat sebesar 3.75 mg GAE/g



Gambar 9. Nilai total fenol ekstrak kasar *Sargassum filipendula* hasil fermentasi dengan *Trichoderma viride*

4.5 Perlakuan Terbaik

Dasar perlakuan terbaik dari penelitian ini ditentukan dengan perhitungan aktivitas antioksidan sampel yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} dan nilai *Total Phenol Content* (TPC). Semakin tinggi nilai IC_{50} dari sampel tersebut maka semakin rendah aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan nilai *Total Phenol Content* (TPC). Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin banyak kandungan *Total Phenol Content* (TPC). Hal ini juga didukung oleh Huang *et al.*, (2005) dalam Tursiman *et al.*, (2012) yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan total fenol, semakin tinggi kandungan fenol dalam suatu bahan semakin tinggi pula aktivitasnya sebagai antioksidan.

Berdasarkan data yang diperoleh, perlakuan terbaik adalah perlakuan fermentasi yang memiliki nilai IC_{50} terendah dan nilai total fenol tertinggi. Nilai IC_{50} sampel hasil residu sebesar 116.0883 ppm, sedangkan nilai IC_{50} terendah terdapat pada sampel etil asetat sebesar 196.2551 ppm. Nilai total fenol tertinggi terdapat pada sampel hasil residu sebesar 39.875 mg GAE/g, sedangkan nilai total fenol terendah terdapat pada sampel etil asetat sebesar 3.75 mg GAE/g.

4.6 Uji GCMS

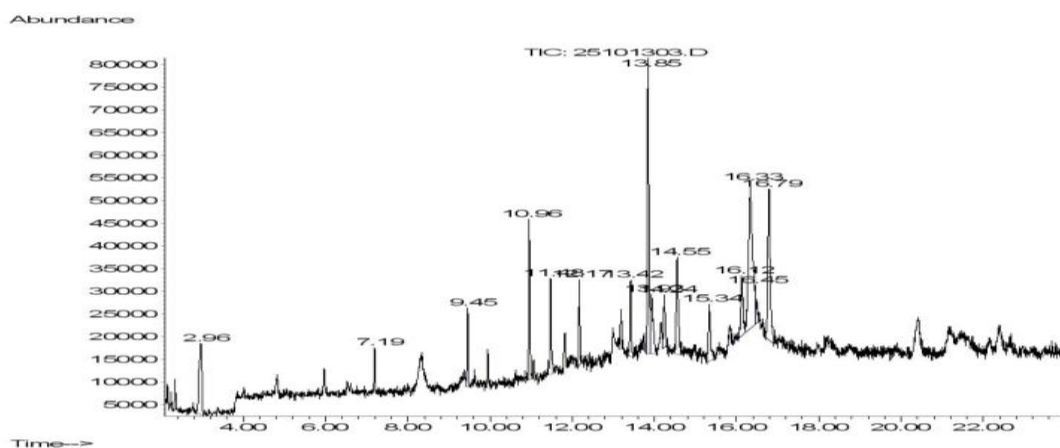
Identifikasi lanjut senyawa pada sampel dilakukan uji kromatografi gas-spektroskopis massa. Sampel yang diuji sebanyak tiga jenis yaitu sampel n-heksan, etil asetat dan residu. Dari masing-masing sampel diambil perlakuan terbaik dengan dasar nilai IC_{50} terendah dan total fenol tertinggi. Tipe GC yang digunakan adalah *Agilent* HP 6890 GC dengan metode oven. Suhu yang digunakan adalah $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan suhu maksimal sekitar $325\text{ }^{\circ}\text{C}$. Volume injeksi pada saat uji berlangsung sekitar 1 *microliters*. Kolom yang digunakan jenis kolom kapiler dengan aliran konstan serta tipe *Agilent* 19091S-433 bersuhu maksimal $325\text{ }^{\circ}\text{C}$. Spesifikasi dan keterangan GC-MS dapat dilihat pada Lampiran 5.

a) Heksan

Hasil identifikasi sampel n-heksana dengan kromatografi gas-spektroskopi massa disajikan pada Gambar 10. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan adanya 16 puncak dengan waktu retensi dan kelimpahan seperti pada Tabel 2. Untuk hasil GC-MS fraksi Heksana dapat dilihat pada Lampiran 13.

Senyawa yang diduga berpotensi sebagai antioksidan adalah 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene. Ditambahkan oleh Darius (2013), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dengan berat molekul 330 dan memiliki luas area sebesar 11,59 %. Senyawa 1,2-Benzenedicarboxylic acid atau sesuai dengan IUPAC name sering disebut dengan Phthalic Acid merupakan asam dikarboksilat aromatik. Phthalic Acid tidak berwarna dan berbetuk kristal padat yang larut dalam alkohol dan air. Asam dikarboksilat mempunyai ikatan hydrogen sesamanya dan dapat berikatan secara ikatan hydrogen dengan molekul air, serta mempunyai gugus hidroksil yang bersifat polar. 1,2-Benzenedicarboxylic acid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yang memiliki 6 gugus cincin benzen yang bersifat aromatis.

Senyawa 4-bromo-2-chloro- menurut Putra B et al, (2012) senyawa steroid kemungkinan bersifat antiradikal bebas karena senyawa tersebut mengandung gugus bromo dan ikatan rangkap.



Gambar 10. Hasil kromatogram gas sampel n-Heksan

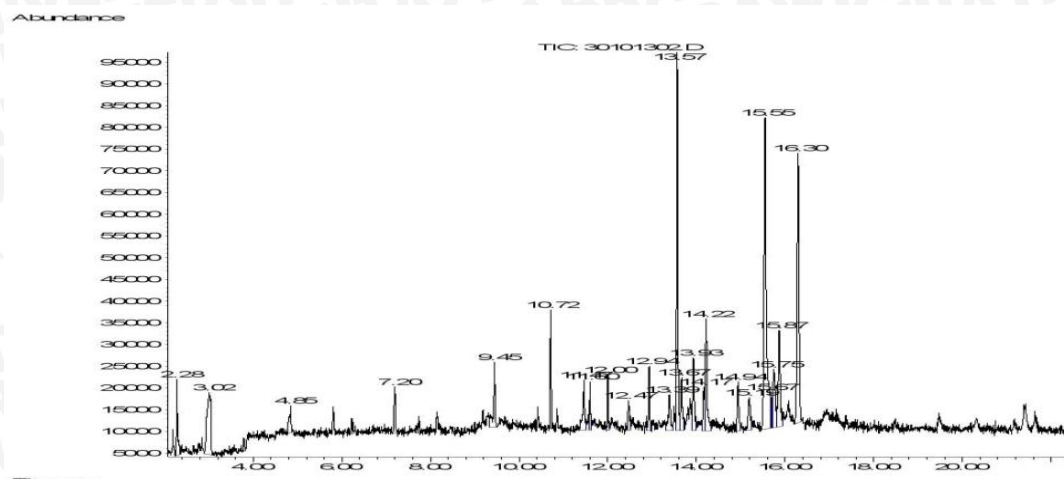
Tabel 2. Data waktu retensi dan kelimpahan (%) Kromatografi Gas Spektroskopi Massa serta senyawa yang diduga sebagai antioksidan dari sampel n-Heksana

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Senyawa yang diduga
1.	2.97	6.56	Cyclotetrasiloxane, octamethyl-
2.	7.19	1.47	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-, hexamethyl-
3.	9.45	2.55	Cycloheptasiloxane, tetradecame, 3-Isopropoxy- ^{1,1,1,5,5,5} -hexame, Hexasiloxane, ^{1,1,3,3,5,5,7,7,9}
4.	10.96	6.20	1,2-Benzenedicarboxylic acid, DIETHYL PHTALATE
5.	11.48	3.94	Indole-2-one, ² 3-dihydro-N-hyd, N-(Trifluoroacetyl)-O,O',O''-tr, Pyrazolo[³ 4-b]pyridin-3(2H)-on
6.	12.17	3.24	5-Acetamido-4,7-dioxo-4,7-dihyd, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
7.	13.42	3.54	Heptasiloxane, ^{1,1,3,3,5,5,7,7,9} Silicic acid, diethyl bis, ¹3-Bis(trimethylsilyl)benzene
8	13.85	15.43	NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH, 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet
9	13.93	4.48	Silane, 1,4-phenylenebis(trimet, ¹3-Bis(trimethylsilyl)benzene , Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
10	14.24	2.63	^{3,3,7,11} 1-Tetramethyltricyclo, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-, Silicic acid, diethyl bis(trime
11	14.55	7.15	Z-6-Pentadecen-1-ol acetate, Benzenamine, 4-bromo-2-chloro- , 1-Methoxy-3-(2-hydroxyethyl)nonane
12	15.33	4.37	Hexadecanoic acid, methyl ester
13	16.12	4.64	Heptasiloxane, ^{1,1,3,3,5,5,7,7,9} Octasiloxane, ^{1,1,3,3,5,5,7,7,9} 4-Hydroxyphenyl pyrrolidinyl
14	16.33	19.12	Cyclopentene-1-carboxylic acid, 1-(5'-Chloro-2'-methylaminobenz, 1,4-Naphthalenedione, 2-amino-3
15	16.45	2.25	Silane, 1,4-phenylenebis(trimet, ¹3-Bis(trimethylsilyl)benzene , Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
16	16.79	12.44	Hexadecanoic acid, ethyl ester

b) Etil asetat

Hasil identifikasi sampel n-heksana dengan kromatografi gas-spektroskopi massa disajikan pada Gambar 11. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan adanya 24 puncak dengan waktu retensi dan kelimpahan seperti pada Tabel 3. Untuk hasil GC-MS fraksi Heksana dapat dilihat pada Lampiran 14.

Senyawa yang diduga berpotensi sebagai antioksidan adalah 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene. Ditambahkan oleh Darius (2013), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dengan berat molekul 330 dan memiliki luas area sebesar 11,59 %. Senyawa 1,2-Benzenedicarboxylic acid atau sesuai dengan IUPAC name sering disebut dengan Phthalic Acid merupakan asam dikarboksilat aromatik. Phthalic Acid tidak berwarna dan berbetuk kristal padat yang larut dalam alkohol dan air. Asam dikarboksilat mempunyai ikatan hydrogen sesamanya dan dapat berikatan secara ikatan hydrogen dengan molekul air, serta mempunyai gugus hidroksil yang bersifat polar. 1,2-Benzenedicarboxylic acid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yang memiliki 6 gugus cincin benzen yang bersifat aromatis.



Gambar 11. Hasil kromatogram gas sampel etil asetat



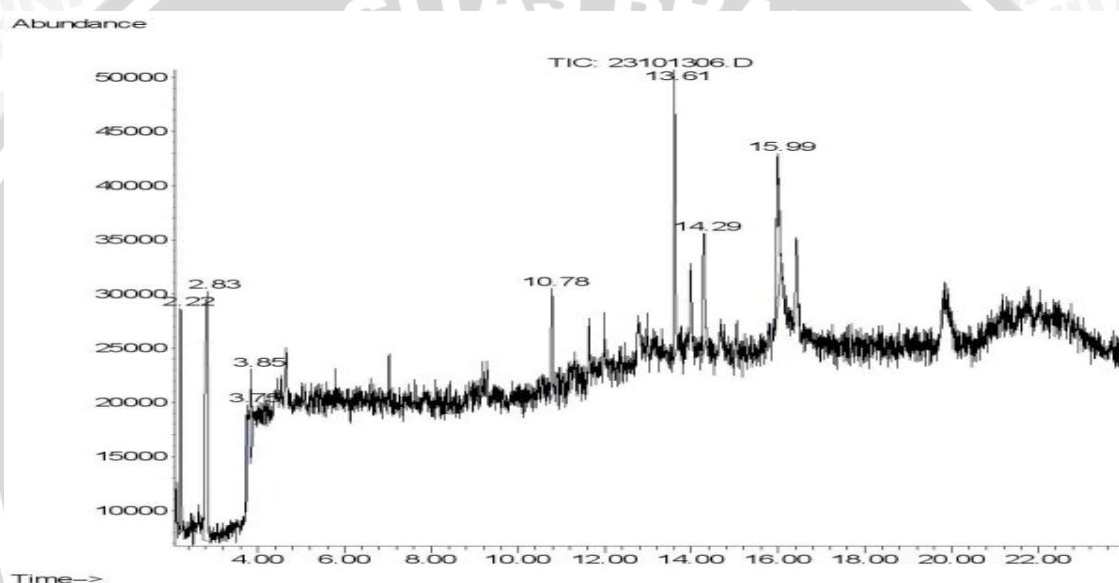
Tabel 3. Data waktu retensi dan kelimpahan (%) Kromatografi Gas Spektroskopi Massa serta senyawa yang diduga sebagai antioksidan dari sampel etil asetat

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Senyawa yang diduga
1	2.29	2.18	<i>Oxime-, methoxy-phenyl-, 4-Ethylbenzoic acid, cyclopentyl-, 2-Amino-5-methylbenzoic acid</i>
2	3.02	5.97	<i>Cyclotetrasiloxane, octamethyl-</i>
3	4.85	1.29	<i>Methyltris(trimethylsiloxy)silane, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-, 2-Ethylacridine</i>
4	7.19	1.68	<i>Tetrasiloxane, decamethyl-. Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-</i>
5	9.45	2.87	<i>Silicic acid, diethyl bis(trimethylsiloxy)silane, Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9-Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,</i>
6	10.72	3.03	1,2-Benzenedicarboxylic acid, 2-HYDROXYADAMANTANE-1-CARBONITRILE
7	11.47	2.37	<i>Silicic acid, diethyl bis(trimethylsiloxy)silane, Benz[b]-1,4-oxazepine-4(5H)-thione, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
8	11.60	1.49	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. 2,4-Cyclohexadiene-1-one, 3,5-bis(trimethylsilyloxy)benzene, Silicic acid, diethyl bis(trimethylsiloxy)silane</i>
9	12.01	1.44	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. Methyltris(trimethylsiloxy)silane. Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
10	12.48	1.09	1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene
11	12.94	2.24	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. Tetradecanoic acid, ethyl ester</i>
12	13.40	2.02	<i>Silane, 1,4-phenylenebis(trimethylsilyloxy)silane, Indole-2-one, 2,3-dihydro-N-hydroxyindole-2-carboxamide, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
13	13.57	12.87	NEOPHYTADIENE 2,6,10-TRIMETHYLBICYCLO[3.1.1]HEPTANE (-)-TRANS PINANE Bicyclo[3.1.1]heptane-2,6,10-trimethyl-
14	13.66	2.44	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
15	13.93	2.89	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. Indole-2-one, 2,3-dihydro-N-hydroxyindole-2-carboxamide</i>
16	14.17	1.56	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. Methyltris(trimethylsiloxy)silane</i>
17	14.22	5.68	<i>Silicic acid, diethyl bis(trimethylsiloxy)silane, Z-6-Pentadecen-1-ol acetate 11-Methyl-13-tetradecen-1-ol acetate</i>
18	14.94	2.11	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. 1H-Indole, 5-methyl-2-phenyl-, 4-Hydroxyphenyl pyrrolidinyl thione</i>
19	15.19	1.82	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. Benzo[h]quinoline, 2,4-dimethyl-</i>
20	15.55	18.67	<i>Hexadecanoic acid (CAS) Palm</i>
21	15.67	1.02	<i>Silane, 1,4-phenylenebis(trimethylsilyloxy)silane, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
22	15.75	3.75	<i>2,3,4-Trimethoxyphenylacetone nitrile. 2-Ethylacridin. Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
23	15.87	5.38	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-. Hexahydropyridine, 1-methyl-4-methyl-2,3,4-trimethoxyphenylacetone nitrile, Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
24	16.29	14.14	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>

c) Residu

Hasil identifikasi sampel n-heksana dengan kromatografi gas-spektroskopi massa disajikan pada Gambar 12. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan adanya 8 puncak dengan waktu retensi dan kelimpahan seperti pada Tabel 4. Untuk hasil GC-MS fraksi Heksana dapat dilihat pada Lampiran 15.

Senyawa yang diduga berpotensi sebagai antioksidan adalah *1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene*.



Gambar 12. Hasil kromatogram gas sampel residu

Tabel 4. Data waktu retensi dan kelimpahan (%) Kromatografi Gas Spektroskopi Massa serta senyawa yang diduga sebagai antioksidan dari sampel residu

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Senyawa yang diduga
1	2.22	8.26	<i>Oxime-, methoxy-phenyl- Benzoic acid, 2-amino-4-methyl- 2-Amino-6-methylbenzoic acid</i>
2	2.83	29.86	<i>Cyclotetrasiloxane, octamethyl- trans-4-(2-(5-Nitro-2-furyl)vin</i>
3	3.75	5.88	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
4	3.85	5.22	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
5	10.78	6.07	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene</i>
6	13.61	17.48	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 3,3,7,11-Tetramethyltricyclo[5</i>
7	14.29	10.36	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl-</i>
8	16.00	16.86	<i>Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3, Trimethyl[4-(^{1,1,3,3}-tetrameth</i>



5. KESIMPULAN DAN SARAN

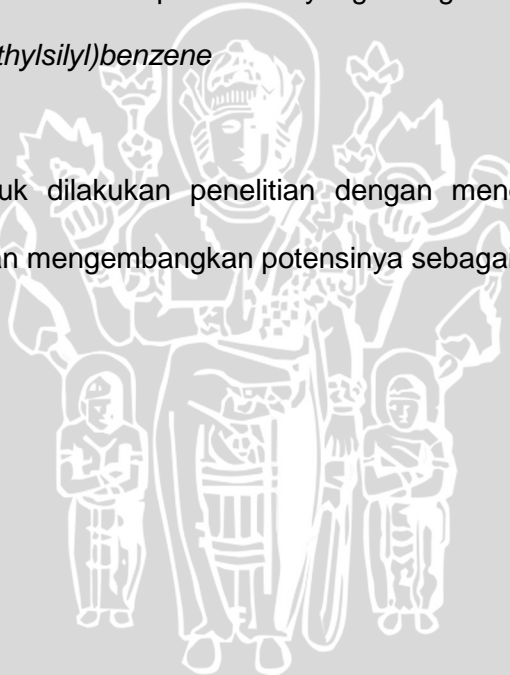
5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

- Senyawa yang diduga sebagai antioksidan sampel n-Heksan adalah adalah *1,2-Benzene dicarboxylic acid*, *^{1,3}-Bis (trimethylsilyl) benzene*, Sampel etil asetat *1,2-Benzene dicarboxylic acid*, *^{1,3}-Bis (trimethylsilyl) benzene*, residu *^{1,3}-Bis (trimethylsilyl) benzene*, *4-bromo-2-chloro-*. Sampel etil asetat yang diduga sebagai antioksidan adalah *1,2-Benzenedicarboxylic acid*, *^{1,3}-Bis(trimethylsilyl)benzene*. Sampel residu yang diduga sebagai antioksidan adalah *^{1,3}-Bis(trimethylsilyl)benzene*

5.2 Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian dengan menggunakan sampel jenis rumput laut lain dan mengembangkan potensinya sebagai antioksidan.



DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Arnata, I. W. 2009. **Pembuatan Bioetanol Dari Ubi Kayu Menggunakan Kultur Campuran *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*.** Prosiding Seminar Nasional FTP UNUD. ISBN :978-602-8659-02-4. Hal 242
- Atmadja, W.S dan Soelistijo. 1988. **Beberapa Aspek Vegetasi Dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik Di Pulau-Pulau Seribu.** Pusat penelitian dan pengembangan oseanologi- LIPI. Jakarta
- Adawyah, R. 2007. **Pengolahan dan Pengawetan Ikan.** Bumi Aksara. Jakarta.
- Enari, T.M. 1983. ***Microbial Cellulase In: W.M. Fogarty (Ed). Microbial Enzymes and Biotechnology.*** Applied Science Pub. New York.
- Frazier, W. C. and D. C. Weshoff. 1978. ***Food Microbiology.*** Mc Graw Hill Book.
- Fardiaz, S. 1989. **Mikrobiologi Pangan 1.** PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gordon, M.H 1990. **The mechanism of antioxidants action in vitro.** Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science, London
- Hanani, E., Abdul, M., Ryany, S. 2005. **Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu.** Departemen Farmasi, FMIPA-UI, Kampus UI Depok. Jakarta.
- Kadi, A. 2008. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia.** Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta.
- Molyneux, P. 2004. **The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity.** Songklanakarin J.Sci. Technol. 26 (2). Halaman 211-219.
- Nazir. 1988. **Metode Penelitian Ghalia Indonesia.** Jakarta.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Liberty. Yogyakarta.

Salamah, E.A.S.P. 2008. **Penapisan Awal Komponen Bioaktif dari Kijing Taiwan Sebagai Senyawa Antioksidan.** Jurnal Buletin Teknologi Hasil Perikanan. Vol XI No.2.

Sholihah, H. M. 2010. **Uji Afrodisiaka Fraksi Larut Air Ekstrak Etanol 70% Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry) terhadap Libido Tikus Jantan.** Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.

Sunarni, T. 2005. **Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae,** *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 2001, 53-61.

Suryaningrum, D., Wikanta, T. dan Kristiana, H. 2006. **Uji Aktivitas Antioksidan Dari Rumput Laut *Halymenia harveyana* Dan *Euचेuma cottonii*.** Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Vol.1 No. 1 Juni 2006.

Sastrosupadi. 2000. **Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian.** Kanisius. Yogyakarta.

Utami, T.S., R. Arbianti., H. Hermansyah., dan A. Reza. 2009. **Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpur (*Dillenia indica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA.** Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok. Jakarta.

Surachmad. 1994. **Dasar Metode Teknik Pengantar Penelitian Ilmiah.** Tarsito. Bandung.

Tjondronegoro PD, Natasaputra M, Kusumaningrat T, Gunawan AW, Jaelani M, Suwanto A. 1989. **Botani Umum II** . Bogor: Pusat Antar Universitas IlmuHayat, Institut Pertanian Bogor

Widyastuti, N. 2010. **Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid Pada Enam Tanaman.** IPB. Bogor.

Winarno, FG. 1990. **Kimia Pangan dan Gizi.** Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

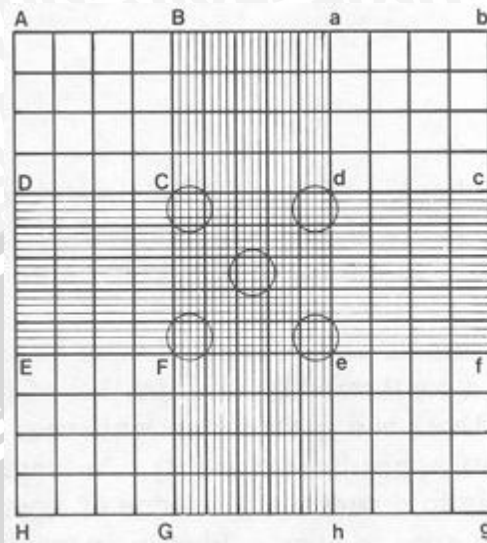
Zubaidah, E., dan Widya, D. 2006. **Petunjuk Praktikum mikrobiologi Pangan.** Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

Zubaidah, E., dan Widya, D. 2006. **Petunjuk Praktikum mikrobiologi Pangan**. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.



Lampiran 1. Perhitungan dan Data Hasil Koloni Jamur *Trichoderma viride*

1. Perhitungan koloni jamur *Trichoderma viride* dengan *Haemacytometer*



Kotak c, d, e, f, dan o ditengahnya yang dilingkari adalah kotak yang dihitung jumlah koloninya. Adapun cara kerjanya sebagai berikut :

- dibersihkan *Haemacytometer* dan gelas penutupnya dengan larutan detergen, bilas dengan air suling lalu alkohol dan kemudian kering anginkan
- suspensi *Trichoderma viride* dalam media PDB yang akan ditentukan ditentukan jumlah selnya digojog dengan vortex sehingga merata
- diambil suspensi tersebut dengan pipet tetes sebanyak kira-kira 1-2 tetes dan teteskan tepat pada petak-petaknya
- ditutup dengan gelas penutupnya dan taruh pada meja mikroskop
- mula-mula diamati dengan menggunakan perbesaran lemah untuk menemukan petak-petaknya. Kemudian tentukan dari petak mana penghitungan akan dimulai,
- kemudian perbesaran mikroskop diubah keperbesaran sedang, atur fokus sampai sel-sel *Trichoderma viride* nampak jelas
- dihitung jumlah sel dalam setiap petak kecil, sel-sel yang berada pada garis batas atas atau batas kanan dihitung sebagai milik petak yang bersangkutan, tapi bila berada pada batas bawah atau batas kiri tidak dihitung
- dijumlah sel rata-rata dari 5 petak untuk menghitung jumlah sel tiap ml bahan
- hitung jumlah sel yang ada sampai 6 hari dan jumlah sel rata-rata per hari dibuat sebagai kurva fase pertumbuhan jamur dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{\text{Jumlah sel rata - rata tiap petak} \times 1000 \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Luas petak (mm}^2\text{)} \times \text{kedalaman petak (mm}^2\text{)}}$$

2 . Hasil Perhitungan Koloni Jamur *Trichoderma viride*

Har i ke	jam ke-	rata-rata Σ sel spora	Σ sel	faktor pengenceran	Σ sel spora/ml	Σ sel (log sel/ml)
1	24	0.00	0	1.E+00	0.00E+00	0
	30	1.00	5	1.E+00	2.50E+05	5.40
	36	1.20	6	1.E+00	3.00E+05	5.48
	42	0.80	4	1.E+01	2.00E+06	6.30
2	48	1.60	8	1.E+01	4.00E+06	6.60
	54	22.40	112	1.E+01	5.60E+07	7.75
	60	6.40	32	1.E+02	1.60E+08	8.20
	66	13.80	69	1.E+02	3.45E+08	8.54
3	72	19.20	96	1.E+02	4.80E+08	8.68
	78	24.20	121	1.E+02	6.05E+08	8.78
	84	32.60	163	1.E+02	8.15E+08	8.91
	90	44.00	220	1.E+02	1.10E+09	9.04
4	96	5.00	25	1.E+03	1.25E+09	9.10
	102	5.20	26	1.E+03	1.30E+09	9.11
	108	5.40	27	1.E+03	1.35E+09	9.13
	114	5.60	28	1.E+03	1.40E+09	9.15
5	120	5.60	28	1.E+03	1.40E+09	9.15
	126	5.80	29	1.E+03	1.45E+09	9.16
	132	0.60	3	1.E+04	1.50E+09	9.18
	138	0.60	3	1.E+04	1.50E+09	9.18
6	144	0.60	3	1.E+04	1.50E+09	9.18

contoh : 1.E+03 sama dengan 10 pangkat 3

Lampiran 2. Kadar Air

SPSS

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Pelarut	1	Heksan	6
	2	Etil asetat	6
	3	Residu	6
Fermentasi	1	Kontrol	9
	2	Fermentasi	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Kadar Air

Pelarut	Fermentasi	Mean	Std. Deviation	N
Heksan	Kontrol	9.95944E1	.074693	3
	Fermentasi	9.98583E1	.029325	3
	Total	9.97263E1	.153195	6
Etil asetat	Kontrol	9.97499E1	.144437	3
	Fermentasi	9.98720E1	.023342	3
	Total	9.98109E1	.114172	6
Residu	Kontrol	9.87850E1	.247550	3
	Fermentasi	9.72033E1	2.164636	3
	Total	9.79942E1	1.627678	6
Total	Kontrol	9.93764E1	.472434	9
	Fermentasi	9.89778E1	1.715551	9
	Total	9.91771E1	1.237772	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kadar Air

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Corrected Model	16.496 ^a	5	3.299	4.146	.020	.633	20.729	.817
Intercept	177049.868	1	177049.868	2.225E5	.000	1.000	222481.417	1.000
Pelarut	12.616	2	6.308	7.927	.006	.569	15.854	.888
Fermentasi	.715	1	.715	.898	.362	.070	.898	.141
Pelarut * Fermentasi	3.165	2	1.582	1.988	.180	.249	3.977	.331
Error	9.550	12	.796					
Total	177075.913	18						
Corrected Total	26.045	17						

a. R Squared = .633 (Adjusted R Squared = .481)

b. Computed using alpha = .05

Pelarut

Multiple Comparisons

Kadar Air
Tukey HSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Heksan	Etil asetat	-.08460	.515039	.985	-1.45865	1.28945
	Residu	1.73215*	.515039	.014	.35810	3.10620
Etil asetat	Heksan	.08460	.515039	.985	-1.28945	1.45865
	Residu	1.81675*	.515039	.011	.44270	3.19080
Residu	Heksan	-1.73215*	.515039	.014	-3.10620	-.35810
	Etil asetat	-1.81675*	.515039	.011	-3.19080	-.44270

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .796.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Kadar Air

Tukey HSD

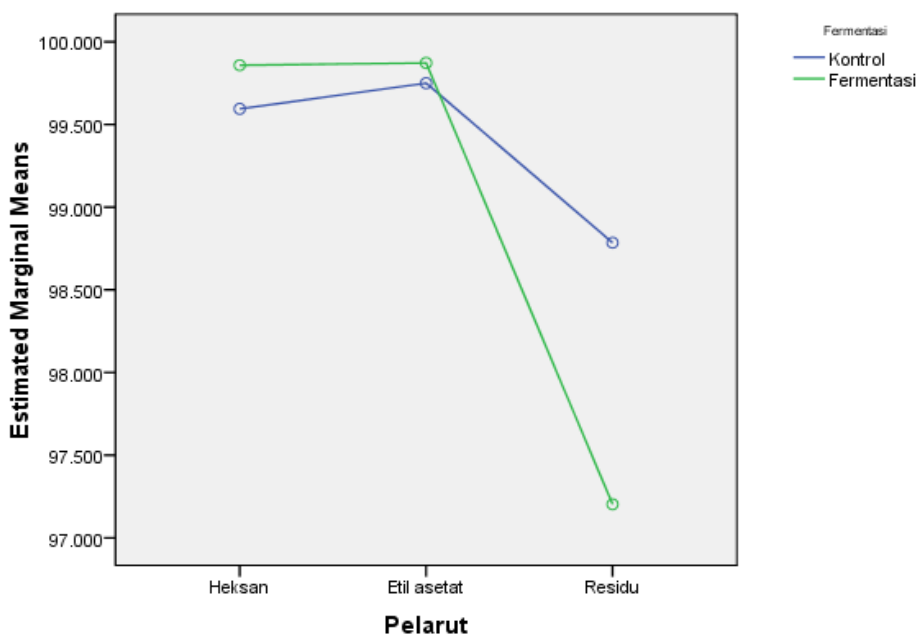
Pelarut	N	Subset	
		1	2
Residu	6	9.79942E1	
Heksan	6		9.97263E1
Etil asetat	6		9.98109E1
Sig.		1.000	.985

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .796.

Estimated Marginal Means of Kadar Air



Minitab

Multilevel Factorial Design

Factors: 2 Replicates: 3
Base runs: 6 Total runs: 18
Base blocks: 1 Total blocks: 3

Number of levels: 2, 3

Design Table

Run	Blk	A	B
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	2	1	1
8	2	1	2
9	2	1	3
10	2	2	1
11	2	2	2
12	2	2	3
13	3	1	1
14	3	1	2
15	3	1	3
16	3	2	1
17	3	2	2
18	3	2	3

General Linear Model: Kadar Air versus Blocks, Fermentasi, Pelarut

Factor	Type	Levels	Values
Blocks	fixed	3	1, 2, 3
Fermentasi	fixed	2	1, 2
Pelarut	fixed	3	3, 4, 5

Analysis of Variance for Kadar Air, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Blocks	2	1.6174	1.6174	0.8087	1.02	0.396
Fermentasi	1	0.7829	0.7829	0.7829	0.99	0.344
Pelarut	2	12.4081	12.4081	6.2041	7.82	0.009
Fermentasi*Pelarut	2	3.0810	3.0810	1.5405	1.94	0.194
Error	10	7.9374	7.9374	0.7937		
Total	17	25.8268				

S = 0.890918 R-Sq = 69.27% R-Sq(adj) = 47.75%

Unusual Observations for Kadar Air

Obs	Kadar Air	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	94.7089	96.7798	0.5939	-2.0709	-3.12 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Least Squares Means for Kadar Air

Fermentasi	Mean	SE Mean	
1	98.96	0.2970	
2	99.38	0.2970	
Pelarut			
3	97.99	0.3637	
4	99.73	0.3637	
5	99.78	0.3637	
Fermentasi*Pelarut			
1	3	97.20	0.5144
1	4	99.86	0.5144
1	5	99.82	0.5144
2	3	98.79	0.5144
2	4	99.59	0.5144
2	5	99.75	0.5144

Results for: Worksheet 2

One-way ANOVA: Kadar Air_1 versus Pelarut_1

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_1	2	13.88	6.94	4.44	0.066
Error	6	9.38	1.56		
Total	8	23.26			

S = 1.250 R-Sq = 59.67% R-Sq(adj) = 46.23%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	CI
3	3	97.20	2.16	(-----*-----)
4	3	99.86	0.03	(-----*-----)
5	3	99.82	0.06	(-----*-----)

96.0 97.6 99.2 100.8

Pooled StDev = 1.25

Grouping Information Using Tukey Method

Pelarut_1	N	Mean	Grouping
4	3	99.858	A
5	3	99.816	A
3	3	97.203	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

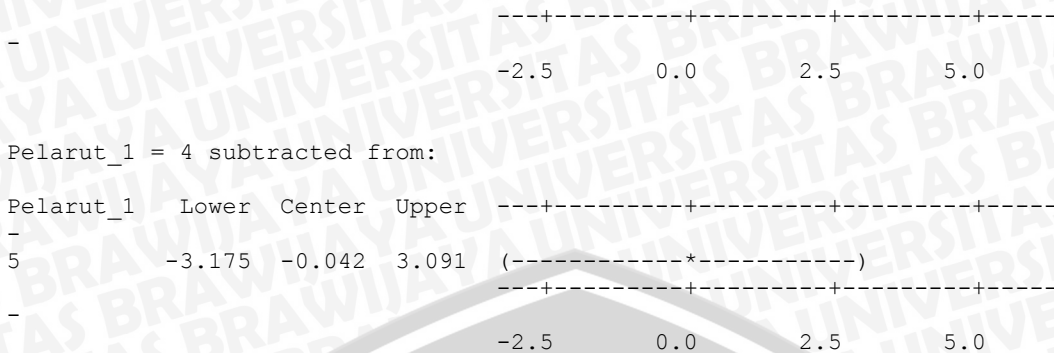
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_1

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_1 = 3 subtracted from:

Pelarut_1	Lower	Center	Upper	CI
4	-0.478	2.655	5.788	(-----*-----)
5	-0.520	2.613	5.746	(-----*-----)

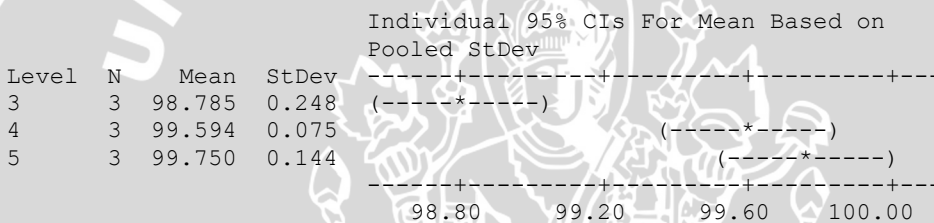




One-way ANOVA: Kadar Air_2 versus Pelarut_2

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_2	2	1.6101	0.8051	27.53	0.001
Error	6	0.1754	0.0292		
Total	8	1.7856			

S = 0.1710 R-Sq = 90.17% R-Sq(adj) = 86.90%



Pooled StDev = 0.171

Grouping Information Using Tukey Method

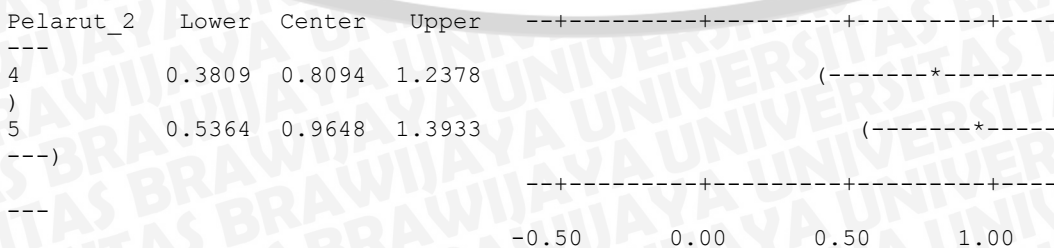
Pelarut_2	N	Mean	Grouping
5	3	99.7499	A
4	3	99.5944	A
3	3	98.7850	B

Means that do not share a letter are significantly different.

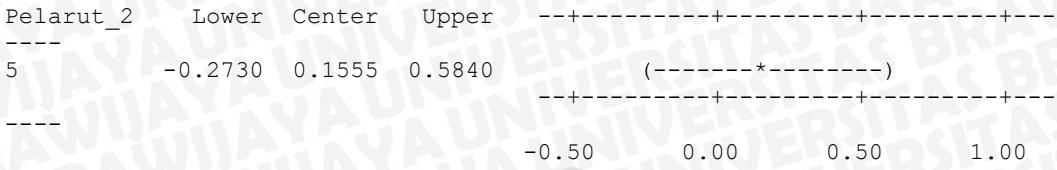
Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_2

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_2 = 3 subtracted from:



Pelarut_2 = 4 subtracted from:



Lampiran 3. Rendemen

SPSS

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Pelarut	1	Heksan	6
	2	Etil asetat	6
	3	Residu	6
Fermentasi	1	Kontrol	9
	2	Fermentasi	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Rendemen

Pelarut	Fermentasi	Mean	Std. Deviation	N
Heksan	Kontrol	.61067	.069154	3
	Fermentasi	1.04933	.536293	3
	Total	.83000	.417954	6
Etil asetat	Kontrol	1.04133	.102007	3
	Fermentasi	1.52667	.635498	3
	Total	1.28400	.486179	6
Residu	Kontrol	1.32600	.116940	3
	Fermentasi	2.02333	.052786	3
	Total	1.67467	.390470	6
Total	Kontrol	.99267	.323252	9
	Fermentasi	1.53311	.592844	9
	Total	1.26289	.540262	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Rendemen

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Corrected Model	3.516 ^a	5	.703	5.834	.006	.709	29.172	.935
Intercept	28.708	1	28.708	238.202	.000	.952	238.202	1.000
Pelarut	2.144	2	1.072	8.896	.004	.597	17.793	.921
Fermentasi	1.314	1	1.314	10.906	.006	.476	10.906	.858
Pelarut * Fermentasi	.057	2	.029	.237	.793	.038	.473	.079
Error	1.446	12	.121					
Total	33.670	18						
Corrected Total	4.962	17						

a. R Squared = .709 (Adjusted R Squared = .587)

b. Computed using alpha = .05



Pelarut

Multiple Comparisons

Rendemen

Tukey HSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Heksan	Etil asetat	-.45400	.200432	.100	-.98873	.08073
	Residu	-.84467*	.200432	.003	-1.37939	-.30994
Etil asetat	Heksan	.45400	.200432	.100	-.08073	.98873
	Residu	-.39067	.200432	.168	-.92539	.14406
Residu	Heksan	.84467*	.200432	.003	.30994	1.37939
	Etil asetat	.39067	.200432	.168	-.14406	.92539

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .121.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets



Rendemen

Tukey HSD

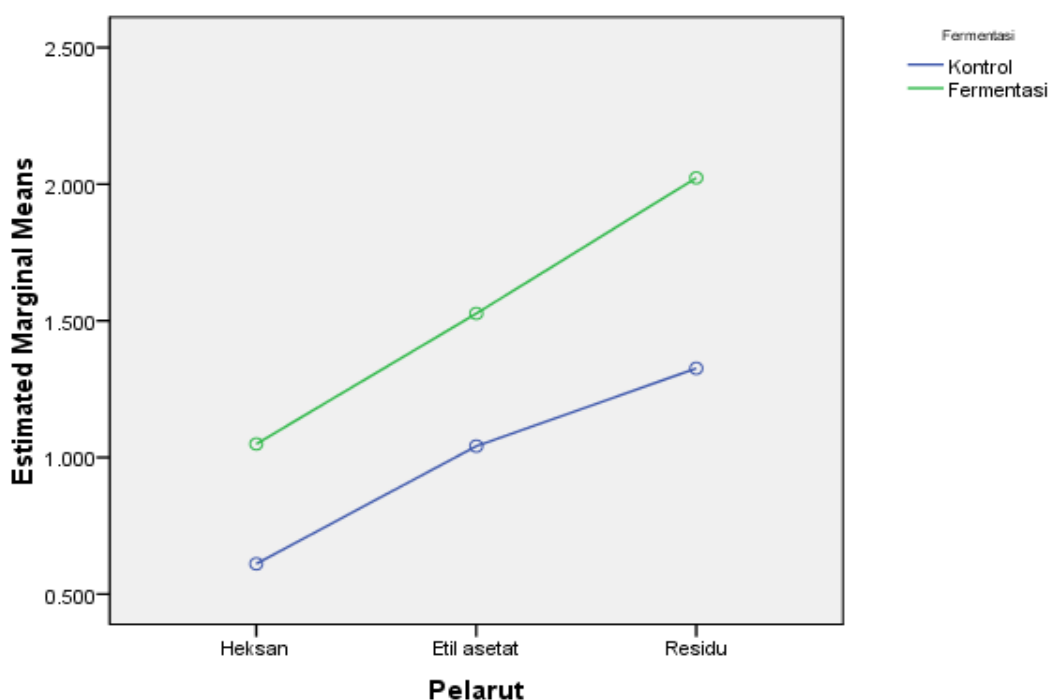
Pelarut	N	Subset	
		1	2
Heksan	6	.83000	
Etil asetat	6	1.28400	1.28400
Residu	6		1.67467
Sig.		.100	.168

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .121.

Estimated Marginal Means of Rendemen



Minitab

Multilevel Factorial Design

Factors: 2 Replicates: 3
 Base runs: 6 Total runs: 18
 Base blocks: 1 Total blocks: 3
 Number of levels: 2, 3



Design Table

Run	Blk	A	B
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	2	1	1
8	2	1	2
9	2	1	3
10	2	2	1
11	2	2	2
12	2	2	3
13	3	1	1
14	3	1	2
15	3	1	3
16	3	2	1
17	3	2	2
18	3	2	3

General Linear Model: Rendemen versus Blocks, Fermentasi, Pelarut

Factor	Type	Levels	Values
Blocks	fixed	3	1, 2, 3
Fermentasi	fixed	2	1, 2
Pelarut	fixed	3	3, 4, 5

Analysis of Variance for Rendemen, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Blocks	2	0.0002	0.0002	0.0001	0.00	0.999
Fermentasi	1	1.3245	1.3245	1.3245	9.18	0.013
Pelarut	2	2.1437	2.1437	1.0719	7.43	0.011
Fermentasi*Pelarut	2	0.0559	0.0559	0.0279	0.19	0.827
Error	10	1.4424	1.4424	0.1442		
Total	17	4.9667				

S = 0.379788 R-Sq = 70.96% R-Sq(adj) = 50.63%

Unusual Observations for Rendemen

Obs	Rendemen	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	0.94971	1.52971	0.25319	-0.58000	-2.05 R
15	2.20808	1.53232	0.25319	0.67576	2.39 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Least Squares Means for Rendemen

	Mean	SE Mean
Fermentasi		
1	1.5352	0.1266
2	0.9927	0.1266
Pelarut		
3	1.6744	0.1550
4	0.8300	0.1550
5	1.2874	0.1550



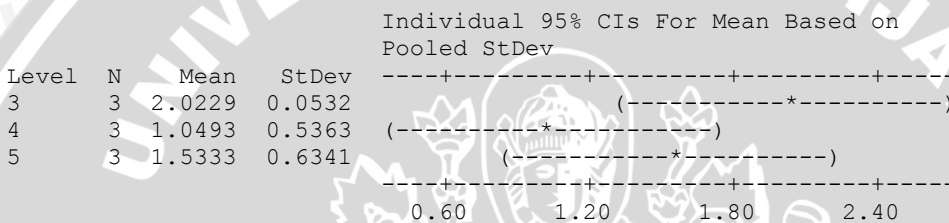
Fermentasi*Pelarut			
1	3	2.0229	0.2193
1	4	1.0493	0.2193
1	5	1.5333	0.2193
2	3	1.3259	0.2193
2	4	0.6107	0.2193
2	5	1.0414	0.2193

Results for: Worksheet 2

One-way ANOVA: Rendemen_1 versus Pelarut_1

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_1	2	1.422	0.711	3.08	0.120
Error	6	1.385	0.231		
Total	8	2.807			

S = 0.4805 R-Sq = 50.65% R-Sq(adj) = 34.21%



Pooled StDev = 0.4805

Grouping Information Using Tukey Method

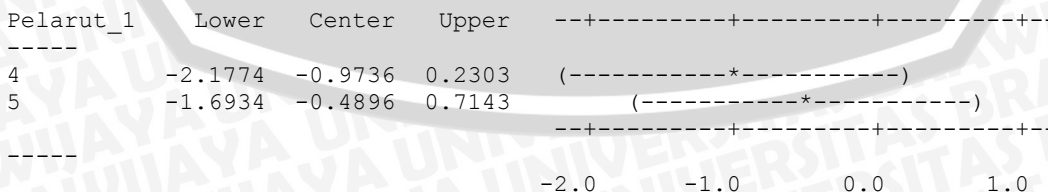
Pelarut_1	N	Mean	Grouping
3	3	2.0229	A
5	3	1.5333	A
4	3	1.0493	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_1

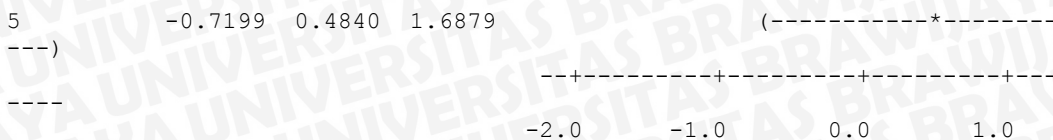
Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_1 = 3 subtracted from:



Pelarut_1 = 4 subtracted from:

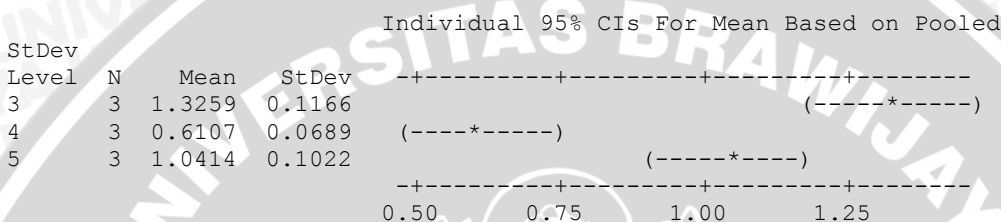




One-way ANOVA: Rendemen_2 versus Pelarut_2

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_2	2	0.77783	0.38891	40.52	0.000
Error	6	0.05758	0.00960		
Total	8	0.83541			

S = 0.09797 R-Sq = 93.11% R-Sq(adj) = 90.81%



Pooled StDev = 0.0980

Grouping Information Using Tukey Method

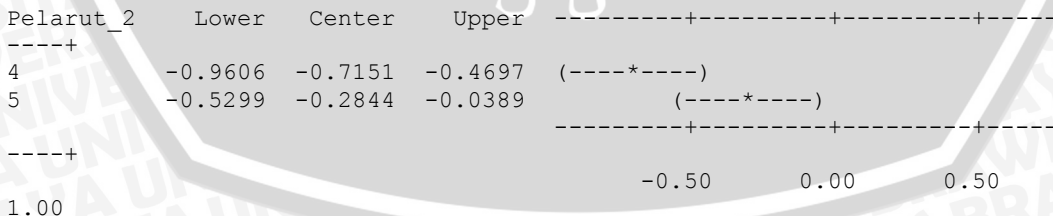
Pelarut_2	N	Mean	Grouping
3	3	1.3259	A
5	3	1.0414	B
4	3	0.6107	C

Means that do not share a letter are significantly different.

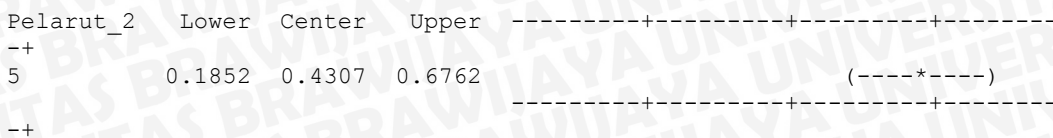
Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_2

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_2 = 3 subtracted from:



Pelarut_2 = 4 subtracted from:



1.00

-0.50

0.00

0.50



Lampiran 4. IC₅₀

SPSS

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Pelarut	1	Heksan	6
	2	etil asetat	6
	3	residu	6
Fermentasi	1	kontrol	9
	2	fermentasi	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Inhibitor Concentration 50

Pelarut	Fermentasi	Mean	Std. Deviation	N
Heksan	kontrol	1.34802E2	3.166137	3
	fermentasi	1.72020E2	2.746259	3
	Total	1.53411E2	20.556815	6
etil asetat	kontrol	1.87947E2	7.275081	3
	fermentasi	1.51311E2	2.108358	3
	Total	1.69629E2	20.630671	6
residu	kontrol	1.32891E2	7.674334	3
	fermentasi	1.28357E2	11.856359	3
	Total	1.30624E2	9.271117	6
Total	kontrol	1.51880E2	27.620310	9
	fermentasi	1.50563E2	19.897371	9
	Total	1.51221E2	23.361740	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Inhibitor

Concentration 50

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Corrected Model	8729.292 ^a	5	1745.858	38.174	.000	.941	190.869	1.000
Intercept	411621.536	1	411621.536	9.000E3	.000	.999	9000.241	1.000
Pelarut	4607.301	2	2303.651	50.370	.000	.894	100.740	1.000
Fermentasi	7.810	1	7.810	.171	.687	.014	.171	.067
Pelarut * Fermentasi	4114.180	2	2057.090	44.979	.000	.882	89.958	1.000
Error	548.814	12	45.734					
Total	420899.641	18						
Corrected Total	9278.106	17						

a. R Squared = .941 (Adjusted R Squared = .916)

b. Computed using alpha = .05

Pelarut

Multiple Comparisons

Inhibitor Concentration 50

Tukey HSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Heksan	etil asetat	-16.21847*	3.904463	.004	-26.63504	-5.80189
	residu	22.78650*	3.904463	.000	12.36992	33.20308
etil asetat	Heksan	16.21847*	3.904463	.004	5.80189	26.63504
	residu	39.00497*	3.904463	.000	28.58839	49.42154
residu	Heksan	-22.78650*	3.904463	.000	-33.20308	-12.36992
	etil asetat	-39.00497*	3.904463	.000	-49.42154	-28.58839

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 45.734.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Inhibitor Concentration 50

Tukey HSD

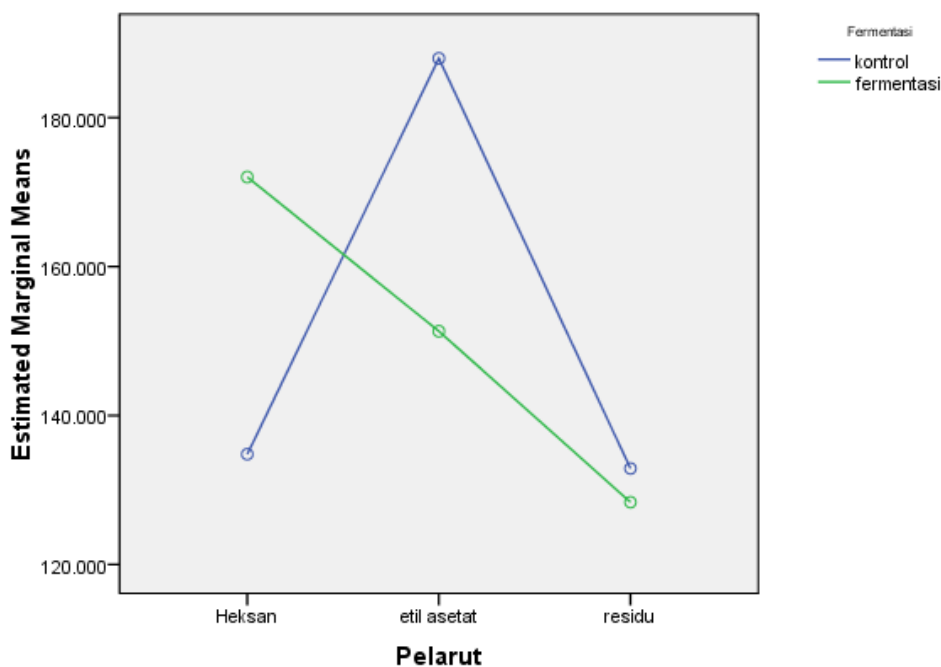
Pelarut	N	Subset		
		1	2	3
residu	6	1.30624E2		
Heksan	6		1.53411E2	
etil asetat	6			1.69629E2
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 45.734.

Estimated Marginal Means of Inhibitor Concentration 50



☐ Minitab

Multilevel Factorial Design

Factors: 2 Replicates: 3
Base runs: 6 Total runs: 18
Base blocks: 1 Total blocks: 3

Number of levels: 2, 3

Design Table

Run	Blk	A	B
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	2	1	1
8	2	1	2
9	2	1	3
10	2	2	1
11	2	2	2
12	2	2	3
13	3	1	1
14	3	1	2
15	3	1	3
16	3	2	1
17	3	2	2
18	3	2	3

General Linear Model: IC50 versus Blocks, Fermentasi, Pelarut

Factor	Type	Levels	Values
Blocks	fixed	3	1, 2, 3
Fermentasi	fixed	2	1, 2
Pelarut	fixed	3	3, 4, 5

Analysis of Variance for IC50, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Blocks	2	241.6	241.6	120.8	3.93	0.055
Fermentasi	1	7.8	7.8	7.8	0.25	0.625
Pelarut	2	4607.3	4607.3	2303.7	74.97	0.000
Fermentasi*Pelarut	2	4114.2	4114.2	2057.1	66.95	0.000
Error	10	307.3	307.3	30.7		
Total	17	9278.1				

S = 5.54313 R-Sq = 96.69% R-Sq(adj) = 94.37%

Unusual Observations for IC50

Obs	IC50	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
7	139.753	129.410	3.695	10.343	2.50 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Least Squares Means for IC50

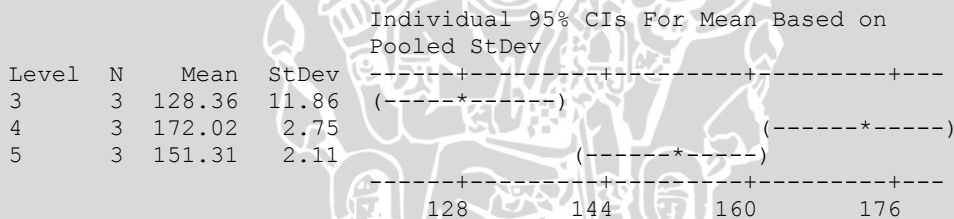
Fermentasi		Mean	SE Mean
1		150.6	1.848
2		151.9	1.848
Pelarut			
3		130.6	2.263
4		153.4	2.263
5		169.6	2.263
Fermentasi*Pelarut			
1	3	128.4	3.200
1	4	172.0	3.200
1	5	151.3	3.200
2	3	132.9	3.200
2	4	134.8	3.200
2	5	187.9	3.200

Results for: Worksheet 2

One-way ANOVA: IC50_1 versus Pelarut_1

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_1	2	2862.1	1431.1	28.14	0.001
Error	6	305.1	50.9		
Total	8	3167.2			

S = 7.131 R-Sq = 90.37% R-Sq(adj) = 87.16%



Pooled StDev = 7.13

Grouping Information Using Tukey Method

Pelarut_1	N	Mean	Grouping
4	3	172.020	A
5	3	151.311	B
3	3	128.357	C

Means that do not share a letter are significantly different.

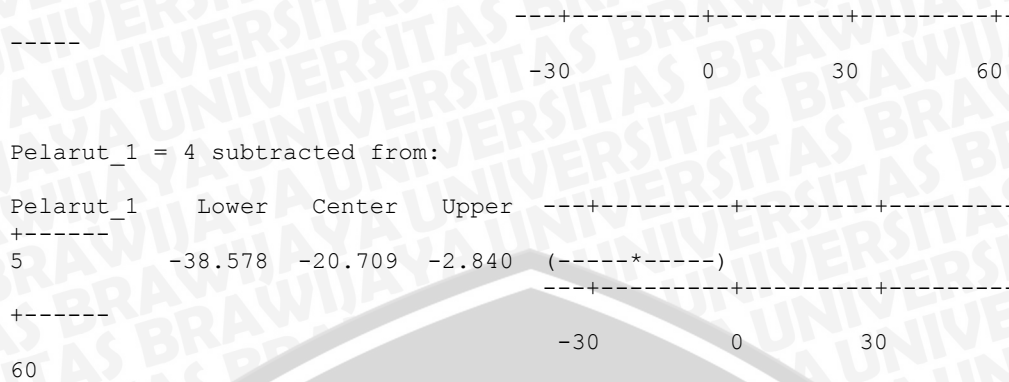
Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_1

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_1 = 3 subtracted from:

Pelarut_1	Lower	Center	Upper
4	25.794	43.662	61.531
5	5.085	22.953	40.822

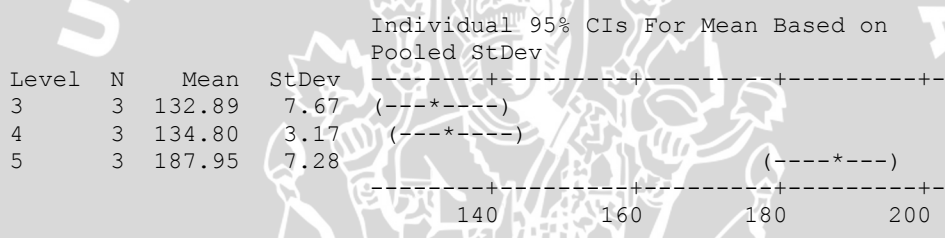




One-way ANOVA: IC50_2 versus Pelarut_2

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_2	2	5859.4	2929.7	72.13	0.000
Error	6	243.7	40.6		
Total	8	6103.1			

S = 6.373 R-Sq = 96.01% R-Sq(adj) = 94.68%



Pooled StDev = 6.37

Grouping Information Using Tukey Method

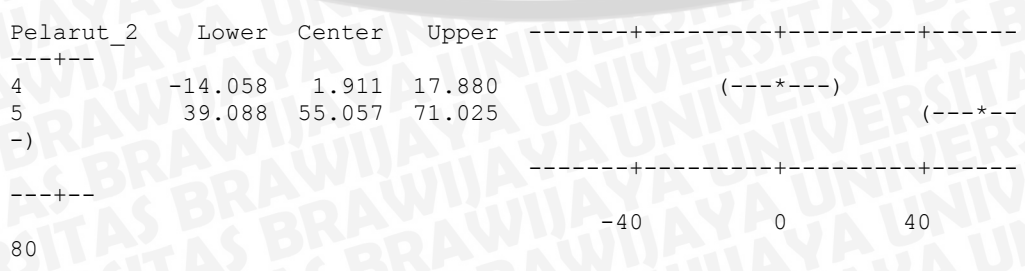
Pelarut_2	N	Mean	Grouping
5	3	187.947	A
4	3	134.802	B
3	3	132.891	B

Means that do not share a letter are significantly different.

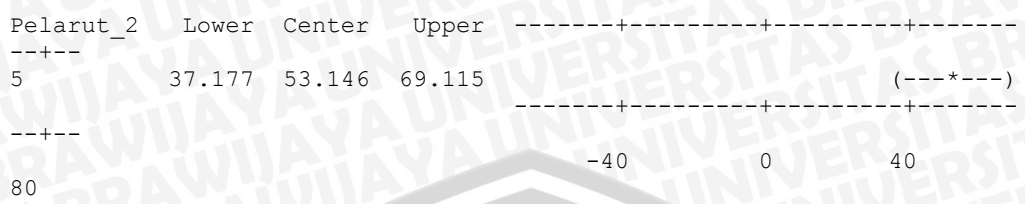
Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_2

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_2 = 3 subtracted from:



Pelarut_2 = 4 subtracted from:



Lampiran 5. Total Penol

SPSS

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Pelarut	1	Heksan	6
	2	Etil asetat	6
	3	Residu	6
Fermentasi	1	Kontrol	9
	2	Fermentasi	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Total Penol

Pelarut	Fermentasi	Mean	Std. Deviation	N
Heksan	Kontrol	2.03333E1	.563656	3
	Fermentasi	5.66667	.260208	3
	Total	1.30000E1	8.042854	6
Etil asetat	Kontrol	4.54167	.886825	3
	Fermentasi	1.03000E1	3.717106	3
	Total	7.42083	3.973519	6
Residu	Kontrol	1.46667E1	1.018066	3
	Fermentasi	2.77083E1	10.610529	3
	Total	2.11875E1	9.822089	6
Total	Kontrol	1.31806E1	6.966749	9
	Fermentasi	1.45583E1	11.528707	9
	Total	1.38694E1	9.267640	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total Penol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Corrected Model	1202.899 ^a	5	240.580	11.224	.000	.824	56.119	.999
Intercept	3462.507	1	3462.507	161.537	.000	.931	161.537	1.000
Pelarut	575.367	2	287.683	13.421	.001	.691	26.843	.987
Fermentasi	8.542	1	8.542	.399	.540	.032	.399	.090
Pelarut * Fermentasi	618.990	2	309.495	14.439	.001	.706	28.878	.991
Error	257.217	12	21.435					
Total	4922.622	18						
Corrected Total	1460.116	17						

a. R Squared = .824 (Adjusted R Squared = .750)

b. Computed using alpha = .05

Pelarut

Multiple Comparisons

Total Penol

Tukey HSD

(I) Pelarut	(J) Pelarut	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Heksan	Etil asetat	5.57917	2.672998	.134	-1.55203	12.71036
	Residu	-8.18750*	2.672998	.025	-15.31869	-1.05631
Etil asetat	Heksan	-5.57917	2.672998	.134	-12.71036	1.55203
	Residu	-13.76667*	2.672998	.001	-20.89786	-6.63547
Residu	Heksan	8.18750*	2.672998	.025	1.05631	15.31869
	Etil asetat	13.76667*	2.672998	.001	6.63547	20.89786

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 21.435.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets



Total Penol

Tukey HSD

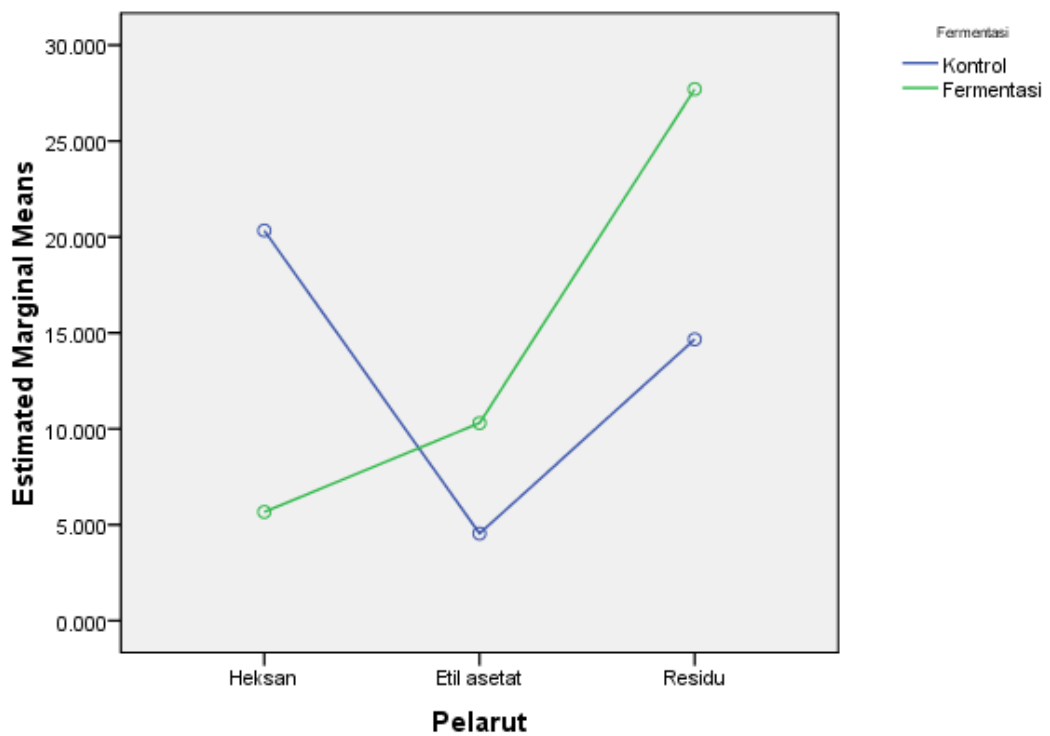
Pelarut	N	Subset	
		1	2
Etil asetat	6	7.42083	
Heksan	6	1.30000E1	
Residu	6		2.11875E1
Sig.		.134	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 21.435.

Estimated Marginal Means of Total Penol



Minitab

Multilevel Factorial Design

Factors: 2 Replicates: 3
 Base runs: 6 Total runs: 18



Base blocks: 1 Total blocks: 3

Number of levels: 2, 3

Design Table

Run	Blk	A	B
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	2	1	1
8	2	1	2
9	2	1	3
10	2	2	1
11	2	2	2
12	2	2	3
13	3	1	1
14	3	1	2
15	3	1	3
16	3	2	1
17	3	2	2
18	3	2	3

General Linear Model: TPC versus Blocks, Fermentasi, Pelarut

Factor	Type	Levels	Values
Blocks	fixed	3	1, 2, 3
Fermentasi	fixed	2	1, 2
Pelarut	fixed	3	3, 4, 5

Analysis of Variance for TPC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Blocks	2	72.59	72.59	36.30	1.97	0.191
Fermentasi	1	8.54	8.54	8.54	0.46	0.512
Pelarut	2	575.37	575.37	287.68	15.58	0.001
Fermentasi*Pelarut	2	618.99	618.99	309.49	16.76	0.001
Error	10	184.62	184.62	18.46		
Total	17	1460.12				

S = 4.29678 R-Sq = 87.36% R-Sq(adj) = 78.50%

Unusual Observations for TPC

Obs	TPC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	39.8750	30.5472	2.8645	9.3278	2.91 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Results for: Worksheet 2

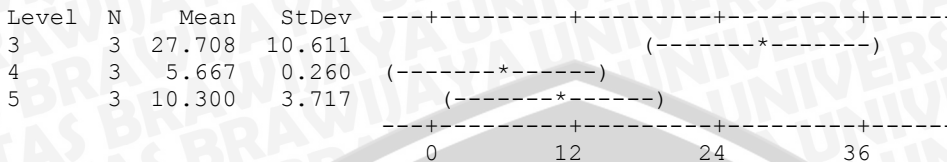
One-way ANOVA: TPC_1 versus Pelarut_1

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_1	2	810.4	405.2	9.61	0.013
Error	6	252.9	42.2		

Total 8 1063.3

S = 6.493 R-Sq = 76.21% R-Sq(adj) = 68.28%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev



Pooled StDev = 6.493

Grouping Information Using Tukey Method

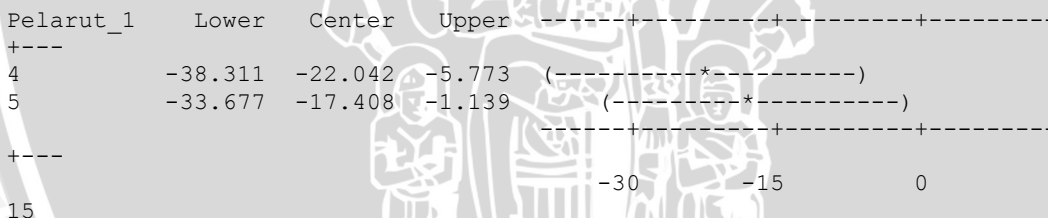
Pelarut_1	N	Mean	Grouping
3	3	27.708	A
5	3	10.300	B
4	3	5.667	B

Means that do not share a letter are significantly different.

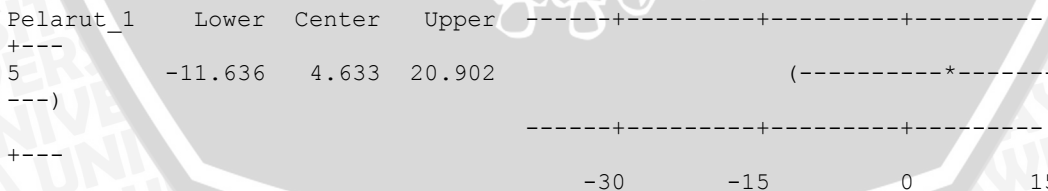
Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_1

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_1 = 3 subtracted from:



Pelarut_1 = 4 subtracted from:



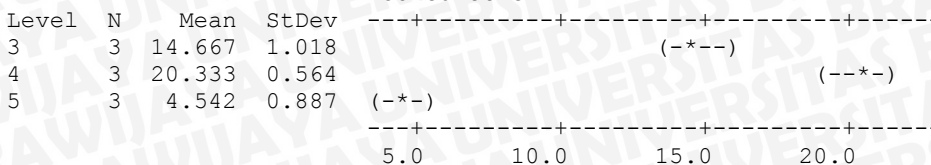
One-way ANOVA: TPC_2 versus Pelarut_2

Source	DF	SS	MS	F	P
Pelarut_2	2	384.003	192.002	269.08	0.000
Error	6	4.281	0.714		
Total	8	388.285			

S = 0.8447 R-Sq = 98.90% R-Sq(adj) = 98.53%



Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev



Pooled StDev = 0.845

Grouping Information Using Tukey Method

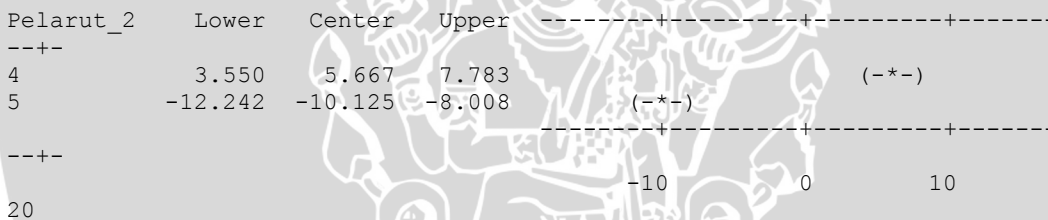
Pelarut_2	N	Mean	Grouping
4	3	20.333	A
3	3	14.667	B
5	3	4.542	C

Means that do not share a letter are significantly different.

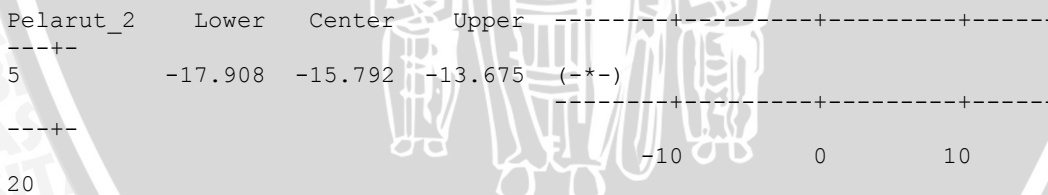
Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Pelarut_2

Individual confidence level = 97.80%

Pelarut_2 = 3 subtracted from:



Pelarut_2 = 4 subtracted from:



SURAT PENGANTAR

No. /IT2.7.1/TU.00.09/2013

Yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa pengujian contoh telah dilakukan oleh Laboratorium Energi – LPPM ITS dengan rincian sebagai berikut:

1. Nama Pelanggan : Devita Anggiyani
2. Alamat Pelanggan : Universitas Brawijaya Malang
3. Kegiatan Pengujian :
 - a. Contoh diterima tanggal : 21 Okt 2013
 - b. Contoh diuji tanggal : 25 Okt 2013
 - c. Contoh selesai diuji tanggal : 06 Nov 2013
 - d. Jumlah dan jenis yang diuji : 1 (satu) / GCMS
 - e. Standar Metode yang digunakan : Terlampir
 - f. Laporan Hasil Pengujian : Terlampir

Demikian surat ini, atas perhatiannya kami sampaikan terima kasih.

Sekretaris LPPM

Prof. Ir. Gamantyo Hendratoro, M.Eng, P.hD
NIP. 19701111 1993 031 002

Surabaya,

Kepala Laboratorium Energi

Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Nama Pemilik : Devita Anggiyani

Alamat Pemilik : Universitas Brawijaya Malang

Nama Contoh : **Ekstrak Sargassum S1 (n-Heksan)** Tanggal Terima : 21 Okt 2013

Bentuk : ~~Padat~~/Cair/Gas Tanggal Pengujian : 25 Okt 2013

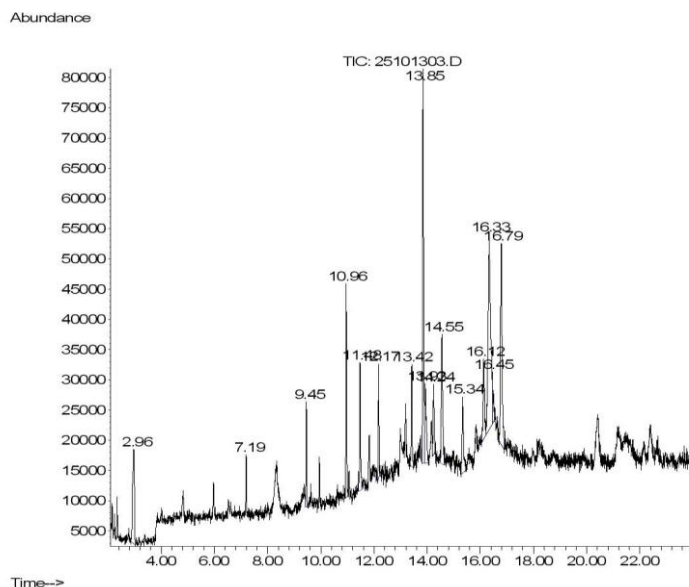
Deskripsi Contoh : Volume : - Tanggal Selesai Pengujian : 06 Nov 2013

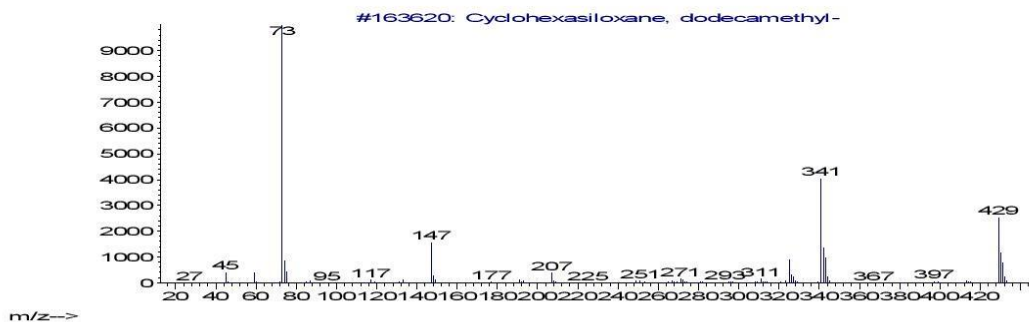
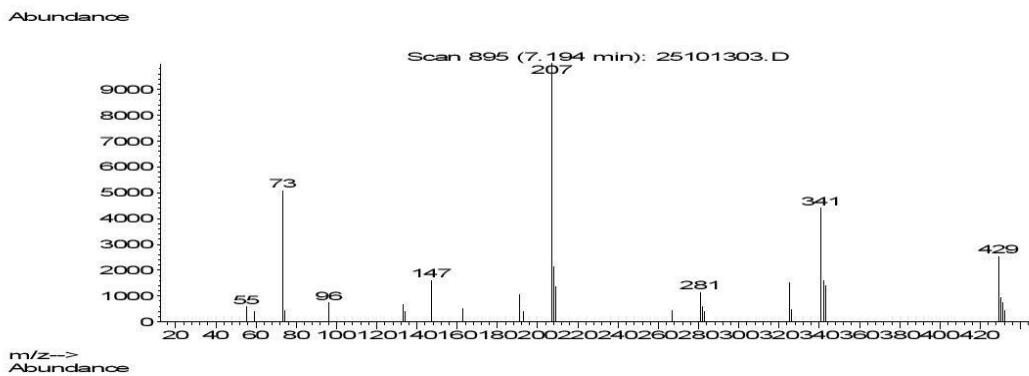
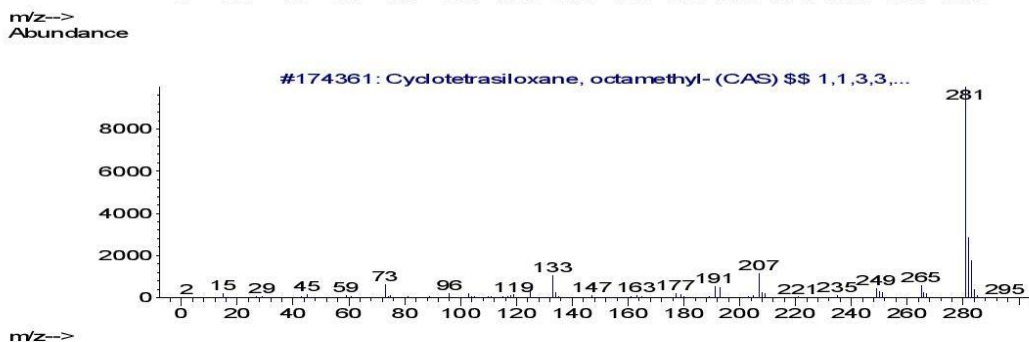
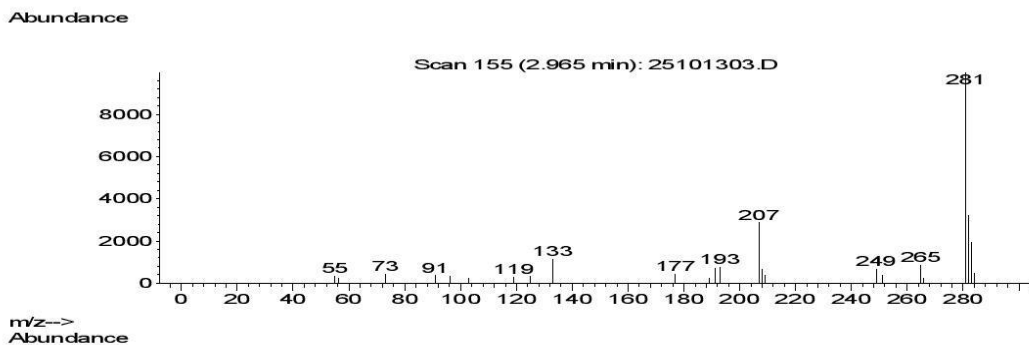
Kemasan : Botol

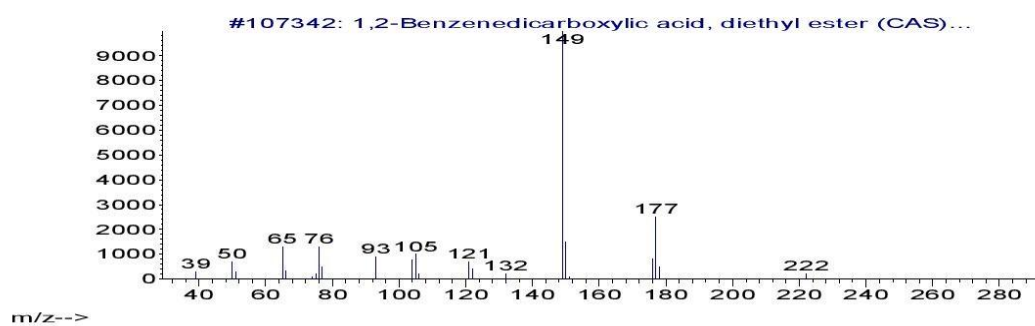
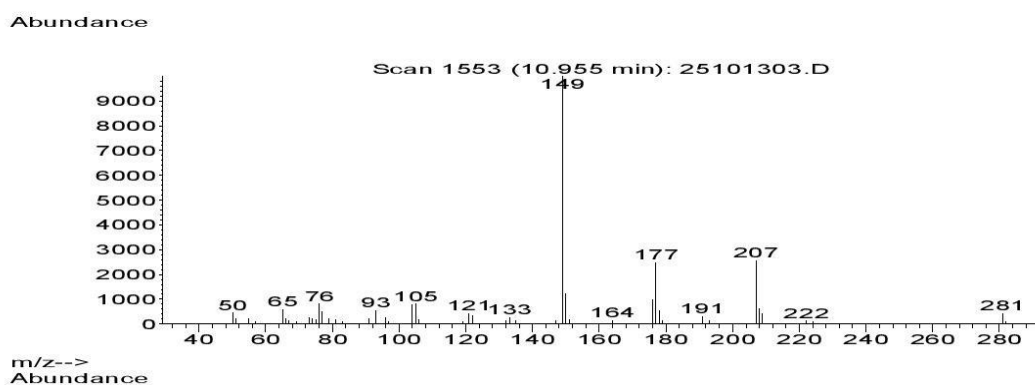
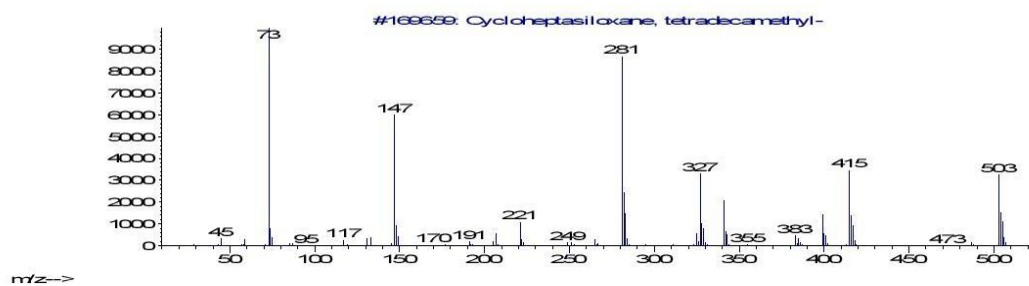
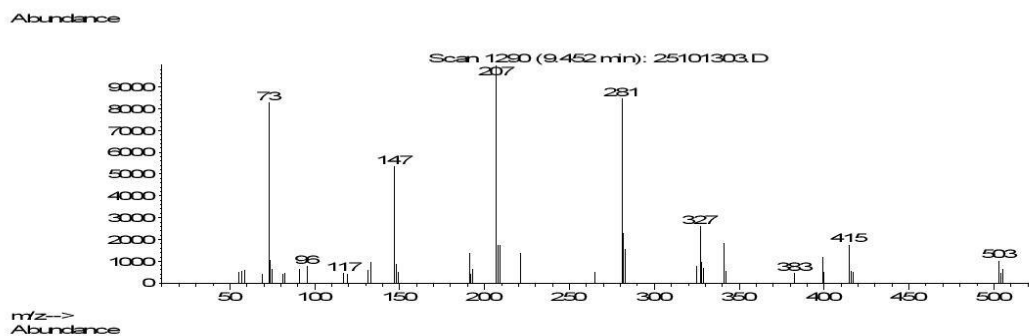
Kode Contoh : **EI-0807** Jumlah Contoh : 1 (satu)

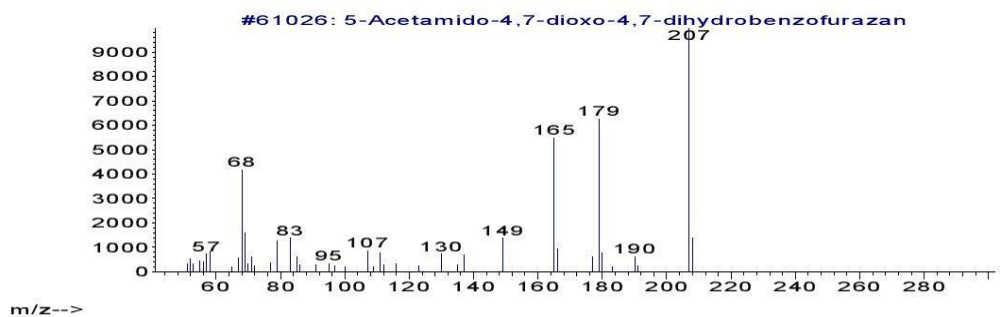
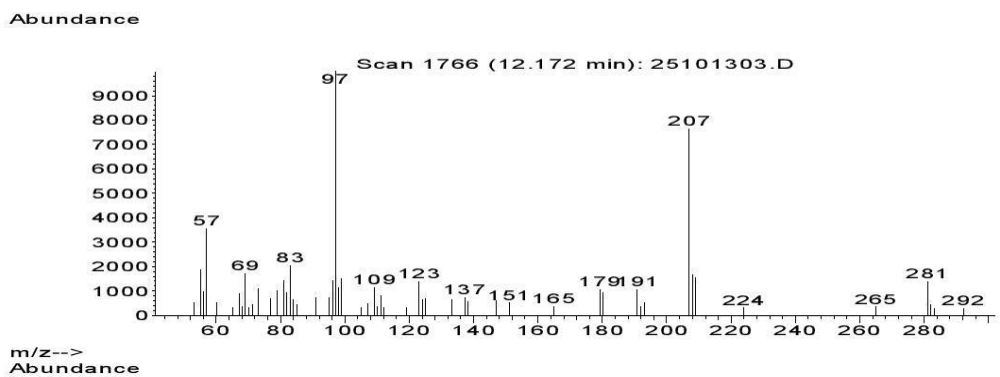
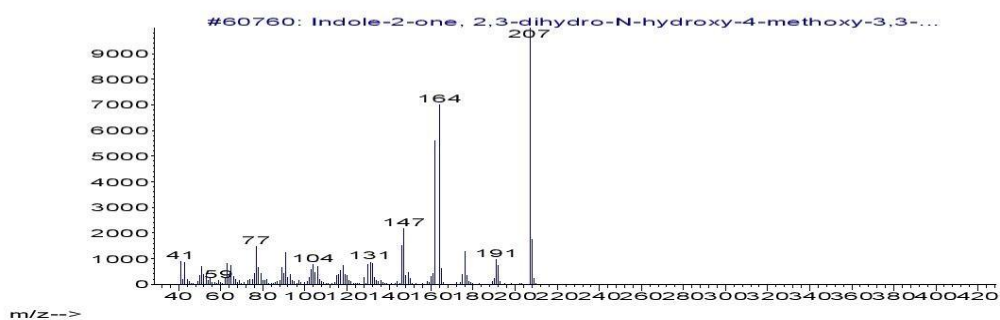
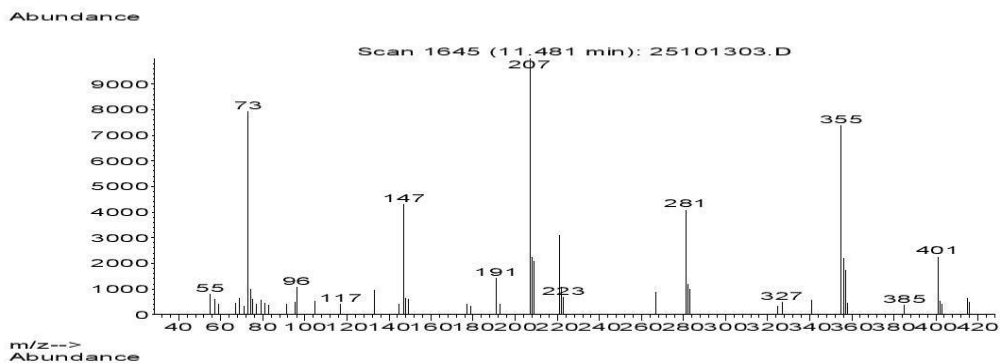
Menyatakan bahwa contoh tersebut di atas telah diuji di Laboratorium Energi – LPPM ITS.
 Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh yang diuji.

Hasil Pengujian

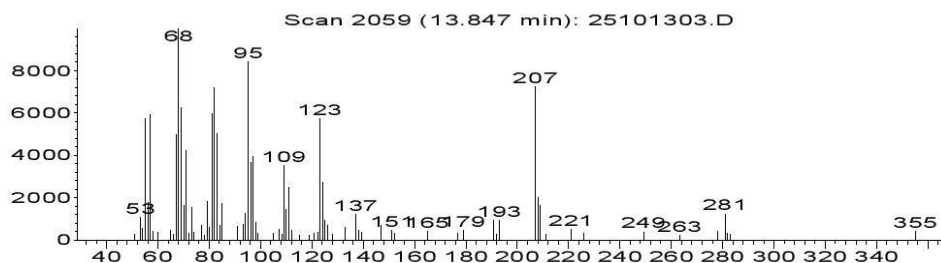




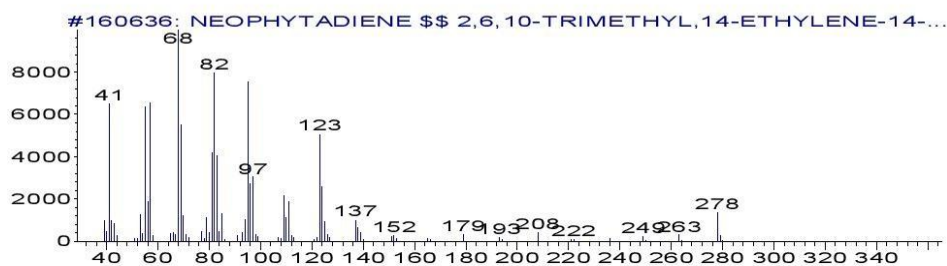




Abundance

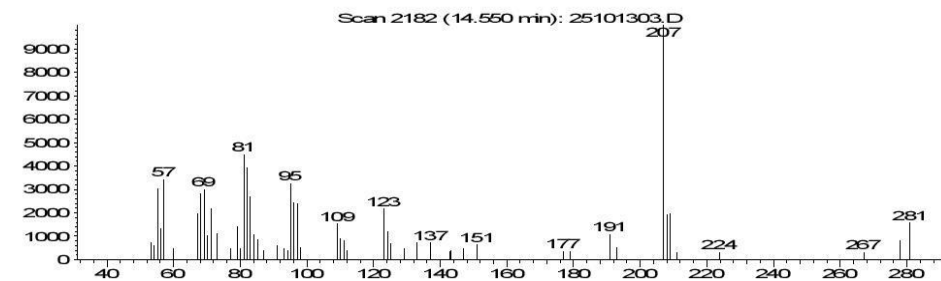


m/z-->
Abundance

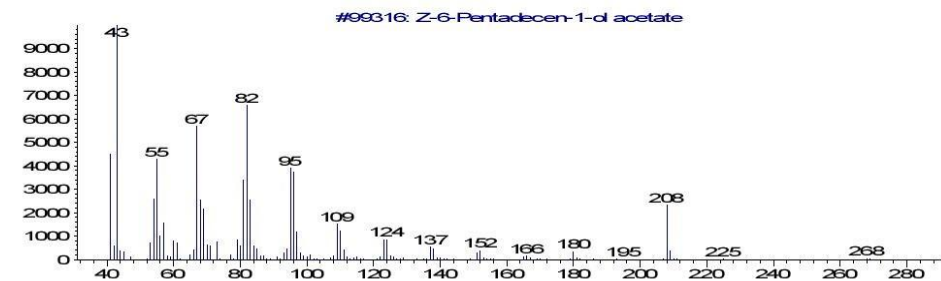


m/z-->

Abundance

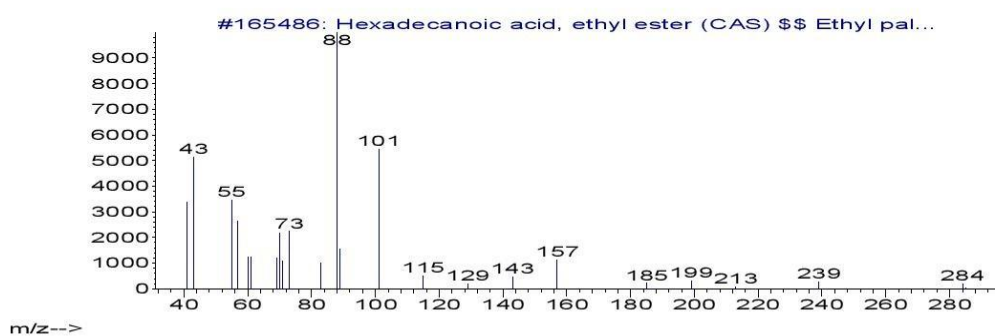
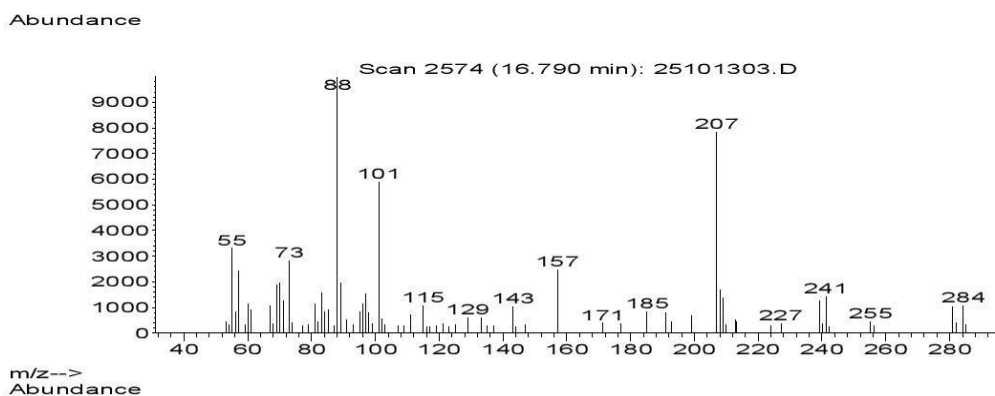
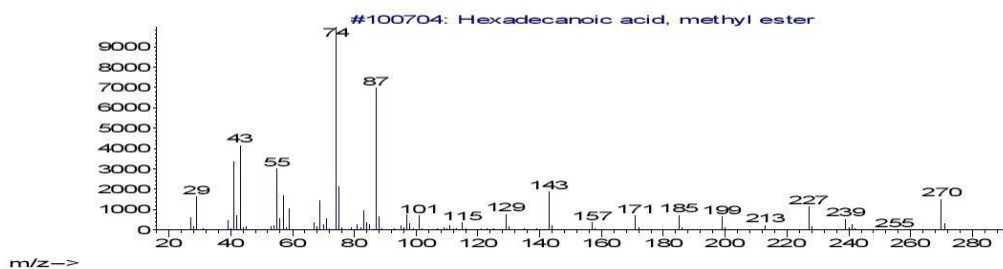
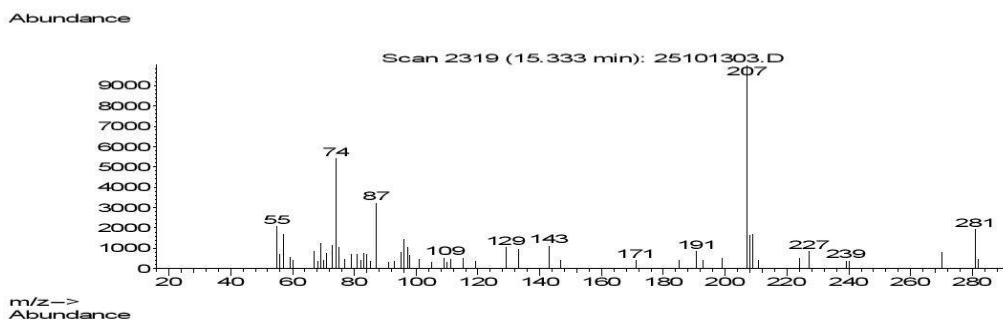


m/z-->
Abundance



m/z-->





Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
-----	----	-------	------------	------	------	------



- 1 2.97 6.56 C:\Database\Wiley275.L
Cyclotetrasiloxane, octamethyl-... 174361 000556-67-2 86
Cyclotetrasiloxane, octamethyl-... 174363 000556-67-2 80
Cyclotetrasiloxane, octamethyl-... 174360 000556-67-2 72
- 2 7.19 1.47 C:\Database\NIST02.L
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- 163620 000540-97-6 43
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- 163619 000540-97-6 43
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 35
- 3 9.45 2.55 C:\Database\NIST02.L
Cycloheptasiloxane, tetradecame... 169659 000107-50-6 43
3-Isopropoxy-1,1,1,5,5,5-hexame... 142442 072182-11-7 40
Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9... 161771 000995-82-4 40
- 4 10.96 6.20 C:\Database\Wiley275.L
1,2-Benzenedicarboxylic acid, d... 107342 000084-66-2 94
1,2-Benzenedicarboxylic acid, d... 107334 000084-66-2 93
DIETHYL PHTALATE 107407 000084-66-2 89
- 5 11.48 3.94 C:\Database\NIST02.L
Indole-2-one, 2,3-dihydro-N-hyd... 60760 1000129-52-1 22
N-(Trifluoroacetyl)-O,O',O"-tr... 167251 1000072-26-3 22
Pyrazolo[3,4-b]pyridin-3(2H)-on... 143039 309740-17-8 14
- 6 12.17 3.24 C:\Database\NIST02.L
5-Acetamido-4,7-dioxo-4,7-dihyd... 61026 153136-27-7 38
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 38
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71176 000541-05-9 35
- 7 13.42 3.54 C:\Database\NIST02.L
Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,... 168877 019095-23-9 59
Silicic acid, diethyl bis(trimeth... 114916 003555-45-1 47
1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene 70584 002060-89-1 43
- 8 13.85 15.43 C:\Database\Wiley275.L
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160636 000000-00-0 98
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160635 000000-00-0 96
2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet... 175359 000150-86-7 90
- 9 13.93 4.48 C:\Database\NIST02.L
Silane, 1,4-phenylenebis(trimeth... 70586 013183-70-5 50
1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene 70584 002060-89-1 50
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 43
- 10 14.24 2.63 C:\Database\NIST02.L

3,3,7,11-Tetramethyltricyclo[5.... 71012 117591-80-7 50
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 47
Silicic acid, diethyl bis(trime... 114916 003555-45-1 45

11 14.55 7.15 C:\Database\NIST02.L
Z-6-Pentadecen-1-ol acetate 99316 068760-72-5 35
Benzenamine, 4-bromo-2-chloro- 59557 038762-41-3 27
1-Methoxy-3-(2-hydroxyethyl)nonane 57291 070928-44-8 27

12 15.33 4.37 C:\Database\NIST02.L
Hexadecanoic acid, methyl ester 100704 000112-39-0 70
Hexadecanoic acid, methyl ester 100708 000112-39-0 38
Hexadecanoic acid, methyl ester 100710 000112-39-0 38

13 16.12 4.64 C:\Database\NIST02.L
Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,... 168877 019095-23-9 72
Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9... 171966 019095-24-0 50
4-Hydroxyphenyl pyrrolidinyl th... 60775 084783-02-8 43

14 16.33 19.12 C:\Database\NIST02.L
Cyclopentene-1-carboxylic acid,... 133950 1000159-40-6 38
1-(5'-Chloro-2'-methylaminobenz... 87677 097994-57-5 37
1,4-Naphthalenedione, 2-amino-3... 60653 002797-51-5 35

15 16.45 2.25 C:\Database\NIST02.L
Silane, 1,4-phenylenebis(trimet... 70586 013183-70-5 53
1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene 70584 002060-89-1 53
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 43

16 16.79 12.44 C:\Database\Wiley275.L
Hexadecanoic acid, ethyl ester ... 165486 000628-97-7 91
Hexadecanoic acid, ethyl ester ... 165473 000628-97-7 87
Hexadecanoic acid, ethyl ester ... 165478 000628-97-7 86

Catatan:

1. Laporan Hasil Pengujian tidak boleh digandakan tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Energi.
2. Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh yang diuji.
3. Hasil pengujian ini tidak dapat digunakan sebagai alat bukti hukum.

Surabaya,
Kepala Laboratorium
Energi

Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002

SURAT PENGANTAR

No. /IT2.7.1/TU.00.09/2013

Yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa pengujian contoh telah dilakukan oleh Laboratorium Energi – LPPM ITS dengan rincian sebagai berikut:

4. Nama Pelanggan : Devita Anggiyani
5. Alamat Pelanggan : Universitas Brawijaya Malang
6. Kegiatan Pengujian :
 - g. Contoh diterima tanggal : 21 Okt 2013
 - h. Contoh diuji tanggal : 25 Okt 2013
 - i. Contoh selesai diuji tanggal : 06 Nov 2013
 - j. Jumlah dan jenis yang diuji : 1 (satu) / GCMS
 - k. Standar Metode yang digunakan : Terlampir
 - l. Laporan Hasil Pengujian : Terlampir

Demikian surat ini, atas perhatiannya kami sampaikan terima kasih.

Sekretaris LPPM

Prof. Ir. Gamantyo Hendranto, M.Eng, P.hD
NIP. 19701111 1993 031 002

Surabaya,

Kepala Laboratorium Energi

Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Nama Pemilik : Devita Anggiyani

Alamat Pemilik : Universitas Brawijaya Malang

Nama Contoh : **Ekstrak Sargassum S2 Etil Asetat** Tanggal Terima : 21 Okt 2013

Bentuk : Padat/Cair/Gas Tanggal Pengujian : 25 Okt 2013

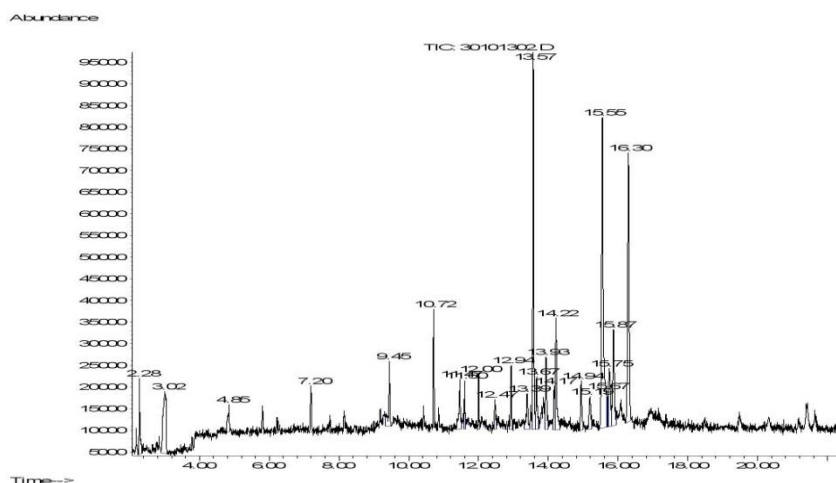
Deskripsi Contoh : Volume : - Tanggal Selesai Pengujian : 06 Nov 2013

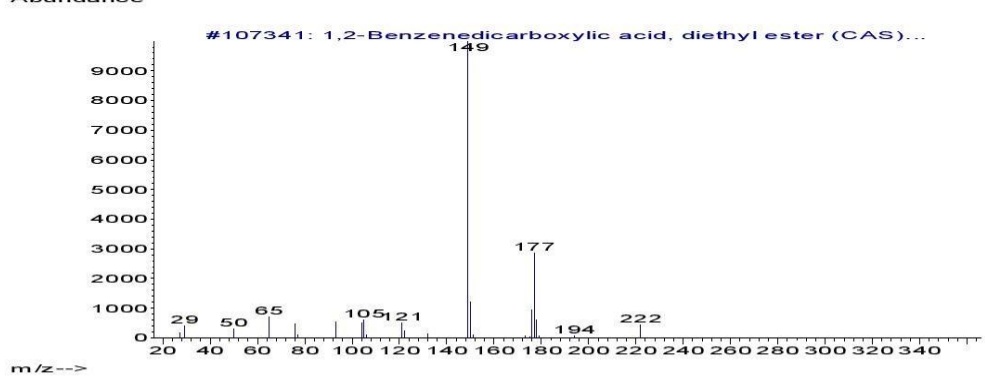
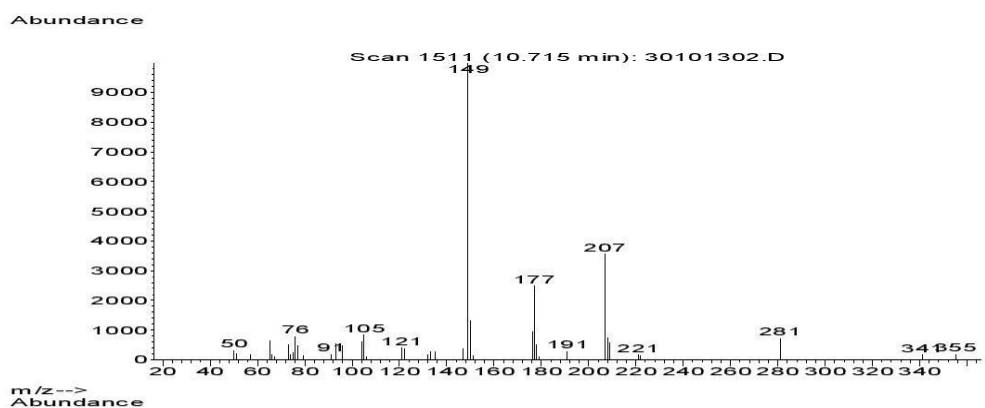
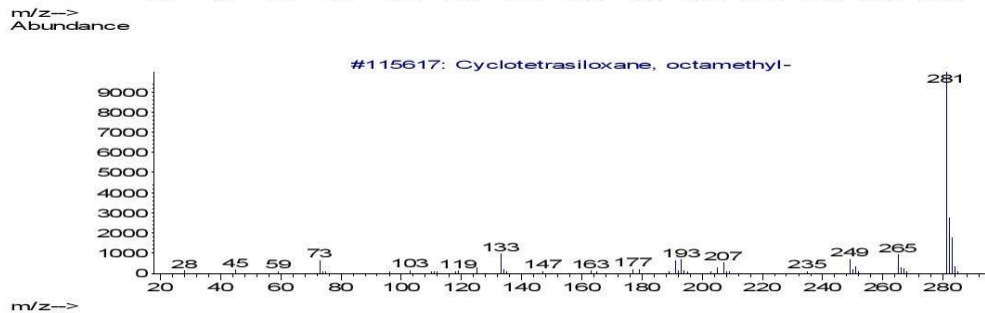
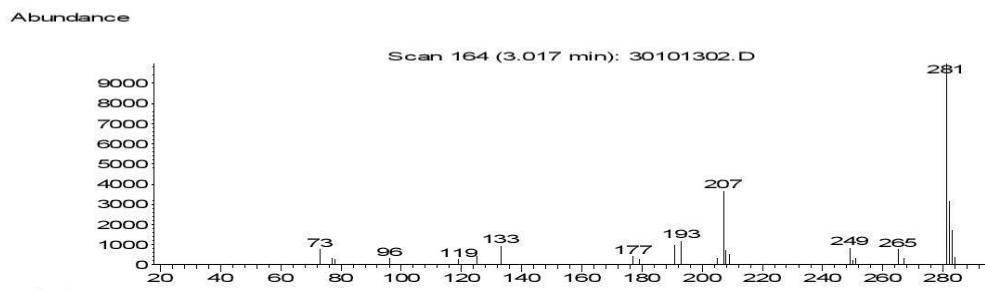
Kemasan : Botol

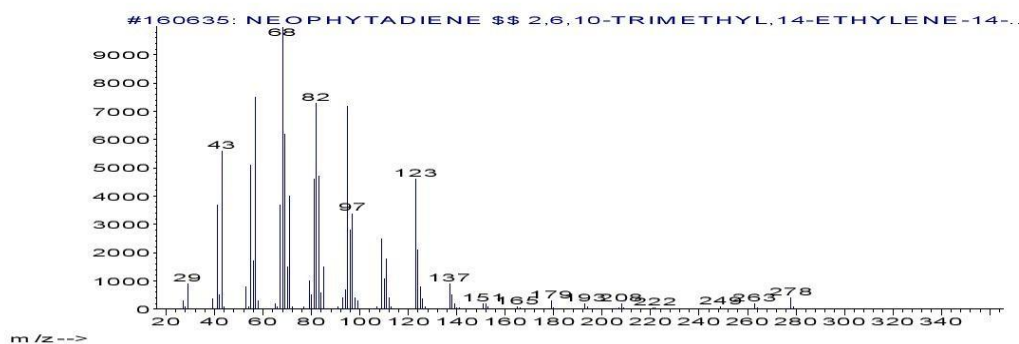
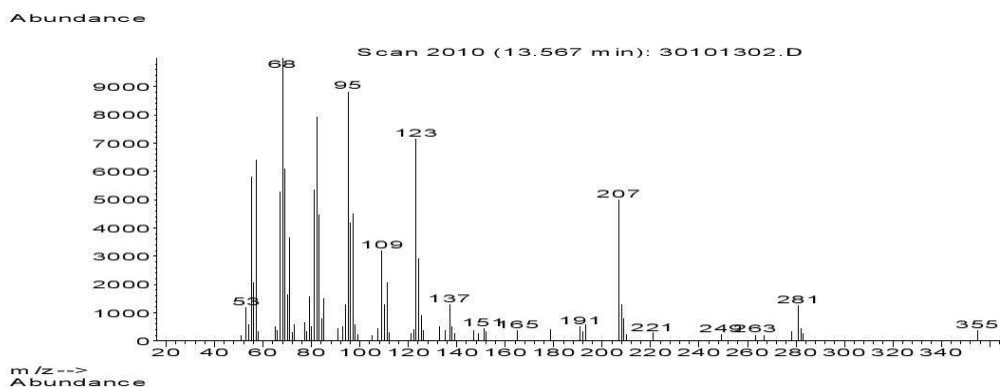
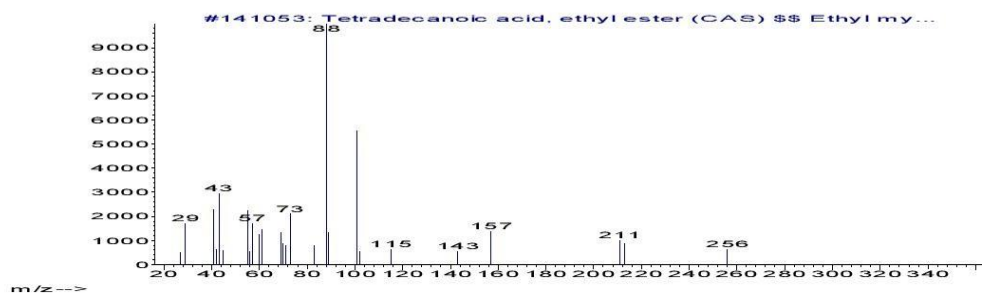
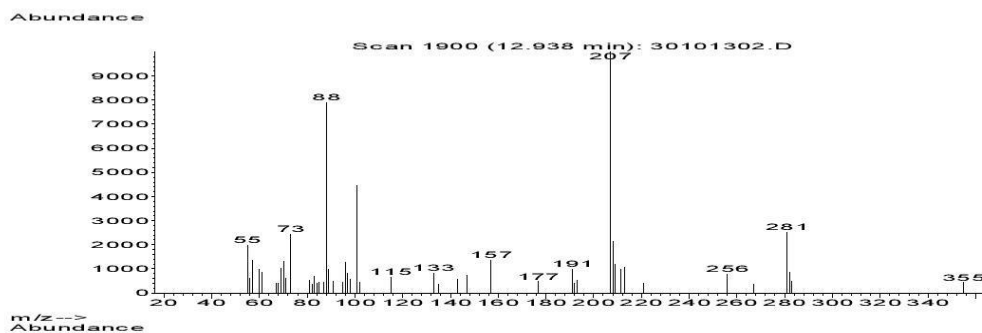
Kode Contoh : **EI-0807** Jumlah Contoh : 1 (satu)

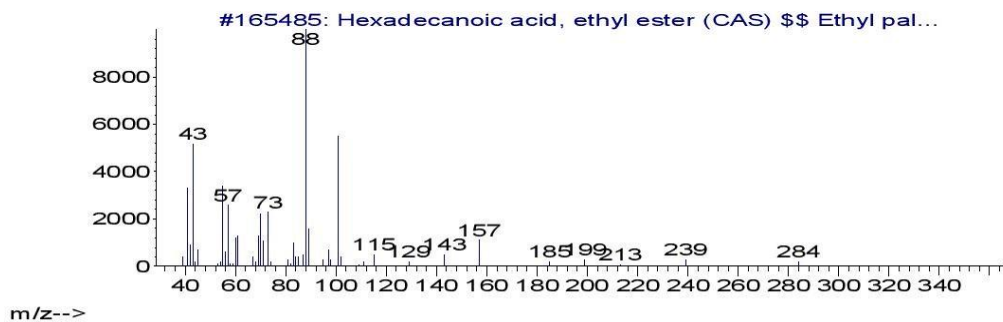
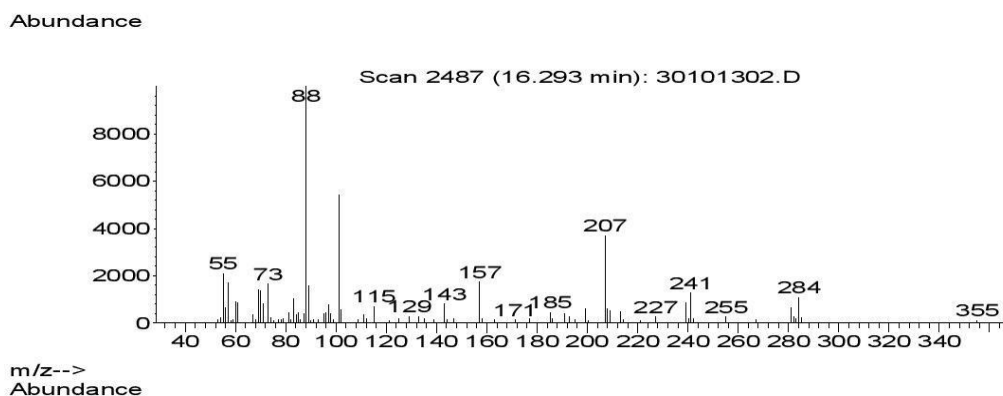
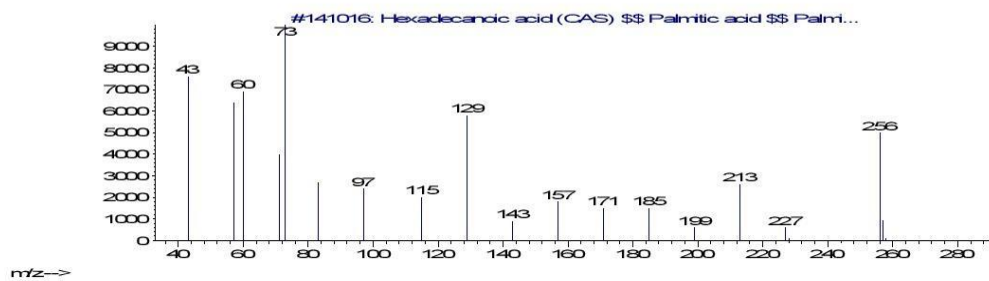
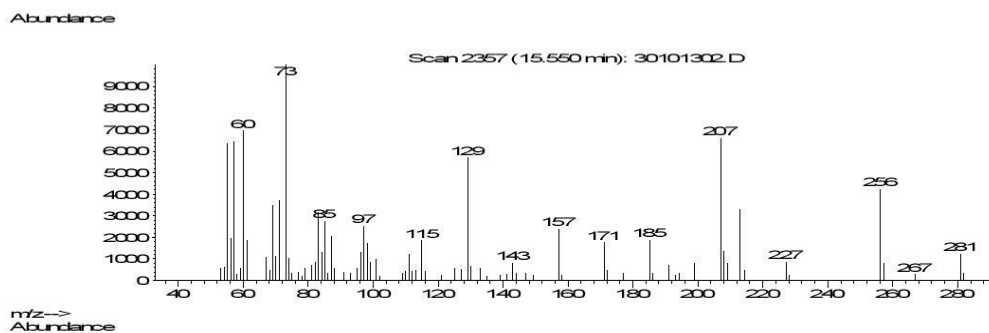
Menyatakan bahwa contoh tersebut di atas telah diuji di Laboratorium Energi – LPPM ITS.
 Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh yang diuji.

Hasil Pengujian









Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual



- 1 2.29 2.18 C:\Database\NIST02.L
Oxime-, methoxy-phenyl- 23717 1000222-86-6 62
4-Ethylbenzoic acid, cyclopent... 68094 1000293-32-0 50
2-Amino-5-methylbenzoic acid 23732 002941-78-8 49
- 2 3.02 5.97 C:\Database\NIST02.L
Cyclotetrasiloxane, octamethyl- 115617 000556-67-2 83
Cyclotetrasiloxane, octamethyl- 115616 000556-67-2 83
Cyclotetrasiloxane, octamethyl- 115615 000556-67-2 64
- 3 4.85 1.29 C:\Database\NIST02.L
Methyltris(trimethylsiloxy)silane 122473 017928-28-8 38
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 38
2-Ethylacridine 60942 055751-83-2 38
- 4 7.19 1.68 C:\Database\NIST02.L
Tetrasiloxane, decamethyl- 122472 000141-62-8 35
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- 163618 000540-97-6 35
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- 163620 000540-97-6 35
- 5 9.45 2.87 C:\Database\NIST02.L
Silicic acid, diethyl bis(trime... 114916 003555-45-1 50
Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9... 171966 019095-24-0 42
Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,... 168877 019095-23-9 37
- 6 10.72 3.03 C:\Database\Wiley275.L
1,2-Benzenedicarboxylic acid, d... 107341 000084-66-2 93
1,2-Benzenedicarboxylic acid, d... 107340 000084-66-2 53
2-HYDROXYADAMANTANE-1-CARBONITRILE 61482 000000-00-0 53
- 7 11.47 2.37 C:\Database\NIST02.L
Silicic acid, diethyl bis(trime... 114916 003555-45-1 32
Benz[b]-1,4-oxazepine-4(5H)-thi... 60781 1000258-63-4 27
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 27
- 8 11.60 1.49 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 53
2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bi... 70826 054965-43-4 43
Silicic acid, diethyl bis(trime... 114916 003555-45-1 42
- 9 12.01 1.44 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 43
Methyltris(trimethylsiloxy)silane 122473 017928-28-8 37
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 37
- 10 12.48 1.09 C:\Database\NIST02.L

- 1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene 70584 002060-89-1 53
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 50
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71176 000541-05-9 40
- 11 12.94 2.24 C:\Database\Wiley275.L
Tetradecanoic acid, ethyl ester... 141053 000124-06-1 96
Tetradecanoic acid, ethyl ester... 141045 000124-06-1 90
Tetradecanoic acid, ethyl ester... 141052 000124-06-1 89
- 12 13.40 2.02 C:\Database\NIST02.L
Indole-2-one, 2,3-dihydro-N-hyd... 60760 1000129-52-1 50
Silane, 1,4-phenylenebis(trimet... 70586 013183-70-5 43
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 43
- 13 13.5712.87 C:\Database\Wiley275.L
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160635 000000-00-0 96
(-)-TRANS PINANE \$\$ Bicyclo[3.1... 26822 000473-55-2 46
9-Eicosyne (CAS) 160625 071899-38-2 38
- 14 13.66 2.44 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 50
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 50
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71176 000541-05-9 43
- 15 13.93 2.89 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 47
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 47
Indole-2-one, 2,3-dihydro-N-hyd... 60760 1000129-52-1 43
- 16 14.17 1.56 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 59
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 59
Methyltris(trimethylsiloxy)silane 122473 017928-28-8 42
- 17 14.22 5.68 C:\Database\NIST02.L
Silicic acid, diethyl bis(trimet... 114916 003555-45-1 35
Z-6-Pentadecen-1-ol acetate 99316 068760-72-5 27
11-Methyl-13-tetradecen-1-ol ac... 99340 1000131-33-5 27
- 18 14.94 2.11 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 43
1H-Indole, 5-methyl-2-phenyl- 60953 013228-36-9 40
4-Hydroxyphenyl pyrrolidinyl th... 60775 084783-02-8 38
- 19 15.19 1.82 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 59
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 59
Benzo[h]quinoline, 2,4-dimethyl- 60960 000605-67-4 50
- 20 15.5518.67 C:\Database\Wiley275.L
Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm... 141016 000057-10-3 99
Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm... 141005 000057-10-3 99
Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm... 141012 000057-10-3 93
- 21 15.67 1.02 C:\Database\NIST02.L
Silane, 1,4-phenylenebis(trimet... 70586 013183-70-5 53
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 50

Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 50

22 15.75 3.75 C:\Database\NIST02.L
2,3,4-Trimethoxyphenylacetonitrile 60715 068913-85-9 38
2-Ethylacridine 60942 055751-83-2 38
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 32

2315.87 5.38 C:\Database\NIST02.L
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71177 000541-05-9 38
Hexahydropyridine, 1-methyl-4-[... 60862 094427-47-1 38
Cyclotrisiloxane, hexamethyl- 71175 000541-05-9 38

2416.29 14.14 C:\Database\Wiley275.L
Hexadecanoic acid, ethyl ester ... 165485 000628-97-7 99
Hexadecanoic acid, ethyl ester ... 165474 000628-97-7 98
Hexadecanoic acid, ethyl ester ... 165478 000628-97-7 98

Catatan:

1. Laporan Hasil Pengujian tidak boleh digandakan tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Energi.
2. Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh yang diuji.
3. Hasil pengujian ini tidak dapat digunakan sebagai alat bukti hukum.

Surabaya,
Kepala Laboratorium
Energi

Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002

SURAT PENGANTAR

No. /IT2.7.1/TU.00.09/2013

Yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa pengujian contoh telah dilakukan oleh Laboratorium Energi – LPPM ITS dengan rincian sebagai berikut:

7. Nama Pelanggan : Devita Anggiyani
8. Alamat Pelanggan : Universitas Brawijaya Malang
9. Kegiatan Pengujian :
 - m. Contoh diterima tanggal : 21 Okt 2013
 - n. Contoh diuji tanggal : 25 Okt 2013
 - o. Contoh selesai diuji tanggal : 06 Nov 2013
 - p. Jumlah dan jenis yang diuji : 1 (satu) / GCMS
 - q. Standar Metode yang digunakan : Terlampir
 - r. Laporan Hasil Pengujian : Terlampir

Demikian surat ini, atas perhatiannya kami sampaikan terima kasih.

Sekretaris LPPM

Prof. Ir. Gamantyo Hendratoro, M.Eng, P.hD
NIP. 19701111 1993 031 002

Surabaya,

Kepala Laboratorium Energi

Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Nama Pemilik : Devita Anggiyani

Alamat Pemilik : Universitas Brawijaya Malang

Nama Contoh : **Sampel S3 (Residu)** Tanggal Terima : 21 Okt 2013

Deskripsi Contoh : Bentuk : Padat/Cair/Gas Tanggal Pengujian : 25 Okt 2013

Volume : - Tanggal Selesai Pengujian : 06 Nov 2013

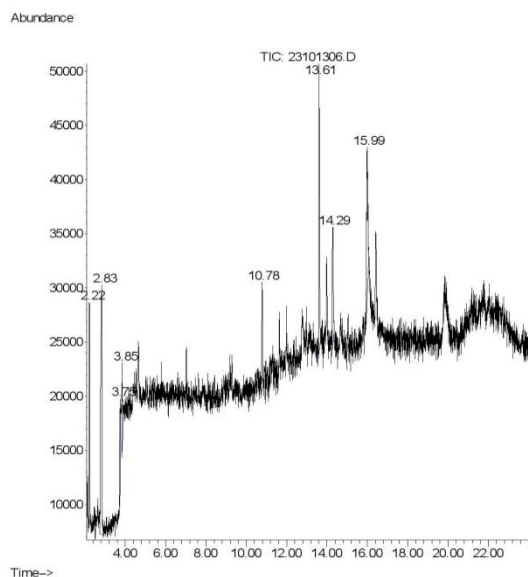
Kemasan : Botol

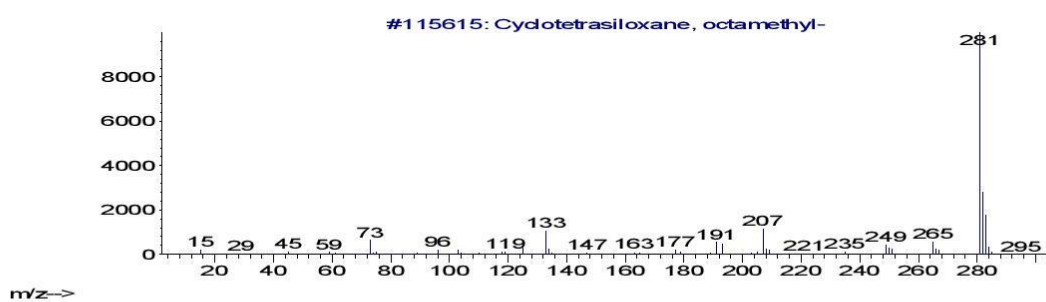
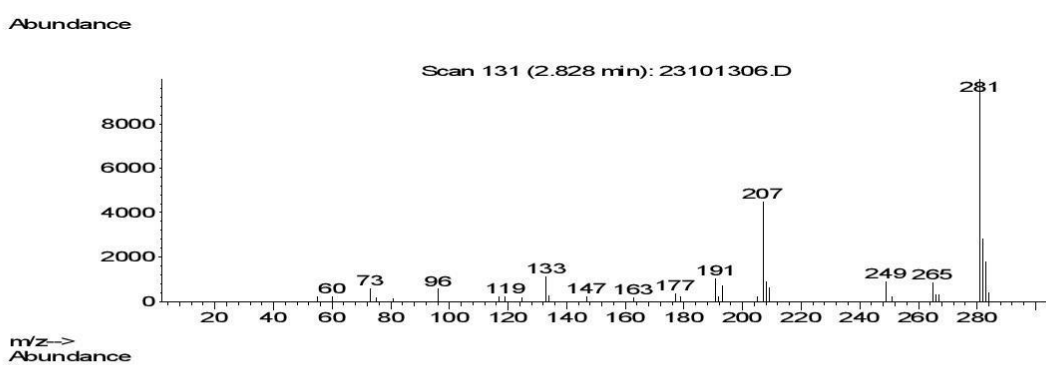
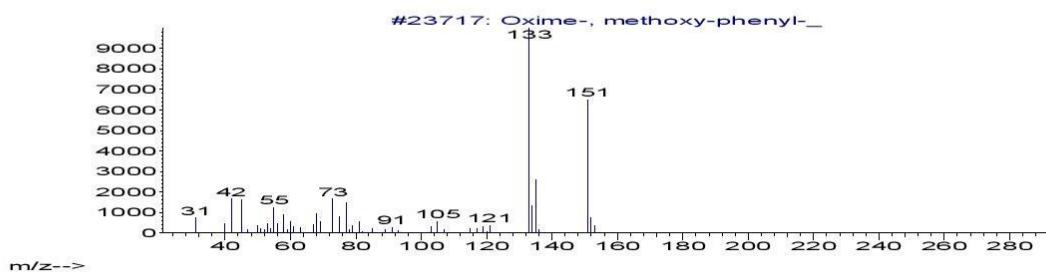
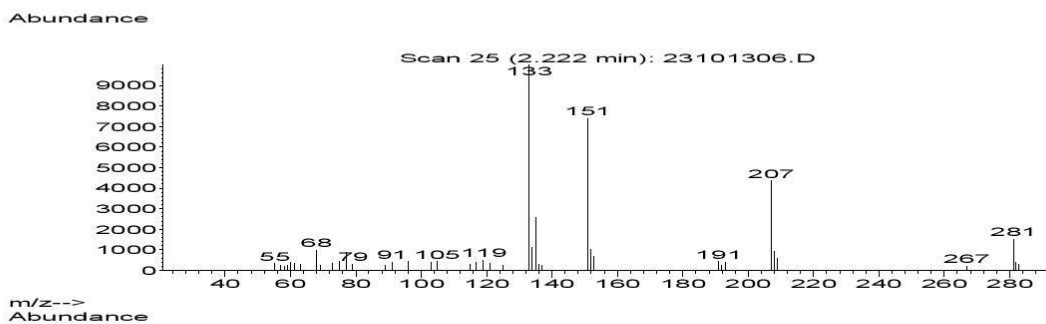
Kode Contoh : **EI-0807** Jumlah Contoh : 1 (satu)

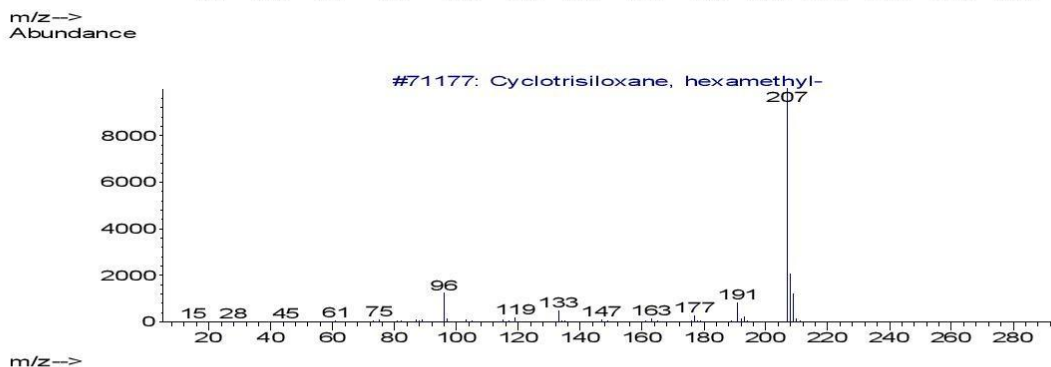
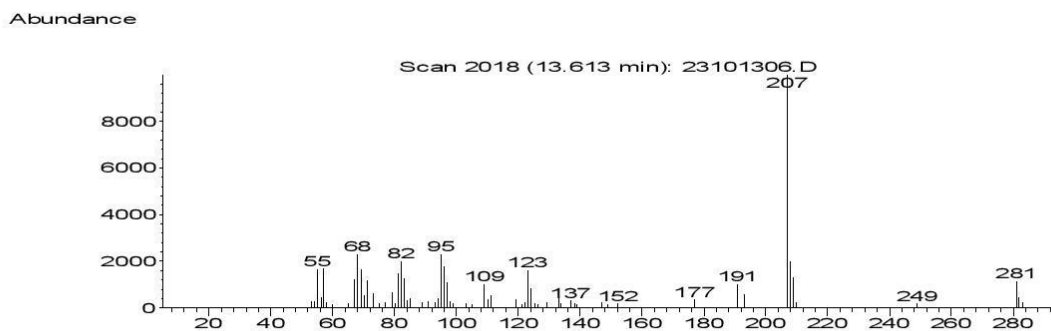
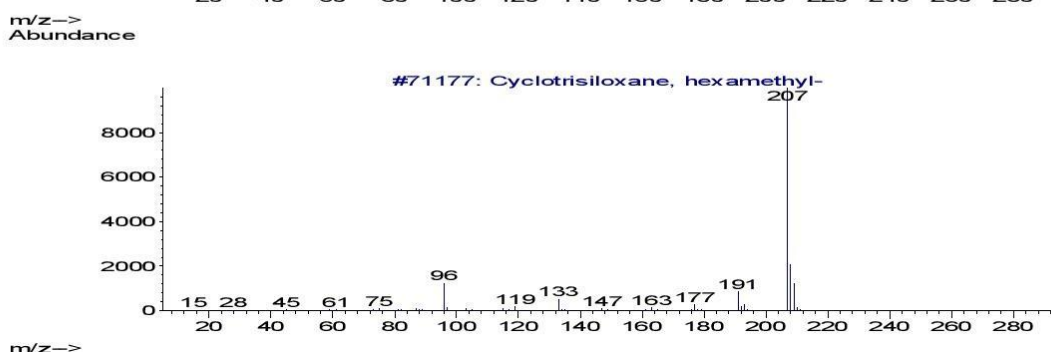
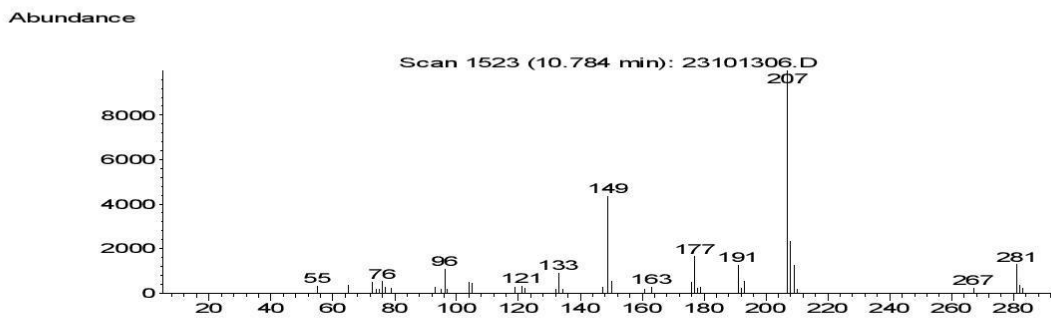
Menyatakan bahwa contoh tersebut di atas telah diuji di Laboratorium Energi – LPPM ITS.

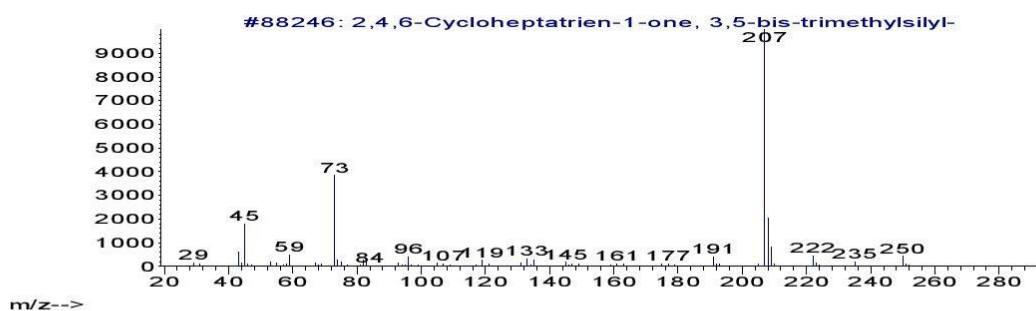
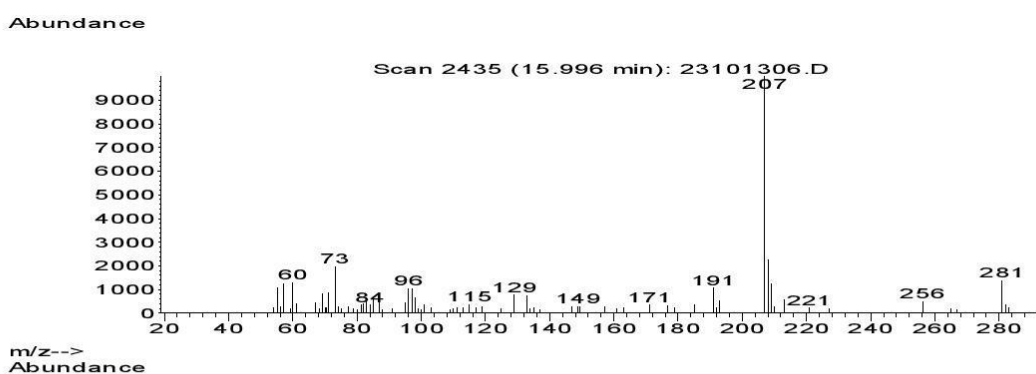
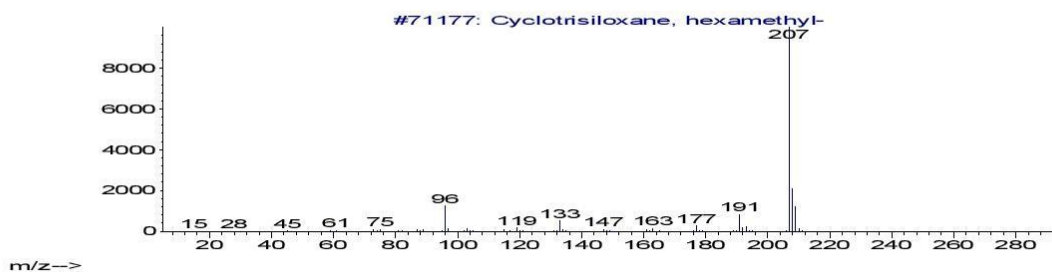
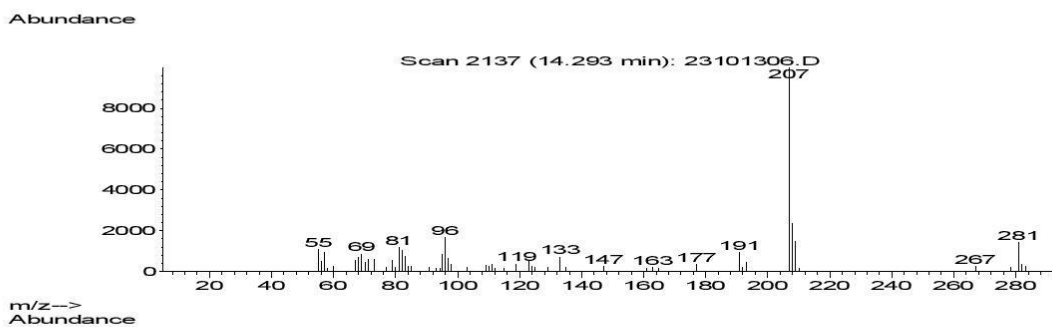
Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh yang diuji.

Hasil Pengujian









Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
	14.293		Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	#71177		
	15.996		2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3,5-bis-trimethylsilyl-	#88246		



1	2.22	8.26	C:\Database\NIST02.L		
			Oxime-, methoxy-phenyl-	23717	1000222-86-6 53
			Benzoic acid, 2-amino-4-methyl-	23760	002305-36-4 50
			2-Amino-6-methylbenzoic acid	23733	004389-50-8 50
2	2.83	29.86	C:\Database\NIST02.L		
			Cyclotetrasiloxane, octamethyl-	115615	000556-67-2 74
			Cyclotetrasiloxane, octamethyl-	115617	000556-67-2 68
			trans-4-(2-(5-Nitro-2-furyl)vin...	106714	000847-10-9 50
3	3.75	5.88	C:\Database\NIST02.L		
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71175	000541-05-9 78
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71177	000541-05-9 78
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71176	000541-05-9 64
4	3.85	5.22	C:\Database\NIST02.L		
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71175	000541-05-9 78
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71177	000541-05-9 78
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71176	000541-05-9 64
5	10.78	6.07	C:\Database\NIST02.L		
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71177	000541-05-9 50
			1,3-Bis(trimethylsilyl)benzene	70584	002060-89-1 50
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71176	000541-05-9 47
6	13.61	17.48	C:\Database\NIST02.L		
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71177	000541-05-9 50
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71175	000541-05-9 50
			3,3,7,11-Tetramethyltricyclo[5....	71012	117591-80-7 45
7	14.29	10.36	C:\Database\NIST02.L		
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71177	000541-05-9 80
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71175	000541-05-9 80
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71176	000541-05-9 59
8	16.00	16.86	C:\Database\NIST02.L		
			2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3,...	88246	1000161-21-8 59
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	71177	000541-05-9 53
			Trimethyl[4-(1,1,3,3,-tetrameth...	105193	078721-87-6 53

Catatan:

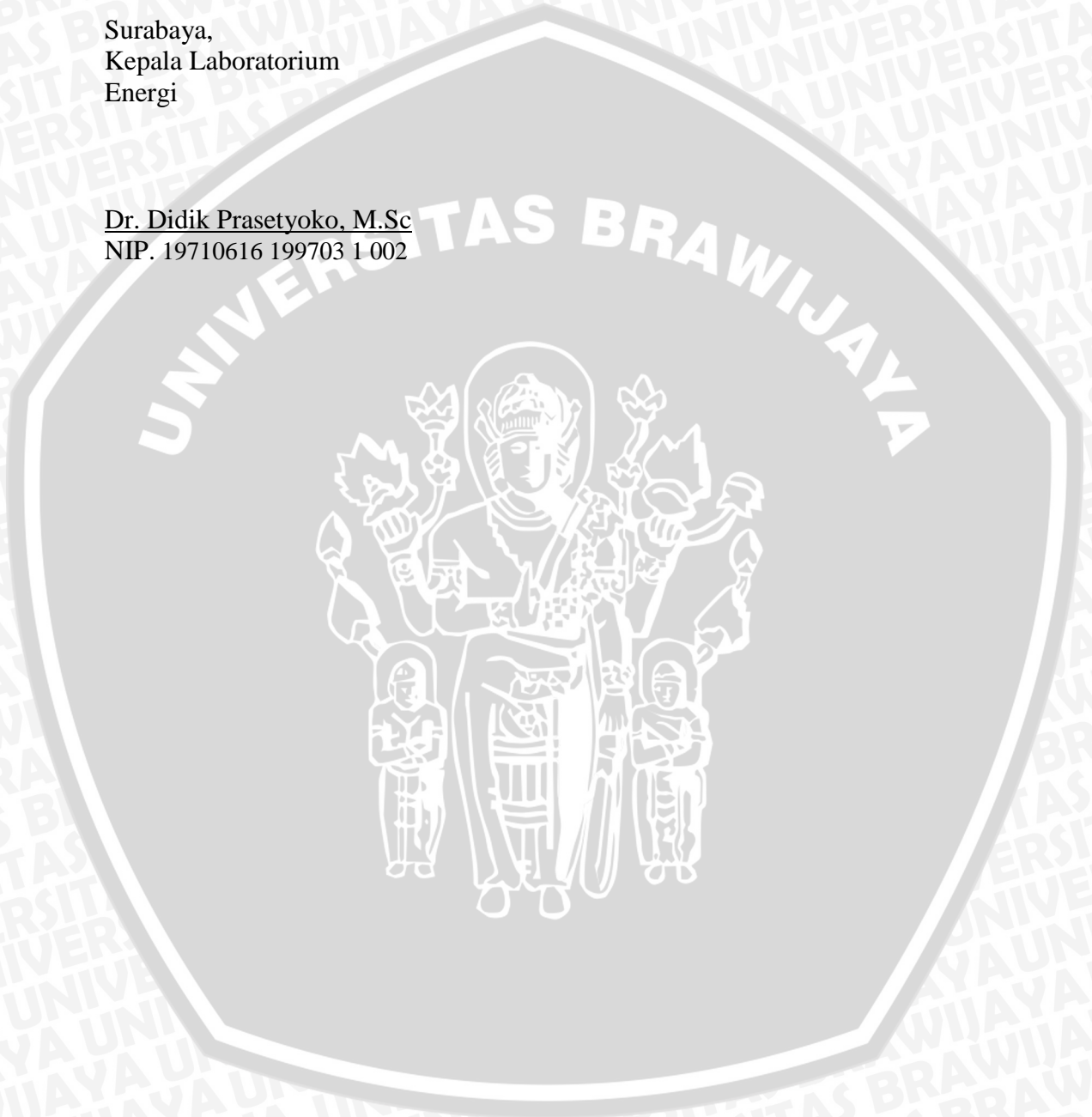
1. Laporan Hasil Pengujian tidak boleh digandakan tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium

Energi.

2. Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh yang diuji.
3. Hasil pengujian ini tidak dapat digunakan sebagai alat bukti hukum.
4. adb yaitu air dried basis

Surabaya,
Kepala Laboratorium
Energi

Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc
NIP. 19710616 199703 1 002



lampiran 6. Gambar proses penelitian

➤ Proses pembiakan jamur *Trichoderma viride*



Stok jamur *T. Viride*



Koloni jamur dalam media PDA



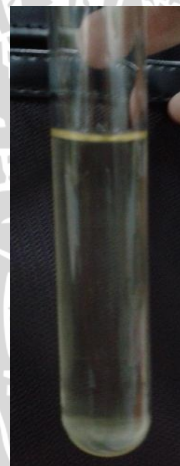
T. Viride dalam media PDB

PDB

➤ Perhitungan koloni jamur *Trichoderma viride* dengan *Haemocytometer*



penanaman dalam media PDB



jamur yang sudah tumbuh



divortex agar homogeny



Methylen blue pengenceran



perhitungan *Haemocytometer*



proses



Gambar sel yang hidup dan yang mati

➤ Penanganan awal sampel *Sargassum filipendula*



Sargassum filipendula segar



Pencucian



Proses chopping



Penirisan



➤ Proses fermentasi sampel *Sargassum filipendula*



Pengaturan pH
telah terfermentasi



Penambahan starter *T. Viride*



Sampel yang

➤ Proses ekstraksi sampel



Proses penambahan etanol



Maserasi selama 24 jam dan *dishaker*



Penyaringan Sampel



Hasil penyaringan Sampel



Pemisahan pelarut dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*

➤ Proses pemisahan larutan



Penambahan larutan



pemisahan larutan
Penampungan laruta



hasil

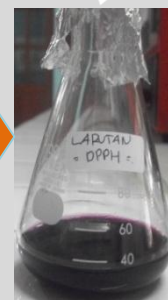
➤ Uji aktivitas Antioksidan (Maetode DPPH)



Proses pengenceran



Hasil pengenceran



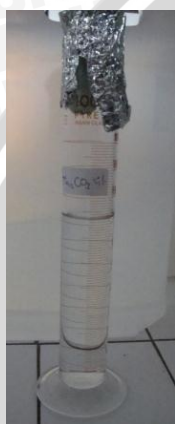
Sampel yang telah ditambah DPPH



Proses perhitungan absorbansi sampel menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



➤ Uji Total Fenol

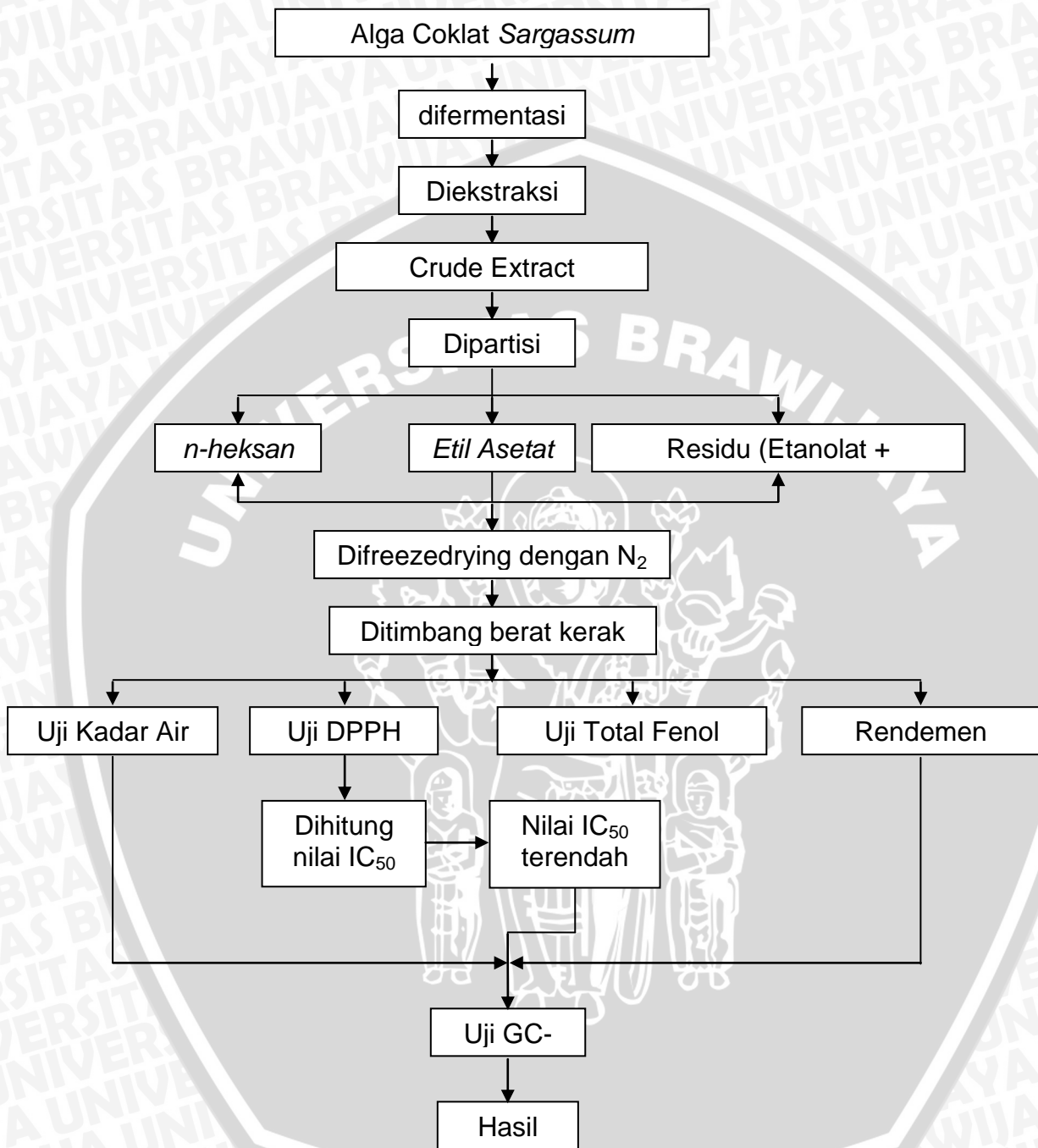


Na_2CO_3

Proses penghitungan absorbansi sampel yang telah diuji Total fenol menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

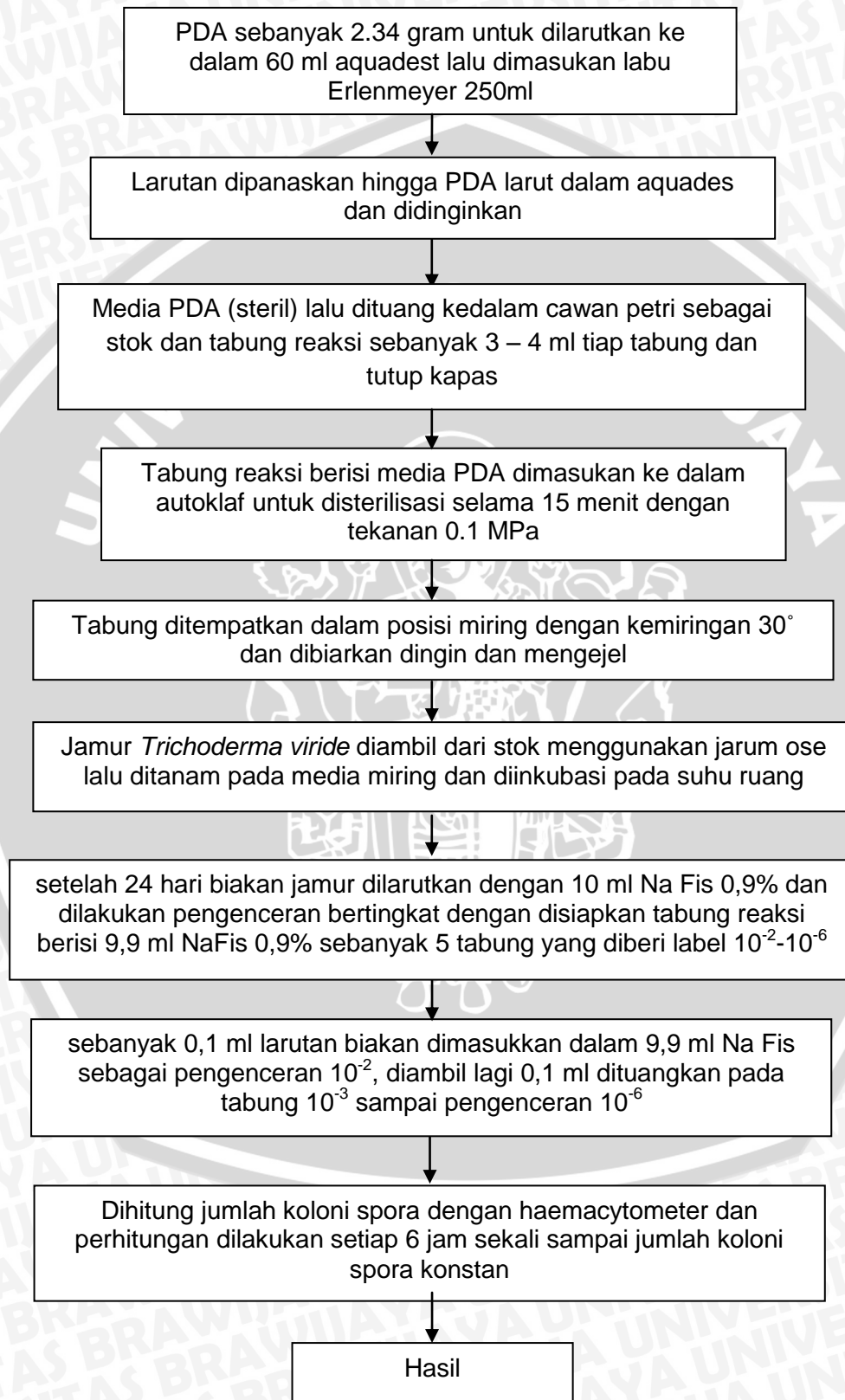
Sampel

Lampiran 7. Diagram Alir Prosedur Penelitian



Skema Kerja uji aktivitas antioksidan *Sargassum filipendula*

▣ Pemiakan kultur jamur *Trichoderma viride*



❑ Penghitungan spora jamur *Trichoderma viride* dengan haemocytometer

Dibersihkan haemocytometer dan gelas penutupnya dengan larutan detergen, bilas dengan air suling lalu alkohol, sampai kering dan dianginkan

Suspensi *Trichoderma viride* dalam media PDB yang akan ditentukan ditentukan jumlahnya dihomogenkan dengan vortex sehingga merata

diambil suspensi tersebut dengan pipet sebanyak kira-kira 5-10 μ l (gunakan pipetteman) dan teteskan tepat pada petak-petaknya

ditutup dengan gelas penutupnya dan taruh pada meja mikroskop

Mula-mula diamati dengan menggunakan perbesaran lemah untuk menemukan petak-petaknya. Kemudian tentukan dari petak mana penghitungan akan dimulai,

Kemudian perbesaran mikroskop diubah keperbesaran sedang, atur focus sampai sel-sel *Trichoderma viride* nampak jelas

Dihitung jumlah sel dalam setiap petak kecil, sel-sel yang berada pada garis batas atas atau batas kanan dihitung sebagai milik petak yang bersangkutan, tapi bila berada pada batas bawah atau batas kiri tidak dihitung

Dijumlah sel rata-rata dari 25 petak untuk menghitung jumlah sel tiap ml bahan

Jumlah sel rata-rata tiap petak x 1000 x faktor pengenceran
Jumlah sel/ml = $\frac{\text{Jumlah sel rata-rata tiap petak} \times 1000 \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Luas petak (mm}^2\text{)} \times \text{kedalaman petak (mm}^2\text{)}}$

Dihitung jumlah sel dan jumlah sel rata-rata per hari dibuat sebagai kurva fase pertumbuhan jamur

Hasil

☐ **Perbanyak jamur *Trichoderma viride***

Jamur *Trichoderma viride*
media agar miring

Persiapan media PDB
(*Potatoes Dextrose Broth*)
dengan konsentrasi media
10 gr / 250 ml aquadest

Media PDB dimasukkan ke dalam *autoklaf* untuk
disterilisasi selama 15 menit dengan tekanan 0.1
MPa

Diangkat dan dibiarkan sampai dingin

Diinokulasi 4 potongan *Trichoderma viride* dengan
bor gabus diameter 5 mm ke media PDB

Diinkubasi dalam *incubator* selama waktu pada
saat jumlah koloni konstan (fase stasioner) dan di
shaker

❏ Diagram Alir Kadar Air

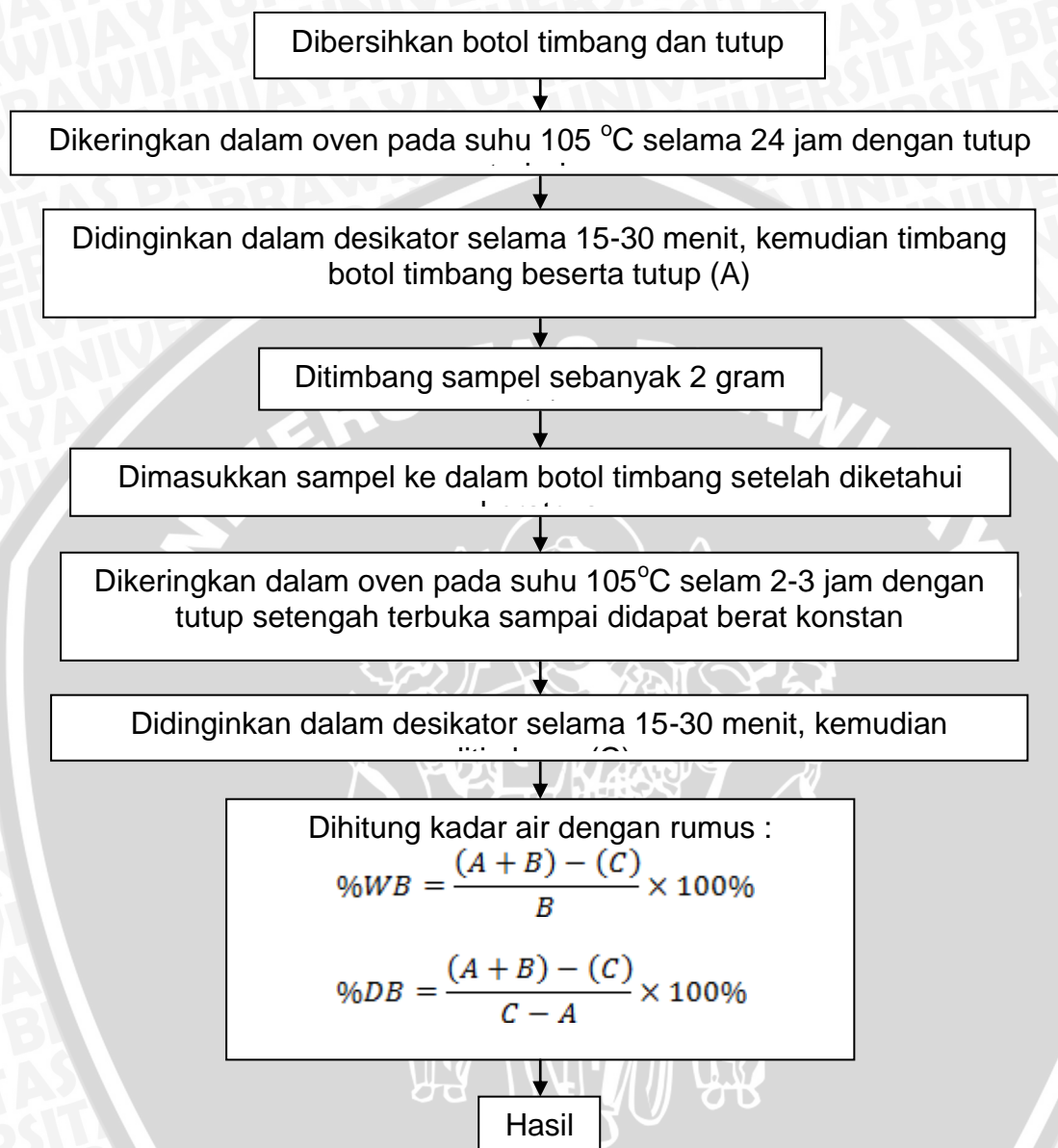
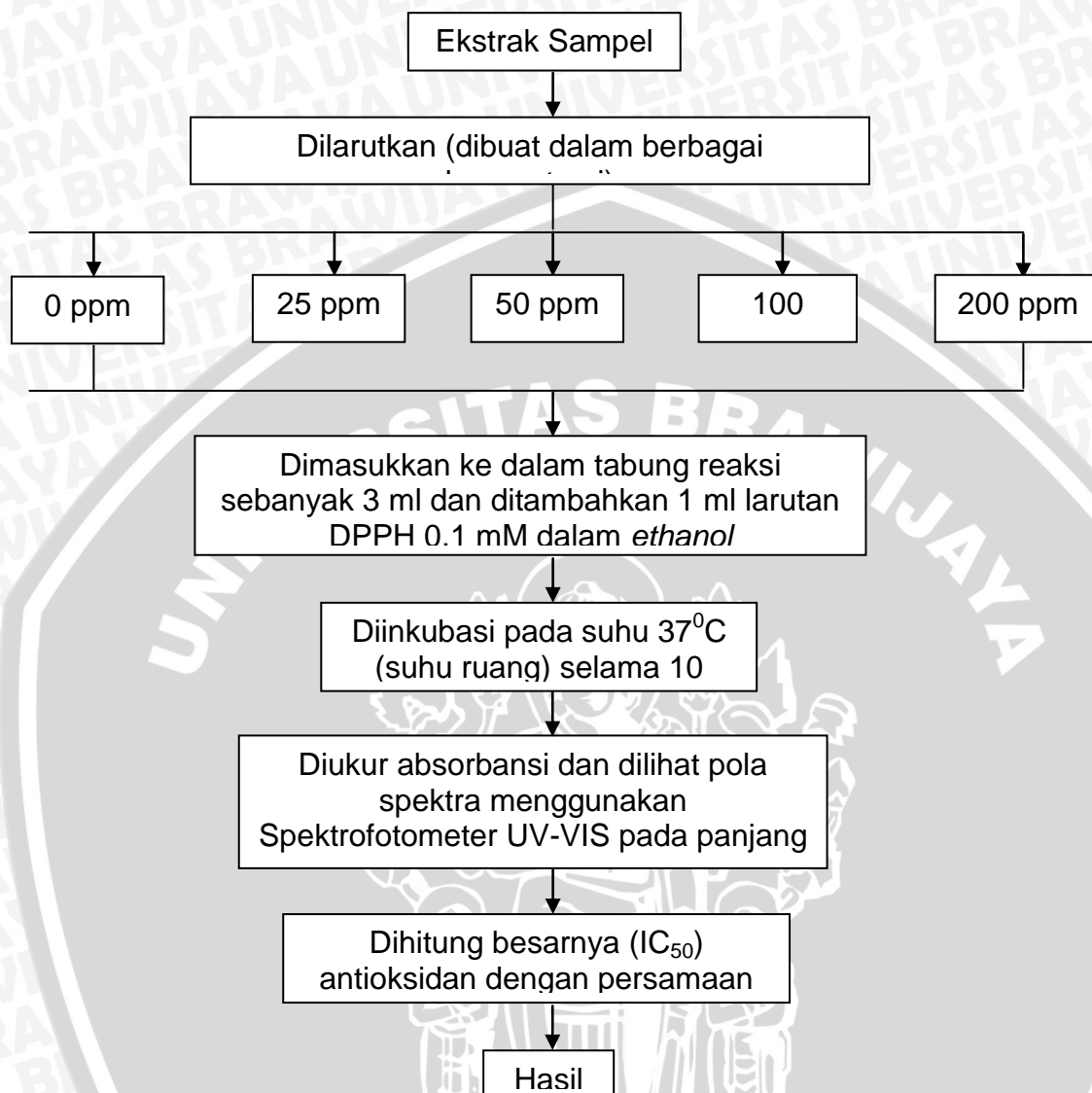


Diagram Alir Uji Aktivitas Antioksidan



$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100\% \right]$$

Dimana:

A_0 = absorbansi kontrol

A_1 = absorbansi sampel

Diagram Alir Total Fenol

