

IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ALGA COKLAT

Sargassum echinocarpum

SKRIPSI

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

Oleh:

RONAL TISA RUDANTORO

NIM. 115080301111060



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ALGA COKLAT

Sargassum echinocarpum

SKRIPSI

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

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

Oleh:

RONAL TISA RUDANTORO

NIM. 115080301111060



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

SKRIPSI

IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ALGA COKLAT

Sargassum echinocarpum

Oleh:

RONAL TISA RUDIANTORO

NIM. 115080301111060

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 26 Januari 2016

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Hardoko, MS
NIP. 19620108 198802 1 001
Tanggal :

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP
NIP. 19581231 198601 2 002
Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 26 Januari 2016

Mahasiswa

(Ronal Tisa Rudiantoro)
NIM. 115080301111060

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul "IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ALGA COKLAT *Sargassum echinocarpum*".

Penyusunan skripsi ini tidak dapat diselesaikan dengan baik jika tidak mendapatkan semangat dan bimbingan dari pihak-pihak yang telah membantu, baik secara materi dan non-materi. Maka dari itu penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebanyak-banyaknya kepada orang - orang yang telah membantu penulis secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini. Kepada yang penulis hormati :

1. Papa dan Mama tercinta, Mochammad Salim dan Thoyibatin, yang telah memberikan doa, semangat, motivasi, kasih sayang dan segala bantuannya yang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Adik - adikku tersayang, Rozein Tisa Aprino, Raul Tisa Trianto dan Rere Tisa Marshanda, yang telah memberikan doa, semangat serta motivasi yang membuat penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS dan Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP sebagai dosen pembimbing yang telah membimbing, bersedia menyempatkan waktu untuk membaca dan memberikan masukan bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Sahabat terkasih, Disya Nadia Putri S.Kom, yang telah memberikan doa, motivasi, kasih sayang dan juga waktunya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan semangat.
5. Sahabat terbaik, Hendrian Dwi, Bazith Nirza, Miftachul Iqbal, Ulul Khilmi, Mbah Bagus, Fahmi Khalid, Ahmad Fauriza dan juga semua Sahabat kelas Q yang tak dapat disebutkan satu - satu, yang tidak bosan untuk bersahabat apa adanya dan berbagi kisah selama bertahun tahun ini.
6. *Partner in Team*, Agung Kurniawan, Dzaki Ulul, Khoirunnisa, Ani Setia, Imroatul, Ely Mar'atus, Ria Rizki, Dyah Ayu dan juga yang lainnya yang tak bisa disebutkan satu satu, yang telah memberi segenap bantuan selama proses pengerjaan skripsi mulai awal hingga akhir.

7. Keluarga Fishtech 2011 atas segala motivasi, bantuan, suka duka serta canda tawa selama kurang lebih 4 tahun ini.
8. Semua keluarga, saudara, sahabat serta teman – teman yang tidak dapat dituliskan satu per satu, yang telah memberi doa, semangat dan kasih sayang sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Malang, 26 Januari 2016

Penulis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



RINGKASAN

RONAL TISA RUDIANTORO. Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat *Sargassum echinocarpum* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS** dan **Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**)

Rumput laut tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia, serta merupakan salah satu hasil laut yang penting. Rumput laut bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun dalam bidang industri lain (industri kosmetik, tekstil, dan farmasi). *Sargassum* merupakan salah satu rumput laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia. *Sargassum* atau rumput laut coklat ini kaya akan zat gizi dan bioaktif. Makroalga *Sargassum echinocarpum* mudah diperoleh di perairan Indonesia, kandungan bahan kima utama sebagai sumber alginat dan mengandung protein, vitamin C, tannin, yodium fenol sebagai obat gondok, antibakteri dan tumor. Untuk mengetahui kandungan bioaktif yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* yaitu dengan melakukan skrining fitokimia atau melakukan pengujian secara langsung. Hasil analisis fitokimia dapat memberikan petunjuk tentang keberadaan komponen kimia (senyawa) jenis golongan steroid/triterpenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin pada tumbuhan. GC-MS adalah perpaduan dari kromatografi gas dan spektroskopi massa. Senyawa yang sudah dipisahkan oleh kromatografi gas, kemudian dideteksi dengan menggunakan spektroskopi massa.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa fitokimia yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* dengan menggunakan pelarut yang berbeda dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* dengan menggunakan metode GC-MS. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2015 – September 2015 di Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode deskriptif eksploratif dan eksperimen. Metode deskriptif bertujuan untuk mengetahui suatu objek secara relatif dan metode eksperimen bertujuan untuk mengetahui variabel dalam sebuah penelitian. Parameter yang diamati antara lain skrining fitokimia, nilai total fenol dan pembacaan senyawa dengan metode GC-MS.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak sampel alga coklat *Sargassum echinocarpum* pada pelarut A positif mengandung senyawa steroid dan alkaloid (mayer); pada pelarut B positif mengandung senyawa steroid dan flavonoid; pada pelarut C positif mengandung senyawa steroid, tanin, flavonoid dan alkaloid (mayer dan dragendorf); pada pelarut D positif mengandung senyawa steroid, flavonoid dan alkaloid (dragendorf); pada pelarut E positif mengandung senyawa steroid dan saponin; pada pelarut F positif mengandung senyawa steroid. Pada ekstrak sampel alga coklat *Sargassum echinocarpum* diperoleh nilai total fenol tertinggi pada pelarut C sebesar 209,881 mg GAE/g. Kemudian dibaca dengan metode GC-MS dan diketahui terdapat senyawa tertinggi yaitu 1,2-Benzenedicarboxylic acid (2-ethylhexyl) ester (CAS) atau nama lainnya Di-n-octyl phthalate 1,2- Benzen edicarboxylic acid.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Hipotesa.....	3
1.5 Kegunaan	3
1.6 Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pengertian Rumput Laut	5
2.2 Klasifikasi dan Morfologi <i>Sargassum echinocarpum</i>	6
2.3 Kandungan <i>Sargassum echinocarpum</i>	7
2.4 Ekstraksi	8
2.5 Pelarut Ekstraksi	9
2.5.1 N-Heksan	9
2.5.2 Etil Asetat	10
2.5.3 Etanol	10
2.6 Senyawa Fitokimia	11
2.6.1 Alkaloid	12
2.6.2 Flavonoid	12
2.6.3 Triterpenoid dan Steroid	13
2.6.4 Saponin	13
2.6.5 Tanin	14
2.6.6 Fenol	15
2.7 GC-MS	15
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat Penelitian	17
3.1.2 Bahan Penelitian	17
3.2 Metode Penelitian	17
3.2.1 Metode	17
3.2.2 Variabel	18
3.3 Rancangan Penelitian	18
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Ekstraksi.....	19
3.4.2 Skrining Fitokimia	20

a. Alkaloid	20
b. Flavonoid	20
c. Saponin	20
d. Tanin	20
e. Triterpenoid dan Steroid	21
f. Fenol	21
g. Asam Galat	21
3.4.3 GC-MS	22

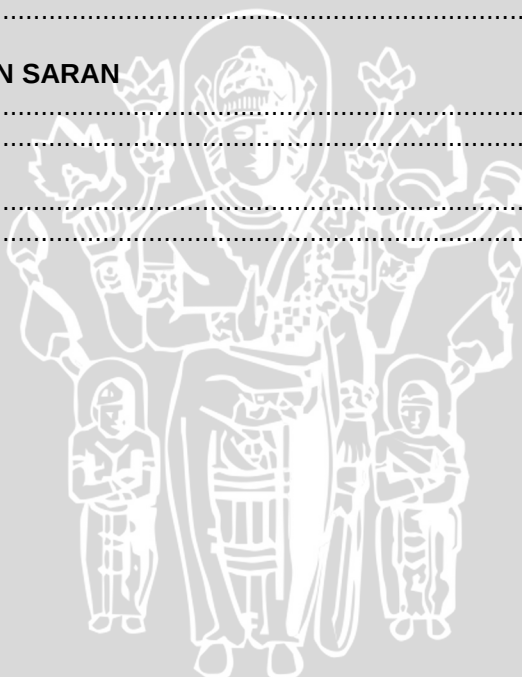
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi <i>Sargassum echinocarpum</i>	24
4.2 Skrining Fitokimia	24
4.2.1 Alkaloid	25
4.2.2 Triterpenoid / Steroid	28
4.2.3 Saponin	29
4.2.4 Flavonoid	29
4.2.5 Tanin	30
4.3 Uji Total Fenol Ekstrak Sampel <i>Sargassum echinocarpum</i>	30
4.4 GC-MS	35

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	37

DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Alga Coklat <i>Sargassum echinocarpum</i>	6
Gambar 2. Reaksi Uji Mayer	26
Gambar 3. Reaksi Uji Wagner	27
Gambar 4. Reaksi Uji Dragendorf	28
Gambar 5. Kurva Kalibrasi Asam Galat	32
Gambar 3. Grafik Rata-rata Total Fenl Ekstrak Sampel <i>Sargassum echinocarpum</i>	33

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia N-Heksan	9
Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Etil Asetat	10
Tabel 3. Sifat Fisika dan Kimia Etanol	11
Tabel 4. Rancangan Penelitian	19
Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia pada Ekstrak <i>Sargassum echinocarpum</i>	25
Tabel 6. Hasil Uji Asam Galat	31
Tabel 7. Nilai Total Fenol Ekstrak <i>Sargassum echinocarpum</i>	34

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Skema Pembuatan Serbuk Alga Coklat	42
Lampiran 2.	Skema Proses Ekstraksi Bertingkat dari Pelarut Non polar ke Polar	43
Lampiran 3.	Skema Proses Ekstraksi Bertingkat dari Pelarut Polar ke Non polar	44
Lampiran 4.	Skema Proses Alkaloid	45
Lampiran 5.	Skema Proses Triterpenoid/Steroid	45
Lampiran 6.	Skema Proses Tanin	46
Lampiran 7.	Skema Proses Saponin	46
Lampiran 8.	Skema Proses Flavonoid	46
Lampiran 9.	Skema Proses Total Fenol	47
Lampiran 10.	Skema Proses Larutan Asam Galat	47
Lampiran 11.	Perhitungan Konsentrasi Total Fenol	48
Lampiran 12.	Perhitungan Nilai Kadar Total Fenol	52
Lampiran 13.	<i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Ekstrak <i>Sargassum echinocarpum</i> pada uji total fenol	56
Lampiran 14.	Gambar Proses Maserasi	59
Lampiran 15.	Gambar Proses Skrining Fitokimia	60
Lampiran 16.	Gambar Proses Total Fenol	62
Lampiran 17.	Hasil Uji GCMS Ekstrak Alga Coklat <i>Sargassum echinocarpum</i>	64



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia, serta merupakan salah satu hasil laut yang penting. Rumput laut bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun dalam bidang industri lain (industri kosmetik, tekstil, dan farmasi) untuk memenuhi permintaan dalam negeri maupun luar negeri (Handayani *et al.*, 2004).

Rumput laut tidak memiliki akar, batang dan daun karena itu rumput laut merupakan makro alga yang digolongkan pada organisme fotosintetik tingkat rendah. Berdasarkan warna *thallus* yang dipengaruhi oleh jenis variasi dan kandungan pigmen utamanya, rumput laut dapat dikelompokkan ke dalam 3 kelas yaitu *Chlorophyceae* (rumput laut hijau), *Rhodophyceae* (rumput laut merah), dan *Phaeophyceae* (rumput laut coklat) (Limantara dan Heriyanto, 2011).

Sargassum merupakan salah satu rumput laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia. Sargassum atau rumput laut coklat ini kaya akan zat gizi dan bioaktif. Ada 11 jenis Sargassum yang ditemukan di perairan Indonesia, yaitu: *Sargassum binderi*, *S. crassifolium*, *S. plagyophyllum*, *S. mollerii*, *S. siliquosum*, *S. hystrix*, *S. gracilimum*, *S. duplicatum*, *S. cinereum*, *S. polycystum* dan *S. Echinocarpum* (Firdaus *et al.*, 2012).

Alga hidup dengan cara bersimbiosis dengan organisme lain. Saat bersimbiosis, alga memasok hasil fotosintesisnya kepada inang sebagai sumber energi. Beberapa spesies makroalga antara lain; *Turbinaria decurrens* Bory, *Sargassum echinocarpum* dan *Laurencia cartilaginea*. Makroalga *Sargassum echinocarpum* mudah diperoleh di perairan Indonesia, kandungan bahan kima utama sebagai sumber alginat dan mengandung protein, vitamin C, tannin,

yodium fenol sebagai obat gondok, antibakteri dan tumor (Trono dan Ganzon, 1988).

Untuk mengetahui kandungan bioaktif yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* yaitu dengan melakukan skrining fitokimia atau melakukan pengujian secara langsung dengan tujuan untuk mengetahui dan mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung. Uji skrining fitokimia merupakan langkah yang penting dalam mengetahui potensi sumber daya tumbuhan. Hasil analisis fitokimia dapat memberikan petunjuk tentang keberadaan komponen kimia (senyawa) jenis golongan steroid/triterpenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin pada tumbuhan (Tukiran *et al.*, 2014).

Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan memperhatikan reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi merupakan hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia (Kristianti *et al.*, 2008).

GC-MS adalah perpaduan dari kromatografi gas dan spektroskopi massa. Senyawa yang sudah dipisahkan oleh kromatografi gas, kemudian dideteksi dengan menggunakan spektroskopi massa. Pada GC-MS aliran dari kolom terhubung secara langsung pada ruang ionisasi spektrometer massa. Pada ruang ionisasi semua molekul (termasuk gas pembawa, pelarut, dan solut) akan terionisasi, ion dipisahkan berdasarkan massa dan rasio muatannya (Harvey, 2000). Kromatografi gas dan spektrometer massa mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing. Dengan disambungkannya kedua teknik tersebut diharapkan dapat meningkatkan kemampuan untuk menganalisa dengan menggunakan kelebihan dari masing-masing dan meminimalisir kekurangannya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah

- a. Senyawa fitokimia apa yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* pada hasil ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda?
- b. Senyawa bioaktif apa yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* dengan menggunakan metode GC-MS ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu

- a. Untuk mengetahui senyawa fitokimia apa yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* dengan menggunakan pelarut yang berbeda
- b. Untuk mengetahui senyawa bioaktif apa yang terkandung dalam alga coklat *Sargassum echinocarpum* dengan menggunakan metode GC-MS

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari yaitu :

H_1 = Jenis pelarut berpengaruh terhadap kandungan bioaktif *Sargassum echinocarpum*

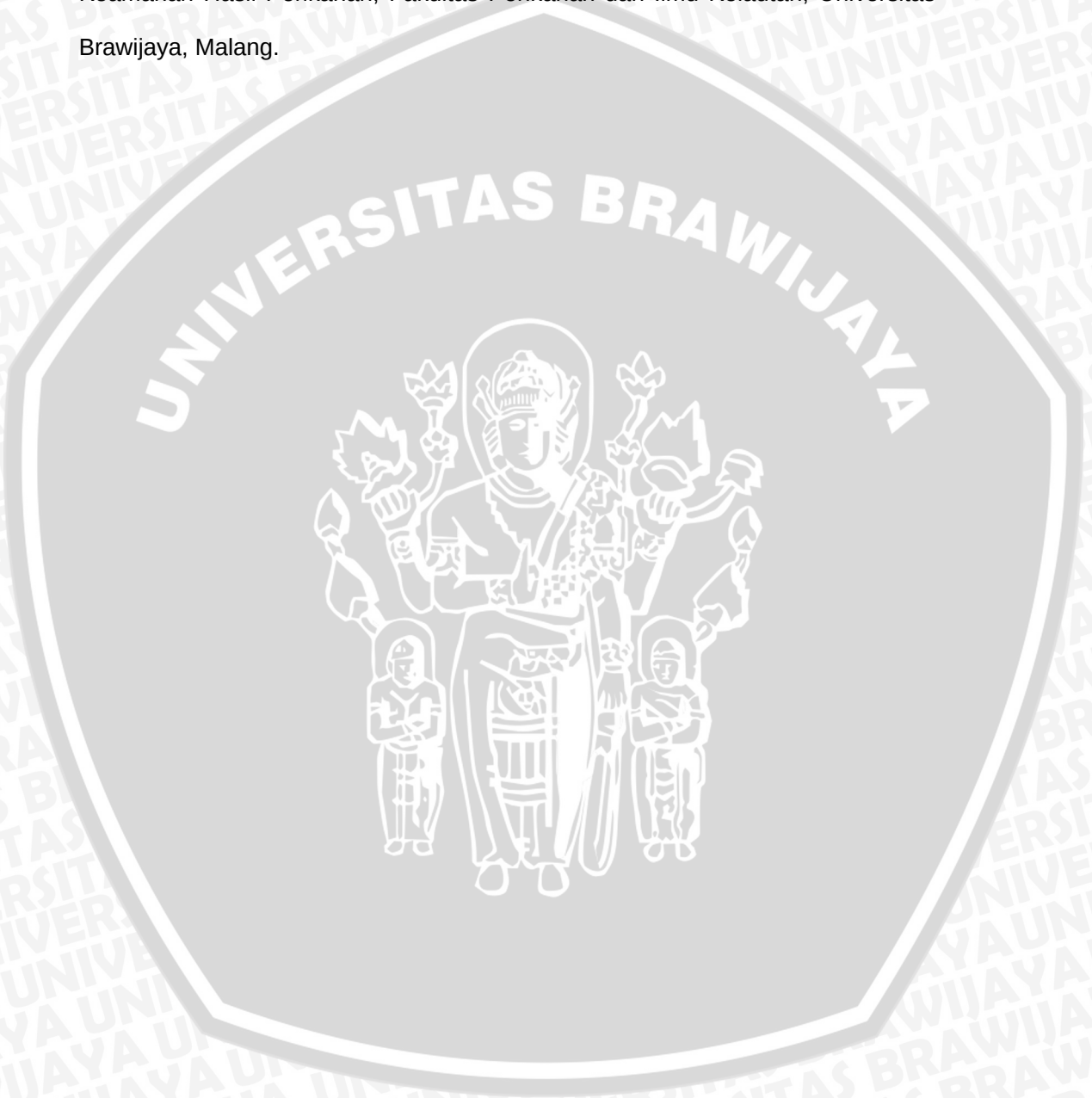
H_0 = Jenis pelarut tidak berpengaruh terhadap kandungan bioaktif *Sargassum echinocarpum*

1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang senyawa bioaktif yang terkandung didalam alga coklat *Sargassum echinocarpum*

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2015 – September 2015. Bertempat di Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian Rumput Laut

Rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang penting, serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia. Tumbuhan ini bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun bukan makanan (industri kosmetik, tekstil, dan farmasi), untuk memenuhi permintaan dalam negeri maupun luar negeri (Handayani, *et al.*, 2004).

Rumput laut umumnya mengandung mineral essensial (besi, iodin, alumunium, mangan, kalsium, nitrogen dapat larut, phosphor, sulfur, khlor, silicon, rubidium, strontium, barium, titanium, *cobalt, boron, copper*, kalium dan unsur-unsur lainnya), asam nukleat, asam amino, protein, mineral, tepung, gula, dan vitamin A, B, C, D, E, dan K (Uji, 2014). Sedangkan menurut Winarno (1996) rumput laut adalah tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun. Pada umumnya alga dapat dikelompokkan menjadi empat kelas, yaitu alga hijau (*Chlorophyceae*), alga hijau biru (*Cyanophyceae*), alga merah (*Rhodophyceae*) dan alga coklat (*Phaeophyceae*).

Adapun definisi lain tentang rumput laut menurut Sahat (2013) menjelaskan bahwa rumput laut merupakan makro alga yang termasuk dalam divisi *Thallophyta*, yaitu tumbuhan yang mempunyai struktur kerangka tubuh yang terdiri dari batang / thalus dan tidak memiliki daun serta akar. Jenis rumput laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia adalah *Gracilaria*, *Gelidium*, *Eucheuma*, *Hypnea*, *Sargasum* dan *Turbinaria*.

2.2 Klasifikasi dan Morfologi *Sargassum echinocarpum*

Klasifikasi *Sargassum echinocarpum* menurut Atmadja et al. (1996), adalah sebagai berikut:

Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum echinocarpum</i>

Alga coklat berbentuk benang atau lembaran, bahkan ada yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi dengan bagian yang sama seperti, akar, batang dan daun. Umumnya alga coklat mempunyai sifat mikroskopis, dan mencapai ukuran lebih dari 30 meter, serta mempunyai gelembung-gelembung udara, yang dijadikan sebagai pelampung (Uji, 2014). Alga coklat mempunyai manfaat dibidang industri farmasi sebagai anti bakteri, antitumor, anti kanker, fungisida dan herbisida (Siregar et al., 2012). Gambar *Sargassum echinocarpum* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum echinocarpum*

Sargassum sp. adalah salah satu jenis alga coklat (*Phaeophyta*). *Sargassum* sp. memiliki ciri-ciri seperti bentuk thallus umumnya silindris, percabangan rimbun menyerupai pepohonan di darat, bagian daun melebar,

lonjong atau menyerupai pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter, panjang thallus dapat mencapai tujuh meter dan berwarna coklat (Pamungkas *et al.*, 2013). Sedangkan menurut Poncomulyo *et al.* (2006), *Sargassum* sp. juga telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil dan kertas. *Sargassum* sp. juga telah dimanfaatkan di bidang farmasi dan ternak.

2.3 Kandungan *Sargassum echinocarpum*

Kandungan dari *Sargassum* sp. adalah Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare (Sastry dan Rao, 1994). Sedangkan menurut Septiana dan Ari (2013), *Sargassum* sp mengandung fukoidan dan komponen fenolik. Jenis komponen fenolik yang terdapat pada rumput laut coklat adalah jenis phlorotanin yang berkisar antara 0,74% sampai 5,06%. Alga coklat banyak mengandung vitamin dan mineral yang seimbang dan bermanfaat seperti, magnesium, kalsium, iron, *copper*, mangan, zink, *boron* dan iodine.

Pada senyawa tanin dan fenol juga tersusun polifenol dan iodine dalam sampel *Sargassum* sp. Diketahui pada *Sargassum* sp. kering memiliki kandungan iodine 0,2-0,5% dan 2 gram bubuk kering *Sargassum* sp. memiliki kandungan polifenol sebesar 4,58 % (491,5 mg). Kandungan zat – zat tersebut cukup baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri, hal itu dibuktikan dengan besarnya zona hambat pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% yang sesuai dengan standar antibiotika umum (Bachtiar *et al.*, 2012).

2.4 Ekstraksi

Proses ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Dalam melakukan ekstraksi harus memperhatikan pelarut yang sifatnya sama dengan senyawa yang akan diisolasi. Sifat pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya ada 3 macam yaitu polar, semi polar dan non polar (Rahayu, 2009).

Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang akan digunakan sangat mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstraksi. Pemilihan pelarut ekstraksi umumnya menggunakan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Dewi *et al.*, 2012).

Metode yang mendasari proses ekstraksi pada umumnya adalah maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman bahan yang dilakukan dengan atau tanpa pengadukan. Bahan yang akan dimaserasi bersama pelarut dimasukkan dalam wadah tertutup yang bertujuan untuk mencegah terjadinya penguapan. Larutan alkohol dalam jumlah yang cukup dapat ditambahkan dalam wadah apabila pelarut yang digunakan adalah air. Hal tersebut ditujukan untuk mencegah pertumbuhan mikroba (Longo, 2008).

Adapun keunggulan metode maserasi yaitu menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman simplisia atau ekstrak kasar tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan berlangsung dengan sempurna (Assagaf, 2012). Sedangkan kelemahan yang dimiliki adalah waktu ekstraksi yang lama dan hasil pengekstrak kurang sempurna.

2.5 Pelarut Ekstraksi

2.5.1 N-Heksan

Heksana adalah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$. Awalan heks- menunjukkan enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana merupakan alkana yang menunjukkan ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon. N-heksana (C_6H_{14}) memiliki titik didih $68.7^\circ C$ dengan berat jenis 0,659 gr/ml dan berbau menyengat (Munawaroh dan Prima, 2010). Sifat Fisika dan Kimia n-heksan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia N-heksan

Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 gram/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	$-95^\circ C$
Titik didih	$69^\circ C$ (Pada 1 atm)
Densitas	0,6603 g/ml pada $20^\circ C$

Sumber : Kastiani dan Amalia (2008).

Senyawa-senyawa non-polar yang terdapat pada sampel dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang bersifat non polar 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 adalah karena pelarut ini bersifat stabil, mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat. Identifikasi bahaya pada pelarut ini antara lain, dapat menyebabkan iritasi kulit, sistem pernapasan, dan bersifat racun pada ekosistem air (Satria *et al.*, 2013).

2.5.2 Etil Asetat

Etil asetat atau yang sering dikenal dengan nama etil ester memiliki rumus kimia $C_4H_8O_2$. Etil Asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa dari suatu bahan yang bersifat polar ataupun non polar dan memiliki titik didih yaitu $77^\circ C$. Etil asetat juga merupakan cairan yang tidak berwarna, mudah terbakar, mempunyai aroma yang khas. (Susanti *et al.*, 2012).

Sifat Fisika dan kimia Etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat fisika dan Kimia Etil Asetat

Spesifik	Keterangan
Bentuk	Cairan tidak berwarna
Rumus molekul	$CH_3COOC_2H_5$
Berat meolekul	88, 108 g/mol
Titik didih (1 atm)	$77,1^\circ C$
Temperature kritis	$250^\circ C$
Tekanan kritis	37,8 atm
Densitas	1,85 g/mol
Kemurnian	>99,5%

Sumber : Absori dan Paramitha (2011).

Identifikasi bahaya pada pelarut ini adalah apabila tertelan yang menyebabkan rasa terbakar pada mulut dan sedikit berbahaya apabila berkontak dengan kulit maupun mata. Tempat penyimpanannya ditempat yang sejuk, berventilasi yang baik dan hindari dari semua sumber yang memungkinkan penyulutan (percikan api atau nyala api). Etil asetat biasanya digunakan untuk pelarut, bahan campuran pembuatan tinta, perekat dan ditemukan dibeberapa bahan kosmetik (Science Lab, 2013).

2.5.3 Etanol

Menurut Wiratmaja *et al.* (2011), etanol merupakan senyawa alkohol yang memiliki dua atom karbon (C_2H_5OH). Etanol disebut juga etil alkohol yang dipasaran lebih dikenal dengan alkohol. Dalam kondisi kamar, etanol berwujud

cairan yang mudah menguap, mudah terbakar dan tidak berwarna. Titik didih yang dimiliki oleh etanol yaitu rendah.

Etanol mulanya berawal dari proses peragian gula yang diubah menjadi arak (minuman keras). Sekarang ini, etanol telah banyak digunakan sebagai bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia, contohnya adalah pada parfum, perasa, pewarna makanan, obat-obatan, kosmetik, pembuatan karet sintetis, dan juga dapat dijadikan sebagai bahan bakar motor (Sebayang, 2006). Adapun sifat fisika dan kimia etanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C ₂ H ₅ OH
Massa molekul relative	46,07 g/mol
Titik leleh	-114,3°C
Titik didih	78,32°C
Densitas pada 20°C	0,7893 g/cm ³
Kelarutan dalam air 20°C	Sangat larut
Viskositas pada 20°C	1,17 cP
Kalor spesifik pada 20°C	0,579 kal/g°C

Sumber: Munawaroh dan Prima (2010)

2.6 Senyawa Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat. Menurut Harborne (1987), pelarut non polar efektif mengekstrak alkaloid dan terpenoid. Pelarut semipolar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, dan alkaloid. Pelarut bersifat polar, mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, tanin, dan komponen fenolik. Analisis fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang

terkandung tiap tanaman dengan mengamati perubahan warnanya setelah pemberian larutan uji.

2.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik bahan alam yang memiliki jumlah terbanyak baik dari segi jumlah maupun sebarannya. Alkaloid dapat didefinisikan sebagai kelompok senyawa yang mempunyai sifat basa (alkalis), dikarenakan mengandung atom nitrogen yang berasal dari tumbuhan maupun hewan. Ditambahkan oleh Putranti (2013), Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid.

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Alkaloid juga mudah dijumpai pada bagian daun, ranting, biji dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek di bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain. Alkaloid merupakan senyawa padat, berbentuk kristal, tidak berwarna dan memiliki rasa pahit (Aksara *et al.*, 2013).

2.6.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang terdapat dalam tumbuhan. Menurut strukturnya, flavonoid merupakan turunan dari senyawa flavon. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman atau tumbuhan yang terikat pada molekul gula sebagai glikosida dan dalam bentuk campuran, jarang sekali dijumpai dalam (berupa) senyawa tunggal. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ (Tukiran *et al.*, 2014).

Indikator flavonoid mengacu pada warna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen (Putranti, 2013). Menurut Sjahid (2008), flavonoid bersifat polar karena mempunyai gugus hidroksil, sehingga akan larut pada pelarut polar, seperti air, butanol, etanol, metanol.

2.6.3 Triterpenoid atau Steroid

Triterpenoid dan steroid merupakan senyawa metabolit sekunder yang kebanyakan terkandung dalam jenis tanaman dan memiliki berbagai aktivitas biologis seperti fungisida, antiviral, bakterisida, sitotoksik, kardiovaskular, antikanker, antialergi, analgesik, dan lain sebagainya. Kerangka karbon triterpenoid berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C 30 asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Putranti, 2013).

Selain steroid atau sterol terdapat pada hewan, steroid atau sterol ialah salah satu bahan aktif yang juga terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi. Steroid ditemukan dalam bentuk senyawa fitosterol seperti sitosterol, stimosterol, dan komposterol. biasanya bioaktif steroid merupakan golongan senyawa yang biasanya akan diuji dan diidentifikasi dalam uji fitokimia (Yunianto *et al.*, 2014). Ditambahkan juga oleh Putranti (2013), bahwa steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4 cincin yang saling bergabung.

2.6.4 Saponin

Saponin merupakan golongan dari senyawa glikosida kompleks, yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik. Apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon) serta busa. Timbulnya busa inilah yang menjadi indikasi adanya saponin ketika

dilakukan uji skrining fitokimia. Saponin yang banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari yaitu sebagai bahan pencuci kain (batik) dan shampoo (Tukiran *et al.*, 2014). Saponin merupakan steroid atau glikosida triterpenoid yang banyak terdapat pada tanaman (Suharti *et al.*, 2009).

Menurut Rosida (2002) berdasarkan hasil hidrolisisnya saponin dibedakan menjadi dua, yaitu karbohidrat dan sapogenin. Sedangkan sapogenin terdiri dari dua golongan, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Ditambahkan juga oleh Purnomo *et al.* (2004), bahwa senyawa saponin memiliki sifat seperti sabun yang merupakan senyawa “*surfactant agent*” yang kuat, sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel.

2.6.5 Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin merupakan senyawa polifenol dengan karakteristik yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

Untuk mengetahui ada tidaknya senyawa tanin dapat digunakan larutan FeCl_3 . Perubahan warna coklat kekuningan dari larutan FeCl_3 menjadi coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan positif adanya tanin. Secara medis tanin umum digunakan sebagai komponen antidiare, hemostatik, dan antihemorroidal. Tanin bersifat toksik bagi mikroba dengan tiga mekanisme, yaitu penghambatan enzim dan penghambatan penggunaan substrat oleh mikroba, mengganggu industri, dan menghambat penggunaan ion logam oleh mikroba (Wibowo, 2013).

2.6.6 Fenol

Fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Fenol memiliki ciri yaitu cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidroksil. Umumnya mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat pada vakuola sel. Senyawa polifenol contohnya propanoid, tanin, flavonoid, dan beberapa terpenoid (Harborne, 1987).

Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana yaitu orsinol, 4-metilresolsinol, 2- metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogallol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Putranti, 2013).

2.7 GC-MS

Kromatografi gas spektrometri massa (GCMS) merupakan analisis hasil kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa, kromatografi gas memiliki kemampuan yang sangat baik dalam hal pemisahan dan analisis kuantitatif komponen. Sedangkan spektrometri massa memiliki kemampuan yang tinggi dalam hal identifikasi atau analisis kualitatif. GCMS biasa digunakan dalam analisis di bidang kimia, ilmu kedokteran, farmasi, dan lingkungan (Harvey, 2000). Tujuan menggunakan GC-MS pada analisa ini untuk mengetahui jumlah komponen sekaligus menentukan struktur dari komponen-komponen yang terdapat dalam hasil ekstrak.

GCMS digunakan hanya untuk deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap. Secara umum, GC-MS memiliki tiga konfigurasi utama, yaitu GC, konektor, dan MS. Prinsip kerja GC-MS didasarkan pada perbedaan kepolaran

dan massa molekul sampel yang dapat diuapkan. Dalam kromatografi gas, sampel cairan disuntikkan ke dalam ruang injeksi dengan jarum injeksi melalui klep khusus. Sampel akan terbawa melalui kolom. Kemudian di dalam kolom, sampel akan dipisahkan satu dengan yang lainnya dan kemudian diteruskan ke detektor berupa signal. Selanjutnya akan direkam di rekorder. Puncak spektrum tersebut akan dilewatkan ke spektrometer massa untuk mengetahui massa molekul relatif (M_r) dan pola fragmen-tasinya (Sukmajaya *et al.*, 2012).

Menurut Anggraini (2013), GCMS hanya dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap. Glukosa, sukrosa, sakarosa bersifat tidak menguap, sehingga tidak dapat dideteksi dengan alat GCMS. Kriteria menguap adalah pada:

- a) Kondisi vakum tinggi, tekanan rendah.
- b) Dapat dipanaskan.
- c) Uap yang diperlukan tidak banyak

Keunggulan metode kromatografi gas (KG) yaitu mampu mendeteksi sampai pada jumlah nanogram, resolusi tinggi serta membutuhkan sampel dalam jumlah kecil. Selain itu, kromatografi gas terbukti telah digunakan secara luas, paling serba guna dan merupakan metode yang sensitif untuk analisis.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat *Sargassum echinocarpum* yaitu alat giling untuk menjadikan serbuk alga coklat *Sargassum echinocarpum*. Kemudian dalam proses ekstraksi menggunakan timbangan digital, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, corong, spatula, sendok bahan, nampan, kertas saring, alumunium foil dan *vacuum rotary evaporator*. Kemudian saat skrining fitokimia menggunakan spektrofotometer UV-Visible, tabung reaksi, pipet volumetrik dan pipet tetes.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sargassum echinocarpum*. Dimana bahan tersebut digunakan untuk ekstraksi adalah etanol, etil asetat dan n-heksana. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah kloroform, amoniak, H_2SO_4 2 N, pereaksi Meyer, Wagner, Dragendorf, etanol 70%, etanol 96%, HCl pekat, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat, serbuk Mg, $FeCl_3$ 1%, dan natrium karbonat. Bahan-bahan untuk uji total fenol adalah etanol, aquades, Na_2CO_3 5%, reagen *Folin-Ciocalteau* 50%, dan asam galat.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif eksploratif dan eksperimen. Metode deskriptif bertujuan untuk mengetahui suatu objek secara relatif. Metode eksploratif merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mengumpulkan data-data awal yang berhubungan (Irawan, 2007). Metode eksploratif adalah penelitian yang ditujukan untuk mencari secara luas tentang

sebab atau hal yang mempengaruhi terjadinya suatu hal (Arikunto, 2006). Sedangkan metode eksperimen menurut Wibisono (2003) merupakan rangkaian aktivitas untuk memanipulasi variabel-variabel dalam sebuah penelitian dengan menjaga agar beberapa variabel yang lain tetap memiliki nilai konstan.

3.2.2 Variabel

Segala sesuatu yang menjadi objek pengamatan penelitian disebut variabel. Variabel dalam penelitian terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu jenis pelarut yang berbeda. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini yaitu nilai total fenol. Menurut Wibisono (2003) dalam sebuah eksperimen, variabel bebas dimanipulasi dan efeknya terhadap variabel lainnya (variabel tak bebas) diukur.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 3 ulangan 6 perlakuan. Ekstrak *Sargassum echinocarpum* dimaserasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan etanol (polar). Tabel rancangan penelitian akan disajikan di Tabel 4:

Tabel 4. Rancangan Penelitian

Perlakuan Jenis Pelarut	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
N-heksan Tunggal (A)					
Etil asetat Bertingkat (B)					
Etanol Bertingkat (C)					
Etanol Tunggal (D)					
Etil Asetat Bertingkat (E)					
N-heksan Bertingkat (F)					

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi

Sebanyak 150 g serbuk rumput laut *Sargassum echinocarpum* dilarutkan dalam 600 mL salah satu pelarut yang akan digunakan yaitu etanol, n-heksan, etil asetat (1 : 4 b/v). Kemudian didiamkan selama 24 jam dan disaring sehingga didapatkan ekstrak dan ampas. Ekstrak yang masih mengandung pelarut dipisahkan dengan pelarutnya dengan cara penguapan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Sisa pelarut dihilangkan dengan gas nitrogen sehingga didapat ekstrak kental.

Sebanyak 150 gram serbuk rumput laut *Sargassum echinocarpum* dilarutkan dalam 600 mL heksana (1 : 4 b/v), didiamkan selama 24 jam dan selanjutnya disaring sehingga akan didapatkan ekstrak dan ampas. Ampas diekstrak kembali dengan etil asetat dan disaring. Dengan cara yang sama ampas diekstrak kembali berturut-turut dengan etanol. Ekstrak yang dihasilkan masing-masing pelarut dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Prinsip dari ekstraksi adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan pelarut tertentu. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan cara menyatukan bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut

selama waktu tertentu dan diikuti dengan pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak (Septiana dan Asnani, 2013).

3.4.2 Skrining fitokimia

a. Alkaloid (Harborne, 1987)

Sampel sebanyak ± 1 mL dicampur dengan 1 mL kloroform dan 1 mL amoniak dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, kemudian tiap tabung reaksi ditambahkan 3 tetes asam sulfat 2N, kocok dan diamkan beberapa menit hingga terpisah. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes pereaksi meyer, wagner, dan dragendorff. Terbentuknya endapan jingga, cokelat, dan putih pada masing masing hasil uji menunjukkan adanya alkaloid.

b. Flavonoid

Sampel sebanyak 1 mg sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,5 mg dan 0,40 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

c. Saponin

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok selama 10 detik secara vertikal, kemudian dibiarkan 10 menit dan ditambahkan HCl sebanyak 3 tetes. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin.

d. Tanin (Harborne, 1987)

Sampel sebanyak ± 1 mL ditambahkan beberapa tetes (2-3 tetes) FeCl_3 1% dan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin.

e. Triterpenoid/steroid (Harborne, 1987)

Sampel sebanyak ± 1 mL dicampur dengan 3 mL kloroform atau 3 mL etanol 70% dan ditambah 2 mL asam sulfat pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat. Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid atau terbentuknya warna merah kecoklatan pada antar permukaan menunjukkan adanya triterpenoid.

f. Total Fenol

Penetapan kandungan total senyawa fenolat ini dilakukan berdasarkan metode Folin- Ciocalteu. Sampel *Sargassum echinocarpum* sebanyak 1 mg ditimbang teliti dan dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Campuran tersebut disaring, dan filtratnya dipipet 1,0 mL kemudian ditambahkan dengan reagen folin 0,8 mL, dimasukkan pada labu ukur 10 mL. Setelah itu campuran tersebut dikocok. Selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 5% sampai tanda batas, sehingga volume total larutan menjadi 10 mL. Larutan didiamkan selama 60 menit, dan serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Konsentrasi senyawa fenolat dalam sampel dapat ditentukan dengan mengalurkan absorbansi sampel pada kurva kalibrasi.

g. Asam Galat

Larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0; 0,2; 0,4; 0,8; dan 0,16 mL masing-masing ditambahkan dengan reagen *folin* sebanyak 0,8 mL, dimasukkan pada labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 5% hingga tanda batas, sehingga menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi 0; 2; 4; 8; dan 16 ppm. Masing-masing larutan didiamkan selama 60 menit, dan serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum. Dengan mengalurkan absorbansi terhadap konsentrasi, dapat diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = bx+a$.

3.4.3 GC-MS

Pada analisis GC-MS ini menggunakan mesin GCMS Agilent Technologies 5975C inert MSD with Triple-Axis Detector. Tahap pertama yang harus dilakukan untuk menggunakan GC-MS adalah melakukan preparasi sampel. Sampel harus dalam keadaan larutan untuk diinjeksikan ke dalam kromatografi GC-17A *Agilent 5890 series II Plus*. Prinsip uji GC-MS yaitu untuk mengetahui kandungan zat yang terdapat pada sampel. Begitu juga menurut Astuti (2006), bahwa dari kromatogram GC-MS akan diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi dan dari spektra GC-MS akan diperoleh informasi struktur senyawa yang terdeteksi. Syarat sampel uji tidak boleh mengandung air, hal tersebut dikarenakan air dapat merusak kolom karena diameter kolom yang relatif kecil.

Langkah kedua adalah menginjeksikan sampel sebanyak 1 μL ke dalam kolom kapiler Hp 5MS melalui *heated injection port*. Kemudian sampel dibawa oleh gas pembawa yaitu helium dengan laju alir sebesar 1 mL/min, melewati kolom kapiler kemudian dipanaskan dalam oven yang bertujuan untuk mempermudah proses pemisahan komponen sampel. Panjang kolom yang digunakan pada alat GC-MS ini sepanjang 30 m, fase diamnya adalah kepolaran sampel sedangkan fase geraknya adalah gas pembawa yaitu helium. Suhu injektor GC ditetapkan 295°C sehingga suhu oven ditetapkan 70°C untuk 2 menit pertama kemudian meningkat sebesar 10°C/menit sampai 150°C selama 2 menit selanjutnya dan meningkat lagi sebesar 10°C sampai 295°C selama 31,5 menit.

Dalam kromatografi gas, pemisahan terjadi ketika sampel diinjeksikan ke dalam fase gerak. Fase gerak yang biasa digunakan adalah gas inert seperti Helium. Fase gerak membawa sampel melalui fase diam yang ditempatkan dalam kolom. Sampel dalam fase gerak berinteraksi dengan fase diam dengan kecepatan yang berbeda-beda. Saat terjadi interaksi, yang tercepat akan keluar dari kolom lebih dulu, sementara yang lambat keluar paling akhir. Komponen-

komponen yang telah terpisah kemudian menuju detektor. Detektor akan memberikan sinyal yang kemudian ditampilkan dalam komputer sebagai kromatogram. Setelah itu dicocokkan dengan senyawa yang terdapat dalam pustaka C:\Database\W9N11.L



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi *Sargassum echinocarpum*

Pada skrining fitokimia *Sargassum echinocarpum*, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel, yaitu *Sargassum echinocarpum* yang telah dihaluskan, dicampurkan kedalam suatu pelarut. Pelarut yang digunakan dalam penelitian adalah etanol, etil asetat, dan n-heksan. Dilakukan secara bertingkat mulai dari n-heksan yang kemudian ekstrak dari larutan n-heksan diskriming fitokimianya, ampas tersebut kemudian dituangkan etil asetat setelah itu ekstraknya diskriming fitokimianya, kemudian ampas tersebut dituangkan larutan etanol dan diskriming fitokimianya pada ekstrak tersebut. Dilakukan ekstraksi kedua dengan membalik larutan dari mulai etanol sampai n-heksan. Menurut Afriani *et al.* (2014), maserasi ialah proses penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik. Ditambahkan juga oleh Chasani *et al.* (2013), bahwa keuntungan metode maserasi yaitu mampu mengurangi rusaknya senyawa yang terkandung dalam sampel akibat pemanasan dan tidak memerlukan alat khusus. Metode ini sangat sederhana namun mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya dengan menggunakan pelarut tertentu.

4.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa sebagian besar metodenya merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Cara ini merupakan tahap awal yang dapat membantu untuk memberikan hasil tentang golongan senyawa apa yang terkandung dalam sampel yang diteliti. Ditambahkan juga oleh Afriani

et al. (2014), bahwa skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keanekaragaman dari jenis metabolit sekunder. Golongan metabolit sekunder ditentukan dengan melihat perubahan warna sesuai pereaksi yang digunakan, pengendapan serta pembentukan busa. Berikut merupakan hasil skrining fitokimia pada *Sargassum echinocarpum* yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia pada Ekstrak *Sargassum echinocarpum*.

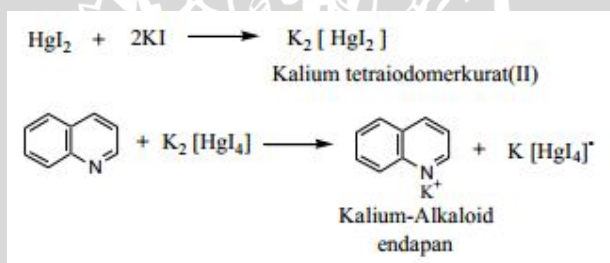
Uji	Pelarut						Keterangan
	A	B	C	D	E	F	
Triterpenoid / Steroid	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	(+) terbentuk warna merah atau ungu (+) terbentuk warna hijau atau biru
Tanin	-	-	+	-	-	-	(+) terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua
Saponin	-	-	-	-	+	-	(+) terdapat busa
Flavonoid	-	+	+	+	-	-	(+) terbentuk warna merah, jingga, kuning
Alkaloid							
- Mayer	+	-	+	-	-	-	(+) terbentuk endapan putih
- Wagner	-	-	-	-	-	-	(+) terbentuk endapan coklat
- Dragendorf	-	-	+	+	-	-	(+) terbentuk endapan jingga

Keterangan : A : Ekstrak pelarut n-heksan
 B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan
 C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat
 D : Ekstrak pelarut etanol
 E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol
 F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

4.2.1 Alkaloid

Pada hasil penelitian identifikasi senyawa bioaktif ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum*, diketahui bahwa pada sampel ini positif mengandung senyawa alkaloid. Pada uji alkaloid dengan menggunakan reagen mayer ekstrak *Sargassum echinocarpum* pelarut n-heksan (A) dan etanol (C) positif mengandung senyawa alkaloid yang diketahui dengan indikator warna putih. Dijelaskan oleh Suwandri (2009), larutan sampel ditambah dengan pereaksi

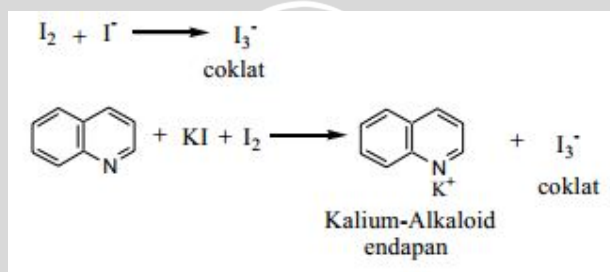
mayer selanjutnya ditambah beberapa tetes asam. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan timbulnya endapan putih sampai kekuningan. Ditambahkan oleh Marlina *et al.* (2005), bahwa hasil positif alkaloid pada uji mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri(II) iodida. Kalium iodida yang ditambahkan akan terbentuk menjadi kalium tetraiodomerkurat(II). Kemudian nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji alkaloid reagen mayer ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi Uji Mayer (Marlina *et al.*, 2005)

Pada uji alkaloid dengan menggunakan reagen wagner ekstrak *Sargassum echinocarpum* pada semua larutan yaitu n-heksan (A); etil asetat (B); etanol (C); etanol (D); etil asetat (E); n-heksan (F) menunjukkan hasil negatif dimana pada larutan tersebut tidak timbul indikator warna coklat. Dijelaskan pada penelitian Nafisah *et al.* (2014), bahwa sebanyak 1 mL ekstrak kental tanaman patikan kebo (*Euphorbiae hirtae*) dari pelarut metanol, heksan, kloroform masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 mL asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Tabung reaksi ditambah 1 tetes

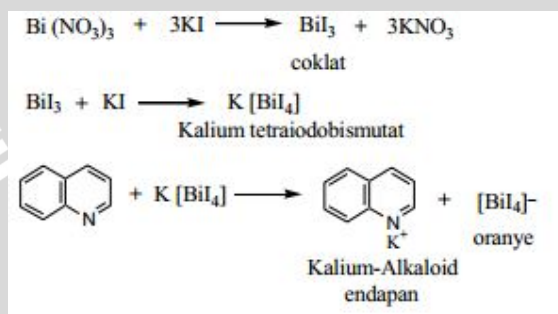
pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan coklat menandakan adanya alkaloid. Ditambahkan juga oleh Marlina *et al.* (2005), jika pada uji alkaloid pereaksi wagner diperoleh hasil positif dengan ditandai terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning maka endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi wagner, iodine bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat. Ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji alkaloid reagen wagner ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi Uji Wagner (Marlina *et al.*, 2005)

Sedangkan, pada uji alkaloid dengan menggunakan reagen dragendorff ekstrak *Sargassum echinocarpum* pelarut etanol (C) dan etanol (D) memperoleh hasil positif. Hal ini ditunjukkan dengan indikator warna jingga. Ditambahkan juga oleh Putranti (2013), uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N kemudian diuji dengan pereaksi alkaloid yaitu pereaksi dragendorff. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga dengan pereaksi dragendorff. Ditambahkan oleh Marlina *et al.* (2005), bahwa hasil positif alkaloid pada uji dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi dragendorff agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambahkan asam sehingga kesetimbangan

akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi yang terjadi pada uji alkaloid reagen dragendorf ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Uji Dragendorf (Marliana *et al.*, 2005)

Menurut Santi *et al.* (2008), prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial [kalium tetraiodobismutat (III)]. Pereaksi Wagner mengandung iodo dan kalium iodida. Sedangkan pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida [kalium tetraiodomerkurat (II)].

4.2.2 Triterpenoid atau Steroid

Pada uji triterpenoid atau steroid pada ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* di dapat hasil positif steroid pada semua larutan, yaitu larutan n-heksan (A); etil asetat (B); etanol (C); etanol (D); etil asetat (E) dan n-heksan (F) hal itu ditunjukkan dengan warna indikator hijau. Pada penelitian Nafisah *et al.* (2014), bahwa sebanyak 1 mL ekstrak kental tanaman patikan kebo (*Euphorbiae*

hirtae) dari pelarut metanol, heksan, kloroform masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid. Menurut Sangi *et al.* (2008), analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat dalam pelarut anhidrida asam asetat. Hasil positif diberikan pada sampel yang membentuk warna merah jingga untuk analisis triterpenoid dan biru untuk analisis steroid.

4.2.3 Saponin

Pada uji saponin pada ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* pelarut n-heksan (E) memperoleh hasil positif. Hal ini timbul dengan terbentuknya busa atau buih. Pada penelitian Sangi *et al.* (2008), menambahkan bahwa sebanyak 2 g sampel tumbuhan yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah air suling sehingga seluruh cuplikan terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil. Timbulnya buih menunjukkan adanya glikosida dalam ekstrak tersebut yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Nafisah *et al.*, 2014).

4.2.4 Flavonoid

Pada uji flavonoid ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* pada pelarut etil asetat (B) positif mengandung flavonoid dengan indikator warna jingga; pelarut etanol (C) positif mengandung flavonoid dengan indikator warna jingga tua dan pelarut etanol (D) menunjukkan hasil positif juga dengan indikator warna kuning. Seperti yang terjadi pada penelitian Nafisah *et al.* (2014), bahwa sebanyak 1 ml ekstrak kental tanaman patikan kebo (*Euphorbiae hirtae*) dari

pelarut metanol, heksan, kloroform masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan pita Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid. Warna merah yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium (Sangi *et al.*, 2008).

4.2.5 Tanin

Pada uji tanin ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* diperoleh hasil positif mengandung senyawa tanin pada pelarut etanol (C) dengan indikator warna hijau. Hal ini ditambahkan oleh Sangi *et al.* (2008), sebanyak 20 mg sampel tumbuhan yang telah dihaluskan, ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 mL larutan dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau. Pada saat penambahannya diperkirakan FeCl_3 bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tannin. Hasil reaksi itulah yang akhirnya menimbulkan warna.

4.3 Uji Total Fenol Ekstrak Sampel *Sargassum echinocarpum*

Senyawa fenol atau yang biasa disebut senyawa fenolik merupakan senyawa yang termasuk senyawa bioaktif. Ditambahkan oleh Djapiala *et al.*, (2013) bahwa pengujian total fenol bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel yang diuji. Senyawa – senyawa fenol ditemukan dalam berbagai organisme, mulai dari mikroorganisme sampai pada tumbuhan dan hewan.

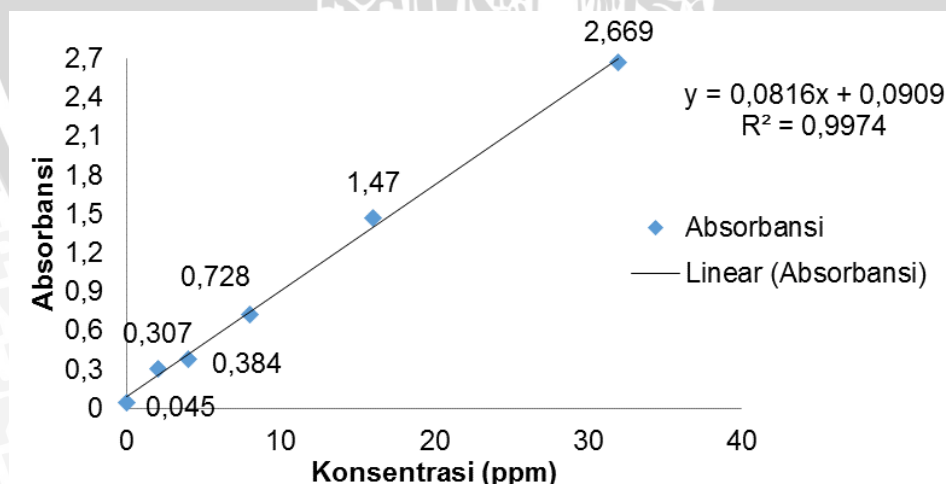
Analisa total fenol diawali dengan membuat kurva kalibrasi asam galat sebagai standar total fenol. Dibenarkan juga oleh Djapiala *et al.* (2013), bahwa dilakukan terlebih dahulu uji asam galat yaitu untuk mengetahui kurva standar untuk uji total fenol. Konsentrasi larutan standar asam galat yang digunakan yaitu 0, 2, 4, 8, 16, dan 32 ppm yang kemudian larutan asam galat ini diukur serapannya pada spektrofotometer *UV-Visible* dengan panjang gelombang 760 nm. Hasil pengujian larutan asam galat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6 . Hasil Uji Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0,045
2	0,307
4	0,384
8	0,728
16	1,47
32	2,669

Sumber : Data Penelitian

Dari hasil pengujian absorbansi asam galat diperoleh persamaan kurva standar adalah sebagai berikut: $y = 0,0816x + 0,0909$ dengan koefisien korelasi (R^2) = 0,9974. Kurva kalibrasi standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 5.

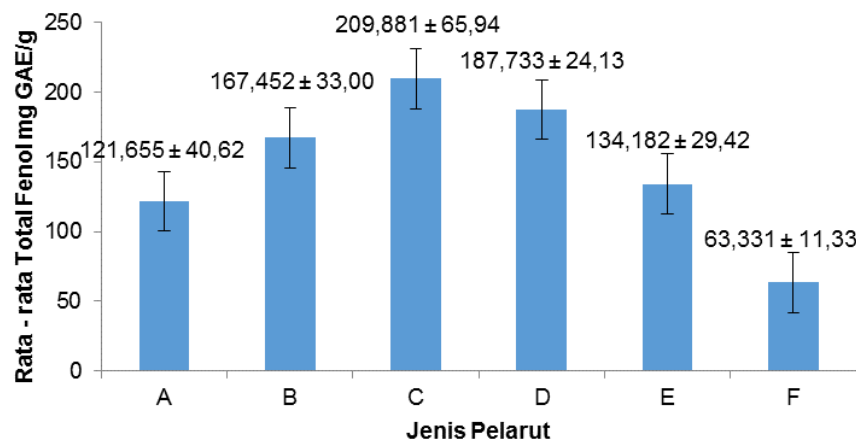


Gambar 5. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Kemudian setelah diperoleh kurva kalibrasi asam galat dan persamaan regresinya, dilakukan perhitungan nilai konsentrasi dengan disubstitusikan hasil absorbansi analisa total fenol ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* ke dalam persamaan garis pada kurva standar asam galat tersebut. Perhitungan nilai konsentrasi ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* dapat dilihat pada lampiran 10. Setelah dihitung nilai konsentrasinya, maka dihitung nilai kadar total fenol ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* dengan mensubstitusikan pada rumus :

$$\text{Total Fenol} = \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fx} \times 10^3 \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^3 \text{ (g/mg)}}$$

Perhitungan nilai kadar total fenol ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* dapat dilihat pada lampiran 11. Hasil perhitungan yang dihasilkan dinyatakan dengan satuan mg GAE/g (Gallic Acid Equivalent). Hal ini ditambahkan juga oleh Samin *et al.* (2013), bahwa kandungan fenolik total pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan. Kemudian diperoleh nilai rata – rata total fenol dan hasil tertinggi sampai hasil terendah dari masing – masing pelarut pada ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* yang dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Rata – rata Total Fenol Ekstrak Sampel *Sargassum echinocarpum*

Dapat dilihat berdasarkan grafik rata – rata nilai total fenol ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* bahwa kandungan total fenol tertinggi didapat pada pelarut Etanol (C) sebesar 209,881 mg GAE/g sampel, sedangkan kandungan total fenol terendah adalah pada pelarut N-heksan (F) sebesar 63,331 mg GAE/g sampel. Hal ini dipengaruhi oleh pelarut pengekstrak. Tingginya kandungan total fenol pada ekstrak sampel dikarenakan sebagian besar senyawa fenol bersifat polar sehingga akan mudah larut pada pelarut polar yaitu etanol. Etanol adalah senyawa polar yang termasuk alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua atom hidrogen yang terikat dengannya juga. Reaksi kimia yang dijalankan oleh etanol kebanyakan berikatan pada gugus hidroksilnya (Utami, 2013). Sedangkan rendahnya kandungan total fenol pada ekstrak sampel dikarenakan pelarut yang digunakan ialah pelarut semi polar atau non polar. Dijelaskan pada penelitian Utami (2013) bahwa penelitian ini menggunakan 3 variasi pelarut yaitu pelarut non-polar (nHeksana), semi-polar(etil asetat) dan polar(etanol). Pemilihan pelarut ini berdasarkan sifat dari senyawa yang terdapat pada kapulaga yaitu minyak atsiri yang bersifat non-polar, dan senyawa fenol yang bersifat polar. Hal ini

ditambahkan oleh Dewi *et al.* (2012), bahwa pemilihan pelarut umumnya menggunakan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar.

Berdasarkan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf kepercayaan 5% ($P_{0,05}$) didapatkan hasil $f_{hitung} > f_{tabel}$, artinya perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pada setiap perlakuan. Hasil ANOVA (*Analysis of Variance*) dari nilai total fenol ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Tabel 7 dan perhitungan *Analysis of Variance* (ANOVA) dapat dilihat pada Lampiran 12.

Tabel 7. Nilai Total Fenol Ekstrak *Sargassum echinocarpum*

Perlakuan	Rata-rata
A	121,655 ± 40,62 ^b
B	167,452 ± 33,00 ^c
C	209,881 ± 65,94 ^d
D	187,733 ± 24,13 ^c
E	134,182 ± 29,42 ^b
F	63,331 ± 11,33 ^a

Sumber: Pengolahan Data

Dari uji BNT diperoleh hasil pada uji total fenol bahwa perlakuan C (etanol) memberikan pengaruh nyata terhadap perlakuan D (etanol), perlakuan A dan F (n-heksan) serta perlakuan B dan E (etil asetat). Pada perlakuan A (n-heksan) memberikan pengaruh tidak nyata terhadap perlakuan E (etil asetat) tetapi memberikan pengaruh nyata terhadap perlakuan F (n-heksan), perlakuan B (etil asetat) serta perlakuan C dan D (etanol). Kemudian pada perlakuan B (etil asetat) memberikan pengaruh tidak nyata terhadap perlakuan D (etanol) tetapi memberikan pengaruh nyata terhadap perlakuan C (etanol), perlakuan E (etil asetat) serta perlakuan A dan F (n-heksan).

4.4 GC-MS

Setelah diperoleh pelarut dengan hasil uji total fenol tertinggi yaitu ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C), maka dilakukan analisa dengan menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrophotometric (GC-MS). Analisa ini bertujuan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat pada pelarut dengan hasil uji total fenol tertinggi tersebut.

Terdapat satu senyawa pada tiga waktu retensi yang berbeda yang terdeteksi di puncak hasil analisa GC-MS, yaitu senyawa 1,2-Benzenedicarboxylic acid (2-ethylhexyl) ester (CAS) atau nama lainnya Di-n-octyl phthalate 1,2- Benzen edicarboxylic acid. Senyawa tersebut terdeteksi pada *retention time* 24,124 dengan luas area sebesar 50,25%. Kemudian terdeteksi kembali pada *retention time* 24,152 dengan luas area sebesar 10,26% dan terakhir terdeteksi pada *retention time* 24,181 dengan luas area 12,32%.

Kemudian senyawa tertinggi kedua yang muncul ialah senyawa Hexanedioic acid, bis (2-ethylhexyl) ester. Senyawa tersebut terdeteksi pada *retention time* 22.756 dengan luas area sebesar 6,76%. Selanjutnya senyawa tertinggi ketiga yang muncul ialah senyawa Neophytadiene 7,11,15-Trimethyl. Senyawa tersebut terdeteksi pada *retention time* 17,309 dengan luas area sebesar 4,17%.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dengan judul Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat *Sargassum echinocarpum* dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- Senyawa fitokimia yang terkandung pada ekstrak alga coklat *Sargassum echinocarpum* antara lain : pada pelarut n-heksan (A) positif mengandung senyawa fitokimia alkaloid (reagen mayer) dan senyawa steroid. Pada pelarut etil asetat (B) positif mengandung senyawa fitokimia flavonoid dan senyawa steroid. Pada pelarut etanol (C) positif mengandung senyawa fitokimia alkaloid (reagen mayer dan dragendorf), senyawa flavonoid, senyawa tanin dan senyawa steroid. Pada pelarut etanol (D) positif mengandung senyawa fitokimia alkaloid (reagen dragendorf), senyawa flavonoid dan senyawa steroid. Pada pelarut etil asetat (E) positif mengandung senyawa fitokimia saponin dan senyawa steroid. Selanjutnya pada pelarut n-heksan (F) positif mengandung senyawa fitokimia steroid.
- Senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak alga coklat *Sargassum echinocarpum* dengan metode GCMS yaitu senyawa 1,2-Benzenedicarboxylic acid (2-ethylhexyl) ester (CAS) atau nama lainnya Di-n-octyl phthalate 1,2- Benzen edicarboxylic acid, kemudian senyawa Hexanedioic acid, bis (2-ethylhexyl) ester dan senyawa Neophytadiene 7,11,15-Trimethyl.

5.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya menggunakan ekstrak sampel *Sargassum echinocarpum* berupa senyawa murni dalam pengujian skrining fitokimia sehingga dapat dijadikan acuan dari penelitian yang sudah ada.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR PUSTAKA

- Absori, M. U. dan S. B. U. Paramitha. 2011. Tugas Perancangan Pabrik Etil Asetat dengan Reactive Distillation Kapasitas 30.000 Ton per Tahun. Skripsi. 48 hlm.
- Afriani S., I. Nora, D. Lia dan A. Lucy. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Daging Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) dengan Metode DPPH dan Tiosianat. JKK **3**(1): 49-56 hlm.
- Aksara, R., W.J.A. Musa, dan L. Alio. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Magga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi VIII* (1): 514-516 hlm.
- Anggraini, D.T., P. Riesta dan Isnaeni. 2013. Validasi Metode Kromatografi Gas-Spektrometri Massa untuk Penetapan Kadar Residu Endosulfan dalam Kubis. *Jurnal Kimia Farmasi* **3**(1): 23-31 hlm.
- Arikunto, S. 2006. Prosedur Penelitian Suatu Pendekata Pratik. Ed Revisi VI. Pt. Riheka Cipta. Jakarta.
- Assagaf, M., H. Pudji, H. Chusnul dan Supriyadi. 2012. Perbandingan Ekstraksi Oleoresin Biji Pala (*Myrictica Fragrans* Hoult) Asal Maluku Utara Menggunakan Metode Maserasi dan Gabungan Distilasi Maserasi. *Jurnal Agritech* **32**(3): 132-145 hlm.
- Astuti, M. S. 2006. Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Umbi Teki. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* **13**(2):126-136 hlm.
- Atmadja, W.S., A. Kadi., Sulistijo dan R. Satari. 1996. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi LIPI. Jakarta. <http://www.sith.itb.ac.id/herbarium/index.php?c=herbs&view=detail&spid=229713>. Diakses pada tanggal 1 April 2015 pukul 13.57 WIB.
- Bachtar, S. Y., W. Tjahjaningsih dan N. Sianita. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum* sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Journal of Marine and Coastal Science* **1** (1): 53-60 hlm.
- Chasani, M., R. B. Fitriaji., Purwati. 2013. Fraksinasi Ekstrak Matanol Kulit Batang Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) dan Uji Toksisitasnya dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Molekul* **8** (1): 89-100 hlm.
- Dewi, I. D., K. W. Astuti., N. K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcenia mangostana* L.). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali. 7 hlm.
- Djapiala, F. Y., A.D.Y. Lita, Montolalu dan M. Feny. 2013. Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut (*Caulerpa racemosa*) yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* **3** (1): 289-296 hlm.

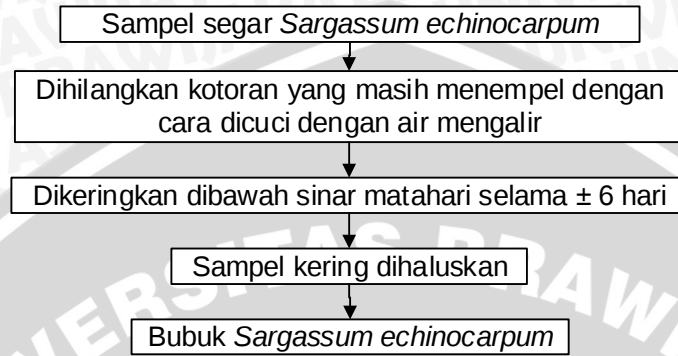
- Firdaus, M., M. Astawan., D. Muchtadi., T. Wresdiyati. 2012. Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Rumput Laut Coklat *Sargassum echinocarpum*. *JPHP1* **15** (2): 148-155 hlm.
- Handayani, T., Sutarno., dan A. D. Setyawan. 2004. Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh. *Biofarmasi* **2** (2): 45-52 hlm.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. Mc-Gaw. New York.
- Irawan, P. 2007. *Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif untuk Ilmu-Ilmu Sosial*. DIA. Jakarta
- Kastianti, N. dan Z.Q. Amalia. 2008. Pengambilan Minyak Atsiri Kulit Jeruk dengan Metode Ekstraksi Distilasi Vakum. Skripsi. 47 hlm.
- Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya.
- Limantara, L. dan Heriyanto. 2011. Optimasi Proses Ekstraksi Fukosantin Rumput Laut Coklat *Padina australis* Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar. *Jurnal Ilmu Kelautan* **16** (2): 86-94 hlm.
- Longo G. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre for Science And High Technology.
- Marliana, S. D., V. Suryanti dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Farmasi Biofarmasi*. **3**(1): 26-31 hlm.
- Munawaroh, S dan A. H. Prima. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* **2** (1): 73-78 hlm.
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno dan N. Hidayati. 2014. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. 279-286 hlm.
- Pamungkas, T. A., A. Ridlo., Sunaryo. 2013. Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Kualitas Natrium Alginat Rumput Laut *Sargassum* sp. *Journal of Marine Research* **2** (3):78-84 hlm.
- Poncomulyo, T., M. Herti dan K. Lusi. 2006. *Budi Daya dan Pengolahan Rumput Laut*. PT. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Purnomo , I., D. Lusiana dan S. Slamet. 2004. Efektivitas Infusa Kayu Ules (*Helicteres isora* L) sebagai Obat Hipnotik Sedatif . *JKM* **3**(2): 23-41 hlm.

- Putranti, R. I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. Tesis. 104 hlm.
- Rahayu, S. S. 2009. Ekstraksi. [http://www.chemistry.org/materikimia /kimia_ industri/ ekstraksi/](http://www.chemistry.org/materikimia/kimia_industri/ekstraksi/) Diakses pada tanggal 30 Mei 2015.
- Rosida, J. 2002. Uji Saponin dalam Lidah Buaya, Limbah Buah Mengkudu dan Daun Mimba. Temu Teknis Fungsional Non Penelitian: 70-76 hlm.
- Sahat, H. J. 2013. *Rumput Laut Indonesia*. Kementrian Perdagangan. 1-20 hlm.
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene, H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Chem. Prog.* 1 (1): 47-53 hlm.
- Sastry dan Rao. 1994. *Antibacterial Substance From Marine Algae*. Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol. Department of Biochemistry, Institute of Medical Science, Banaras Hindu University. India.
- Satria, M.D., S. Rafika dan W. Sri. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Skripsi. 68 hlm.
- Science Lab. 2013. Material Safety Data Sheet Ethyl Acetate MSDS. Chemicals and Laboratory Equipment.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses* 5 (2): 75-80 hlm.
- Septiana, A.T. dan A. Asnani. 2013. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal Agointek* 6 (1): 22-28 hlm.
- Siregar, A.F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research* 1 (2): 153-160 hlm.
- Sjahid, L.R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). Skripsi. 52 hlm.
- Suharti, S., D.A Astuti dan E. Wina. 2009. Kecernaan Nutrien dan Performa Produksi Sapi Potong Peranakan Ongole (PO) yang Diberi Tepung Lerak (*Sapindus rarak*) dalam Ransum. *JITV* 14 (3): 200-207 hlm.
- Sukmajaya, A.P.T, N.M. Puspawati, dan A. A. Bawa Putra. 2012. Analisis Kandungan Minyak Atsiri Daun Tenggulun (*Protium Javanicum* Burm.F.) Dengan Metode Kromatografi Gas Spektroskopi. *Journal Chemistry* 3(2): 178-186 hlm.

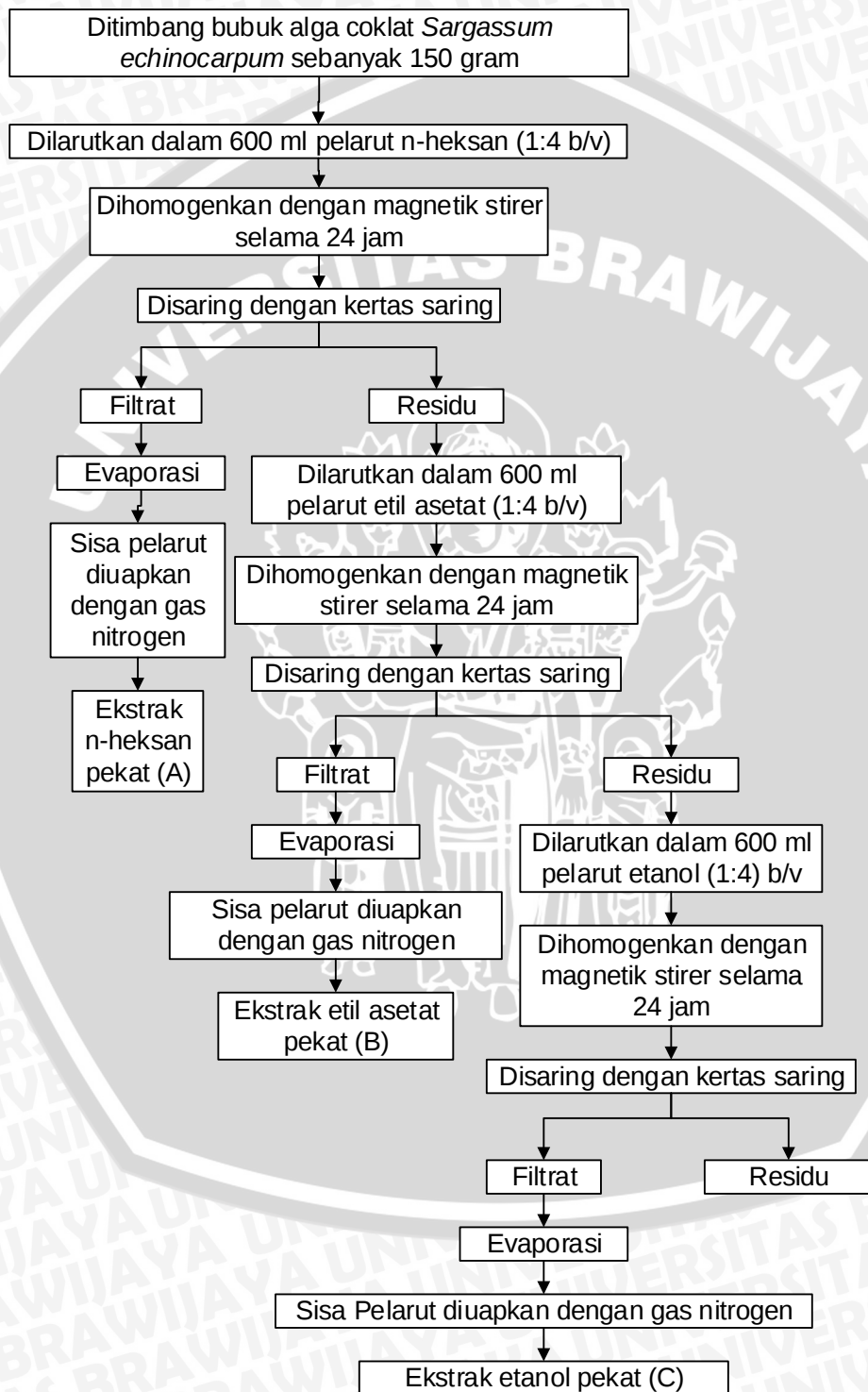
- Suwandri H. D. 2009. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antikanker Ekstrak Kulit Batang (*Rhizopora mucronata*) Serta Uji Toksisitasnya Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). Fakultas Sains dan Teknik Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Trono, G.C., and E. T. G. Fortes. 1988. *Philippine Seaweeds*. National Book Store, Inc. Manila.
- Tukiran., Suyatno., dan N. Hidayati. 2014. Skrining Fitokimia pada Beberapa Ekstrak dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff.). Prosiding Seminar Nasional Kimia.235-244 hlm.
- Uji, A. 2014. *Mengambil Manfaat Dari Hewan dan Tumbuhan Laut*. Mitra Edukasi Indonesia. Bandung.
- Wibowo, A., A. Ridlo dan S. Sedjati. 2013. Pengaruh Suhu Ekstraksi terhadap Kualitas Alginat Rumput Laut *Turbinaria* sp. dari Pantai Krakal, Gunung Kidul-Yogyakarta. *Journal Of Marine Research* **1** (1): 50-55 hlm.
- Winarno, F.G. 1996. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Wiratmaja I. G., B. W. K. Gusti dan S. W. Nyoman. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottonii* sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Mesin Cakram* **5** (1): 75-84 hlm.
- Yunianto, H.P., I. Widowati dan O.K. Radjasa. 2014. Skrining Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum plagyophyllum* dari Perairan Bandengan Jepara Terhadap Bakteri Patogen *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Marine Research* **3** (3): 165-172 hlm.

LAMPIRAN

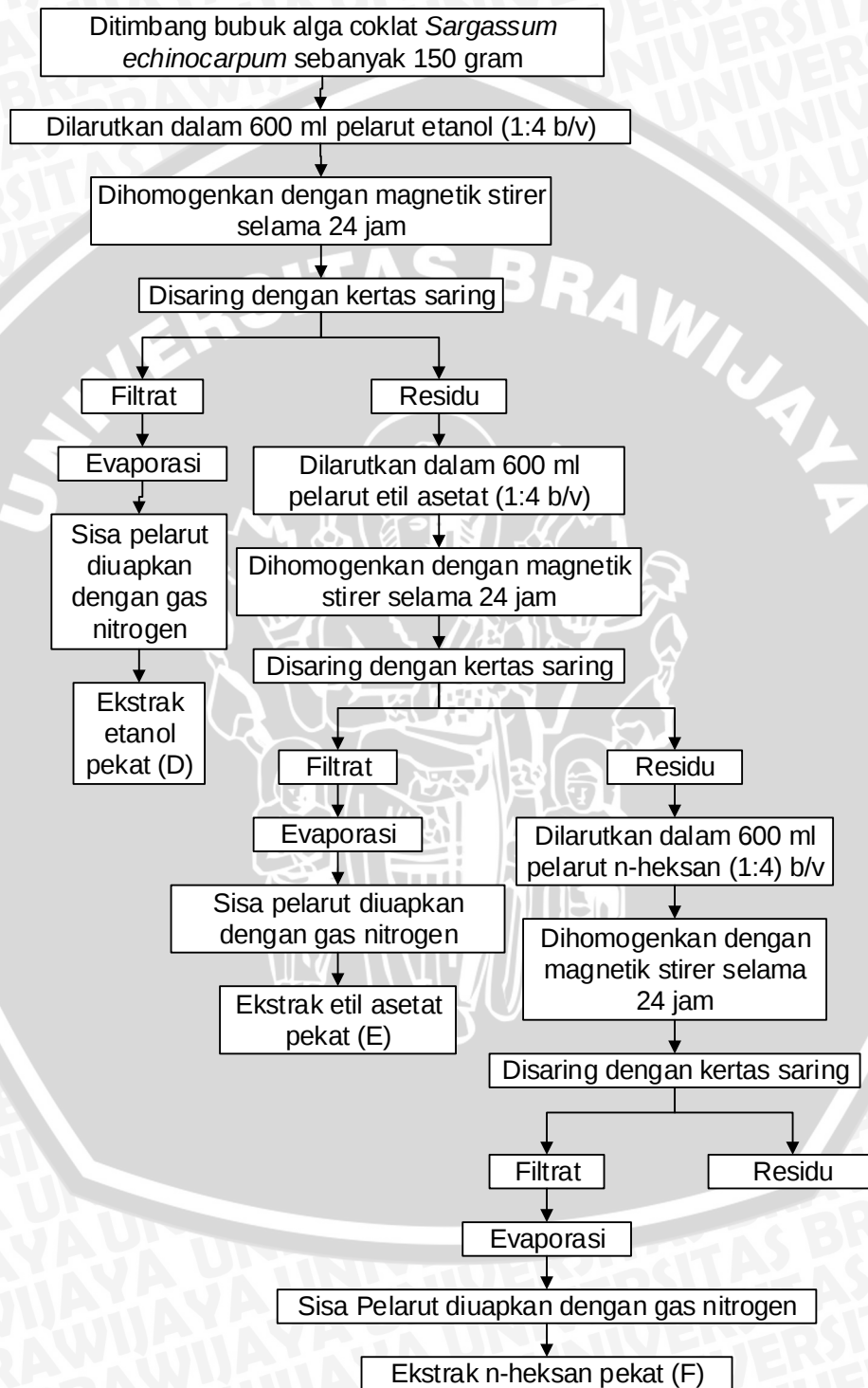
Lampiran 1. Skema Kerja Pembuatan Serbuk Alga Coklat

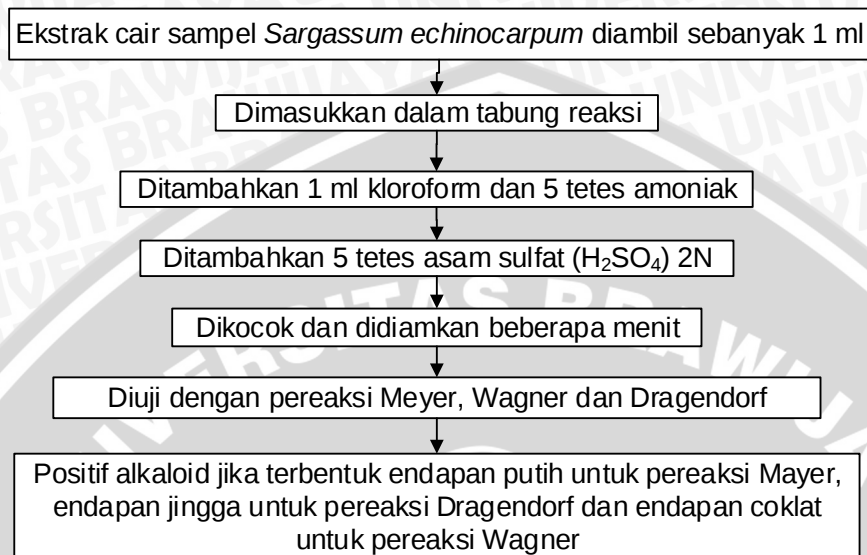
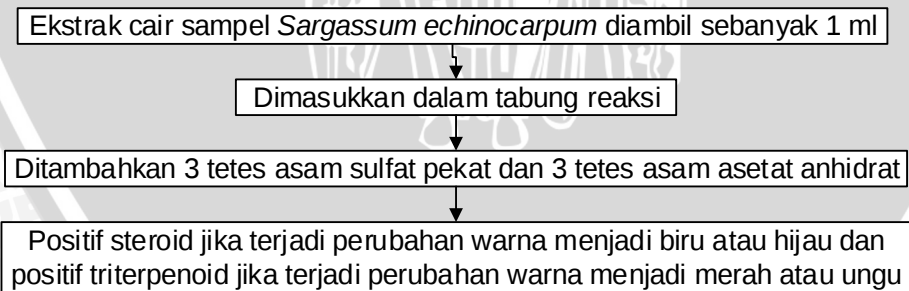


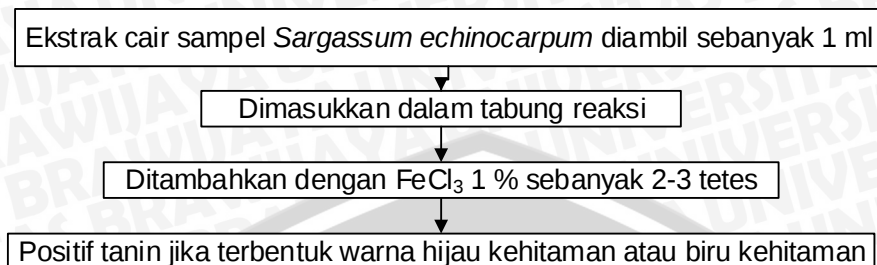
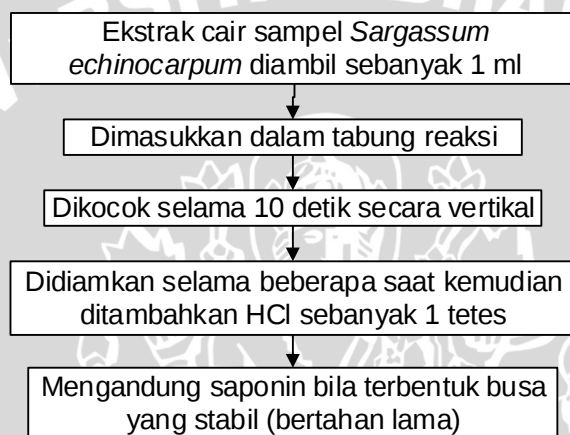
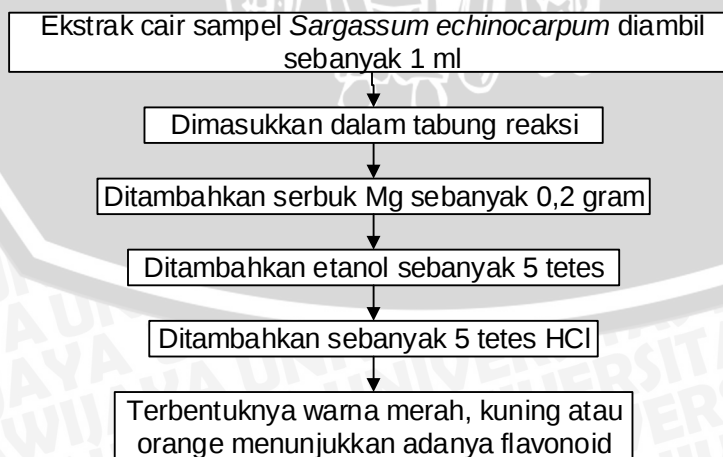
Lampiran 2. Skema Kerja Proses Ekstraksi Bertingkat dari Pelarut Non Polar ke Polar (Modifikasi Septiana dan Asnani, 2012 dengan Baihakki et al., 2015)

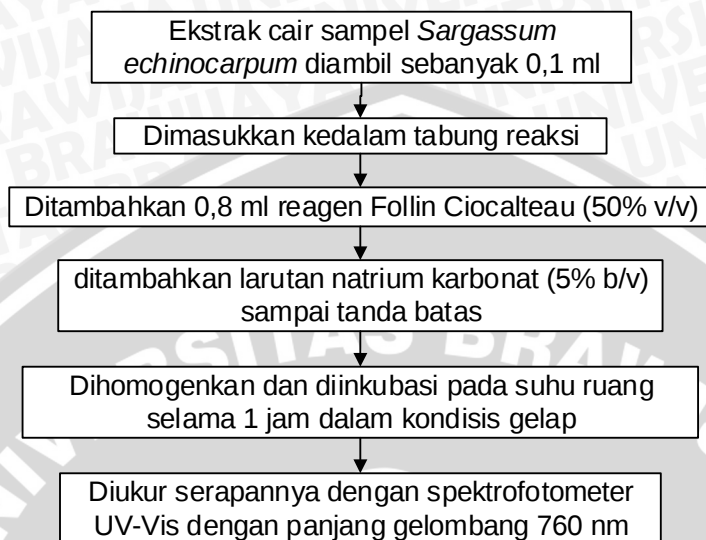
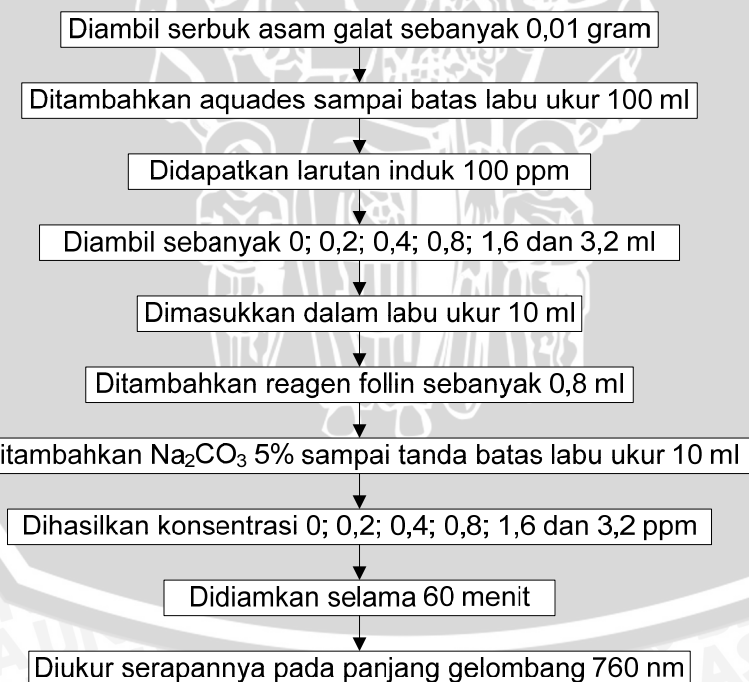


Lampiran 3. Skema Kerja Proses Ekstraksi Bertingkat dari Pelarut Polar ke Non Polar (Modifikasi Septiana dan Asnani, 2012 dengan Baihakki *et al.*, 2015)



Lampiran 4. Skema Kerja Proses Uji Alkaloid (Harborne, 1987)**Lampiran 5. Skema Kerja Proses Uji Triterpenoid/Steroid (Nafisah, 2014 dan Sangi et al., 2008)**

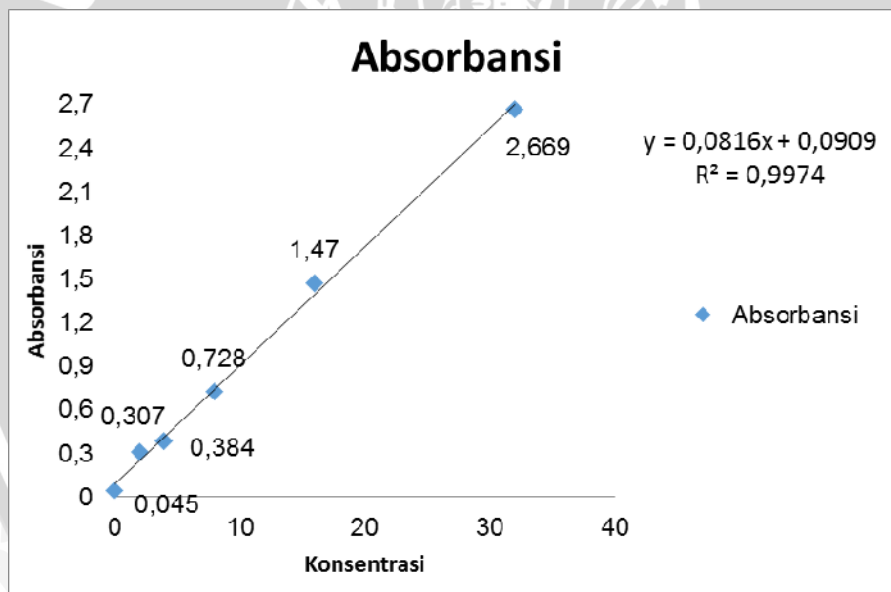
Lampiran 6. Skema Kerja Proses Uji Tanin (Harborne, 1987)**Lampiran 7. Skema Kerja Proses Uji Saponin (Harborne, 1987)****Lampiran 8. Skema Kerja Proses Uji Flavonoid (Nafisah, 2014 dan Sangi et al., 2008)**

Lampiran 9. Skema Kerja Proses Uji Total Fenol (Ratnayanti et al., 2012)**Lampiran 10. Skema Kerja Proses Uji Asam Galat (Ratnayanti et al., 2012)**

Lampiran 11. Perhitungan Konsentrasi Total Fenol

- Data Kurva Standart Asam Galat

Konsentrasi	Absorbansi
0	0,045
2	0,307
4	0,384
8	0,728
16	1,47
32	2,669



Data Hasil Analisa Total Fenol

Pelarut	Ulangan	Bobot Sampel (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)	Total Fenol Ekstrak (mg GAE/g)	Rata-rata Total Fenol (mg GAE/g)
A	1	0,09	0,667	7,060	78,445	121,655 ± 40,62
	2	0,09	1,259	14,315	159,055	
	3	0,09	1,027	11,472	127,465	
B	1	0,09	1,583	18,286	203,173	167,452 ± 33,00
	2	0,09	1,105	12,428	138,086	
	3	0,09	1,274	14,499	161,097	
C	1	0,09	2,186	25,675	285,278	209,881 ± 65,93
	2	0,09	1,288	14,669	162,989	
	3	0,09	1,423	16,324	181,378	
D	1	0,09	1,662	19,253	213,922	187,733 ± 24,13
	2	0,09	1,434	16,459	182,878	
	3	0,09	1,313	14,976	166,400	
E	1	0,09	1,296	14,768	164,093	134,182 ± 29,42
	2	0,09	0,864	9,474	105,270	
	3	0,09	1,069	11,987	133,184	
F	1	0,09	0,463	4,560	50,667	63,331 ± 11,33
	2	0,09	0,666	7,048	78,309	
	3	0,09	0,539	5,491	61,016	

- Konsentrasi Total Fenol

ULANGAN 1

A) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $0,667 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{0,667 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 7,060 \text{ ppm}$$

B) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,583 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,583 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 18,286 \text{ ppm}$$

C) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $2,186 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{2,186 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 25,675 \text{ ppm}$$

D) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,662 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,662 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 19,253 \text{ ppm}$$

E) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,296 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,296 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 14,768 \text{ ppm}$$

F) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $0,463 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{0,463 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 4,560 \text{ ppm}$$

ULANGAN 2

A) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,259 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,259 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 14,315 \text{ ppm}$$

B) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,105 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,105 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 12,428 \text{ ppm}$$

C) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,288 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,288 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 14,669 \text{ ppm}$$

D) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $1,434 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,434 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 16,459 \text{ ppm}$$

E) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $0,864 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{0,864 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 9,474 \text{ ppm}$$

F) $y = 0,0816x + 0,0909$
 $0,666 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{0,666 - 0,0909}{0,0816}$$

$$x = 7,048 \text{ ppm}$$

ULANGAN 3

A) $y = 0,0816x + 0,0909$

$1,027 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,027 - 0,0909}{0,0816}$$

$x = 11,472 \text{ ppm}$

B) $y = 0,0816x + 0,0909$

$1,274 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,274 - 0,0909}{0,0816}$$

$x = 14,499 \text{ ppm}$

C) $y = 0,0816x + 0,0909$

$1,423 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,423 - 0,0909}{0,0816}$$

$x = 16,324 \text{ ppm}$

D) $y = 0,0816x + 0,0909$

$1,313 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,313 - 0,0909}{0,0816}$$

$x = 14,976 \text{ ppm}$

E) $y = 0,0816x + 0,0909$

$1,069 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{1,069 - 0,0909}{0,0816}$$

$x = 11,987 \text{ ppm}$

F) $y = 0,0816x + 0,0909$

$0,539 = 0,0816x + 0,0909$

$$x = \frac{0,539 - 0,0909}{0,0816}$$

$x = 5,491 \text{ ppm}$

Lampiran 12. Perhitungan Nilai Kadar Total Fenol

$$\text{total fenol} = \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}}$$

ULANGAN 1

$$\begin{aligned} \text{A) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{7,060 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 78,446 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{18,280 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 203,173 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{26,676 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 286,278 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{19,263 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 213,922 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{E) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{14,798 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 164,423 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{4,580 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 50,887 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

ULANGAN 2

$$\begin{aligned} \text{A) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{14,316 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 159,066 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{12,428 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 138,088 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{14,689 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 162,989 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{16,469 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 182,878 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{E) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{9,474 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 105,270 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{7,048 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 78,309 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

ULANGAN 3

$$\begin{aligned} \text{A) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{11,472 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 127,466 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{14,499 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 161,097 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{16,324 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 181,378 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{14,976 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 166,400 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{E) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{11,987 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 133,184 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) total fenol} &= \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}} \\ &= \frac{6,491 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/ml}}{0,9 \text{ g} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 61,016 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

RATA-RATA TOTAL FENOL

$$\text{Rata-rata} = \frac{\text{ulangan 1} + \text{ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{3}$$

$$\begin{aligned}\text{A) Rata-rata} &= \frac{78.448 + 189.088 + 127.488}{3} \\ &= 121,665 \text{ mg GAE/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{B) Rata-rata} &= \frac{209.173 + 198.088 + 181.097}{3} \\ &= 167,452 \text{ mg GAE/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{C) Rata-rata} &= \frac{288.278 + 162.888 + 181.978}{3} \\ &= 209,881 \text{ mg GAE/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{D) Rata-rata} &= \frac{219.882 + 182.878 + 188.408}{3} \\ &= 187,733 \text{ mg GAE/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{E) Rata-rata} &= \frac{184.098 + 108.278 + 189.182}{3} \\ &= 134,182 \text{ mg GAE/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F) Rata-rata} &= \frac{80.887 + 78.908 + 81.018}{3} \\ &= 63,331 \text{ mg GAE/g}\end{aligned}$$

Lampiran 13. *Analysis of Variance (ANOVA)* Ekstrak *Sargassum echinocarpum* pada Uji Total Fenol

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	x ²			Total ²	Simpangan Baku
	1	2	3			1	2	3		
A	78,445	159,055	127,465	364,965	121,655	6153,62	25298,49	16247,33	133199,45	40,61785445
B	203,173	138,086	161,097	502,356	167,452	41279,27	19067,74	25952,24	252361,55	33,00558909
C	285,278	162,989	181,378	629,645	209,882	81383,54	26565,41	32897,98	396452,83	65,93932166
D	213,922	182,878	166,400	563,200	187,733	45762,62	33444,36	27688,96	317194,24	24,13018478
E	164,093	105,270	133,184	402,547	134,182	26926,51	11081,77	17737,98	162044,09	29,42420491
F	50,667	73,309	61,016	184,992	61,664	2567,14	5374,21	3722,95	34222,04	11,33490048
Total	995,578	821,587	830,540	2647,705					1295474,20	

FK	389463,43150
JK Total	59688,70580
JKP	42361,30025
JKG	17327,40554

SK	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	42361,30025	8472,26005	5,867417	3,106	5,064
Galat	12	17327,40554	1443,95046			
Total	17	59688,70580				

Kesimpulan :

$f_{hitung} > f_{0,05(n-1)}$ = terima H_1 : perbedaan sepasang T_i (sangat nyata)

- Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

• Hipotesis

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = 0$$

H_1 = paling tidak ada sepasang T_i yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0.05(n-1)}$ = terima H_0 : tidak ada perbedaan sepasang T_i (tidak berbeda nyata)

$f_{0.05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0.01(n-1)}$ = terima H_1 dan tolak H_0 : perbedaan sepasang T_i (nyata)

$f_{hitung} > f_{0.01(n-1)}$ = terima H_1 : perbedaan sepasang T_i (sangat nyata)

- Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

• Faktor Koreksi

$$FK = \frac{g^2}{r \times n} = \frac{2845708^2}{3 \times 8} = \frac{7710841.77}{18} = 389463,43$$

• Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (70,448^2 + 159,055^2 + 127,465^2 + \dots + 101,010^2) - FK \\ &= 449152,14 - 389463,43 \\ &= 59688,71 \end{aligned}$$

• Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(384,958^2 + 302,336^2 + 629,643^2 + \dots + 184,992^2)}{3} - FK \\ &= \frac{1892474,8}{3} - 389463,43 \\ &= 42361,30 \end{aligned}$$

• Jumlah Kudrat Galat

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 59688,71 - 42361,30 \\ &= 17327,41 \end{aligned}$$

- Uji BNT 5%

• Perhitungan BNT 5%

$$\begin{aligned}
 BNT_a &= t_{a(db\ galat)} \times \sqrt{\frac{2Kt\ galat}{ulangan}} \\
 &= t_{0.05(12)} \times \sqrt{\frac{2 \times 144298}{8}} \\
 &= 2,179 \times \sqrt{\frac{36074,5}{8}} \\
 &= 2,179 \times \sqrt{4509,31} \\
 &= 2,179 \times 67,10 \\
 &= 146,07
 \end{aligned}$$

- Notasi BNT 5%

Tabel notasi BNT 5% ekstrak *Sargassum echinocarpum*

Perlakuan	Rata - rata	F	A	E	B	D	C	Notasi
F	184,992							a
A	364,965	179,973						b
E	402,547	217,555	37,582					b
B	502,356	317,364	137,391	99,809				c
D	563,200	378,208	198,235	160,653	60,844			c
C	629,645	444,653	264,680	227,098	127,289	66,445		d

Lampiran 14. Proses Maserasi



Pencucian rumput laut



Penjemuran rumput laut



Pengilingan rumput laut



Pencampuran larutan



Maserasi selama 24 jam



Penyaringan



Evaporasi



Proses nitrogen

Lampiran 15. Skrining Fitokimia

a. Alkaloid



Alkaloid (Dragendraf)



Alkaloid (Wagner)



Alkaloid (Meyer)

b. Triterpenoid/Steroid



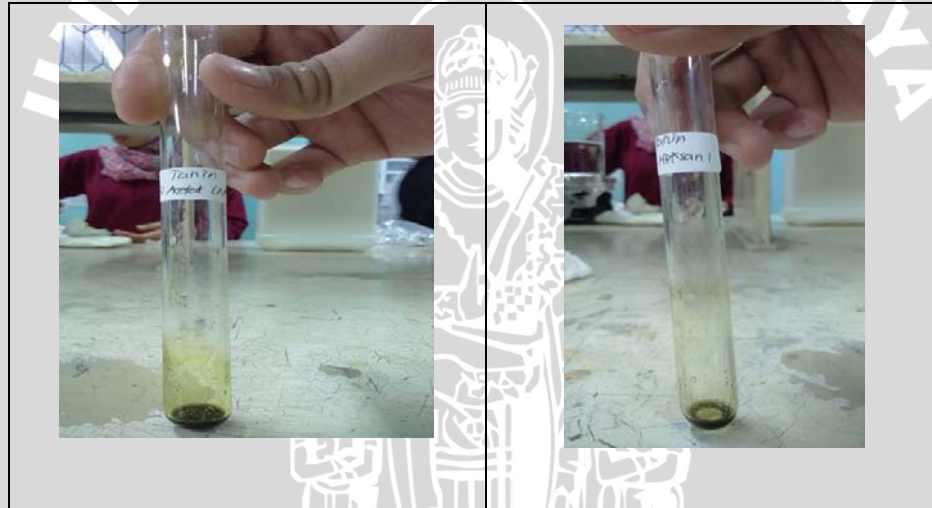
c. Flavonoid



d. Saponin



e. Tanin



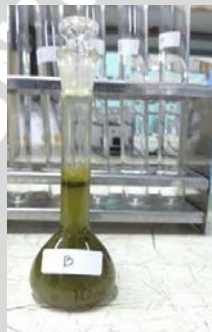
Lampiran 16. Total Fenol



Pembuatan asam galat



Pembuatan larutan total fenol A



Pembuatan larutan total fenol B



Pembuatan larutan total fenol C



Pembuatan larutan total fenol D



Pembuatan larutan total fenol E



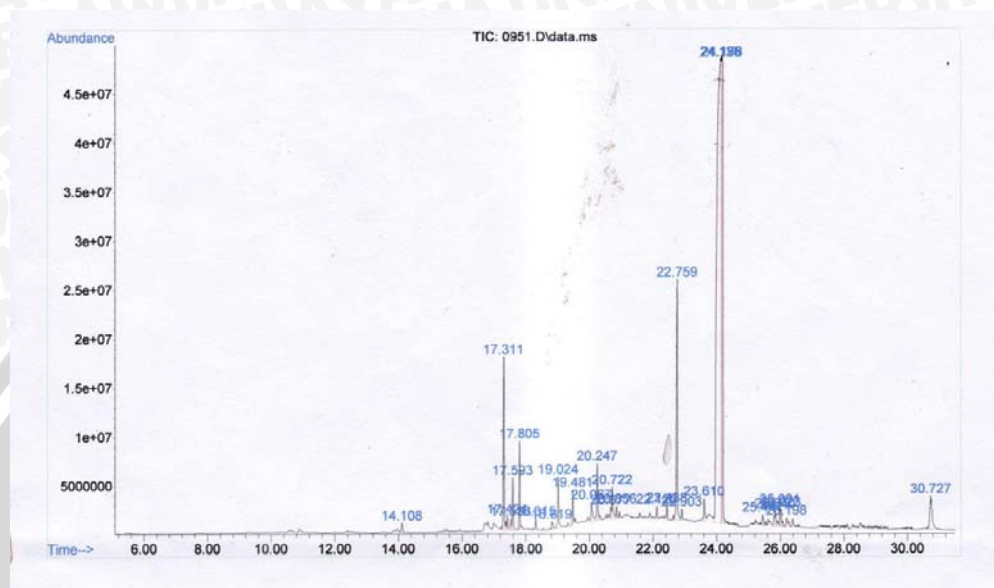
Pembuatan larutan total fenol F



Larutan total fenol



Lampiran 17. Hasil Uji GCMS *Sargassum echinocarpum*



Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\
 Data File : 0951.D
 Acq On : 18 Sep 2015 13:37
 Operator : Imam
 Sample : BB. Echino C
 Misc : Lab. Unibraw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	14.110	0.36	C:\Database\W9N11.L			
			2,5-Dimethylcyclohexanol	34477	003809-32-3	53
			exanol, 2,5-dimethyl-			
			2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol di	426853	006846-50-0	50
			isobutyrate			
			1-Hexadecen-3-ol, 3,5,11,15-tetram	455647	998455-64-7	45
			ethyl-			
2	17.309	4.17	C:\Database\W9N11.L			
			Neophytadiene	405540	000504-96-1	99
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			Neophytadiene	405539	000504-96-1	94
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetram	455610	000150-86-7	91
			ethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)			
			Phytol (CAS)			
3	17.423	0.34	C:\Database\W9N11.L			
			2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	377141	000502-69-2	91
			- \$\$ Hexahydrofarnesyl acetone			
			2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	377142	000502-69-2	70
			- \$\$ Hexahydrofarnesyl acetone			
			2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	377140	000502-69-2	60
			- \$\$ Hexahydrofarnesyl acetone			
4	17.532	0.34	C:\Database\W9N11.L			
			1-Acetyl-4,6,8-trimethylazulene	216664	000834-97-9	86
			1-(4,6,8-Trimethyl-1-azulenyl)eth			
			anone #			
			4-Chloro-2,6-diisopropylphenol	214910	998214-91-0	83
			Phenol, 4-(1-methyl-1-phenylethyl)	216545	000599-64-4	83
			- (CAS) \$\$ PARA-.ALPHA.-CUMYLPHENO			
5	17.595	1.20	C:\Database\W9N11.L			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetram	455618	000150-86-7	87
			ethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)			
			Phytol (CAS)			
			Neophytadiene	405539	000504-96-1	83
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			(Z)-1,3-Phytadiene	405555	998405-55-5	81
6	17.807	1.84	C:\Database\W9N11.L			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetram	455610	000150-86-7	90
			ethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)			
			Phytol (CAS)			

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\
 Data File : 0951.D
 Acq On : 18 Sep 2015 13:37
 Operator : Imam
 Sample : BB. Echino C
 Misc : Lab. Unibraw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-*,R*-(E)]- (CAS) \$	455618	000150-86-7	81
			Phytol (CAS)			
			(Z)-1,3-Phytadiene	405555	998405-55-5	70
7	18.316	0.33	C:\Database\W9N11.L			
			Hexadecanoic acid, methyl ester \$	382582	000112-39-0	99
			Palmitic acid, methyl ester			
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C	382604	000112-39-0	98
			AS) \$ Methyl palmitate			
			Hexadecanoic acid, methyl ester \$	382580	000112-39-0	98
			Palmitic acid, methyl ester			
8	18.820	0.17	C:\Database\W9N11.L			
			Ethyl 9-hexadecenoate \$ 9-Hexadec	416392	054546-22-4	99
			enoic acid, ethyl ester			
			ETHYL 9-HEXADECENOATE	416388	054546-22-4	98
			ETHYL 9-HEXADECENOATE \$ ETHYL 9-H	416414	998416-41-4	98
			EXADECANOATE			
9	19.026	1.40	C:\Database\W9N11.L			
			Hexadecanoic acid, ethyl ester \$	422309	000628-97-7	99
			Palmitic acid, ethyl ester			
			Hexadecanoic acid, ethyl ester (CA	422312	000628-97-7	99
			S) \$ Ethyl palmitate			
			HEXADECANOIC ACID, ETHYL ESTER \$	422307	000628-97-7	98
			ETHYL HEXADECANOATE			
10	19.483	0.66	C:\Database\W9N11.L			
			Arachidonic acid \$ 5,8,11,14-Eico	477344	000506-32-1	95
			satetraenoic acid, (all-Z)- \$ Ara			
			chidonate			
			5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, m	514112	002566-89-4	93
			ethyl ester, (all-Z)-			
			Arachidonic acid \$ 5,8,11,14-Eico	477346	000506-32-1	91
			satetraenoic acid, (all-Z)- \$ Ara			
			chidonate			
11	20.067	0.84	C:\Database\W9N11.L			
			Phthalic acid, ethyl 2-propylpentyl	481740	998481-74-0	86
			l ester			
			Phthalic acid, ethyl hexadecyl est	701363	998701-36-3	80
			er			
			Phthalic acid, ethyl 2-ethylbutyl	404218	998404-21-8	80
			ester			

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\
 Data File : 0951.D
 Acq On : 18 Sep 2015 13:37
 Operator : Imam
 Sample : BB. Echino C
 Misc : Lab. Unibraw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
12	20.244	1.52	C:\Database\W9N11.L			
			Phytol \$\$ 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11	455639	000150-86-7	96
			,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetram	455611	000150-86-7	91
			ethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS) \$\$			
			Phytol (CAS)			
			Phytol \$\$ 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11	455613	000150-86-7	90
			,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-			
13	20.679	0.25	C:\Database\W9N11.L			
			Thiosulfuric acid (H2S2O3), S-(2-a	81221	002937-53-3	95
			minoethyl) ester			
			Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid	416370	000112-80-1	95
			(Z)- \$\$.DELTA.9-cis-Oleic acid			
			Linoleic acid ethyl ester \$\$ Ethyl	487640	000544-35-4	93
			linoleate			
14	20.725	0.90	C:\Database\W9N11.L			
			Ethyl Oleate \$\$ 9-Octadecenoic aci	492877	000111-62-6	95
			d (Z)-, ethyl ester \$\$ Oleic acid,			
			ethyl ester			
			Ethyl Oleate \$\$ 9-Octadecenoic aci	492876	000111-62-6	91
			d (Z)-, ethyl ester \$\$ Oleic acid,			
			ethyl ester			
			n-Propyl 9-octadecenoate	528602	998528-60-2	89
15	20.857	0.27	C:\Database\W9N11.L			
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$	416365	000112-80-1	44
			Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauere			
			Benzenesulfonamide, N-benzyl-4-chl	411619	010504-90-2	30
			oro- \$\$ N-Benzyl-4-chlorobenzenesu			
			lfonamide			
			Benzenesulfonamide, N-benzyl-4-chl	411618	010504-90-2	30
			oro- \$\$ N-Benzyl-4-chlorobenzenesu			
			lfonamide #			
16	22.121	0.34	C:\Database\W9N11.L			
			Arachidonic acid \$\$ 5,8,11,14-Eico	477344	000506-32-1	96
			satetraenoic acid, (all-Z)- \$\$ Ara			
			chidonate			
			Methyl arachidonate	514114	002566-89-4	90
			5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, e	548388	001808-26-0	90
			thyl ester, (all-Z)-			

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\
 Data File : 0951.D
 Acq On : 18 Sep 2015 13:37
 Operator : Imam
 Sample : BB. Echino C
 Misc : Lab. Unibraw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
17	22.436	0.39	C:\Database\W9N11.L			
			4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	528559	096168-15-9	64
			2-Isobutylthiazole	52057	018640-74-9	46
			isobutyl- (2-methylpropyl)-			
			2-Isobutylthiazole	52059	018640-74-9	46
			isobutyl- (2-methylpropyl)-			
18	22.756	6.76	C:\Database\W9N11.L			
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)	627225	000103-23-1	98
			) ester			
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)	627221	000103-23-1	95
			) ester			
			Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)	627228	000103-23-1	91
			) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl)			
			adipate			
19	22.905	0.27	C:\Database\W9N11.L			
			Diisooctyl phthalate	661673	000131-20-4	64
			ylheptyl) phthalate			
			2-(Heptyloxycarbonyl)benzoic acid	364142	998364-14-2	53
			Phthalic acid, monoheptyl ester			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, dicyclohexyl ester (CAS)	542797	000084-61-7	49
			yl phthalate			
20	23.609	0.73	C:\Database\W9N11.L			
			Diisooctyl phthalate	661673	000131-20-4	91
			ylheptyl) phthalate			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS)	661649	000117-81-7	91
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS)	661650	000117-81-7	91
21	24.124	50.25	C:\Database\W9N11.L			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS)	661650	000117-81-7	81
			Di-n-octyl phthalate	661633	000117-84-0	76
			edicarboxylic acid, dioctyl ester			
			(1S*,2R*,5R*,7S*)-2,4-Dimethyl-7-ethyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-3-ene	104118	091926-28-2	68

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\
 Data File : 0951.D
 Acq On : 18 Sep 2015 13:37
 Operator : Imam
 Sample : BB. Echino C
 Misc : Lab. Unibraw
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
22	24.152	10.26	C:\Database\W9N11.L			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(661650 000117-81-7 81			
			2-ethylhexyl) ester (CAS)			
			Di-n-octyl phthalate \$\$ 1,2-Benzen 661633 000117-84-0 76			
			edicarboxylic acid, dioctyl ester			
			(1S*,2R*,5R*,7S*)-2,4-Dimethyl-7-e 104118 091926-28-2 68			
			thyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]-oct-3			
			-ene			
23	24.181	12.32	C:\Database\W9N11.L			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(661650 000117-81-7 81			
			2-ethylhexyl) ester (CAS)			
			Di-n-octyl phthalate \$\$ 1,2-Benzen 661633 000117-84-0 81			
			edicarboxylic acid, dioctyl ester			
			(1S*,2R*,5R*,7S*)-2,4-Dimethyl-7-e 104118 091926-28-2 68			
			thyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]-oct-3			
			-ene			
24	25.446	0.35	C:\Database\W9N11.L			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, dino 701316 000084-76-4 72			
			nyl ester (CAS) \$\$ Unimoll DN			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(552196 007299-89-0 52			
			2-ethylbutyl) ester (CAS)			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(552201 007299-89-0 50			
			2-ethylbutyl) ester			
25	25.840	0.67	C:\Database\W9N11.L			
			Phthalic acid, bis(7-methyloctyl) 701349 020548-62-3 78			
			ester			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, diis 701323 028553-12-0 78			
			ononyl ester			
			Phthalic acid, 4-methylpent-2-yl n 638526 998638-52-6 64			
			onyl ester			
26	25.989	0.50	C:\Database\W9N11.L			
			Squalene 690834 000111-02-4 99			
			Squalene 690824 000111-02-4 98			
			2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 690826 007683-64-9 98			
			2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS)			
			\$\$ Squalene			
27	26.024	0.34	C:\Database\W9N11.L			
			Phthalic acid, isobutyl 4-methylpe 481735 998481-73-5 52			
			nt-2-yl ester			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, isod 701322 001330-96-7 52			

BBM.M Fri Sep 18 14:16:24 2015

Page: 5

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\
Data File : 0951.D
Acq On : 18 Sep 2015 13:37
Operator : Imam
Sample : BB. Echino C
Misc : Lab. Unibraw
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			ecyl octyl ester			
			Phthalic acid, 2-ethylbutyl heptyl ester	583661	998583-66-1	50
28	26.201	0.18	C:\Database\W9N11.L			
			Phthalic acid, decyl 2-(2-methoxyethyl)hexyl ester	733077	998733-07-7	59
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, diundecyl ester	753896	003648-20-2	58
			decyl ester			
			1,2-Benzenedicarboxylic acid, isododecyl ester	701322	001330-96-7	58
29	30.727	2.10	C:\Database\W9N11.L			
			(25S)-26-Methyl-24-methylene-cholesterol	693681	998693-68-1	95
			st-5-en-3.beta.-ol			
			Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (3.beta.)	693484	000481-14-1	94
			eta.,24Z)-			
			Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (3.beta.)	693478	017605-67-3	87
			eta.,24E)- (CAS) Fucosterol (CAS)			

```
***Excluded from Affecting GC's Readiness State***
Pressure Program          Off
  10 psi for 0 min
Run Time                  31.5 min

Aux EPC 2 N2
***Excluded from Affecting GC's Readiness State***
Pressure Program          Off
  10 psi for 0 min
Run Time                  31.5 min

Aux EPC 3 N2
***Excluded from Affecting GC's Readiness State***
Pressure Program          Off
  10 psi for 0 min
Run Time                  31.5 min

Signals
Signal #1: Test Plot      Save Off
                          50 Hz
Signal #2: Test Plot      Save Off
                          50 Hz
Signal #3: Test Plot      Save Off
                          50 Hz
Signal #4: Test Plot      Save Off
                          50 Hz
```

MS ACQUISITION PARAMETERS

General Information

```
-----
Tune File          : atune.u
Acquisition Mode   : Scan
```

MS Information

```
-----
Solvent Delay      : 5.00 min
EMV Mode           : Gain Factor
Gain Factor        : 1.00
Resulting EM Voltage : 1765
```

[Scan Parameters]

```
Low Mass           : 50.0
High Mass          : 550.0
Threshold          : 150
Sample #           : 2      A/D Samples   4
Plot 2 low mass    : 50.0
Plot 2 high mass   : 550.0
```

[MSZones]

```
MS Source          : 230 C   maximum 250 C
MS Quad            : 150 C   maximum 200 C
```

END OF MS ACQUISITION PARAMETERS

TUNE PARAMETERS for SN: US11412918

Trace Ion Detection is OFF.

EMISSION : 34.610

ENERGY : 69.922
REPELLER : 21.746
IONFOCUS : 90.157
ENTRANCE_LE : 32.000
EMVOLTS : 1729.412

Actual EMV : 1764.71
GAIN FACTOR : 1.00

AMUGAIN : 2100.000
AMUOFFSET : 121.000
FILAMENT : 1.000
DCPOLARITY : 1.000
ENTLENSOFFS : 17.569
MASSGAIN : -527.000
MASSOFFSET : -37.000

END OF TUNE PARAMETERS

END OF INSTRUMENT CONTROL PARAMETERS

