

repository.ub.ac.id

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ALGA COKLAT *Turbinaria conoides* DENGAN
PELARUT YANG BERBEDA**

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

Oleh:

**DEWINTA NURIENDNESIA PUTRI
NIM. 115080301111030**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ALGA COKLAT *Turbinaria conoides* DENGAN
PELARUT YANG BERBEDA**

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

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**DEWINTA NURIENDNESIA PUTRI
NIM. 115080301111030**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

SKRIPSI

UJI TOKSISITAS EKSTRAK KASAR ALGA COKLAT (*Turbinaria conoides*)
DENGAN PELARUT YANG BERBEDA

Oleh:

Dewinta Nuriendnesia Putri
NIM. 115080301111030

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 10 November 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes)

NIP.19611022 198802 2 002

Tanggal: _____

(Dr. Ir. Bambang Budi Sasmita, MS)

NIP.19840607 201012 2 003

Tanggal: _____

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP)

NIP. 19581231 198601 2 002

Tanggal: _____

(Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS)

NIP. 19640604 199002 2 002

Tanggal: _____

Mengetahui,

Ketua Jurusan

RINGKASAN

DEWINTA NURIENDNESIA PUTRI. Uji Toksisitas Ekstrak Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan Pelarut yang Berbeda. (dibawah bimbingan **Dr. Ir. BAMBANG BUDI SASMITO, MS** dan **Dr. Ir HARTATI KARTIKANINGSIH, MS**).

Secara tradisional, rumput laut (alga) telah lama digunakan sebagai bahan makanan dan obat-obatan, karena kaya akan mineral, elemen makro dan elemen mikro lainnya. Salah satu jenis alga yang banyak ditemukan diperairan Indonesia yakni jenis alga coklat *Turbinaria conoides*. Kandungan bioaktif pada *Turbinaria conoides* diduga berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan dan aktivitas anti-inflamasi. Uji Toksisitas Ekstrak Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan Pelarut yang Berbeda merupakan metode skrining bahan yang berpotensi sebagai tanaman berkhasiat.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai sampai Juli 2015, bertempat di Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan, Laboratorium Reproduksi, Pemuliaan dan Pembenihan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium PT. Gelora Djaja, Surabaya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan nilai LC₅₀ ekstrak kasar alga coklat *Turbinaria conoides* dengan perlakuan ekstraksi bertingkat dari pelarut non polar ke polar dengan pelarut polar ke non polar terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach.

Metode Penelitian ini adalah eksperimen dengan membuat variasi konsentrasi larutan ekstrak 0 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm, dan 1000 ppm dimana keenam perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Nilai LC₅₀ diperoleh dari analisis probit dan keragaman nilai LC₅₀ dari masing-masing sampel dilakukan perhitungan sidik ragam (ANOVA). Masing-masing ekstrak kemudian diuji kandungan senyawa bioaktif dengan analisis GC-MS melalui proses kromatografi kolom untuk memisahkan senyawa aktifnya.

Hasil analisis probit pada uji toksisitas didapatkan nilai LC₅₀ Ekstrak N-heksan *T.conoides* sebesar 146,052 ppm, Ekstrak Etil asetat *T.conoides* sebesar 68,657 ppm, Ekstrak Etanol *T.conoides* sebesar 84,193 ppm, Ekstrak Etanol *T.conoides* sebesar 91,475 ppm, Ekstrak Etil asetat *T.conoides* sebesar 75, 227 ppm, dan Ekstrak N-heksan *T.conoides* sebesar 160,805 ppm. Dari analisis sidik ragam (ANOVA) didapatkan kesimpulan bahwa ada perbedaan yang nyata pada masing-masing sampel alga coklat *T. conoides* terhadap nilai LC₅₀. Hasil pemisahan senyawa bioaktif dengan kromatografi kolom ekstrak etil asetat dan etanol *T.conoides* masing-masing memperoleh 4 dan 3 isolat warna. Pada pengujian GC-MS diketahui bahwa kandungan senyawa ekstrak etil asetat dan etanol tidak jauh berbeda dilihat dari kandungan senyawa dengan puncak tertinggi dari kedua ekstrak tersebut yakni pada isolat hitam teridentifikasi sebagai *Neophytadiene, 2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne*.

Disarankan untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pengujian toksisitas dari hasil isolasi senyawa murni yang terkandung pada alga coklat *Turbinaria conoides* sehingga dapat dijadikan perbandingan dengan penelitian yang sudah ada.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan KaruniaNya penulis dapat menyajikan skripsi yang berjudul Uji Toksisitas Ekstrak Alga Coklat *Turbinaria conoides* Dengan Pelarut Yang Berbeda. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pembuatan ekstrak alga coklat *T. conoides* dengan 3 jenis pelarut dan pola ekstraksi bertingkat yang berbeda serta uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 27 Agustus 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 LatarBelakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 TempatdanWaktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga coklat <i>Turbinaria conoides</i>	5
2.1.1 Deskripsi <i>Turbinaria conoides</i>	6
2.1.2 Kandungankimia <i>Turbinaria conoides</i>	7
2.1.3 Manfaat <i>Turbinaria conoides</i>	9
2.2 Metode Ekstraksi.....	9
2.3 Pelarut Ekstraksi	11
2.3.1 N-heksan.....	12
2.3.2 Etil Asetat	13
2.3.3 Ethanol	14
2.4 Kandungan Ekstrak Alga coklat Kandungan <i>Turbinaria conoides</i>	15
2.4.1 Ekstrak N-heksan <i>T. conoides</i>	15
2.4.2 Ekstrak Etil asetat <i>T. conoides</i>	16
2.4.3 Ekstrak Etanol <i>T.conoides</i>	17
2.5 Toksisitas	18
2.6 Uji Toksisitas LC50 DenganMetode <i>Brine Shrimp Lethalyty Test</i>	19
2.7 <i>Artemia salina</i> Leach	21
2.8 Kromatografi kolom	23
2.9 GC-MS	24
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	26
3.1.1 Bahan Penelitian	26
3.1.2 Alat Penelitian	26
3.2 Metode Penelitian	27
3.2.1 Variabel Penelitian	27
3.2.2 Rancangan Penelitian	28
3.2.3 Parameter Uji	29
3.3 Tahap penelitian	30
3.4 Prosedur penelitian	32
3.4.1 Preparasi dan Pengambilan Sampel.....	32
3.4.2 Ekstraksi Sampel	32

3.5 Uji Toksisitas Menggunakan <i>Artemia salina</i> Leach.....	33
3.5.1 Penentuan Konsentrasi Larutan Ekstrak.....	33
3.5.2 Penyiapan <i>Artemia salina</i> Leach.....	34
3.5.3 Uji Toksisitas <i>Artemia salina</i> Leach.....	34
3.5.4 Analisis data	34
3.6 Identifikasi senyawa bioaktif.....	35
3.6.1 Pemisahan ekstrak kasar dengan Kromatografi kolom	35
3.6.2 Uji GC-MS	36
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Data hasil uji toksisitas	37
4.2 Kromatografi kolom.....	40
4.3 GC-MS ekstrak etil asetat <i>T. conoides</i>	41
4.3.1 Isolat kuning.....	41
4.3.2 Isolat hitam.....	42
4.3.3 Isolat Hijau	44
4.3.4 Isolat orange	45
4.4 GC-MS ekstrak etanol <i>T.conoides</i>	46
4.4.1 Isolat hitam.....	46
4.4.2 Isolat orange	48
4.4.3 Isolat Hijau	49
5. PENUTUP	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN.....	60



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi proksimat berat kering <i>T. conoides</i>	7
2. Sifat Fisika dan kimia N-heksana	12
3. Sifat Fisika dan kimia Etil asetat.....	13
4. Sifat Fisika dan kimia Etanol	14
5. Rancangan Penelitian	29
6. Hasil uji toksisitas nilai LC ₅₀	37
7. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna kuning	42
8. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna hitam	43
9. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna hijau	44
10. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna orange.....	45
11. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna hitam	47
12. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna orange.....	48
13. Hasil identifikasi senyawa pada isolat warna hijau	49
14. Data hasil analisis GC-MS senyawa dengan puncak tertinggi.....	50
15. Data uji toksisitas	67
16. Data uji toksisitas sampel A ulangan 1	68
17. Nilai probit % mortalitas sampel A ulangan 1	69
18. Data uji toksisitas sampel A ulangan 2.....	71
19. Nilai probit % mortalitas sampel A ulangan 2	72
20. Data uji toksisitas sampel A ulangan 3.....	74
21. Nilai probit % mortalitas sampel A ulangan 3	75
22. Data uji toksisitas sampel B ulangan 1	77
23. Nilai probit % mortalitas sampel B ulangan 1	78
24. Data uji toksisitas sampel B ulangan 2.....	80
25. Nilai probit % mortalitas Sampel B ulangan 2.....	81
26. Data uji toksisitas sampel B ulangan 3.....	83
27. Nilai probit % mortalitas sampel B ulangan 3	84
28. Data uji toksisitas sampel C ulangan 1.....	86
29. Nilai probit % mortalitas sampel C ulangan 1	87
30. Data uji toksisitas sampel C ulangan 2.....	89
31. Nilai probit % mortalitas sampel C ulangan 2	90
32. Data uji toksisitas sampel C ulangan 3.....	92
33. Nilai probit % mortalitas sampel C ulangan 3	93
34. Data uji toksisitas sampel D ulangan 1	95
35. Nilai probit % mortalitas sampel D ulangan 1	96
36. Data uji toksisitas sampel D ulangan 2.....	98
37. Nilai probit % mortalitas sampel D ulangan 2	99
38. Data uji toksisitas sampel D ulangan 3.....	101
39. Nilai probit % mortalitas sampel D ulangan 3	102
40. Data uji toksisitas sampel E ulangan 1	104
41. Nilai probit % mortalitas sampel E ulangan 1	105
42. Data uji toksisitas sampel E ulangan 2.....	107
43. Nilai probit % mortalitas sampel E ulangan 2	108
44. Data uji toksisitas sampel E ulangan 3.....	110
45. Nilai probit % mortalitas sampel E ulangan 3	111
46. Data uji toksisitas sampel F ulangan 1	113
47. Nilai probit % mortalitas sampel F ulangan 1	114
48. Data uji toksisitas sampel F ulangan 2.....	116

49. Nilai probit % mortalitas sampel F ulangan 2	117
50. Data uji toksisitas sampel F ulangan 3	119
51. Nilai probit % mortalitas sampel F ulangan 3	120
52. Keragaman nilai LC50 ekstrak <i>Turbinaria conoides</i>	122



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Turbinaria conoides</i>	6
2. Struktur kimia N-heksan	12
3. Struktur kimia etil asetat	13
4. Struktur kimia etanol	14
5. <i>Artemia salina</i> Leach.....	22
6. Tahap-tahap penelitian.....	31
7. Isolat hasil kromatografi kolom	41
8. Spektrum massa senyawa target puncak keenam	42
9. Spektrum massa senyawa target puncak ketujuh.....	44
10. Spektrum massa senyawa target puncak keempat	45
11. Spektrum massa senyawa target puncak kedua	46
12. Spektrum massa senyawa target puncak ketiga.....	47
13. Spektrum massa senyawa target puncak keempat belas	49
14. Spektrum massa senyawa target puncak kedua	50
15. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 1	70
16. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 2	73
17. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 3	76
18. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 1	79
19. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 2.....	82
20. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 3.....	85
21. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 1	88
22. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 2	91
23. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 3	94
24. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 1	97
25. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 2	100
26. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 3	103
27. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 1	106
28. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 2	109
29. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 3	112
30. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 1	115
31. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 2	118
32. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan <i>Turbinaria conoides</i> Ulangan 3	121

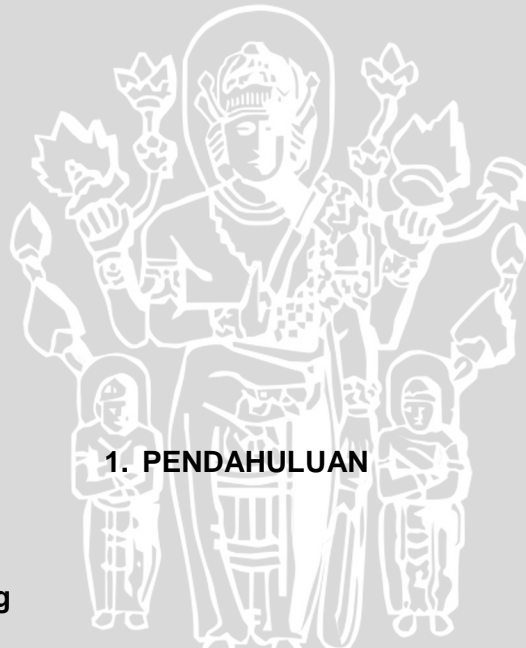


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. A. Skema ekstraksi sampel <i>T. conoides</i> dari pelarut non polar ke polar ...	62
B. Skema ekstraksi sampel <i>T. conoides</i> dari pelarut polar ke non polar ...	63
2. Pembuatan konsentrasi larutan ekstrak	64
3. Skema penetasan telur <i>Artemia salina</i> Leach	66
4. Skema kerja uji toksisitas	65
5. Prosedur pemisahan senyawa dengan kromatografi kolom	66
6. Data uji toksisitas	67
7. Data hasil penelitian	68
8. Analisa GC-MS	123
9. Dokumentasi penelitian	143



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Secara tradisional, rumput laut (alga) telah lama digunakan sebagai bahan makanan dan obat-obatan, karena kaya akan mineral, elemen makro dan elemen mikro lainnya. Rumput laut mengandung metabolit primer seperti vitamin, serat, alginat, mineral, agar dan karagenan banyak digunakan sebagai bahan kosmetik untuk pemeliharaan kulit. Sedangkan kandungan metabolit sekunder berpotensi sebagai komponen bioaktif yang berperan sebagai sebagai antibakteri, antivirus, dan antijamur dan sitotastik(Zainuddin dan Mailina, 2009). Rumput laut hijau, coklat, dan merah adalah sumber senyawa bioaktif yang

potensial dan bermanfaat sebagai anti bakteri, anti tumor, anti kanker, atau sebagai reversal agent dan industri agrokimia terutama untuk antifeedant, fungisida, dan herbisida (Bachtiar, 2007).

Turbinaria conoides merupakan salah satu jenis alga coklat yang banyak ditemukan diperairan Indonesia. Beberapa jenis alga coklat lainnya yang tersebar di wilayah Indonesia diantaranya *Turbinaria sp.*, *Padina sp.*, dan *Hormophysa sp.* (Atmadja *et al.*, 1996). Menurut penelitian Boonchum (2012), senyawa bioaktif yang dihasilkan *Turbinaria conoides* menunjukkan potensi sebagai antioksidan, antimikroba, dan aktivitas anti-inflamasi. Ditambahkan oleh penelitian Chakraborty *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa fraksi etil asetat *T. conoides* teridentifikasi secara signifikan memiliki kandungan total fenol yang tinggi yakni sebesar 105, 97 mg/g bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat *T. ornata* sebesar 66, 93 mg/g. Hasil yang sama juga ditunjukkan bila dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan dichlorometan dimana fraksi etil asetat jauh lebih tinggi.

Untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Turbinaria conoides* dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu metoda operasi yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan (solven) sebagai tenaga pemisah (Maulida dan Naufal, 2010). Menurut Septiana dan Ari (2012), proses ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap ekstraksi maupun bertingkat. Digunakan satu pelarut untuk ekstraksi satu tahap sedangkan pada ekstraksi bertingkat menggunakan dua atau lebih pelarut. Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang tepat nantinya akan dapat mengekstrak senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Turbinaria conoides* yaitu seperti tanin dan polifenol yang bersifat polar serta senyawa lainnya yang bersifat semi polar dan non polar. Beberapa pelarut yang banyak digunakan diantaranya pelarut etanol, etil asetat

dan n-heksan karna mampu memisahkan senyawa-senyawa penting dalam suatu bahan berdasarkan tingkat kepolarannya

Tahapan awal dalam mengidentifikasi potensi bioaktif dari suatu tumbuhan yakni dengan melakukan uji toksisitas. Kemampuan racun untuk menimbulkan kerusakan apabila masuk ke organ tubuh disebut dengan toksisitas. Terdapat dua unsur uji toksisitas yakni uji toksisitas LD₅₀ (*lethal dose*) dan LC₅₀ (*lethal concentration*). Selain itu, ada beberapa faktor yang mempengaruhi toksisitas berbagai organisme diantaranya spesies uji, cara racun memasuki tubuh, frekuensi dan lamanya paparan, konsentrasi zat pemapar, bentuk sifat kimia atau fisika zat pencemar dan kerentanan berbagai spesies terhadap pencemar (Soemirat, 2005).

Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan dan berpotensi sebagai senyawa bioaktif dalam uji toksisitas biasanya menggunakan hewan percobaan, salah satu hewan uji yang sering digunakan dalam uji toksisitas biasanya menggunakan hewan percobaan, larva udang *Artemia salina* Leach. Menurut Meyer (1982), pengujian toksisitas dengan *Artemia salina* Leach. dikenal dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji toksisitas dengan metode ini terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksis sebagai senyawa bioaktif. Penelitian yang dilakukan oleh Awik *et al.*, 2006 menunjukkan nilai LC₅₀ yakni 23,3346 ppm dalam studi pendahuluan potensi antikanker dengan menggunakan ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* Leach. Penelitian lain yang dilakukan oleh Runtuwene dan Jessy (2011) menyatakan bahwa nilai LC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak metanol daun yaki *Areca Vestiaris Giseke* adalah 101,912 ppm. Namun penelitian mengenai uji toksisitas menggunakan ekstraksi secara bertingkat dengan pelarut yang berbeda dari alga coklat *Turbinaria conoides* belum banyak ditemukan dalam penelitian. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas ekstrak kasar

alga coklat *Turbinaria conoides* dengan pelarut yang berbeda terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach yang bertujuan mencari nilai LC_{50} .

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari pernyataan latar belakang diatas yaitu:

- Seberapa besar nilai LC_{50} ekstrak kasar *Turbinaria conoides* terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach dengan perlakuan ekstraksi bertingkat dari pelarut non polar ke polar dan pelarut polar ke non polar

1.3 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- Mendapatkan nilai LC_{50} ekstrak kasar alga coklat *Turbinaria conoides* dengan perlakuan ekstraksi bertingkat dari pelarut non polar ke polar dengan pelarut polar ke non polar terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach.

1.4 Hipotesa Penelitian

Hipotesa penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H_0 : Diduga ekstrak kasar *T. conoides* menggunakan pelarut yang berbeda tidak berpengaruh terhadap nilai LC_{50} hewan uji *Artemia salina* Leach
- H_1 : Diduga ekstrak kasar *T. conoides* menggunakan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap nilai LC_{50} hewan uji *Artemia salina* Leach

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini antara lain:

- Untuk mengetahui potensi ketoksikan dari alga coklat *Turbinaria conoides* melalui perlakuan ekstraksi bertingkat dari pelarut non polar ke polar dan pelarut polar ke non polar terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach.
- Diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat mengenai potensi senyawa bioaktif dari alga coklat *Turbinaria conoides* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.
- Penelitian ini juga diharapkan dapat menambah informasi ilmu pengetahuan di bidang perikanan terutama *Turbinaria conoides*.

1.6 Waktu dan tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan April 2015 - Agustus 2015 bertempat di Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan dan Laboratorium Reproduksi, Pemuliaan dan Pembenuhan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium PT. Gelora Djaja Surabaya.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga coklat *Turbinaria conoides*

Rumput laut merupakan makro alga yang hidup di dasar perairan laut dimana tidak memiliki akar, batang dan daun sejati. Salah satu jenis rumput laut adalah jenis rumput laut coklat *T. conoides*. Rumput laut jenis ini memiliki pigmen yang terdapat dalam organel sel dan disebut plastida (Yenusi, *et al.*, 2014). Rumput laut telah dikelompokkan menjadi 3 jenis berdasarkan warna tallus yaitu rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut hijau (*Chlorophyta*) dan rumput laut coklat (*Phaeophyta*) (Susanto, 2008).

Alga termasuk divisi Thallophyta (Tumbuhan bertalus), karena mempunyai struktur kerangka tubuh (morfologi) yang tidak berdaun, berbatang dan berakar. Hanya terdiri dari talus saja (Aslan, 1999). Kelompok alga yang secara umum berwarna coklat atau pirang disebut dengan alga coklat. Warna tersebut tidak akan berubah walaupun alga ini mati atau kekeringan. Namun beberapa jenis misal pada sargassum sp., warnanya akan sedikit berubah menjadi hijau kebiruan apabila mati kekeringan. Bentuk thalli bervariasi dan bisa mencapai ukuran relatif besar. Ukuran tersebut lebih tinggi daripada jenis alga merah ataupun hijau lainnya (Atmadja, 1996).

Turbinaria adalah ganggang laut dari divisi "*Phaeophyceae*" (ganggang coklat). Tubuh tanaman ini bercabang dan berbeda dengan lainnya. Kedua konstruksi eksternal dan internal sangat rumit. Pigmen fotosintesis adalah klorofil a, b, dan fucoxanthin sehingga muncul berwarna coklat. Fotosintesis makanan cadangan yakni laminarin dan manitol. *Turbinaria* bereproduksi secara seksual dan aseksual, badan reproduksi motil diproduksi dalam siklus hidup mereka (Gonsalves, 2010).

2.1.1 Deskripsi *Turbinaria conoides*

Menurut Zipcodezoo (2015), Klasifikasi dari *T. conoides* adalah sebagai berikut dan gambar *T. conoides* dapat dilihat pada Gambar 1:

Kingdom : Chromista
Phylum : Ochrophyta
Class : Phaeophyceae
Order : Fucales
Family : Sargassaceae
Genus : *Turbinaria*
Species : *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kützing



Gambar 1. *Turbinaria conoides*

Menurut Niobioinformatics (2015), bentuk talus *T. conoides* yakni tegak sepanjang 13 cm. Berwarna coklat gelap dan melekat pada substrat dengan cabang yang cepat berkembang; sumbu tegak adalah subsylindrical sebagai alternatif pendukung dan polystichously diatur mengintai daun. Panjang daun sekitar 13-20 mm dengan substrat tangkai sedikit meruncing di bawah dan diperluas membentuk segitiga di atas. Bagian marjinal mungkin vesiculate atau evesiculate luasnya sekitar 10-15 mm, cekung di bagian tengah dan bagian luar dilapisi oleh gigi prominent tajam.

Japan International Research Center for Agricultural Sciences (2012) menjelaskan bahwa alga coklat *T. conoides* memiliki akar kuat yang bercabang dan terdapat banyak cabang sekunder. Daun segitiga tipis cekung di pusat dan memiliki margin tunggal dengan gerigi tajam yang besar. Alga coklat ini tumbuh di bebatuan di zona subtidal di sepanjang garis pantai yang relatif tenang dengan gerakan air.

T. conoides banyak tersebar di wilayah perairan di India. Menurut Sahoo (2010), sepanjang perairan india banyak ditemukan jenis alga coklat *T. Conoides*. Alga coklat ini tersebar mulai pulau Andaman dan Nicobar, Pulau Laskshadweep Island, maharashtra, Kerala, Tamil Nadu (Pulau Krudai, Tuticorin, Mandapam, Pamban, dan Gulf dari Mannan), Gujarat (Okha), Andhra Pradesh (Visakhapatnam).

2.1.2 Kandungan kimia *Turbinaria conoides*

Menurut Santhanam (2015), Kandungan nutrisi *T. conoides* dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Proximate Composition Dry Weight (%)

Protein	Fiber	Lipid
7,40	29,61	0,59

Sumber : Santhanam (2015)

Alga coklat mengandung senyawa-senyawa kimia diantaranya karaginan, protein, karbohidrat, lemak, serat, alginat karatenoid, dan lainnya. Salah satu jenis alga coklat mengandung beberapa senyawa kimia adalah *T. conoides*. Menurut penelitian Yenusi *et al.*, (2014) berdasarkan metode KCKT diperoleh kandungan fucosantin pada alga coklat *T. Conoides* yang teridentifikasi pada 1 pita dengan waktu tambat 4,92 dengan pola absorbansi pada panjang gelombang 448-467. Dari hasil uji DPPH diperoleh bahwa *T. Conoides* memiliki potensi antioksidan sebesar 1622, 0 ppm dibandingkan dengan marker β karoten alami sebesar 410,3 ppm.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kumar *et al.*, (2009) ditemukan dua steroid baru pada *T. conoides* yakni 3,6,17-trihidroksi-stigmasta-4,7,24 (28) -triene (1) dan 14,15,18,20-diepoxyturbinarin (3), dan senyawa fucosterol (2) yang diisolasi dari ekstrak sikloheksana. Struktur tersebut telah ditetapkan

berdasarkan bukti spektroskopi. Metode difusi standar digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC). Senyawa 1-3 menunjukkan aktivitas antibakteri moderat terhadap bakteri diuji dan menghambat pertumbuhan jamur dengan nilai MIC mulai 2-16 mg mL⁻¹. senyawa 3 memiliki kemampuan paling tinggi melawan *Aspergillus niger*, dengan nilai MIC sebesar 2,0 mg mL⁻¹. Isolasi senyawa antijamur dari *T. conoides* dilaporkan untuk pertama kalinya. Hasil ini menunjukkan bahwa 14,15,18,20-diepoxyturbanarin (3) dapat dikembangkan sebagai agen utama antijamur.

Selain itu, *T. conoides* memiliki potensi kandungan fucoidan yang tinggi. Hal ini didukung dengan adanya penelitian dari Chattopadhyay (2009) yang mendapatkan hasil isolasi fucoidan (AF3), asam alginat (B) dan glukosa netral (C1F2) dari *T. conoides*. Glukan terdiri dari residu glucopyranosyl β- (1 → 3) dan memiliki massa molekul 5 kDa. Asam alginat mengandung proporsi equimolar, residu asam guluronat, dan manuronat. Fucoidan memiliki cabang dan massa molekul rata-rata 50 kDa. Fucoidan (AF3) menunjukkan potensi tertinggi diikuti oleh alginat (B) dan laminaran (C1F2). Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa polisakarida dalam *T. conoides* dapat digunakan sebagai antioksidan alami oleh industri makanan.

Alga coklat juga memiliki kandungan nutrisi protein yang bervariasi. Kisaran nilai protein adalah sebesar 7–16 gram/100 gram berat kering. Protein alga coklat mengandung semua jenis asam amino esensial yaitu lisin, fenil alanin, metionin, leusin dan valin (Ortiz *et al.*, 2006; Dawczynski *et al.*, 2007). Aktivitas antimikroba senyawa protein dari alga coklat juga telah diteliti oleh Arifuddin *et al.*, (2011), melaporkan bahwa fraksi protein 40-60 % dari alga coklat *Sargassum echinocarpum* J.G Agardh dan *Turbinaria decurrens* Bory efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat > 14 mm.

2.1.2 Manfaat *Turbinaria conoides*

Menurut Kumar dan Yatendra (2012), Dari segi sitotoksitas *T. conoides* dapat digunakan sebagai obat yang efektif untuk demam anak-anak dan sebagai antibakteri. *T. conoides* memiliki 2 steroid baru dan fucosterol dari ekstrak sikloheksana. Di antara empat ekstrak *T. conoides*, ekstrak sikloheksana yang mendukung dalam aktivitas antimikroba dan antipiretik. Ditambahkan oleh penelitian yang dilakukan Sethi (2014), menunjukkan bahwa *T. conoides* memiliki aktivitas antivirus yang baik bila dibandingkan dengan ganggang air Marsilea quadrifolia. Pada konsentrasi 1000 mg / mL, ekstrak *T. Conoides* toluena : metanol (2:1 v/v) mampu mengurangi pembentukan lesi hampir 64%. Pada konsentrasi 1,0 mg / mL, fraksi aktif ekstrak residu toluena: metanol dapat mengurangi pembentukan lesi hampir 44%.

Selain sebagai antibakteri, alga coklat *T. conoides* memiliki beberapa manfaat lain yang menguntungkan. Menurut hasil penelitian yang dilakukan Hii *et al.*, (2009), menunjukkan bahwa *T. conoides* memiliki kemampuan untuk menyerap rhodamin B (RB) dari larutan diselidiki dalam sistem campuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kapasitas penyerapan *T. conoides* meningkat dengan meningkatnya suhu, dan terjadi penurunan konsentrasi awal zat warna dan pH. Studi keseimbangan penyerapan menggunakan model *Langmuir* dan *Freundlich* menunjukkan bahwa biosorpsi Rhodamin B digunakan dengan baik untuk isoterm *Langmuir*. Penelitian ini menunjukkan bahwa *T. conoides* memiliki potensi sebagai biosorben untuk menghilangkan RB dari air limbah.

2.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metoda operasi yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan (solven) sebagai tenaga pemisah. Apabila komponen

yang akan dipisahkan (solute) berada dalam fase padat, maka proses tersebut dinamakan pelindihan atau leaching (Maulida dan Naufal, 2010). Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik semua kandungan kimia yang terdapat pada simplisia. Proses ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sudjadi, 1986).

Ekstraksi senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman dapat dipengaruhi berbagai aspek, baik dari teknis penyarian maupun faktor tanaman itu sendiri. Sistem penyarian dan polaritas pelarut sangat menentukan perpindahan senyawa kimia tanaman dari dalam sel ke dalam cairan pelarut. Polaritas cairan pelarut yang digunakan bergantung dari sifat kimia senyawa aktif yang akan diekstraksi dan kemampuan menembus membran sel (Rais, 2014).

Tahapan ekstraksi terdiri dari pembuatan serbuk, pembasahan, penyarian, dan pemekatan. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan yang seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Depkes RI, 2000). Ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap ekstraksi maupun bertingkat. Pada ekstraksi satu tahap digunakan satu pelarut untuk ekstraksi sedangkan pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut (Septiana dan Ari, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa, metode ekstraksi dapat mempengaruhi sifat fisikomia dari ekstrak yang dihasilkan.

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yakni lam ekstraksi, suhu, dan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut sehingga bahan dapat larut. Ada tiga jenis pelarut,

yaitu pelarut polar, semi-polar, dan non polar. Prinsip pemilihan pelarut adalah like dissolve like, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non polar (Nugraheny, 2009). Dalam penelitian ini, digunakan 3 jenis pelarut yang berbeda yakni n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan atanol (polar) dengan metode ekstraksi secara bertingkat dan tidak bertingkat (satu tahap).

Proses ekstraksi bertingkat memiliki kekurangan yakni rendemen ekstrak yang diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan proses ekstraksi tunggal (Prabowo, 2009). Namun disisi lain, ekstraksi bertingkat diharapkan mampu memisahkan komponen bioaktif dalam sampel yang sam berdasarkan tingkat kepolarannya, tanpa harus komponen bioaktif tersebut terlarut pada pelarut lain yang bukan merupakan pelarutnya. Sebagai contoh proses ekstraksi tunggal menggunakan pelarut metanol. Metanol adalah pelarut polar yang dapat melarutkan komponen non polar dan semi polar. Sehingga untuk menghindari hal yang tidak diinginkan tersebut maka proses ekstraksi bertingkat diawali dengan ekstraksi menggunakan pelarut non polar (kloroform p.a) terlebih dahulu, dilanjutkan dengan pelarut semipolar (etil asetat p.a) dan terakhir menggunakan pelarut polar (metanol p.a.) (Apriandi, 2011).

2.3 Pelarut Ekstraksi

2.3.1 N-heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$. Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhirnya berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. N-Hexana merupakan jenis

pelarut non polar (Maulida dan Naufal, 2010). Struktur kimia pelarut organik n-heksan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia n-heksan

Senyawa-senyawa non-polar yang terkandung dalam sampel dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang bersifat nonpolar pula, salah satunya adalah n-heksan. Pelarut n-heksan merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non-polar karena memiliki beberapa keunggulan, diantaranya karena pelarut ini bersifat relatif stabil, mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat (Satria *et al.*, 2013). Sifat Fisika dan Kimia n-heksana dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia N-Heksana

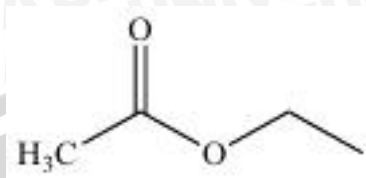
Karakteristik	Syarat
Bobot Molekul	86,2 gram/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	-95°C
Titik didih	69 °C (pada 1 atm)
Densitas	0,6603 gr/ml pada 20 °C

Sumber: Kastanti dan Amalia, (2008)

2.3.2 Etil Asetat

Etil asetat merupakan senyawa ester yang paling umum digunakan. Ester ini secara struktural berasal dari asam karboksilat dengan mengganti hidrogen asam dengan gugus alkil atau aril. Etil asetat sendiri adalah cairan tak berwarna pada suhu kamar. Etil asetat memiliki banyak kegunaan, seperti esens buah buatan, rasa buatan untuk permen, es krim dan kue, sebagai pelarut dalam

banyak aplikasi (termasuk teh dan kopi decaffeinating) untuk pernis dan cat, dan untuk pembuatan tinta cetak serta parfum (Cotton, 2015). Struktur kimia pelarut organik etil asetat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia etil asetat

Etil asetat dibuat melalui esterifikasi fischer dari asam asetat glacial dan etanol disertai katalis asam seperti asam sulfat. Kondisi optimum untuk menghasilkan etil asetat yaitu pada suasana asam dengan penambahan asam sulfat sebanyak 5 ml. Suhu pemanasan yaitu pada titik didih etil asetat 77,06 °C selama 30 menit dengan media penangas parafin yang memiliki titik didih yang lebih tinggi dari air (Yanti, 2015). Menurut penelitian Putri *et al.*, (2013) menyatakan bahwa etil asetat merupakan pelarut semi polar dengan toksisitas rendah sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar dari kulit buah manggis. Sifat fisik dan kimia etil asetat dapat dilihat pada Tabel 3.

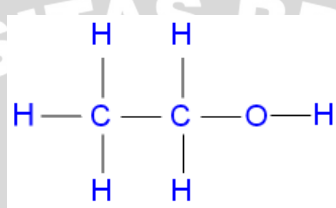
Tabel 3. Sifat fisik dan kimia Etil Asetat

Ciri-ciri	Hasil
keadaan fisik	Cair
Warna	berwarna
Bau	bau seperti buah-buahan
Bolling titik	77 ° C
Kepadatan relatif	0,9 pada 20 ° C
Titik nyala	-4 ° C
Tekanan uap	senyawa organik yang mudah menguap
Kelarutan air	sangat larut
Partisi air octanol	Tidak berpotensi bioaccumulable

Sumber: Rhodia (2012)

2.3.3 Etanol

Etanol disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja), adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Karena sifatnya yang tidak beracun bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol merupakan jenis pelarut polar (Maulida dan Naufal, 2010). Struktur kimia pelarut organik etanol dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia etanol

Etanol termasuk rantai tunggal yang banyak digunakan sebagai pelarut berbagai bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Contohnya adalah pada parfum, perasa, pewarna makanan dan obat-obatan. Senyawa ini merupakan obat psikoaktif dan ditemukan pada minuman beralkohol dan termometer modern. Dalam kimia, etanol adalah pelarut yang penting sekaligus sebagai stok umpan untuk sintesis senyawa kimia lainnya. Dalam sejarahnya etanol telah lama digunakan sebagai bahan bakar (Yanti, 2015). Sifat fisika kimia etanol dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sifat Fisika Kimia Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C_2H_5OH
Massa molekul relative	46,07 g/mol
Titik leleh	$-114,3^{\circ}C$
Titik didih	$78,32^{\circ}C$
Densitas pada $20^{\circ}C$	$0,7893 \text{ g/cm}^3$
Kelarutan dalam air $20^{\circ}C$	Sangat larut
Viscositas pada $20^{\circ}C$	1,17cP
Kalor spesifik pada $20^{\circ}C$	$0,579 \text{ kal/g}^{\circ}C$

Sumber: Rizani (2000)

2.4 Kandungan Ekstrak Alga coklat *Turbinaria conoides*

Ekstraksi menggunakan pelarut dilakukan dengan cara mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat dari residu bahan yang diekstrak. Pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi misalnya polaritas. Suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Derajat polaritas tergantung pada ketetapan dielektrik. Tetapan dielektrik dari heksana, etil asetat, etanol, metanol dan air masing-masing adalah 1.89; 6.02; 24.30; 33.60; dan 80.40. Makin besar tetapan dielektrik makin polar pelarut tersebut (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Pada penelitian ini digunakan 3 pelarut dimana pada masing-masing pelarut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang digunakan adalah pelarut n-heksan (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Perbedaan polaritas pelarut dimaksudkan untuk mengekstrak sempurna seluruh kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sampel. Menurut Wiryowidagdo (2000), golongan senyawa metabolit sekunder yang larut dalam pelarut non polar adalah golongan senyawa metabolit sekunder yang larut dalam pelarut non polar adalah golongan minyak atsiri, asam lemak tinggi, steroid-triterpenoid dan karatenoid. Untuk metabolit sekunder yang larut dalam pelarut semi polar adalah senyawa alkaloid, senyawa fenol termasuk kumarin dan flavonoid dan golongan asam lemak. Sedangkan golongan metabolit sekunder yang bersifat polar yaitu golongan antosianin, glikoasida, saponin, tanin dan juga golongan karbohidrat.

2.4.1 Ekstrak n-heksan *T. conoides*

N-heksan merupakan pelarut organik yang tergolong non polar. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar dalam suatu sampel dapat diekstraksi dengan

pelarut yang memiliki kepolaran yang sama yakni pelarut non polar. Pelarut polar seperti n-heksan, kloroform dan lainnya mampu menyerap senyawa golongan triterpenoid/steroid dan beberapa senyawa lainnya. Menurut Nurjannah *et al.*, (2011) komponen triterpenoid/steroid terdeteksi pada ekstrak kasar kloroform dan etil asetat karena prekursor dari pembentukan triterpenoid/steroid adalah kolesterol yang bersifat non polar sehingga diduga triterpenoid/steroid dapat larut pada pelarut organik (non polar).

Pada penelitian yang dilakukan oleh chakraborty *et al.*, (2013), ekstrak *T.conoides* dari fraksi n-heksan memperoleh total fenol sebesar 19,26 mg/g. Hasil ini lebih rendah daripada perolehan ekstrak dari fraksi dichlorometan dan etil asetat. Ditambahkan oleh Septiana dan Ari (2012) bahwa ekstrak n-heksan alga coklat *S. Duplicatum* positif mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Bagian terpenoid pada ekstrak n-heksan lebih banyak sehingga senyawa ini mudah larut pada senyawa non polar. Menurut Tamat *et al.*, (2007), Berdasarkan hasil uji golongan senyawa atau uji fitokimia terhadap ekstrak kasar sampel *Ulva reticulata* Forskall, diperkirakan bahan aktif yang menjadi pusat perhatian adalah senyawa terpenoid karena banyak senyawa terpenoid dari bahan alam memiliki khasiat sebagai senyawa toksik.

2.4.2 Ekstrak Etil asetat *T.conoides*

Etil asetat merupakan salah satu jenis pelarut dari golongan semi polar. Pelarut semi polar mampu melarutkan beberapa golongan senyawa seperti alkaloid, fenol termasuk flavonoid dan asam lemak. Pada penelitian yang dilakukan oleh chakraborty *et al.*, (2013) menyatakan bahwa fraksi etil asetat *T. conoides* teridentifikasi secara signifikan memiliki kandungan total fenol yang tinggi yakni sebesar 105,97 mg/g bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat *T.ornata* sebesar 66,93 mg/g. Hasil yang sama juga ditunjukkan bila

dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan dichloromethane dimana fraksi etil asetat jauh lebih tinggi. Laporan sebelumnya menunjukkan adanya senyawa fenolik yaitu catechin dan epigallocatechin di fraksi etil asetat rumput laut coklat, terutama *Turbinaria spp*(Kuda *et al.*, 2005).

Selain itu, penelitian yang dilakukan Septiana dan Ari (2012) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat *S. Duplicatum* mempunyai kadar total fenol tertinggi yaitu 377, 250 mg/g yang tidak berbeda dengan ekstrak etanol. Dari hasil uji fitokimia, alga coklat *S. Duplicatum* secara kualitatif mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin pada ekstrak etil asetat. Ditambahkan oleh Sukandar *et al.*, (2007) berdasarkan uji GC-MS terdapat 4 golongan senyawa utama yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun pandan wangi , yaitu asam lemak (lemak), terpenoid, steroid, dan vitamin. Diantara senyawa-senyawa tersebut yang diduga bersifat toksik terhadap udang *A. Salina* Leach adalah senyawa terpenoid dan steroid. Senyawa terpenoid yang terdapat dalam ekstrak etil asetat meliputi neofitadiena, 3,7,11,15- tetrametil 2-heksadekena, fitol, skualena, dan gamma.-cis-seskuisiklogeraniol.

2.4.3 Ekstrak Etanol *T. conoides*

Pelarut etanol diharapkan mampu mengambil senyawa polar pada *T. conoides*. Pada penelitian yang dilakukan Boonchum *et al.*, (2012) diperoleh total fenol ekstrak etanol *T. conoides* sebesar 0,192 mg/g. Jumlah ini lebih kecil bila dibandingkan dengan perolehan total fenol pada ekstrak air *T. conoides* yakni sebesar 1,116 mg/g. Hal ini menunjukkan ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada ekstrak etanol. Terdapat banyak senyawa polifenol hidrofilik dalam rumput laut, misalnya epigallocatechin gallate, epicatechin dan phlorotannins, yang merupakan komponen antioksidan yang kuat.

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Rohimat *et al.*, (2014) menyatakan bahwa proses ekstraksi dengan pelarut metanol (non polar) menggunakan metode maserasi dari rumput laut segar *T. Conoides* dan *S. Cristoefolium* menghasilkan ekstraksi dari kedua ekstrak yakni berwarna hijau kecoklatan dimana warna hijau tersebut diindikasikan mengandung klorofil sedangkan warna coklat diakibatkan karena adanya karetonoid yang didominasi oleh fukosantin dan pigmen lain dari kedua ekstrak tersebut. Menurut Nurjannah *et al.*, (2011) Ekstrak metanol (polar) memiliki komponen bioaktif alkaloid dan flavonoid. Keberadaan senyawaini pada ekstrak metanol diduga sangat berperan dalam meredam radikal bebas DPPH pada pengujian yang dilakukan, sehingga memberikan nilai IC50 yang lebih kecil dibanding ekstrak kloroform dan etil asetat.

2.5 Toksisitas

Ilmu yang mempelajari efek merugikan dari zat-zat kimia terhadap organisme hidup disebut dengan Toksikologi. Selain itu, toksikologi juga mempelajari kerusakan atau cedera organisme seperti hewan, tumbuhan, dan manusia yang diakibatkan oleh suatu materi substansi atau energi. Tidak hanya mempelajari efek yang ditimbulkan, melainkan juga mekanisme terjadinya efek tersebut pada organisme dan mengetahui kerugian yang ditimbulkan terhadap organisme serta mempelajari secara kualitatif dan kuantitatif pengaruh jelek dari zat kimiawi, fisid, dan biologis terhadap sistem biologis (Soemirat, 2003).

Toksisitas dapat diartikan sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan. Uji toksisitas akut dilakukan dengan cara pemberian suatu senyawa yang diberikan dengan dosis tunggal pada hewan uji tertentu selama pengamatan dilakukan 24 jam. Toksisitas akut digunakan untuk menentukan suatu gejala dan tingkat kematian hewan uji akibat pemberian

senyawa tersebut. Pengamatan aktivitas biologi uji berupa pengamatan gejala klinik, kematian hewan uji atau pengamatan organ (Panjaitan, 2011).

Menurut Leusch and Heather (2011) tujuan dari pengujian toksisitas adalah untuk menentukan apakah suatu senyawa atau air sampel memiliki potensi untuk menjadi racun bagi organisme biologis dan sampai sejauh mana pengaruhnya. Keracunan dapat dievaluasi dalam organisme utuh (in vivo) atau menggunakan molekul atau sel (in vitro). Keuntungan utama dari pengujian toksisitas adalah mendeteksi secara dini senyawa beracun berdasarkan aktivitas biologis mereka, dengan demikian tidak memerlukan pengetahuan apriori dari racun untuk mengidentifikasi kehadirannya (seperti analisis kimia). Sedangkan kerugian dari uji ini adalah hanya dapat menentukan apakah senyawa beracun atau tidak, tanpa proses identifikasi yang tentunya sangat diperlukan untuk penelitian lanjutan.

2.6 Uji Toksisitas LC_{50} Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Potensi toksisitas zat kimia yang sering disajikan sebagai LC_{50} . LC_{50} adalah konsentrasi zat yang mematikan 50% dari organisme dalam uji toksisitas. LC_{50} dapat ditentukan untuk setiap waktu paparan, tetapi periode paparan yang paling umum adalah 96 jam. Jangka waktu yang umum lainnya adalah 24, 48, dan 72 jam. Sebagai aturan umum, semakin lama paparan, semakin rendah LC_{50} . Jika paparan cukup lama, nilai LC_{50} asimtotik dapat diperoleh LC_{50} asimtotik tidak tergantung waktu (Boyd, 2005).

Interactive Learning Paradigms Incorporated (2010), menjelaskan bahwa nilai LC_{50} merupakan konsentrasi bahan di udara yang membunuh 50% dari subyek tes (hewan, biasanya tikus atau tikus) bila diberikan paparan tunggal (biasanya 1 atau 4 jam). Dapat dikatakan bahwa konsentrasi ini mampu mematikan median. Nilai ini memberikan gambaran tentang toksisitas akut relatif

bahan inhalable. Nilai ini berlaku untuk uap, debu, kabut dan gas sedangkan padatan dan cairan menggunakan nilai LD₅₀ (50% dosis yang mematikan).

Berbagai macam pengujian dilakukan untuk menentukan tingkat toksisitas senyawa cemaran ekstrak kasar alga coklat *T. conoides*. Salah satu cara pengujian yang dilakukan adalah dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Meyer *et al.*, (1982), mengembangkan metode ini untuk mendapatkan senyawa bioaktif baru dari tumbuhan tingkat tinggi. Metode ini banyak digunakan untuk uji hayati dalam analisis residu pestisida, anestetika dan zat pencemar air. Keuntungan metode ini adalah cepat, tidak mahal, mudah dilakukan dan tidak membutuhkan peralatan yang rumit.

Metode yang sering digunakan sebagai skrining awal untuk tumbuhan yang mempunyai aktivitas antikanker menggunakan hewan uji *artemia salina* Leach. disebut *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Maukar *et al.*, 2011). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metode ini dapat digunakan sebagai *bioassay guided fractionation* dari bahan alam karena mudah, cepat, murah, dan cukup reproduksibel. Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan aktivitasnya dimonitor dengan BST menunjukkan adanya korelasi terhadap uji spesifik antikanker (Harmita dan Maksum, 2008).

Dalam analisis statistika untuk mendapatkan LC₅₀ adalah dengan menggunakan analisa probit. Metode analisa ini diperkenalkan oleh D.J. Finney tahun 1971 yang menggunakan rumus regresi linier. Menurut Akomoda *e at al.*, (2013) analisis probit merupakan model regresi khusus respon variabel binomial. Hal ini digunakan untuk menganalisis berbagai jenis respon dosis atau respon eksperimen binomial dalam berbagai bidang. Analisis Probit umumnya digunakan dalam toksikologi untuk menentukan toksisitas relatif bahan kimia pada organisme hidup. Hal ini dilakukan dengan pengujian respon suatu organisme

dalam berbagai konsentrasi masing-masing bahan kimia yang bersangkutan kemudian dibandingkan.

2.7 *Artemia salina* Leach.

Artemia salina atau *brine shrimp* adalah salah satu jenis udang primitif tingkat rendah yang termasuk dalam filum arthropoda, kelas crustacea, ordo anostraca dan famili artemidae. *Artemia* hidup di air laut berkadar garam tinggi yakni 15-300 per mil, bersuhu 26-31 °C dan pH 7,3-8,4. Kemampuan *artemia* yang mampu bertahan hidup di lingkungan yang memiliki kadar garam tinggi membuat *artemia* relatif aman dari gangguan organisme pemangsa lain (Bachtiar, 2003).

Uji pendahuluan senyawa aktif pada ekstrak tanaman biasanya dilakukan dengan hewan uji. Salah satu hewan uji yang sesuai adalah *brine shrimp* (udang laut) *Artemia salina* Leach. Hewan uji ini sejenis udang-udangan primitif dan pertama kali ditemukan di Lymington, Inggris pada tahun 1755 dan termasuk famili crustaceae tingkat rendah dari phylum arthropoda (Purwakusuma, 2007). Hewan uji *Artemia salina* Leach disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach. memiliki tubuh yang terdiri dari tiga segmen kepala, dada dan perut. Spesies ini berkembang biak secara dimorfisme seksual. morfologi utama perbedaan antara jantan dan betina yakni jarak maksimum

antara mata majemuk, panjang antena pertama, lebar segmen perut ketiga, total panjang, diameter mata majemuk, dan panjang perut. Panjang artemia jantan mencapai 8-10 mm dan betina 10-12 mm. Artemia dewasa memiliki tiga mata dan 11 pasang kaki. Warna dewasa bervariasi tergantung pada konsentrasi garam dalam air (konsentrasi tinggi berwarna merah). Darah mereka mengandung pigmen hemoglobin (Dumitrascu, 2011).

Prinsip sederhana dari pengujian toksisitas LC_{50} menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. dengan ekstrak kasar adalah kematian organisme zoologik secara in vivo merupakan metode dasar monitoring yang mudah untuk penapisan dan fraksinasi senyawa tersebut (Setiarto, 2009). Metode uji toksisitas dengan *Artemia salina* Leach lebih dikenal dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang merupakan salah satu metode skrining bahan yang berpotensi sebagai tanaman berkhasiat. Efek toksik pada hewan uji artemia salina, merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Artemia salina* Leach. memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif (Suhirman *et al.*, 2006).

Kandungan senyawa bioaktif dari alga coklat seperti flavonoid, saponin, polifenol, tanin, dan lainnya dalam kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta mampu menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Menurut Mutia (2010), mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa-senyawa yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini

mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya. Akibatnya, larva mati kelaparan.

2.8 Kromatografi Kolom

Kromatografi merupakan proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fase gerak dan fase diam. Fase diam dapat berupa pembentukan kolom dimana fase gerak dibiarkan untuk naik berdasarkan kapilaritas (kromatografi lapis tipis). Perlu diperhatikan bahwa senyawa yang berbeda memiliki koefisien partisi yang berbeda antara fase gerak dan diam. Senyawa yang berinteraksi lemah dengan fase diam akan bergerak lebih cepat melalui sistem kromatografi. Senyawa dengan interaksi yang kuat dengan fase diam akan bergerak sangat lambat (Skoog, 1996).

Kromatografi kolom dapat digunakan untuk memurnikan senyawa jika adsorben (fase diam), fluida pembawa (fase gerak), dan kondisi operasi yang digunakan tepat. Campuran yang akan dianalisis dielusikan dalam kolom. Fase gerak dituangkan pada bagian atas kolom dan mengalir ke bawah kolom sehingga menyebabkan komponen dari campuran menyebar diantara adsorben (fase diam) dan eluen (fase gerak). Interaksi suatu senyawa terhadap kedua fase yang digunakan memisahkan senyawa dari campurannya (Netty, 2006).

Sebelum pengujian menggunakan alat GC-MS, ekstrak kasar dengan nilai LC_{50} terendah (toksik) dipisahkan senyawanya melalui proses kromatografi kolom untuk menghasilkan fraksi. Menurut Sastrohamidjojo (2005), prinsip pemisahan kromatografi kolom didasarkan pada afinitas kepolaran analite dengan fase diam, sedangkan fase gerak selalu memiliki kepolaran yang berbeda dengan fase diam. Untuk laju aliran pergerakan fase gerak dapat dipercepat dengan alat pompa atau gas dengan kompresi (misalnya udara, nitrogen, dan argon). Tujuan adalah untuk mendorong pelarut pada fase gerak

melalui kolom dengan cepat. Fase gerak dapat diisi dengan bahan seperti alumina, silika gel atau pati yang dicampur adsorben. Selama perjalanan turun, zat terlarut akan mengalami proses adsorpsi dan partisi berulang-ulang.

2.9 GC-MS

GC-MS adalah perpaduan dari kromatografi gas dan spektroskopi massa. Senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas, selanjutnya dideteksi atau dianalisis menggunakan spektroskopi massa. Pada GC-MS aliran dalam kolom terhubung secara langsung pada ruang ionisasi spektrofotometer massa. Pada ruang ionisasi semua molekul akan terionisasi, dan ion dipisahkan berdasarkan massa dan rasio muatannya. (Harvey, 2000).

Kromatografi didasarkan pada perbedaan kepolaran dan massa molekul sampel yang dapat diuapkan. Sampel yang berupa cairan atau gas dapat langsung diinjeksikan ke dalam injektor, jika sampel dalam bentuk padatan maka harus dilarutkan pada pelarut yang dapat diuapkan. Aliran gas yang mengalir akan membawa sampel yang teruapkan untuk masuk ke dalam kolom. Komponen-komponen yang ada pada sampel akan dipisahkan berdasarkan partisi diantara fase gerak (gas pembawa) dan fase diam (kolom). Hasilnya adalah berupa molekul gas yang kemudian akan diionisasikan pada spektrofotometer massa sehingga molekul gas itu akan mengalami fragmentasi yang berupa ion-ion positif. Ion positif akan memiliki rasio yang spesifik antara massa dan muatannya (Karliawan, 2009).

Penerapan kromatografi gas di berbagai bidang antara lain di bidang obat-obatan dan farmasi, lingkungan hidup, industri minyak, kimia klinik, pestisida dan residunya, serta bidang pangan. Khusus di bidang pangan, kromatografi gas digunakan untuk menetapkan kadar antioksidan dan bahan pengawet makanan. Selain itu juga digunakan untuk analisis sari buah, anggur wine, bir sirup, keju,

minuman, aroma makanan, minyak produk susu, produk-produk penguraian, kontaminan, bahan pemalsu dan sebagainya (Purwaningtyas, 2010). Pada penelitian ini, pengujian GC-MS didasarkan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada *Turbinaria conoides* khususnya senyawa yang bersifat toksik. Ekstrak kasar yang telah melalui proses kromatografi kolom dipilih berdasarkan tingkat toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. Ekstrak dengan nilai LC_{50} rendah (toksik) yang akan diuji kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.



3. Materi dan Metode Penelitian

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama yakni rumput laut coklat jenis *T. conoides* yang diperoleh dari desa padike, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur dalam keadaan masih segar dan hewan uji *Artemia salina* Leach. yang didapatkan dari hasil pengkulturan. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi terdiri dari pelarut etanol, n-heksan, dan etil asetat Smart-Lab yang diproduksi dari PT Smart-Lab. Indonesia, kertas saring, aluminium foil, kertas label, plastik hitam, dan nitrogen. Kemudian bahan untuk penentuan konsentrasi larutan uji menggunakan ekstrak kasar dan air laut. Sedangkan untuk uji toksisitas terhadap hewan uji *Artemisa salina* Leach. terdiri bahan yang digunakan yaitu air laut, DMSO, tissue, dan starter indukan telur *Artemia salina* Leach.

3.1.2 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pembuatan beberapa perlakuan sampel yaitu sampel segar yang dikeringkan kemudian dimaserasi secara bertingkat. Dalam proses maserasi alat dibutuhkan adalah beaker glass 1000 ml, Erlenmeyer 1000 ml, spatula, corong, timbangan digital, magnetic stirer, hot plate dan gelas ukur 100 ml yang diperoleh dari Laboratoium Keamanan Hasil perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Untuk memisahkan ekstrak dan pelarut digunakan rotary vacuum evaporator. Kemudian untuk membuat konsentrasi larutan uji digunakan timbangan analitik, spatula, beaker glass 30 ml, mikropipet, yellow tibe, blue tibe, gelas ukur 5 ml dan botol vial yang diperoleh dari laboratorium Reproduksi,

Pemuliaan dan Pembenihan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Metode penelitian

Metode dalam uji toksisitas ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimental adalah suatu rancangan penelitian yang digunakan untuk mencari hubungan sebab-akibat dengan adanya keterlibatan penelitian dalam melakukan manipulasi terhadap variabel bebas. Eksperimen merupakan rancangan penelitian yang memberikan pengujian hipotesis yang paling tertata dan cermat, sedangkan pada penelitian kohort atau kasus kontrol hanya sampai pada tingkat dugaan kuat dengan landasan teori atau telah logis yang dilakukan peneliti. Akan tetapi studi ini pada umumnya mahal dan pelaksanaannya rumit, sehingga penggunaannya terbatas (Nursalam, 2008).

Penelitian ini dilakukan dengan cara membuat beberapa konsentrasi dari enam perlakuan ekstrak alga coklat *T. conoides* yang berbeda kemudian diujikan terhadap sejumlah larva udang *Artemia salina* Leach berumur 48 jam kemudian dihitung jumlah *Artemia salina* Leach yang mati untuk memperoleh nilai LC₅₀.

3.2.1 Variabel Penelitian

Variabel adalah segala kemungkinan sesuatu menjadi objek pengamatan penelitian. Variabel dalam penelitian terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Dalam sebuah eksperimen, variabel bebas dimanipulasi dan efeknya terhadap variabel lainnya (variabel tak bebas) diukur. Kegunaan dari perlakuan eksperimen adalah melakukan sesuatu terhadap objek dan mengobservasi reaksinya dalam kondisi dimana kinerja dapat diukur dengan menggunakan standar atau ukuran yang sudah dikenal (Wibisono, 2003).

Dalam penelitian ini terdapat variabel bebas dan terikat. Variabel bebas tersebut adalah 3 jenis pelarut berbeda dengan 2 pola ekstraksi bertingkat dimulai dari pelarut non polar hingga polar dan pelarut polar hingga non polar. Pelarut yang digunakan terdiri dari pelarut n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan (etanol) polar. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai LC_{50} yang diperoleh dari pengujian toksisitas menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Percobaan Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan untuk suatu percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam (Sastrosupadi, 2000).

Ekstrak *Turbinaria conoides* dimaserasi dengan pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol, dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat dimulai dari pelarut non polar, semi polar kemudian polar begitu juga sebaliknya. Sehingga diperoleh 6 perlakuan ekstraksi dengan 3 jenis pelarut yang berbeda dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Rancangan penelitian Uji Toksisitas Ekstrak Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan Pelarut yang Berbeda dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan Penelitian

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	A1	A2	A3		
B	B1	B2	B3		
C	C1	C2	C3		
D	D1	D2	D3		
E	E1	E2	E3		
F	F1	F2	F3		

Keterangan :

- A : Ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides*
 B : Ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides*
 C : Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*
 D : Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*
 E : Ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides*
 F : Ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides*

3.2.3 Parameter Uji

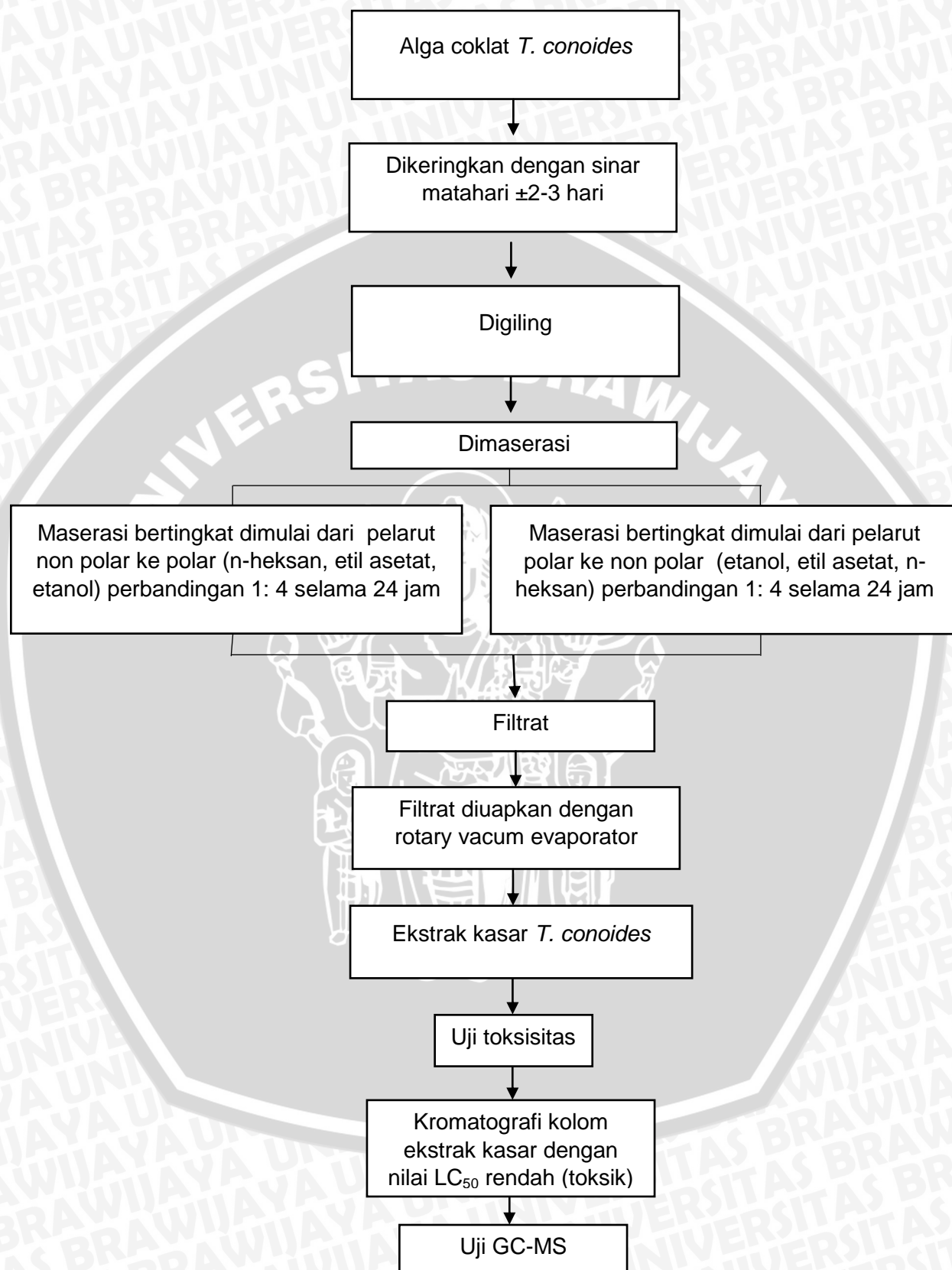
Parameter uji yang dilakukan adalah parameter uji kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil perhitungan nilai LC_{50} . LC_{50} merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan setengah dari populasi (50%) yang ada (Setiarto, 2009). Nilai LC_{50} diperoleh dari uji toksisitas ekstrak *T. conoides* menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan lima taraf variasi konsentrasi larutan uji. Larutan uji ekstrak kasar alga coklat segar yang dikeringkan mulai dari konsentrasi terendah sampai yang tertinggi yaitu 0 ppm (kontrol), 5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Setiap perlakuan dimasukkan *Artemia salina* Leach. sejumlah 10 ekor kemudian dihitung kematian artemia setelah 24 jam.

3.3 Tahap Penelitian

Tahap pertama dipersiapkan sampel rumput laut coklat dengan pengondisian segar kemudian dikeringkan. Sampel segar dilakukan pencucian dengan air dan dikeringkan pada sinar matahari \pm 2-3 hari. Sampel yang sudah kering kemudian digiling menggunakan alat penggiling. Setelah itu dilakukan proses ekstraksi bertingkat dengan 3 jenis pelarut yang berbeda yakni n-heksan, etil asetat dan etanol dimulai dari pelarut non polar ke polar dan pelarut polar ke non polar. Pada ekstraksi bertingkat, mula-mula serbuk rumput laut coklat direndam dalam pelarut n-heksan dan diaduk menggunakan magnetic stirer selama 24 jam dengan perbandingan 1:4 (150 g : 600 ml pelarut) sehingga diperoleh filtrat. Ampas sisa perendaman n-heksan kemudian direndam kembali dengan pelarut etil asetat selama 24 jam dan dilakukan pengadukan dengan magnetic stirer selama 24 jam. Begitu selanjutnya sampai perendaman dengan menggunakan pelarut etanol. Hal yang sama juga dilakukan pada ekstraksi bertingkat yang dimulai dari pelarut polar (etanol) ke pelarut non polar (n-heksan). Filtrat yang diperoleh dari masing-masing ekstraksi pelarut diuapkan dengan rotary vacuum evaporator dengan tujuan untuk memisahkan antara ekstrak dengan masing-masing pelarut.

Kemudian dilakukan penentuan konsentrasi larutan uji ekstrak kasar alga coklat pada masing-masing pelarut dengan menggunakan pengenceran. Setelah itu diujikan dengan hewan uji udang *Artemia salina* Leach. dan dilihat jumlah kematian dari hewan tersebut. Data hasil pengujian dilakukan pengolahan dengan analisis probit sehingga didapatkan nilai LC_{50} pada masing-masing sampel dan 5 konsentrasi larutan ekstrak yang menyebabkan 50% hewan uji mati. Perlakuan ekstrak paling toksik yang diperoleh dari nilai LC_{50} pada uji toksisitas diuji lanjut menggunakan uji GC-MS. Tahap-tahap penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Tahap-tahap Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel *T. conoides* diperoleh dari desa Padike, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura, Jawa Timur. Sampel yang telah diambil dari laut dicuci dengan air tawar untuk menghilangkan kotoran, lumut, lumpur, dan pasir. Sampel tersebut kemudian dijemur di bawah terik matahari kurang lebih 2-3 hari. Setelah itu sampel digiling menggunakan mesin penggiling untuk dilakukan tahap selanjutnya yakni proses ekstraksi senyawa bioaktif.

3.4.2 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi bergantung pada kandungan air dan tekstur tumbuhan yang diekstraksi, merendam jaringan daun atau bunga, bahkan bila perlu dipotong kecil-kecil. Untuk mencapai tujuan ekstraksi digunakan pelarut. Pelarut serbaguna yang baik untuk digunakan untuk proses ekstraksi adalah pelarut etanol dan metanol (Harborne, 1984).

Ekstraksi *T. conoides* mengacu pada penelitian Septiana dan Ari (2013) yang telah dimodifikasi dimana sebanyak 150 g bubuk sampel dilarutkan dalam 600 ml heksana (1:4 b/v), diaduk dengan magnetic stirer selama 24 jam dan selanjutnya disaring menggunakan kertas saring sehingga akan didapatkan ekstrak dan ampas. Ampas diekstrak kembali dengan etil asetat dan etanol berturut-turut dan disaring dengan kertas saring. Kemudian dilakukan dengan cara yang sama ekstraksi bertingkat dimulai dari pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan secara berurutan. Ekstrak yang dihasilkan masing-masing pelarut kemudian dipisahkan dengan pelarutnya dengan cara penguapan menggunakan rotary evaporator. Sisa pelarut dihilangkan dengan gas nitrogen sehingga didapatkan ekstrak pekat.

Pada penelitian ini terdapat 2 pola ekstraksi bertingkat. Pola ekstraksi bertingkat yang dimulai dengan menggunakan pelarut non polar, semi polar, dan polar. Sedangkan pola ekstraksi lainnya adalah kebalikan dari pola ekstraksi sebelumnya yang dimulai dari pelarut polar, semipolar, dan non polar. Sehingga diperoleh 6 perlakuan hasil ekstraksi dengan 3 pelarut yang berbeda. Skema ekstraksi sampel *T. conoides* dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.5 Uji Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* Leach

3.5.1 Penentuan Konsentrasi Larutan Ekstrak

Penentuan konsentrasi larutan uji dimulai dengan membuat sampel induk (sampel stock) dengan konsentrasi 2000 ppm pada masing-masing perlakuan ekstrak. Kemudian keenam sampel larutan induk masing-masing dipaparkan pada *Artemia salina* Leach. dengan 5 tingkat taraf konsentrasi mulai yang terendah hingga tertinggi dimulai dari 5, 50, 250, dan 1000 ppm dan ditambah 0 ppm sebagai kontrol yaitu air laut tanpa pemberian ekstrak. Setiap perlakuan melalui tiga kali ulangan serta pengamatan banyaknya jumlah artemia yang mati setelah 24 jam pendedahan.

Menurut Tamat *et al.*, (2007) uji toksisitas dilakukan dengan tiga kali ulangan. Setelah masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian diinkubasi pada suhu kamar dibawah penerangan lampu TL 20 watt. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan melihat jumlah *Artemia salina* Leach. yang mati pada tiap konsentrasi Penentuan konsentrasi larutan ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5.2 Penyiapan *Artemia salina* Leach.

Telur *Artemia salina* Leach diambil sebanyak 1 gram. Kemudian direndam dalam air laut buatan sebanyak 2 liter dan diberi penerangan lampu pijar 40-60 watt serta diareasi selama 48 jam. Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 40 gram garam dalam 2 liter air kemudian disaring (Muadja *et al.*, 2013). Skema penetasan telur *Artemia salina* Leach. dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.5.3 Uji Toksisitas *Artemia salina* Leach

Uji toksisitas menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. Masing-masing konsentrasi yakni 1000 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm dan 5 ppm dilakukan 3 kali pengulangan untuk setiap konsentrasi yang telah ditentukan pada masing-masing sampel dan dibandingkan dengan kontrol (0 ppm). Bejana uji yang digunakan adalah botol vial. 10 ekor *Artemia salina* leach. dimasukkan kedalam masing-masing konsentrasi larutan uji. Menurut Tamat *et al.*, (2007) pengamatan jumlah individu yang mati dilakukan setelah 24 jam dan dihitung jumlah total *Artemia salina* Leach. yang mati. Skema uji toksisitas dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.5.4 Analisis Data

Data pengujian toksisitas diperoleh dari analisis nilai LC₅₀ 24 jam pada uji toksisitas akut ekstrak kasar *T. conoides* terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach. menurut Awik *et al.*, (2006) efek toksisitas dianalisis dengan prosentase kematian *Artemia* sebagai berikut:

$$\% \text{ Artemia salina Leach.} = \frac{\text{jumlah Artemia yang mati}}{\text{jumlah Artemia uji}} \times 100 \%$$

Setelah itu, dicari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan garis:

$$Y = Bx + A$$

Dimana: Y = Log konsentrasi

X = Angka Probit

Dari persamaan tersebut kemudian dihitung LC₅₀ dengan memasukkan nilai probit (50% kematian). Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus Abbot (Meyer *et al.*, 1982).

$$\% \text{ Artemia salina Leach.} = \frac{T-K}{10} \times 100\%$$

Keterangan:

T = Jumlah larva uji yang mati

K = Jumlah larva kontrol yang mati

10 = jumlah larva uji

Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam (ANOVA) untuk mengetahui hasil masing-masing sampel apakah mempengaruhi terhadap nilai LC50.

3.6 Identifikasi Senyawa Bioaktif

Identifikasi senyawa aktif toksisitas dalam ekstrak alga coklat *Turbinaria conoides* dilakukan terhadap ekstrak dari pelarut yang terbaik. Identifikasi diawali dengan proses pemisahan ekstrak menggunakan kromatografi kolom untuk menghasilkan fraksi. Fraksi yang didapat dianalisis menggunakan GC-MS.

3.6.1 Pemisahan Ekstrak Kasar dengan Kromatografi Kolom

Proses kromatografi kolom diawali dengan pengisian kolom. Bagian bawah kolom diisi dengan sedikit kapas wol kaca. Setelah itu, dimasukkan silica

gel ke dalam kolom sebanyak 40 g lalu diaduk hingga tidak ada rongga udara diantara kolom. Setelah silica gel padat, tambahkan pasir laut untuk membatasi antara ekstrak dengan silica gel sebanyak 2,5-3 gram. Setelah preparasi selesai, selanjutnya dilakukan pemisahan. Ekstrak kasar *Turbinaria conoides* dengan nilai LC_{50} terendah dari pengujian toksisitas kemudian dimasukkan ke dalam kolom kemudian kran kolom dibuka hingga ekstrak meresap ke dalam kolom sampai batas atas silica gel. Setelah itu dimasukkan pereaksi yaitu eluen campuran dari perbandingan 2 jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yakni 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, dan 2:8 dengan posisi kran kolom dibuka secara terus-menerus. Fraksi yang terpisah lalu ditampung dalam botol vial hingga seluruh ekstrak terpisah.

3.6.2 Uji GC-MS

Analisis GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis campuran dalam jumlah yang kecil, dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Astuti, 2006). Pada analisa GC-MS laju aliran diatur sebagai berikut: Suhu awal injeksi 120°C dengan kenaikan suhu 15° C selama 12 menit sehingga suhu akhirnya menjadi 300°C.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Data Hasil Uji Toksisitas Alga Coklat *Turbinaria conoides*

Uji toksisitas nilai LC_{50} ekstrak kasar alga coklat *Turbinaria conoides* dengan menggunakan pelarut yang berbeda yang terdiri dari pelarut polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), dan non polar (etanol). Ketiga jenis pelarut tersebut melalui proses maserasi bertingkat dimulai dari pelarut non polar ke polar dan begitu sebaliknya dari pelarut polar ke non polar. Hasil uji toksisitas nilai LC_{50} dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Toksisitas Nilai LC_{50}

Perlakuan	Nilai LC_{50} (ppm)
A	146,052
B	68,857
C	84,193
D	91,475
E	75,227
F	160,805

Keterangan:

A = Ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides*

B = Ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides*

C = Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*

D = Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*

E = Ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides*

F = Ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides*

Berdasarkan Tabel 6. hasil uji toksisitas ekstrak kasar Alga coklat *Turbinaria conoides* dengan menggunakan pelarut yang berbeda diperoleh nilai LC_{50} pada perlakuan A (ekstrak n-heksan) sebesar 146,052 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa 50 % kematian hewan uji *artemia salina* Leach. saat konsentrasi larutan ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides* mencapai 146,052 ppm. Hasil uji toksisitas perlakuan B (ekstrak etil asetat) diperoleh nilai LC_{50} sebesar 68,857 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji *artemia salina* Leach. pada saat konsentrasi larutan ekstrak *Turbinaria*

conoides sebesar 68,857 ppm. Hasil uji toksisitas perlakuan C (ekstrak etanol) diperoleh nilai LC_{50} sebesar 84,193 ppm. hasil tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji artemia salina Leach pada saat konsentrasi ekstrak etanol *Turbinaria conoides* sebesar 84,193 ppm. Berdasarkan hasil diatas dapat diketahui bahwa nilai LC_{50} terendah diperoleh perlakuan B yakni ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides* dan nilai LC_{50} tertinggi diperoleh perlakuan A yakni ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides*

Hasil uji toksisitas perlakuan D (ekstrak etanol) diperoleh nilai LC_{50} sebesar 91,475 ppm. hasil tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji artemia salina Leach pada saat konsentrasi ekstrak etanol *Turbinaria conoides* sebesar 91,475 ppm. Hasil uji toksisitas perlakuan E (ekstrak etil asetat) diperoleh nilai LC_{50} sebesar 75,227 ppm. hasil tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji artemia salina Leach pada saat konsentrasi ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides* sebesar 75,227 ppm. Hasil uji toksisitas perlakuan F (ekstrak n-heksan) diperoleh nilai LC_{50} sebesar 160,805 ppm. hasil tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji artemia salina Leach pada saat konsentrasi ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides* sebesar 160,805 ppm. dari hasil tersebut diperoleh nilai LC_{50} terendah adalah perlakuan D yakni ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides* dan nilai LC_{50} tertinggi adalah perlakuan F yakni ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides*. Pengolahan dan perhitungan analisis probit uji toksisitas keenam perlakuan ekstrak alga coklat *T. conoides* dapat dilihat pada Lampiran 7.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diantara keenam hasil ekstrak yang diuji, diperoleh masing-masing nilai LC_{50} kurang dari 200 ppm. hal ini menunjukkan bahwa keenam perlakuan ekstrak tersebut memiliki kemampuan senyawa aktif yang bersifat toksik. Menurut Meyer (1982), suatu ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm sedangkan untuk senyawa

murni dikatakan toksik apabila LC_{50} nya <200 ppm. Pada penelitian ini, perlakuan B ekstrak etil asetat *Turbinaria conoides* memperoleh nilai LC_{50} terendah yakni sebesar 68,857 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan B yakni ekstrak etil asetat memiliki tingkat toksisitas yang paling tinggi terhadap hewan uji *Artemia salina* Leach. bila dibandingkan dengan ekstrak pelarut lainnya. Sedangkan perlakuan F yakni ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides* memiliki nilai LC_{50} tertinggi sebesar 160,805 ppm. Hal ini menunjukkan perlakuan F ekstrak n-heksan dari proses ekstraksi bertingkat pelarut polar ke non polar memiliki tingkat toksisitas yang paling rendah terhadap hewan uji *artemia salina* Leach. dibandingkan dengan pelarut lainnya. Sidik ragam (ANOVA) perhitungan keragaman nilai LC_{50} ekstrak alga coklat *T. conoides* dapat dilihat pada Lampiran 7.

Ekstrak etil asetat memiliki toksisitas paling tinggi dikarenakan kandungan senyawa aktif yang mampu diserap etil asetat tergolong senyawa toksik. Menurut Sukandar *et al.*, (2008), Ekstrak etil asetat daun pandan wangi bersifat toksik terhadap benur udang *Artemia salina* Leach. menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) serta berpotensi sebagai antikanker dan antidiabetes. Ditambahkan oleh penelitian Pandjaitan (2010) bahwa ekstrak kasar etil asetat daun *R. Mucrunata* memiliki daya toksisitas paling tinggi, kemudian daya toksisitas tertinggi kedua adalah ekstrak metanol, dan yang terendah adalah ekstrak n-heksan sehingga berpotensi sebagai antibakteri, antikanker dan sebagai pestisida.

Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar dimana mampu melarutkan senyawa non polar dan senyawa polar (Putri *et al.*, 2013). Ditambahkan oleh Tensiska *et al.*, (2007) bahwa etil asetat mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon. Menurut Harborne (1987), etil asetat sebagai pelarut semi polar mampu melarutkan senyawa fenol, terpenoid, alkaloid,

aglikon, dan glikosida. Etil asetat juga dapat melarutkan air hingga 3% dan larut pada air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi.

4.2 Kromatografi kolom

Dari hasil uji lanjut menggunakan BNT, diketahui bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol tidak berbeda nyata maka dilakukan pengujian kromatografi kolom dan GC-MS terhadap keduanya. Ekstrak kasar etil asetat *T. conoides* dipisahkan kandungan senyawa aktif menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah silika gel sedangkan fase gerak dari campuran eluen n-heksan dan etil asetat. Dari kromatografi kolom diperoleh sebanyak 32 fraksi dimana kemudian dikelompokkan menjadi 4 isolat warna yakni kuning, ungu kehitaman, hijau dan orange. Sedangkan pada ekstrak etanol *T. conoides* dipisahkan senyawa aktifnya menggunakan fase gerak dari eluen campuran metanol dan kloroform. Kemudian diperoleh 42 fraksi warna dimana dikelompokkan menjadi 3 isolat warna yakni hitam, orange, dan hijau.

Kromatografi kolom dapat digunakan untuk memurnikan senyawa jika adsorben (fase diam), fluida pembawa (fase gerak), dan kondisi operasi yang digunakan tepat. Campuran yang akan dianalisis dielusikan dalam kolom. Fase gerak dituangkan pada bagian atas kolom dan mengalir ke bawah kolom sehingga menyebabkan komponen dari campuran menyebar diantara adsorben (fase diam) dan eluen (fase gerak). Interaksi suatu senyawa terhadap kedua fase yang digunakan memisahkan senyawa dari campurannya (Netty, 2006).

Zat warna yang keluar saat proses kromatografi kolom diatas ditampung pada botol sampel yang berukuran ± 20 ml. Setiap botol sampel dibedakan berdasarkan warna yang keluar dan masing-masing diberi nomor

sesuai urutan. Dari hasil proses kromatografi kolom ekstrak etil asetat *T. conoides* didapatkan 32 botol sampel isolat warna dengan isolat yang berwarna kuning pekat sebanyak 2 botol, isolat yang berwarna hijau hitam sebanyak 3 botol, isolat yang berwarna hijau pekat sebanyak 3 botol, dan isolat yang berwarna orange pekat sebanyak 2 botol. Hasil isolasi warna kromatografi kolom ekstrak etil asetat *T. conoides* dapat dilihat pada Gambar 7.

Sedangkan dari hasil proses kromatografi kolom ekstrak etanol *T. conoides* didapatkan 42 botol sampel isolat warna dengan isolat yang berwarna hitam sebanyak 4 botol, isolat yang berwarna orange pekat sebanyak 2 botol, isolat yang berwarna hijau pekat sebanyak 3 botol. Hasil isolasi pigmen yang di tampung pada botol sampel dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Isolasi hasil kromatografi kolom (a) ekstrak etil asetat *T. conoides* (b) ekstrak etanol *T. conoides*

4.3 GC-MS Ekstrak Etil Asetat *T. conoides*

Pada analisa menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrophotometric ekstrak etil asetat *T. conoides* terdapat empat isolat hasil pemisahan ekstrak dengan menggunakan kromatografi kolom. Keempat isolat tersebut terdiri dari isolat warna kuning, ungu kehitaman, hijau, dan orange.

4.3.1 Isolat kuning

Hasil kromatogram isolat warna kuning menunjukkan bahwa isolat warna kuning terdeteksi memiliki 10 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat kuning dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 . Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Kuning

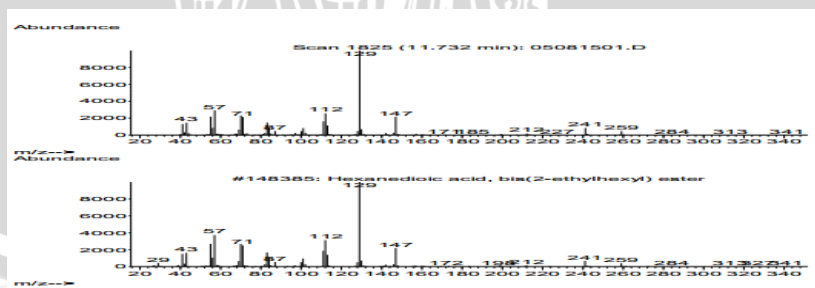
Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarity Index
1	6.75	0,47	<i>Pentadecane</i>	86
2	8.42	2,35	<i>Naphthol [1,2-b] furan, 2,3-dihydro-2-(1-propenyl)</i>	25
3	8.59	0,88	<i>3-Furanmethanol, alpha-cyclohexyl-CAS</i>	43
4	9.80	0,43	<i>Trans pinane</i>	86
5	10.86	1,45	<i>Hexadenoic acid, methyl ester</i>	95
6	11.73	76,73	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester</i>	95
7	12.74	2,97	<i>1,4,8-Dodecatriene, (E,E,E)</i>	91
8	14.63	0,46	<i>Tetradecanoic acid, 12 methyl-, methyl ester</i>	38
9	15.44	7,31	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)</i>	90
10	15.68	6,93	<i>Diisooctyl-phthalate</i>	80

Terdapat lima senyawa puncak dominan pada isolat kuning. Senyawa puncak keenam dengan luas area 76,73% diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester*. Diketahui bahwa senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester* atau dikenal dengan asam adipat memiliki efek toksisitas. Menelan bahan ini dapat menyebabkan nyeri kerongkongan dan sakit perut. Dalam larutan, senyawa membentuk asam yang korosif yang dapat menyebabkan efek merugikan (POM, 2011). Puncak kesembilan dengan luas area 7,31% diduga sebagai senyawa *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)*. Senyawa *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)* merupakan senyawa yang termasuk plasticizer ini diketahui

mempunyai sifat antimikroba, antioksidan dan anti peradangan (Tintri dan Ratna, 2014).

Puncak kesepuluh dengan luas area 6,93% diduga sebagai senyawa Diisooctyl-phthalate. *Phthalic acid ester* memiliki efek merugikan pada tubuh manusia seperti embryotoxicity, spermatotoxicity, carcinogenicity (Taifan *et al.*, 2013). Puncak ketujuh dengan luas area 2,97% diduga sebagai senyawa 1,4,8-Dodecatriene, (E,E,E). Puncak kelima dengan luas area 1,45% diduga sebagai senyawa *Hexadenoic acid, methyl ester*. Heksadekanoat ester metil asam (asam palmitat metil ester) dilaporkan menyebabkan autolisis dari struktur membran, menginduksi dilatasi aorta signifikan, menghambat aktivitas fagosit dan nitrat oksida produksi dari sel-sel tertentu, menurunkan kadar tumor necrosis factor-alpha (TNF), prostaglandin E 2 (PGE2), dan interleukin-10 (IL-10) tanpa mempengaruhi tingkat ATP (Ajoku *et al.*, 2015).

Puncak keenam merupakan puncak tertinggi yang diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester* dengan luas area sebesar 76,73%. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 8. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak Keenam (SI=95)

4.3.2 Isolat Hitam

Pada isolat kedua yakni warna hitam terdeteksi memiliki 11 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat hitam dapat dilihat pada Tabel 8.

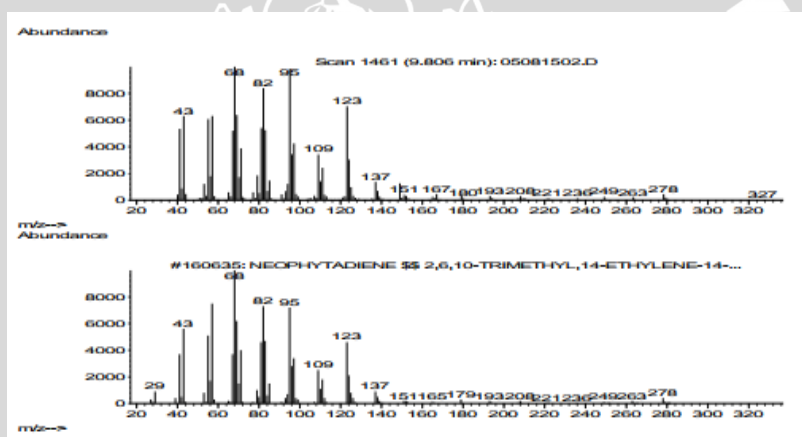
Tabel 8 . Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Hitam

Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarit Index
1	2.81	0,11	<i>beta-citronellol</i>	50
2	6.61	0,10	<i>Pentadecane</i>	81
3	7.08	0,43	<i>2,3,10,10-Tetramethyl-6-Methylen-1-Oxa-Spiro(4.5)</i>	27
4	8.41	3,87	<i>Dimethyl-9-Hydroxybicyclo[5.3.0]decane-2,7</i>	46
5	8.59	1,20	<i>3-Furanmethanol, alpha-cyclohexyl-</i>	47
6	9.22	3,41	<i>1-Ethyl-2 Methyl</i>	55
7	9.81	20,59	<i>Neophytadiene</i>	99
8	10.09	5,53	<i>Neophytadiene</i>	90
9	10.32	9,17	<i>2-Hexadecan-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-</i>	76
10	11.73	54,37	<i>Hexanedioic acid, Bis (2-ethylhexyl) ester</i>	99
11	14.45	1,23	<i>Trans-2-Hexenal</i>	80

Terdapat empat senyawa puncak dominan pada isolat kuning. Senyawa puncak kesepuluh dengan luas area 54,37% diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester*. Diketahui bahwa senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester* atau dikenal dengan asam adipat memiliki efek toksisitas. Menelan bahan ini dapat menyebabkan nyeri kerongkongan dan sakit perut. Dalam larutan, senyawa membentuk asam yang korosif yang dapat menyebabkan efek merugikan (POM, 2011). Puncak ketujuh dan delapan dengan luas area masing-masing 20,59% dan 5, 53% diduga sebagai senyawa *Neophytadiene*. *Neophytadiene* biasa ditemukan pada minyak atsiri yang mana memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Dilaporkan oleh Suresh *et al.*, (2010) memiliki aktivitas antibakteri serta membantu dalam

pengobatan sakit kepala, rematik dan beberapa penyakit kulit. Puncak kesembilan dengan luas area 9,17% diduga sebagai senyawa 2-Hexadecan-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-. Dijelaskan pada penelitian Kalaisezhiyen dan Vadivukkarasi (2012) bahwa senyawa 2-Hexadecan-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl- memiliki aktivitas antimikroba, antikanker, dan antiinflamasi.

Puncak ketujuh merupakan puncak tertinggi yang diduga sebagai senyawa *Neophytadiene* dengan luas area sebesar 20,59%. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak Ketujuh
(SI=99)

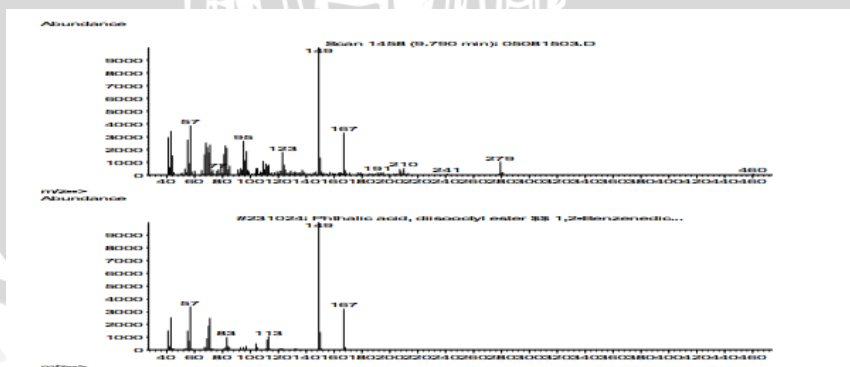
4.3.3 Isolat Hijau

Pada isolat ketiga dengan warna hijau terdeteksi memiliki 7 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat hijau dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Hijau

Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarity Index
1	8.41	8,12	1-Methyl-4-azaflouren-9-one oxime	58
2	8.59	4,46	Thiophene,2-pentyl	43
3	9.53	29,59	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)	27
4	9.79	31,26	Phthalic acid, diisooctyl ester	52
5	10.07	7,78	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	68
6	10.30	6,61	9-(2',2'-Dimethylpropan oli hydrazone)	30
7	11,66	12,08	Hexadecanoic acid	38

Puncak keempat merupakan puncak tertinggi yang diduga sebagai senyawa *Phthalic acid, diisooctyl ester* dan memiliki luas area sebesar 31,26%. Puncak keempat diduga sebagai senyawa *Phthalic acid, diisooctyl ester*. *Phthalic acid ester* merupakan kontaminan utama pada lingkungan dan rantai makanan di negara-negara industri maju. *Phthalic acid ester* juga memiliki efek merugikan pada tubuh manusia seperti embryotoxicity, spermatotoxicity, carcinogenicity (Taifan *et al.*,2013). Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak Keempat (SI=52)

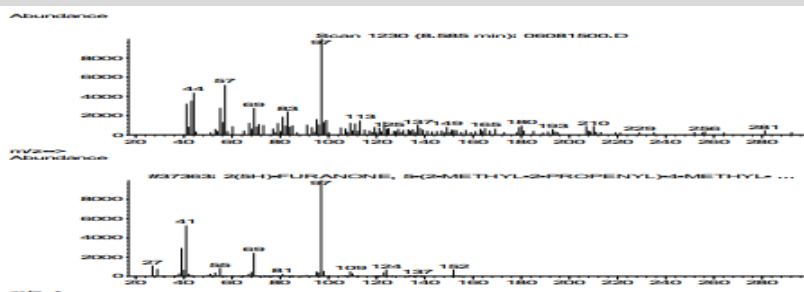
4.3.4 Isolat orange

Hasil kromatogram isolat warna orange menunjukkan bahwa terdeteksi memiliki 4 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat orange dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Orange

Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarity Index
1	8.02	33,36	7-Hydroxy-3-(1,1-dimethylprop-2-enyl) coumarin	43
2	8.58	46,35	2(5H)-Furanone, 5-(2-Methyl-2-Propenyl)-4-Methyl	38
3	9.78	39,37	1,2-1,2-Epoxy-1-Vinylcyclododecene	47
4	11,71	47,64	1,2-di(trimethylsilyl)-1-carbonylmethylene-3-methyl	47

Puncak kedua merupakan puncak tertinggi yang memiliki luas area sebesar 46,35%. Senyawa tersebut diduga sebagai senyawa 2(5H)-Furanone, 5-(2-Methyl-2-Propenyl)-4-Methyl-. Menurut Ponnusamy *et al.*, (2010), senyawa ini telah digunakan sebagai kontrol biofilm dalam dunia medis. Hal ini bisa menjadi alternatif yang memungkinkan sebagai strategi pengendalian kimia untuk kontrol biofouling dalam sistem membran. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak Kedua (SI=38)

4.4 GC-MS Ekstrak Etanol *T.conoides*

Pada analisa menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrophotometric ekstrak etanol *T.conoides* didapatkan tiga isolat hasil pemisahan ekstrak dengan menggunakan kromatografi kolom. Ketiga isolat tersebut terdiri dari isolat warna hitam, orange, dan hijau.

4.4.1 Isolat hitam

Pada isolat pertama dengan warna hitam terdeteksi memiliki 5 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat hitam dapat dilihat pada Tabel 11.

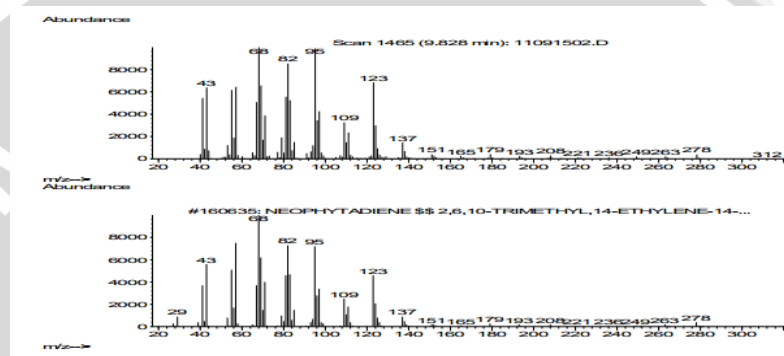
Tabel 11 . Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Hitam

Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarity Index
1	6.76	15,53	<i>Cyclotridecane</i>	90
2	7.66	2,48	<i>Butane, 2,2'-[(methylenebis(oxy))]bis [2-methyl]</i>	25
3	9.83	56,02	<i>Neophytadiene</i>	99
4	10.11	11,73	<i>Neophytadiene</i>	83
5	10.35	16,24	<i>2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-</i>	90

Terdapat tiga senyawa puncak dominan pada isolat hitam. Puncak pertama dengan luas area 15,53% diduga sebagai senyawa *Cyclotridecane*. Puncak ketiga dengan luas area 56,02% diduga sebagai senyawa *Neophytadiene*. *Neophytadiene*, sebuah terpenoid antijamur yang diidentifikasi dalam alga merah. Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antipiretik, analgesik, and anti-inflamasi, antimikroba, antioksidan (Raman *et al.*, 2012). Puncak kelima dengan luas area 16,24% diduga sebagai senyawa *2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-*. Menurut Kalaisezhiyen dan Vadivukkarasi (2012), 2-

Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl- memiliki aktivitas antimikroba, antikanker, dan antiinflamasi.

Puncak ketiga merupakan puncak tertinggi dengan luas area sebesar 56,02%. Senyawa tersebut diduga sebagai senyawa *Neophytadiene 2,6,10-Trimethyl, 14-Ethylene-14-pentadecne*. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak Ketiga (SI=99)

4.3.2 Isolat Orange

Pada isolat kedua dengan warna hitam terdeteksi memiliki 16 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat hitam dapat dilihat pada Tabel 12.

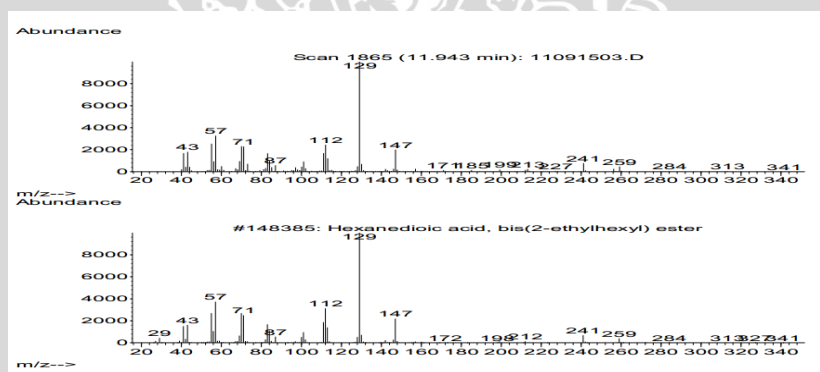
Tabel 12. Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Orange

Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarity Index
1	6.43	0,52	<i>Tricyclo[4.3.1.1(3,8)undecane-1-carboxylic acid</i>	35
2	6.76	0,44	<i>Hexadecanoic acid</i>	35
3	7.02	0,37	<i>Buthylated Hydroxytoluene</i>	87
4	7.09	0,29	<i>1-formyl-2,2,6-trimethyl-3-cis-(3-methylbt-2-enyl)</i>	43
5	7.37	0,32	<i>Thiosulfuric acid</i>	47
6	7.50	0,21	<i>2(1H)-Naphthalenone,octahydro-4a,7,7-trimethyl-cis</i>	60
7	7.65	0,40	<i>Ether, 1-dedocenyl methyl</i>	47
8	9.24	2,60	<i>Tetradecanoic acid</i>	97
9	9.82	2,86	<i>Neophytadiene</i>	97
10	10.10	0,58	<i>Thiosulfuric acid</i>	48
11	11.47	1,48	<i>Thiosulfuric acid</i>	70
12	10,34	1,18	<i>(Z)-1-Ethyl-2-(1,2,2-trimethylpropyl)</i>	35
13	11.75	32,13	<i>Hexanedioic acid</i>	49
14	11.94	41,80	<i>Hexanedioic acid</i>	95
15	15,55	10,57	<i>Oleic acid</i>	96
16	16,26	4,25	<i>Hexanedecanoic acid</i>	70

Pada isolat orange terdapat enam senyawa puncak dominan. Puncak ketigabelas dan keempatbelas dengan luas area 41,80% dan 32,13% diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester*. Senyawa ini dikenal dengan nama lain asam adipat yang memiliki efek toksisitas. Menelan bahan ini dapat menyebabkan nyeri kerongkongan dan sakit perut. Dalam larutan, senyawa membentuk asam yang korosif yang dapat menyebabkan efek merugikan (POM, 2011). Puncak kelima dengan luas area 10,57% diduga sebagai senyawa *Oleic acid*. *Oleic acid* dan *tetradecanoic acid* merupakan jenis asam lemak. Asam oleat atau asam cis-9-oktadekanoat merupakan asam lemak tak jenuh yang banyak terkandung dalam minyak nabati (Mora *et al.*, 2013). Puncak keenambelas dengan luas area sebesar 4,25% diduga sebagai senyawa *Hexanedecanoic acid*.

Puncak kedelapan dengan luas area 2,86 % diduga sebagai senyawa *Neophytadiene*. *Neophytadiene*, sebuah terpenoid antijamur yang diidentifikasi dalam alga merah. Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antipiretik, analgesik, and anti-inflamasi, antimikroba, antioksidan (Raman *et al.*, 2012). Puncak kesembilan dengan luas area 2,60% diduga sebagai senyawa *Tetradecanoic acid*. Asam miristat sering disebut asam tetradekanoat, yaitu yang keadaaan biasa dalam asam lemak jenuh dengan bentuk molekul $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ (Wibowo, 2008).

Puncak keempatbelas memiliki luas area tertinggi sebesar 41,80% yang diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester*. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak Keempat belas (SI=95)

4.3.3 Isolat Hijau

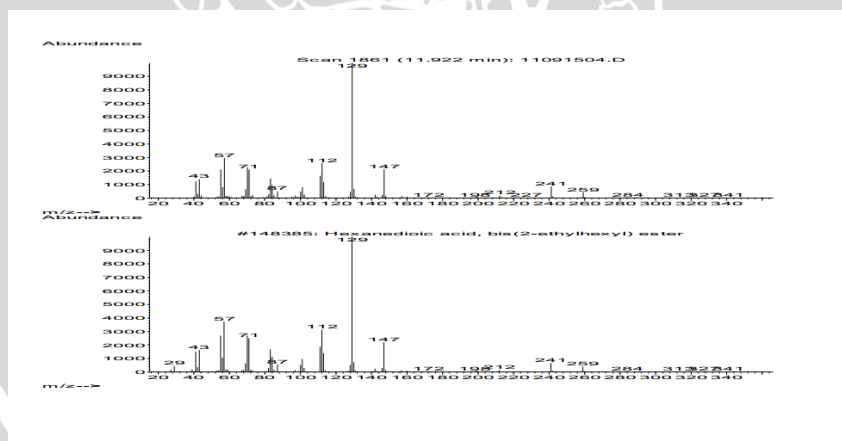
Pada isolat ketiga dengan warna hijau terdeteksi memiliki 2 puncak. Identifikasi Senyawa pada isolat hijau dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Identifikasi Senyawa pada Isolat Warna Hijau

Peak	Retensi Time (Rt)	Luas Area	Nama Senyawa	Similarity Index
1	11.83	34,46	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester</i>	95
2	11.92	65,54	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester</i>	95

Kedua puncak pada isolat hijau merupakan senyawa dominan dimana masing-masing memiliki luas area 34,46% dan 65,54%. Keduanya terdeteksi sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester*. *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester* merupakan ester asam lemak dengan nama lainnya asam adipat, bis(2-etilheksil) ester (Fitrya dan Fitria, 2009).

Puncak kedua merupakan puncak tertinggi dimana memiliki luas area sebesar 65,54% yang diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester*. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Spektrum Massa Senyawa Target Puncak kedua (SI=95)

Berdasarkan hasil uji GC-MS ekstrak etil asetat dan etanol *T. conoides* diperoleh senyawa dengan puncak tertinggi masing-masing isolat. Data hasil

analisis GC-MS senyawa dengan puncak tertinggi pada tiap isolat ekstrak etil asetat dan etanol *T.conoides* dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Data hasil analisis GC-MS senyawa dengan puncak tertinggi
Etil asetat

Isolat	Rt	Luas area	Senyawa	SI
Kuning	11.73	76,73%	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester</i>	95%
Hitam	9.81	20,59%	<i>Neophytadiene, 2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne</i>	99%
Hijau	9.79	31,26%	<i>Phthalic acid, diisooctyl ester</i>	52%
Orange	8.58	46,35%	<i>2(5H)-Furanone</i> <i>5-(2-Methyl-2-Propenyl)-4-Methyl</i>	38%

Etanol

Isolat	Rt	Luas area	Senyawa	SI
Kuning	-	-	-	-
Hitam	9.83	56,02%	<i>Neophytadiene, 2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne</i>	99%
Hijau	11.94	11,94%	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester</i>	95%
Orange	11.92	11,92%	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester</i>	95%

Dari tabel diatas diketahui bahwa kandungan senyawa ekstrak etil asetat dan etanol tidak jauh berbeda. Hal ini dapat dilihat dari kandungan senyawa dengan puncak tertinggi dari kedua ekstrak tersebut yakni pada isolat hitam teridentifikasi sebagai *Neophytadiene, 2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne*. *Neophytadiene*, sebuah terpenoid antijamur yang diidentifikasi dalam alga merah. Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antipiretik, analgesik, and anti-inflamasi, antimikroba, antioksidan (Raman *et al.*, 2012). Ditambahkan oleh Selvamangai dan Anusha (2012), analisis GC-MS dari ekstrak metanol *E. triplinerve* teridentifikasi sejumlah sepuluh senyawa. Dalam hal jumlah persentase asam heksadekanoat, asam tetradecanoic dan oktadekanoat asam

yang dominan dalam ekstrak. Ketiga senyawa utama terbukti memiliki aktivitas hipokolesterolemik, antioksidan dan aktivitas pelumas. Antikanker dan antiproliferatif ditunjukkan oleh asam tetradecanoic dan 2,6,10, -trimethyl, 14-etilen-14-pentadecne (Neophytadiene), sementara 1-heksil-1-nitrocyclohexane dan 1,14-tetradecanediol menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba dan anti-inflamasi.

Sementara itu puncak tertinggi senyawa pada isolat kuning ekstrak etil aasetat *T.conoides* teridentifikasi sebagai *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester* dimana senyawa tersebut juga terdapat pada isolat warna hijau dan orange pada ekstrak etanol *T.conoides*. Senyawa ini merupakan ester asam lemak dengan nama lainnya asam adipat, bis(2-etilheksil) ester (Fitrya dan Fitria, 2009) . Dilaporkan oleh Bai *et al.*, (2012), Ekstrak oleh Karbon Dioksida Supercritical Akar *Stellera chamaejasme L.* teridentifikasi mengandung senyawa aktif utama dari fraksi 4, 7, dan 12 yakni *asam hexanedioic, bis (2-ethylhexyl) ester, β -sitosterol, acetate 9 7-metil-Z-tetradecen-1-ol, 9-hexadecenoic asam-heksadesil ester (Z), 1, 2-benzenedicarboxylic asam-diisooctyl ester, (3 π 24Z) stigmasta-5, 24 (28) -dien-3-ol, stigmastan-3, 5-dien, dan squalene* yang mana memiliki aktivitas sebagai antijamur.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh berdasarkan penelitian Uji Toksisitas Ekstrak Alga Coklat *Turbinaria Conoides* dengan Pelarut yang Berbeda adalah sebagai berikut:

- Berdasarkan hasil uji toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) perlakuan ekstrak etil asetat memiliki toksisitas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan nilai LC_{50} sebesar 68,857 ppm
- Hasil analisis GC-MS ekstrak etil asetat dan etanol *T. conoides* tidak jauh berbeda dimana senyawa puncak isolat warna hitam teridentifikasi sebagai *Neophytadiene*, *2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne*. Selain itu pada senyawa puncak isolat kuning ekstrak etil asetat *T.conoides* teridentifikasi sebagai *Hexanedioic acid, bis(2-ethyhexyl) ester* dimana senyawa tersebut juga terdapat pada isolat warna hijau dan orange pada ekstrak etanol *T.conoides*

5.2 Saran

Dalam penelitian lanjutan perlu dilakukan pengujian toksisitas dari hasil isolasi senyawa murni yang terkandung pada alga coklat *Turbinaria conoides* sehingga dapat dijadikan perbandingan dengan penelitian yang sudah ada.

Daftar Pustaka

- Akomoda, V.T., S.G. Solomon., G.A. Ataguba., V.O. Ayuba., dan P.F. Asuwaju. 2013. Acute Toxicity Test In Aquaquulture : A Review. *Banat's Journal of Biotechnology*. **IV**(8): 59.
- Apriandi, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif keong Ipong-pong (*Fasciolaria salmo*). IPB. Bogor
- Ajoku, G.A., S.K. Okwute dan J.I. Okogun. Isolation of Hexadecanoic Acid Methyl Ester and 1,1,2-Etanetricarboxylic Acid- 1-Hydroxyl, 1-Dimethyl Ester From the Calyx of Green Hibiscus Sabdariffa (Linn).
- Arifuddin, R. Patong, dan A. Ahmad. ,2001. Penelusuran Protein Bioaktif dalam Makro Alga sebagai Bahan Antibakteri dan Antijamur. *Marina Chimica Acta*.**2**(2). 11-18.
- Aslan, L.M. 1998. Budidaya Rumput Laut. Jakarta: Kanisius. hlm. 13-15.
- Atmadja, W.S., A.Kadi, Sulistijo dan R. Rachmat. 1996. Pengenalan jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi – LIPI. Jakarta : 180 hlm.
- Awik, P.D.N., Nurlita A., Rachmat, F. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Jurnal Akta Kmia Indonesia*. **2**(1): 41-46.
- Bachtiar, A. 2007. Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) sebagai Biotarget Industri. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Bai, X., J. Cheng., W. Liang., L. Ma., Y. Liu., G. Shi., Y. Wang. 2012. *Antifungal Activity of Extracts by Supercritical Carbon Dioxide Extraction from Roots of Stelleria chamaejasme L. and Analysis of Their Constituents Using GC-MS*. Information Technology and Agricultural Engineering. Volume 13: pp 653-662
- Boyd, C.E. 2005. LC₅₀ Calculations Help Predict Toxicity. Global Aquaquulture Advocate. USA.
- Boonchum, W., Y. Peerapornpisal, D. Kanjanapothi, J. Pekkoh, C. Pumas, U. Jamjai, D. Amornlerdpison, T. Noiraksar and P. Vacharapiyasophon. 2011. Antioxidant Activity of some Seaweed from The Gulf of Thailand. *International Journal of Agriculture & Biology*. **13**(1): 95-99.
- Boonchum, W., Y. Peerapornpisal., D. Kanjanapothi., J. Pekkoh., C. Pumas., U. Jamjai., D. Amornlerdpison., T. Noiraksar and P. Vacharapiyasophon. 2012. Anti-gastric Ulcer and Acute Oral Toxicity of Aqueous Extract of *Turbinaria conoides* from the Gulf of Thailand. *Chiang Mai J. Sci*. **39** (2):292-299.

Bachtiar, Y. 2003. Menghasilkan Pakan Alami untuk Ikan Hias. Agromedia. Jakarta. hlm. 17.

Chakraborty, Kajal., N. K. Praveen., K. K. Vijayan., G. S. Rao. 2013. Evaluation of Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Brown Seeweed Belonging to *Turbinaria* spp. (Phaeophyta, Sargassaceae), Collected from Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **3** (1): 11-16.

Chattopadhyay, N., T. Ghosh, S. Sinha, K. Chttopadhyay, P. Karmakar, dan B. Ray. 2009. Polysaccharides from *Turbinaria conoides*. Structural Features and Antioxidant Capacity. *Journal Food Chemistry*. **118**(3). 823-829.

Cotton, S. 2015. Ethyl Acetate. <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/ethylacetate/ethylv.htm>. Diakses tanggal 29 April 2015.

Demirel, Z., Z.D.Yildirim., I. Tuney., K. Kesici., and A.Sukatar. 2012. Biochemical Analysis of Some Brown Seaweeds from the Aegean Sea. *Botanica Serbica*. **36**(2): 91-95.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta.

Dumitrascu, M. 2011. *Artemia salina*. *Balneo-Reseach Journal*. Vol. 2, No. 4.

Dawczynski, C., R. Schubert., and G. Jahreis. 2007. Amino Acids, Fatty Acids, and Dietary Fibre In Edible Seaweed Product. *Food Chemistry. Friedrich Schiller University of Jena. Institute of Nutrition. Dornburger Strasse 24, D-07743 Jena. Germany*. **103**: 891-899.

Fitrya, L.A., dan F. Sari. 2009. *Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas*. *Jurnal Penelitian Sains*. **12** 3(C):12305

Gonsalves, J. 2010. Economic Botanic and Ethnobotany. International Scientific Publishing Academy. India. hlm 79.

Harmita dan Radji M. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati. Jakarta :EGC. 167hlm.

Hii, S., S. Yong, and C. Wong. 2009. Removal of Rhodamine B from Aqueous solution by Sorption on *Turbinaria conoides* (Phaeophyta). *Journal of Applied Phycology*. **21**(5): 625-631.

Ibrahim, M., A. Akhyar, I. Y Nur. 2012. Uji Lethal Dose 50% (LD₅₀) Poliherbal (*Curcuma xanthorriza*., *Kleinhovia hospita*, *Nigella sativa*, *Arcangelisia flava* dan *Ophiocephalus striatus*) Pada Heparmin Terhadap (*Mus musculus*). Research and Development. PT. Royal Medicalink Pharnalab.

Interactive Learning Paradigms Incorporated. 2010. Lethal concentration 50%. <http://www.ilpi.com/msds/ref/lc50.html>. Diakses tanggal 4 maret 2015.

Jaswir, I., D.Noviendi,, H.M.Salleh, M. Taher, and Miyashita. 2011. Isolation of fucoxanthin and fatty acids analysis of *Padina australis* and cytotoxic effect of fucoxanthin on human lung cancer (H1299) cell lines. *African Journal of Biotechnology*.**10**(81):18855–18862.

Japan International Research Center for Agricultural Sciences. 2012. *Turbinaria conoides*.http://www.jircas.affrc.go.jp/project/aquacult_Thailand/data/turbinaria_conoides.html. Diakses tanggal 5 April 2015.

Kalaisezhiyen, K. Dan Vadivukkarasi S. 2012. GC- MS Evaluation of Chemical Constituents From Methanolic Leaf Extract of *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) *Cogn. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **5** (4): ISSN - 0974-2441

Kadi, A. 2004. Potensi rumput laut di beberapa perairan pantai di Indonesia. *Oseana*. **29** (4): 25–36.

Kastiani, N. dan Z.Q. Amalia. 2008. Laporan Penelitian Pengambilan Minyak Atsiri Kulit Jeruk dengan Metode Ekstraksi Distilasi Vakum Semarang. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro

Kuda T, Tsunekawaa M, Goto H, Araki Y. 2005. Antioxidant Properties of Four Edible Algae Harvested in the Noto Peninsula, Japan. *J Food Comp Anal*. **18**: 625-633

Kumar, S. Sadish, Y. Kumar, M.S. Y Khan, dan V. Gupta. 2009. New Antifungal from *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kutzing.

Kumar, S. Sadish dan Yatendra Kumar. 2012. *Turbinaria conoides*: A Marine Algal Drug Chest: Bioactive compounds from the Brown alga.

Leusch, F. and H. Chapman. 2011. The Role of Toxicity Testing in Identifying Toxic Substances: A Framework in Water for Identification of Suspected Toxic Compound in Water. Griffith University. Australia.

Li, R.W., D.N. Leach, P. Myers, G.J. Leach, G.D. Lin, D.J. Brushett and P.G. Waterman, 2004. Anti-inflammatory activity, cytotoxicity and active compounds of *Tinospora smilacina* Benth. *Phytother. Res.*, 18: 78-83.

Maukar, M.A., M.R.J. Runtuwene, dan J. Pontoh. 2011. Analisis Kandungan Fitokimia dari Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Soyogik (*Sauraula brasteosa* DC) Dengan Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Sains*. **13**(2).

Maulida, D., dan N. Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likoopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran, n- Heksan, Aseton, dan Etanol. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R.M Putnam., J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., dan Mc Laughin, J.L. 1982. Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*.**45**: 31-34.
- Mutia, D. 2010. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Anggur (*Vitis vinifera*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Modupe, O., O. Wesley, A. Morufu and A.O. Elizabeth, 2010. Analysis of essential oil from the stem of *Chansmanthera dependens*. *J. Nat. Prod.*, 3: 47-53.
- Mora, E., Emrizal dan N. Selpas. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Asam Oleat Kulit Buah Kelapa Sawit (*Elais guinensis* Jacq.). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia* 1(2): 47-51 : ISSN 2302-187X
- Netty, M.R. 2006. Pemanfaatan Onggok Singkong Ternitrasi dan Terasetilasi sebagai Fase Diam Kromatografi Kolom. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Nursalam. 2008. Konsep dan Penerapan Metodologi Penelitian ilmu Keperawatan Edisi 2. Jakarta: Salemba Medika. 266 hlm.
- Nurjanah., L. Izzati., dan A. Abdullah. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen* spp.). *Ilmu Kelautan*. **16** (3): 119-124.
- Ortiz, J., Romer, E., Robert, P., Araya, J., Lopez, J., Bonzo, C., Navarrete, E., Osorio, A., dan Rios, A. 2006. Dietary Fiber, Amino Acid, Fatty Acid and Tocopherol Contents of The Edible Seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea Antarctica*. Santiago. Chile. *Food Chemistry*.**99**: 98–104.
- Panjaitan, R.B. 2011. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alixie cortex*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Purwakusuma, W. (2007). *Artemia salina* (*Brine Shrimp*). <http://www.ofish.com/PakanIkan/artemia.php>. Diakses tanggal 5 April 2015.
- Putri, W.S, N.K.Warditiani, L.P.F Larasanty. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Universitas Udayana. Bali
- POM, 2011. Asam Adipat. ik.pom.go.id/v2014/.../Asam%20Adipat_upload.pdf. diakses tanggal 27 Agustus 2015 pukul 20.45 WIB.
- Ponnusamy, K., D. Paul, Y.S. Kim, J.H. Kweon. 2010. 2(5) - Furanone. A Propective Strategy for Biofouling-Control in Membrane Biofilm Bacteria by Quorun Sensing Inhibition. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol. 4 No. 1: ISSN 1678-4405.

- Rais, I. R. 2014. Ekstraksi Andrografolid dari *Andrographis paniculata*(Burm. F) Nees menggunakan Ekstraktor Soxhlet. *Pharmacian*.4(1): 85-92.
- Raman, V., L.A. Samuel., P. Sardhi., N. Rao., N. Vamsi Krishna. Sudhakar., Radhakrishnan. 2012. *Antibacterial, Antioxidant Activity And GC-MS Analysis Eupatorium odoratum*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. ISSN-0974-2441
- Rhodia. 2012. Ethyl Acetate. http://www.rhodia.com/en/sustainability/global_product_strategy/index.tcm. Diakses tanggal 15 April 2015.
- Runtuwene, M. R. J dan J. Paendong. 2011. Kajian Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Methanol Daun Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*). Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Rohimat, I. W. dan A. Trianto. 2014. Aktifitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut *Turbinaria conoides* dan *Sargassum cristofolium* yang dikoleksi Dari Pantai Rancabuaya Garut Jawa Barat. *Journal of Marine Research*.3(3): 304-313.
- Rizani, K.Z. 2000. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi dan Inokulum *Saccharomyces cereviseae* pada Proses Fermentasi Sari Kulit Nanas (*Ananas comosus* I. Merr) Untuk produksi Etanol. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya Malang.
- Sahoo, D. 2010. Common Seewed In India. India: i.K. International Publishing House. 196 hlm.
- Santhanam, R. 2015. Nutritional Marine Life. Taylor and Francis Group: CRC Press. 279 hlm.
- Sastrohamidjojo, H. 2005. Spektroskopi Infra Merah. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Satria, M.D., R. Sari, S. Wahdaningsih. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Selvamangai, G. Dan Anusha Bhaskar. 2012. *GC-MS analysis of phytocomponents in the methanolic extract of Eupatorium triplinerve*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine: 1329-1332
- Septiana, A.T. dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut *Sargassum Duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *AGROINTEK*.6 (1).
- Sethi, P. 2014. Antimicrobial activities of *Turbinaria conoides* (J. Agard) Kutzing dan *Marsilea quadrifolia* Linn. *Asian Journal of Plant Science and Research*.4(6):36-40.

Setiarto, R.H.B. 2009. Deteksi dan Uji Toksisitas LC₅₀ Senyawa Aflatoxin B1, B2, B3, G1, G2 Pada Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L). Departemen Biokimia FMIPA. IPB. Bogor.

Sidik dan H. Mudahar. 2000. Ekstraksi Tumbuhan Obat, Metode dan Faktor-faktor yang Mempengaruhi Mutunya. Makalah pada seminar sehari. Perhipba Komariat jakarta. Universitas 17 Agustus 1945. Jakarta. 8 hlm.

Siregar, N. 2009. Pengaruh Lamanya Perendaman Daun Teh Terhadap Kadar Tanin Beverage di PT. Coca cola Bottle Indonesia Medan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatra Utara. Medan.

Sudarmadji S, Haryono B, dan Suhardi. 1989. Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.

Sudjadi. 1986. Metode Pemisahan. UGM Press. Yogyakarta.

Sulaeman, S. 2006. Pengembangan Agribisnis Komoditi Rumput Laut Melalui Metode Model Klaster Bisnis. Infokop Nomor 28 XXII.

Susanto, A.B. 2008. Apa Yang Terdapat Dalam Rumput Laut. <http://www.dkp.go.id>. diakses 2 maret 2015.

Suhirman, S., Hermani., dan S. Cheppy. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach.). Balai Besar Penelitian Obat dan Aromatik dan pasca Panen Pertanian. *Bule Littra*. **XVII** (1): pp 30-28.

Sukandar, D., S. Hermanto dan E. Lestari. 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Suresh, L., R.M. Veerabah, S.R. Gnanasingh. (2010). GC-MS analysis of ethanolic extract of *Zanthoxylum rhetsa* (roxb.) dc spines. *J. Herbal Med. Toxicol.* 4:191-192

Soemirat, J. 2003. Toksikologi Lingkungan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Skoog, D.A. 1996. *Fundamental of Analytical Chemistry*. Seventh edition. Saunders College Publishing. USA. 1176 hlm.

Taifan, W.E., H. Ivander, S. Gunawan. 2013. Pemisahan dan Pemurnian Phthalic Acid Ester dari Minyak Nyamplung. *Jurnal Teknik POMITS*. Vol 2. No. 2 (2013). ISSN:2337-3539

Tamat, S.R., T. Wikantadan L.S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumpu Laut Hijau *Ulva Reticulata* Forsskal. *Jurnal ilmu Kefarmasian Indonesia*. hlm 81-86 : ISSN 1693-1831.

Titri, S.M. dan Ratna Handayani. 2014. Senyawa Kimia Penyusun Ekstrak Ethyl Asetat Dari Daun Pisang Batu dan Ambon Hasil Distilasi Air. Prosiding SNST ke-5. Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Wibowo, Panji. 2008. Penentuan Bilangan Peroksida Asam Miristat (C_{1499}) Dari Unit Fraksinasi di PT. Soci Medan. Skripsi. Universitas Sumatra Utara.

Yenusi, T.N.B., A. Sabdono dan I. Widowati. 2014. Studi Komposisi dan Potensi Antioksidan dari Pigmen Rumput Laut *Turbinaria conoides* yang Berasal dari Perairan Pantai Hamadi Jayapura Papua. ISBN : 979363174-0.

Yanti, F. 2015. Etil Asetat 1. https://www.academia.edu/6338818/Etil_Asetat1. Diakses 04 April 2015 jam 14.35 WIB.

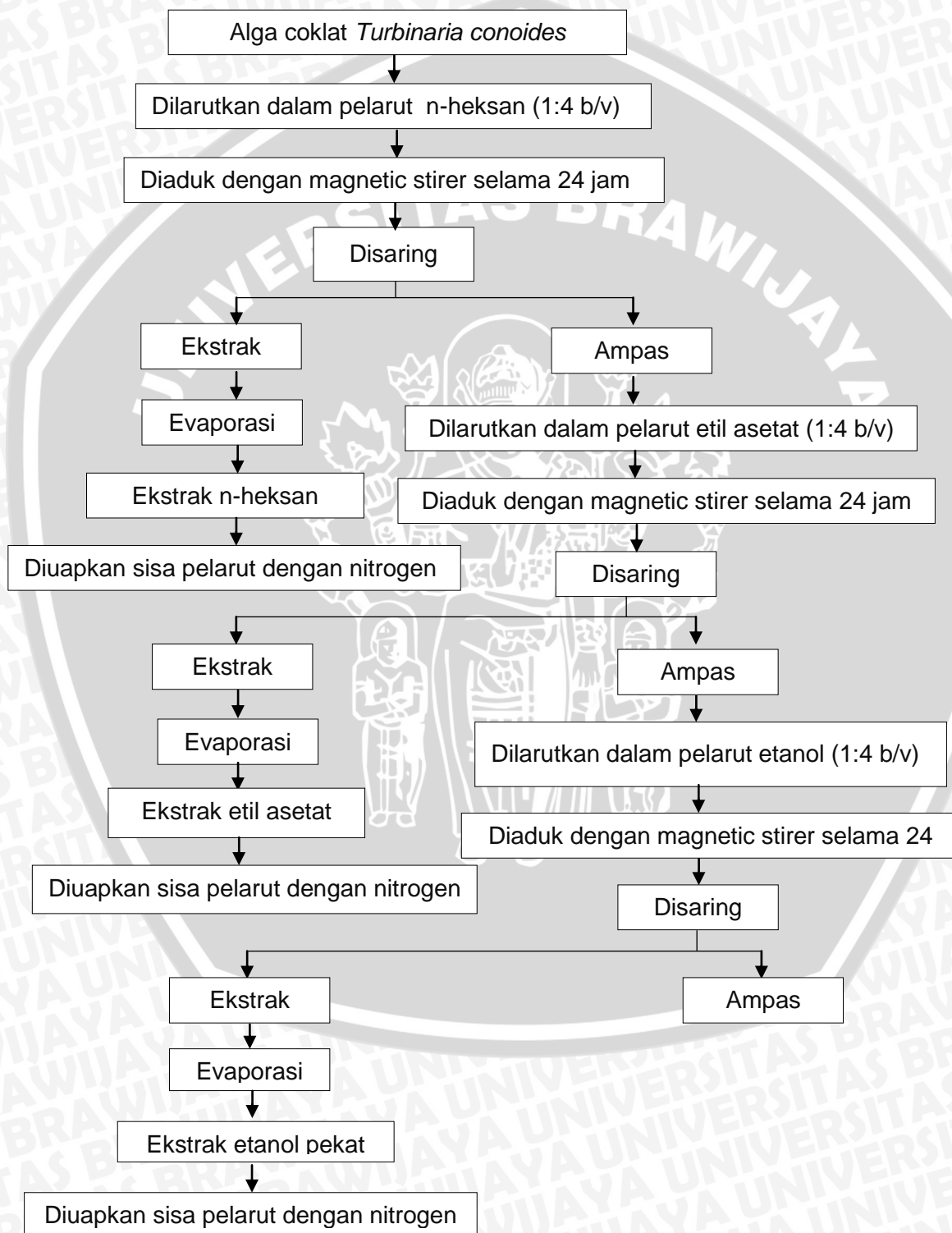
Zainuddin, E. N dan A.C.Malina. 2009. Skrining Rumput Laut Asal Sulawesi Selatan sebagai Antibiotik Melawan Antibakteri Patogen pada Ikan. Research Grant biaya IMHERE-DIKTI.



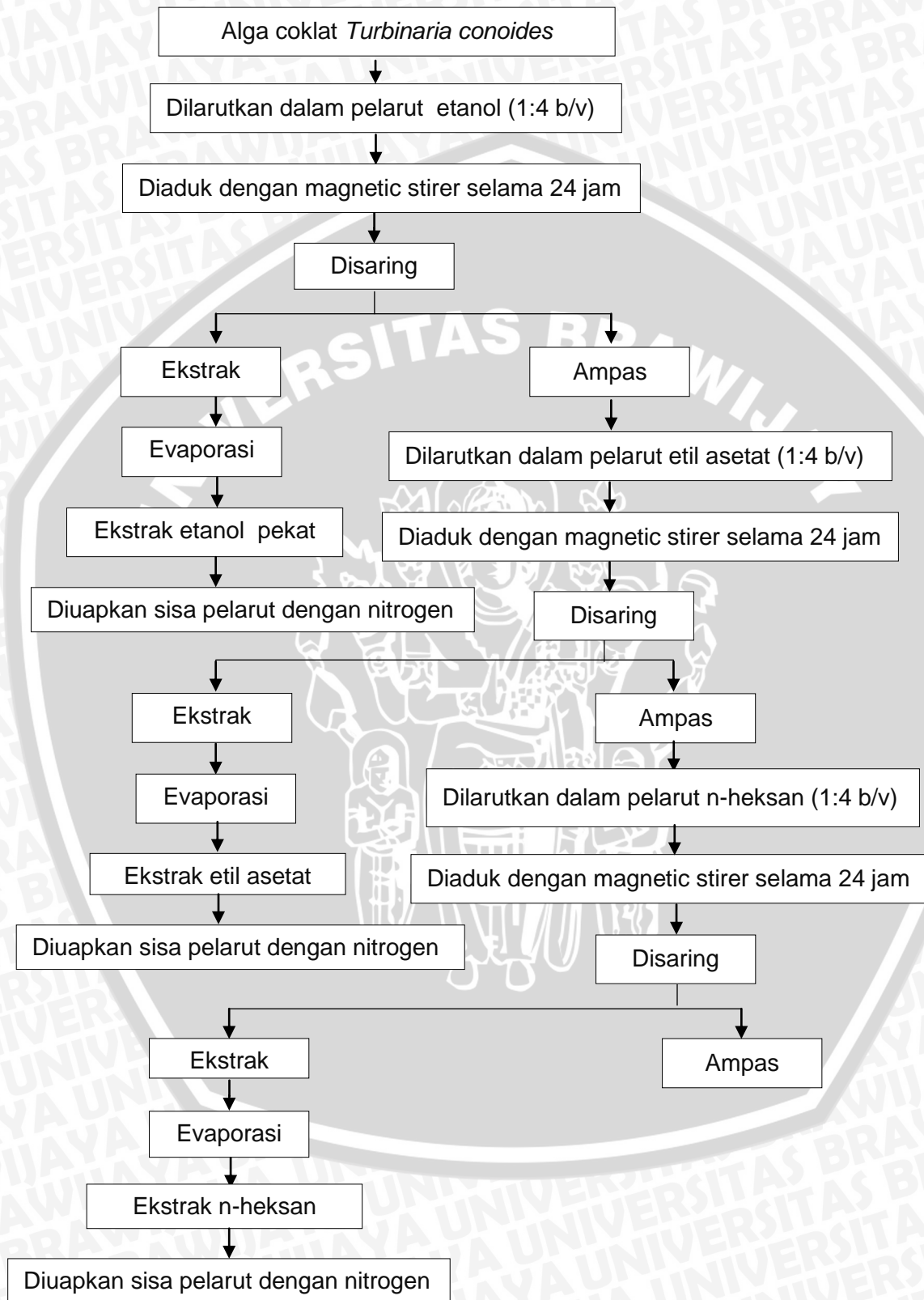
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema ekstraksi

- a. Skema ekstraksi sampel dari pelarut non polar ke polar (Septiana dan Ari termodifikasi, 2012)



b. Skema ekstraksi sampel dari pelarut polar ke non polar (Septiana dan Ari termodifikasi, 2012)



Lampiran 2. Pembuatan Konsentrasi Larutan Ekstrak

- Larutan ekstrak konsentrasi 2000 ppm

$$\frac{x}{20 \text{ ml}} = \frac{2000}{1.000.000}$$

$$\begin{aligned}x & \times 1.000.000 = 20 \times 2000 \\x & = \frac{40.000}{1.000.000} \\x & = 0,04 \text{ gram}\end{aligned}$$

Ekstrak kasar 0,04 gram ditambah air laut sampai volumenya 20 ml, maka dihasilkan 2000 ppm.

- Larutan ekstrak konsentrasi 1000 ppm

$$\begin{aligned}V1. M1 & = V2.M2 \\V1. 2000 & = 5 \times 1000 \\V1 & = 5000 / 2000 \\V1 & = 2,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Mengambil 2,5 ml dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai 5 ml, maka dihasilkan 1000 ppm.

- Larutan ekstrak konsentrasi 250 ppm

$$\begin{aligned}V1. M1 & = V2.M2 \\V1. 2000 & = 5 \times 250 \\V1 & = 1250 / 2000 \\V1 & = 0,625 \text{ ml}\end{aligned}$$

Mengambil 0,625 ml dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai volume 5 ml, maka dihasilkan konsentrasi 250 ppm.

- Larutan ekstrak konsentrasi 50 ppm

$$\begin{aligned}V1.M1 & = V2 \times M2 \\V1. 2000 & = 5. 50 \\V1 & = 250 / 2000 \\V1 & = 0,125 \text{ ml}\end{aligned}$$

Mengambil 0,125 ml dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai 5 ml, maka dihasilkan konsentrasi 50 ppm

- Larutan ekstrak konsentrasi 5 ppm

$$\begin{aligned}V1.M1 &= V2.M2 \\V1. 2000 &= 5 \times 5 \\V1 &= 25 / 2000 \\V1 &= 0,0125 \text{ ml}\end{aligned}$$

Mengambil 0,0125 ml dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai 5 ml, maka dihasilkan konsentrasi 5 ppm

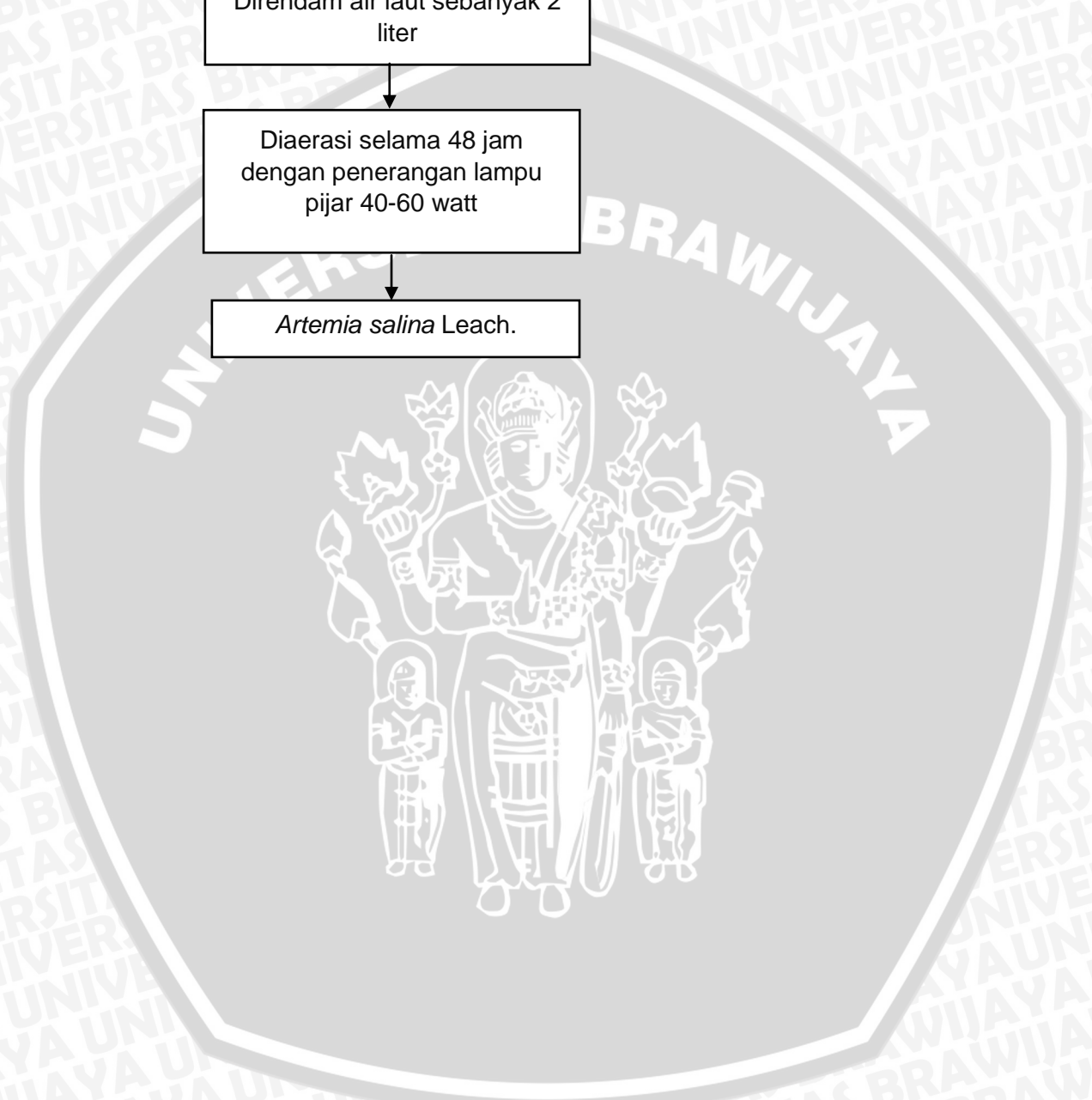
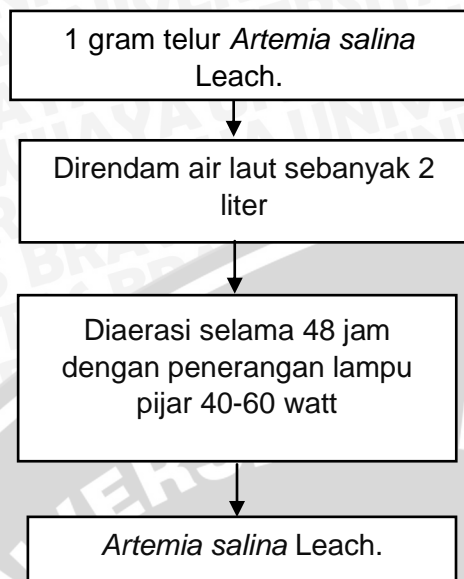
- Larutan ekstrak konsentrasi 0 ppm

$$\begin{aligned}V1.M1 &= V2 \times M2 \\V1. 2000 &= 5 \times 0 \\V1 &= 0 \text{ ml}\end{aligned}$$

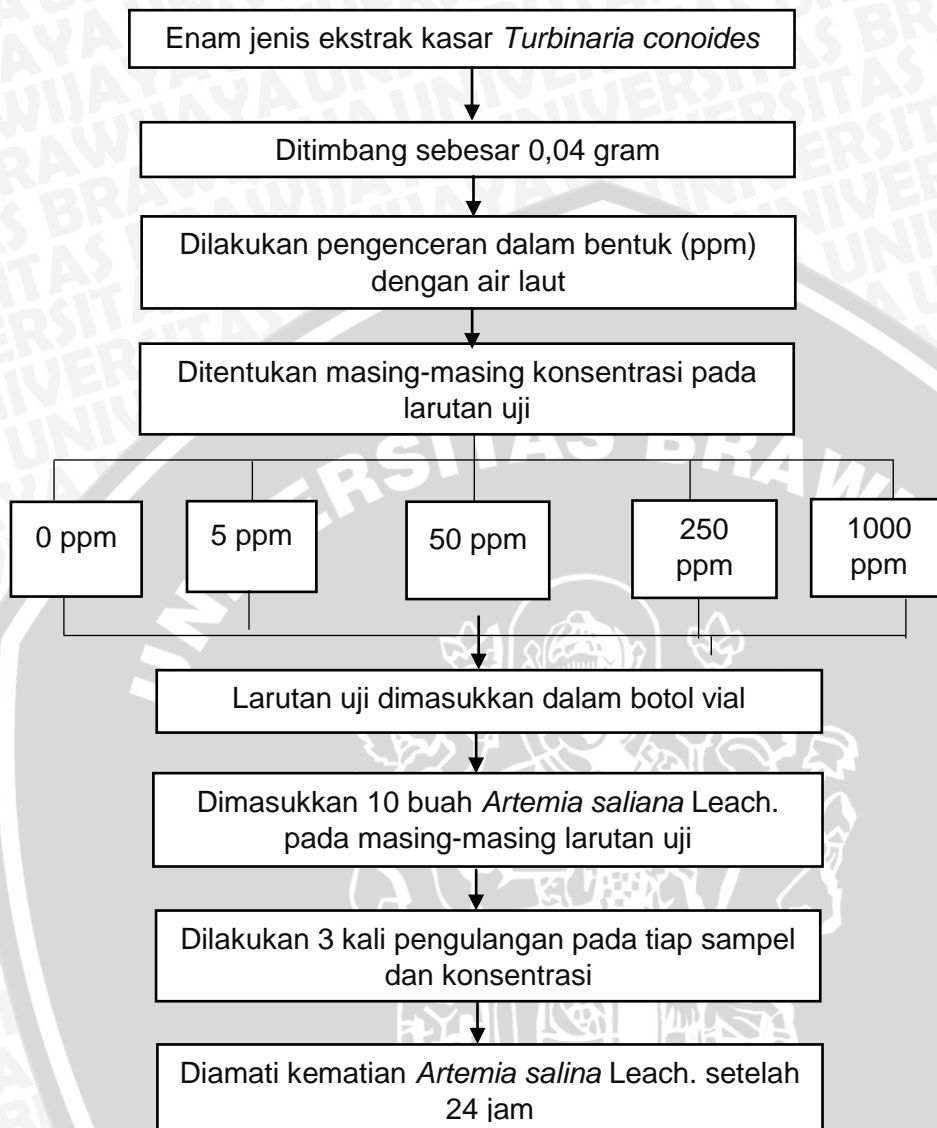
Diambil 5 ml air laut saja.



Lampiran 3. Penetasan Telur *Artemia salina* Leach (Tamat et al., 2007)



Lampiran 4. Skema kerja uji toksisitas (Tamat et al., 2007)



Lampiran 5. Prosedur Pemisahan Senyawa Ekstrak Etil Asetat *Turbinaria*

conoides dengan Kromatografi Kolom

(Widowati *et al.*, termodifikasi 2003).

- Fase diam *silica gel* 60 mesh ditimbang \pm 40 gram, kemudian dihomogenkan dengan 200 ml fase gerak berupa pelarut n-heksan dan etil asetat perbandingan (8:2 v/v) menggunakan *magnetic stirer* kecepatan 150 rpm selama \pm 1 jam.
- Kapas direndam dengan larutan fase gerak, dimasukkan pada ujung kolom kromatografi dengan bantuan lidi.
- Kolom kromatografi dipasang pada statif
- Setelah itu bubuk *silica gel* 60 mesh dimasukkan ke dalam kolom kromatografi dan diratakan dengan cara diketuk-ketuk menggunakan bola hisab
- Ditutup pada bagian ujung dan pangkal kolom dan didiamkan selama \pm 12 jam.
- Dimasukkan *sea sand* (pasir laut halus) \pm 2,5 gram
- Dilarutkan ekstrak kasar etil asetat \pm 0,3-0,4 gram ke dalam \pm 10 ml fase gerak n-heksan dan etil asetat (8:2 v/v)
- Kran Kolom kromatografi dibuka, dikeluarkan semua fase gerak dari kolom kromatografi sampai batas *sea sand*.
- larutan ekstrak pigmen dimasukkan secara perlahan dengan menggunakan pipet tetes.
- Setelah ekstrak pigmen melewati *sea sand* dan masuk ke dalam *silica gel*-60, kemudian ditambahkan fase gerak (n-heksan:etil asetat untuk ekstrak etil asetat dan kloroform:metanol untuk ekstrak etanol dengan perbandingan 8:2 v/v) sedikit demi sedikit agar *silica gel* tidak pecah.
- Fraksi yang keluar ditampung pada botol sampel sesuai warna yang keluar dan diberi nomor setiap botolnya.
- Polaritas fase gerak (n-heksan : etil asetat) dinaikan rata-rata volume 200-300 ml dari perbandingan (8:2 v/v), (7:3 v/v), (6:4 v/v), dan (5:5 v/v), (4:6v/v), (3:7v/v), (2:8v/v) sampai semua fraksi warna ekstrak terpisah dan keluar.

Lampiran 6. Data Hasil Uji Toksisitas

Tabel 15. Data Uji Toksisitas

Perlakuan	Konsentrasi	Kematian <i>Artemia salina</i> Leach.		
		U1	U2	U3
A	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	3
	250	6	6	5
	1000	9	9	9
B	0	0	0	0
	5	2	2	1
	50	4	3	4
	250	9	8	8
	1000	10	10	10
C	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	2
	250	7	8	8
	1000	10	10	10
D	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	3	3	2
	250	6	7	8
	1000	10	10	10
E	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	4	3	4
	250	8	8	7
	1000	10	10	10
F	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	2	3
	250	5	5	6
	1000	9	8	9

Lampiran 7. Data Hasil Penelitian

1. Perlakuan A ulangan 1 (Ekstrak N-heksan *Turbinaria conoides*)

Tabel 16. Data Uji Toksisitas Sampel A ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
A	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	3
	250	6	6	5
	1000	9	9	9

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60 \%$$

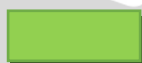
$$1000 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 17. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan A

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 20 %, 60 %, 90 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0, 3,72, 4,16, 5,25, dan 6,28.

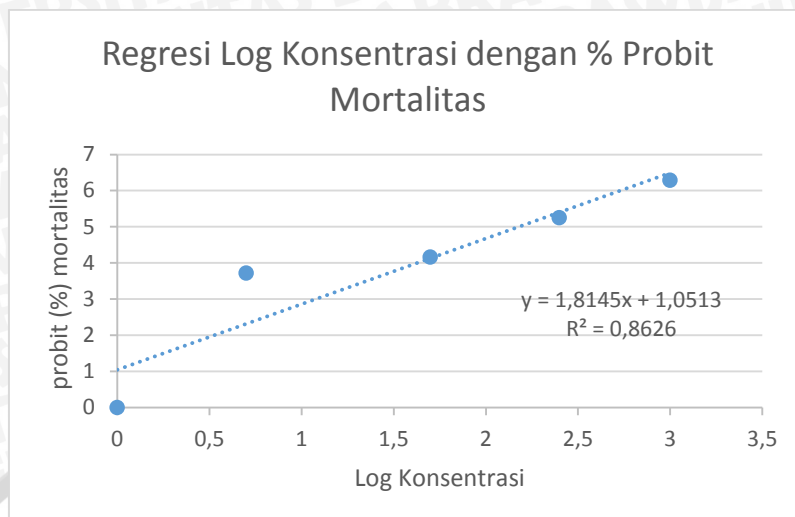
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,16
2,4	5,25
3	6,28





Gambar 15. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan *Turbinaria conoides* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 1,8145 + 1,0513$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,8145 x + 1,0513$$

$$5 = 1,8145 x + 1,0513$$

$$5 - 1,0513 = 1,8145 x$$

$$3,9487 = 1,8145 x$$

$$x = \frac{3,9487}{1,8145} = 2,1761$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,1761$$

$$= 150,003 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 150,003 \text{ ppm}$$

2. Perlakuan A ulangan 2 (Ekstrak N-heksan *Turbinaria conoides*)

Tabel 18. Data Uji Toksisitas Sampel A ulangan 2

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
A	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	3
	250	6	6	5
	1000	9	9	9

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 2 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 19. Nilai probit % mortalitas sampel A ulangan 2

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 60 %, 90 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,25; dan 6,28.

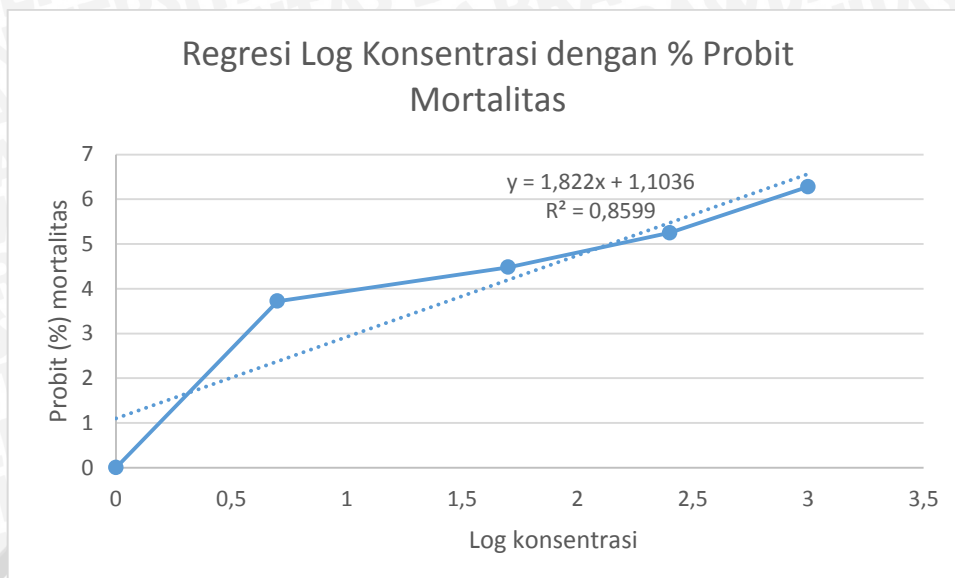
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,25
3	6,28





Gambar 16. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan *Turbinaria conoides* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 1,822 + 1,1036$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,822 x + 1,1036$$

$$5 = 1,822 x + 1,1036$$

$$5 - 1,1036 = 1,822 x$$

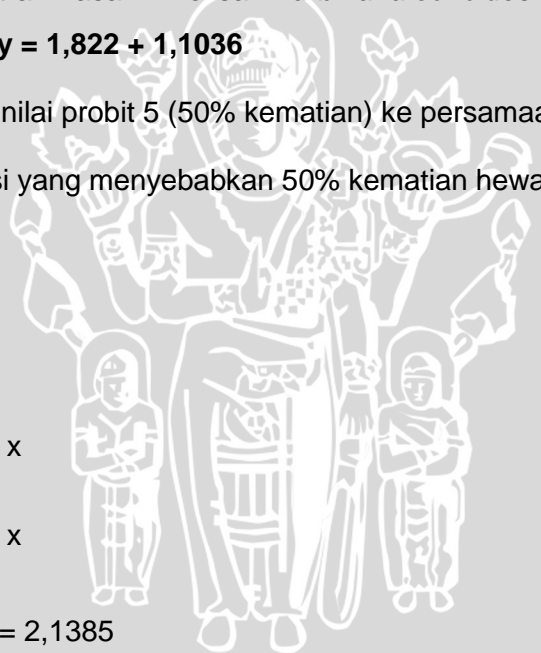
$$3,8964 = 1,822 x$$

$$x = \frac{3,8964}{1,822} = 2,1385$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,1385$$

$$= 137,562 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 137,562 \text{ ppm}$$



3. Perlakuan A Ulangan 3 (Ekstrak N-heksan *Turbinaria conoides*)

Tabel 20. Data Uji Toksisitas Sampel A Ulangan 3

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
A	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	3
	250	6	6	5
	1000	9	9	9

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 3 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

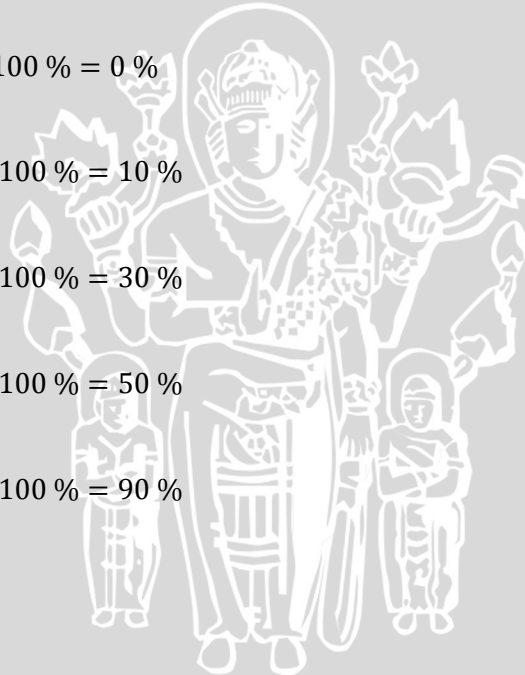
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{5}{10} \times 100 \% = 50 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 21. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 3 perlakuan A

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 50 %, 90 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,00; dan 6,28.

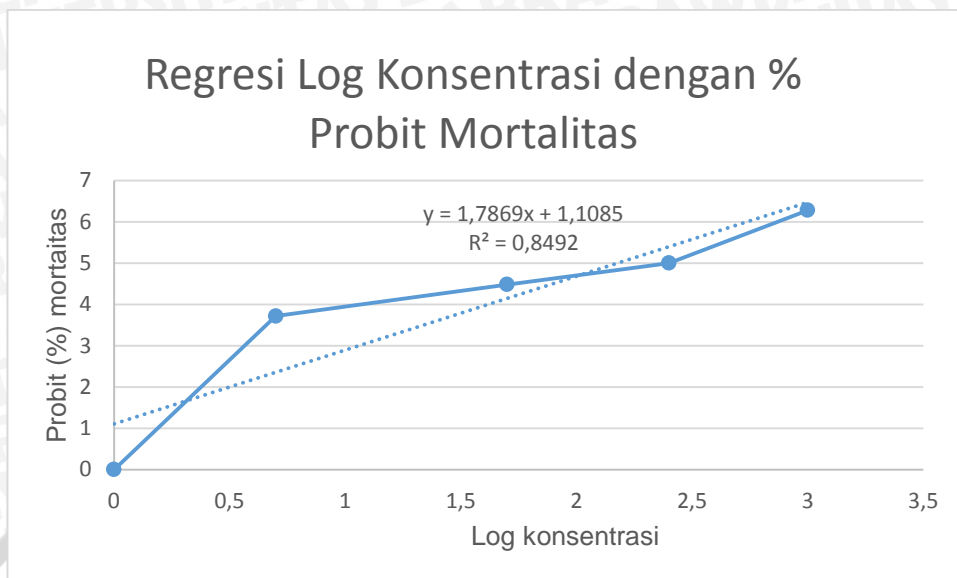
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,00
3	6,28





Gambar 17. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan *Turbinaria conoides* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan $y = 1,7869 + 1,1085$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,7896 x + 1,1085$$

$$5 = 1,7896 x + 1,1085$$

$$5 - 1,7896 = 1,1085 x$$

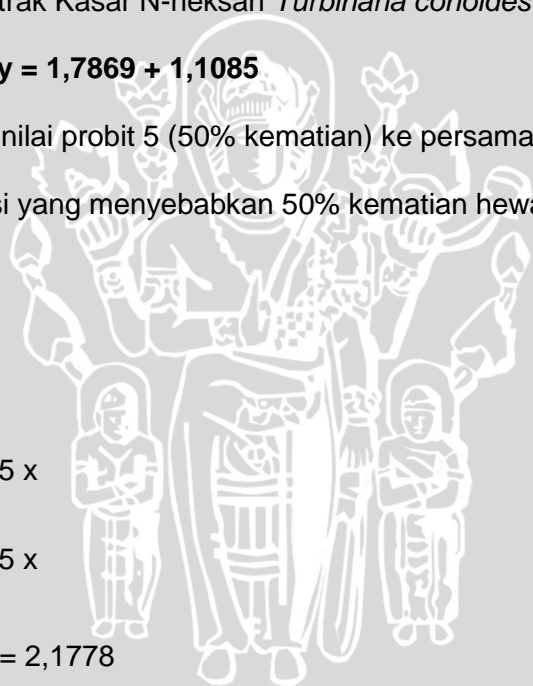
$$3,8915 = 1,1085 x$$

$$x = \frac{3,8915}{1,1085} = 2,1778$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,1385$$

$$= 150,591 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 150,591 \text{ ppm}$$



4. Perlakuan B ulangan 1 (Ekstrak Etil asetat (N-heksan) *Turbinaria conoides*)

Tabel 22. Data Uji Toksisitas Sampel B Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
B	0	0	0	0
	5	2	2	1
	50	4	3	4
	250	9	8	8
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

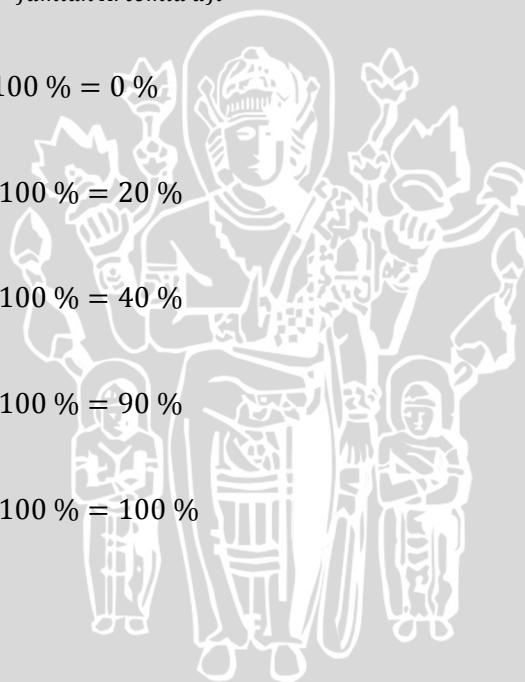
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100 \% = 40 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 23. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan B

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 20 %, 40 %, 90 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 4,16; 4,75; 6,28; dan 7,37.

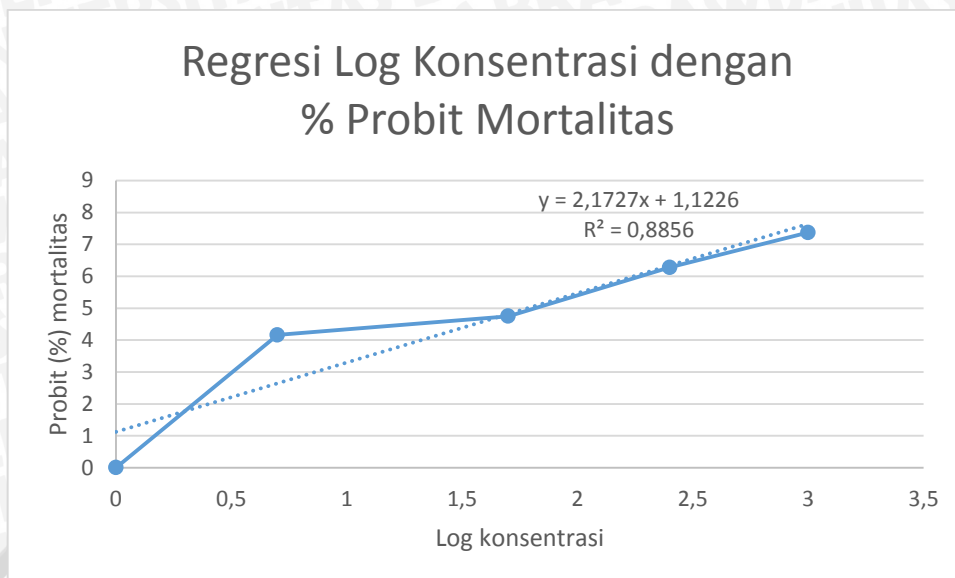
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	4,16
1,7	4,75
2,4	6,28
3	7,37





Gambar 18. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat (N-heksan) *Turbinaria conoides* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 2,1727 + 1,1226x$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1727 x + 1,1226$$

$$5 = 2,1727 x + 1,1226$$

$$5 - 1,1226 = 2,1727 x$$

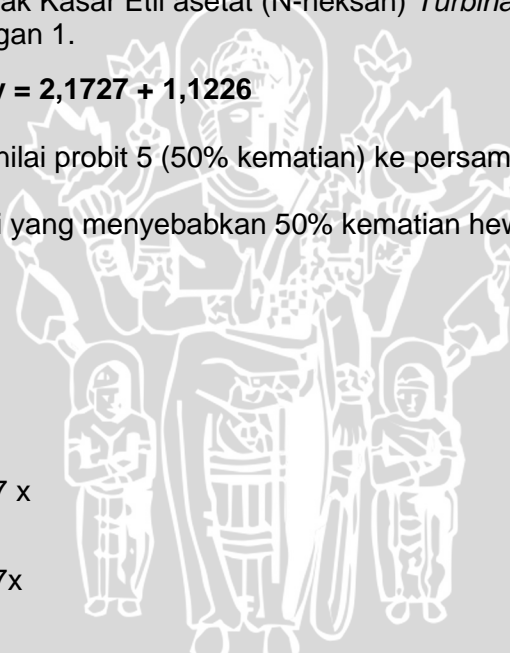
$$3,8774 = 2,1727x$$

$$x = \frac{3,8774}{2,1727} = 1,7846$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,7846$$

$$= 60,897 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 60,897 \text{ ppm}$$



5. Perlakuan B ulangan 2 (Ekstrak Etil asetat (N-heksan) *Turbinaria conoides*)

Tabel 24. Data Uji Toksisitas Sampel B Ulangan 2

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
B	0	0	0	0
	5	2	2	1
	50	4	3	4
	250	9	8	8
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 2 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 25. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 2 perlakuan B

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

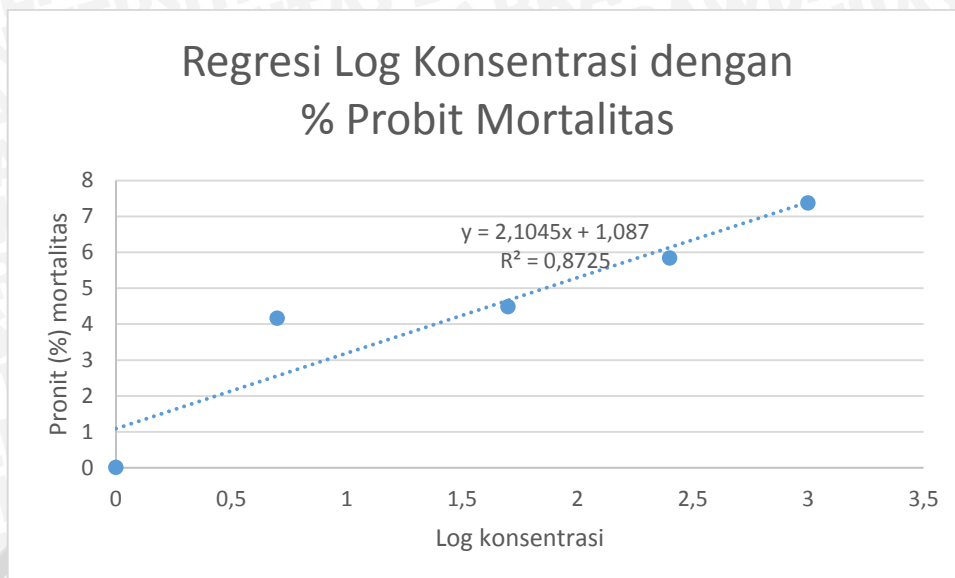
Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 20 %, 30 %, 80 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 4,16; 4,48; 5,84; dan 7,37.

Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	4,16
1,7	4,48
2,4	5,84
3	7,37



Gambar 19. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat (N-heksan) *Turbinaria conoides* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 2,1045x + 1,087$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1045x + 1,087$$

$$5 = 2,1045x + 1,087$$

$$5 - 1,087 = 2,1045 x$$

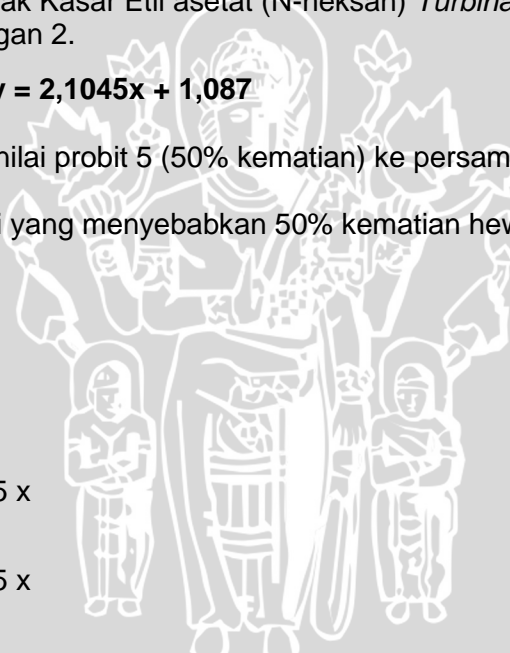
$$3,913 = 1,1085 x$$

$$x = \frac{3,913}{2,1045} = 1,8593$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,8593$$

$$= 72,327 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 72,327 \text{ ppm}$$



6. Perlakuan B (Ekstrak Etil asetat (N-heksan) *Turbinaria conoides*)

Tabel 26. Data Uji Toksisitas Sampel B Ulangan 3

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
B	0	0	0	0
	5	2	2	1
	50	4	3	4
	250	9	8	8
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 3 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100 \% = 40 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 27. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 3 perlakuan B

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09


Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 40 %, 80 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,75; 5,84; dan 7,37.

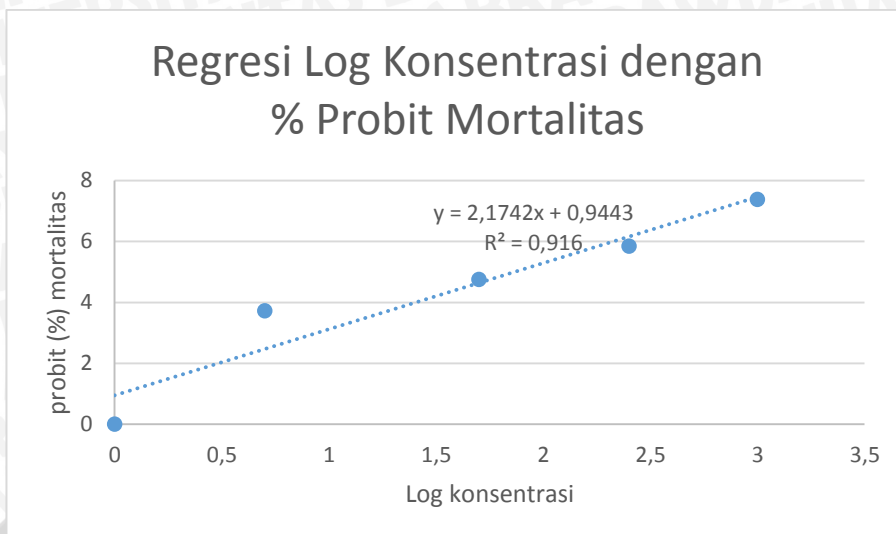
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogaritmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,75
2,4	5,84
3	7,37





Gambar 20. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat (N-heksan) Turbinaria conoides Ulangan 3.

Diperoleh persamaan **$y = 2,1742x + 0,9443$**

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1742x + 0,9443$$

$$5 = 2,1742x + 0,9443$$

$$5 - 0,9443 = 2,1742 x$$

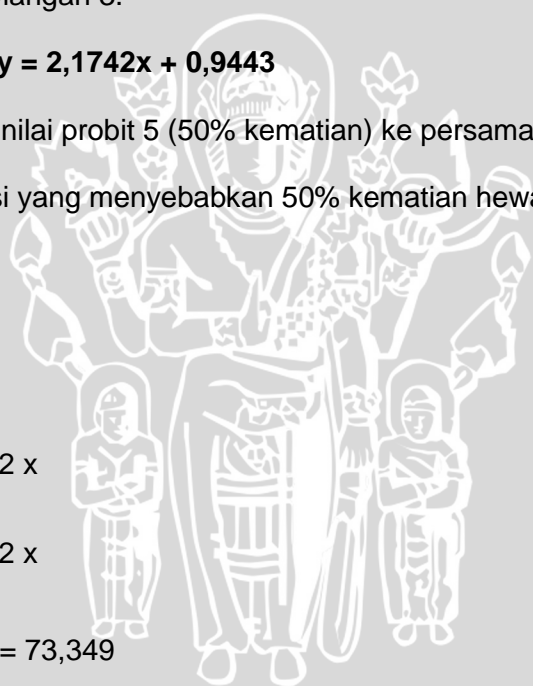
$$4,0557 = 2,1742 x$$

$$x = \frac{4,0557}{2,1742} = 73,349$$

$$\text{Anti Logaritma} = 73,349$$

$$= 73,349\text{ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 73,349\text{ppm}$$



7. Perlakuan C ulangan 1 (Ekstrak etanol (N-heksan) *Turbinaria conoides*)

Tabel 28. Data Uji Toksisitas Sampel C Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
C	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	2
	250	7	8	8
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

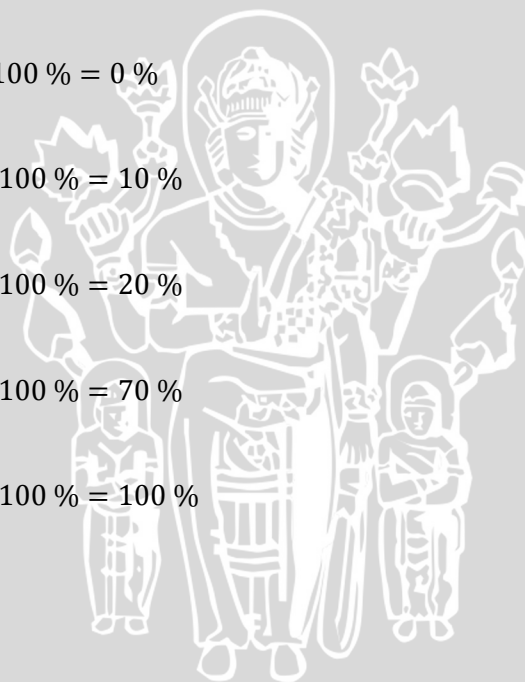
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100 \% = 70 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 29. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan C

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09


Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 20 %, 70 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,52; dan 7,37.

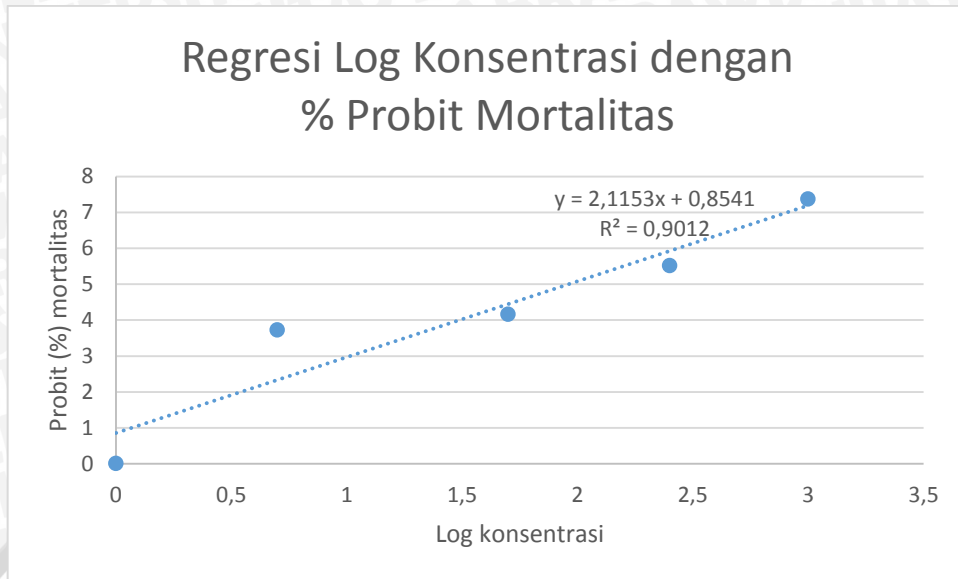
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,52
3	7,37





Gambar 21. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar etanol (N-heksan) *Turbinaria conoides* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan **$y = 2,1153x + 0,8541$**

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1153x + 0,8541$$

$$5 = 2,1153x + 0,8541$$

$$5 - 0,8541 = 2,1153 x$$

$$4,1459 = 2,1553 x$$

$$x = \frac{4,1459}{2,1553} = 1,9599$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,9599$$

$$= 91,180 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 91,180 \text{ ppm}$$

8. Perlakuan C ulangan 2 (Ekstrak etanol (N-heksan) *Turbinaria conoides*)

Tabel 30 Data Uji Toksisitas Sampel C Ulangan 2

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
C	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	2
	250	7	8	8
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 2 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

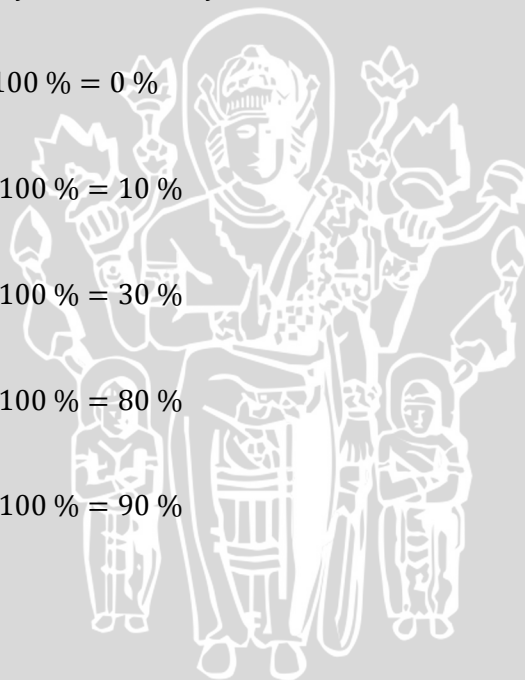
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 90 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 31. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 2 perlakuan C

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 80 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,84; dan 7,37.

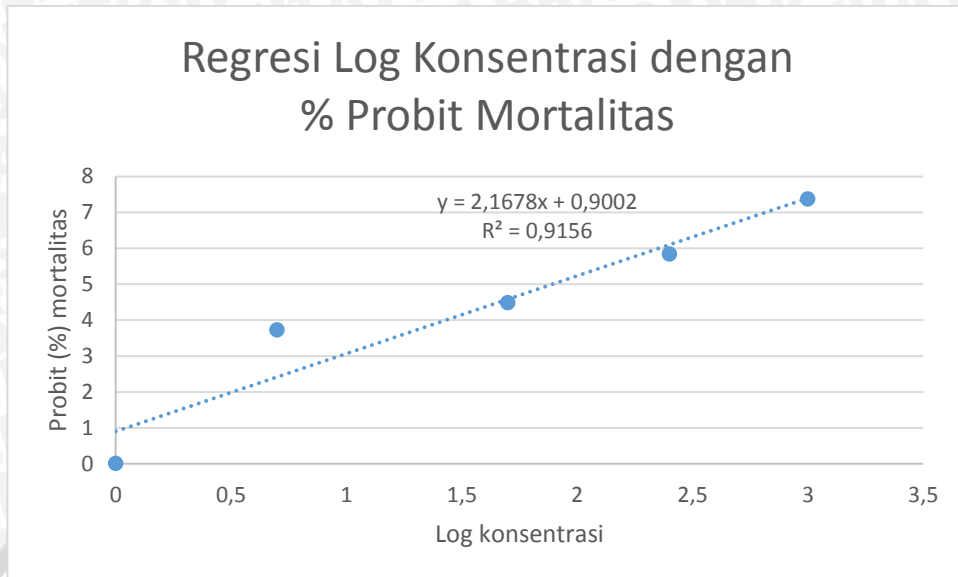
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,84
3	7,37





Gambar 22. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol (N-heksan) *Turbinaria conoides* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 2,1678x + 0,9002$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1678x + 0,9002$$

$$5 = 2,1678x + 0,9002$$

$$5 - 0,9002 = 2,1678 x$$

$$4,0998 = 2,1678 x$$

$$x = \frac{4,0998}{2,1678} = 1,8912$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,8912$$

$$= 77,839 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 77,839 \text{ ppm}$$

9. Perlakuan C ulangan 3 (Ekstrak Etanol (N-heksan) *Turbinaria conoides*)

Tabel 32. Data Uji Toksisitas Sampel C Ulangan 3

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
C	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	3	2
	250	7	8	8
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 3 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

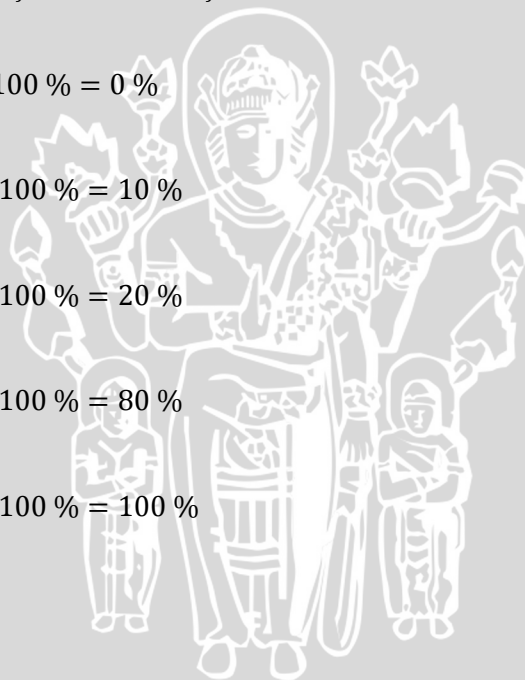
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 33. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 3 perlakuan C

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09


Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 20 %, 80 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,16; 5,84; dan 7,37.

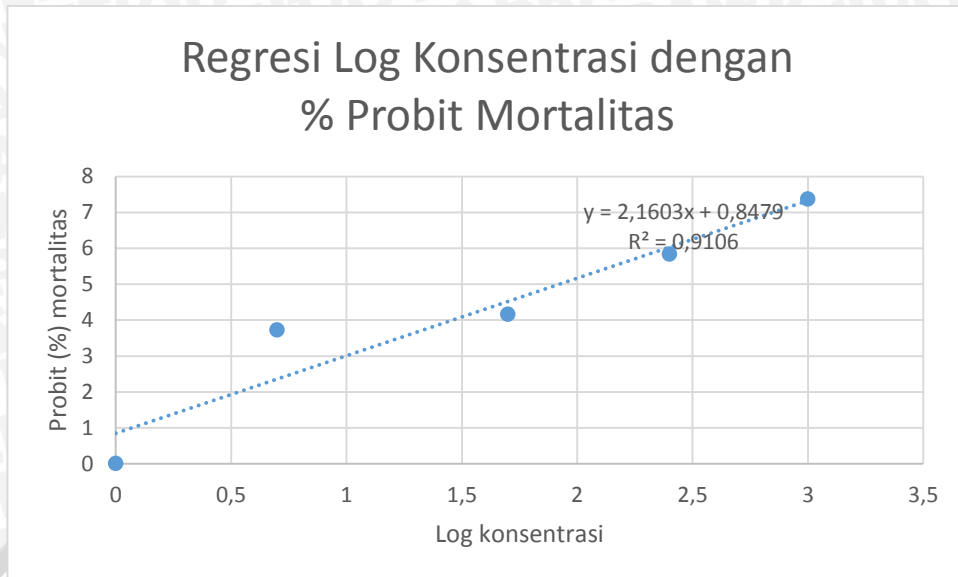
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,16
2,4	5,84
3	7,37





Gambar 23. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak etanol (n-heksan) *Turbinaria conoides* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan **$y = 2,1603x + 0,8479$**

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1603x + 0,8479$$

$$5 = 2,1603x + 0,8479$$

$$5 - 0,8479 = 2,1603 x$$

$$4,1521 = 2,1603 x$$

$$x = \frac{4,1521}{2,1603} = 1,922$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,922$$

$$= 83,560 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 83,560 \text{ ppm}$$

10. Perlakuan D ulangan 1 (Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*)

Tabel 34. Data Uji Toksisitas Sampel D Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
D	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	3	3	2
	250	6	7	6
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

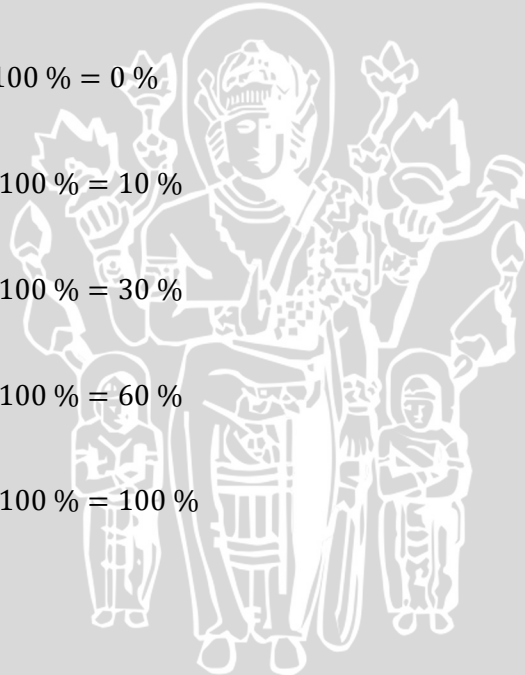
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 35. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan D

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09


Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 60 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,25; dan 7,37.

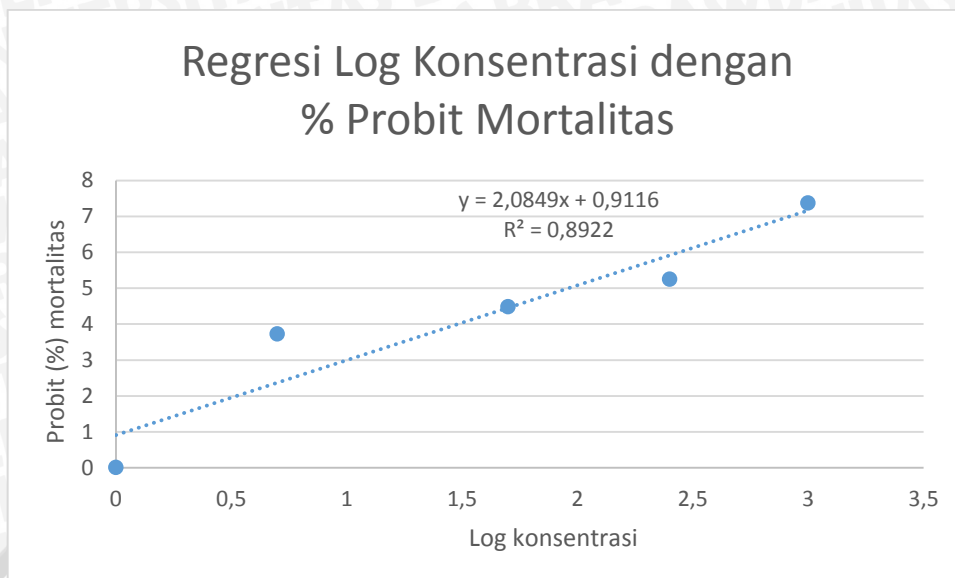
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,25
3	7,37





Gambar 24. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol *Turbinaria conoides* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 2,0849x + 0,9116$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,0849x + 0,9116$$

$$5 = 2,0849x + 0,9116$$

$$5 - 0,9116 = 2,0849 x$$

$$3,8915 = 2,0849 x$$

$$x = \frac{3,8915}{2,0849} = 1,9609$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,9609$$

$$= 91,390 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 91,390 \text{ ppm}$$

11. Perlakuan D ulangan 2 (Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*)

Tabel 36. Data Uji Toksisitas Sampel D Ulangan 2

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
D	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	3	3	2
	250	6	7	6
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 2 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

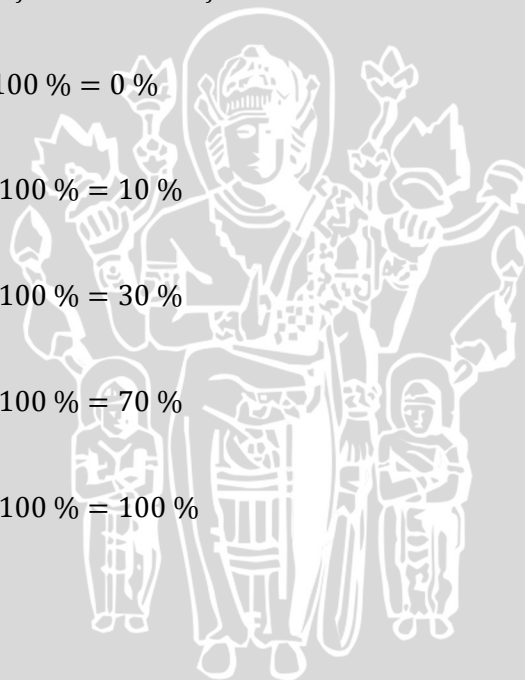
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100 \% = 70 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 37. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 2 perlakuan D

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 70 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,52; dan 7,37.

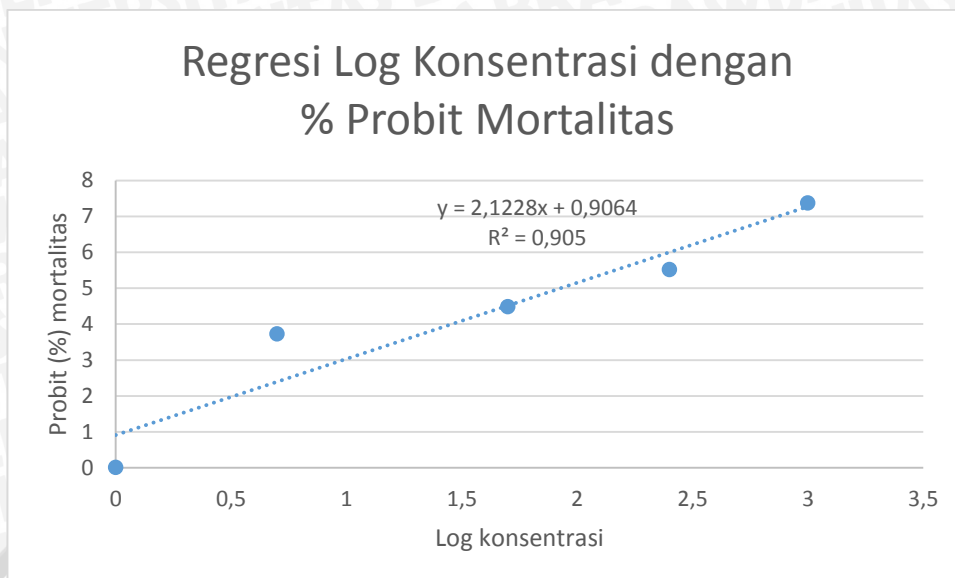
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,52
3	7,37





Gambar 25. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol *Turbinaria conoides* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 2,1228x + 0,9064$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1228x + 0,9064$$

$$5 = 2,1228x + 0,9064$$

$$5 - 0,9064 = 2,1228x$$

$$4,0936 = 2,1228x$$

$$x = \frac{4,0936}{2,1228} = 1,9284$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,9284$$

$$= 84,800 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 84,800 \text{ ppm}$$

12. Perlakuan D ulangan 3 (Ekstrak etanol *Turbinaria conoides*)

Tabel 38. Data Uji Toksisitas Sampel D Ulangan 3

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
D	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	3	3	2
	250	6	7	6
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 3 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

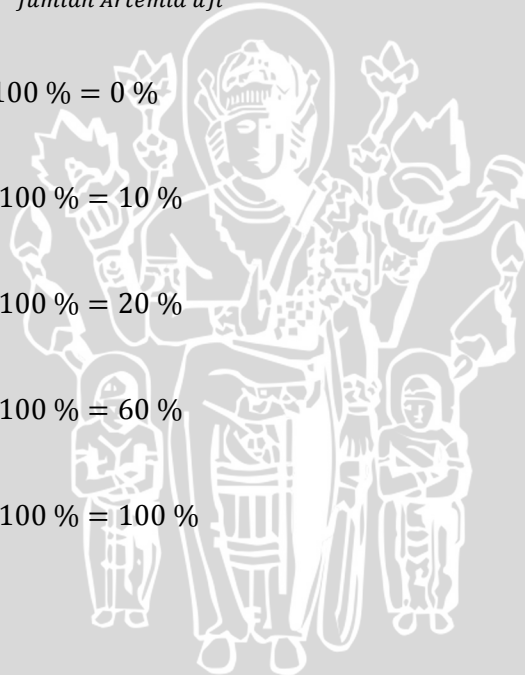
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 39. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 3 perlakuan D

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09


Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 20 %, 60 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,16; 5,25; dan 7,37.

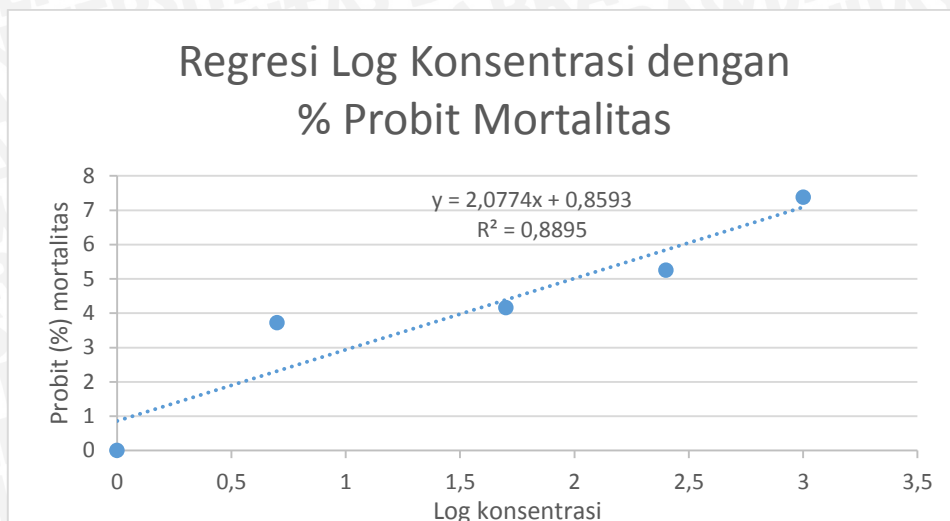
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning )

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,16
2,4	5,25
3	7,37





Gambar 26. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etanol *Turbinaria conoides* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan $y = 2,0774x + 0,8593$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,0774x + 0,8593$$

$$5 = 2,0774x + 0,8593$$

$$5 - 0,8593 = 2,0774 x$$

$$4,1407 = 2,0774 x$$

$$x = \frac{4,1407}{2,0774} = 1,9932$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,9932$$

$$= 98,446 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 98,446 \text{ ppm}$$

13. Perlakuan E ulangan 1 Ekstrak etil asetat (etanol) *Turbinaria conoides*

Tabel 40. Data Uji Toksisitas Sampel E Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
E	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	4	3	4
	250	8	8	7
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100 \% = 40 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 41. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan E

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 40 %, 80 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,75; 5,84; dan 7,37.

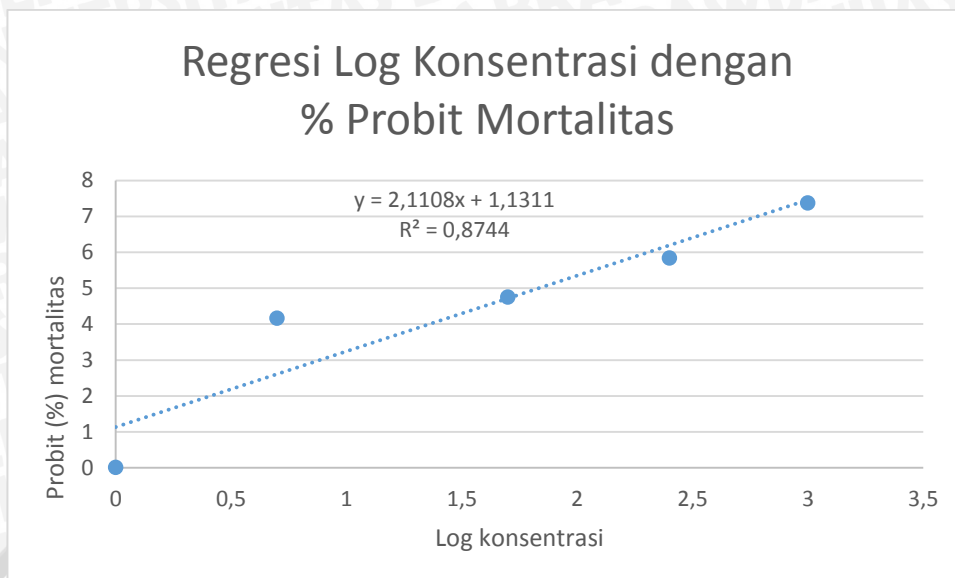
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartmakan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,75
2,4	5,84
3	7,37





Gambar 27. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar etil asetat (etanol) *Turbinaria conoides* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 2,1108x + 1,1311$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1108x + 1,1311$$

$$5 = 2,1108x + 1,1311$$

$$5 - 1,1311 = 2,1108 x$$

$$3,8689 = 2,1108 x$$

$$x = \frac{3,8689}{2,1108} = 1,8329$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,8329$$

$$= 68,061 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 68,061 \text{ ppm}$$

14. Perlakuan E ulangan 2 Ekstrak etil asetat (etanol) *Turbinaria conoides*

Tabel 42. Data Uji Toksisitas Sampel E Ulangan 2

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
E	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	4	3	4
	250	8	8	7
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 2 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

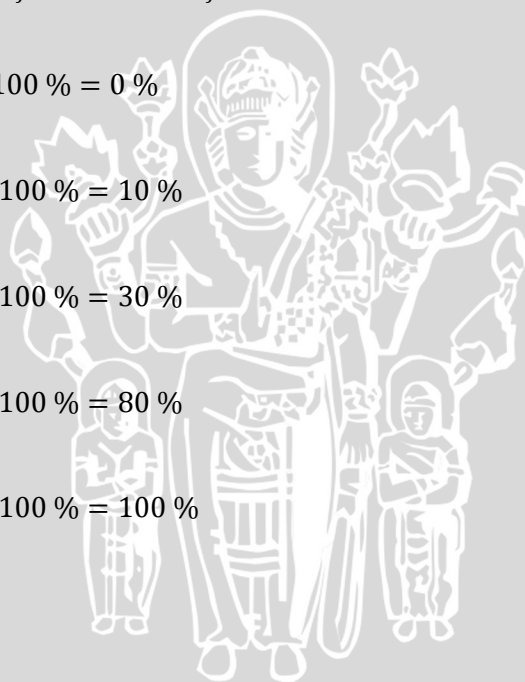
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 43. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan E

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 80 %, 100 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,84; dan 7,37.

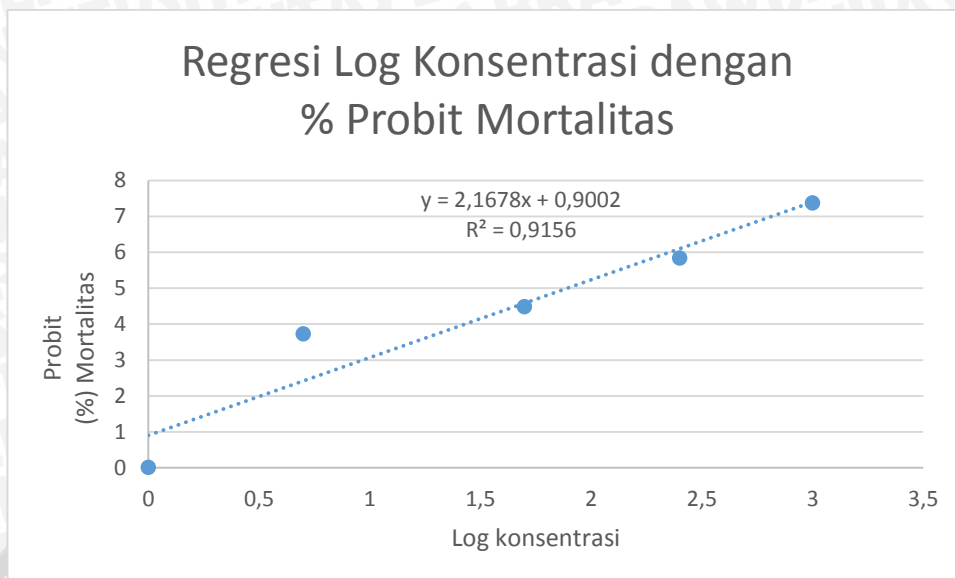
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,84
3	7,37





Gambar 28. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat (etanol) *Turbinaria conoides* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 2,1678x + 0,9002$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1678x + 0,9002$$

$$5 = 2,1678x + 0,9002$$

$$5 - 0,9002 = 2,1678x$$

$$4,0998 = 2,1678x$$

$$x = \frac{4,0998}{2,1678} = 1,8912$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,8912$$

$$= 77,839 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 77,839 \text{ ppm}$$

15. Perlakuan E ulangan 3 (Ekstrak Etil asetat (etanol) *Turbinaria conoides*)

Tabel 44. Data Uji Toksisitas Sampel E Ulangan 3

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
E	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	4	3	4
	250	8	8	7
	1000	10	10	10

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 3 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100 \% = 40 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100 \% = 70 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 100 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 45. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 2 perlakuan E

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 40 %, 70 %, 90 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3; 72; 4,48; 5,25; dan 6,28.

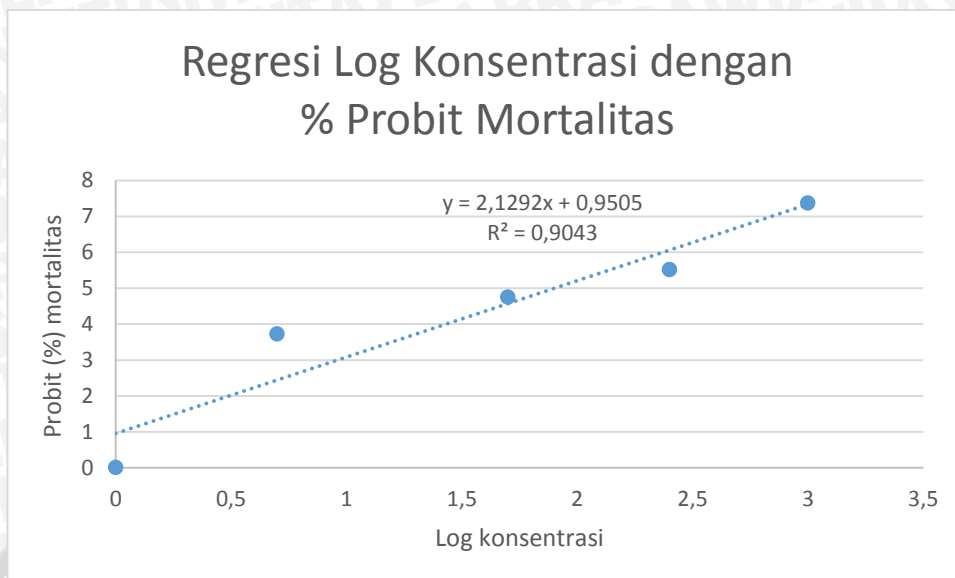
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,75
2,4	5,52
3	7,37





Gambar 29. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar Etil asetat (etanol) *Turbinaria conoides* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan $y = 2,1292x + 0,9505$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 2,1292x + 0,9505$$

$$5 = 2,1292x + 0,9505$$

$$5 - 0,9505 = 2,1292 x$$

$$4,0495 = 2,1292 x$$

$$x = \frac{4,0495}{2,1292} = 1,9019$$

$$\text{Anti Logaritma} = 1,9019$$

$$= 79,781 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 79,781 \text{ ppm}$$

16. Perlakuan Fulangan 1 (Ekstrak N-heksan (etanol) *Turbinaria conoides*)

Tabel 46. Data Uji Toksisitas Sampel F Ulangan 1

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
F	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	2	2
	250	5	6	7
	1000	9	9	8

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 1 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{5}{10} \times 100 \% = 50 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 47. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 1 perlakuan F

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 20 %, 50 %, 90 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,16; 5,00; dan 6,28.

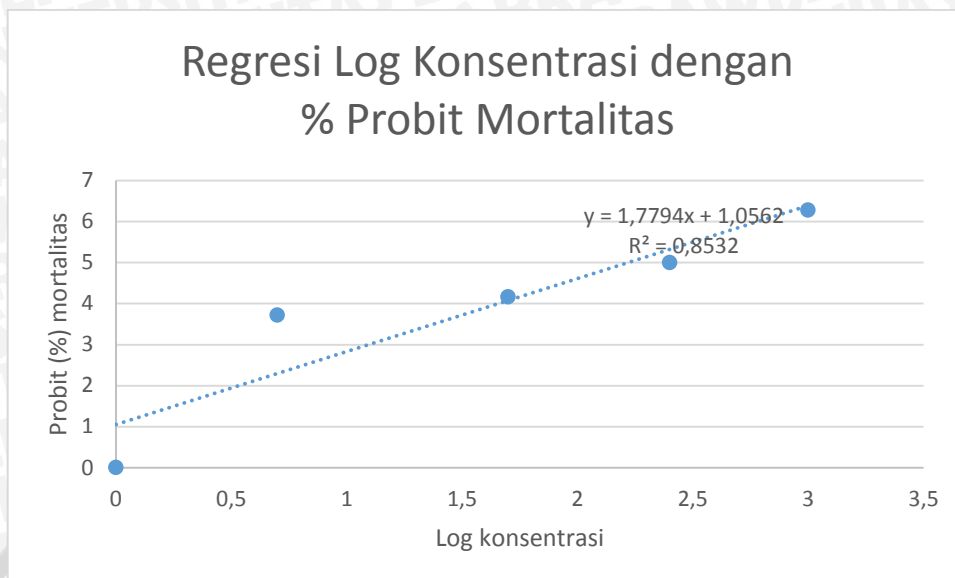
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,16
2,4	5,00
3	6,28





Gambar 30. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan (etanol) *Turbinaria conoides* Ulangan 1.

Diperoleh persamaan $y = 1,7794x + 1,0562$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,7794x + 1,0562$$

$$5 = 1,7794x + 1,0562$$

$$5 - 1,7896 = 1,7794 x$$

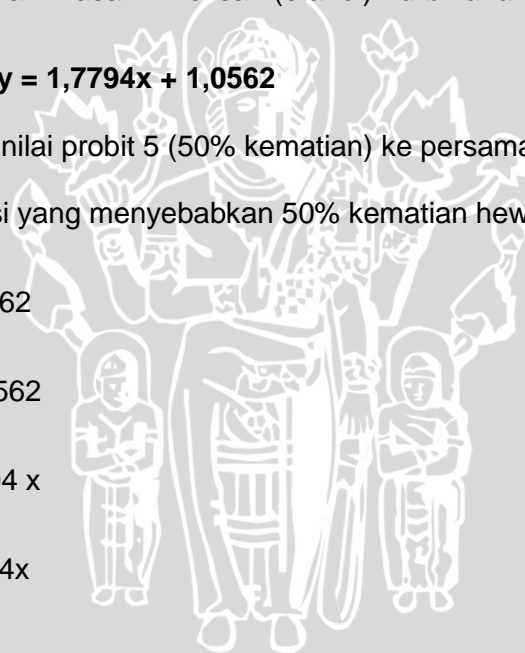
$$3,9438 = 1,7794x$$

$$x = \frac{3,9438}{1,7794} = 2,2164$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2, 2164$$

$$= 164,588 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 164,588 \text{ ppm}$$



17. Perlakuan F ulangan 2 (Ekstrak N-heksan (etanol) *Turbinaria conoides*)

Tabel 48. Data Uji Toksisitas Sampel F Ulangan 2

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
F	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	2	2
	250	5	6	7
	1000	9	9	8

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 2 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{10}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100 \% = 60 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100 \% = 90 \%$$

Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 49. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 2 perlakuan F

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 20 %, 50 %, 80 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,16; 5,00; dan 5,84.

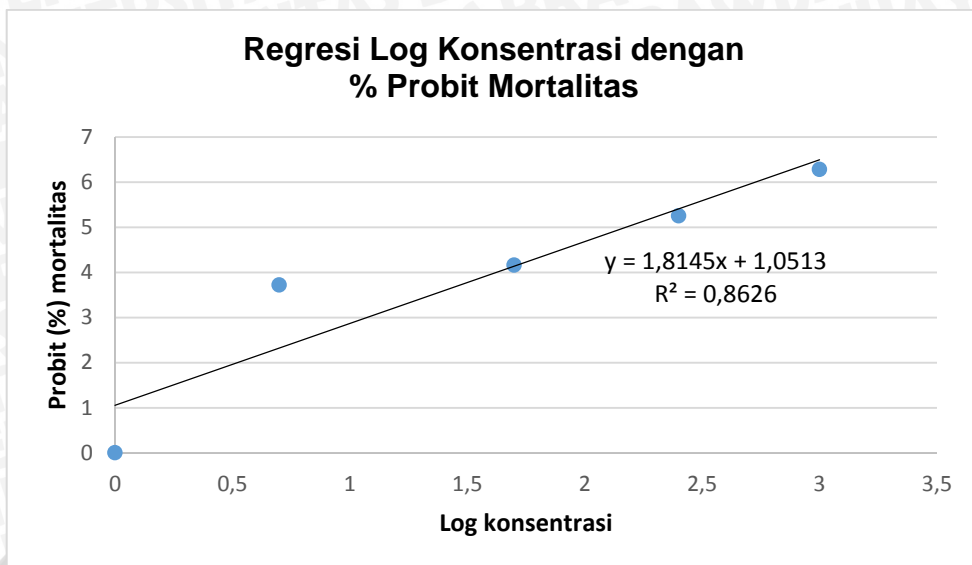
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga ddapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,16
2,4	5,25
3	6,28





Gambar 31. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan (etanol) *Turbinaria conoides* Ulangan 2.

Diperoleh persamaan $y = 1,8145x + 1,0513$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,8145x + 1,0513$$

$$5 = 1,8145x + 1,0513$$

$$5 - 1,0513 = 1,8145x$$

$$3,9487 = 1,8145x$$

$$x = \frac{3,9487}{1,8145} = 2,3105$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,3105$$

$$= 150,003 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 150,003 \text{ ppm}$$

18. Perlakuan F ulangan 3 (Ekstrak N-heksan (Etanol) *Turbinaria conoides*)

Tabel 50. Data Uji Toksisitas Sampel F Ulangan 3

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Ulangan		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
F	0	0	0	0
	5	1	1	1
	50	2	2	2
	250	5	6	7
	1000	9	9	8

Pengolahan data dengan analisa probit pada ulangan 3 dimulai dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ mati}}{\text{jumlah } Artemia \text{ uji}} \times 100 \%$$

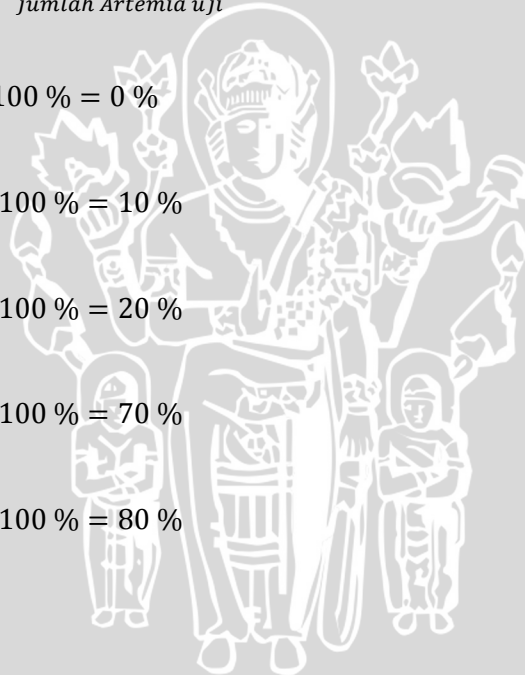
$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100 \% = 20 \%$$

$$250 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100 \% = 70 \%$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100 \% = 80 \%$$



Hasil dari % kematian Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai % probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini :

Tabel 51. Nilai Probit % Mortalitas Ulangan 3 perlakuan F

% Mortalitas	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.30	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	0.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.40	7.51	7.58	7.65	7.75	7.58	8.09

Keterangan:



: kisaran angka (+) 1-9 % Mortalitas

Respon mortalitas ulangan 1 yakni 0%, 10 %, 30 %, 60 %, 90 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel yakni 0; 3,72; 4,48; 5,25; dan 6,28.

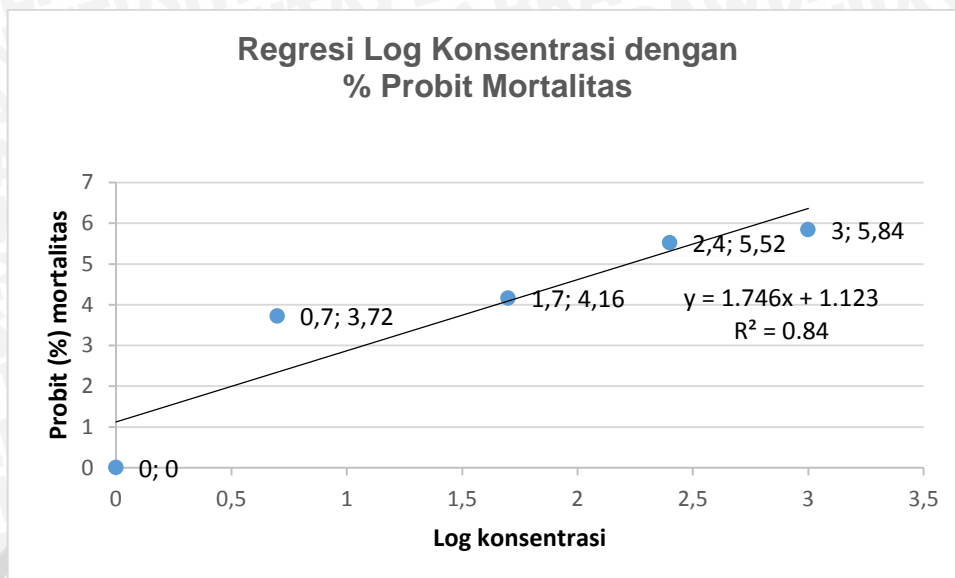
Kemudian konsentrasi 0, 5, 50, 250, dan 1000 ppm dilogartimkan sebagai berikut:

Log 0 = 0, log 5 = 0,7, log 50 = 1,7, log 250 = 2,4, log 1000 = 3. (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning)

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik.

log konsentrasi	% probit
0	0
0,7	3,72
1,7	4,48
2,4	5,52
3	5,84





Gambar 32. Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kasar N-heksan (etanol) *Turbinaria conoides* Ulangan 3.

Diperoleh persamaan $y = 1,7464x + 1,1236$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji.

$$y = 1,7464x + 1,1236$$

$$5 = 1,7464x + 1,1236$$

$$5 - 1,1236 = 1,7464x$$

$$3,8764 = 1,7464x$$

$$x = \frac{3,8764}{1,7464} = 2,2196$$

$$\text{Anti Logaritma} = 2,2196$$

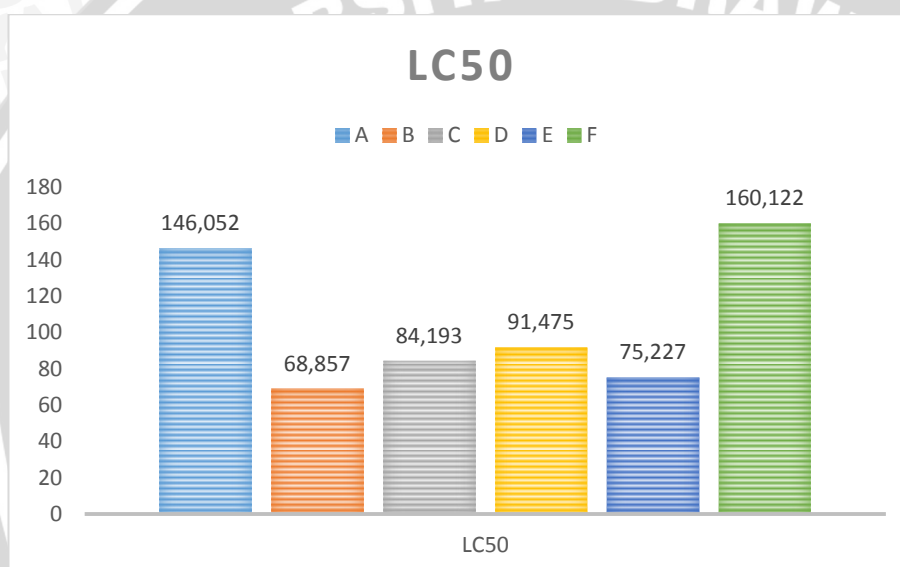
$$= 137,562 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 165,805 \text{ ppm}$$

Tabel 52. Keragaman nilai LC50 ekstrak *Turbinaria conoides*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	150,003	137,562	150,561	438,156	146,052
B	60,897	72,327	73,349	206,573	68,857
C	91,180	77,839	83,560	252,579	84,193
D	91,390	84,800	98,446	274,426	91,475
E	68,081	77,839	79,781	225,681	75,227
F	164,558	150,003	165,805	480,37	160,122
Total	626,109	600,37	651,502	1877,98	625,99

Gambar 33. Grafik nilai LC50 ekstrak *Turbinaria conoides*



Keterangan:

A = Ekstrak n-heksan *T. conoides*

B = Ekstrak etil asetat *T. conoides*

C = Ekstrak etanol *T. conoides*

D = Ekstrak etanol *T. conoides*

E = Ekstrak etil asetat *T. conoides*

F = Ekstrak n-heksan *T. conoides*

- **Faktor Koreksi (FK)**

$$\begin{aligned} FK &= \frac{\sigma}{r \times n} \\ &= \frac{1877,98}{3 \times 6} \\ &= \frac{1877,98}{18} \\ &= 195.934,04 \end{aligned}$$

- **Jumlah Kuadrat (JK)**

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (150,003^2 + 137,562^2 + 150,561^2 + \dots + 165,805^2) - FK \\ &= 219132,8 - 195.934,05 \\ &= 23.198,74 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{438,156^2 + 206,57^2 + 252,58^2 + 274,64^2 + 225,70^2 + 480,37^2}{r} - FK \\ &= \frac{438,156^2 + 206,57^2 + 252,58^2 + 274,64^2 + 225,70^2 + 480,37^2}{3} - 195.934,04 \\ &= 22.579,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 23.198,74 - 22.579,40 \\ &= 619,33 \end{aligned}$$

- **Derajat Bebas**

$$\begin{aligned} db \text{ perlakuan} &= n-1 \\ &= 6-1 \\ &= 5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} db \text{ total} &= (n \times r) - 1 \\ &= (6 \times 3) - 1 \\ &= 17 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{db galat} &= (\text{db total} - \text{db perlakuan}) \\ &= (17 - 5) \\ &= 12 \end{aligned}$$

- **Kuadrat Tengah**

$$\begin{aligned} \text{KT Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ perlakuan}} \\ &= \frac{22579,4}{5} \\ &= 4515,88 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Galat} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ galat}} \\ &= \frac{2726,77}{12} \\ &= 51,61 \end{aligned}$$

- **F Hitung**

$$\begin{aligned} \text{F hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}} \\ &= \frac{5137,76}{227,23} \\ &= 87,49 \end{aligned}$$

Tabel Anova

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	22579,4	4515,88	87,49	4,07	7,59
Acak	12	619,33	51,61			
Total	17					

Nilai F hitung > F tabel pada taraf 5% maka dibutuhkan uji lanjut menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)



Analisis Lanjut dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)


$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{0,05} &= T_{0,05} \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Galat}}{\text{Ulangan}}} \\
 &= 2,179 \times \sqrt{\frac{2 \times 619,33}{3}} \\
 &= 13,52
 \end{aligned}$$

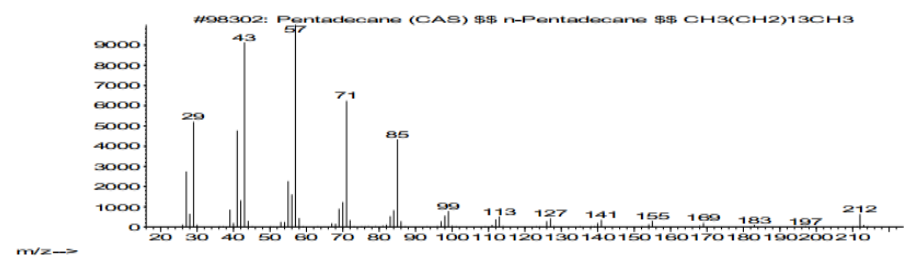
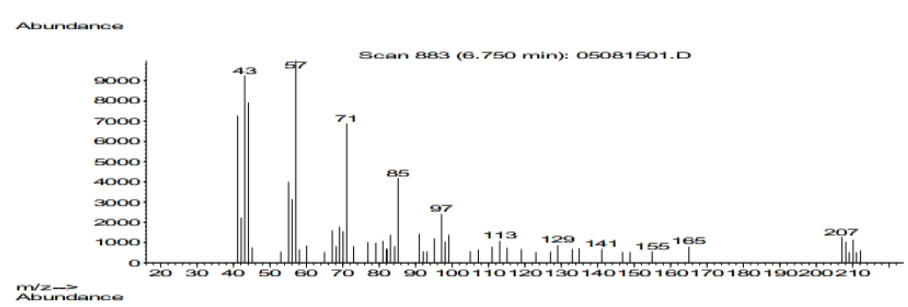
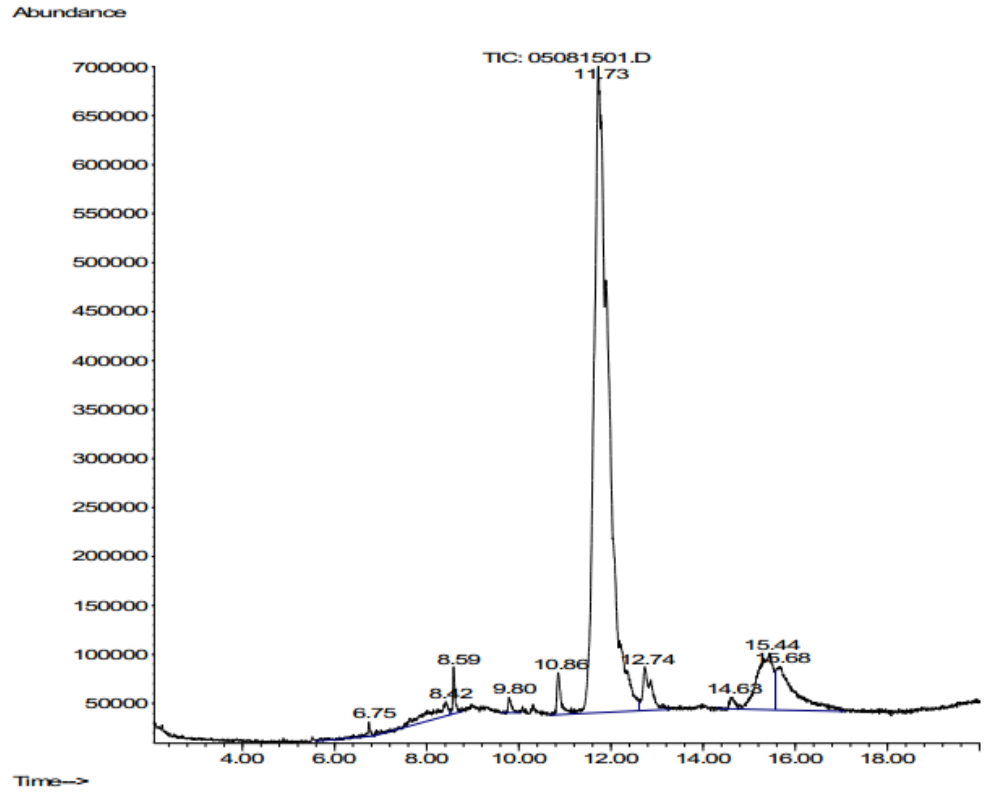
$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{0,01} &= T_{0,01} \times \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Galat}}{\text{Ulangan}}} \\
 &= 3,055 \times \sqrt{\frac{2 \times 619,33}{3}} \\
 &= 19,67
 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-Rata Perlakuan	B	E	C	D	A	F	NOTASI
	68,857	75,234	84,193	91,545	146,042	160,122	
B	68,857	-	-	-	-	-	a
E	75,234	6,377	-	-	-	-	a
C	84,193	15,336	8,959	-	-	-	a
D	91,545	22,688	16,311	7,352	-	-	a
A	146,042	77,185	70,808	61,849	54,497	-	b
F	160,122	91,2643	84,888	75,929	68,576	14,08	b

Lampiran 8. Hasil uji GC-MS ekstrak etil asetat *T. conoides*

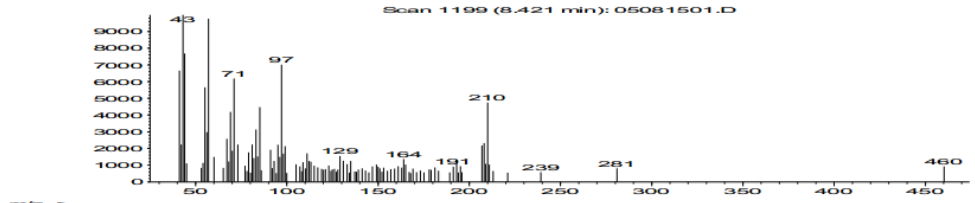
 **Laboratorium PT. Gelora Djaja**



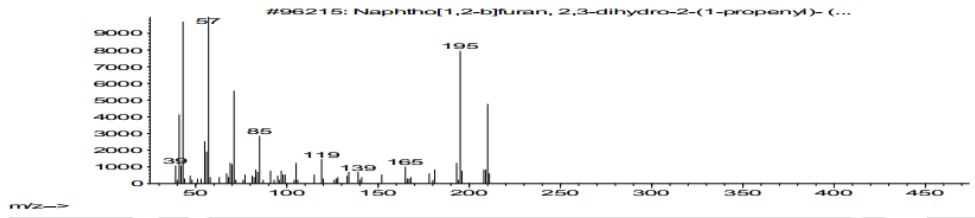


Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance

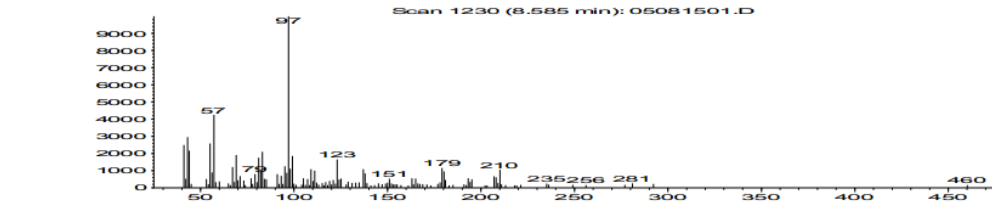


m/z-->

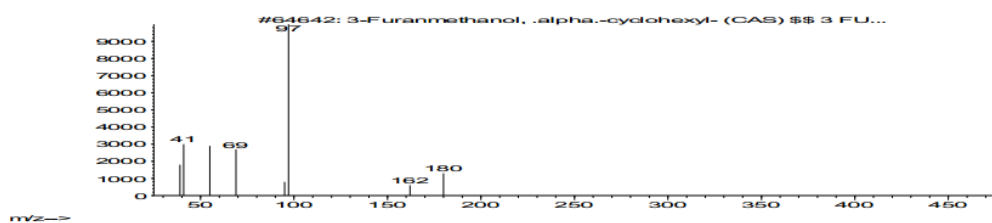


m/z-->

Abundance

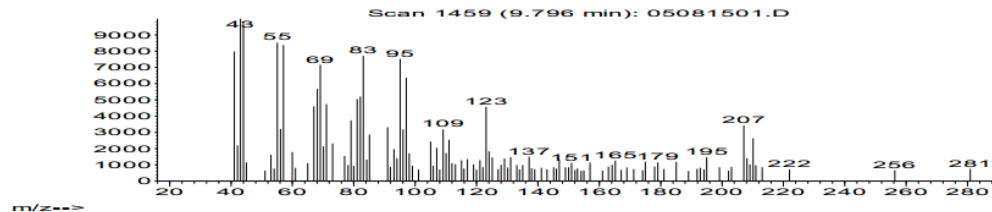


m/z-->

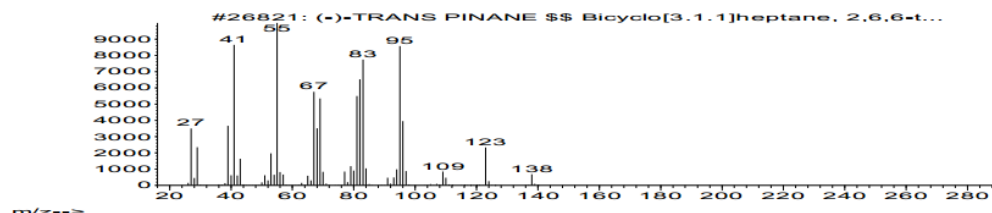


m/z-->

Abundance



m/z-->



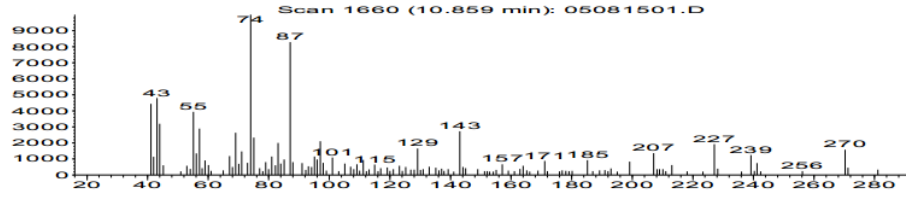
m/z-->





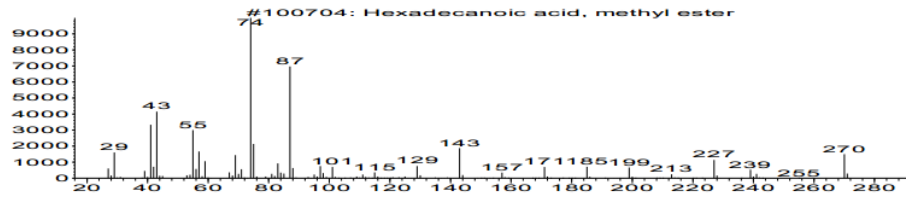
Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance



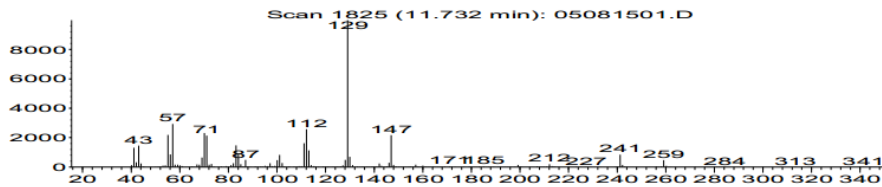
m/z-->

Abundance



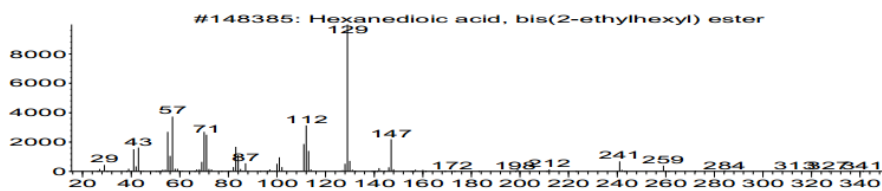
m/z-->

Abundance



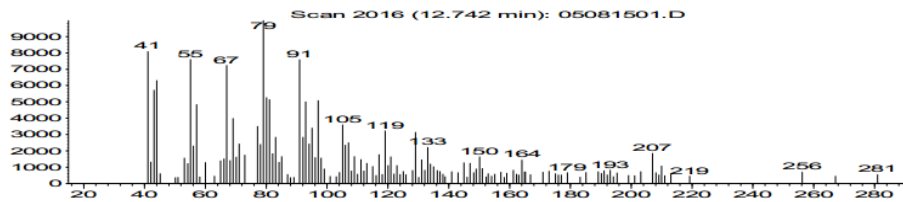
m/z-->

Abundance



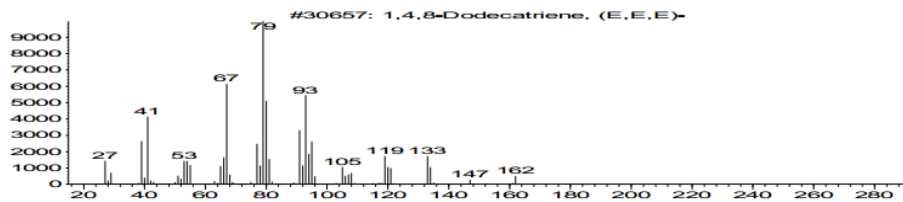
m/z-->

Abundance



m/z-->

Abundance



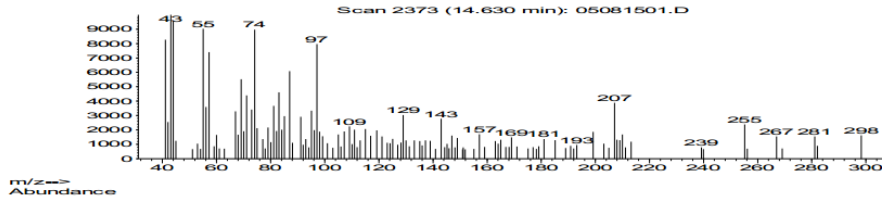
m/z-->





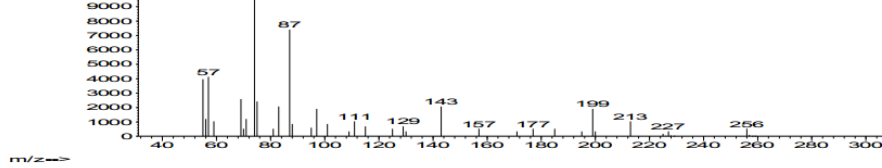
Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance



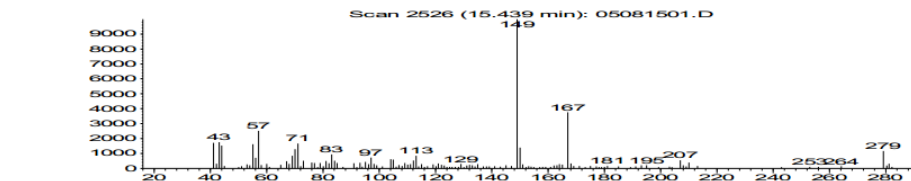
m/z=>

Abundance



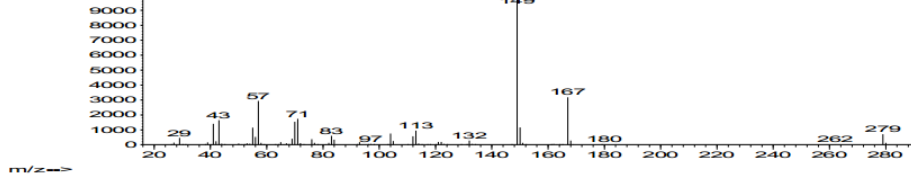
m/z=>

Abundance



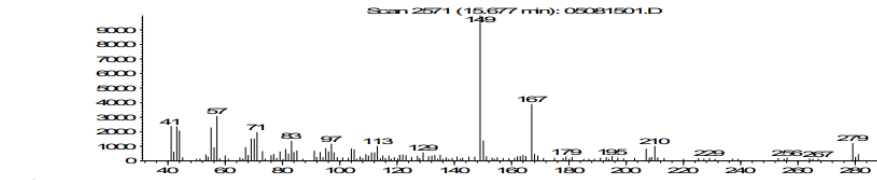
m/z=>

Abundance



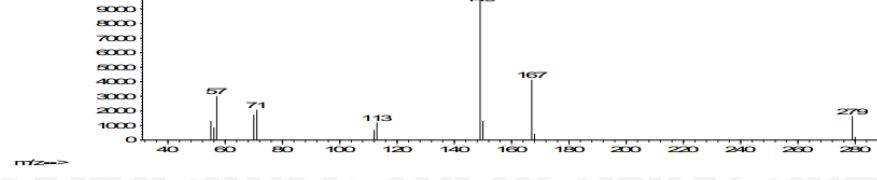
m/z=>

Abundance



m/z=>

Abundance



m/z=>





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM1\DATA\05081501.D
Operator: JT
Date Acquired: 5 Aug 2015 14:41
Method File: DEWINTA15
Sample Name: Isolate Kuning (31.15.360.MS)
Misc Info: DEWINTA - UB MALANG
Vial Number: 8

Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

Pk# RT Area% LibraryID Ref# CAS# Qual

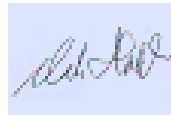
1	6.75	0.47	C:\Database\Wiley275.L			
			Pentadecane (CAS) \$\$ n-Pentadec...	98302	000629-62-9	88
			Pentadecane (CAS) \$\$ n-Pentadec...	98312	000629-62-9	80
			pentadecane	98340	000629-62-9	64
2	8.42	2.35	C:\Database\Wiley275.L			
			Naphtho[1,2-b]furan, 2,3-dihydr...	98215	055702-38-0	25
			Naphtho[1,2-b]furan, 2,3-dihydr...	98216	077830-44-5	25
			1-ETHYL-2-METHYL CYCLODODECANE ...	96268	022681-52-3	25
3	8.59	0.88	C:\Database\Wiley275.L			
			Heptane, 1,7-dibromo- (CAS) \$\$...	140102	004549-31-9	43
			3-Furanmethanol, .alpha.-cycloh...	64642	038646-66-9	43
			3-Furanmethanol, .alpha.-cycloh...	64641	038646-66-9	43
4	9.80	0.43	C:\Database\Wiley275.L			
			(-)-TRANS PINANE \$\$ Bicyclo[3.1...	26821	000473-55-2	86
			Oleic Acid	163725	000112-80-1	38
			Undecane 5-cyclohexyl- (CAS) \$\$...	124587	013151-80-9	38
5	10.88	1.45	C:\Database\NIST02.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	100704	000112-39-0	95
			Hexadecanoic acid, methyl ester	100709	000112-39-0	95
			Pentadecanoic acid, 14-methyl,...	100727	005129-60-2	95
6	11.73	76.73	C:\Database\NIST02.L			
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe...	148385	000103-23-1	95
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe...	148382	000103-23-1	91
			Diisooctyl adipate	148373	001330-86-5	91
7	12.74	2.97	C:\Database\NIST02.L			
			1,4,8-Dodecatriene, (E,E,E)-	30657	024252-85-5	91
			11,11-DIMETHYL-SPIRO[2,9]DODECA...	49309	1000062-28-4	88
			5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid...	127249	002566-89-4	70
8	14.63	0.46	C:\Database\Wiley275.L			
			Tetradecanoic acid, 12-methyl,...	141041	005129-66-8	38
			Octadecanoic acid, methyl ester...	176807	000112-61-8	35
			Heptadecanoic acid, 16-methyl,...	176822	005129-61-3	25

**Laboratorium PT. Gelora Djaja**

- 9 15.44 7.31 C:\Database\NIST02.L
1,2-Benzenedicarboxylic acid, m... 105069 004376-20-9 90
1,2-Benzenedicarboxylic acid, d... 154183 027554-26-3 87
Di-n-octyl phthalate 154167 000117-84-0 78
- 10 15.68 6.93 C:\Database\Wiley275.L
diisooctyl-phthalate 231019 000000-00-0 80
1,2-Benzenedicarboxylic acid, d... 230990 027554-26-3 72
1,2-Benzenedicarboxylic acid, b... 230983 000117-81-7 64

Wed Aug 05 15:11:43 2015

Mengetahui,



Digitally signed
by Mohammad
Holi

Dr. Mohammad Holi

Factory Lab. Manager

Surabaya, 07 Agustus 2015
Penanggung jawab Pengujian,



Digitally
signed by
Yeni Silfia
Ningsih

Yeni Silfia Ningsih, S.Si

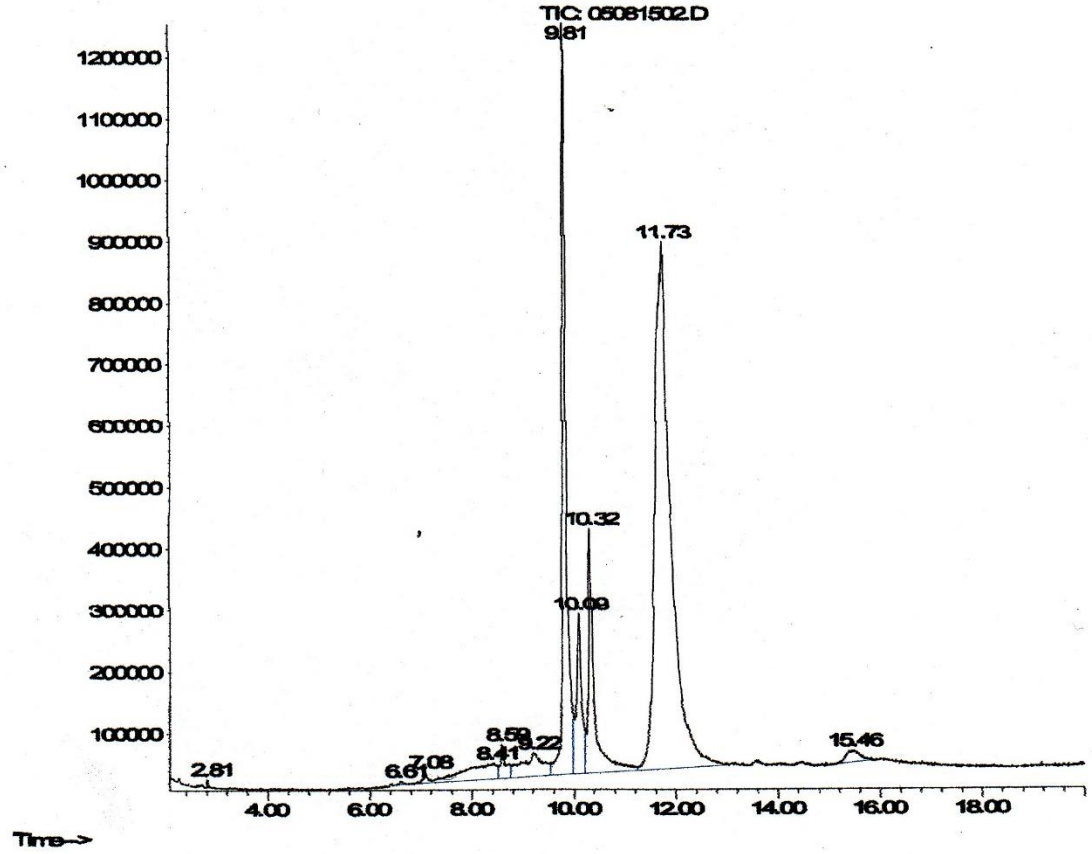
Method Dev. & Research Analyst





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance

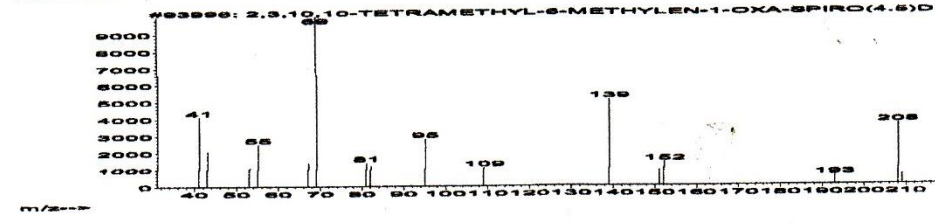
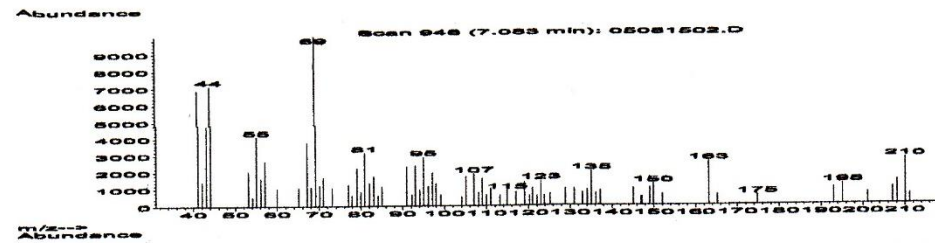
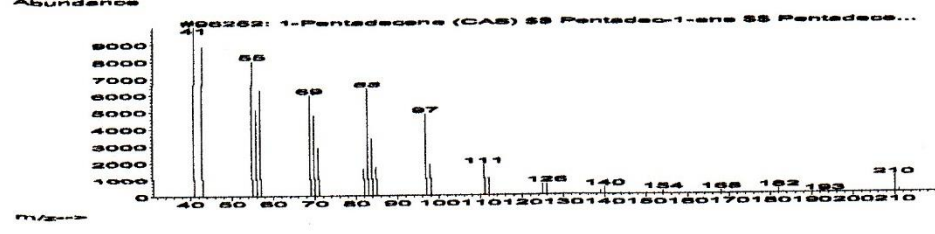
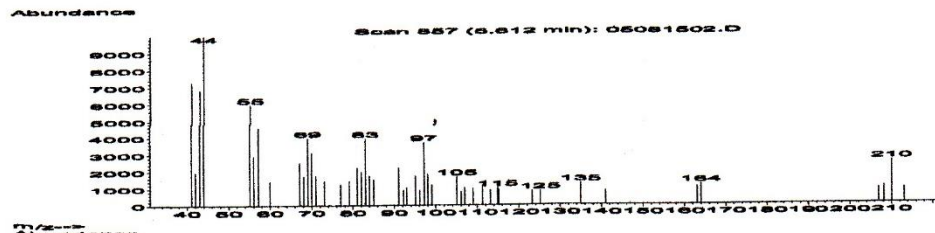
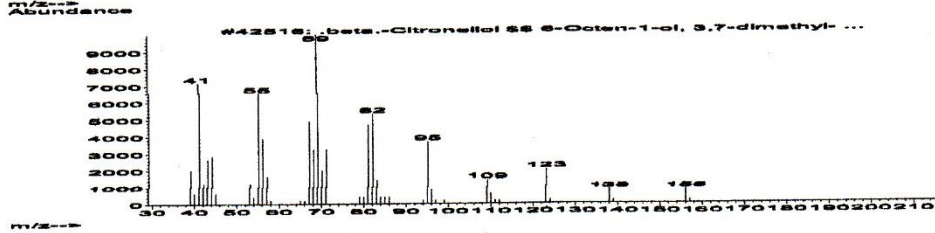
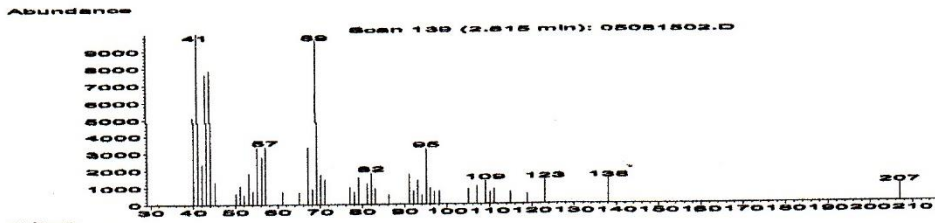


Time →



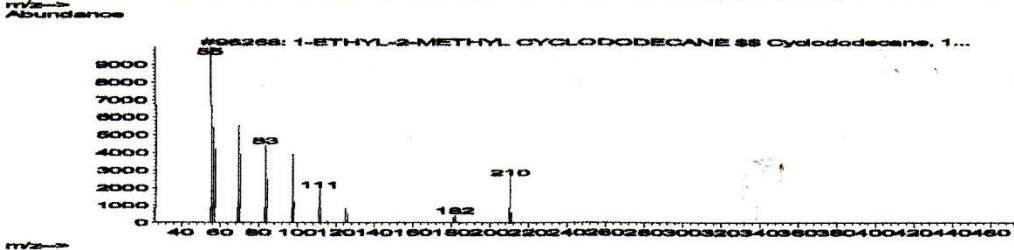
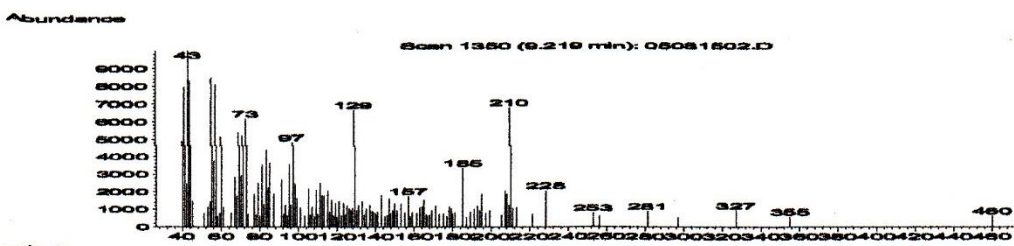
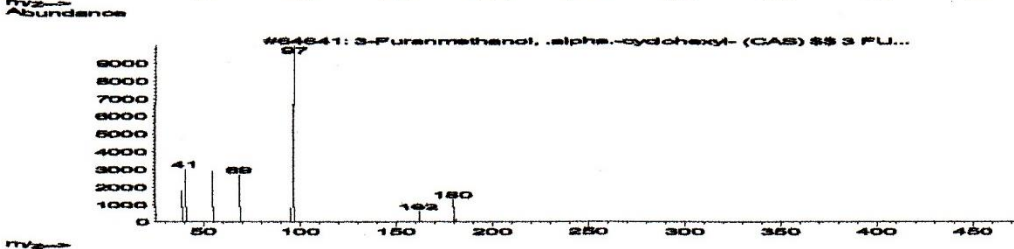
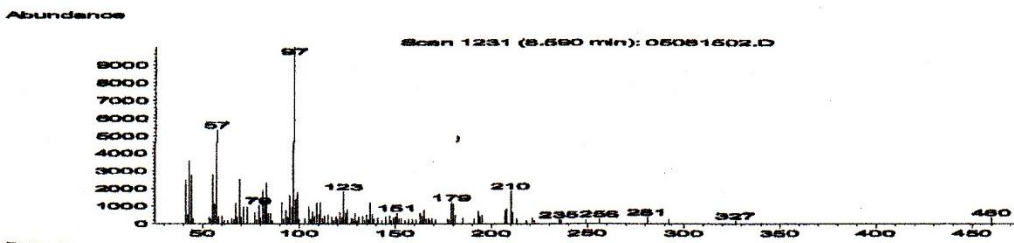
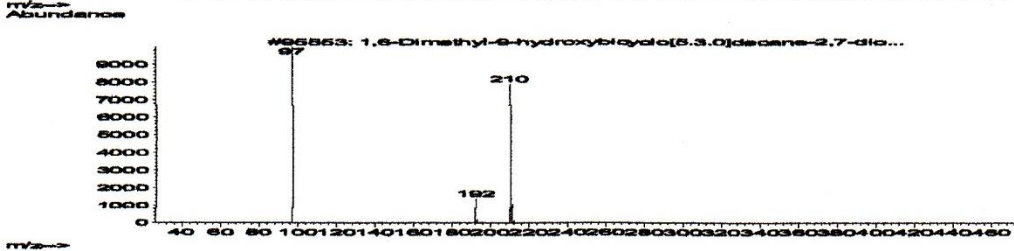
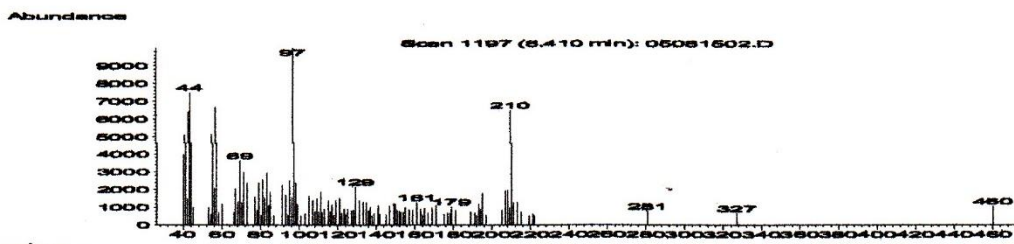


Laboratorium PT. Gelora Djaja





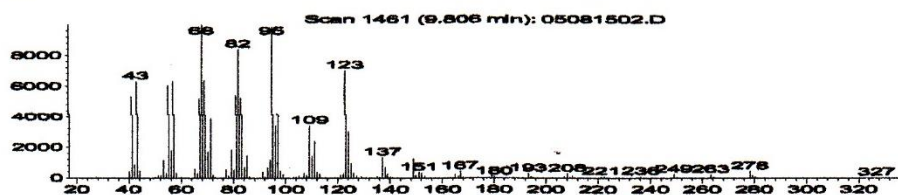
Laboratorium PT. Gelora Djaja





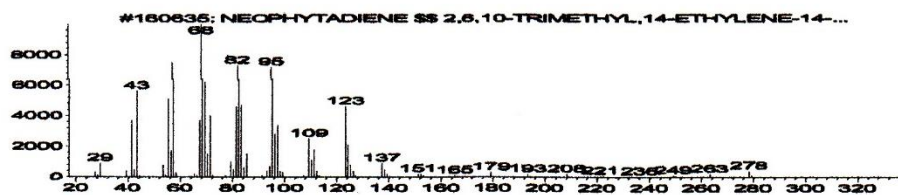
Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance



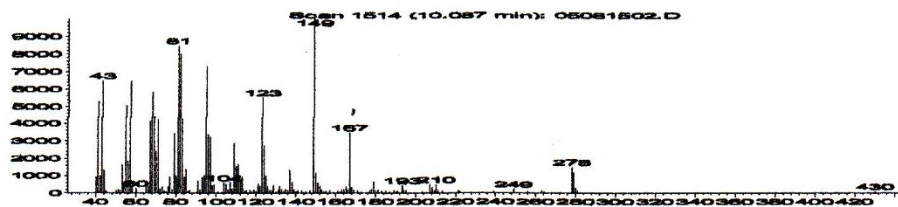
m/z-->

Abundance



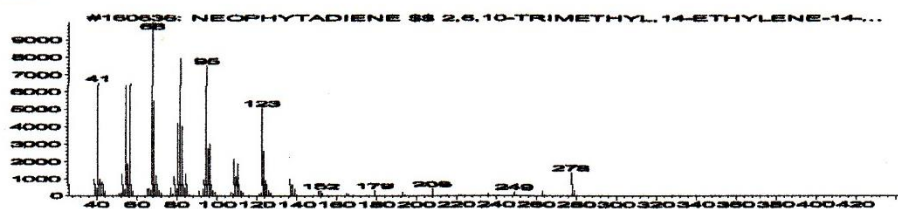
m/z-->

Abundance



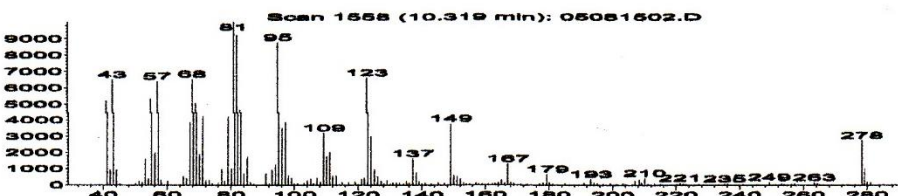
m/z-->

Abundance



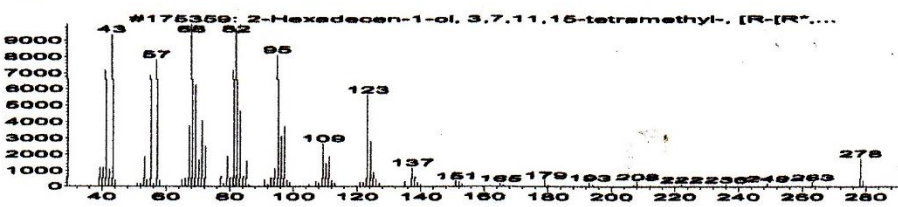
m/z-->

Abundance



m/z-->

Abundance

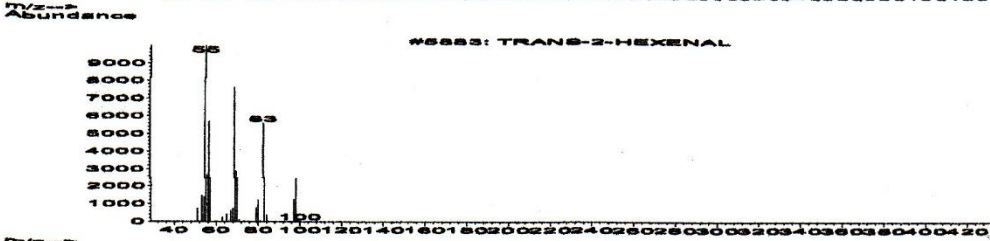
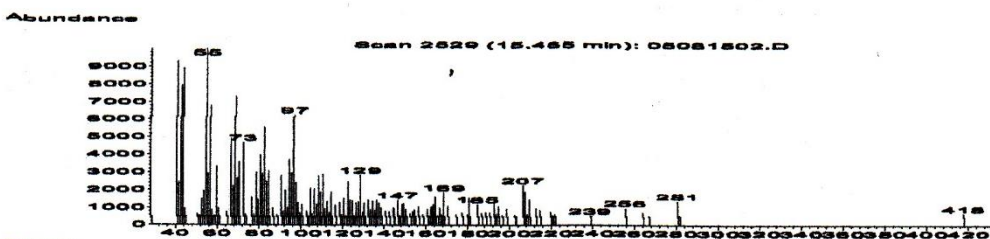
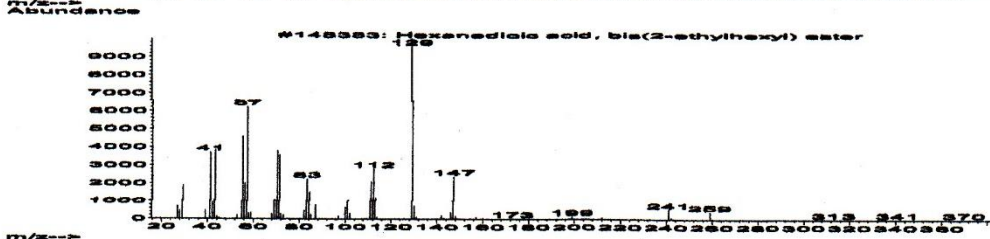
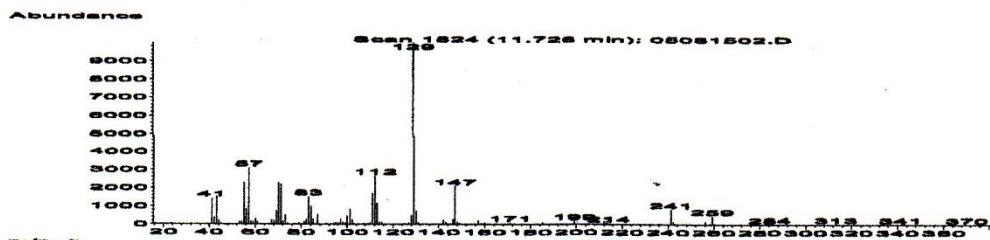


m/z-->





Laboratorium PT. Gelora Djaja





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM\1\DATA\05081502.D
 Operator: JT
 Date Acquired: 5 Aug 2015 15:06
 Method File: DEWINTA15
 Sample Name: Isolate Hitam(31.15.361.MS)
 Misc Info: DEWINTA - UB MALANG
 Vial Number: 7
 Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
 C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85
 Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	2.81	0.11	C:\Database\Wiley275.L .beta.-Citronellol \$ 6-Octen-1...	42516	000106-22-9 50	
			.beta.-Citronellol \$ 6-Octen-1...	42517	000106-22-9 47	
			2,6-Dimethyl-2-trans-6-octadien...	26681	002609-23-6 43	
2	6.61	0.10	C:\Database\Wiley275.L 1-Pentadecene (CAS) \$ Pentadec...	96252	013360-61-7 81	
			1-TETRADECANOL	100072	000112-72-1 45	
			Cyclopentadecane	96278	000295-48-7 38	
3	7.08	0.43	C:\Database\Wiley275.L 2,3,10,10-TETRAMETHYL-6-METHYLE...	93996	060745-31-5 27	
			3,7,11-Trimethyldodeca-6(Z),10-...	94156	076164-10-8 27	
			(E)-.beta.-bishomofarnesene	118347	000000-00-0 27	
4	8.41	3.87	C:\Database\Wiley275.L 1,6-Dimethyl-9-hydroxybicyclo[5...	95553	081875-17-4 46	
			2,4,4',6-TETRAMETHYLBIPHENYL \$...	96282	003976-37-2 35	
			3-(3'-butenyl)cyclohexanone \$...	38066	003636-03-1 30	
5	8.59	1.20	C:\Database\Wiley275.L 3-Furanmethanol, .alpha.-cycloh...	64641	036646-66-9 47	
			3-Furanmethanol, .alpha.-cycloh...	64642	036646-66-9 47	
			3-Butene-1,2-diol, 1-(2-furanyl)...	52758	018927-20-3 43	
6	9.22	3.41	C:\Database\Wiley275.L 1-ETHYL-2-METHYL CYCLODODECANE ...	96268	022681-52-3 55	
			Tetradecanoic acid (CAS) \$ Myr...	114436	000544-63-8 38	
			Benzene, 1,3,5-trimethyl-2,4-di...	95069	000608-50-4 38	
7	9.81	20.59	C:\Database\Wiley275.L NEOPHYTADIENE \$ 2,6,10-TRIMETH...	160635	000000-00-0 99	
			NEOPHYTADIENE \$ 2,6,10-TRIMETH...	160636	000000-00-0 96	
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet...	175359	000150-86-7 94	
8	10.09	5.53	C:\Database\Wiley275.L NEOPHYTADIENE \$ 2,6,10-TRIMETH...	160636	000000-00-0 90	
			NEOPHYTADIENE \$ 2,6,10-TRIMETH...	160635	000000-00-0 80	
			3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadec...	175369	102608-53-7 58	






Laboratorium PT. Gelora Djaja

- 9 10.32 9.17 C:\Database\Wiley275.L
2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet... 175359 000150-86-7 76
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160636 000000-00-0 70
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160635 000000-00-0 45
- 10 11.73 54.37 C:\Database\NIST02.L
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe... 148383 000103-23-1 99
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe... 148385 000103-23-1 95
Diisooctyl adipate 148373 001330-86-5 94
- 11 15.45 1.23 C:\Database\Wiley275.L
TRANS-2-HEXENAL 5883 000505-57-7 80
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 163706 000112-80-1 56
Cyclopentane, decyl- (CAS) \$\$ n... 96257 001795-21-7 51

Thu Aug 06 09:05:48 2015

Mengetahui,


Digitally
signed by
Mohammad
Holil

Dr. Mohammad Holil
Factory Lab. Manager

Surabaya, 07 Agustus 2015
Penanggung jawab Pengujian,


Digitally
signed by
Yeni Silfia
Ningsih

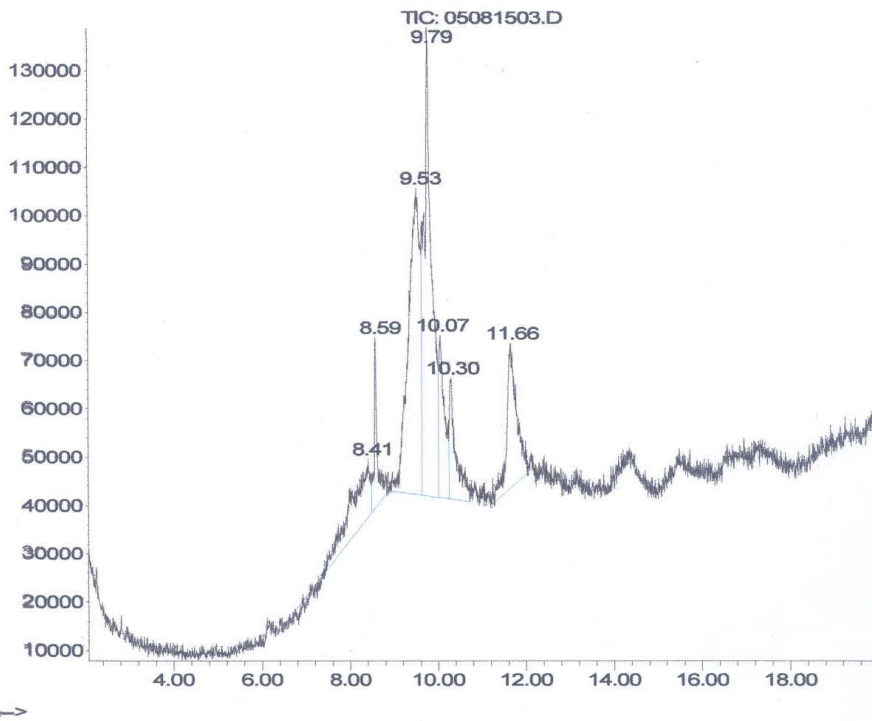
Yeni Silfia Ningsih, S.Si
Method Dev. & Research Analyst



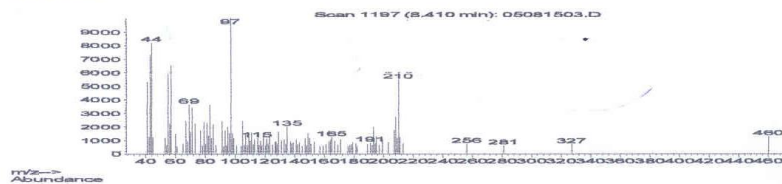


Laboratorium PT. Gelora Djaja

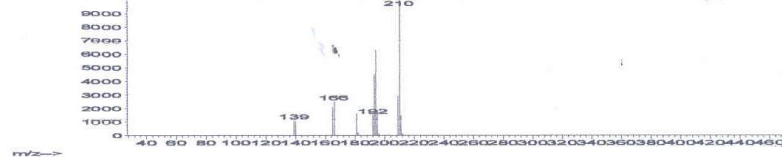
Abundance



Abundance

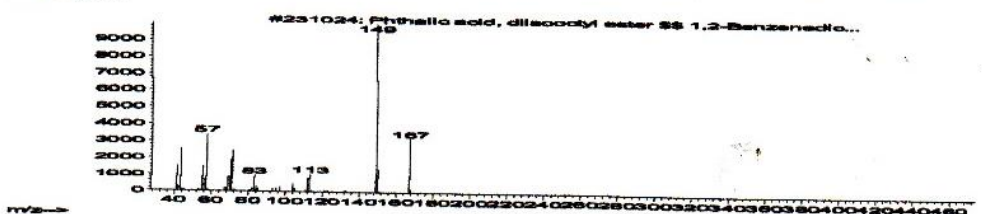
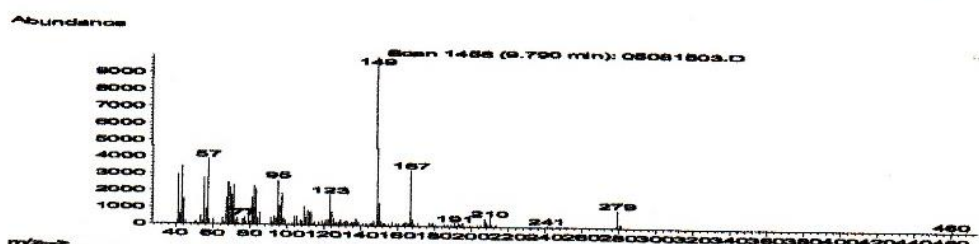
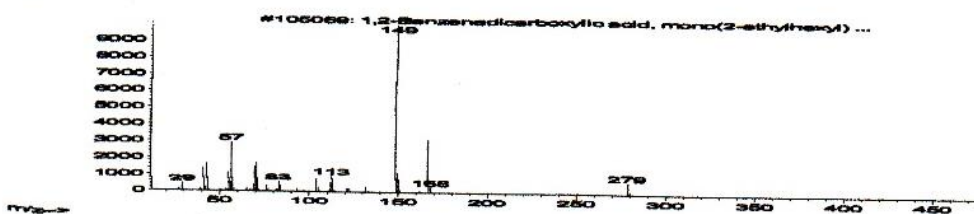
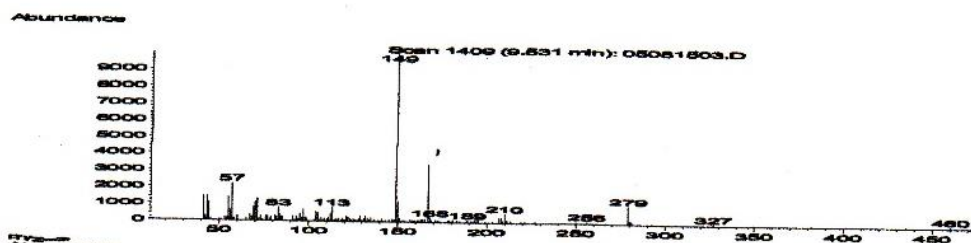
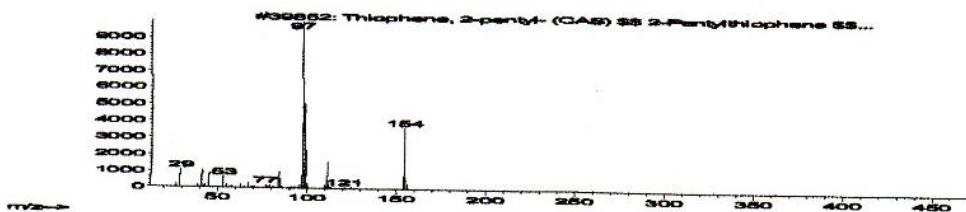
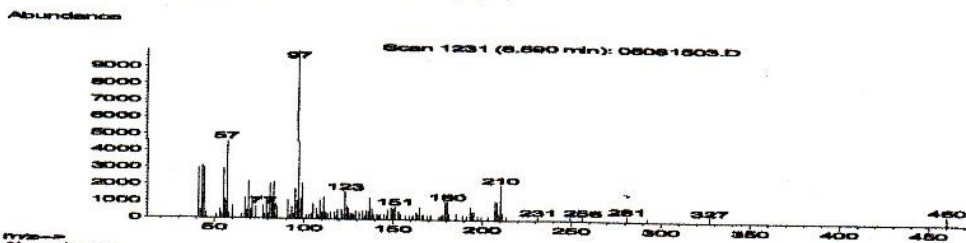


Abundance



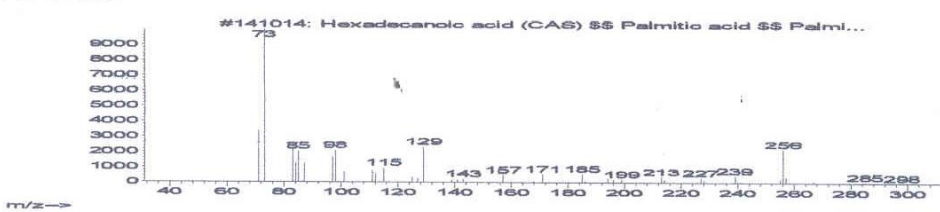
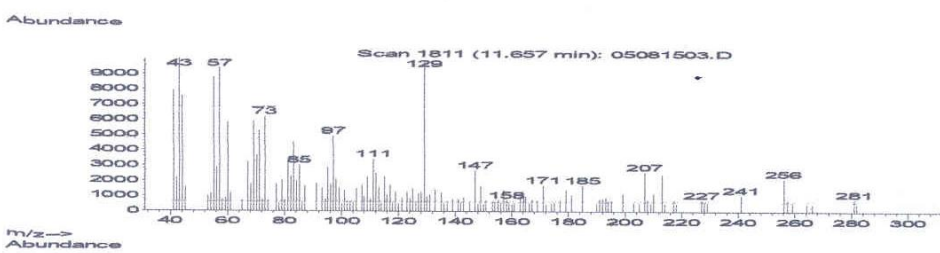
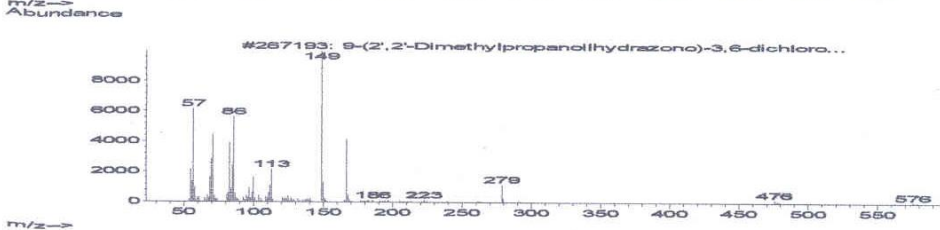
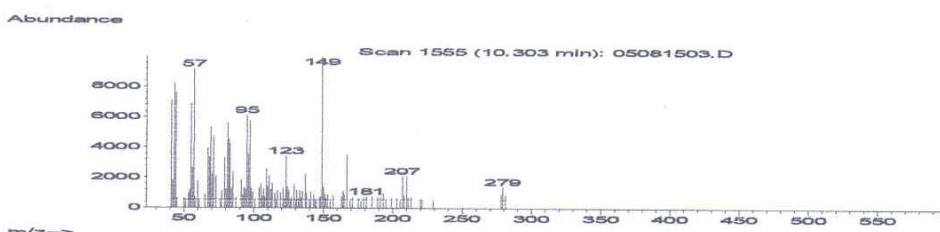
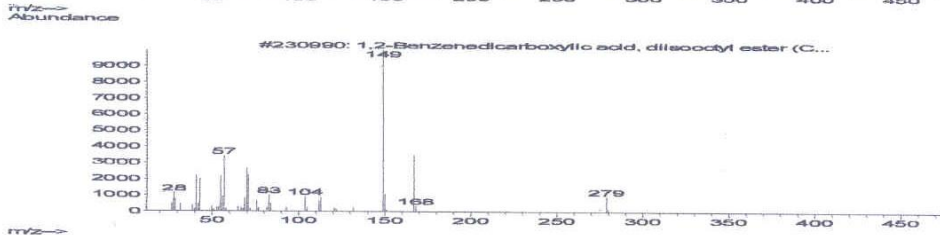
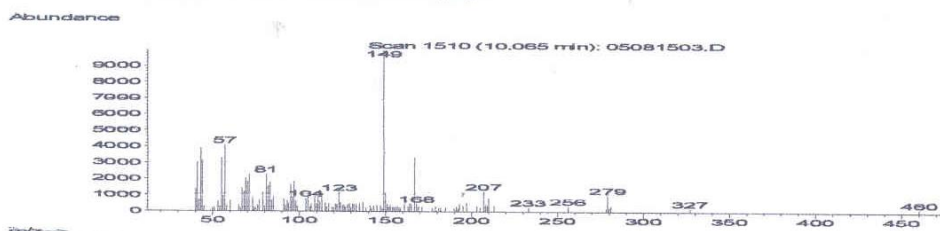


Laboratorium PT. Gelora Djaja





Laboratorium PT. Gelora Djaja





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM1\DATA\05081503.D
 Operator: JT
 Date Acquired: 5 Aug 2015 15:30
 Method File: DEWINTA15
 Sample Name: Isolate Hijau (31.15.362.MS)
 Misc Info: DEWINTA - UB MALANG
 Vial Number: 6
 Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
 C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85
 Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e
 Pk# RT Area% Library/ID Ref# CAS# Qual

1	8.41	8.12	C:\Database\Wiley275.L			
			1-METHYL-4-AZAFLOUREN-9-ONE OXI...	95735	058787-05-6	58
			4-Methoxystilbene \$\$ Benzene, 1...	96200	001694-19-5	35
			3-Methylcyclotridecanone	96130	000000-00-0	27
2	8.59	4.46	C:\Database\Wiley275.L			
			Thiophene, 2-pentyl- (CAS) \$\$ 2...	39852	004861-58-9	43
			1H-Pyrazole, 4,5-dihydro-3-meth...	17851	026964-49-8	38
			3-Furanmethanol, .alpha.-cyclo...	64642	036646-66-9	38
3	9.53	29.69	C:\Database\NIST02.L			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, m...	105069	004376-20-9	87
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, d...	160003	000119-07-3	64
			Phthalic acid, heptyl octyl ester	150413	088216-58-4	59
4	9.79	31.26	C:\Database\Wiley275.L			
			Phthalic acid, diisooctyl ester...	231024	001330-91-2	52
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, d...	230991	027554-26-3	52
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, d...	230990	027554-26-3	52
5	10.07	7.78	C:\Database\Wiley275.L			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, d...	230990	027554-26-3	68
			Di-(2-ethylhexyl)phthalate	231010	000117-81-7	64
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, b...	230983	000117-81-7	64
6	10.30	6.61	C:\Database\Wiley275.L			
			9-(2',2'-Dimethylpropanoilhydra...	267193	000000-00-0	30
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, b...	230980	000117-81-7	25
			Bergamotane	94200	000000-00-0	25





Laboratorium PT. Gelora Djaja

7 11.66 12.08 C:\Database\Wiley\275.L

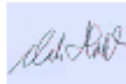
Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm... 141014 000057-10-3 38

Methyl (E)-5-Bromo-4-methoxy-2-... 106862 085858-53-3 27

Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm... 141013 000057-10-3 25

Thu Aug 06 09:21:34 2015

Mengetahui,


 Digitally signed
by Mohammad
Holil

Dr. Mohammad Holil

Factory Lab. Manager

Surabaya, 07 Agustus 2015

Penanggung jawab Pengujian,

 Digitally
signed by
Yeni Silfia
Ningsih

Yeni Silfia Ningsih, S.Si

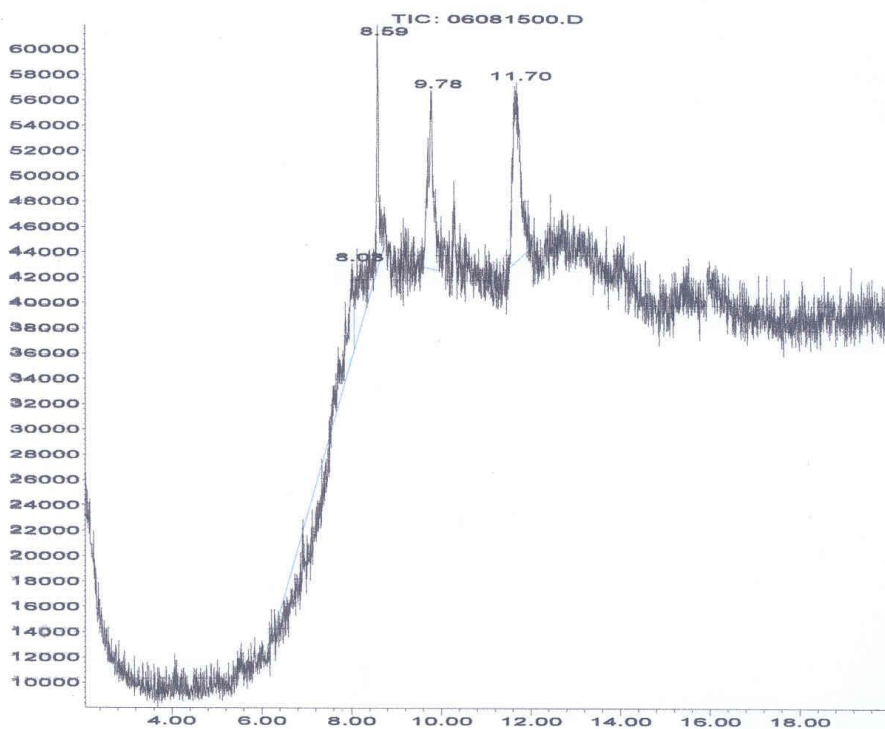
Method Dev. & Research Analyst





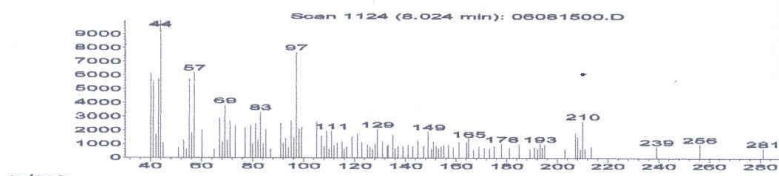
Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance



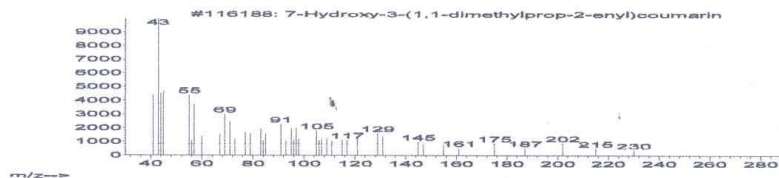
Time-->

Abundance



m/z-->

Abundance

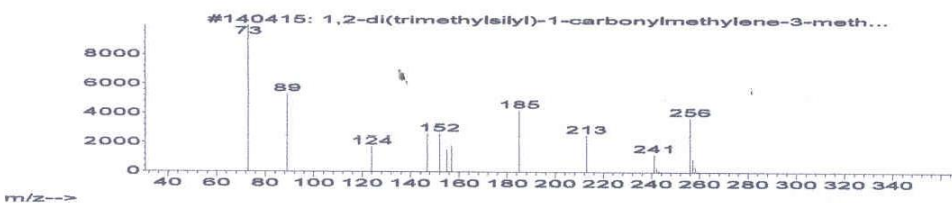
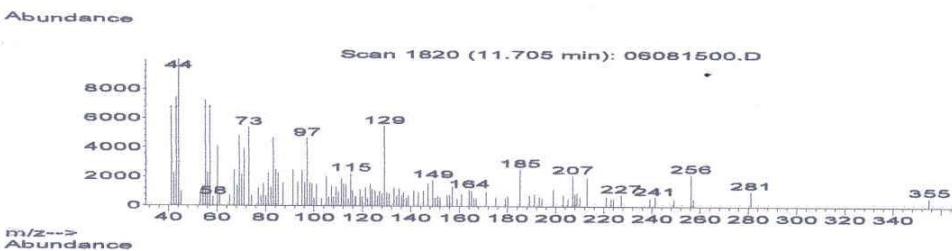
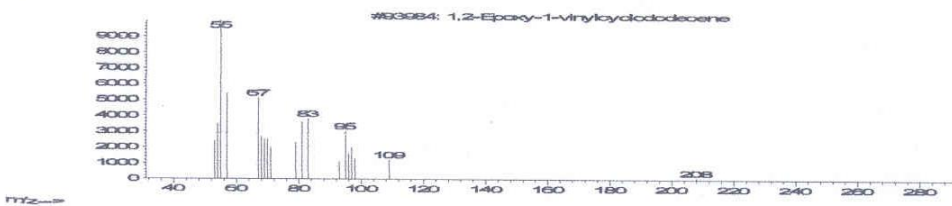
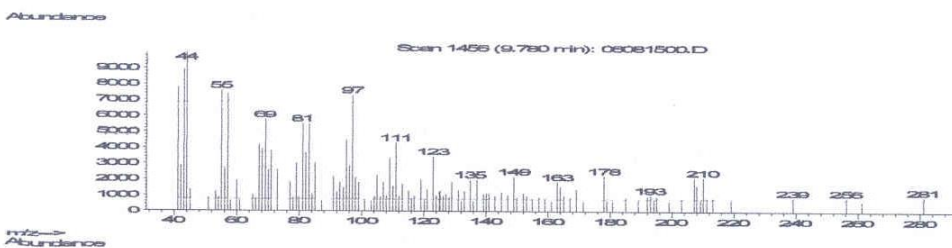
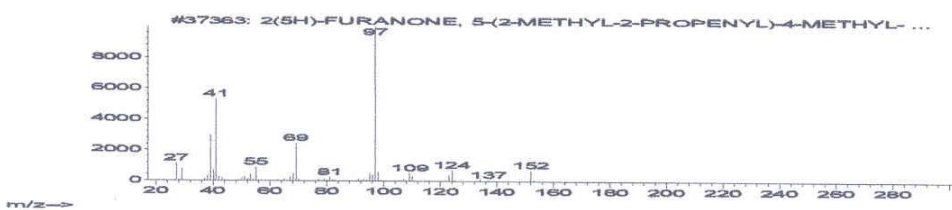
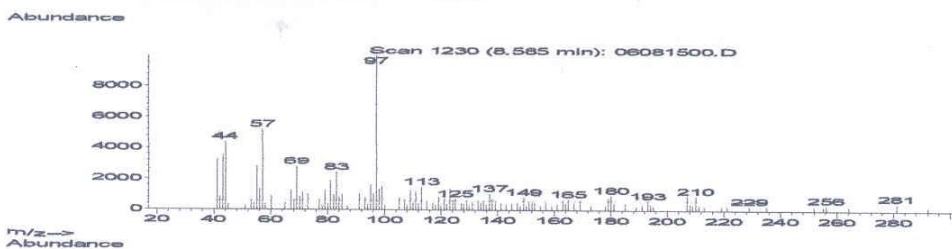


m/z-->





Laboratorium PT. Gelora Djaja




Laboratorium PT. Gelora Djaja
Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM\1\DATA\06081500.D
 Operator: JT
 Date Acquired: 6 Aug 2015 12:00
 Method File: DEWINTA15
 Sample Name: Isolate Orange (31.15.363.MS)
 Misc Info: DEWINTA - UB MALANG
 Vial Number: 8

Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
 C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85

Unknown Spectrum: Apex

Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

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

1	8.02	33.36	C:\Database\Wiley275.L 7-Hydroxy-3-(1,1-dimethylprop-2-yl)- bicyclo[3.2.0]hept-2,6-diene-1-one Cyclopropanemethanol, 2,2,3,3-tetra-	116188	056881-08-4	43
2	8.58	46.35	C:\Database\Wiley275.L 2(5H)-FURANONE, 5-(2-METHYL-2-PYRIDYL)- 3-Furanmethanol, alpha.-cyclohexyl- 3-Furanmethanol, alpha.-cyclohexyl-	37363	089902-24-9	38
3	9.78	39.37	C:\Database\Wiley275.L 1,2-Epoxy-1-vinylcyclohexane 1-ETHYL-2-METHYL CYCLOHEXANE HAHNFETT	93984	053601-11-9	47
4	11.71	47.64	C:\Database\Wiley275.L 1,2-di(trimethylsilyl)-1-carbon Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm	140415	000000-00-0	47

Thu Aug 06 13:43:56 2015

Mengetahui,

Digitally
signed by
Mohammad
Holil

Dr. Mohammad Holil

Factory Lab. Manager

Surabaya, 07 Agustus 2015
Penanggung jawab Pengujian,

Digitally
signed by
Yeni Silfia
Ningsih

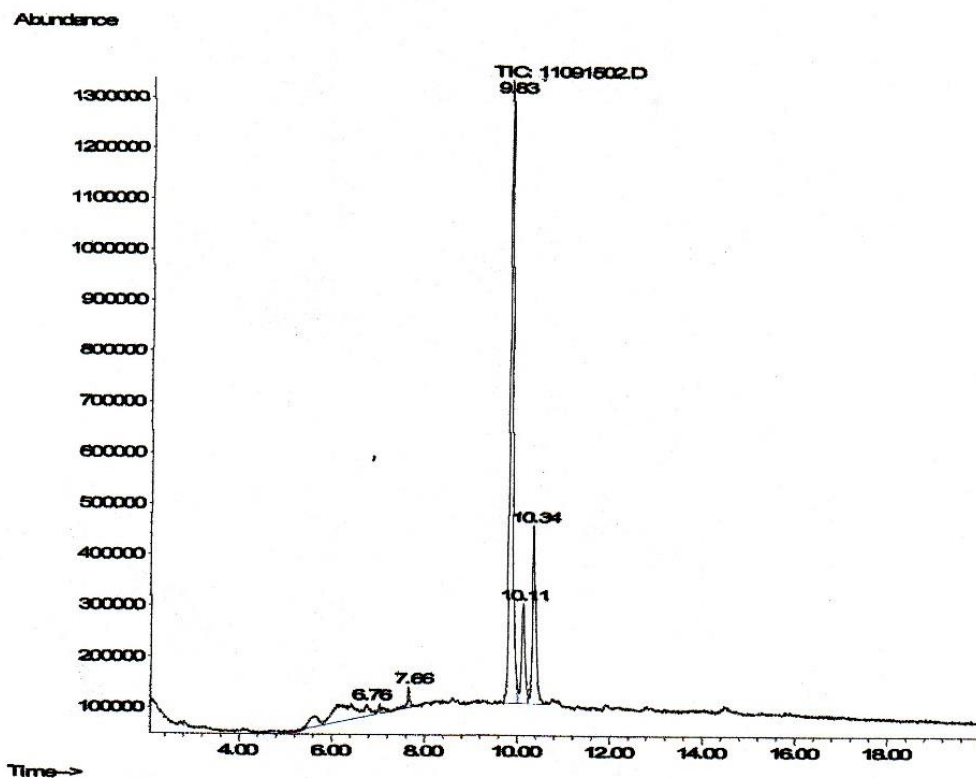
Yeni Silfia Ningsih, S.Si

Method Dev. & Research Analyst

Lampiran 9. Hasil uji GC-MS Ekstrak Etanol *T. conoides*

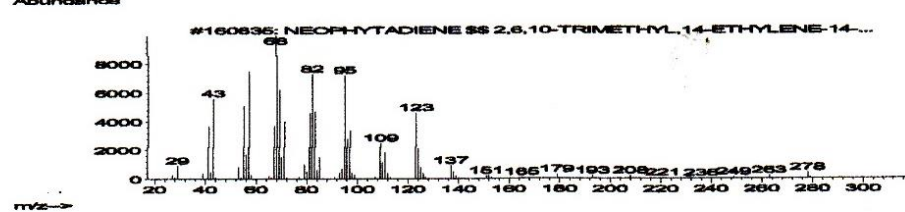
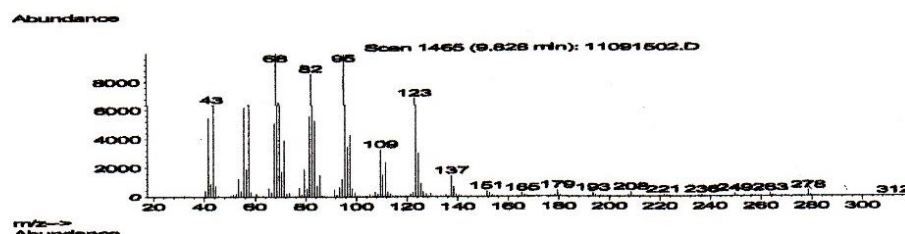
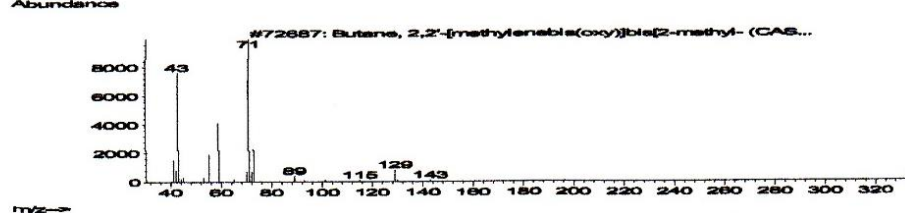
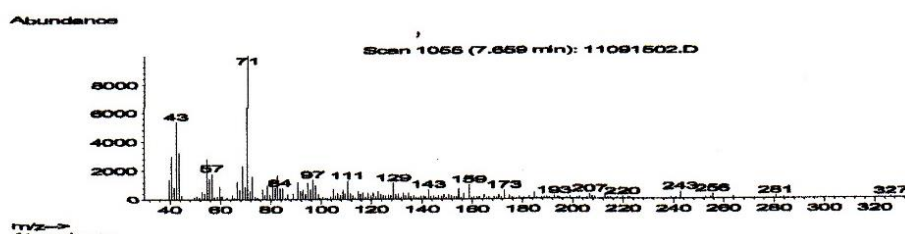
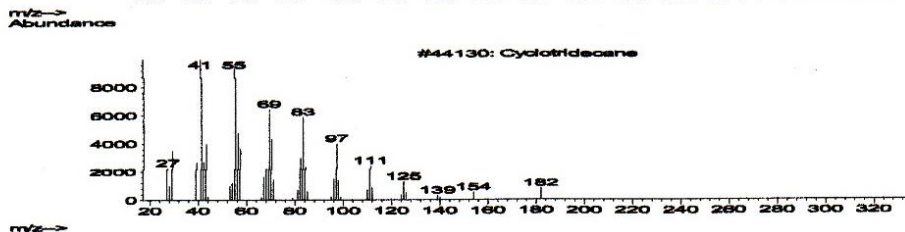
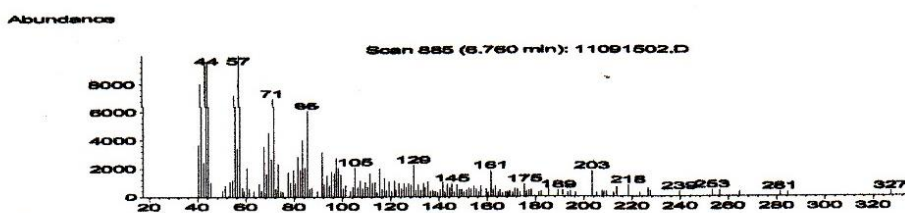


Laboratorium PT. Gelora Djaja



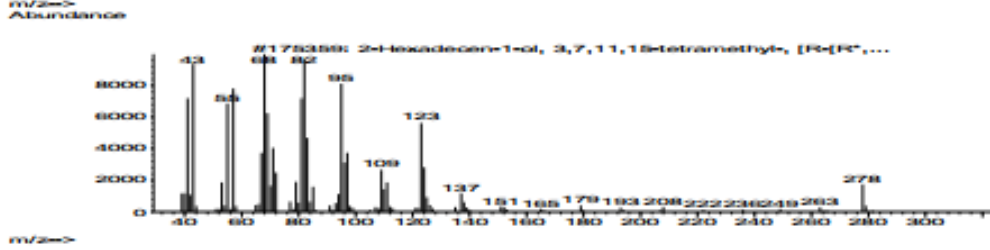
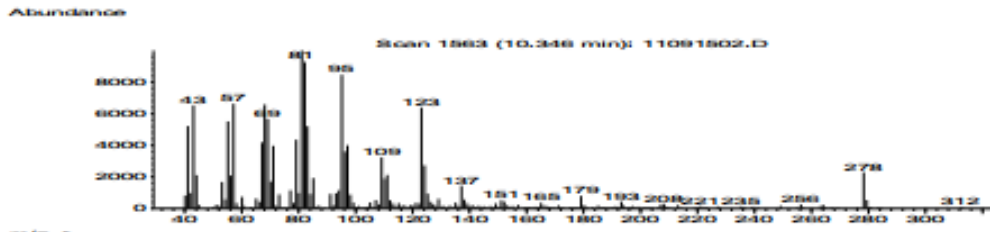
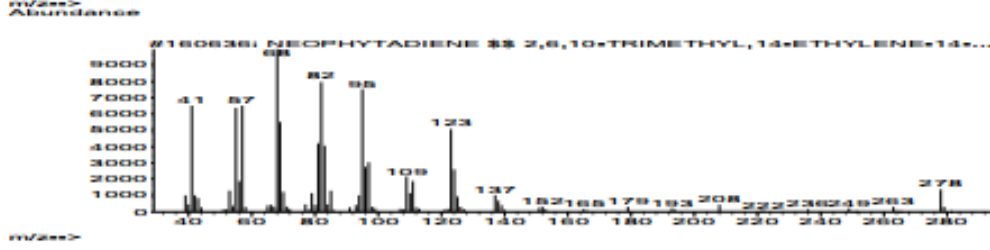
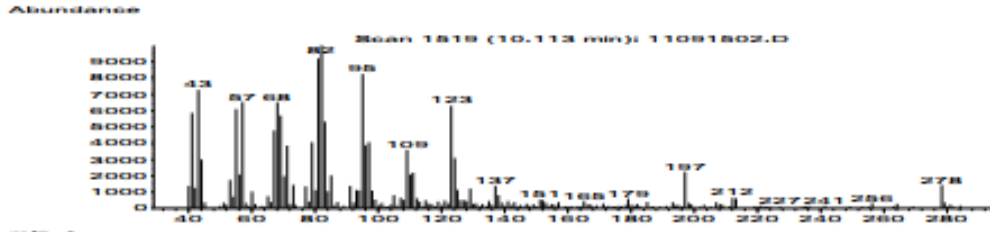


Laboratorium PT. Gelora Djaja





Laboratorium PT. Gelora Djaja




Laboratorium PT. Gelora Djaja
Information from Data File:

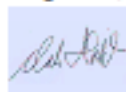
File: C:\MSDCHEM\1\DATA\11091502.D
 Operator: JT
 Date Acquired: 11 Sep 2015 14:35
 Method File: DEWINTA15
 Sample Name: HITAM - 37.15.399.MS
 Misc Info: Dewinta
 Vial Number: 6
 Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
 C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	6.76	15.53	C:\Database\NIST02.L Cyclotridecane	44130	000295-02-3	90
			Cyclotetradecane	53621	000295-17-0	53
			Octadecane, 1-chloro-	110992	003386-33-2	45
2	7.66	2.48	C:\Database\Wiley275.L Butane, 2,2'-[methylenebis(oxy)]...	72687	054699-28-4	47
			(E)-3-methylene-1,5-heptadien-4...	16866	100281-13-8	47
			TETRAHYDRO-2-(TETRAHYDRO-3-FURF...	29544	000000-00-0	43
3	9.83	56.02	C:\Database\Wiley275.L NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH...	160635	000000-00-0	99
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet...	175359	000150-86-7	94
			NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH...	160636	000000-00-0	94
4	10.11	9.73	C:\Database\Wiley275.L NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH...	160636	000000-00-0	83
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet...	175359	000150-86-7	76
			NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH...	160635	000000-00-0	68
5	10.35	16.24	C:\Database\Wiley275.L 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet...	175359	000150-86-7	90
			NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH...	160635	000000-00-0	64
			1-ISOPROPYL-4-METHYL-7-OXASPIRO...	95848	057683-90-6	46

Mon Sep 14 10:54:55 2015

Mengetahui,


 Digitally signed by
 Mohammad
 Holil

Dr. Mohammad Holil

Factory Lab. Manager

Surabaya, 14 September 2015
 Penanggung jawab Pengujian,

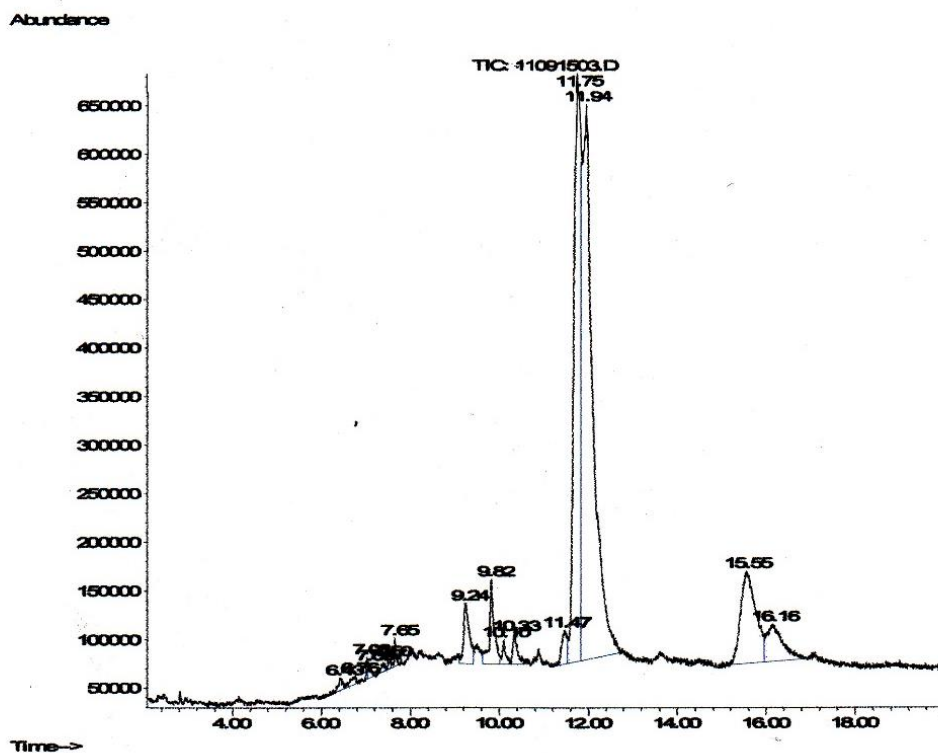

 Digitally signed by
 Yeni Silfia
 Ningsih

Yeni Silfia Ningsih, S.Si

Method Dev. & Research Analyst

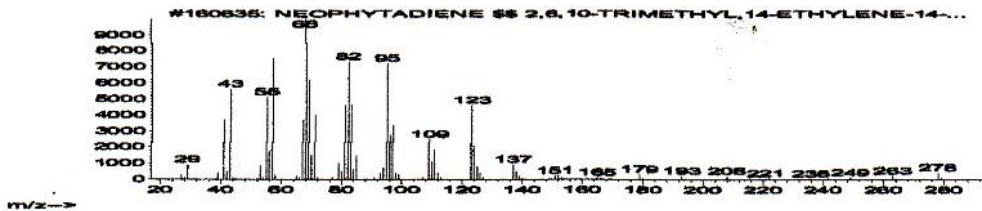
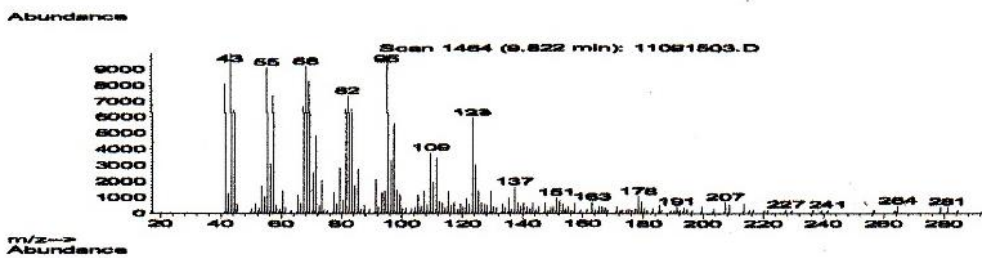
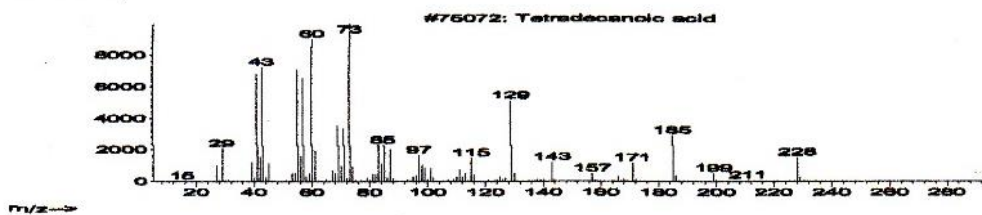
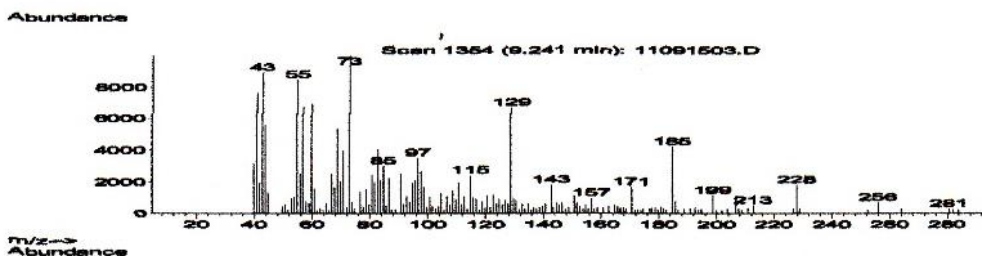
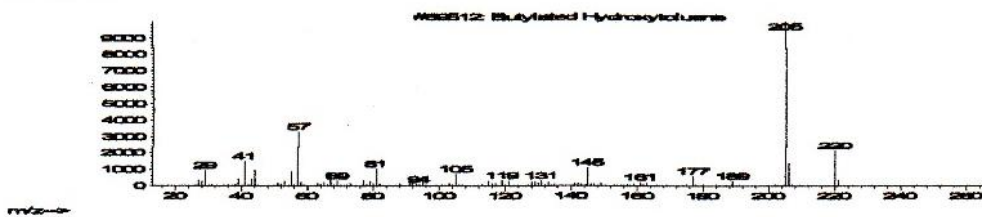
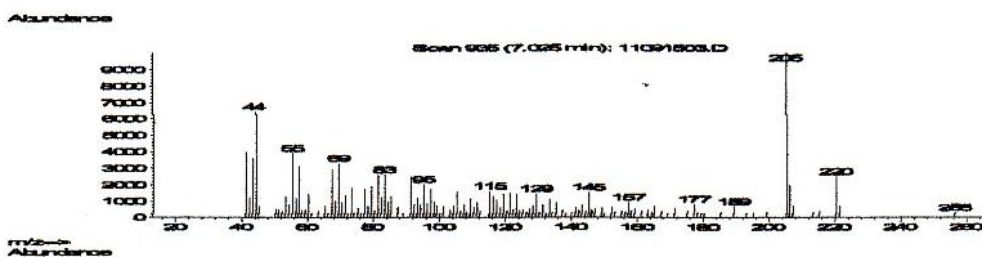


Laboratorium PT. Gelora Djaja



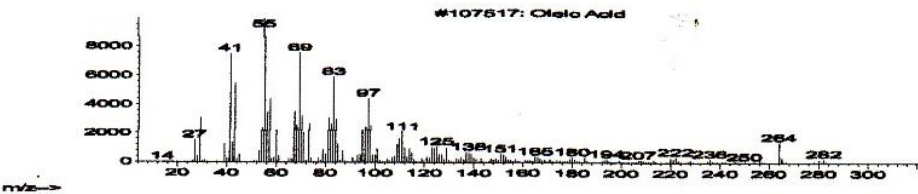
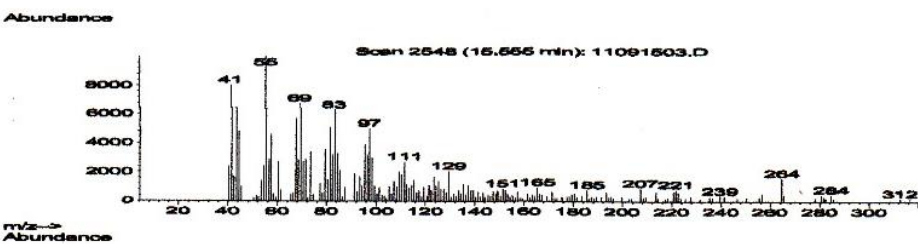
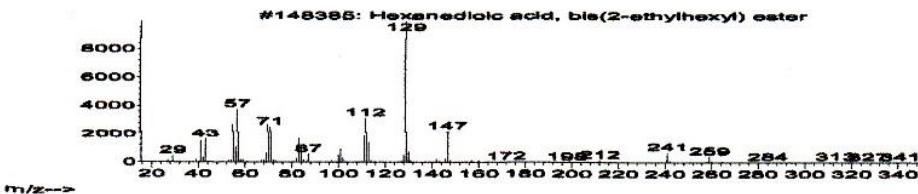
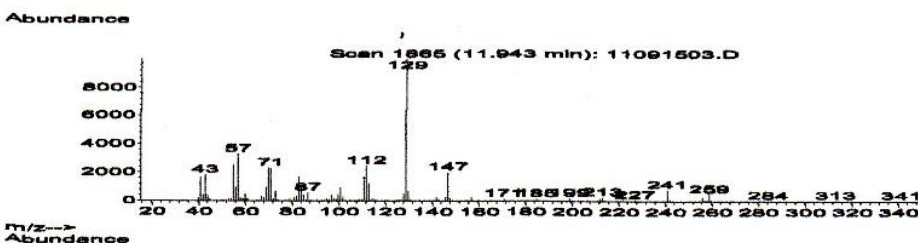
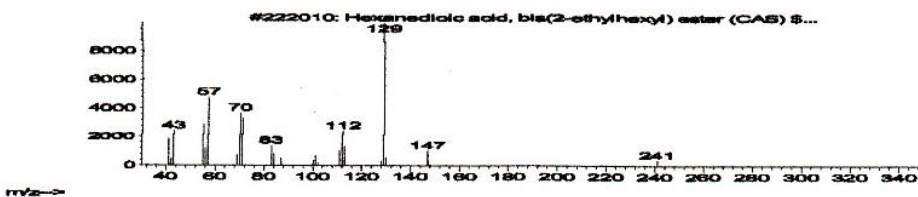
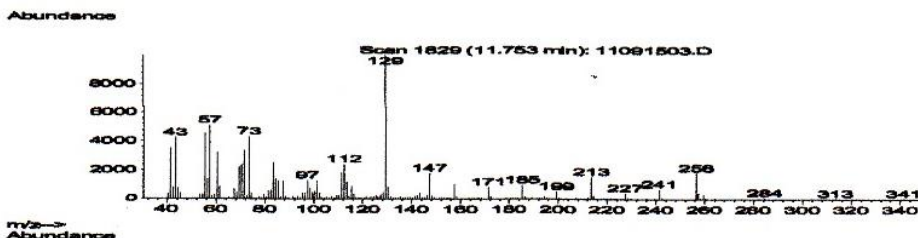


Laboratorium PT. Gelora Djaja



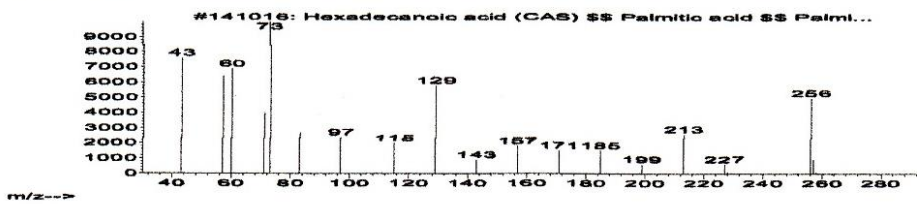
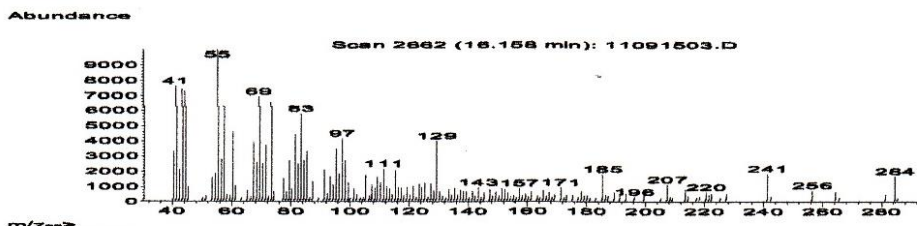


Laboratorium PT. Gelora Djaja





Laboratorium PT. Gelora Djaja



Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM1\DATA\11091503.D
 Operator: JT
 Date Acquired: 11 Sep 2015 14:59
 Method File: DEWINTA15
 Sample Name: ORANGE - 37.15.400.MS
 Misc Info: Dewinta
 Vial Number: 5

Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
 C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	6.43	0.52	C:\Database\Wiley275.L			
			Tricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecan-1...	50228	031083-61-1	35
			Thiourea, N,N'-diethyl- (CAS) \$...	21709	000105-55-5	30
			2-(N,N-dimethylhydrazino)cyclop...	36648	137919-88-1	30
2	6.76	0.44	C:\Database\Wiley275.L			
			Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm...	141012	000057-10-3	35
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ...	163705	000112-80-1	25
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ...	163701	000112-80-1	25
3	7.02	0.37	C:\Database\NIST02.L			
			Butylated Hydroxytoluene	69512	000128-37-0	87
			Butylated Hydroxytoluene	69513	000128-37-0	58
			Butylated Hydroxytoluene	69511	000128-37-0	55





Laboratorium PT. Gelora Djaja

- 4 7.09 0.29 C:\Database\Wiley275.L
1-formyl-2,2,6-trimethyl-3-cis-(... 106051 108287-14-5 43
Campherone \$\$ Bicyclo[2.2.1]h... 105916 018530-02-4 38
Zinc, dicyclopentyl- (CAS) 86554 020525-74-0 30
- 5 7.37 0.32 C:\Database\Wiley275.L
Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(... 42909 002937-53-3 72
13a,3a-(Epoxyethano)-1H-indoliz... 239886 002122-26-1 45
Thiourea, N,N'-diethyl- (CAS) \$... 21709 000105-55-5 43
- 6 7.50 0.21 C:\Database\Wiley275.L
2(1H)-Naphthalenone, octahydro-... 94018 054594-42-2 60
(R)-(-)-14-METHYLHEXADEC-8-ENAL... 137564 070224-30-5 45
Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(... 42909 002937-53-3 42
- 7 7.65 0.40 C:\Database\Wiley275.L
Ether, 1-dodecyl methyl (CAS)... 83407 026537-04-2 47
TETRAHYDRO-2-(TETRAHYDRO-3-FURF... 29544 000000-00-0 46
2-Hexene, 1-methoxy-, (E)- (CAS... 12243 056052-83-6 43
- 8 9.24 2.60 C:\Database\NIST02.L
Tetradecanoic acid 75072 000544-63-8 97
Tetradecanoic acid 75070 000544-63-8 93
Tetradecanoic acid 75071 000544-63-8 83
- 9 9.82 2.86 C:\Database\Wiley275.L
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160635 000000-00-0 97
NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETH... 160636 000000-00-0 94
(-)-TRANS PINANE \$\$ Bicyclo[3.1... 26821 000473-55-2 86
- 10 10.10 0.58 C:\Database\Wiley275.L
Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(... 42909 002937-53-3 48
CITRONELLOL \$\$ D-CITRONELLOL 42678 000106-22-9 25
9,17-Octadecadienal, (Z)- (CAS)... 148348 056554-35-9 25
- 11 10.34 1.18 C:\Database\Wiley275.L
Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(... 42909 002937-53-3 35
1H-Indene, 5-butyl-6-hexyloctah... 148412 055044-36-5 30
13-Oxabicyclo[10.1.0]tridecane ... 67224 000286-99-7 25
- 12 11.47 1.48 C:\Database\Wiley275.L
(Z)-1-Ethyl-2-(1,2,2-trimethylp... 38544 099809-20-8 70
14-Pentadecenoic acid (CAS) 126201 017351-34-7 55
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 163703 000112-80-1 50
- 13 11.75 32.13 C:\Database\Wiley275.L
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe... 222010 000103-23-1 49,
Di(2-ethylhexyl)adipate 222021 000103-23-1 49
DI-(2-ETHYLHEXYL) ESTER OF ADIP... 222017 000000-00-0 47
- 14 11.94 41.80 C:\Database\NIST02.L
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe... 148385 000103-23-1 95
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe... 148382 000103-23-1 91





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe... 148381 000103-23-1 91

15 15.55 10.57 C:\Database\NIST02.L

Oleic Acid

107518 000112-80-1 96

Oleic Acid

107517 000112-80-1 95

9-Octadecenoic acid, (E)-

107524 000112-79-8 93

16 16.16 4.25 C:\Database\Wiley275.L

Hexadecanoic acid (CAS) \$\$ Palm... 141016 000057-10-3 70

9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 163705 000112-80-1 70

Thiosulfuric acid (H2S2O3), S-(... 42909 002937-53-3 60

Mon Sep 14 11:00:12 2015

Mengetahui,

 Digitally signed
by Mohammad
Holil

Dr. Mohammad Holil

Factory Lab. Manager

Surabaya, 14 September 2015

Penanggung jawab Pengujian,

 Digitally
signed by Yeni
Silfia Ningsih

Yeni Silfia Ningsih, S.Si

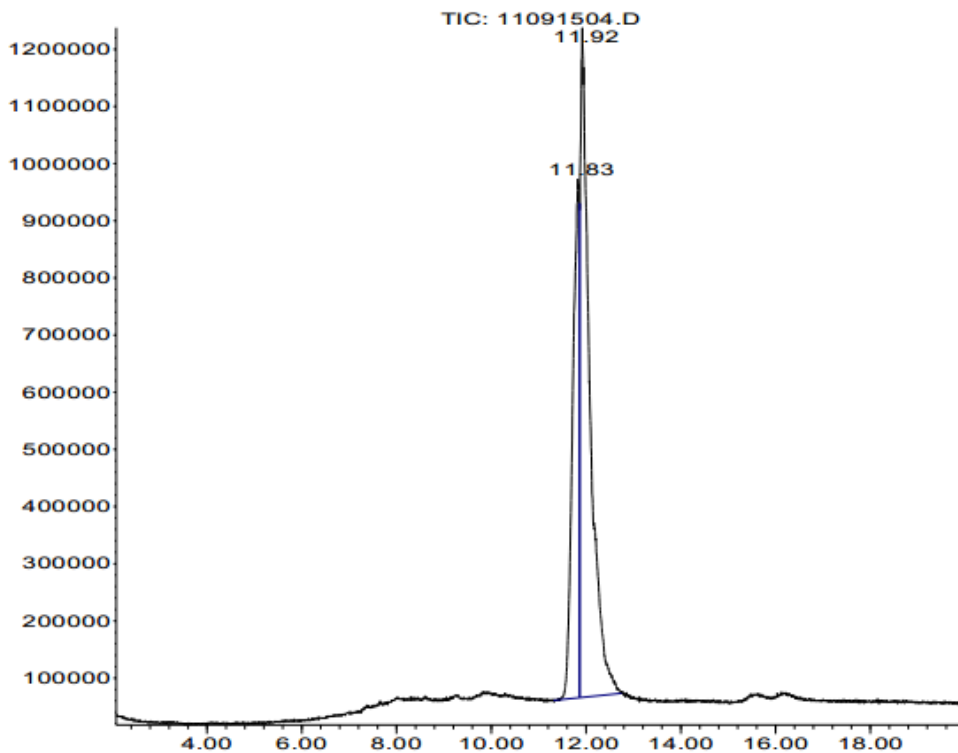
Method Dev. & Research Analyst





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Abundance

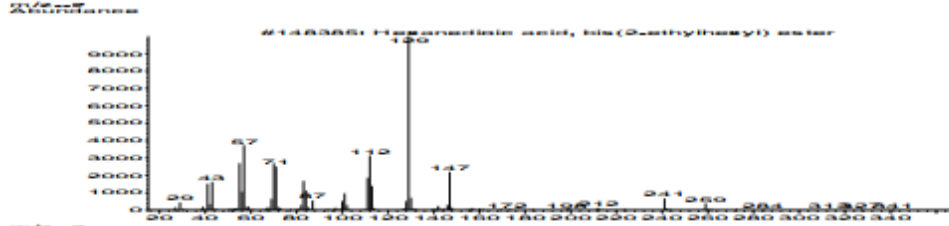
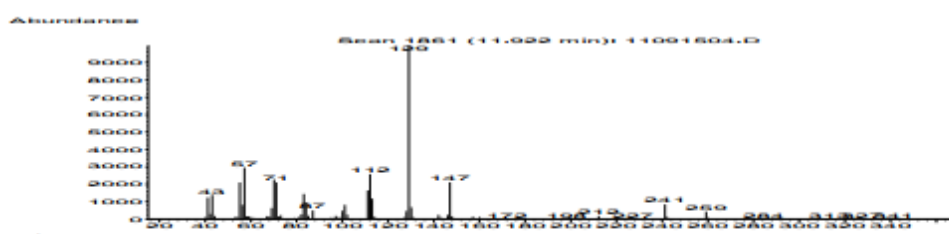
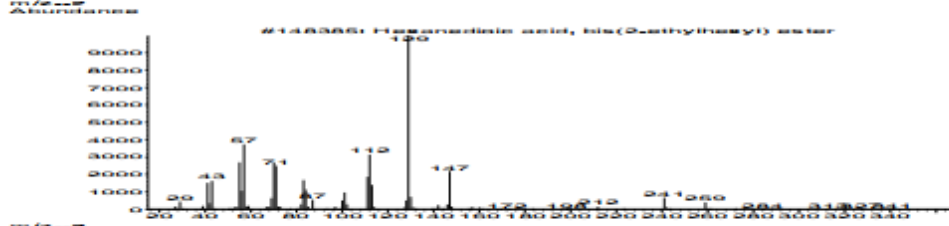
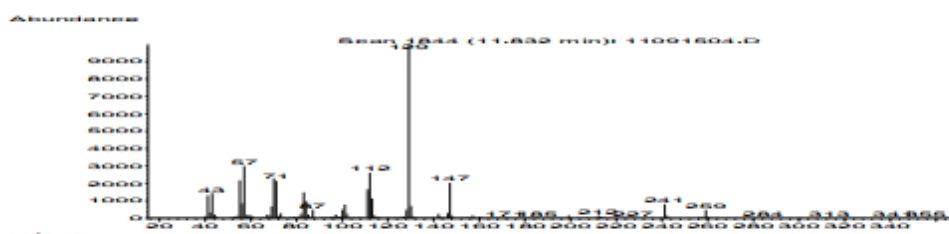


Time-->





Laboratorium PT. Gelora Djaja





Laboratorium PT. Gelora Djaja

Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM1\DATA\11091504.D
 Operator: JT
 Date Acquired: 11 Sep 2015 15:26
 Method File: DEWINTA15
 Sample Name: HIJAU - 37.15.401.MS
 Misc Info: Dewinta
 Vial Number: 4

Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85
 C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	11.83	34.46	C:\Database\NIST02.L			
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe...	148385	000103-23-1	95
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe...	148382	000103-23-1	91
			Diisooctyl adipate	148373	001330-86-5	91
2	11.92	65.54	C:\Database\NIST02.L			
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe...	148385	000103-23-1	95
			Diisooctyl adipate	148373	001330-86-5	91
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhe...	148382	000103-23-1	91

Mon Sep 14 10:49:42 2015

Mengetahui,


 Digitally signed
 by Mohammad
 Holli

Dr. Mohammad Holli

Factory Lab. Manager

Surabaya, 14 September 2015
 Penanggung jawab Pengujian,


 Digitally
 signed by
 Yeni Silfia
 Ningsih

Yeni Silfia Ningsih, S.Si

Method Dev. & Research Analyst



Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian



Alga coklat *Turbinaria conoides* segar



Pencucian alga coklat



Proses penjemuran



Proses penggilingan



Alga coklat *Turbinaria conoides*



Dilarutkan dengan pelarut N-heksan dengan perbandingan 1:4



Diaduk dengan Magnetic Stirrer selama 24 jam



Disaring menggunakan kertas saring



Hasil maserasi dengan pelarut n-heksan diuapkan dengan rotary vacuum evaporator



Ampas dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat perbandingan 1:4



Diaduk dengan magnetic stirrer selama 24 jam



Disaring dengan menggunakan kertas saring



Hasil maserasi dengan pelarut Etil asetat diuapkan dengan rotary vacum evaporator



Ampas kemudian dilarutkan kembali dengan pelarut etanol perbandingan 1:4



Diaduk dengan magnetic stirer selama 24 jam



Disaring dengan menggunakan kertas saring



Hasil maserasi dengan pelarut etanol diuapkan dengan rotary vacum evaporator



Hasil ekstrak masing masing pelarut dihilangkan sisa pelarut dengan nitrogen



Alga coklat *Turbinaria conoides*



Dilarutkan dengan pelarut Etanol dengan perbandingan 1:4



Diaduk dengan Magnetic Stirrer selama 24 jam



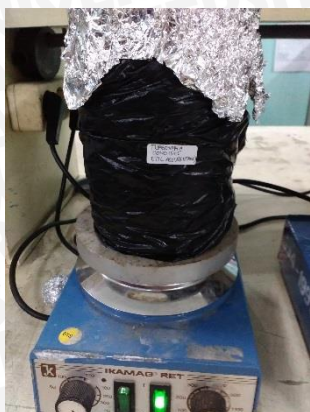
Disaring menggunakan kertas saring



Hasil maserasi dengan pelarut etanol diuapkan dengan rotary vacuum evaporator



Ampas dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat perbandingan 1:4



Diaduk dengan magnetic stirer selama 24 jam



Disaring dengan menggunakan kertas saring



Hasil maserasi dengan pelarut Etil asetat diuapkan dengan rotary vacum evaporator



Ampas kemudian dilarutkan kembali dengan pelarut N-heksan perbandingan 1:4

37



Diaduk dengan magnetic stirer selama 24 jam



Disaring dengan menggunakan kertas saring



Hasil maserasi dengan pelarut n-heksan diuapkan dengan rotary vacuum evaporator



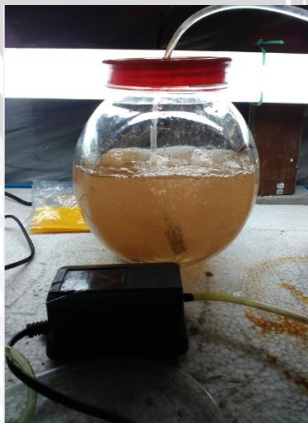
Hasil ekstrak masing masing pelarut dihilangkan sisa pelarut dengan nitrogen



Penimbangan 1 gram telur *Artemia salina* Leach.



Direndam air laut sebanyak 2 liter



Diaerasi selama 48 jam dengan penerangan lampu pijar 40-60 watt



Artemia salina Leach.



Ekstrak kasar *Turbinaria conoides*
Ditimbang sebesar 0,04 gram



Dilakukan pengenceran dalam bentuk
(ppm) dengan air laut



Ditentukan masing-masing
konsentrasi pada larutan uji (0 ppm, 5
ppm, 50 ppm, 250 ppm, 1000 ppm)



Dimasukkan 10 buah *Artemia saliana*
Leach. pada masing-masing larutan
uji



Diamati kematian *Artemia saliana*
Leach. setelah 24 jam



Proses kromatografi kolom



Hasil kromatografi kolom



Analisis GC-MS

