

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi rumput laut Kabupaten Sumenep pada tahun 2011 sebesar 537.706,37 ton, pada tahun 2012 sebesar 549.717,52 ton, pada tahun 2013 mencapai 569.651,41 ton dan meningkat menjadi 583.691,05 pada tahun 2014. Produksi rumput laut per tahun rata-rata mengalami peningkatan 3,03 % per tahun. Kabupaten Sumenep merupakan salah satu kabupaten yang membudidayakan rumput laut di Pulau Madura. Menurut Dinas Kelautan dan Perikanan (2015), Produksi budidaya rumput laut Kabupaten Sumenep tahun 2015, bisa dilihat pada

Tabel 1.

Tabel 1. Produksi Budidaya Rumput Laut Kabupaten Sumenep Tahun 2015

No.	Kecamatan	Banyaknya Petani	Produksi		Prosentase (%)
			Basah (ton)	Kering (ton)	
1.	Bluto	1.639	115.349,08	16.478,44	19,25%
2.	Saronggi	1.598	125.545,09	17.935,01	20,95%
3.	Giligenting	561	51.233,80	7.391,11	8,55%
4.	Ambunten	-	-	-	0,00%
5.	Dungkek	390	47.792,19	6.827,46	7,97%
6.	Gapura	375	34.519,85	4.931,41	5,76%
7.	Talango	635	44.685,59	6.383,66	7,46%
8.	Ra'as	291	6.834,26	976,32	1,14%
9.	Arjasa	365	15.256,18	2.179,45	2,55%
10.	Sakepen	1.246	158.137,73	22.591,10	26,38%
JUMLAH		7.200,0	599.353,77	85.622,0	

Sumber : Dinas Kelautan dan Perikanan, 2015

Rumput laut mengandung dinding sel berupa selulosa, hemiselulosa dan lignin (Santi *et. al.*, 2012). Ditambahkan oleh Winarno (2004), pektin adalah polimer turunan galaktosa (asam galakturonat). Senyawa pektin mempunyai tiga klasifikasi, yaitu : asam pektat, asam pektinat dan protopektin. Sedangkan, selulosa, hemiselulosa, pektin beserta protein merupakan serat panjang

pembentuk struktur jaringan yang berfungsi untuk memperkuat dinding sel tanaman.

Rumput laut coklat adalah sumber daya alam yang sangat melimpah di Indonesia terutama di perairan Madura. Warna rumput laut coklat dipengaruhi oleh komposisi pigmen pada rumput laut tersebut. Pigmen penyusun rumput laut coklat yaitu golongan klorofil, karotenoid, fukosantin. Klorofil α berwarna hijau kebiruan merupakan pigmen utama yang membantu proses fotosintesis tanaman. Sedangkan fukosantin merupakan karotenoid utama yang paling banyak dalam rumput laut coklat (Leenawaty dan Hariyanto, 2011).

Senyawa bioaktif diperoleh dari ekstraksi pelarut (Aisyah dan Ari, 2012). Rumput laut hasil ekstraksi mengandung senyawa bioaktif diantaranya polifenol dan tanin (Katarzina *et. al.*, 2012). Ditambahkan oleh Hendi *et. al.*, (2014), Senyawa bioaktif pada rumput laut dapat dimanfaatkan untuk produksi makanan, kosmetik, antioksidan, bidang farmasi (anti kanker, anti jamur, dan anti obesitas) dan anti bakteri. Namun rumput laut bisa menyebabkan keracunan pada organisme.

Metode ekstraksi dibagi menjadi infundasi, maserasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan. Metode ekstraksi yang sering digunakan yaitu metode maserasi. Maserasi adalah suatu metode penyarian sederhana dengan cara merendam sampel yang telah dihaluskan yang mengandung zat aktif dengan menggunakan pelarut. Prinsip dari pelarut tersebut yaitu senyawa polar dilarutkan pada pelarut polar, dan sebaliknya senyawa non polar dilarutkan pada pelarut non polar. Keuntungan dari metode maserasi adalah mudah dikerjakan dan peralatannya sederhana, sedangkan kekurangannya yaitu membutuhkan waktu yang lebih lama pada saat perendaman (Prima, 2012).

Rumput laut mengandung senyawa bioaktif yang salah satu senyawa bioaktifnya diduga bersifat toksik yaitu alkaloid karena senyawa ini bisa bersifat

anti kanker. Oleh karena itu, dilakukan uji pendahuluan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan metode skrining terhadap senyawa sitotoksik menggunakan hewan uji larva *Artemia salina* Leach (Fathiyawati, 2008). Ditambahkan oleh Noer et al., (2013), Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik apabila ekstrak menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1000 ppm.

Penelitian yang dilakukan Hendi et al., (2014), menyatakan bahwa ekstrak kasar *Sargassum plaghyophyllum* dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut polar didapatkan nilai LC_{50} – 24 jam sebesar 291 ppm. Namun, penelitian mengenai uji toksisitas dengan menggunakan ekstraksi bertingkat masih jarang dilakukan. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan penelitian uji toksisitas ekstrak kasar *Sargassum filipendula* terhadap hewan uji larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana cara mendapatkan ekstrak kasar *Sargassum filipendula*?
2. Apakah ekstrak kasar dari *Sargassum filipendula* memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina*

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mendapatkan ekstrak kasar *Sargassum filipendula*
2. Untuk mengetahui apakah ekstrak kasar dari *Sargassum filipendula* yang memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina* Leach

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada pihak-pihak yang berkepentingan tentang pengaruh ekstrak kasar *Sargassum filipendula* terhadap toksisitas *Artemia salina* Leach dengan ppm yang berbeda.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, dan Laboratorium Reproduksi Ikan yang bertempat di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari-Maret 2016.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Komposisi Kimia *Sargassum filipendula*

Rumput laut diklasifikasikan menjadi tiga kelas yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyceae*), rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan rumput laut coklat (*Phaeophyceae*). Rumput laut mempunyai kadar air (12,95-27,50%), kadar karbohidrat (32,25-63,20), kadar protein (1,60-10,00%), serat kasar (3,00 – 11,40%), dan kadar abu (11,50-23,70%). Selain itu rumput laut mengandung enzim, asam nukleat, vitamin dan mineral makro. Golongan mineral makro diantaranya : zat besi, natrium dan magnesium (Reskika, 2011).

Komposisi rumput laut yang bisa dimanfaatkan untuk menjadi bahan pangan adalah karbohidrat. Namun, karena kandungan karbohidratnya mengandung senyawa gumi, maka hanya sedikit yang bisa diserap manusia. Demikian pula kandungan natrium dan kalsium pada rumput laut (Winarno, 1996). Kandungan komposisi kimia (*Sargassum filipendula*) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Komposisi Kimia *S. filipendula* (%berat kering)

No.	Komposisi	%
1.	Abu	29,49 ± 3,37
2.	Serat kasar	7 ± 0,27
3.	Lemak	3,61 ± 0,05
4.	Karbohidrat	10,21 ± 0,70
5.	Protein	3,2 ± 0,12

Sumber : Ghada *et al.*, (2011)

Sargassum filipendula hasil ekstraksi menghasilkan senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan, sebagai anti inflamasi, anti kanker (Lee, 2013). Ditambahkan oleh Kilinc (2013), *Sargassum sp* bisa dimanfaatkan diberbagai industri seperti kosmetik, kimia dan obat-obatan, sebagai makanan yang dikonsumsi dalam bentuk nori, sup dan adapun yang dimakan dalam bentuk salad sebagai makanan diet dengan kalori rendah yang sangat bermanfaat untuk mencegah penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes dan hipertensi. Cardoso

et al., (2015), melaporkan bahwa makroalga di konsumsi sebagai makanan sehari-hari di Negara Jepang karena mikroalga sangat bermanfaat untuk menurunkan resiko jantung koroner, karena mengandung rantai panjang omega-3, PUFA (Polyunsaturated fatty acid), EPA (Eicosapentanoic acid) dan DHA (Ducosahexaenoic acid).

Menurut Asfar (2015), *Sargassum filipendula* hidup melekat di batu karang dan apabila terjadi ombak besar, maka rumput laut ini akan terlepas dari substansinya dan kemudian akan hanyut di permukaan laut. *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada **Gambar 1**. Dan klasifikasi *Sargassum filipendula* sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Phaeophyta
Class	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Family	: Sargassaceae
Genus	: Sargassum
Spesies	: <i>Sargassum filipendula</i>



Gambar 1. *Sargassum filipendula*

2.2 Ekstrak Kasar

Ekstrak dapat dibagi menjadi 2 yaitu ekstrak kasar dan ekstrak murni. Ekstrak kasar adalah ekstrak yang mengandung semua bahan yang tersari menggunakan pelarut organik, sedangkan ekstrak murni merupakan ekstrak kasar yang telah dimurnikan dari senyawa-senyawa inert melalui proses penghilangan lemak, penyaringan menggunakan resin atau adsorben. Ekstrak murni lebih disukai karena mempunyai bahan aktif atau komponen kimia yang jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar, sebagai contoh kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kasar 20%, setelah dimurnikan senyawa aktif akan meningkat menjadi 60% (Wijesekera, 1991).

Ada beberapa metode pemurnian dari ekstrak bahan alami, diantaranya Ekstraksi menggunakan pelarut. Ekstraksi adalah salah satu cara pemurnian ekstrak dari bahan alami. Pemurnian secara ekstraksi digunakan untuk mendapatkan senyawa aktif pada rumput laut. Keberhasilan proses pemurnian suatu ekstrak sangat erat kaitannya dengan rendemen, mutu dan kadar senyawa aktif yang dihasilkan (Hernani, *et. al.*, 2007).

Penelitian yang dilakukan oleh Jannah *et. al.*, (2014), menyatakan bahwa ekstrak kasar *Sargassum vulgare* yang pada saat ekstraksi dengan pelarut polar. Dan dilakukan Uji Toksisitas dengan hewan uji *Artemia salina* untuk mengetahui nilai LC₅₀. Didapatkan nilai LC₅₀ pada uji toksisitas sebesar 139,098 ppm.

2.2.1 Klorofil

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas. Kloroplas mengandung pigmen utama yaitu klorofil, karotenoid dan xantofil yang terdapat pada membran tilakoid. Molekul klorofil adalah suatu derivat porfirin yang mempunyai struktur tetrapirolsiklik dengan satu cincin pirol yang sebagian

Klorofil merupakan molekul yang dapat diterima oleh tubuh menjadi nutrisi karena memiliki struktur sama seperti hemoglobin. Kandungan klorofil mengalami peningkatan karena adanya pengaruh kandungan mineral seperti N, P, K, S, Cad dan Mg. Klorofil dan hemoglobin merupakan porfirin yang tersintesis dari pirol dan formaldehid, tetapi klorofil mempunyai inti atom Mg, dan hemoglobin mempunyai inti atom Fe (Fatimah, 2009).

Klorofil α dikenal sebagai *blue-green chlorophyll*. Klorofil α mempunyai gugus metil pada strukturnya (Fatimah, 2009). Ditambahkan oleh Nurdiana dan Limantara (2008), klorofil α berfungsi sebagai penangkap cahaya yang utama dalam proses fotosintesis yaitu sekitar 99%. Keberadaan klorofil α pada alga coklat dilengkapi dengan pigmen pendukung yaitu klorofil c. Secara alami fungsi klorofil c memiliki kesamaan dengan klorofil α dan β , yaitu sebagai penangkap cahaya.

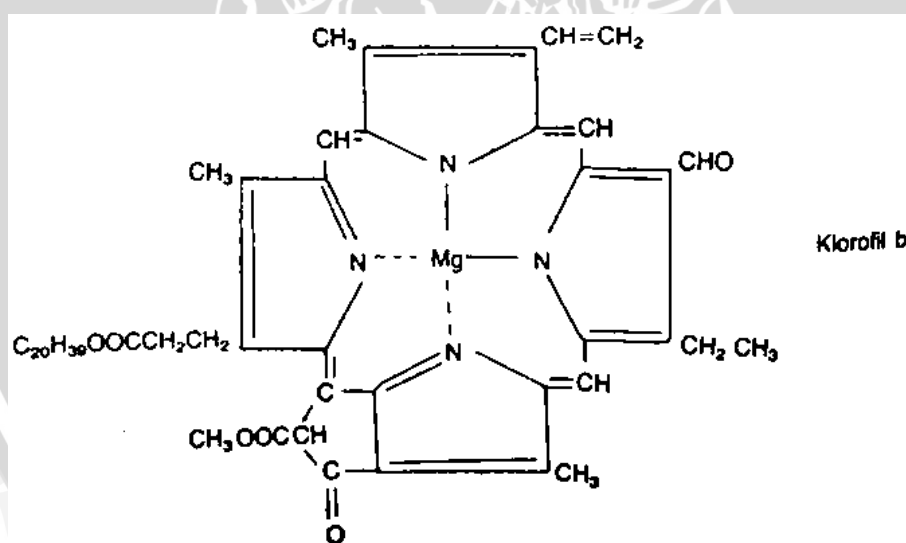
Klorofil α merupakan Mg-tetrapirel yang tersebar luas di organisme fotosintetik tingkat rendah maupun tingkat tinggi. Pigmen fotosintetik hijau biru memiliki peran yang penting dalam proses fotosintesis. Klorofil α memiliki serapan maksimum didaerah 380-665 nm dalam pelarut organik (Christiana *et al.*, 2008).



2.2.1.2 Klorofil β

Klorofil β dikenal sebagai *yellow-green chlorophyll*. Klorofil β mempunyai gugus aldehida yang terikat di kanan atas cincin pirol (Fatimah, 2009). Ditambahkan oleh Limantara dan Rahayu (2008), adanya gugus aldehid pada klorofil β akan menyebabkan klorofil β lebih bersifat hidrofilik dibandingkan dengan klorofil α .

klorofil β mempunyai rumus kimia ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$). klorofil α dan β memiliki perbedaan pada posisi atom C-7, dimana pada klorofil β ditempati gugus aldehid, sedangkan klorofil α ditempati gugus metil. Faktor tersebut berdampak pada pola spectra serapan klorofil β yang lebih bergeser ke daerah hijau. Dalam menjalankan fungsinya, klorofil dibantu oleh karotenoid yang menyerap cahaya pada daerah yang tidak diserap oleh molekul klorofil, kemudian mentransfer energi cahaya tersebut ke klorofil.



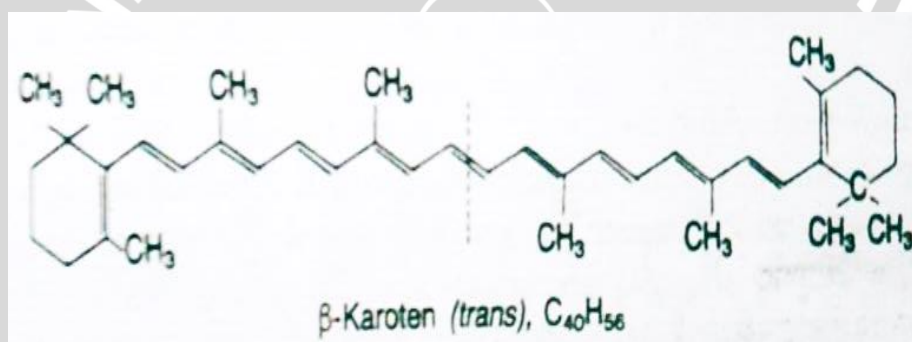
Gambar 3. Struktur Kimia Klorofil β (Winarno, 2004)

2.2.2 Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen yang berwarna kuning, orange, merah orange, serta larut dalam minyak (lipida). Karotenoid terdapat pada kloroplas (0,5%) bersama-sama dengan klorofil (9,3%), terutama pada bagian permukaan atas

daun, dekat dengan dinding sel-sel palidase. Karotenoid merupakan senyawa kimia yang mempunyai rumus kimia mirip dengan karoten. Karoten merupakan campuran dari beberapa senyawa yaitu α -, β -, dan γ -karoten (Winarno, 2004).

Beta karoten sama dengan karotenoid yang lain, yaitu pigmen alami yang larut lemak yang secara umum ditemukan pada tanaman dan alga. Beta karoten memiliki peran yang menguntungkan bagi kesehatan salah satunya mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, meningkatkan “komunikasi” interselular, immunomodulator dan antikarsinogenik. Kemampuan beta karoten sebagai antioksidan ditunjukkan dalam mengikat oksigen (O^2), dan menghambat oksidasi lipid (Supriyono, 2008).

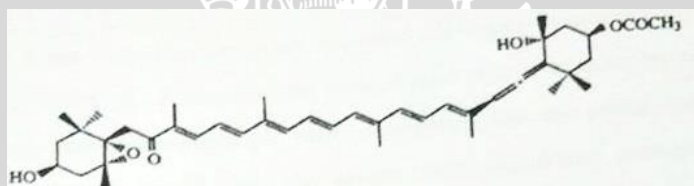


Gambar 4. Struktur Kimia β -Karoten

2.2.2.1 Fukosantin

Rumput laut coklat memiliki *thallus* yang mengandung campuran pigmen golongan klorofil dan pigmen golongan karotenoid. Variasi warna *thallus* setiap spesies rumput laut coklat sangat dipengaruhi oleh komposisi serta kandungan pigmen penyusunnya. Klorofil α merupakan pigmen utama dalam proses fotosintetik dari tumbuhan tingkat tinggi termasuk didalamnya makroalga, sedangkan karotenoid hanya sebagai pigmen pelengkap. Fukosantin merupakan karotenoid utama yang terdapat dalam rumput laut coklat dan diperkirakan lebih dari 10% dari total produksi karotenoid alami (Leenawaty dan Heriyanto, 2010).

Fukosantin adalah salah satu jenis karotenoid yang jumlahnya sangat banyak dari pigmen lainnya yang terdapat pada rumput laut cokelat dan jumlahnya sekitar 10% dari total produksi karotenoid di alam. Di alam, karotenoid yang dominan terdapat dalam bentuk isomer *all-trans*. Isomerisasi *trans-cis* merupakan bentuk utama dari karotenoid dengan ikatan ganda pada strukturnya. semua struktur *trans* dapat diubah menjadi *isomer cis*. Isomerisasi *trans-cis* menghasilkan perubahan warna produk yang ditunjukkan oleh sifat spektral karotenoid *cis* yang berbeda dengan karotenoid *trans*. Rantai poliena berperan dalam penyerapan cahaya dan ikatan rangkap terkonjugasinya dan membuat karotenoid menjadi tidak stabil. panas, sinar dan asam memacu isomerisasi bentuk *trans* karotenoid ke bentuk *cis* (Kailola *et al.*, 2012).



Gambar 5. Struktur Kimia Fukosantin

2.3 Ekstraksi Rumput Laut

Sebuah cara untuk mendapatkan bioaktif pada tanaman yaitu dengan cara ekstraksi. Kandungan senyawa bioaktif dan kadar fenolik pada rumput laut berbeda-beda tergantung metode ekstraksi yang digunakan dan spesies rumput laut yang digunakan. Prinsip ekstraksi adalah memisahkan komponen dalam bahan yang diekstrak dengan menggunakan pelarut tertentu dan kemudian keduanya bertumbukan dan kemudian dilakukan pemisahan antara filtrat dan residu. Pemilihan pelarut sangat penting, karena bahan hanya akan larut pada pelarut yang sama polaritasnya. Ada dua macam ekstraksi yaitu satu tahap ekstraksi (hanya menggunakan satu pelarut) dan ekstraksi bertingkat (menggunakan dua atau lebih pelarut) (Septiana dan Asnani, 2012).

Terdapat beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan yaitu soxhlet, perkolasi, maserasi, reflux dan destilasi uap. Ekstraksi dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan faktor pelarut yang efektif untuk mengeluarkan kandungan senyawa bioaktif dengan maksimal. Komposisi senyawa bioaktif diantaranya : alkaloid, polifenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan lain-lain. Pelarut yang sering digunakan pada proses ekstraksi adalah etanol karena ekonomis dan tingkat kemurniannya tinggi (Chemat et al., 2012).

2.3.1 Maserasi

Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi, maserasi bisa digunakan untuk skala kecil maupun skala industri. Metode maserasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut kedalam wadah tertutup pada suhu kamar hingga terjadi tingkat kesetimbangan antara konsentrasi senyawa pelarut dengan konsentrasi sel tanaman, kemudian pelarut dipisahkan dengan cara penyaringan. Kerugian dari metode ini adalah ada kemungkinan beberapa senyawa hilang dan ada beberapa senyawa yang sulit diekstraksi pada suhu kamar. Adapun keuntungan dari metode ini yaitu maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil (Mukhariyani, 2014).

Prinsip ekstraksi menggunakan metode maserasi adalah merendam bubuk bahan dengan pelarut tertentu pada suhu ruang yang terlindungi oleh cahaya. Hasil senyawa bioaktif pada saat ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut, jenis bahan, dan kondisi ekstraksi. Kondisi ekstraksi meliputi metode, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut, waktu, suhu dan derajat kehalusan bahan yaitu semakin halus bahan maka keluarnya senyawa-senyawa bioaktif akan semakin maksimal (Tatrayana dan Elok, 2015).

2.3.2 Pelarut

Pelarut merupakan suatu benda cair, padat maupun gas yang menghasilkan larutan. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah air. Pelarut pada saat proses ekstraksi sangat mempengaruhi jumlah senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya, hal ini sesuai dengan istilah *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut yang bersifat polar dan sebaliknya senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang bersifat non polar (Arifianti *et al.*, 2014).

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi tergantung dari sifat zat yang akan dilarutkan. Menurut Susanti *et al.*, (2012), Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi diantaranya etil asetat, hexsan, etanol, aseton dan metanol. Pemilihan pelarut yang tepat akan mempengaruhi proses cepat dan lambatnya pengeluaran senyawa bioaktif pada saat ekstraksi. Pada saat pemilihan pelarut, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan diantaranya :

1. Pelarut yang digunakan bersifat inert : tidak bereaksi dengan komponen lain.
2. Titik didih pelarut : pelarut yang digunakan harus mempunyai titik didih yang cukup rendah, sehingga pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi yang nantinya mengakibatkan senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman bisa rusak.
3. Selektivitas : pelarut yang digunakan mampu melarutkan semua zat yang akan di ekstraksi.
4. Harga ekonomis.

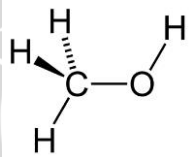
2.3.2.1 Metanol

Metanol dikenal dengan nama metil alkohol, alkohol kayu, hidroksi metana, dan metil hidrat. Pelarut metanol sering disebut dengan pelarut universal yang dapat melarutkan analit bersifat polar maupun non polar. Pada saat proses

ekstraksi, metanol dapat menarik senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid (Astarina *et al.*, 2013). Ditambahkan oleh Taroreh *et al.*, (2015), Bahwa pelarut yang sering digunakan pada saat ekstraksi diantaranya campuran dari beberapa pelarut seperti aseton, metanol, etil asetat dan etanol. Percampuran larutan dilakukan untuk mendapatkan komponen bioaktif secara maksimal.

Pelarut yang bisa mendapatkan hasil ekstraksi secara maksimal yaitu metanol dan aseton. Aseton memiliki sifat kepolaran lebih tinggi dibandingkan metanol. Hal ini didasarkan pada sifat kepolaran pelarut yang digunakan. Pelarut polar akan melarutkan solut polar dan pelarut non polar akan melarutkan solute non polar yang sering disebut *like dissolve like* (Al-Ash'ary *et al.*, 2010). Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Sifat Fisika dan Kimia Metanol

No.	Karakteristik	Metanol
1.	Nama lain	Metil alkohol, metil hidrat, hidroksi metana, dan alkohol kayu
2.	Rumus bangun	CH ₃ OH 
3.	Berat molekul (g mol ⁻¹)	32
4.	Densitas (kg L ⁻¹)	0,7914
5.	Titik didih (K)	338
6.	Panas spesifik (JK ⁻¹ mol ⁻¹)	81,0
7.	Viskositas (μPa S)	550
8.	Konstanta Dielektrik	33,6

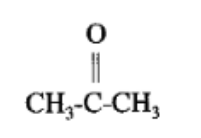
Sumber : Sharp, *et al.*, (2011)

2.3.2.2 Aseton

Aseton merupakan pelarut organik yang mempunyai nama lain dimetil keton dengan rumus molekul (CH₃COCH₃). Aseton sering digunakan sebagai pelarut karena mempunyai sifat sangat volatil, tidak beresidu, higroskopis dan mudah terbakar. Pelarut organik aseton dipilih dengan pertimbangan kemampuan

pada saat mengekstraksi senyawa-senyawa polar dan non polar dengan meminimalisir kontaminasi garam laut (Day and Underwood, 1998). Sifat-sifat aseton dapat dilihat pada **Tabel. 4**

Tabel 4. Sifat Fisika dan Kimia Aseton

No.	Karakteristik	Aseton
1.	Nama lain	2-propanon, dimetil keton, dan beta keto propana
2.	Rumus Bangun	C ₃ H ₆ O
		
3.	Berat Molekul	53,08
4.	Densitas	
	At 20°C	0,78998 g/mL
	At 25°C	0,78440 g/mL
	At 30°C	0,78033 g/mL
5.	Titik didih	56,2°C at 1 atm
6.	Titik nyala	-20°C
7.	Titik Leleh	-95,35°C

Sumber : Levena dan Muskat (2016)

2.3.2.3 Nitrogen

Menurut Supriana (2012), nitrogen adalah unsur kimia yang ditemukan sebagai gas tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa dan merupakan gas diatomic bukan logam stabil, sangat sulit bereaksi dengan unsur atau senyawa lainnya. Kegunaan gas nitrogen antara lain, nitrogen merupakan unsur utama pembentukan protein dan salah satu bahan untuk pupuk urea, nitrogen cair digunakan untuk membekukan makanan dengan cepat, nitrogen digunakan sebagai gas pelindung terhadap oksigen dalam pabrik kimia dan industri.

2.4 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah untuk mengetahui tingkat kemurnian senyawa hasil isolasi. Menurut Sudjaji (1986), KLT termasuk kromatografi serapan, namun KLT juga merupakan kromatografi partisi dikarenakan bahan penyerap dilapisi oleh air yang berasal dari udara. Fase diam

bisa berupa silica gel, alumina dan selulosa. Sedangkan fase gerak merupakan campuran dari beberapa pelarut. Identifikasi kadar yang ditembuh oleh satu bercak dilakukan menggunakan rumus R_f (*Retardation factor*) dengan cara :

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

Pengujian KLT berfungsi untuk mempertegas hasil uji fitokimia dan mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di dalam suatu senyawa. Pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat pada bahan ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Pemisahan komponen kimia terjadi karena kemampuan adsorben untuk menyerap komponen kimia, sehingga komponen bisa bergerak dengan kecepatan berbeda-beda tergantung tingkat kepolarannya (Faskalia dan Muhammad, 2014).

2.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah suatu uji pemeriksaan golongan senyawa kimia yang terdapat pada suatu tumbuhan. Uji ini bertujuan untuk membuktikan ada tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan untuk dapat dikaitkan dengan aktivitas biologinya sehingga dapat membantu penelitian lanjutan dalam bidang ilmu farmakologi (Artini *et al.*, 2013). Uji fitokimia merupakan suatu uji kualitatif yang digunakan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman dengan mengamati perubahan warnanya setelah pemberian larutan uji. Hasil analisa menunjukkan ada tidaknya senyawa bioaktif golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, dan tanin yang terdapat pada tanaman.

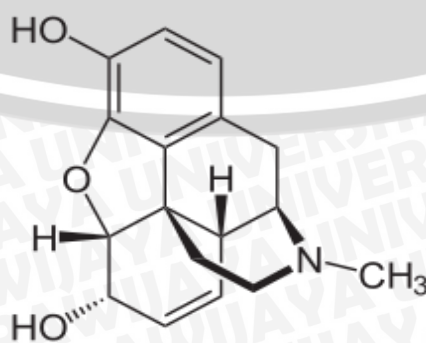
Metabolit rumput laut dibagi menjadi 2 yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan senyawa polisakarida hidrokoloid seperti karagenan, agar dan alginat. Sedangkan senyawa metabolit sekunder adalah

metabolit yang terbentuk dari metabolit primer stress yang merupakan senyawa yang digunakan untuk proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim dari ancaman predator. Metabolit sekunder biasanya berbentuk senyawa bioaktif pada tumbuhan (Ristyana, 2013).

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang mempunyai susunan basa nitrogen (1 atau 2 atom nitrogen). Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung atom N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa atom N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan adalah sebagai pengatur proses pertumbuhan dan penghalau dan penarik serangga (Ristyana, 2013).

Menurut Dewi *et al.*, (2014), Alkaloid mengandung nitrogen serta mengandung substituen beragam seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar. Indikator positif uji alkaloid yaitu terbentuknya endapan jingga pada pereaksi dragendorff. Serta endapan putih kekuningan pada pereaksi mayer. Alkaloid bersifat basa, oleh karena itu pada saat proses ekstraksi menggunakan pelarut yang bersifat asam, untuk memaksimalkan proses uji alkaloid. Struktur kimia alkaloid dapat dilihat pada **Gambar 6**.

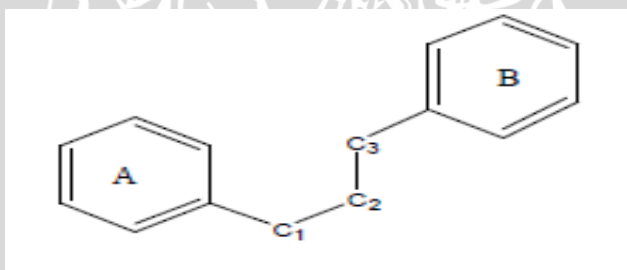


Gambar 6. Struktur Kimia Alkaloid

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa bioaktif yang terdapat pada beberapa tanaman. Senyawa flavonoid mempunyai sifat larut dalam air. Flavonoid mengandung dua cincin benzena yang dihubungkan oleh tiga atom karbon. Ketiga atom dirapatkan oleh sebuah atom oksigen sehingga terbentuk cincin diantara atom benzene (Winarno, 2004).

Flavonoid merupakan golongan fenol yang terdiri dari C₆-C₃-C₆ yang terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino. Flavonoid termasuk senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak (Ristyana, 2013). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Struktur Kimia Flavonoid (Retno, 2009)

2.5.3 Steroid atau Triterpenoid

Triterpenoida adalah senyawa yang kerangka karbonilnya berasal dari enam satuan isoprene. Senyawa ini berstruktur siklik, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa steroid merupakan senyawa tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi dan optis aktif (Harborne, 1987).

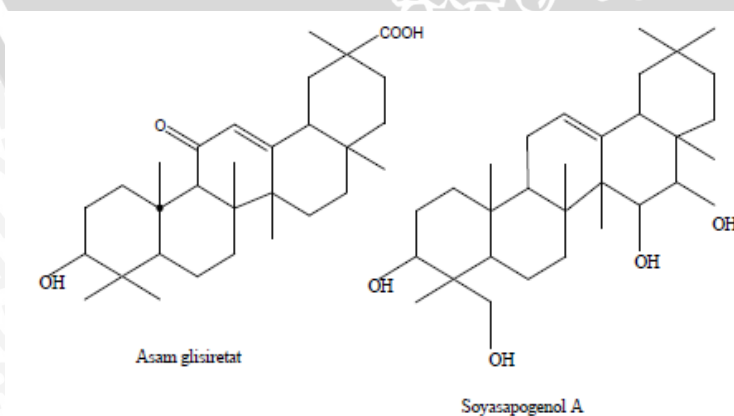
Senyawa triterpenoid mempunyai struktur siklik berupa alkohol yang mengakibatkan senyawa ini cenderung bersifat semipolar. Pengujian

steroid/triterpenoid didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat. Steroid positif apabila terbentuk cincin yang berwarna kecoklatan yang menunjukkan adanya kandungan triterpenoid (Dewi, *et al.*, 2014).

2.5.4 Saponin

Uji skrining fitokimia ditujukan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak rumput laut. Adapun golongan senyawa yang diuji diantaranya, uji alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan senyawa fenolik. Indikasi bahwa rumput laut mengandung saponin yaitu ada atau tidaknya busa pada saat proses uji saponin, apabila mengandung busa, berarti bahan tersebut positif mengandung saponin (Winarno, *et al.*, 2012).

Saponin adalah glukosida yang larut dalam air dan etanol, dan tidak larut dalam pelarut eter (I Gusti, 2014). Saponin termasuk turunan triterpen dengan sedikit mengandung steroid. Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa, apabila dikocok dalam air. Dalam larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin bisa digunakan sebagai racun ikan (Retno, 2009). Struktur kimia saponin dapat dilihat pada **Gambar 8**.



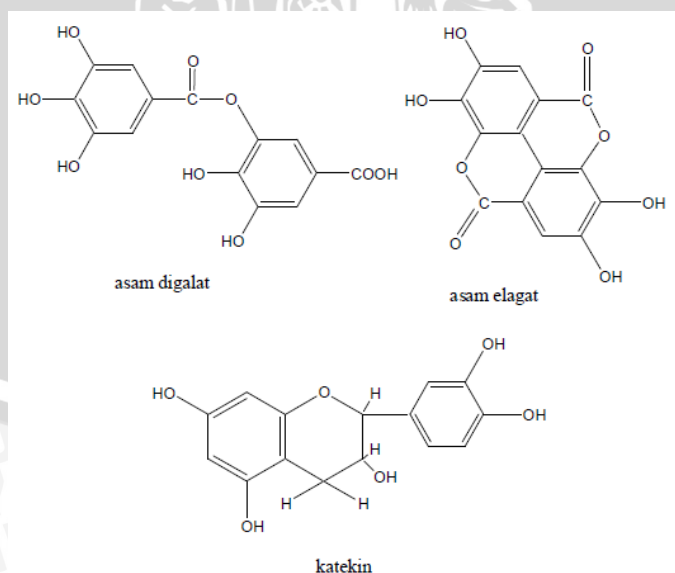
Gambar 8. Struktur Kimia Saponin (Retno, 2009)

2.5.5 Tanin

Tanin terdapat pada tumbuhan paku-pakuan ataupun berkayu. Sebagian besar tumbuhan yang bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Salah satu fungsi utama tanin dalam tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan untuk memangsanya (Lowysa, 2009). Tanin merupakan senyawa polifenol dalam bentuk glikosida. Pada tumbuhan letak tannin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma. Tanin dibagi menjadi 2 yaitu tanin terkondensasi dan terhidrolisis. Tanin bisa terhidrolisis dengan asam ataupun enzim (Nita, 2012).

Menurut Winarno, (2004), Tanin sering disebut asam tanat dan asam galotanat. Tanin bisa tidak memiliki warna hingga berwarna kuning atau coklat. Tanin terdiri dari leukoantosianin, katekin dan asam hidroksi yang bisa bereaksi dengan ion logam. Pada teh, katekin dan epikatekin dapat teresterifikasi menjadi asam galat, sedangkan katekin dan leukoantosianin terdapat pada jaringan tumbuhan apel, *pear*, *almond* dan anggur. Struktur kimia tanin dapat dilihat pada

Gambar 9.



Gambar 9. Struktur Kimia Tanin (Retno, 2009)

2.6 Toksisitas

2.6.1 Uji Toksisitas LC_{50} Dengan Analisa Probit

Toksisitas adalah suatu efek berbahaya dari suatu bahan kimia atau suatu obat yang mengenai organ target. Setiap zat kimia pada dasarnya bersifat racun dan terjadinya keracunan ditentukan oleh dosis dan cara pemberian zat kimia tersebut. Uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode untuk uji aktivitas suatu senyawa menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan langkah pendahuluan untuk memandu pencarian senyawa tumbuhan yang berfungsi sebagai anti kanker. Hasil dari uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dihubungkan dengan aktivitas sitotoksik yang merupakan syarat utama obat anti tumor (Prasetyorini et al., 2011).

Senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan biasanya bersifat toksik pada dosis tinggi, oleh sebab itu daya bunuh senyawa bioaktif terhadap hewan uji digunakan untuk menapis ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas. Organisme yang sesuai untuk hewan uji yaitu *Artemia* (udang laut) jenis *Artemia salina*. Keistimewaan hewan uji ini dikarenakan memiliki toleransi yang sangat luas terhadap kadar garam. *A. salina* Leach dimanfaatkan sebagai hewan uji untuk menentukan tingkat ketoksikan suatu senyawa dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Marlinda et. al., 2012).

2.7 *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach merupakan jenis udang-udangan yang mirip planktonik yang hidup di perairan yang berkadar garam tinggi. Tubuh *Artemia* terbagi menjadi 3 segmen yaitu perut, dada dan kepala. Sistem reproduksi *Artemia salina* dipengaruhi oleh faktor lingkungan, konsentrasi oksigen dalam air, salinitas

dan jenis makanannya. Hewan ini sering digunakan untuk pengujian toksisitas berbagai bahan kimia (Mioara, 2011).

Menurut Mioara (2011), Klasifikasi *Artemia salina*, sebagai berikut :

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemidae
Marga	: Artemia
Jenis	: <i>Artemia salina</i>

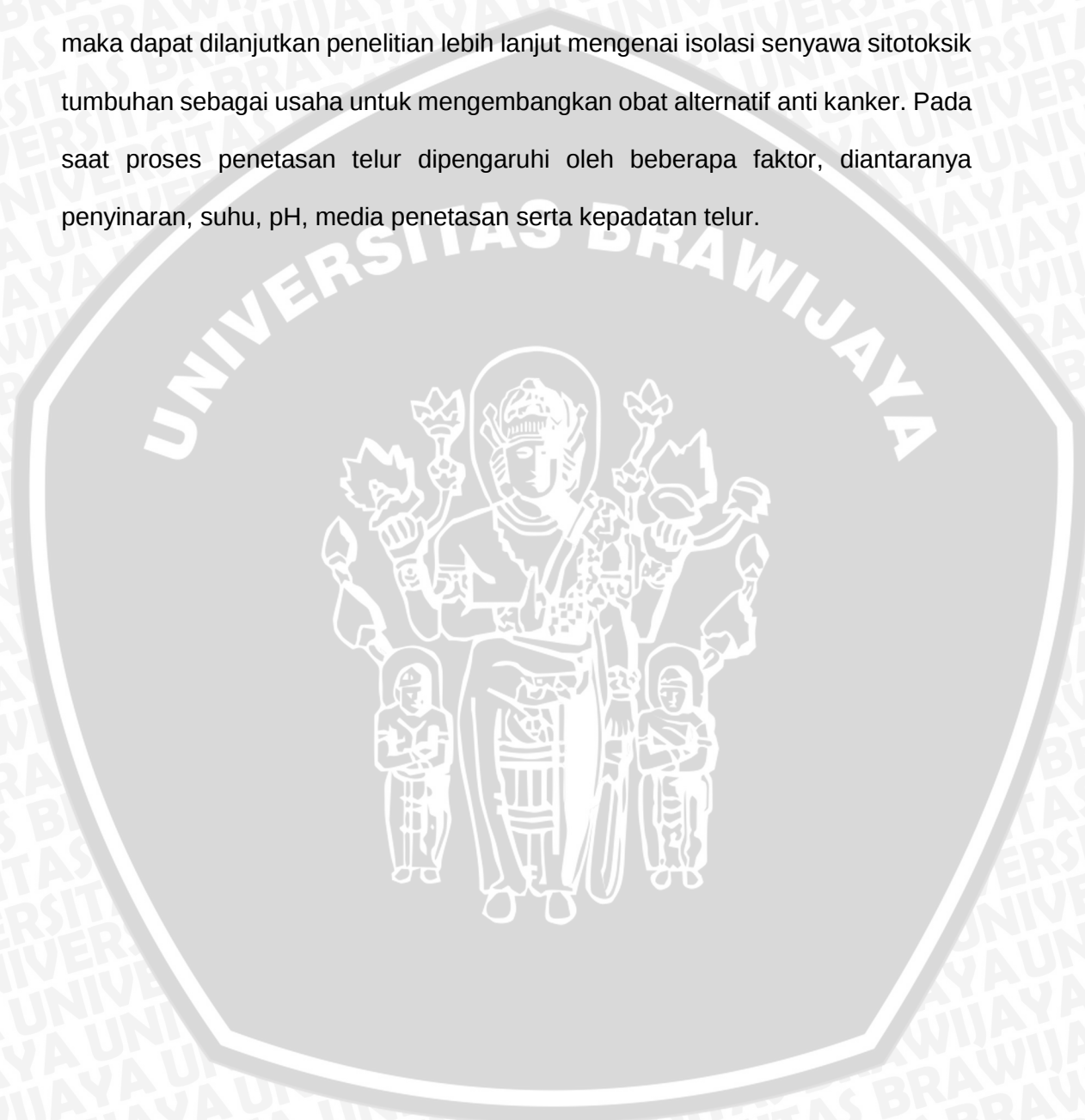


Gambar 10. *Artemia salina*

Menurut Sharo (2013), *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu dari metode skrining yang berfungsi untuk mengetahui sifat toksik dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. Suatu ekstrak bersifat toksik pada uji BSLT apabila ekstrak tersebut menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi ≤ 1000 ppm. Ditambahkan oleh Anggraeni (2015), senyawa kimia yang mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm dikatakan toksik.

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), dipilih karena metode ini merupakan metode penapisan farmakologi yang digunakan untuk penyarian penapisan senyawa kimia anti kanker dan metode ini telah teruji 95% untuk mengamati adanya senyawa toksisitas di dalam ekstrak kasar. Larva udang memiliki kulit yang tipis dan peka terhadap lingkungan sehingga senyawa asing

yang terdapat pada lingkungan akan langsung terserap oleh tubuh dengan cara difusi, kemudian apabila senyawa asing bersifat toksik, larva *Artemia salina* akan mati (Anggraeni, 2015). Ditambahkan oleh Hendrawati (2009), yang menyatakan apabila hasil pengujian BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik, maka dapat dilanjutkan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha untuk mengembangkan obat alternatif anti kanker. Pada saat proses penetasan telur dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya penyiaran, suhu, pH, media penetasan serta kepadatan telur.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah alga coklat *Sargassum filipendula* yang diperoleh dari Pulau Talango, Sumenep, Madura. Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, aseton, n-heksan, etil setat, dan etanol. Bahan kimia ini memiliki grade pro analisis (PA) dengan merk Merck. Selain itu digunakan bahan penunjang lainnya yaitu air, kain saring, gas nitrogen, pelat KLT, alumunium foil, *cling wrap*, tissue, kertas label, aquadest, dan DMSO.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari peralatan untuk ekstraksi dan analisa. Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi antara lain timbangan digital, nampan, *rotary evaporator*, gunting, beaker glass (ukuran 1000 mL, 500 mL, dan 50 mL), erlenmeyer ukuran 1000 mL, gelas ukur 100 mL, corong, spatula, botol sampel, pipet volume 1 mL dan 10 mL, pipet tetes, corong pisah dan bola hisap. Alat yang digunakan untuk analisa yaitu pensil, penggaris, masker, beaker glass 100 mL, pinset, cawan petri, dan botol vial.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif eksploratif. Penelitian deskriptif eksploratif ini ingin mencoba menguji jenis-jenis teori konsep-konsep baru dan pengembangan baru dengan metodologi yang sudah ada tanpa menguji suatu hipotesa tertentu (Saputra, 2012). Metode

deskriptif ini bertujuan untuk mengklarifikasi suatu fenomena, dan jenis penelitian ini tidak sampai mempersoalkan jaringan hubungan yang antar variabel yang ada.

3.2.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian terdiri dari 6 perlakuan yaitu perlakuan A (Kontrol), perlakuan B (Konsentrasi 62,5 ppm), perlakuan C (konsentrasi 125 ppm), perlakuan D (konsentrasi 250 ppm) dan perlakuan E (konsentrasi 500 ppm), dan perlakuan F (konsentrasi 1.000 ppm). Masing - masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan *Artemia* ditebar pada tiap botol vial sebanyak 10 ekor. Data yang diperoleh dari hasil penelitian selanjutnya dianalisa menggunakan % Mortalitas.

Tabel 5. Model Rancangan Penelitian dengan Persentase kematian *Artemia* selama 24 jam menurut Nurhayati et al., (2006)

Mortalitas <i>Artemia</i>	Konsentrasi Ekstrak Kasar Rumput Laut <i>Sargassum filipendula</i>					
	Kontrol (0 ppm)	62,5 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm	1000 ppm
Jam ke-0						
Jam ke-24						
Jumlah						
Rata-Rata						
%Mortalitas						

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100\%$$

Dari persamaan tersebut, apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka %mortalitas ditentukan dengan rumus abbot.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

T = Jumlah larva uji yang mati

K = Jumlah kontrol yang mati

10 = Jumlah larva uji

3.2.2 Parameter Uji

Parameter uji yang dilakukan adalah parameter uji kuantitatif, berdasarkan data yang diperoleh dari hasil perhitungan randemen, perhitungan nilai LC_{50} . Uji toksisitas ekstrak *Sargassum filipendula* dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* dapat dinyatakan termasuk LC_{50} dimana konsentrasi dari suatu senyawa akan menyebabkan kematian sebesar 50%. Semakin tinggi nilai LC_{50} , maka toksisitasnya semakin rendah dan sebaliknya (Wikanta *et al.*, 2010)

Uji toksisitas ekstrak kasar *Sargassum filipendula* dengan hewan uji *Artemia salina* Leach. menggunakan 6 variasi konsentrasi yang terendah sampai tertinggi yaitu 0 ppm (kontrol), 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Setiap konsentrasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Pada setiap perlakuan dimasukkan *Artemia salina* Leach. sebanyak 10 ekor dan dihitung mortalitas *Artemia* setelah 24 jam.

3.2.3 Analisis Data

Pada uji toksisitas pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap respon parameter diukur dengan menggunakan analisis probit pada tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier :

$$y = bx + a$$

dimana, y = angka probit, dan x = log konsentrasi

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

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel alga coklat dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan dibilas dengan air tawar untuk menghilangkan garam yang berasal dari air laut (lingkungan). Selanjutnya sampel dikeringkan dengan kain lap dan dimasukkan ke dalam kantong *polyback* hitam. Selama perjalanan, sampel disimpan dalam *cool box* yang berisi es.

3.3.2 Ekstraksi Rumput Laut

Prinsip dari ekstraksi adalah mengambil senyawa target dengan cara merendam. Ekstraksi rumput laut menggunakan metode maserasi menurut Mu'amar (2009), proses pertama rumput laut coklat *Sargassum filipendula* segar dicuci sampai bersih dan dibersihkan dari epifit dan rumput laut lain yang menempel. Rumput laut segar diambil sebanyak 100 gram dengan menggunakan timbangan digital dan dihaluskan menggunakan blender selama ± 1 menit untuk memperluas permukaan. Lalu ditambahkan $\text{CaCO}_3 \pm 0,5$ gram. Tujuan dari penambahan CaCO_3 adalah untuk menetralkan alga coklat sehingga tidak bersifat basa. Kemudian dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi bertingkat yaitu dengan cara perendaman menggunakan bahan kimia methanol (CH_3OH) dan aseton dengan perbandingan (7:3) v/v sebanyak 200 mL selama 24 jam pada suhu kamar. Adapun tujuan penggunaan metanol (CH_3OH) agar dapat melarutkan semua senyawa organik yang terkandung dalam bahan. Sedangkan penggunaan pelarut aseton (CH_3COCH_3) adalah untuk mengangkat pigmen yang bersifat polar.

Maserasi adalah proses perendaman sampel dengan pelarut organik. Pada proses perendaman akan terjadi proses pemecahan dinding sel dan membran sel pada sampel, akibat perbedaan tekanan antara didalam sel dan

diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang terkandung dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. (Anggraeni, 2015).

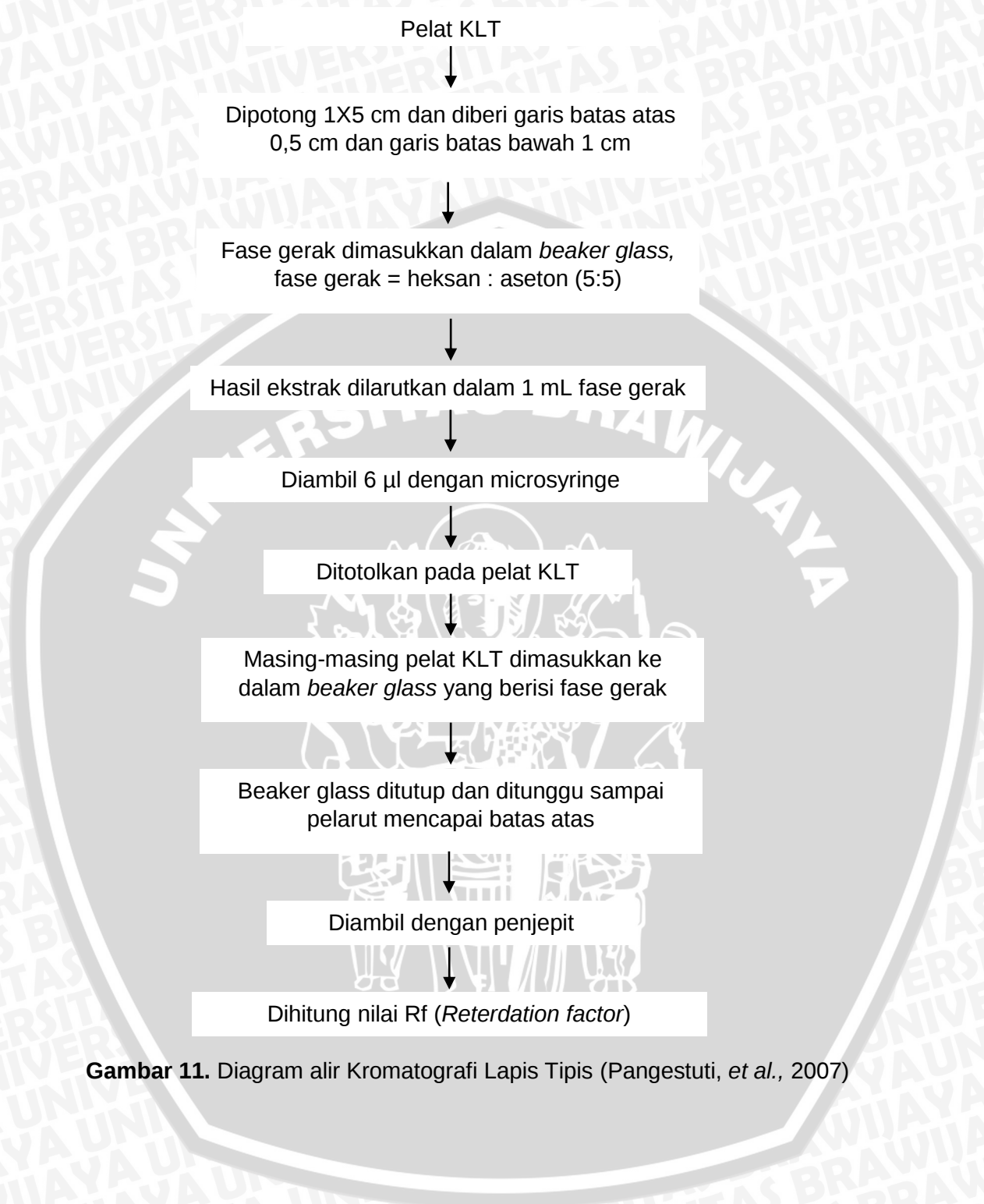
3.3.3 Identifikasi Kandungan Ekstrak Kasar *Sargassum filipendula*

3.3.3.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Penelitian ini menggunakan fase diam *silica gel* F-254 dan fase gerak heksan : aseton dengan perbandingan (5:5). Tahapan pertama dari KLT adalah membuat garis pada pelat dengan menggunakan pensil pada kedua ujung pelat. Bagian bawah pelat berukuran 1 cm yang bertujuan untuk menunjukkan posisi awal fraksi ketika ditotolkan, sedangkan bagian atas pelat berukuran 0,5 cm sebagai batas yang ditempuh pelarut.

Selanjutnya fraksi dari kolom yang ditampung dalam tabung reaksi diambil secukupnya menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan pada pelat KLT sambil ditiup-tiup. Setelah bercak tersebut mengering, pelat dimasukkan dalam *beaker glass* berisi fase gerak dan kertas saring. Fase gerak yang dimasukkan dalam *beaker glass* jumlahnya tidak terlalu banyak sekitar 4 mL. Selanjutnya *beaker glass* ditutup dengan cawan petri dan dibiarkan sampai pelarut bergerak mendekati garis atas. Kemudian diambil dengan pinset tanpa menyentuh garis atas pelat. Total yang terbentuk pada pelat diamati dan dihitung nilai *Rf*-nya (*retardation factor*). Prosedur kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada **Gambar**

11.



Gambar 11. Diagram alir Kromatografi Lapis Tipis (Pangestuti, *et al.*, 2007)

3.3.3.2 Uji Fitokimia

3.3.3.2.1 Alkaloid (Harborne, 1987 dan Adriyadi *et al.*, 2016)

Ekstrak *Sargassum filipendula* @1 mL, dimasukkan dalam 3 tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan 1 mL kloroform (CHCl_3) dan 5 tetes amoniak (NH_3), kemudian dipanaskan dan dikocok. Hasil campuran disaring dan dimasukan ke tabung reaksi. Masing-masing filtrat ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 2 N, kemudian dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi meyer dan dragendorff. Terbentuknya endapan jingga, coklat, dan putih menunjukkan adanya alkaloid. Skema uji alkaloid dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3.2.2 Flavonoid (Nafisah *et. al.*, 2014 dan Sangi *et al.*, 2008)

Ekstrak *Sargassum filipendula* sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 tetes etanol 70% dan dikocok. Kemudian ditambahkan 0,2 gram serbuk Mg dan ditetesi HCl sebanyak 5 tetes. Terbentuk warna jingga hingga merah mengindikasikan adanya flavonoid. Skema uji flavonoid dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3.2.3 Triterpenoid (Adriyadi *et. al.*, 2016)

Ekstrak *Sargassum filipendula* sebanyak 1 mL, dimasukkan tabung reaksi. Sampel dilarutkan dalam 3 tetes asam asetat anhidrat, dan 3 tetes asam sulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna biru atau hijau, dan adanya triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan. Skema uji triterpenoid dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3.2.4 Saponin (Herborne, 1987)

Ekstrak *Sargassum filipendula* sebanyak 1 mL, dimasukkan tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 1 mL aquadest lalu dikocok. Apabila terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan uji positif saponin. Skema uji saponin dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3.2.5 Tanin (Adriyadi *et al.*, 2016)

Ekstrak *Sargassum filipendula* sebanyak 1 mL, dimasukkan tabung reaksi. Sampel dibagi menjadi 2 wadah tabung reaksi. Satu bagian tabung reaksi sebagai kontrol dan sisanya ditetesi dengan larutan FeCl_3 sebanyak 2 tetes. Polifenol positif apabila timbul warna biru sampai hitam. Skema uji tanin dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.4 Parameter yang Diamati

3.4.1 Randemen

Untuk mengetahui kandungan randemen ekstrak kasar maka dilakukan perhitungan randemen. Randemen adalah presentasi produk yang didapatkan dari membandingkan berat awal bahan dengan berat akhirnya, sehingga dapat diketahui kehilangan beratnya pada proses pengolahan. Randemen didapatkan dengan cara (menghitung) menimbang berat akhir bahan yang dihasilkan dari proses dibandingkan dengan berat bahan awal sebelum mengalami proses. Hasil evaporasi kemudian ditimbang, dan dibagi jumlah total alga yang digunakan dikali seratus persen.

3.4.2 Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Rumput Laut Metode BSLT

Uji toksisitas menggunakan Metode Nurhayati (2006), Hasil ekstrak rumput laut diambil, masing-masing dilarutkan dalam 5 mL pelarut dan dibuat

pengenceran 0 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm dengan cara membuat 2000 ppm larutan stok. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* kedalam botol vial kaca yang telah berisi 1 mL larutan ekstrak dan 4 mL air laut. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung dengan bantuan alat kaca pembesar.

Rancangan Penelitian dilakukan dengan pemberian perlakuan konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm dan masing-masing perlakuan dilakukan pengulang 3 kali. Parameter yang digunakan adalah jumlah *Artemia* yang mati 50% dari total larva uji. Kemudian di hitung nilai LC_{50} dengan memasukkan angka probit (50% kematian larva uji).

3.5 Analisis Data

Data pengujian toksisitas diperoleh dari nilai LC_{50} selama 24 jam terhadap hewan uji *Artemia salina*, kemudian analisis regresi linier sederhana menggunakan Microsoft Excel untuk menentukan nilai LC_{50} . Parameter yang digunakan adalah jumlah kematian larva *Artemia salina*. *Artemia salina* yang mati 50% dari total larva uji yang kemudian dihitung dan diperoleh nilai LC_{50} . Efek toksisitas dianalisis persentase kematian *Artemia salina* Lench dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100\%$$

Dengan mengetahui kematian larva *Artemia salina*, kemudian dicari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan garis sebagai berikut :

$$y = a + bx$$

Dimana:

Y = log konsentrasi

X = angka probit

Dari persamaan tersebut, kemudian dihitung LC_{50} dengan memasukkan nilai probit. Nilai probit digunakan untuk mengetahui 50% kematian. Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka %mortalitas ditentukan dengan menggunakan rumus abbot (Nurhayati *et al.*, 2006).



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Randemen Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum filipendula*

Randemen adalah perbandingan berat akhir dengan berat awal dikalikan 100% (Sani *et. al.*, 2014). Randemen juga dapat diartikan sebagai persentase rasio antara berat ekstrak yang dihasilkan terhadap berat awal yang digunakan dikalikan 100 persen (Yudihapsari, 2009). Pada penelitian ini, didapatkan nilai randemen alga coklat *Sargassum filipendula* sebesar $0,286\% \pm 0,000034$.

Berdasarkan hasil dari penelitian, didapatkan rata-rata randemen sebesar $0,286\% \pm 0,000034$. Ekstrak yang dihasilkan stabil, hal ini diduga karena senyawa yang terdapat pada *Sargassum filipendula* sifatnya lebih larut terhadap pelarut bersifat polar dan semi polar. Hal ini sesuai dengan pendapat Leenawaty dan Heriyanto (2011), bahwa senyawa yang terdapat pada *Sargassum filipendula* cenderung bersifat polar, sehingga pelarut organik polar umum digunakan pada proses ekstraksi rumput laut coklat. Ada beberapa pelarut yang sering digunakan untuk proses ekstraksi seperti metanol, aseton, kombinasi antara aseton dan metanol. Hasil uji yang dilakukan Siregar *et. al.*, (2012), terhadap alga coklat dengan menggunakan pelarut polar dihasilkan senyawa fenolik, alkaloid, steroid dan tanin. Sedangkan pada pelarut semi polar akan menghasilkan senyawa steroid. Metode pada saat proses ekstraksi tergantung pada polaritas dari senyawa yang akan diekstrak.

Suarsa *et. al.*, (2011), menyatakan bahwa proses ekstraksi dengan penggunaan pelarut yang berbeda, akan menghasilkan ekstrak yang berbeda pula, pada umumnya pelarut yang bersifat polar akan mendapatkan hasil ekstrak lebih banyak. Ditambahkan oleh Siregar *et. al.*, (2012), ekstraksi menggunakan pelarut tidak dapat menghasilkan komponen yang diinginkan secara sempurna, kecuali dilanjutkan dengan tahap pemurnian. Hal tersebut terjadi karena

komponen lain yang tidak dikehendaki ikut terekstraksi dan sulit untuk dipisahkan yang mengakibatkan ekstrak yang diperoleh mengandung campuran komponen lain, seperti pigmen, vitamin dan asam-asam lemak.

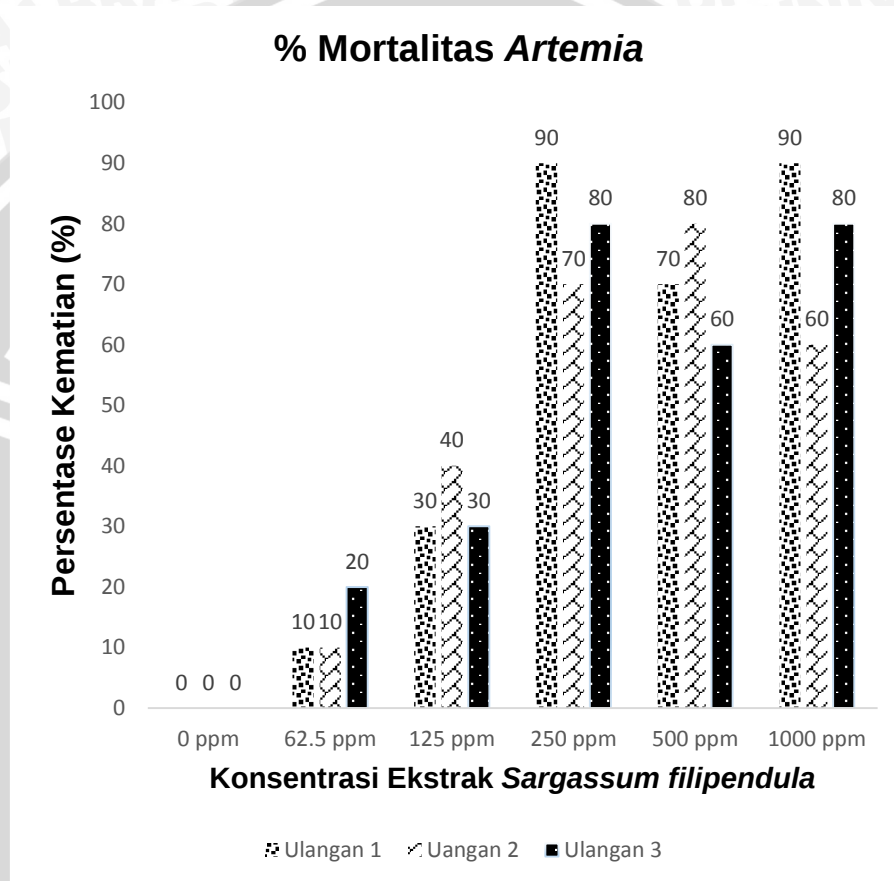
4.2 Uji Toksisitas menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji toksisitas yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode BSLT. Metode BSLT adalah sebuah uji pendahuluan yang digunakan untuk mengetahui suatu senyawa aktif yang bersifat toksik yang ditandai dengan matinya 50% hewan uji *Artemia salina* Leach (FM Andi, 2013). Data yang sudah didapat kemudian di analisis dengan % probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} adalah konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang diperoleh dengan menggunakan regresi linier $Y = a + bx$. Kemudian dihitung anti log sebagai nilai LC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi (Irawan, *et. al.*, 2014). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak (metanol : aseton) dari alga coklat *Sargassum filipendula* dengan konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Pada penelitian ini juga menggunakan kontrol yaitu konsentrasi 0 ppm, tanpa adanya penambahan ekstrak.

Pada tiap perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda dilakukan pengulangan 3 kali dengan larva yang digunakan sejumlah 180 ekor larva. Adanya larva yang mati pada botol vial, disebabkan penambahan ekstrak yang dapat menyebabkan larva mati. Hal ini sesuai dengan penelitian Nurhayati *et. al.*, (2006), yang menyatakan bahwa *Artemia* mati pada tabung percobaan dikarenakan perlakuan (dengan penambahan ekstrak) yang menyebabkan *Artemia* akan mengalami pergerakan tidak beraturan. *Artemia* yang terdapat dalam tabung akan bergerak berputar-putar pada satu titik. Pada pengujian *Artemia* sudah mulai ada yang mati pada pengamatan pertama, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut

bersifat toksik yang menyebabkan kematian *Artemia*. Pengolahan serta perhitungan analisis probit uji toksisitas dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

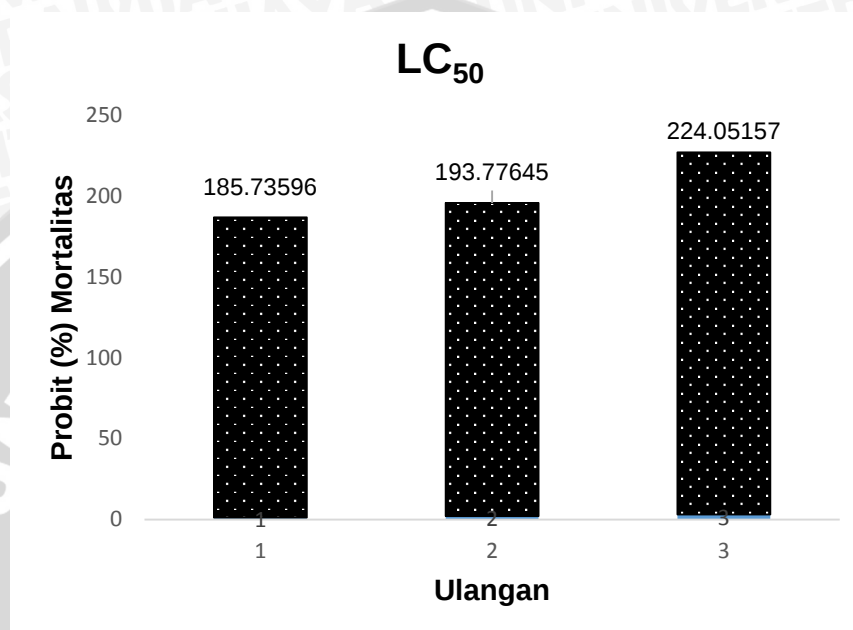
Berdasarkan uji toksisitas ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula*, didapatkan data perhitungan Persentase Mortalitas *Artemia* yang dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Diagram Persentase Mortalitas *Artemia*

Berdasarkan grafik diatas, jumlah kematian larva terbanyak terdapat pada konsentrasi 1000 ppm. Hal ini sejalan dengan pernyataan Subekti (2014), yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka akan menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula. Ditambahkan oleh Nurhayati (2006), adanya flavonoid dalam lingkungan sel menyebabkan gugus OH- dalam flavonoid berikatan dengan protein integral dalam membran sel. Hal ini menyebabkan terbedungnya transport aktif Na^+ dan K^+ . Transpor aktif yang

terhenti dan berkurangnya air pada sitoplasma akan menyebabkan masuknya ion Na^+ tanpa terkendali ke dalam sel yang mengakibatkan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel inilah yang mengakibatkan kematian sel. Adapun Grafik LC_{50} hasil uji toksisitas disajikan pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Diagram nilai LC_{50} hasil uji toksisitas ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula*

Dari grafik diatas, dapat diketahui bahwa semua ulangan termasuk dalam kategori toksik dengan nilai $\text{LC}_{50} \leq 1000$ ppm. Nilai LC_{50} tertinggi terdapat pada ulangan 3 sebesar 224,05157 ppm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Meyer (1982) dalam Prasetyorini *et. al.*, (2011), menyatakan bahwa ekstrak dengan $\text{LC}_{50} \leq 30$ ppm termasuk kategori sangat toksik. Sedangkan LC_{50} diantara 31 ppm - 1000 ppm termasuk dalam kategori toksik dan ≥ 1000 ppm termasuk kategori tidak toksik.

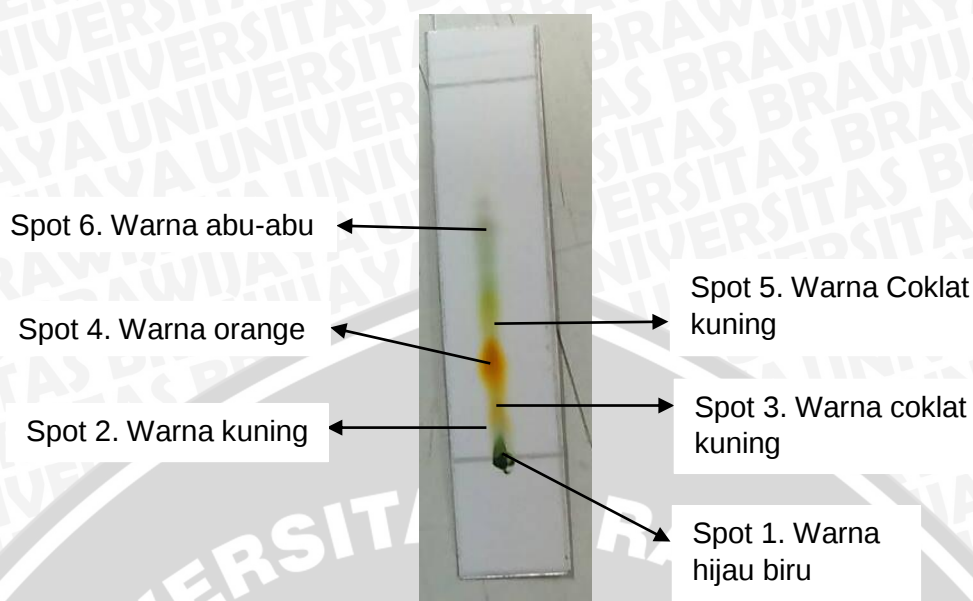
Dari Gambar 12 dan Gambar 13, terlihat taraf variasi konsentrasi larutan ekstrak pada penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Semakin tinggi variasi konsentrasi ekstrak, mortalitas *Artemia salina* juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan pernyataan

Harbone (1994) dalam Oratmangun *et. al.*, (2014), yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka sifat toksiknya akan semakin tinggi. Kematian *Artemia* dalam botol vial karena perlakuan yang menyebabkan disorientasi gerak (gerakannya tidak teratur). *Artemia* bergerak aktif, akan tetapi berputar-putar pada satu titik. Sedangkan untuk *Artemia salina* pada botol vial kontrol (0 ppm), tidak memberikan efek kematian selama 24 jam. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* mempunyai sifat toksik yang menyebabkan kematian *Artemia salina* Leach. hal ini sesuai dengan pernyataan Oratmangun *et. al.*, (2014), bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan apabila dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji kurang dari 1000 ppm.

Ekstrak rumput laut yang bersifat toksik menyebabkan kematian *Artemia salina*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka sifat toksiknya akan semakin tinggi (Oratmangun *et. al.*, 2014). Kematian *Artemia salina* disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya kekurangan suplai O₂ pada saat uji toksisitas karena tidak ada aerasi dan lamanya paparan. Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil uji toksisitas yaitu *Artemia salina* yang berbentuk larva sangat rentan terhadap pencemar.

4.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak *Sargassum filipendula* diidentifikasi pigmennya menggunakan KLT dengan fase diam *silica gel* dan fase gerak heksan : aseton (7 : 3 v/v). Identifikasi pigmen dengan KLT didasarkan pada warna total dan nilai R_f. Hasil dari penelitian ini, menunjukkan jumlah total yang sama untuk semua ulangan perlakuan *Sargassum filipendula* terdiri dari 6 total. Hasil KLT ekstrak kasar *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Hasil Identifikasi KLT Ekstrak *Sargassum filipendula*

Urutan warna dari totol pertama hingga totol terakhir pada identifikasi KLT bisa dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Identifikasi KLT *Sargassum filipendula*

No. Spot	Warna Spot	Faktor Retensi		Pigmen	Sumber literature
		Nilai Rf hasil penelitian	Nilai Rf literatur		
1	Hijau biru	0,003	0,41-0,44	Klorofil α	Wang <i>et. al.</i> , (1995), Resita <i>et. al.</i> , (2010)
2	Kuning	0,03	0,8-1,0	Karoten	Britton <i>et. al.</i> , (1995), Resita <i>et. al.</i> , (2010)
3	Coklat kuning	0,17	0,17-0,34	Xantofil	Heriyanto dan Limantara (2006), Johnson (2007)
4	Orange	0,23	0,17-0,34	Xantofil	Heriyanto dan Limantara (2006), Johnson (2007)
5	Coklat kuning	0,31	0,17-0,34	Xantofil	Heriyanto dan Limantara (2006), Johnson (2007)
6	Abu-abu	0,53	0,50-0,66	Feofitin α	Wang <i>et. al.</i> , (1995), Resita <i>et. al.</i> , (2010)

Hasil analisis KLT pada tabel diatas, menunjukkan bahwa dalam ekstrak *Sargassum filipendula* mengandung 6 pigmen. Ada 2 spot yang diidentifikasi sebagai kelompok pigmen klorofil (spot 1 dan 6) dan 4 spot diidentifikasi sebagai

kelompok pigmen karotenoid (spot 2,3,4, dan 5). Leenawaty dan Heriyanto, (2010), menyatakan bahwa rumput laut coklat mempunyai thallus yang berasal dari campuran pigmen klorofil dan pigmen karotenoid. Paransa *et. al.*, (2014), menyatakan bahwa alga mengandung 3 jenis pigmen utama yaitu klorofil, karotenoid dan fikobilin. Pigmen karotenoid bekerja sebagai provitamin A, membunuh bakteri dan mencegah kanker.

Spot 5 dan 6 diidentifikasi sebagai karotenoid berupa xantofil dengan nilai 0,17 (spot 3), 0,23 (spot 4) dan 0,31 (spot 5), hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Heriyanto dan Limantara (2006), Johnson (2007) dengan nilai Rf xantofil sebesar 0,14-0,34. Karotenoid menurut Freters *et. al.*, (2013), merupakan pigmen yang dapat disintesis oleh semua organisme fotosintetik dan fungi. Karotenoid termasuk dalam kelas terpenoid berupa rantai poliena dengan 40 karbon yang dibentuk didalam unit isoprena C_5 . Karotenoid dikelompokkan menjadi 2 yaitu kelompok hidrokarbon ($C_{40}H_{56}$) dan xantofil yang merupakan turunan karoten teroksigenasi.

4.4 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Rumput laut mempunyai senyawa metabolit sekunder yang mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Afriani, *et. al.*, 2014). Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* memiliki hasil positif uji fitokimia untuk senyawa flavonoid, saponin, dan tanin, serta memiliki hasil negatif untuk uji fitokimia untuk senyawa triterpenoid dan alkaloid. Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Alga Coklat *Sargassum filipendula*

Golongan Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	(+) terbentuk warna jingga, merah, kuning
Saponin	+	(+) terbentuk busa
Tanin	+	(+) terbentuk warna biru tua atau hijaukehitaman
Triterpenoid	-	(+) terbentuk warna ungu atau merah
Alkaloid		
- Reagen Mayer	-	(+) terbentuk endapan putih
- Reagen Dragendorf	-	(+) terbentuk endapan jingga

Keterangan :

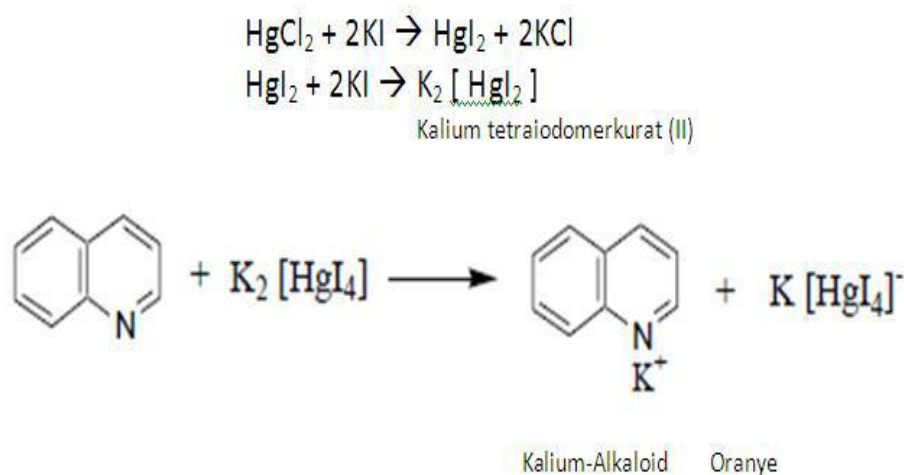
Tanda (+) : Terkandung senyawa dan bercak warna

Tanda (-) : Tidak terkandung senyawa dan tidak terdapat bercak warna

Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Serta mengandung hasil negatif pada uji triterpenoid (steroid) dan uji alkaloid. Menurut Eva, (2014), Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa, yang mengandung atom nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya. Alkaloid juga mengandung substituen bervariasi seperti gugus amida, amina, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar.

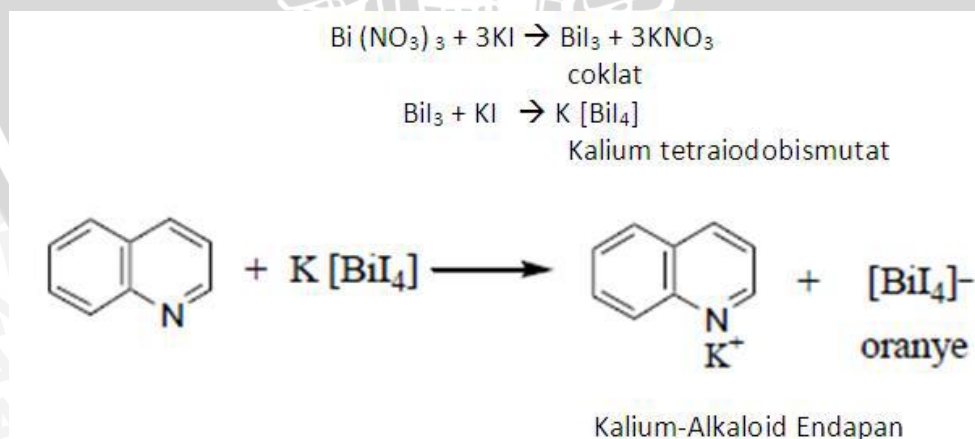
Pada pengujian alkaloid dilakukan penambahan HCl sebelum ditambahkan pereaksi karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam. Pada pengujian alkaloid diperoleh hasil yang positif dengan terbentuknya endapan dari penggantian ligan baik endapan berwarna putih maupun jingga. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion iod dalam pereaksi Dragendorff dan Mayer. Dengan pereaksi Mayer diperoleh larutan berwarna putih sesuai dengan reaksi pada

Gambar 15.



Gambar 15. Reaksi Mayer (Simaremare, 2014)

Akan tetapi pada pengujian ekstrak kasar *Sargassum filipendula* tidak diperoleh reaksi yang positif baik uji Mayer dan Dragendorff. Pada uji Dragendorff tidak menyebabkan terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi Dragendorff karena ekstrak kasar *Sargassum filipendula* tidak memiliki atau mungkin sedikit memiliki alkaloid dimana nitrogen tidak digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan jingga (Simaremare, 2014). Reaksi Uji Dragendorff dapat dilihat pada **Gambar 16**.



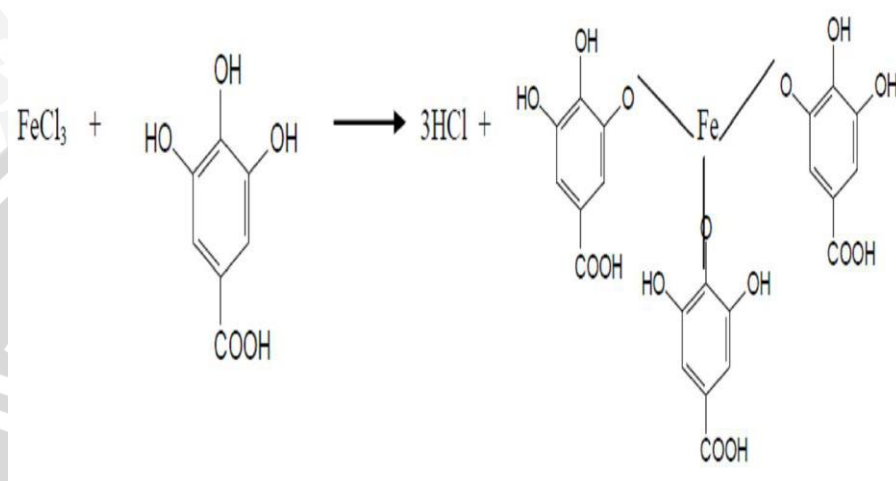
Gambar 16. Reaksi Uji Dragendorff (Simaremare, 2014)

Saponin adalah glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (I Gusti, 2014). Saponin bersifat seperti sabun, dan larutan dalam airnya mudah membentuk buih yang dapat memberikan pengaruh toksik terhadap hewan apabila masuk melalui pencernaan tidak akan beracun (Kayani, *et. al.*, 2012). Senyawa yang mempunyai gugus polar dan non-polar bersifat aktif di permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap keluar, sedangkan gugus non polar menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa (Sangi *et. al.*, 2012). Dalam analisis ini, ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula*, hasil uji saponinnya positif memiliki kemampuan untuk membentuk busa.

Hasil uji fitokimia ekstrak *Sargassum filipendula* positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Menurut Putri *et. al.*, (2012), Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai faktor pertahanan alam, seperti mencegah serangan bakteri, yang ditemukan pada sebagian besar tanaman. Flavonoid juga berfungsi sebagai anti mikroba, dan diduga dapat bersifat toksik pada kadar tertentu. Robinson (1991), menyatakan bahwa penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pada pengujian flavonoid akan menimbulkan reaksi warna merah, jingga, kuning yang merupakan ciri dari flavonoid. Hasil analisis penelitian serbuk magnesium memberikan reaksi reduksi senyawa flavonoid sehingga larutan uji memberikan perubahan warna yaitu jingga.

Tanin mempunyai gugus phenol yang larut dalam air. Kelarutannya akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Tanin juga akan larut pada pelarut organik seperti etanol, metanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin bersifat fungistatik, bakteristatik dan merupakan racun. ekstrak yang ditambahkan FeCl_3 dan terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan adanya senyawa tanin. Perubahan warna yang terjadi karena penambahan FeCl_3 , karena terbentuknya Fe^{3+} pada tanin dan Fe^{3+} pada polifenol. Atom oksigen pada tanin

dan polifenol mempunyai pasangan elektron pada Fe^{3+} yang membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga menjadi satu kompleks (Putri *et. al.*, 2014). Pada hasil uji fitokimia ekstra alga coklat *Sargassum filipendula* positif mengandung tanin, karena terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua saat pengujian. Reaksi uji tanin dapat dilihat pada **Gambar 17**.



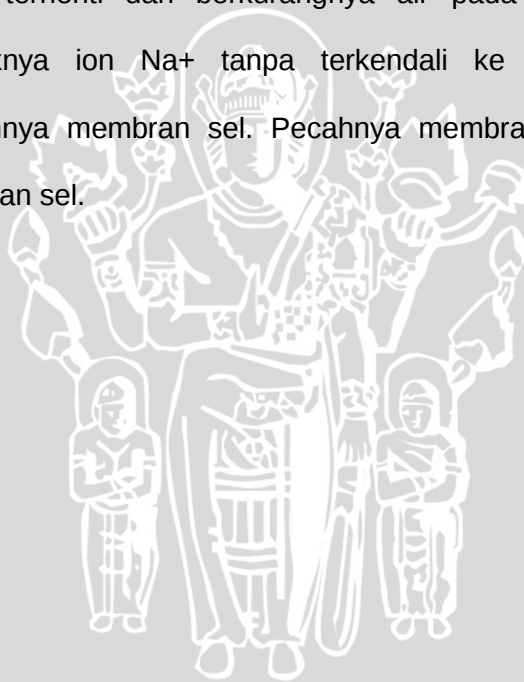
Gambar 17. Reaksi Uji Tanin Dengan Pereaksi FeCl_3 (Simaremare, 2014)

Senyawa steroid atau triterpenoid berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian steroid dan triterpenoid didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna (Yunianto, *et. al.*, 2014). Hasil yang diperoleh positif steroid, apabila terbentuk warna biru atau hijau, dan apabila membentuk warna ungu maka positif triterpenoid (Nafisah *et. al.*, 2014). Pada hasil uji fitokimia ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* negatif mengandung steroid (tidak terbentuk warna biru atau hijau) dan tidak mengandung triterpenoid (tidak terbentuk warna merah atau ungu). Menurut Robinson (1991), pada penambahan pereaksi, molekul-molekul asam asetat anhidrat dan asam sulfat akan berikatan dengan molekul senyawa triterpenoid atau steroid sehingga menghasilkan reaksi yang tampak pada setiap perubahan warna.

Mortalitas larva pada hewan uji disebabkan adanya kandungan senyawa kimia tanaman yang berupa terpenoid, flavonoid, dan saponin yang terkandung

pada ekstrak. Senyawa tersebut merupakan senyawa kimia pertahanan tanaman yang termasuk metabolit sekunder yang dapat bersifat toksik. Toksisitas merupakan parameter untuk mengetahui gejala dan tingkat kematian hewan uji akibat pemberian suatu senyawa. Suatu ekstrak dikatakan toksik apabila memiliki nilai LC_{50} (konsentrasi yang mampu membunuh 50% larva udang) ≤ 1000 ppm setelah 24 jam (Putra, *et. al.*, 2016).

Menurut Nurhayati (2006), adanya flavonoid dalam lingkungan sel menyebabkan gugus OH- dalam flavonoid berikatan dengan protein integral dalam membran sel. Hal ini menyebabkan terbundungnya transport aktif Na^+ dan K^+ . Transpor aktif yang terhenti dan berkurangnya air pada sitoplasma akan menyebabkan masuknya ion Na^+ tanpa terkendali ke dalam sel yang mengakibatkan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel inilah yang mengakibatkan kematian sel.



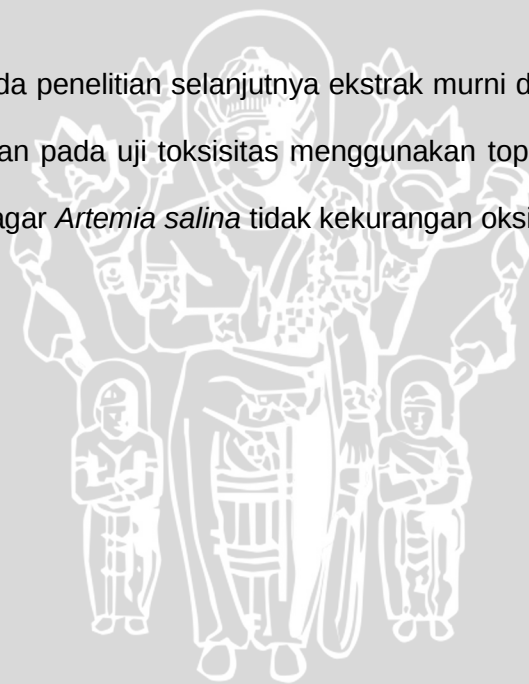
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina*. Hampir semua tingkat konsentrasi memberikan efek toksik terhadap *Artemia salina* kecuali pada konsentrasi 0 ppm. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* mempunyai sifat toksik yang menyebabkan kematian *Artemia salina*.

5.2 Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya ekstrak murni di purifikasi melalui kromatografi kolom, dan pada uji toksisitas menggunakan toples yang berisi air laut dan diberi aerasi agar *Artemia salina* tidak kekurangan oksigen.



DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, N., N. Idiawati., A.H. Alimuddin. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Jurnal Kesehatan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. Pontianak. 7 hlm.
- Aisyah, T. S., A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia ekstrak Rumpun Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Fakultas Sains dan Teknik. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto. 7 hlm.
- Al-Ash'ary, M.N., F.M.T. Supriyanti., Zackiyah. 2010. Penentuan Pelarut Terbaik Dalam Mengekstraksi Senyawa Bioaktif Dari Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia.
- Arifianti, L., R.D. Oktarina., I. Kusumawati. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Ortosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya. 4 hlm.
- Astarina, N.W.G., Astuti, K.W., Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia EKstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali. 7 hlm.
- Artini, P. E. U. D., K.W. Astuti., N. Warditiani. K.2013. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal*. Jurusan Farmasi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali. 7 hlm.
- Cardoso, S. M., O. R. Pereira., A. M. L. Seca., D. C. G. A. Pinto., A. M. S. Silva. 2015. Seaweeds as Preventive Agents for Cardiovascular Diseases from Nutrients to Functional Foods. Departement of Chemistry and QOPNA. University of Aveiro, Aveiro. Portugal. 28 page.
- Chemat, F., M.A. Vian., G. Cravotto. 2012. Green Extraction of Natural Product: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences*. University Avignon, Avignon. France. 13 page.
- Day, R. A. and Underwood. 1998. Analisa Kimia Kuantitatif. Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka
- Dinas Kelautan dan Perikanan. 2015. Capaian Produksi Rumpun Laut Kabupaten Sumenep. Madura. Jawa Timur.
- Eva, S.S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Jurnal Pharmacy*. Fakultas MIPA. Universitas Cendrawasih. Jayapura. 10 hlm.

- Faskalia., M.A. Wibowo. 2014. Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas, Antioksidan dan Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol Pada Akar dan Kulit Batang Soma (*Ploiarium alternifolium*). Fakultas MIPA. Universitas Tanjung Pura. 6 hlm.
- Fathiyawati. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus racemosa* Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Fatimah, S. 2009. Studi Kadar Klorofil dan Zat Besi (Fe) Pada Beberapa Jenis Bayam Terhadap Jumlah Eritrosit Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Anemia. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. 94 hlm.
- FM, A. R. 2013. Skrining Bakteri Simbion Spons Asal Perairan Pulau Polewali dan Pulau Sarappolombo Sebagai Penghasil Anti Bakteri Terhadap Bakteri Patogen Pada Manusia dan Ikan. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hassanudin. Makassar
- Frete, H.D., A.B. Susanto., B. Prasetyo dan L. Limantara. 2012. Karotenoid Dari Makroalgae dan Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Universitas Ma Chung. Malang
- Ghada, S. E., A. E. Wafa., K. A. Shaaban., M. E. E. El-Naggar., M. Shaaban. 2011. Bioactive Constituents and Biochemical Composition of the Egyptian Brown Alga *Sargassum suprepandum* (forsk). Institute of Organic and Biomolecular Chemistry. University of Gottingen. Germany. 13 page.
- Hendi, P. Y., I. Widowati., O.K. Radjasa. 2014. Skrining Antibakteri Rumput Laut *Sargassum plagyophyllum* dari Perairan Bandengan Jepara Terhadap Bakteri Patogen *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. FPIK. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hendrawati, A.R.E. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hernani., T. Marwati., C. Winarti. 2007. Pemilihan Pelarut Pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galangal*) Secara Ekstraksi. *Jurnal Pascapanen* 4 (1) 2007: 1-8. Balai Besar Pengembangan Pasca Panen Pertanian
- I Gusti, A.I.P.A. 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Sebagai Penyebab Abses Periodontal Secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas Mahasaraswati Denpasar. Bali. 80 hlm.
- Jannah, M., A. Hanapi dan A.G. Fasya. 2014. Uji Toksisitas Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan N-Heksan Alga Coklat *Sargassum vulgare* Dari pantai Kapong Pamekasan Madura. *ALCHEMY* 3 (2): hal 194-203.
- Kailola, I. N., A. B. Susanto., B. Prasetyo., Indriatmoko, Leeenawaty, L., Tatas, H. P. B. 2012. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Pada Komposisi Pigmen dan Kandungan *Trans*-Fukosantin Rumput Laut Coklat *Padina australis*. Universitas Ma Chung. Malang. 13 hlm.

- Katarzyna, C., A. Saeid., Z. Wikowska., L. Tuhy. 2012. Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts – The Prospects for the Application. *Open Conference Proceedings Journal*. Institute of Inorganic Technology and Mineral Fertilizers. Wroclaw University of Technology. 9 page.
- Kayani, W., M. Fifendy dan Rizki. 2013. Daya Hambat Infusa Daun Bayam Ungu (*Alternanthera brasiliiana Kuntze*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. Universitas Negeri Padang. Sumatera Barat. 6 hlm.
- Kilinc, B., S. Cirik., G. Turan., H. Tekogul., E. Koru. 2013. Seaweeds for Food and Industrial Applications. <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>. Diakses Pada Hari Rabu tanggal 13 Maret 2016 pukul 21.09 WIB.
- Lee, J., H. Huang., F. Cang., C. Yeh. 2013. Marine algal Natural Product with Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, and Anti-Cancer Properties. *Cancer Cell International*. (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>). Diakses Pada Hari Rabu tanggal 13 Maret 2016 pukul 20.03 WIB.
- Leenawaty, L. dan Heriyanto. 2011. Optimasi proses Ekstraksi Fukosantin Rumput Laut Coklat *Padina australis* Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Universitas Ma Chung. Malang
- Limantara, L., dan Rahyu S. 2008. Buku Panduan Praktikum. Widya Sari Press. Salatiga
- Lowysa, W.S. 2009. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Kuant Buah Sentul (*Sandoricum koetjape* (Burm. f.) Merr) Terhadap Beberapa Bakteri Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Sumatra Utara. Medan
- Marlinda, M., M.S. Sangi., A.D. Wuntu. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Unstat. Manado
- Meyer, B.N., Ferrigni NR., Putnam JE, Jacobsen L.B., Nicols D.E., dan Mc. Laughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A Covenant General Biomassay For Active Plane Constitueent. *Planta Medica*.
- Mioara, D. 2011. *Artemia salina*. *Balneo-Research-Journal*. SC Biosafety SRL-D. Vol.2, Nr.4, 2011. 4 page.
- Mukhariani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kessehatan. UIN Alauddin Makassar
- Nafisah, M., Tukiran., Suyanto., dan N. Hidayati. 2014. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform, Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). FMIPA. Universitas Negeri Surabaya. Surabaya.
- Nita, K. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas α -Glukosidase Hasil Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat Herbal Meniran (*Phyllatus nuruni L.*) dan Penapisan Fitokimia Fraksi Teraktif. Skripsi. Universitas Indonesia. 100 hlm.

- Noer, M. S., R. Ningsih., Nasichuddin., A. Hanapi. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Euclima cottonii*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang. 8 hlm.
- Nurdiana, D. N. dan L. Limantara. 2008. Ragam Pigmen Rumput Laut Coklat: Potensi dan Aplikasi. Departemen Biologi, Universitas Airlangga. Surabaya
- Nurhayati, A.P.D., N. Abdulgani dan R. Febrianto. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Euclima alvarezii* Terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Jurnal Akta Kimindo* 2 (1): 41-46
- Oratmangun, S.A., Fatimawali., W. Bodhi. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L) Terhadap *Artemia salina* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Anti Kanker. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. FMIPA. UNSTRAD. Manado. 9 hlm.
- Paransa, D.S.J., K.Kemer., A.P. Rumengan., dan DMH Mantiri. 2014. Analisis Jenis Pigmen dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pigmen Xantofil Pada Alga Coklat *Sargassum polycystum* (C.Agardh). *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSTRAT. 7 hlm.
- Prasetyorini., I.Y. Wiendarlina., A.B. Peron. 2011. Toksisitas Beberapa Ekstrak Rimpang Cabang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Pada Larva Udang (*Artemia salina* Leach). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Fitofarmaka, Vol 1. No.2, Februari 2011 : 14-21.
- Prima, M. I. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ganggang Merah (*Glacilaria verucosa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Gram Positif dan Gram negatif. Fakultas kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarifhidayatulloh. Jakarta.
- Putra, I.W.P.E., S.R. Santi., dan N.L. Rustini. 2016. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Sitotoksik Daun Nagasari (*Calophyllum nagassarium* Burm.f.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Jurnal Kimia*. FMIPA. Universitas Udayana. Bali. 7 hlm.
- Putri, W.S., N.K. Warditiani dan L.P.F. Larasanty. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Universitas Udayana. Bali. 60 hlm.
- Resita, D., W. Merdekawati., A.B. Susanto., L. Limantara. 2010. Kandungan dan Komposisi Pigmen *Sargassum* sp. Pada Perairan Teluk Awur, Jepara Dengan Perlakuan Segar dan Kering. *Jurnal Perikanan*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. 9 hlm.
- Reskika, A. 2011. Evaluasi Potensi Rumput Laut Coklat (*Phaeophyceae*) dan Rumput Laut Hijau (*Chlorophyceae*) Asal Perairan Takalar Sebagai Antibakteri *Vibrio spp*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Hassanudin. Makassar. 32 hlm.

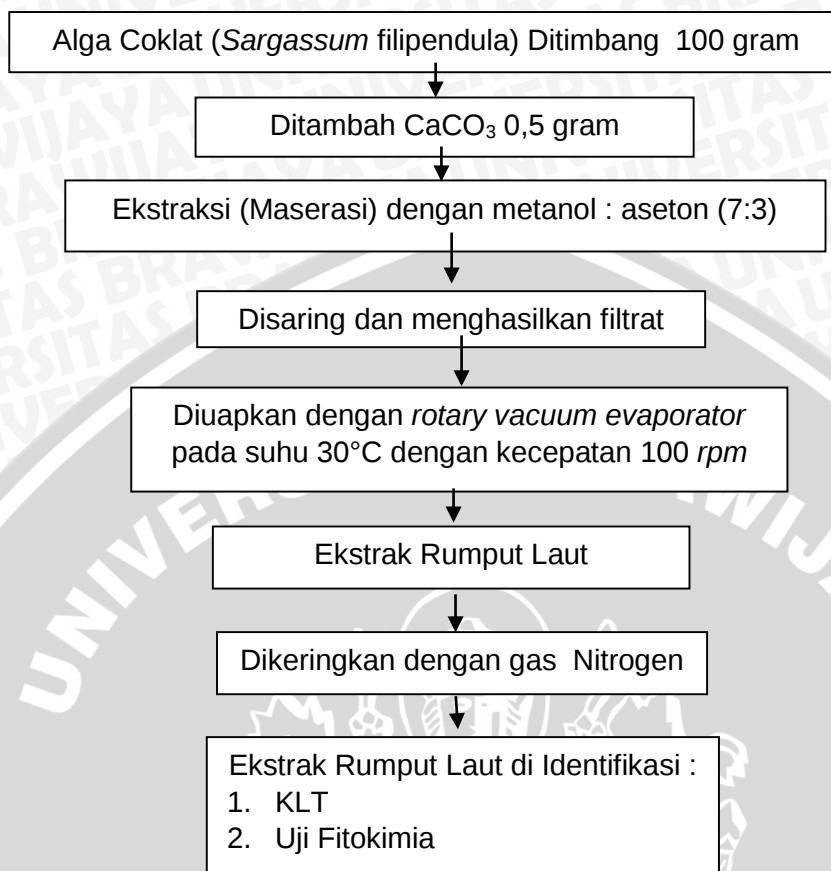
- Retno, C.D. 2009. Uji Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L). Skripsi. Universitas Sebelas Maret : Surakarta. 121 hlm.
- Ristyana, I. P. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang. 104 hlm.
- Robinson, T. 1991. The Organic Constituents of Higher Plants, 6 Th Edition. Terjemahan oleh Kokasih Padmawinata. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung. 284 hlm.
- Sangi, M. S., L.I. Momuat dan M. Kumaunang. 2012. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains* 12 (2): 127-134
- Sani, R.N., C.N. Fithri., D.A. Ria., M.M. Jaya. 2014. Analisis Randemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 2 No. 2. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Santi, R. A., S. T. C., Triwisari, D. A. 2012. Komposisi Kimia dan Profil Polisakarida Rumput Laut Hijau. FPIK. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Septiana, A.T., A. Asnani., 2012. Kajian Sifat Fisiko Kimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto. 8 hlm.
- Saputra, A. 2012. Metode Penelitian Kuantitatif. Stikes Adiguna Palembang. Program Studi DIII Keperawatan.
- Sharp, K.A., E.R. Johnson. 2011. Water : Struktur and Properties. University of Pennsylvania. USA
- Sharo, N.M., R, Ningsih., A. Nasichuddin., A. Hanapi. 2013. Uji Toksisitas Dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang. 8 hlm.
- Simaremare, S.E. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Jurnal Pharmacy*. Fakultas MIPA. Universitas Cendrawasih. Jayapura. 10 hlm.
- Siregar, A.F., A. Sabdano 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. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suarsa, I.W., P. Suarya dan I. Kurniawati. 2011. Optimasi Jenis Pelarut dalam Ekstraksi Zat Pewarna Alam dari Batang Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L. cv kepok) dan Batang Pisang Susu (*Musa paradisiaca* L. cv susu). *Jurnal Kimia* 5 (1): 72-80

- Subekti, N.K. 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (*Aglaia elliptica* Blume) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Proposal Penelitian. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 56 hlm.
- Sudjaji. 1986. Pemisahan Spektroskopi. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Hal 167 – 177.
- Sumenda, L., L.R. Henny., R.M. Feky. 2011. Analisis Kandungan Klorofil daun Mangga (*Mangifera indica* L.) pada Tingkat Perkembangan Daun yang Berbeda. FMIPA. Universitas Samratulangi. Manado. 5 hlm.
- Supriana, A. 2012. Ciri, Senyawa dan Kegunaan dari Nitrogen <http://agussupriana.blogspot.co.id/2012/04/ciri-senyawa-dan-kegunaan-dari-nitrogen.html>. Halaman 1. Diakses pada tanggal 20 Juni 2016vpada pukul 02:20 WIB
- Suptiyono, T. 2008. Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total dan aktivitas “Merantas” Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna Radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan Konsentrasi Glukosa. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Susanti, A.D., D. Ardiana., G. Gumelar., Y. Bening. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa glatinosa*). Simposium Nasional RAPI XI FT UMS 2012. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Susanti, S. 2010. Penerapan Kadar Formaldehid Pada Tahu yang Dijual di Pasar Ciputat Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis Disertai Kolorimetri Menggunakan Pereaksi Nash. Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatulloh. Jakarta
- Taroreh, M., S. Raharjo., P. Hastuti., A. Murdiati. 2015. Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L) Secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 8 hlm.
- Tatrayana, P.B., E. Zubaidah. 2015. Karakteristik Fisik-Kimia Dari Ekstrak Salak Gula Pasir Dengan Metode Ekstraksi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 12 hlm.
- Wijesekera, R.O.B. 1991. The Medicinal Plant Industry. CRC Press, London. 236 hlm.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 251 hlm.
- Winarno, S., W.F. Ma'ruf., E.N Dewi. 2012. Uji Bioaktifitas Ekstrak *Gelidium* sp. Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang

Yudihapsari, E. Kajian Kadar Protein, pH, Viskositas dan Randemen Kecap Whey dari Berbagai Tingkat Penggunaan Tepung Kedelai. Universitas Brawijaya. Malang. 5 halaman

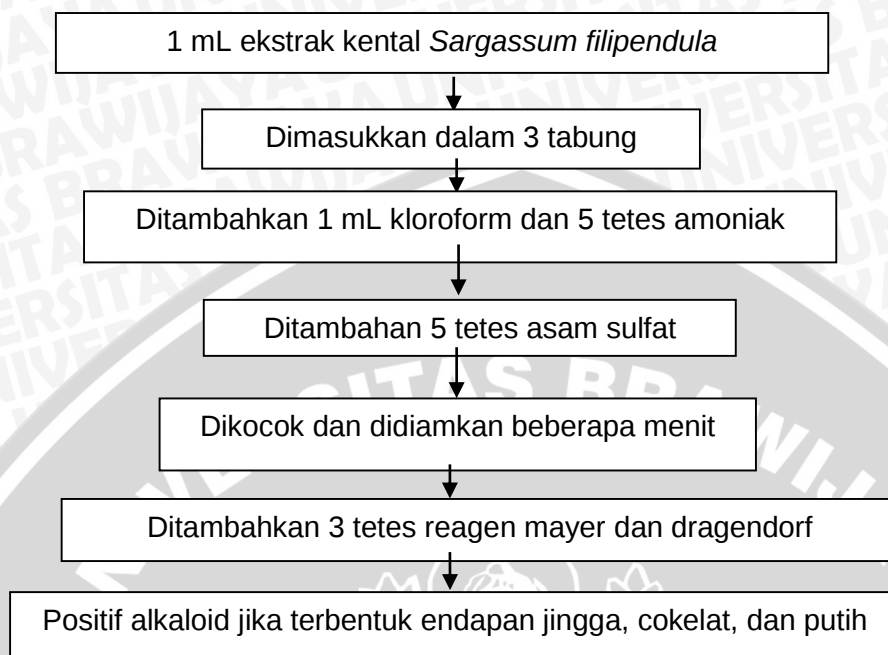
Yunianto, H. P., I. Widowati dan O.K. Radjasa. 2014. Skrining Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum plagyophyllum* dari Perairan Bandengan Jepara Terhadap Bakteri Patogen *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Marine Research* 3 (3): 165-172.



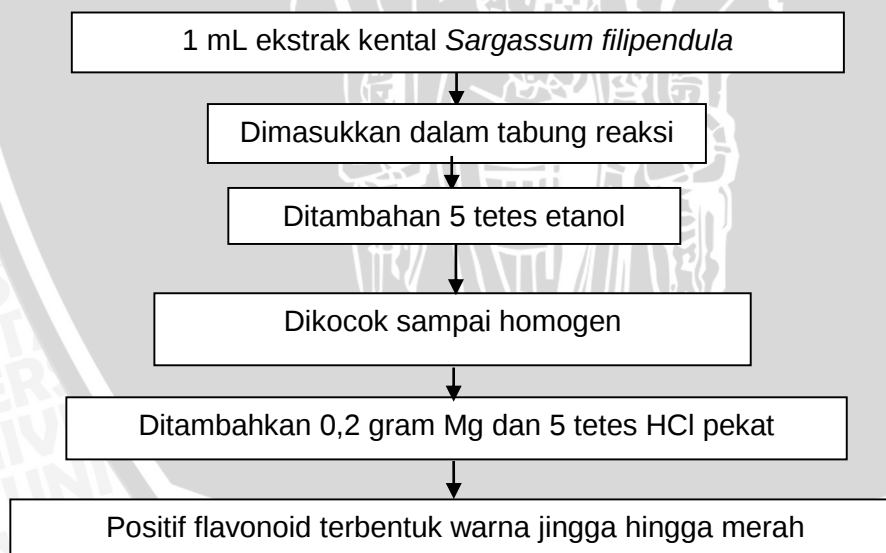
Lampiran 1. Alur Proses Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum filipendula*

Lampiran 2. Uji Fitokimia

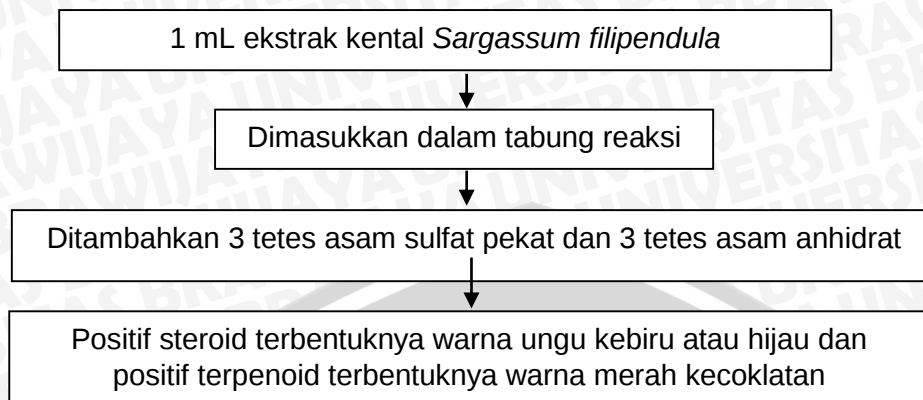
a. Uji Alkaloid (Harborne, 1987 dan Adriyadi *et al.*, 2016)



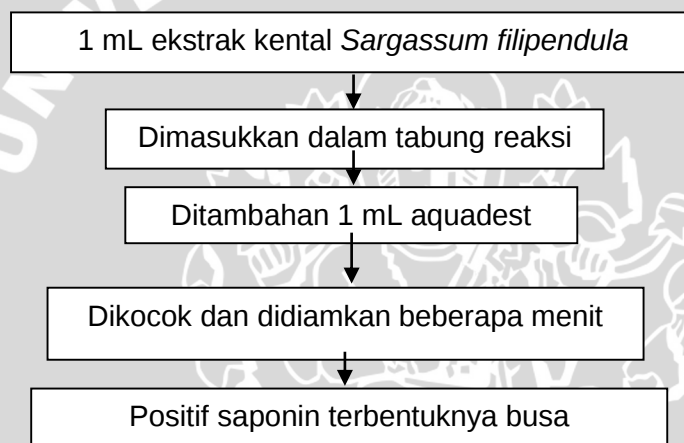
b. Uji Flavonoid (Nafisah *et. al.*, 2014 dan Sangi *et al.*, 2008)



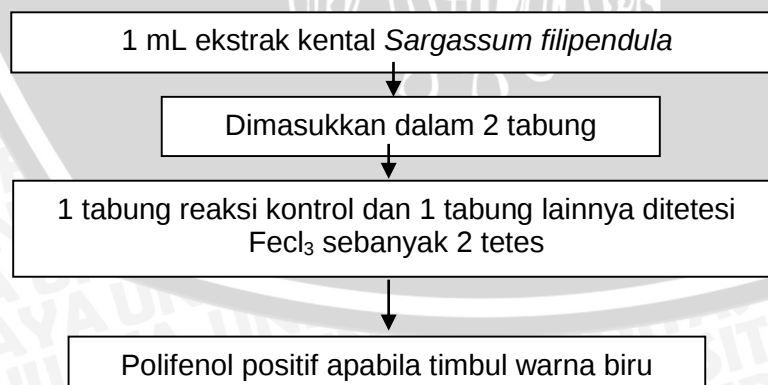
c. Uji Triterpenoid (Adriyadi *et. al.*, 2016)

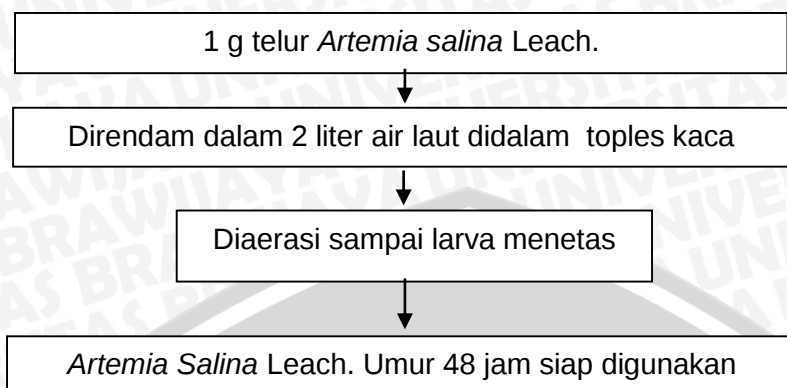


d. Uji Saponin (Herborne, 1987)



e. Tanin (Adriyadi *et al.*, 2016)



Lampiran 3. Penetasan Telur *Artemia Salina* Leach. (Muaja et. al., 2013)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji

- ❖ Larutan Ekstrak Konsentrasi (2000 ppm)

$$\frac{x}{20 \text{ mL}} = \frac{20}{1.000.000}$$

$$x \times 1.000.000 = 20 \times 2000$$

$$x = \frac{40.000}{1.000.000}$$

$$x = 0,04 \text{ gram}$$

Ekstrak kasar 0,04 gram ditambah DMSO 0,2 mL dan air laut sampai volumenya 20 mL, maka akan menghasilkan 2000 ppm.

- ❖ Larutan Ekstrak (Konsentrasi 1000 ppm)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 2000 = 5 \times 1000$$

$$V_1 = \frac{5000}{2000}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

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

- ❖ Larutan Ekstrak (Konsentrasi 500 ppm)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 2000 = 5 \times 500$$

$$V_1 = \frac{2500}{2000}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ mL}$$

Mengambil 1,25 mL dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai 5 mL, maka akan dihasilkan 500 ppm.

- ❖ Larutan Ekstrak (Konsentrasi 250 ppm)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 2000 = 5 \times 250$$

$$V_1 = \frac{1250}{2000}$$

$$V_1 = 0,625 \text{ mL}$$

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

- ❖ Larutan Ekstrak (Konsentrasi 125 ppm)

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 2000 = 5 \times 125$$

$$V_1 = \frac{625}{2000}$$

$$V_1 = 0,3125 \text{ mL}$$

Mengambil 0,3125 mL dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai 5 mL, maka akan dihasilkan 125 ppm.

- ❖ Larutan Ekstrak (Konsentrasi 62,5 ppm)

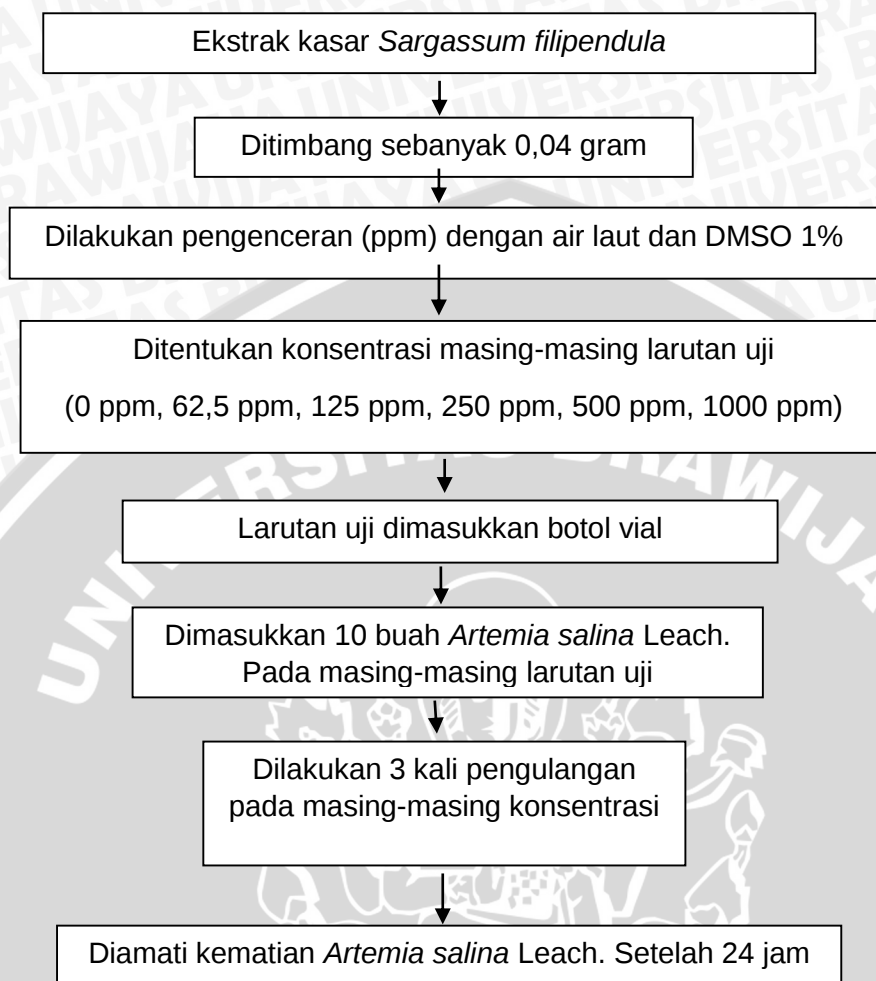
$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 2000 = 5 \times 62,5$$

$$V_1 = \frac{312,5}{2000}$$

$$V_1 = 0,156 \text{ mL}$$

Mengambil 0,156 mL dari konsentrasi 2000 ppm dan ditambah air laut sampai 5 mL, maka akan dihasilkan 62,5 ppm.

Lampiran 5. Skema Uji Toksisitas (Fajarningsih et al., dan Anggraeni, 2015)

Lampiran 6. Data Randemen

Ekstrak Kasar	Ulangan	Gram Sampel	Randemen (%)	Standart Deviasi
<i>Sargassum filipendula</i>	1	100 gram	0,29	0,286% ± 0,000034
	2		0,28	
	3		0,29	

Lampiran 7. Perhitungan Kadar Randemen Ekstrak *Sargassum filipendula*

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{0,29}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 0,29\%$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{0,28}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 0,28\%$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{0,29}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 0,29\%$$

$$\text{Rata - Rata Randemen} = \frac{0,29 + 0,28 + 0,29}{3} = 0,286\%$$

Standart Deviasi :

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}$$

$$S = \frac{(0,29 - 0,286)^2 + (0,28 - 0,286)^2 + (0,29 - 0,286)^2}{3 - 1}$$

$$S = \frac{1,6^{-5} + 3,6^{-5} + 1,6^{-5}}{2}$$

$$S = \frac{6,8^{-5}}{2}$$

$$S = 3,4^{-5}$$

Nilai Randemen = 0,286% ± 0,000034

Lampiran 8. Larutan

- **Larutan Ekstraksi**

Metanol : Aseton (7 : 3 v/v) → 200 mL

$$\text{Metanol} = \frac{7}{10} \times 200 \text{ mL} = 140 \text{ mL}$$

$$\text{Aseton} = \frac{3}{10} \times 200 \text{ mL} = 60 \text{ mL}$$

- **Larutan KLT**

N-Heksan : Etil asetat (7 : 3 v/v) → 10 mL

$$\text{N-Heksan} = \frac{7}{10} \times 10 \text{ mL} = 7 \text{ mL}$$

$$\text{Etil Asetat} = \frac{3}{10} \times 10 \text{ mL} = 3 \text{ mL}$$

Lampiran 9. Perhitungan Nilai Rf Hasil Identifikasi KLT

$$R_f \text{ (Retardation factor)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$R_f \text{ total 1 (hijau biru)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} = \frac{0,01}{3,5} = 0,003$$

$$R_f \text{ total 2 (kuning)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} = \frac{0,1}{3,5} = 0,03$$

$$R_f \text{ total 3 (coklat kuning)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} = \frac{0,6}{3,5} = 0,17$$

$$R_f \text{ total 4 (orange)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} = \frac{0,8}{3,5} = 0,23$$

$$R_f \text{ total 5 (coklat kuning)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} = \frac{1,1}{3,5} = 0,31$$

$$R_f \text{ total 6 (abu - abu)} = \frac{\text{Jarak yang di tempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} = \frac{1,85}{3,5} = 0,53$$

Lampiran 10. Hasil Uji Fitokimia**Hasil Uji Fitokimia**

Golongan Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	(+) terbentuk warna jingga, merah, kuning
Saponin	+	(+) terbentuk busa
Tanin	+	(+) terbentuk warna biru tua atau hijaukehitaman
Triterpenoid (Steroid)	-	(+) terbentuk warna ungu atau merah
Alkaloid		
- Reagen Mayer	-	(+) terbentuk endapan putih
- Reagen Dragendorf	-	(+) terbentuk endapan jingga

Keterangan :

Tanda (+) : Terkandung senyawa dan bercak warna

Tanda (-) : Tidak terkandung senyawa dan tidak terdapat bercak warna

Lampiran 11. Pengolahan Data Uji Toksisitas**• Tabel % Kematian *Artemia salina***

Perlakuan	Konsentrasi	Jumlah Kematian			log
		1	2	3	
A	Kontrol	0	0	0	0
B	62,5 ppm	1	1	2	1.8
C	125 ppm	3	4	3	2
D	250 ppm	9	7	8	2.4
E	500 ppm	7	8	6	2.7
F	1000 ppm	9	6	8	3

• Tabel Nilai Probit % Mortalitas

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

Keterangan :

 Kisaran angka (+) 1 – 9 % Mortalitas

Pada ulangan pertama, pada respon mortalitas ulangan 1 0%, 62,5 %, 125%, 250% dan 500%, maka nilai probit yang diperoleh sebesar 0, 3.72, 4.48, 5.25, 5.52, dan 6.28.

- **Pengolahan Data Ulangan 1**

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

$$\% \text{Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ salina Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100\%$$

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

$$62,5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100\% = 10\%$$

$$125 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100\% = 30\%$$

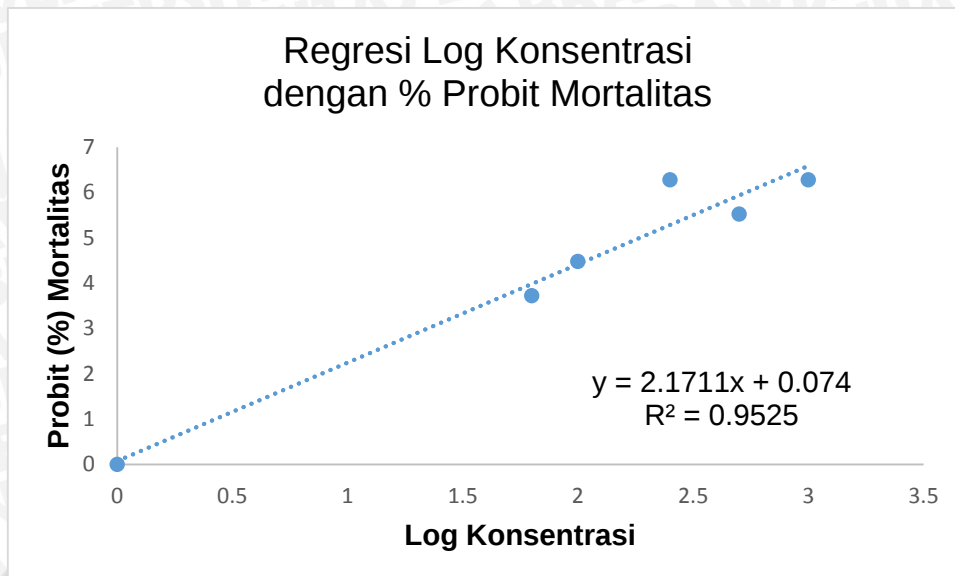
$$250 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100\% = 90\%$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100\% = 70\%$$

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

Hasil dari % kematian *Artemia salina* Leach. pada setiap variasi konsentrasi ditentukan dengan menggunakan nilai % probit dengan melihat tabel probit mortalitas. Kemudian, setiap konsentrasi dilogartimakan. Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas, kemudian dimasukkan ke dalam *Microsoft excel* sehingga diperoleh persamaan pada grafik

Log konsentrasi	% probit
0	0
1,8	3.72
2	4.48
2,4	6.28
2,7	5.52
3	6.28



Gambar 18. Grafik Regresi Log Konsentrasi dengan Probit (%) Mortalitas Ulangan 1

Didapatkan persamaan $Y = 2,1711x + 0,074$

Dimasukkan nilai probit 5 (50% kematian) kepersamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan sebanyak 50% kematian hewan uji.

$$Y = 2,1711x + 0,074$$

$$5 = 2,1711x + 0,074$$

$$5 - 0,074 = 2,1711x$$

$$x = \frac{4,926}{2,1711}$$

$$x = 2,268896$$

$$\text{Anti Log dari } 2,268896 = 185.73596 \text{ ppm}$$

$$LC_{50} = 185.73596 \text{ ppm}$$

- **Pengolahan Data Ulangan 2**

Pada ulangan 2, dilakukan analisa probit dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ salina Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100\%$$

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

$$62,5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100\% = 10\%$$

$$125 \text{ ppm} = \frac{4}{10} \times 100\% = 40\%$$

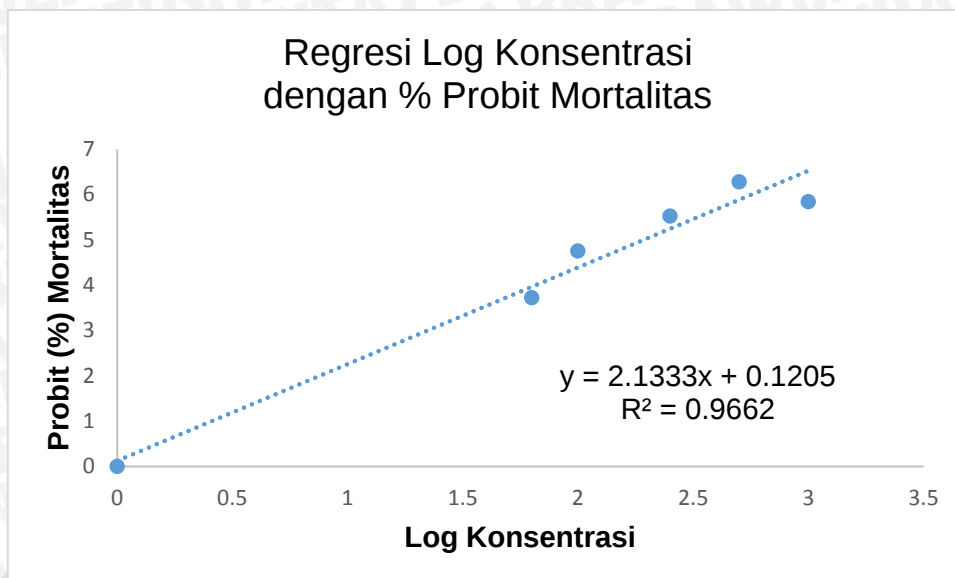
$$250 \text{ ppm} = \frac{7}{10} \times 100\% = 70\%$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{9}{10} \times 100\% = 90\%$$

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

Pada Ulangan 2, didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas, kemudian dimasukkan ke dalam *Microsoft excel* sehingga diperoleh persamaan pada grafik

Log konsentrasi	% probit
0	0
1,8	3.72
2	4.75
2,4	5.52
2,7	6.28
3	5.84



Gambar 19. Grafik Regresi Log Konsentrasi dengan Probit (%) Mortalitas Ulangan 2

Didapatkan persamaan $Y = 2,1333x + 0,1205$

Dimasukkan nilai probit 5 (50% kematian) kepersamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan sebanyak 50% kematian hewan uji.

$$Y = 2,1333x + 0,1205$$

$$5 = 2,1333x + 0,1205$$

$$5 - 0,1205 = 2,1333x$$

$$x = \frac{4,8795}{2,1333}$$

$$x = 2,287301$$

$$\text{Anti Log dari } 2,287301 = 193,77645 \text{ ppm}$$

$$LC_{50} = 193,77645 \text{ ppm}$$

- **Pengolahan Data Ulangan 3**

Pada ulangan 3, dilakukan analisa probit dengan mencari % kematian *Artemia* yaitu dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{Mortalitas } Artemia = \frac{\text{Jumlah } Artemia \text{ salina Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100\%$$

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

$$62,5 \text{ ppm} = \frac{2}{10} \times 100\% = 20\%$$

$$125 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100\% = 30\%$$

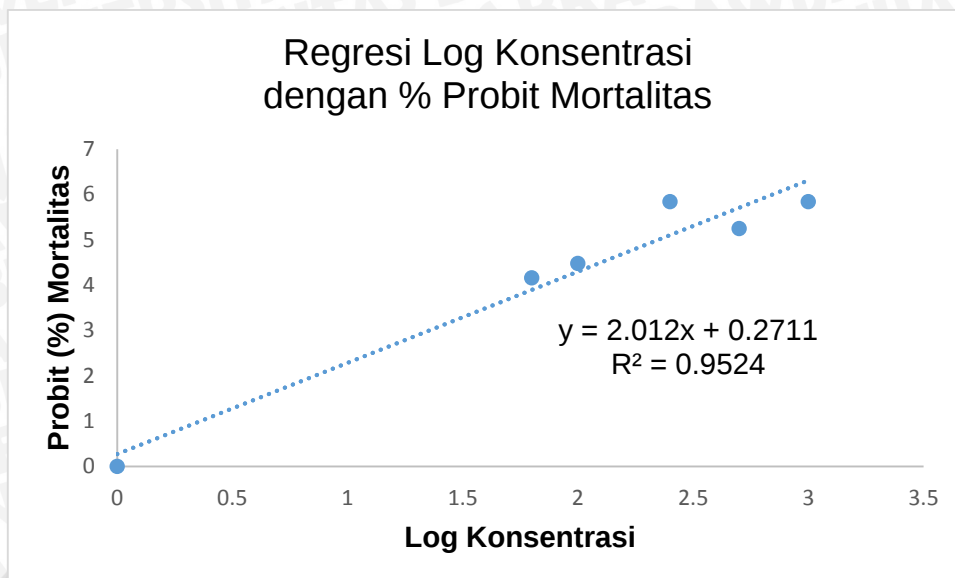
$$250 \text{ ppm} = \frac{8}{10} \times 100\% = 80\%$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{6}{10} \times 100\% = 60\%$$

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

Pada Ulangan 3, didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas, kemudian dimasukkan ke dalam *Microsoft excel* sehingga diperoleh persamaan pada grafik

Log konsentrasi	% probit
0	0
1,8	4.16
2	4.48
2,4	5.84
2,7	5.25
3	5.84



Gambar 20. Grafik Regresi Log Konsentrasi dengan Probit (%) Mortalitas Ulangan 3

Didapatkan persamaan $Y = 2,012x + 0,2711$

Dimasukkan nilai probit 5 (50% kematian) kepersamaan tersebut, didapatkan konsentrasi yang menyebabkan sebanyak 50% kematian hewan uji.

$$Y = 2,012x + 0,2711$$

$$5 = 2,012x + 0,2711$$

$$5 - 0,2711 = 2,012x$$

$$x = \frac{4,7289}{2,012}$$

$$x = 2,350348$$

$$\text{Anti Log dari } 2,350348 = 224.05157 \text{ ppm}$$

$$LC_{50} = 224.05157 \text{ ppm}$$

$$\text{Dari ketiga ulangan didapatkan total } LC_{50} = 603,56398 \text{ ppm}$$

$$\text{Sehingga didapatkan rata-rata } LC_{50} = 201,18799 \text{ ppm}$$

Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

- Proses Preparasi Sampel



a



b



c



d

Proses Preparasi Sampel

- Persiapan dan pencucian sampel *Sargassum filipendula*
- Pengeringan dan pemotongan
- Penimbangan *Sargassum filipendula*
- Penghalusan dan penambahan CaCO_3

- **Proses Ekstraksi**



a.



b.



c.



d.

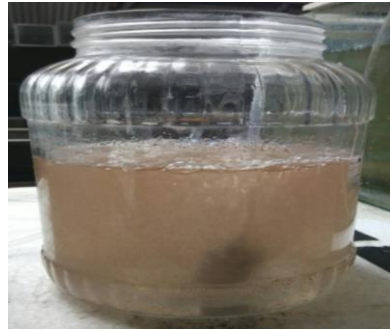
Proses Ekstraksi

- (a). Sampel *Sargassum filipendula* 100 gram
- (b). Penambahan pelarut dan proses ekstraksi (maserasi)
- (c). Proses penyaringan
- (d). Proses evaporasi dan pengeringan sampel dengan nitrogen

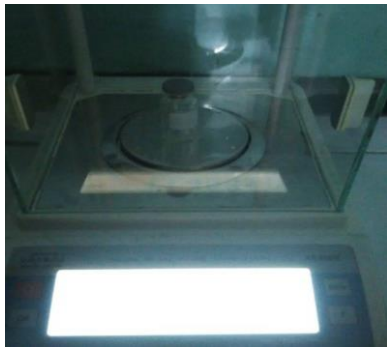
- Uji Toksisitas dengan Metode BSLT



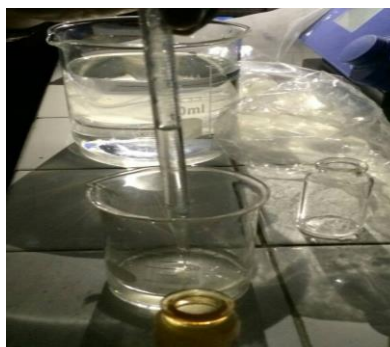
a.



b.



c.



d.



e.



f

Uji Toksisitas dengan metode BSLT

- (a). Penimbangan telur *Artemia salina* Leach
- (b). Perendaman dalam 2 liter air laut dan di aerasi
- (c). Penimbangan ekstrak *Sargassum filipendula*
- (d). Dilakukan pengenceran (ppm) dengan air laut dan DMSO
- (e). Ditentukan masing-masing konsentrasi pada larutan uji (0 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1.000 ppm)
- (f). Dimasukkan 10 buah *Artemia salina* Leach. pada masing-masing larutan uji dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dan diamati kematian *Artemia salina* Leach. setelah 24 jam

- Uji Fitokimia



a.



b.



c.



d.

Uji Fitokimia

- (a). Positif flavonoid
- (b). Positif tanin
- (c). Positif saponin
- (d). Negatif alkaloid dan negatif triterpenoid / steroid