SKRINING FITOKIMIA SIMPLISIA SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa)* DENGAN METODE DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*)

LAPORAN SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh:

ZIKRULLY PUTRI PALARUM

125080107111007

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SKRINING FITOKIMIA SIMPLISIA SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa)* DENGAN METODE DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*)

LAPORAN SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh:

ZIKRULLY PUTRI PALARUM

125080107111007

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

SKRIPSI

Skrining Fitokimia Simplisia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Alga Merah (*Gracilaria verrucosa)* Dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*)

Oleh:

ZIKRULLY PUTRI PALARUM
125080107111007

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal : 13 Januari 2017
Dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS
NIP. 19600505 198601 1 004
Tanggal: 20 JAN 2017

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si
NIP. 19730702 200501 2 001
Tanggal: 20 JAN 2017

Dosen Penguji II

Andi Kurniawan, S.Pi, M.Eng., D.Sc
NIP. 19790331 200501 1 003
Tanggal: 20 JAN 2017

Dosen Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS
NIP. 19591230 198503 2 002
Tanggal: 20 JAN 2017

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 20 JAN 2017

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul "**Skrining Fitokimia Simplisia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Alga Merah (*Gracilaria Verrucosa)* Dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*)*"*** yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Malang, 13 Januari 2017

Mahasiswa

Zikrully Putri Palarum

NIM.125080107111007

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam membantu kelancaran hingga penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan.

Terimakasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada :

1. Do'a serta dorongan yang kuat dari kedua orang tua yang terus memberi semangat, dan restunya serta doa yang tiada hentinya.
2. Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si dan Prof.Dr.Ir Diana Arfiati , MS atas kesediaan waktunya untuk membimbing penulis hingga terselesaikan laporan skripsi ini.
3. Teman – teman satu tim Yoeshi Ayu Lestari, Fiing Resti S.P, dan Miftahudin yang sealu bersama-sama saling mengingatkan, memberi dukungan dan bekerjasama dengan baik.
4. Saudara Taufik Rian Hidayat yang tidak berhenti memberikan doa,, dukungan dan motivasi kepada saya selama ini.
5. Teman-teman Sophia Nurmala, Angelica Natasya dan Riska Wulandari yang telah yang selalu memberi semangat dan kebahagiaan.
6. Teman-teman MSP 2012 yang telah membantu dan memberikan dukungan terbaiknya.
7. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung dan baik sengaja maupun tidak sengaja telah berperan dalam terselesaikannya laporan ini.

Malang, 13 Januari 2017

Penulis

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

ZIKRULLY PUTRI PALARUM. Skripsi tentang Skrining Fitokimia Simplisia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Alga Merah (*Gracilaria verrucosa)* Dengan Metode DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*) **(**dibawah bimbingan **Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si dan Prof.Dr.Ir Diana Arfiati , MS)**

Rumput laut *Glacilaria verrucosa* adalah alga merah yang menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid yang disebut agar. Selain itu alga merah banyak mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antivirus, antibakteri , antijamur, antitumor dan antioksidan yang mampu menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Penelitian ini dilakukan selama bulan Mei 2016 sampai dengan Agustus 2016 bertujuan untuk mengetahui golongan senyawanya, mengetahui konsentrasi asam askorbat yang terkandung dalam ekstrak etanol dan mengetahui berapa besar pengaruh vitamin C terhadap aktivitas antioksidan dan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%).*

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang baru diambil lalu dipisahkan dari kerang yang menempel, dicuci dengan air tawar bersih, dikeringkan dan diuji kadar airnya. Selanjutnya digiling dengan menggunakan mesin penggiling dan didapatkan hasil berupa simplisia (serbuk) lalu di uji kandungan senyawa fitokimianya. Sebanyak 200 gram serbuk direndam dengan 800 ml etanol 96%, lalu di evaporasi (penguapan) sehingga dihasilkan produk berupa pasta ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa.* Pasta tersebut diuji kadar vitamin C nya secara kualitatif (pengendapan sampel berwarna coklat dengan $KMnO_4$) dan kuantitatif (menggunakan spektrofotometri UV-Visibel). Selain itu sampel pasta tersebut diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

Hasil pemeriksaan rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang sudah kering diperoleh kadar air 20,46%. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia *Gracilaria verrucosa* tersebut mengandung golongan senyawa saponin dan steroida atau triterpenoida, vitamin C dan antioksidan. Diketahui bahwa ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* positif mengandung vitamin C dengan kadar 92,6 ppm. Pengaruh vitamin C dalam sampel terhadap aktivitas antioksidan diketahui sangat lemah sehingga kurang mampu menangkal radikal bebas. Kepada peneliti selanjutnya disarankan menggunakan rumput laut basah dengan pelarut yang berbeda dari penelitian ini agar dapat diperoleh kadar antioksidan lebih kuat.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya kepada penulis sehingga penulis berhasil menyelesaikan Skripsi yang berjudul "**Skrining Fitokimia Simplisia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Etanol Alga Merah (*Gracilaria Verrucosa)* Dengan Metode DPPH(*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*)***".*** Tujuan dibuatnya Laporan Skripsi ini adalah sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Laporan skripsi ini disajikan dengan pokok bahasan dengan metode DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*) alga merah (*Gracilaria verrucosa*) di uji aktivitas antioksidan serta di skrining fitokima. Diharapkan dengan adanya laporan skripsi ini dapat menambah ilmu pengetahuan dan memberikan informasi terkait pada pemerintah setempat.

Penulis menyadari bahwa Laporan Skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak yang bersifat membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, 13 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN ..... **vi**

KATA PENGANTAR ..... **vii**

DAFTAR ISI ..... **viii**

DAFTAR GAMBAR ..... **x**

DAFTAR TABEL ..... **xi**

DAFTAR LAMPIRAN ..... **xii**

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

2. TINJAUAN PUSTAKA **5**
2.1 Uraian Tumbuhan 5
2.1.1 Habitat dan Sebaran Rumput Laut 5
2.1.2 Sistematika Tumbuhan 6
2.1.3 Nama Daerah 7
2.1.4 Morfologi Tumbuhan 7
2.1.5 Perkembangbiakan Rumput Laut 8
2.2 Metabolit Rumput Laut 8
2.3 Pelarut 9
2.3.1 Etanol 10
2.4 Ekstraksi 11
2.5 Fitokimia 12
2.5.1 Alkaloid 12
2.5.2 Saponin 13
2.5.3 Tanin 13
2.5.4 Flavonoid 14
2.5.5 Terpenoid 15
2.6 Vitamin C 16
2.7 Radikal Bebas 17
2.8 Antioksidan 18
2.8.1 Sifat-Sifat Antioksidan 19
2.8.2 Mekanisme Kerja Antioksidan 19
2.9 Uji Aktivitas Antioksidan 20
2.10 Spektrofotometri UV-Visible 21

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN 22
3.1 Materi Penelitian 22
3.2 Alat dan Bahan 22
3.2.1 Alat 22
3.2.2 Bahan 22
3.3 Metode Penelitian 22
3.3.1 Variabel Penelitian 23
3.3.2 Data Penelitian 24
3.4 Lokasi Pengambilan Sampel 25
3.5 Tahapan Penelitian 25
3.5.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan 25
3.5.2 Pengolahan Tumbuhan 26
3.5.3 Pembuatan Ekstrak 26
3.6 Randemen 27
3.7 Kadar Air 27
3.8 Skrining fitokimia 28
3.8.1 Pemeriksaan Alkaloid 28
3.8.2 Pemeriksaan Saponin 28
3.8.3 Pemeriksaan Tanin 28
3.8.4 Pemeriksaan Flavonoid 28
3.8.5 Pemeriksaan Terpenoid 29
3.9 Penetapan Kadar Vitamin C 29
3.9.1 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C 29
3.9.2 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C 30
3.10 Uji Antioksidan 30

4. PEMBAHASAN 33
4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Air 33
4.2 Hasil Skrining Fitokimia 34
4.3 Ekstraksi dan Randemen 36
4.3.1 Ekstraksi 36
4.3.2 Randemen 37
4.4 Uji Kadar Vitamin C 38
4.4.1 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C 38
4.4.2 Uji Spektrofotometri UV-Visible 40
4.4.3 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C 41
4.5 Uji Aktivitas Vitamin C Sebagai Antioksidan 44
4.6 Analisa Nilai IC_{50} Sampel Uji 46

5. KESIMPULAN DAN SARAN 48
5.1 Kesimpulan 48
5.2 Saran 48

DAFTAR PUSTAKA 49

LAMPIRAN 55

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. *Gracilaria verrucosa* 6
2. Struktur kimia asam askorbat 16
3. Proses Evaporasi *Gracilaria verrucosa* 36
4. Hasil Uji Kualitatif Vitamin C pada ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* 39
5. Grafik Panjang Gelombang Maksimal 200-400 nm. 40
6. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C 43

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Konstanta Dielektrum Bahan-Bahan Pelarut 10
2. Sifat Fisika dan Kimia Pelarut Etanol 11
3. Hasil Uji Kadar Air *Gracilaria verrucosa* 33
4. Hasil Uji Fitokimia *Gracilaria verrucosa* 34
5. Randemen Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*) 38
6. Hasil Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C 42
7. Hasil Absorbansi Vitamin C 43
8. % Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Sampel *Gracilaria verrucosa* dengan larutan pembanding 45
9. Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh untuk ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* dan kontrol positif asam askorbat 47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Alat dan Bahan 55
2. Skema Penelitian 56
3. Skema Proses Ekstraksi 58
4. Skema Uji Kadar Air dengan Metode Oven 59
5. Skema Skrining Fitokimia 60
6. Skema Uji Kuantitatif Vitamin C 62
7. Skema Uji Kualitatif Vitamin C 65
8. Skema Uji Aktivitas Antioksidan 66
9. Hasil Uji Fitokimia *Gracilaria verrucosa* 71
10. Tabel Hasil Pengujian Kadar Air *Gracilaria verrucosa* 73
11. Tabel Randemen Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*) 74
12. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Larutan Asam Askorbat 76
13. Pengenceran Larutan Standar Asam Askorbat ($C_6H_8O_6$) 78
14. Tabel Hasil Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C 80
15. Pembuatan Larutan Induk 500 ppm Asam Askobat ($C_6H_8O_6$) 83
16. Pengenceran Larutan Standar Asam Askorbat ($C_6H_8O_6$) 84
17. Pembuatan Larutan DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) 0,1 mMol 86
18. Pembuatan Larutan Sampel 2000 ppm 87
19. Tabel% Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Larutan Pembanding 89
20. Tabel% Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Sampel *Gracilaria verrucosa* 91
21. Proses Pengambilan, Pencucian dan Pengeringan *Gracilaria verrucosa* 93
22. Proses Maserasi pada *Gracilaria verrucosa* 94
23. Proses Uji Kadar Air pada *Gracilaria verrucosa* 95
24. Proses Uji Kuantitatif pada Gracilaria verrucosa 97
25. Uji Kualitatif Kadar Vitamin C pada *Gracilaria verrucosa* 99
26. Proses Uji Antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* 100

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki potensi sumber daya perikanan dan kelautan yang besar. Hal ini didukung dengan wilayah perairan Indonesia yang mencakup 2/3 luas wilayah keseluruhan Indonesia atau kurang lebih 60% luas wilayah Indonesia (Sompie, 2014). Pemanfaatan sumberdaya perikanan dapat berupa usaha budidaya dan penangkapan, namun aktifitas tersebut memberikan dampak positif dan negatif bagi lingkungannya. Areal yang dimanfaatkan untuk kepentingan budidaya perikanan yang kurang terkendali menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan perairan. Masalah yang timbul adalah pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh berbagai kegiatan disekitar perairan maupun dari usaha budidaya itu sendiri (Putri *et al.,*2014).

Bahan pencemar menyebabkan terbentuknya radikal bebas dan menimbulkan rangkaian reaksi oksidasi (Niwa, 1997). Radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Selain terdapat di luar tubuh, radikal bebas juga secara normal dibentuk di dalam tubuh. Radikal bebas terbentuk di dalam tubuh akibat produk sampingan proses metabolisme ataupun karena tubuh terpapar radikal bebas melalui pernafasan (Praptiwi *et al.,* 2006). Radikal bebas dalam jumlah kecil masih dapat ditoleransi, namun berbahaya dalam jumlah yang berlebih. Radikal bebas akan merusak DNA, protein dan lipid, perubahan ini dapat mempercepat proses penuaan bahkan menyebabkan berbagai penyakit (Kosasih., *et al* (2004); Silalahi, 2006).

Radikal bebas dapat ditangkal atau diredam dengan pemberian antioksidan atau dengan mengkonsumsi antioksidan (Toripah *et al.,* 2014). Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir radikal

bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Vaya dan Aviram, 2001). Senyawa karoten, flavonoid, vitamin C dan E merupakan senyawa antioksidan yang sering ditemukan dalam tanaman dan buah-buahan (Windono, 2001).

Asam askorbat (vitamin C) merupakan antioksidan yang dapat mencegah oksidasi, dan merupakan nutrien serta vitamin yang larut dalam air dan penting untuk menjaga kesehatan. Vitamin C merupakan satu-satumya vitamin yang memiliki gugus enadiol dengan daya reduksi kuat dan juga pemberi sifat asam (Rienoviar dan Nashrianto, 2010). Vitamin C banyak keuntungan di bidang kesehatan yang didapat dari fungsi askorbat, seperti fungsinya sebagai antioksidan, anti atherogenik, immunomodulator dan mencegah flu (Naidu, 2003). Rumput laut juga menyediakan sumber vitamin C yang sangat bermanfaat untuk memperkuat sistem kekebalan tubuh, meningkatkan aktivitas penyerapan usus terhadap zat besi, pengendalian pembentukan jaringan dan matriks tulang, dan juga berperan sebagai antioksidan dalam penangkapan radikal bebas dan regenerasi vitamin E (Soo-Jin Heo *et al*., 2005). Kadar vitamin C dapat mencapai 500-3000 mg/kg berat kering dari rumput laut hijau dan coklat, 100-800 mg/kg pada rumput laut merah (Suparmi dan Sahri, 2009).

Menurut Putinella (2001), bahwa jenis alga merah seperti *Gracilaria sp* banyak digunakan sebagai obat tradisional di Cina. Hasil analisa kimia menunjukkan alga merah banyak mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid. Menurut Lailiyah *et al.,* (2014), di Indonesia, alga merah terdiri dari 452 jenis alga, dan alga coklat 134 jenis rumput laut mengandung komponen penting yang dibutuhkan dalam proses fisiologis hewan dan manusia. Rumput laut kaya akan karbohidrat, protein, lipid, mineral, berpotensi sebagai antivirus, antibakteri , antijamur, antitumor dan antioksidan.

Di Indonesia rumput laut hanya dibiarkan sebagai sampah lautan, mengapung, hanyut terbawa arus, ataupun terdampar di pinggir pantai (Yunizal, 1999). Pemanfaatan rumput laut di Indonesia sampai saat ini terbatas sebagai bahan makanan bagi penduduk yang tinggal di daerah pesisir dan belum banyak kalangan industri yang mau melirik potensi rumput laut ini. Hal ini mendasari penelitian ini untuk meneliti lebih lanjut konsentrasi total vitamin C yang terdapat di dalam *Gracilaria verrucosa* yang berpotensi meningkatkan kemampuan sistem kekebalan tubuh dalam serta kondisi tubuh organisme akuatik terhadap penyakit melalui aktivitas antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Selama ini senyawa alga merah *(Gracilaria verrucosa)* dimanfaatkan sebagai kesehatan (obat tradisional dan kosmetik), antibakteri, antijamur, antioksidan serta memiliki kandungan radikal bebas yang berfungsi sebagai memperbaiki struktur dan fungsi sel. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Berdasarkan latar belakang di atas, maka yang menjadi perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Golongan senyawa apa saja yang positif yang terkandung dalam *Gracilaria verrucosa*?
2. Berapa konsentrasi asam askorbat yang terkandung dalam ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* ?
3. Apakah kadar vitamin C mempengaruhi nilai IC_{50} dalam uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari pelaksanaan penelitian ini adalah

1. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam *Gracilaria verrucosa.*
2. Mengetahui konsentrasi asam askorbat yang terkandung dalam ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa*.
3. Mengetahui berapa besar pengaruh vitamin C terhadap aktivitas antioksidan dan IC_{50} dalam ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa.*

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam karakteristik simplisia alga merah (*Gracilaria verrucosa*), dapat memberikan informasi mengenai golongan senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam alga merah (*Gracilaria verrucosa*) dan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol alga merah (*Gracilaria verrucosa*).

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis (UPT). Laboratorium Materia Medika (Batu), Laboratorium Genetika Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei – Agustus 2016.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan

Rumput laut tergolong tumbuhan berderajat rendah, umumnya tumbuh melekat pada substrat tertentu, tidak mempunyai akar, batang maupun daun sejati; tetapi hanya menyerupai batang yang disebut talus. Rumput laut tumbuh di alam dengan melekatkan dirinya pada karang, pasir, batu dan benda keras lainnya (Anggadiredja *et al*., 2011).

Rumput laut (seaweeds) atau makro alga tumbuh di perairan laut yang memiliki substrat keras dan kokoh yang berfungsi sebagai media tumbuh atau tempat melekat. Rumput laut hanya dapat hidup di perairan apabila cukup mendapatkan cahaya. Pada perairan yang jernih, rumput laut dapat tumbuh hingga kedalaman 20-30 meter. Nutrisi yang diperlukan oleh rumput laut dapat langsung diperoleh dari dalam air laut. Parameter ekosistem utama yang merupakan syarat tumbuh bagi rumput laut adalah (1) intensitas cahaya, (2) musim dan suhu, (3) salinitas, (4) pergerakan air, dan (5) zat hara (Dahuri, 2003).

2.1.1 Habitat dan Sebaran Rumput Laut

Pertumbuhan rumput laut *Glacilaria sp* umumnya lebih baik di tempat dangkal daripada di tempat dalam. Substrat tempat melekatnya dapat berupa batu, pasir, lumpur dan karang, kebanyakan lebih menyukai intensitas cahaya yang lebih tinggi. Suhu merupakan faktor penting untuk pertumbuhan dan pembiakan. Suhu optimum untuk pertumbuhan adalah antara 20^0-28^0C , tumbuh pada kisaran kadar garam yang tinggi dan tahan sampai kadar garam 50 permil, dalam keadaan basah dapat tahan hidup di atas permukaan air selama satu hari (Aslan, 1998).

Rumput laut *Glacilaria sp* mempunyai wilayah sebaran budidaya berada di tambak-tambak di Pantai Utara Jawa (Serang, Bekasi, Karawang, Indramayu,

Cirebon, Brebes, Tegal, Pemalang, Jepara dan Lamongan), Nusa Tenggara Barat (Sekotong, Lombok Barat dan Teluk Cempi Dompu), Sulawesi Selatan (Jeneponto, Takalar, Maros, Bulukumba, Sinjai, Bone, Wadjo dan Palopo), serta Sumatera Selatan (Lampung) (Anggadiredja *et al*., 2011).

2.1.2 Sistematika Tumbuhan

Menurut Dawes (1981), *Gracilaria verrucosa* mempunyai taksonomi sebagai berikut:

Dunia : Plantae

Filum : Rhodophyta

Kelas : Rhodophyceae

Bangsa : Gigartinales

Suku : Gracilariaceae

Marga : Gracilaria

Jenis : *Gracilaria verrucosa*

Alga merah genus Gracilaria mempunyai beberapa spesies diantaranya adalah : *G.verrucosa* terdapat pada Gambar 1, *G.confervoides, G.Arcuata, G.lichenoides, G.euchemoides, G.blodgettii, G.cylindrica.*

Gambar 1. *Gracilaria verrucosa*

2.1.3 Nama Daerah

Di Indonesia *Glacilaria verrucosa* ini mempunyai berbagai nama menurut daerahnya, misalnya bulung rambut (Bali) dan sango-sango (Sulawesi) (Anggadiredja *et al*., 2011). Agar-agar jahe (Kep. Seribu), janggut duyung (Bangka), sango-sango, dongi-dongi (Sulawesi), bulung embulung (Jawa, Bali) dan bulung sangu (Bali) (Soegiarto *et al*., 1978 *dalam* Rahmasari, 2008).

2.1.4 Morfologi Tumbuhan

Ciri-ciri umum rumput laut marga Gracilaria adalah bentuk thallus yang memipih atau silindris, membentuk rumpun dengan tipe percabangan yang tidak teratur, thallus menyempit pada pangkal percabangan. Sifat substansi thallus Gracillaria seperti tulang rawan (cartilagenous). Ujung-ujung thallus pada umumnya meruncing, permukaannya halus atau berbintil-bintil. Garis tengah thallus berkisar antara 0,5-4,0 mm. Panjang dari Gracillaria dapat mencapai 30 cm atau lebih. Ciri khusus secara morfologis memiliki duri yang tumbuh berderet melingkari thallus dengan interval yang bervariasi sehingga membentuk ruas-ruas thallus di antara lingkaran duri (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 1990 *dalam* Jamilah, 2013).

Gracilaria merupakan jenis makroalga laut yang paling banyak digunakan dalam produksi agar. Hal ini karena Gracilaria mudah diperoleh, murah harganya dan juga lebih mudah dalam proses pengolahannya. Jenis ini berperan cukup dominan dalam pembentukan gel agar pada saat ekstraksi. Disamping itu Gracilaria memiliki kandungan agarosa dan agaroptin yang cukup baik sehingga dapat menentukan kekuatan gel agar yang kuat dan kokoh dibandingkan dengan hasil ekstraksi dari Gelidium (Winarno *et al.*, 1980).

2.1.5 Perkembangbiakan Rumput Laut

Faktor biologi utama yang menghambat produktivitas rumput laut yaitu faktor persaingan dan pemangsa dari hewan herbivora. Faktor morbiditas dan mortalitas rumput laut itu sendiri juga dapat disebabkan oleh penyakit akibat dari infeksi mikroorganisme, tekanan lingkungan perairan (fisika dan kimia perairan) yang buruk, serta tumbuhnya tanaman penempel (parasit) (Anggadiredja *et al*., 2011).

Perkembangbiakan rumput laut dapat terjadi melalui dua cara, yaitu secara vegetatif dengan talus dan secara generatif dengan talus diploid yang menghasilkan spora. Perbanyakan secara vegetatif dikembangkan dengan cara stek, yaitu potongan talus yang kemudian tumbuh menjadi tanaman baru. Sementara, perbanyakan secara generatif dikembangkan melalui spora, baik alamiah maupun melalui budidaya. Pertemuan dua gamet membentuk zygot yang selanjutnya berkembang menjadi sporofit. Individu baru inilah yang mengeluarkan spora dan berkembang melalui pembelahan dalam sporogenesis menjadi gametofit (Anggadiredja *et al*., 2011).

2.2 Metabolit Rumput Laut

Rumput laut atau makroalga merupakan salah satu organisme laut yang berperan dalam siklus rantai makanan sebagai produser primer. Untuk mempertahankan diri dalam habitatnya, rumput laut memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari senyawa primer yang merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat essensial bagi proses metabolisme sel seperti fikokoloid, vitamin, asam lemak tak jenuh (UFA) dan karbohidrat. Senyawa sekunder (metabolit sekunder) adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme

biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid, dan alkaloid, fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Sifat metabolit sekunder sebagai alat pertahanan diri organisme laut ternyata mempunyai potensi yang sangat besar sebagai sumber bahan obat berbagai penyakit (Winston, 1988; Cragg *et al*., 1997).

Rumput laut *Glacilaria verrucosa* merupakan jenis Glacilaria, yang menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid yang disebut agar (Anggadiredja *et al.,* 2010). Jenis rumput laut yang termasuk dalam kelas Rhodophyceae (alga merah) mengandung pigmen antar lain adalah klorofil a, klorofil d, dan karoten, lutein, zeaxanthin, fikosianin dan fikoeritrin. Fikoeritrin merupakan pigmen yang dominan yang menyebabkan warna merah pada alga merah (Dawes, 1981).

2.3 Pelarut

Pemilihan bahan pelarut dalam proses ekstraksi harus memperhatikan polaritas bahan atau senyawa yang akan diisolasi. Polaritas yang menunjukkan tingkat kelarutan bahan dalam air di satu sisi dan pelarut organik disisi lain yang berlawanan, yang cenderung larut dalam air disebut memiliki sifat polar dan sebaliknya yang cenderung larut dalam pelarut organik disebut non-polar. Bahan-bahan dan senyawa kimia pada dasarnya akan mudah larut dalam bahan pelarut yang sama polaritasnya. Tingkat polaritas suatu bahan pelarut dapat ditunjukkan dengan pengukuran konstanta dielektrum (Sudarmadji, *et al*. 1989). Konstanta dielektrum bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Konstanta Dielektrum Bahan-Bahan Pelarut

Bahan Pelarut	Konstanta dielektrik (D)	Tingkat Kelarutan dalam Air		
		Tak Larut	Sedikit	Misibel*
N-heksan	1,89	Tidak larut		
Etil Asetat	6,20		Sedikit	
Etanol	24,30			Misibel

* Misibel artinya dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi

Sumber: Sudarmadji *et al*., (1989)

2.3.1 Etanol

Etanol atau disebut juga etil alkohol atau alkohol yang merupakan alkohol yang paling sederhana dan sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol memiliki sifat tidak beracun , bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan serta minuman. Etanol merupakan jenis pelarut polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Menurut Wiratmaja *et al.,* (2011), etanol adalah senyawa organik yang terdiri dari karbon, hidrogen dan oksigen, sehingga dapat dilihat sebagai turunan senyawa hidrokarbon yang mempunyai hidroksil dengan rumus C_2H_5OH. Etanol merupakan zat cair , tidak berwarna, berbau spesifik, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dalam air dengan segala perbandingan.

Pelarut etanol mempunyai polaritas tinggi jika dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya. Kelemahan dari pelarut etanol adalah etanol larut dalam air dan juga melarutkan komponen lain yaitu protein (Janan, *et al.,* 2013), sifat fisika dan kimia dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia Pelarut Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C_2H_5OH
Massa molekul relative	46,07 g/mol
Titik leleh	-114,30C
Titik didih	78,32^{0}C
Densitas pada 200C	0,7893 g/cm^3
Kelarutan dalam air 20^{0}C	Sangat larut
Viscositas pada 20^{0}C	1,17cP
Kalor spesifik pada 20^{0}C	0,579 kal/g^{0}C

Sumber : (Rizani, 2000)

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam.

Jenis ekstraksi meliputi ekstraksi secara dingin dan ekstraksi secara panas. Ekstraksi secara dingin terdiri atas metode maserasi, metode sokhletasi dan metode perkolasi, sedangkan ekstraksi secara panas terdiri atas metode refluks dan metode destilasi uap. Maserasi merupakan ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam suatu pelarut selama beberapa

hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi bertujuan untuk mengekstrak sampel yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam pelarut, tidak mengandung benzoin dan lilin (Sudjadi, 1986).

2.5 Fitokimia

Senyawa fitokimis memberikan aroma khas, rasa dan warna tertentu bagi tanaman dalam berintegrasi dengan lingkungan. Fitokimia mempunyai pengaruh biologis sebagai antioksidan yang pengaruh untuk menghambat pertumbuhan kanker, mempunyai sifat mengahambat pertumbuhan bakteri, menurunkan kolesterol, menurunkan kadar glukosa darah, bersifat antibiotik dan menimbulkan pengaruh peningkatan kekebalan tubuh. Fitokimia yang telah diketahui adalah sekitar 30.000 jenis dan sebanyak 5.000-10.000 jenis terdapat dalam bahan pangan serta hampir 400.000 jenis tanaman mengandung fitokimia (Andriana, 2009).

Menurut Edriansyah (2013), senyawa fitokimia yang digunakan untuk skrining senyawa fitokimia dalam alga merah khususnya *Gracilaria verrucosa* adalah senyawa Alkaloid, Saponin, Tanin, Flavonoid, Steroid dan Terpenoid. Dibawah ini akan dijelaskan lebih lanjut mengenai senyawa-senyawa fitokimia tersebut.

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umunya alkoloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atm nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagian dari sistem siklik. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan mempunyai banyak kegiatan dalam fisiologis yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. (Harborne, 1987).

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang biasa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, obat penyakit jantung dan lain-lain (Aksara *et al*., 2013).

2.5.2 Saponin

Saponin merupakan glikosida campuran karbohidrat sederhana aglikon yang terdapat pada bermacam-macam tanaman. Berdasarkan hasil hidrolisisnya saponin dibedakan menjadi dua, yaitu karbohidrat dan sapogenin. Sedangkan sapogenin terdiri dari dua golongan, yaitu saponin steroid dan saponin triterponoid. Saponin mempunyai efek biologi terhadap hewan dan manusia (Rosida, 2002).

Saponin adalah senyawa aktif permukaan dan bersifat sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Saponin dapat menimbulkan keracunan pada ternak (misalnya saponin alfalfa, *Medicago sativa*) atau karena rasanya yang manis (misalnya glisirizin dari akar manis, *Glycyrnhiza glabra*). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne,1987).

2.5.3 Tanin

Menurut Cowan (1999), tanin dapat membentuk kompleks dengan protein transmembran, enzim-enzim pada permukaan membran dan protein pili (adhesin), melalui ikatan hidrogen sehingga dapat mengganggu kehidupan bakteri. Ikatan hidrogen antara tanin dan protein terjadi melalui interaksi antara gugus hidroksil pada taniun dengan gugus karbonil pada protein.

Menurut Nangude (2007), rumus kimia tanin adalah $C_{76}H_{52}O_{46}$ dan memiliki berat molekul yaitu 1700 g/mpol. Tanin dibedakan menjadi dua jenis,

yaitu tanin hidrolisis dan tanin kondusi yang mana keduanya memiliki daya antibakteri. Tanin hidrolisis merupakan tanin yang dapat dihidrolisi dengan asam, alkali atau enzim menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti gula dan asam tanat (asam galat dan asam elagenat). Galotanin adalah contoh tanin hidrolisis yang mana molekulnya tersusun dari asam galat dan gula. Sedangkan elagelatanin merupakan tanin hidrolisis yang molekulnya tersusun dari asam elagat dan gula (Hagerman, 2002).

2.5.4 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang terdapat dalam tumbuhan. Menurut strukturnya, flavonoid merupakan turunan dari senyawa induk flavon. Flavonoid mengandung atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C_6-C_3-C_6, yaitu ada dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Seluruh varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang berasal dari jalur sikimat dan alur asetat malonat. Senyawa ini umumnya terikat sebagai glikosida, baik O-glikosida maupun C-glikosida (Mangunwardoyo *et al*., 2009).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Kelompok besar dalm flavonoid adalah flavonol, flavone, isovlavon, katekin, proantosianidin dan antosianin. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas antioksidan (Martini, 2006). Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya atau melalui kemampuan mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung

rantai sampai glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

2.5.5 Terpenoid

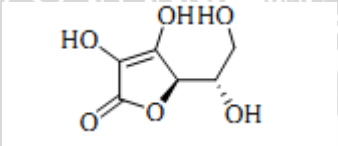
Terpena adalah senyawa hidrokarbon yang mempunyai struktur umum $C_{10}H_{16}$ dan terdapat dalam bentuk diterpena, triterpena, tetraterpena dan sesquiterpena berturut-turut dengan C_{20}, C_{30}, C_{40}, C_5 dan C_{15}. Terpena yang mengandung elemen lain biasanya oksigen disebut terpenoid. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga berakibat rusaknya protein transmembran. Rusaknya protein transmembran ini merupakan pintu keluar masuknya senyawa, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi. Sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Senyawa terpenoid merupakan salah satu metabolit sekunder. Senyawa terpen ini ada dalam jumlah yang besar dan kerangka molekul yang beragam, namun dapat dengan mudah dikenali melalui keteraturan monomernya yang terbentuk dari isopren (Gunawan, 2008). Terpenoid merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan disebut sebagai minyak atsiri. Minyak atsiri yang awalnya dikenal dari penentuan struktur secara sederhana yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon dari suatu senyawa terpenoid yaitu 8:5 dan dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid (Lenny, 2006).

2.6 Vitamin C

Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Namun vitamin C bersifat tidak stabil, bila terkena cahaya dan pada suhu tinggi mudah mengalami kerusakan. Vitamin C selain sebagai senyawa antioksidan tetapi juga bersifat prooksidan (Cahyadi, 2006).

Vitamin C adalah kristal padat, berwarna putih, tidak berbau, mencair pada suhu 190-192^{0}C. Asam askorbat berbentuk kristal stail di udara sampai bertahun-tahun, tetapi dalam bentuk larutan mudah teroksidasi dan ketidakstabilannya meningkat dengan kenaikan pH larutan. Asam askorbat mudah larut dalam air (1 g dalam 3 ml air), etil alkohol (1 g dalam 50 ml etil alkohol) dan gliserol (1 g dalam 1000 ml gliserol), tidak larut dalam benzene, eter, petroleum eter dan senyawa organik lainnya. Struktur kimia asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 2. larutan asam askorbat pada pH kurang dari 4,5 mempunyai absorbsi maksimum pada panjang gelombang 265 nm dan sedikit pada panjang gelombang 350 nm dan 400 nm (Cahyadi, 2006).



Gambar 2. Struktur kimia asam askorbat (Cahyadi, 2006).

Vitamin C sebagai sumber antioksidan memiliki manfaat bagi tubuh antara lain membantu menjaga pembuluh-pembuluh kapiler, meningkatkan penyerapan azupan zat besi, menghambat produksi nitrosamin, zat pemicu kanker dan memperabiki sistem kekebalan tubuh. Senyawa yang digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) dalam uji aktivitas penangkapan radikal hidroksil dalam penelitian ini adalah vitamin C (Cahyadi, 2006).

2.7 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah setiap molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif dan dengan mudah menjurus ke reaksi yang tidak terkontrol menghasilkan ikatan silang dengan DNA, protein, lipida, atau kerusakan oksidatif pada gugus fungsional yang penting pada biomolekul. Perubahan ini akan menyebabkan proses penuaan. Radikal bebas juga terlibat dan berperan dalam patologi dari berbagai penyakit degeneratif, yakni kanker, aterosklerosis, jantung koroner, katarak dan penyakit degeneratif lainnya (Silalahi, 2006). Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk dalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat dan makanan berlemak (Kumalaningsih, 2006).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan reaksi radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas, tahap propagasi merupakan pemanjangan rantai dan tahap terminasi merupakan bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan cara (Winarsi, 2007) :

1. Mencegah (prevention) atau menghambat (inhibition) pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi (inactivation) atau menangkap radikal bebas (free radical scavenger) dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
3. Memperbaiki (repaire) kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas.

Antioksidan merupakan substansi penting yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredamnya. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan

lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007).

2.8 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006).

Menurut Kumalaningsih (2006), terdapat tiga macam antioksidan yaitu:

a. Antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim pada tubuh manusia, contohnya : enzim superoksida dismutase.
b. Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik.
c. Antioksidan sintetik, yang dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA) dan Butil Hidroksi Toluen (BHT) yang ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

Antioksidan dalam tubuh dibedakan atas tiga kelompok, yaitu (1) antioksidan primer yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan (2) antioksidan sekunder yang berfungsi untuk menangkap radikal bebas dan menghalangi terjadinya reaksi berantai dan (3) antioksidan tertier yang bermanfaat untuk memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh radikal bebas (Silalahi, 2006).

2.8.1 Sifat-Sifat Antioksidan

Secara umum, menurut Coppen (1983), antioksidan diharapkan memiliki ciri-ciri sebagai berikut (a) aman dalam penggunaan, (b) tidak memberi flavor, odor, warna pada produk, (c) efektif pada konsentrasi rendah, (d) tahapan terhadap proses pengolahan produk (berkemampuan antioksidan yang baik), (e) tersedia dengan harga yang murah. Ciri keempat merupakan hal yang sangat penting karena sebagian proses pengolahan menggunakan suhu tinggi. Suhu tinggi akan merusak lipida dan stabilitas antioksidan yang ditambahkan sebagai bahan tambah pangan. Kemampuan bertahan antioksidan terhadap proses pengolahan sangat untuk dapat melindungi produk akhir.

Sebagaimana suatu benda pada umumnya, antioksidan juga memiliki keterbatasan-keterbatasan. Keterbatasan tersebut meliputi (a) antioksidan tidak dapat memperbaiki flavor lipida yang berkualitas rendah, (b) antioksidan tidak dapat memperbaiki lipida yang sudah tengik, (c) antioksidan tidak dapat mencegah kerusakan hidrolisis, maupun kerusakan mikroba (Coppen, 1983).

2.8.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

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

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (persamaan 2.1 dan 2.2). Radikal-radikal antioksidan (A) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990). Menurut Hamilton (1983), radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal.

Inisiasi ; R^* + AH ---------- RH + A (2.1)

Radikal lipida

Pro[agasi ; ROO^* + AH ---------- ROOH + A^* (2.2)

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersbut menjadi prooksidan (Persaman 2.4). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.

AH + O_2 ---------- A^* + HOO^* (2.3)

AH + ROOH ---------- RO^* + H_2O + A (2.4)

2.9 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan berbagai metode. Beberapa metode uji aktivitas antioksidan adalah metode tiosianat, penentuan nilai peroksida, metode DPPH dan lain sebagainya. Pada metode tiosianat pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan daya penghambatan terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif (Hanani dan Ryany, 2007*).* Metode DPPH merupakan metode yang relatif sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sdikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi

dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang di diukur pada panjang gelombang 517 nm (Blois, 1958).

DPPH merupakan radikal hidzaril yang stabil, berwarna ungu, tidak ada kecenderungan untuk membentuk dimer dalam keadaan padat atau dalam larutan meskipun dalam suhu rendah (Forrester *et al.,* 1986). Setiap larutan dalam konsentrasi 10^{-5} M yang berwarna dapat digunakan sebagai indikator untuk mendetaksi persentase dari radikal seperti halnya pada indikator asam basa dalam titrasi (Pryor,1966). Besarnya aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)* yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Masing-masing konsentrasi sampel dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier (Regina *et al.,* 2003).

2.10 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometer pada dasarnya terdiri dari sumber sinar, monokromator, sel untuk zat yang diperiksa, detektor, penguat arus dan alat ukur atau pencatat. Spektrofotometri serapan merupakan metode pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap zat (Depkes RI, 1979).

Berdasarkan panjang gelombang spektrotometri dibagi dua yaitu spektrofotmetri ultraviolet dengan panjang gelombang 200-400 nm, digunakan untuk senyawa yang tidak berwarna dan spektrofotometri visibel (sinar tampak) dengan panjang gelombang 200-750 nm, digunakan untuk senyawa yang berwarna (Ganjar dan Rohman, 2007).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak alga merah (*Gracilaria verrucosa)* yang berupa simplisia (serbuk) lalu di senyawa *Gracilaria verrucosa* dengan uji skrining fitokimia, uji kadar vitamin C serta di uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) memberikan informasi reaktivitas ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* yang diuji dengan suatu radikal bebas menggunakan spektrofotometri UV-Visibel

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: oven, nampan, termometer alkohol, penggilingan, bak besar, toples kaca, magnetik stirer, jerigen, timbangan digital, spatulla, erlenmeyer, kertas saring, corong, rotary vacum evaporator, spatulla, botol fial, spektrofotometrik UV-Vis, timbangan analitik, corong kaca, labu ukur, pipet volume, cuvet, beaker glass, desikator, crushtable tang, cawan petri dan mikropipet.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: plastik mulsa hitam, waring, rafia, kertas koran, rumput laut kering, pelarut, etanol 96%, alumunium foil, ekstrak rumput laut, asam askorbat, aquabides, larutan DPPH dan metanol.

3.3 Metode Penelitian

Metode pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif yaitu metode yang digunakan untuk melukiskan secara

sistematis fakta atau karakteristik populasi tertentu atau bidang tertentu, secara aktual dan cermat. Menurut Suryana (2010), metode deskriptif yaitu metode yang digunakan untuk mencari unsur-unsur, ciri-ciri, sifat-sifat suatu fenomena atau permasalahan yang ada. Pelaksanaan metode deskriptif ini tidak terbatas pada penyusunan data maupun pengumpulan data, tetapi meliputi analisis dan pembahasan tentang data tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan gambaran secara umum, sistematis, aktual dan valid mengenai fakta dan sifat-sifat populasi tempat tersebut. Proses yang dilakukan meliputi pengumpulan dan preparasi bahan, karakteristik simplisia, pembuatan ekstrak etanol, skrining fitokimia, uji kualitatif dan kuantitatif vitamin C dan uji aktivitas antioksidan dengan metode aktivitas antiradikal bebas DPPH dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visible. Skema penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.3.1 Variabel Penelitian

Variabel adalah segala kemungkinan sesuatu menjadi objek pengamatan penelitian. Variabel dalam penelitian terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Dalam sebuah eksperimen, variabel bebas dimanipulasi dan efeknya terhadap variabel lainnya (variabel tak bebas) diukur. Kegunaan dari perlakuan eksperimen adalah melakukan sesuatu terhadap objek dan mengobservasi reaksinya dalam kondisi dimana kinerja dapat diukur dengan menggunakan standar atau ukuran yang sudah dikenal (Wibisono, 2003). Variabel bebas pada penelitian ini pada perlakuan yang digunakan adalah jenis pelarut, karena tiap pelarut memiliki ciri-ciri dan kepolaran masing-masing. Pada kadar vitamin C yang diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang kemudian dihitung absorbansinya. Uji tersebut dapat diketahui kadar vitamin C yang kemudian digunakan sebagai acuan dalam menentukan konsentrasi ekstrak rumput laut (*Gracillaria verruccosa*) dalam uji antioksidan menggunakan DPPH.

Perbedaan konsentrasi tidak termasuk dalam perlakuan dikarenakan hasil dari pengukuran absorbansi masing-masing konsentrasi dihitung % inhibisi, kemudian nilai konsentrasi sampel dan % inhibisi diplotkan pada sumbu x dan y melalui persamaan regresi linier dalam bentuk persamaan y = bx + a, nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh dari IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)* sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai hasil ekstraksi (% randemen) dan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%).*

3.3.2 Data Penelitian

Data adalah kumpulan informasi yang didapat dari suatu pengamatan berupa angka, huruf dan gambaran yang bertujuan untuk menunjang penelitian yang dilakukan serta untuk menghasilkan informasi yang lebih jelas. Jenis data pada penelitian dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif yang dibedakan menjadi 2, yaitu :

1. Data Primer

Menurut Mulyanto (2008), data primer adalah data yang didapat dari sumber pertama, di sasaran penelitian. Data primer dalam penelitian dilakukan dengan observasi dan wawancara. Data primer yang diperoleh secara langsung dari observasi dan dilakukan.

- Observasi

Observasi merupakan pengumpulan data dengan pengamatan langsung yang dilaksaanakan terhadapa subyek sebagaimana adanya di lapang, atau dalam suatu percobaan baik di lapang atau di laboratorium (Nazir, 2003). Pada metode observasi maka dilakukan Observasi dilakukan terhadap berbagai hal yang berkaitan dengan proses ekstraksi, skrining fitokimia, pembuatan larutan asam askorbat pada penentuan kadar vitamin C dan ujia aktivitas antioksidan.

2. Data Sekunder

Data sekunder merupakan suatu data yang diperoleh secara tidak langsung oleh peneliti. Menurut Tampubolon (2007), data sekunder dikumpulkan dengan cara peninjauan studi pustaka dan data-data dari lingkungan organisasi yang dianggap relevan dan terkait dengan penelitian. Pada umumnya data sekunder berupa data yang telah dikumpulkan dan diolah oleh pihak lain sehingga dapat digunakan oleh peneliti untuk memberikan gambaran tambahan, lengkap atau untuk proses lebih lanjut. Data ini dapat diperoleh dari data dokumentasi, Lembaga Penelitian, Dinas Perikanan ataupun pustaka-pustaka lain yang berkaitan dengan proses ekstraksi dan skrining fitokimia.

3.4 Lokasi Pengambilan Sampel

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang diambil dari Pantai Kartini Desa Bulu Jepara, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah pada bulan April tahun 2016. Pengambilan bahan tumbuhan dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan serupa dari daerah lain.

Penelitian dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Materia Medika (Batu), Laboratorium Genetika Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

3.5 Tahapan Penelitian

3.5.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa*, yang diambil dari Pantai Kartini Desa Bulu Jepara, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah pada bulan April tahun 2016. Pengambilan

bahan tumbuhan dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan serupa dari daerah lain.

3.5.2 Pengolahan Tumbuhan

Rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang baru diambil dipisahkan dari kerang yang menempel, dicuci dengan air bersih, ditiriskan di atas kertas perkamen, kemudian ditimbang berat basahnya sebesar 70,5 kg, selanjutnya dikeringkan di dalam rumah gubuk (suhu ruang) hal ini bertujuan agar vitamin C tidak dipengaruhi oleh suhu udara, paparan sinar matahari dan komposisi yang terkandung didalam *Gracilaria verrucosa* tidak hilang. Selanjutnya *Gracilaria verrucosa* yang sudah kering dengan kadar air ±20,46% dihaluskan hingga berbentuk simplisia kering serbuk, lalu ditimbang berat keringnya sebesar 7 kg dan disimpan dalam wadah yang kering.

3.5.3 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia *Gracilaria verrucosa* ditimbang pada 3 kantong, masing-masing kantong sebanyak 200 gram simplisia dan pelarut etanol 96% 800 ml. Masing-masing serbuk simplisia yang telah ditimbang dimasukkan kedalam 3 wadah untuk maserasi (perendaman). Wadah yang digunakan untuk perendaman yaitu toples kaca bening yang berukuran 1,5 liter. Setiap wadah diberi nama wadah A, wadah B dan wadah C. Pada wadah A (ulangan 1), wadah B (ulangan 2) dan wadah C (ulangan 3). Setiap wadah ditutup dengan plastik hitam, agar maserasi *Gracilaria verrucosa* terlindung dari cahaya matahari, kadar vitamin C tidak menghilang dan tidak menguap. Pada wadah A, wadah B dan wadah C yang sudah berisi simplisia dimasukkan pelarut etanol 96% masing-masing sebanyak 800 ml. Dilakukan perendaman selama 24 jam, diaduk setiap 2 jam sekali selama 10 menit. Hasil maserasi (*Gracilaria verrucosa* yang direndam etanol) disaring dengan menggunakan kertas saring hingga diperoleh maserat

(larutan hasil rendaman) dan ampas. Selanjutnya, maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh pasta. Skema proses ekstraksi dilihat pada Lampiran 3.

3.6 Randemen

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut jenis Sargassum sp. yang berasal dari Madura. Sargassum sp. yang diambil masih segar lalu dipisahkan ke dalam kantong plastik hitam dan ditimbang kemudian, dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan selama 2 minggu lalu digiling menjadi simplisia. Setelah rumput laut berbentuk simplisia langkah selanjutnya adalah menyaring untuk mendapatkan butiran simplisia yang seragam dan dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label untuk selanjutnya dilakukan penimbangan serta dilanjutkan dengan ekstraksi. Randemen berat kering (simplisia) dari masing-masing sampel dihitung dengan rumus berikut (Agoes, 2007) :

$$\text{Randemen berat kering} = \frac{\text{Jumlah berat kering (gr)} \times 100\%}{\text{Jumlah berat basah (gr)}}$$

3.7 Kadar Air

Cara kerja :

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven. Cawan yang akan digunakan dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 30 menit. Setelah itu didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang (A). *Gracilaria verrucosa* yang sudah kering ditimbang sebanyak 2 gram (B) dimasukkan ke dalam cawan lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C sampai 6 jam. Sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang (C) (AOAC, 2005 *dalam* Hafiludin, 2011). Skema uji kadar air dapat dilihat pada Lampiran 4.

$$\text{Kadar air } \% = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

3.8 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia serbuk simplisia meliputi pemeriksaan Alkoloid, Saponin, Tanin, Flavonoid, Terpenoid dilakukan berdasarkan metode fitokimia oleh Harborne (1987), skema skrining fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.8.1 Pemeriksaan Alkaloid

Sampel simplisia *Gracilaria verrucosa* 0.5 ml dimasukkan dalam masing-masing 3 tabung reaksi 10 ml, lalu ditambahkan Pereaksi Boucherdat, Meyer, Dragendrof 3 tetes. Jika hasil positif akan diperoleh endapan coklat dari bouchardat, endapan putih dari reagen meyer, endapan jingga dari reagen Dragendrof.

3.8.2 Pemeriksaan Saponin

Sampel simplisia *Gracilaria verrucosa* 1 ml ditambahkan 2 ml air panas, lalu dikocok kuat dengan menggunakan tangan. Apabila hasil positif akan berbentuk buih permanen selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, selanjutnya ditambahkan HCL pekat 1 tetes. Jika hasilnya positif akan menghasilkan busa permanen tidak hilang.

3.8.3 Pemeriksaan Tanin

Sampel simplisia *Gracilaria verrucosa* 0.5 ml, lalu ditambahkan 2 tetes $FeCl_3$ 1%. Apabila warna positif akan berwarna hijau atau hijau kehitaman.

3.8.4 Pemeriksaan Flavonoid

Sampel simplisia *Gracilaria verrucosa* 0.5 ml dipanaskan dengan menggunakan bunsen selama 5 menit, ditambah HCL pekat 5 tetes, lalu

ditambah sedikit serbuk 0,2 gr Mg. Apabila hasil positif akan berwarna merah tua atau merah muda.

3.8.5 Pemeriksaan Terpenoid

Sampel simplisia *Gracilaria verrucosa* 0.5 ml, ditambahkan 0.25 ml etanol p.a, lalu ditambah 0.25 ml asam asetat anhidrat, tuangkan 1 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Jika diperoleh berwarna hijau biru mengandung steroid, apabila diperoleh warna orange, jingga kecoklatan mengandung triterpenoid.

3.9 Penetapan Kadar Vitamin C

3.9.1 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C

Uji kuantitatif kadar vitamin C untuk mengetahui berapa kadar vitamin C dalam ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*. Metode yang digunakan pada uji kuantitatif kadar vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel, oleh Karinda *et al*., (2013) yaitu:

a. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 100 ppm

Asam askorbat ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 500 ml dan dilarutkan dengan aquabides sebanyak 500 ml.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Vitamin C

Diambil 1 ml larutan induk vitamin C 100 ppm dengan menggunakan pipet dan dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml. Lalu ditambahkan aquabides 50 ml dan dihomogenkan. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang dengan spektrofotometri UV-Vis 200–400 nm dengan menggunakan blanko aquabides, sehingga didapatkan hasil tertinggi pada pengukuran spektrofometri UV-Vis adalah 270 nm.

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan vitamin C 100 ppm dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing sebesar 400µl (4 ppm), 800µl (8 ppm), 1200µl (12 ppm) dan 1600µl

(16ppm). Kemudian ditambahkan aquabides 10 ml lalu dihomogenkan dengan menggunakan vortex lalu diukur serapannya spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 270 nm.

d. Penentuan Kadar Sampel

Sebanyak 0,05 gr sampel pasta ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan aquabides 10 ml, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya, diukur serapannya spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 270 nm. Skema Uji kualitatif vitamin C dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.9.2 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C

Uji Kualitatif Kadar Vitamin C pada *Gracilaria verrucosa dengan* menggunakan Uji Asam Askorbat. Cara kerja : 2 gr sampel pasta ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*, masing-masing sampel pasta ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* dilarutkan dalam aquades kemudian ditambahkan 2 tetes larutan $KMnO_4$ 0,1 %. Jika diperoleh warna cokelat maka menunjukkan adanya asam askorbat atau kandungan vitamin C pada pasta ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* (Anggraeni *et al*., 2014). Skema Uji kualitatif vitamin C dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.10 Uji Antioksidan

Uji antioksidan dengan menggunakan sampel ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan didalam sampel. Metode yang digunakan pada adalah metode DPPH *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)* oleh Sari *et al.,* (2015). DPPH adalah suatu radikal bebas yang bereaksi dengan senyawa antioksidan dengan mendonorkan hidrogen. Metode penentuan aktivitas penangkal radikal bebas dengan metode DPPH dapat

merubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning pucat (Krishnaiah et al., 2011).

a. Pembuatan Larutan Induk 2000 ppm

Ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebanyak 0,020 gr (20 mg) dilarutkan dengan metanol p.a sampai 10 ml. Kemudian dibuat deret konsentrasi sampel masing-masing 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm.

b. Pembuatan Larutan Senyawa Pembanding 500 ppm

Asam askorbat ditimbang sebanyak 0,005 gr dilarutkan 10 ml aquabides, lalu dihomogenkan. Kontrol positif yaitu vitamin C dibuat dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm.

c. Pembuatan Larutan DPPH 0,004% (1mMol)

Serbuk DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)* 4 mg ditambahkan 100 ml aquabides dalam labu erlenmayer lalu homogenkan, sehingga didapatkan larutan 0,004% (0,1 mMol). Larutan dijaga pada suhu rendah dan terlindung dari cahaya untuk segera digunakan.

d. Pengukuran Larutan Senyawa Pembanding

Diambil masing-masing dari konsentrasi sampel masing-masing (100 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm) dan Kontrol positif yaitu vitamin C dibuat dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm) yang telah ditentukan sebanyak 1,5 ml masukkan kedalam botol vial, lalu ditambahkan larutan DPPH 0,1 mMol sebanyak 3 ml. Dihomogenkan dengan vortex, lalu diinkubasi selama 30 menit, diukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

e. Penentuan Kadar Sampel

Ekstrak *Gracilaria verrucosa* ditimbang 0,020 gr atau 20 mg, Dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml aquabides. Dihomogenkan, diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 517 nm. Dicatat (sebagai sumbu y) dan konsentrasi (sebagai sumbu x), kemudian dimasukkan ke dalam persamaan. Di mana y = 50 dan nilai x menunjukkan IC_{50}. . Persen inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Hambatan aktivitas radikal bebas } (\%) = \frac{Ab-As}{Ab} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab : Serapan larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) dalam etanol
As : Serapan larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) setelah bereaksi dengan sampel

Hasil % inhibisi dicatat kedalam tabel sebagai y dan konsentrasi larutan pembanding sebagai x untuk di regresi sehingga menghasilkan sebuah persamaan y = a + bx. Peredaman (inhibisi) terhadap radikal bebas dinyatakan dalam persen, dan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)* yang menunjukkan konsentrasi sampel antioksidan yang dapat menghambat atau meredam aktivitas antioksidan yang semakin tinggi atau dengan kata lain IC_{50} sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50 % aktivitas DPPH. semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Sapri *et al.,* 2013). Skema Uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 8.

4. PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen basis basah (kadar air basah) atau persen basis kering (kadar air basis kering). Kadar air juga salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur dan citarasa pada bahan pangan (Winarno, 2004 *dalam* Gunawan dan Suhendra, 2012). Kadar air rumput laut pada umumnya berkisar antara 80-100%. Hal ini disebabkan karena rumput laut yang diambil sebelum pengeringan adalah rumput laut basah yang langsung diambil dari laut, sehingga memiliki kandungan air yang cukup banyak. Tetapi pada penelitian ini, sebelum dilakukan pengukuran kadar air, rumput laut dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Jadi kadar air yang diukur bisa dikatakan banyaknya air yang terkandung dalam rumput laut (Gunawan dan Suhendra, 2012).

Tabel 3. Hasil Uji Kadar Air *Gracilaria verrucosa*

Berat Cawan (A)	Berat Sampel	Berat Cawan+Sampel Sebelum Oven(B)	Berat Cawan+Sampel Sesudah Oven (C)	%Kadar Air
49,1189 gr	2,0191 gr	51,138 gr	50,7248 gr	20,46

Hasil uji kadar air rumput laut *Gracilaria verrucosa* adalah 20,46% pada Tabel 3. Hasil penetapan kadar air pada simplisia yang telah memenuhi persyaratan Menurut Winarno (2004), apabila kandungan air bahan berkisar 12-25 % kira-kira setara dengan a_w 0,8. Aktivitas air (water activity = a_w) merupakan jumlah air di dalam bahan yang tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme. Penghambatan mikroba secara total akan terjadi pada a_w bahan < 0,6 setara dengan kadar air < 7% untuk mengantisipasi hal tersebut perlu dilakukan

penyimpanan sampel serbuk kering pada lemari pendingin. Proses Uji Kadar Air dapat dilihat pada Lampiran 23.

4.2 Hasil Skrining Fitokimia

Sampel *Gracilaria verrucosa* yang telah dihaluskan, kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik seberat 10 gram dibagi menjadi 5 macam uji fitokimia, yaitu : Uji Flavonoid, Tanin/Polifenol, Saponin, Terpenoid (Triterpenoid dan Steroid) dan Alkaloid (P.Meyer dan P.Dragendrof).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia *Gracilaria verrucosa*

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

Penentuan golongan senyawa kimia alga merah (*Gracilaria verrucosa*) dilakukan untuk mendapatkan informasi mengenai golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hasil pemeriksaan penentuan golongan senyawa kimia simplisia alga merah (*Gracilaria verrucosa*).

Berdasarkan hasil skrining fitokima pada *Gracilaria verrucosa* yang terdapat pada Tabel 4. Menunjukkan bahwa *Gracilaria verrucosa* mengandung

saponin dan terpenoid (triterpenoid). Ini membuktikan *Gracilaria verrucosa* mengandung senyawa aktif metabolit sekunder.

Menurut Hashimoto (1979), mengatakan bahwa senyawa toksis yang terdapat pada *Gracilaria verrucosa* yaitu saponin, merupakan senyawa yang komplek terdiri dari gula dan steroid atau triterpenoid. Saponin mula-mula diberi nama demikian karena sifatnya yang khas menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan saponin juga dapat menghancurkan butir sel darah merah lewat hemolisis (Robinson, 1995).

Senyawa steroid pada *Gracilaria verrucosa* mempunyai aktivitas antibakteri dan antijamur (Sukmiwati, 2012). Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan merupakan golongan terpenoid, fenolik dan alkaloid yang bersifat semi polar dan polar. Senyawa-senyawa yang mempunyai aktifitas antioksidan diharapkan mampu mencegah kerusakan akibat radikal bebas. Kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan dinyatakan dengan persen inhibisi. Sebagai senyawa pembanding potensi aktivitas antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* diperlukan standar antioksidan dari bahan alam.

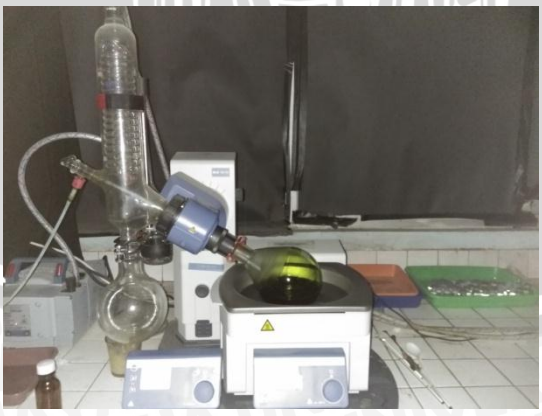
Bahan alam yang sering dipakai adalah vitamin C dan asam galat. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air dan cukup dikenal sebagai antioksidan dalam industri makanan karena dapat menangkap radikal bebas. Vitamin C atau *L-ascorbic acid,* merupakan senyawa hidrofilik. Senyawa ini merupakan antioksidan paling penting dalam cairan ekstraseluler. Vitamin C dapat mencegah terbentuknya superoksida, hydrogen peroksida, hipoklorit, radikal hidroksil, radikal peroksil dan radikal oksigen (Sukmiwati, 2012).

4.3 Ekstraksi dan Randemen

4.3.1 Ekstraksi

Perbandingan yang digunakan pada penelitian ini adalah 1:4, antara simplisia *Gracilaria verrucosa* dengan pelarut etanol 96%. Menurut Azis *et al*., (2014), pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan proses ektraksi, pengunaan pelarut etanol pada ektraksi ini akan memperlihatkan perubahan warna yang tidak merusak komponen.

Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang berguna untuk mencegah rusaknya senyawa antioksidan yang terdapat di dalam alga merah (*Gracilaria verrucosa*). Pada proses maserasi dilakukan pengadukan dengan bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar dan di dalam sampel *Gracilaria verrucosa* . Selain itu juga akan mempercepat pengembangan sel yang mengandung zat aktif sehingga dengan mudah cairan penyaring dapat melarutkan senyawa dalam rongga sel kemudian keluar melalui proses difusi yang disebabkan adanya perbedaan konsentrasi larutan di dalam rongga sel dan di luar sel (Mitayani, 2010). Proses maserasi *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Lampiran 22.



Gambar 3. Proses Evaporasi *Gracilaria verrucosa*

Setelah dilakukan maserasi *Gracilaria verrucosa* disaring sehingga didapatkan maserat (pelarut hasil rendaman *Gracilaria verrucosa*) dan ampas, maserat diuapkan menggunakan rotary evaporator seperti Gambar 3, hingga diperoleh pasta yang berwarna hijau kecoklatan. Ekstrak yang berwana coklat ini menghasilkan aroma wangi seperti gula merah namun rasanya sangat pahit. Ekstrak ini merupakan senyawa metabolit sekunder karena terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder yang memiliki ciri rasa yang pahit (Harborne, 1987).

Prinsip kerja *rotary evaporator vacuum* adalah penurunan tekanan sehingga pelarut menguap 5-10^{0}C pada suhu di bawah titik didihnya (Ernawati, 2013). Pelarut yang menguap lebih dahulu di bawah titik didihnya dikarenakan adanya pompa vakum yang berfungsi untuk menurunkan tekanan. Penurunan tekanan menyebabkan titik didih pelarut menjadi turun sehingga pelarut akan lebih mudah menguap. Pelarut yang terkena panas dari *waterbath* di bawah suhu titik didihnya akan menguap, uap dari pelarut akan terkondensasi menjadi wujud cair yang tertampung dalam labu destilat, sedangkan ekstrak tertambpung dalam labu alas bulat (Abraham, 2013). Proses pemekatan dihentikan ketika ekstrak yang diperoleh cukup pekat dan ditandai dengan berhentinya penetasan pelarut pada labu alas bulat. Setelah proses evaporasi, masing-masing ekstrak yang diperoleh, dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diberi label dan ditimbang sebelumnya, untuk penghitungan nilai randemen. Ekstrak hasil evaporasi yang kedua maupun ketiga kalinya dimasukkan ke dalam botol vial yang berbeda-beda dan ditimbang berat akhir botol ditambah ekstrak.

4.3.2 Randemen

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 3 randemen yaitu randemen *Glacillaria verrucosa* kering, simplisia dan hasil ayakan. Pada Randemen 1 berat kering *Glacillaria verrucosa* didapatkan nilai randemen sebesar 14,21%. Pada Randemen 2 berat simplisia *Glacillaria verrucosa* didapatkan randemen sebesar 96,24%. Sedangkan pada randemen 3 hasil ayakan didapatkan randemen sebesar 57,90%. Berikut adalah tabel hasil randemen *Gracillaria verrucossa.* Didapatkan hasil perhitungan randemen yang terdapat pada Tabel 5. Randemen Alga Merah dan perhitungan randemen dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 5. Randemen Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Gracillaria verrucosa.	Berat (kg)	Randemen (%)
Basah	71,18	-
Kering	10,12	14,21
Simplisia	9,74	96,24
Hasil Ayakan	5,64	57,90

Menurut Hijaz (2009), nilai randemen yang tertinggi tidak hanya mengindikasikan banyaknya metabolit sekunder yang terdapat pada sampel tetapi dapat mengindikasikan bahwa pada sampel terdapat salah satu senyawa metabolit sekunder yang mendominasi.

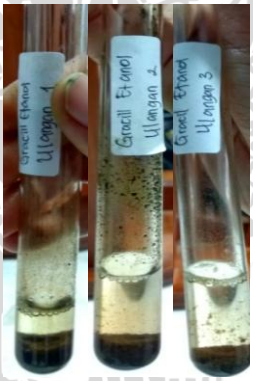
4.4 Uji Kadar Vitamin C

4.4.1 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C

Kelompok alga merah memiliki pigmen fikoeretein (*phycoeretherin)* dan fikosianin *(phycocyanin)* yang struktur dasarnya pirol dan berprotein. Fikoeretrin adalah pigmen yang berwarna merah cerah dan memancarkan warna oranye,

sedangkan fikosianin berwarna biru dan memancarkan warna merah tua. Alga merah mempunya sifat adaptik kromatik, yaitu mempunyai penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan sehingga pada kenyataan di alam, alga merah menunjukkan variasi warna lain seperti pirang, violet, merah tua, merah muda, cokelat, kuning dan hijau (Atmadja, 2007 *dalam* Hijaz, 2009).

Alga merah (*Gracilaria verrucosa*) memiliki kandungan vitamin B1, B2 dan vitamin C. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah vitamin C. Tujuan dilakukannya uji kuantitatif kadar vitamin C adalah untuk memastikan bahwa didalam ekstrak etanol pada *Gracilaria verrucosa* terdapat senyawa yang mampu bekerja sebagai antioksidan.



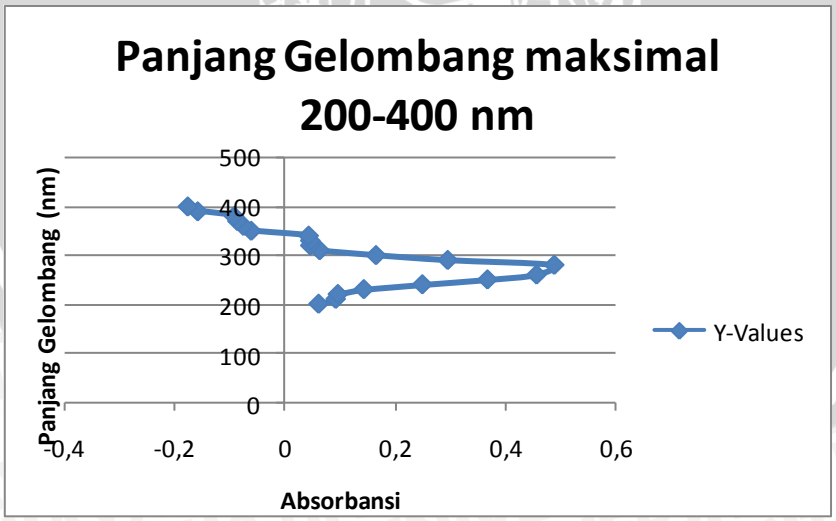
Gambar 4. Hasil Uji Kualitatif Vitamin C pada ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*

Hasil uji identifikasi kandungan vitamin C yaitu uji reaksi warna dengan yaitu melarutkan sampel *Gracilaria verrucosa* lalu ditambahkan dengan dua tetes larutan $KMnO_4$. Gambar 4 menunjukkan ekstrak *Gracilaria verrucosa* mengandung vitamin C, hal tersebut sesuai dengan Anggraeni (2014), apabila adanya perubahan warna dari pereduksi kalium permanganat yang semula berwarna ungu berubah menjadi cokelat maka pada ekstrak *Gracilaria verrucosa* positif mengandung vitamin C dan antioksidan. Proses uji kuantitatif kadar vitamin C pada *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat di lampiran 24.

4.4.2 Uji Spektrofotometri UV-Visible

Pada penelitian ini telah dilakukan analisis untuk mengetahui kadar vitamin C di dalam alga merah *Gracilaria verrucosa* dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel, dimulai dengan menentukan panjang gelombang maksimum untuk analisis vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Panjang gelombang optimum dengan menggunakan spektrofotmetri UV-Visibel dilakukan terhadap larutan standart vitamin C pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

Menurut Wardani (2012), penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Panjang gelombang optimum dengan menggunakan spektrotometri UV-Visibel dilakukan terhadap larutan standar vitamin C pada rentang panjang gelombang 200-400 nm karena molekul-molekul dengan ikatan rangkaplah yang mempunyai enenrgi eksitasi yang cukup rendah yang menimbulkan penyerapan dalam daerah UV dekat.



Gambar 5. Grafik Panjang Gelombang Maksimal 200-400 nm.

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal 200-400 nm pada Gambar 5 terdapat nilai yang tertinggi dengan panjang gelombang 270 nm dan

panjang gelombang paling terkecil terletak pada 400 nm. Dari hasil tersebut pengukuran yang digunakan untuk menghitung kadar vitamin C adalah panjang gelombang 270 nm. Penentuan panjang gelombang maksimal larutan asam askorbat dapat dilihat pada Lampiran 11.

Menurut Wardani (2012), molekul-molekul vitamin C yang memerlukan energi lebih besar untuk promosi elektron akan menyerap panjang gelmobang yang lebih pendek. Sedangkan molekul-molekul vitamin C yang memerlukan energi yang lebih kecil akan menyerap panjang gelombang yang lebih panjang. Kekuatan suatu asam merupakan kemampuannya menyumbangkan atau melepaskan proton pada molekul air. Asam lemah adalah asam yang tidak terionisasi secara signifikan dalam larutan. Vitamin C merupakan asam lemah yang mempunyai nilai K_a yang kecil (sejumlah kecil H_3O^+ ada dalam larutan ; asam hanya terurai sebagian).

4.4.3 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C

Vitamin C adalah salah satu zat gizi yang berperan sebagai antioksidan dan efektif mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan, termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi (Wardani, 2012). Masing-masing deret standar vitamin C yang diukur dengan berbagai macam konsentrasi pada rentang linier 4 ppm sampai dengan konsentrasi 16 ppm, yaitu 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm dan 16 ppm. Vitamin C (asam askorbat) adalah vitamin yang larut dalam air, vitamin C memiliki banyak peranan penting dalam menangkal berbagai penyakit.

Vitamin C atau biasa dikenal dengan asam askorbat ini mempunyai tugas penting dalam pembentukan kolagen. Kolagen adalah zat yang membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan membantu penyerapan zat besi (Mikail, 2012). Pengulangan yang dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan

dengan waktu yang sama atau dengan jarak waktu yang dekat dapat dilihat pada Tabel 6.

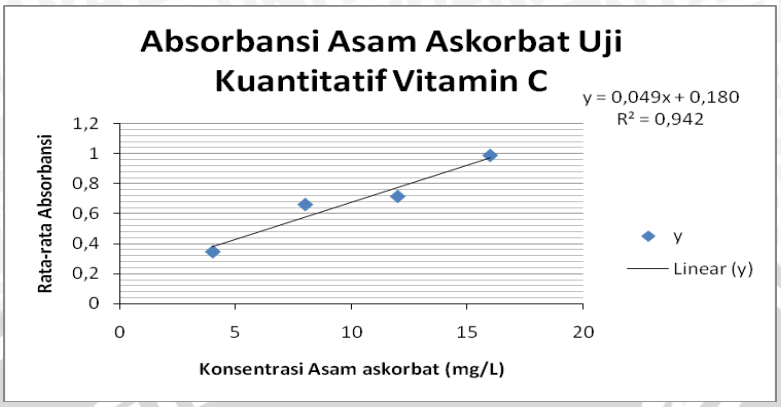
Tabel 4. Hasil Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
4	0,396	0,313	0,323	0,344
8	0,644	0,657	0,676	0,659
12	0,691	0,735	0,714	0,713
16	1,029	0,970	0,958	0,986

Senyawa vitamin C ditetapkan dengan membuat deret standar sebanyak 4 konsentrasi pada rentang 4 ppm sampai dengan 16 ppm pada panjang gelombang 270 nm yang dihitung pada alat Spektrofotometri UV-Visibel. Pada tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan absorbansi, agar tiap konsentrasi mendapatkan nilai atau hasil akhir yang akurat. Sedangkan, Sampel ekstrak rumput laut dalam uji kadar vitamin C yaitu diambil sebanyak 0,05 gram kemudian ditambah dengan 10 ml larutan aquabides dan dilarutkan, setelah itu diukur serapan pada panjang gelombang maksimum yang didapat kemudian dicatat sebagai x. Sehingga dari ketiga pengulangan tersebut diberi rata-rata absorbansi untuk mengetahui nilai tiap konsentrasi yang didapatkan. Kelebihan metode ini adalah tidak menggunakan banyak titrasi bahan kimia tentunya bisa menghemat pemakaian bahan kimia sehingga dalam pengujian tidak memakan waktu yang lama dan lebih efisien.

Berikut adalah grafik persamaan linier dari standar vitamin C dengan pelarut ethanol 96% pada sampel *Gracilaria verrucosa* dengan panjang

gelombang 270 nm dan konsentrasi 500 ppm dilakukan dengan 1 kali pengulangan, terdapat pada gambar 6.



Gambar 6. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C

Pada regresi asam askorbat diketahui bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan. Artinya, dengan meningkatnya konsentrasi, maka absorbansi juga akan meningkat. Hal ini berarti bahwa terdapat 94,2% data yang memiliki hubungan linier.

Hasil dari persamaan gambar 6 tersebut dimasukkan kedalam perhitungan (y = absorbansi tiap ulangan). Berikut adalah hasil absorbansi standar vitamin C dengan pelarut etanol 96% pada sampel *Gracilaria verrucosa* dengan panjang gelombang 270 nm berdasarkan uji pendahuluan penentuan panjang gelombang konsentrasi 1000 ppm memberikan persamaan regresi linier y = 0,049x + 0,180 dengan R^2= 0,942.

Tabel 5. Hasil Absorbansi Vitamin C

Ulangan	Absorbansi	Hasil (ppm)	
		1000	5000
1	0,815	12,959	64,8
2	1,088	18,53	92,6
3	0,890	14,48	72,5

Pada panjang gelombang 270 nm dari konsentrasi 1000 ppm, 5000 ppm dan prosentase vitamin C pada tabel 7 memberikan hasil pengukuran kadar vitamin C dalam sampel 1000 ppm hasil tertinggi terdapat pada ulangan 2 adalah 18,53 ppm, pada 5000 ppm 92,6 ppm dan prosentase vimain C (5000 ppm) adalah 2,852. Pengaruh lama penyimpanan menjadi faktor utama turunnya kadar fenolat total. Penyimpanan semakain lama, semakin turun pula kadar fenolat total pada ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Zentimer (2007), bahwa semakin lama penyimpanan maka kadar vitamin C akan semakin rendah.

Menurut Sudarmadji, 1996 *dalam* Matheos (2014), Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena vitamin C memiliki 2 gugus hidroksil yang mengakibatkan lebih mudah dalam pendonoran hidrogen. vitamin C sebagai antioksidan dapat memberikan satu atau dua elektronnya untuk menstabilkan radikal bebas. Perhitungan kadar vitamin C sampel *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Lampiran 14.

4.5 Uji Aktivitas Vitamin C Sebagai Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH dengan larutan uji konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm yang dibandingkan dengan larutan pembanding absorbansi ekstrak dan DPPH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Senyawa DPPH dilarutkan dalam metanol sebelum ditambahkan ekstrak *Gracilaria verrucosa*, hal ini dilakukan DPPH menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol. Menurut Praptiwi *et al.,* (2006), radikal bebas DPPH stabil dengan absorbsi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan dapat direduksi oleh senyawa antioksidan. Proses Uji Antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 26.

Pada tabel 8 merupakan pembanding uji aktivitas antioksidan pada sampel *Gracilaria verrucosa* dan kontrol positif asam askorbat, tabel di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi (ppm) maka semakin besar nilai rata-rata absorbansinya, sehingga aktivitas antioksidan untuk meredam DPPH dengan bertambahnya waktu. Menurut Sari *et al*., (2015), etanol alga olahan dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Pelarut yang digunakan yaitu etanol merupakan pelarut polar yang sesuai untuk senyawa antioksidan. Tetapi mempunyai aktivitas penangkal radikal bebas yang lebih rendah bila dibandingkan dengan antioksidan sintetik yaitu vitamin C.

Tabel 8. % Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Sampel *Gracilaria verrucosa* dengan larutan pembanding

Uji Aktivitas Antioksidan					
Sampel ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*			**larutan pembanding**		
konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	Konsentrasi	absorbansi	% inhibisi
Kontrol	1,876	-	kontrol	0,379	-
100 ppm	1,305	30,4	5 ppm	0,246	35,1
200 ppm	1,206	35,7	10 ppm	0,237	37,5
400 ppm	1,142	39,1	15 ppm	0,225	40,6
800 ppm	1,020	45,6	20 ppm	0,208	45,1

Pada Tabel 8 nilai %inhibisi diperoleh dari perhitungan larutan yang telah diencerkan dengan berbagai konsentrasi menghasilkan absorbansi yang berbeda sehingga menghasilkan persen inhibisi. Menurut Mardawati *et al*., (2008), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut, maka semakin tinggi persentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak

juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Vitamin C (asam askorbat) digunakan sebagai pembanding pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol, hal ini karena sifat vitamin C mudah larut dalam air dan memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Vitamin C mudah beubah akibat oksidasi namun stabil jika merupakan kristal (murni), sehingga dalam penelitian ini digunakan vitamin C dalam bentuk kristal, yaitu kristal acidum ascorbicum (Mitayani, 2010). Perhitungan Uji Antioksidan pada sampel *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Lampiran 20. Berdasarkan data tersebut maka dapat diperoleh sebuah persamaan regresi yang dapat digunakan untuk perhitungan IC_{50} (*Inhibitor Concentration 50%*). Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas.

4.6 Analisa Nilai IC_{50} Sampel Uji

Nilai-nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)* merupakan nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC_{50}) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambatan aktivitas radikal bebas (Matheos *et al.,* 2014). Harga IC_{50} menggambarkan besarnya daya meredam radikal bebas (antioksidan) larutan uji dan sebagai pembanding adalah vitamin C, disebabkan senyawa ini memiliki daya meredam radikal bebas (antioksidan) yang baik. Oleh karena itu vitamin C dapat digunakan untuk membandingkan daya meredam radikal diantara senyawa-senyawa peredam radikal bebas (Haryoto *et al.,* 2007). Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh untuk ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Tabel 9 berikut ini:

Tabel 7. Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh untuk ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* dan kontrol positif asam askorbat

Larutan Uji	Regresi	Hasil
Ekstrak etanol rumput laut	y = 0,02x + 30,2	990
Kontrol Positif Asam askorbat	y = 0,662x + 31,3	28,24

Tabel 9 secara keseluruhan menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* dengan regresi y = 0,02x + 30,2 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan vitamin C sebagai kontrol positif y = 0,662x + 31,1 yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Hal ini karena ekstrak etanol dari rumput laut tersebut bukan merupakan senyawa murni, tetapi masih mengandung senyawa-senyawa lain yang kemungkinan tidak mempunyai aktivitas antioksidan (Hendra, 2014).

Menurut Mardawati *et al*., (2008), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)* bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 ppm, lemah jika IC_{50} adalah 150-200 ppm dan sangat lemah jika nilai IC_{50} >200 ppm. Ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* diperoleh nilai IC_{50} sebesar 990 dan kontrol positif asam askorbat sebesar 28,24. IC_{50} *e*kstrak etanol *Gracilaria verrucosa* lebih kecil nilainya dibandingkan dengan kontrol positif asam askorbat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil dibandingkan dengan asam askorbat (Mitayani, 2010).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh kadar air 20,46%. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* mengandung golongan senyawa saponin, steroida atau triterpenoida, vitamin C dan antioksidan.
2. Pada uji kualitatif terdapat kadar vitamin C, karena adanya endapan berwarna coklat setelah diberi 2 tetes $KMnO_4$. Kadar vitamin C sampel *Gracilaria verrucosa* ekstrak ethanol 96% terbesar terdapat pada ulangan ke 2 sebesar 92,6 ppm.
3. Pengaruh vitamin C dalam sampel *Gracilaria verrucosa* dalam penelitian ini terhadap aktivitas antioksidan diketahui sangat lemah sehingga kurang mampu menangkal radikal bebas.

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk menggunakan rumput laut basah atau segar dengan pelarut yang berbeda dari penelitian ini agar dapat diperoleh kadar antioksidan lebih kuat.

DAFTAR PUSTAKA

Abraham, A. 2013. Uji Anittoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia scholaris,* L.R.Br) Terhadap Mencit (*Mus cumulus*) Balb/C Yang Terinfeksi *Toxoplasma Gondii* strain RH. Skripsi. Malang : Jurusan Kimia Saintek UIN Malang.

Agoes, G. 2007. Seri farmasi Industri :Teknologi Bahan Alam. cetakan pertama. ITB. Bandung.

Aksara, R., W.J.A, Musa dan L, Alio. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang mangga *(Mangifera indica L.). Jurnal Entropi.* 8 (1) :515-519.

Andriana, R. 2009. Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Terung Pucuk *(Solanum macrocarpon L.)*. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Anggadiredja, J.T., Z, Achmad., P, Heri., dan I, Sri. 2011. Rumput Laut. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal. 6,20, 63,77-80.

Anggraeni, O.N., A.G, Fasya., M, Abidin., dan A, Hanapi. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Cholorella* sp. Alchemy. 3(2) : 173-188.

Aslan, L.M. 1998. Budidaya Rumput Laut. Jakarta: Kanisius. Hal. 13-17.

Azis, Tamzil., S, Febrizky., dan A.D, Mario. 2014. Pengaruh jenis Pelarut Terhadap Persen YieldAlkaloid Dari daun Salam India (*Murraya koenigii*). Teknik Kimia. 2(2): 1-6.

Blois, MS. 1985. Antioxidant Determinations by The Use Of A Stable Free Radical. Nature 181. 1199-1200.

Cahyadi, W. 2006, Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Makanan, Jakarta : Penerbit Bumi Aksara

Coppen, P.P. 1983. The Use Of Antioxidant. Di dalam : J.C Allen dan R.J Hamilton, editor . Rancidity in Foods. Applied Science Publishers, London.

Cowan. M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. Oxford. Miami.

Dahuri, R. 2003. Keanekaragaman Hayati Laut. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Dawes, C.J.1981. Marine Botany. John Wiley Dawson University of South Florida New York.

_____ . 1981. Marine Botany. Florida: A Wiley-Interscience Publication. Hal. 21, 213.

Departemen Kesehatan RI. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 9-39.

Edriansyah. 2013. Uji Efektifitas Etanol 70% Ganggang Merah *(Gracilaria verucossa)* Terhadaap Penurunan Kolesterol Total pada Tikus Putih Janta. UIN. Jakarta.

Ernawati. 2013. Identifikasi Awal dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scarba*) Pesisir Pamekasan dengan Metode DPPH. *Skripsi*. Malang :Jurusan Kimia Saintek UIN Malang.

Forrester, A. R., J.M, Hay., and R. H, Thompson. 1968. Organic Chemistry of Stable Free Radicals, London : Academies Press.

Ganjar, H., dan A, Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal 222.

Gunawan, I. W. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (Phyllanthus niruri Linn). ISSN 1907-9850.

Gunawan, E. R., dan D, Suhendra. 2012. Screening Dan Analisis Kadar Omega-3 Dari Rumput Laut Pulau Lombok Ntb. Molekul, Vol. 7. No. 2: 95 – 104.

Gordon, M.H. 1990. The Mechanism Of Antioxidants Action In Vitro. Di dalam : B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants Elsivier Applied Science, London.

Hafiludin. 2011. Karakteristik Proksimat Dan Kandungan Senyawa Kimia Daging Putih Dan Daging Merah Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) .Jurnal KELAUTAN. 4 (1) : 59-67. ISSN : 1907-9931.

Hanani, A. M., dan S, Ryany. 2007. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia sp* dari Kepulauan Seribu. Majalah ilmu Kefarmasian. Vol II, NO 3 (127-133).

Hagerman, A.E. 2002. Tanin Chemistry. http://www.sers.mauochio.edu. Diakses pada tanggal 22 Maret 2016.

Hamilton, R.J. 1983. The Chemistry Of Rancidity in Foods. Di dalam : J.C. Allen dan R.J Hamilton, editor Rancidity in Foods. Applied Science Publishers, London.

Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh: Padmawinata, K dan I, Soediro. Penerbit ITB. Bandung. Halaman 1-354.

Haryoto., B, Santoso., dan H, Nugroho. 2007. Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang *Shorea acuminatissima* dengan Metode DPPH. Jurnal Ilmu Dasar. 8(2): 158-165.

Hashimoto, Y. 1979. Marine Toxin And Other Bioactive Marine Metabolites. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.

Hendra. 2014. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Simplisa Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria verrucoa* (Hudson) Papenfus Dengan Metode DPPH.

Hijaz, M. N. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan dalam Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dan *Gracillaria verrucosa*. Universitas Islam Negeri Malang. Malang

Ikalinus, R., S.K, Widyastuti., dan N.L.E, Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera)*.Indonesia Medicus Veterinus. 4(1) : 71-79. ISSN: 2301-7848.

Jamilah, L. 2013. Pemanfaatan Rumput Laut *Gracilaria verucossa* sebagai Produk Bakto Agar dan Aplikasinya dalam Media pertumbuhan Mikroorganisme Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Janan, F. F., R.S. Santosa dan M,Sulistiowati. 2013. Pengaruh Lama Maserasi dan Perbandingan Kuning Telur dengan Etanol pada Pembuatan Tepung Telur Puyuh Terhadap Kadar Protein dan Lemak. *Jurnal Ilmiah* Peternakan 1 (2):710-717.

Karinda, M., Fatimawati., dan G. Curaningtyas. 2013. Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Vitamin C Mangga Dodol Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis Dan Iodometri. Jurnal Ilmiah Farmasi. FMIPA. Unstrad Manado.

Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami. Surabaya: Trubus Agrisarana. Hal 4-5, 16, 21, 24, 43.

Lailiyah, Ahwalul., T. K. Adi., A. Hakim dan E. Yusnawan. 2014. Kapasitas Antioksidan Dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Dari Pantai Sumenep Madura. ALCHEMY, Vol.3 No. 1 : hal 18 – 30.

Lenny, S., 2006, *Terpenoid dan Steroid,* Departemen Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara, Medan.

Mangunwardoyo, W., E.Cahyaningsih., dan T. Usia. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran *(Phyllanthus niruri L.)*. Jurnal Ilmu kefarmasian Indonesia. 7: 59-63.

Mardawati, F. Filianty, dan H, Marta. 2008. Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Padjadjaran.

Martini. 2006. Bahan Tambahan Makanan. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. 64 hlm.

Matheos, H., M.R.J, Runtuwene., dan Sudewi, S. 2014. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*). Jurnal Ilmiah Farmasi. 3(3): 235-247. ISSN :2302-2439.

Maulida, D dan N. Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan menggunakan Solven Campuran, N-Heksana, Aseton dan Etanol. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang. 56 hlm.

Mikail. 2012. Mengungkap Manfaat Vitamin C. Edisi Revisi Rineka Cipta. Jakarta.

Mitayani, G. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica Fragan Houtt*) Dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Semarang.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyaw Aktif. Jurnal Kesehatan. (7): 361-368.

Nangude, T.D. 2007. Salt Formatiom Is An Acid-Base Reaction Involving Either A Proton-Transfer Or Neutralization Reaction and Is Therefore Controlled By Factors Influencing Such Reactions. http://www.lockhern.com/cas-140/1401-55-4.html. Diakses pada tanggal 10 Maret 2016.

Niwa,Y. 1997. Radikal Bebas Mengundang Kematian. Personal Care Co. Ltd., Tokyo, 30-87.

Praptiwi., P. Dewi., dan M. Harapini. 2006. Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas *diphenyl picril hydrazil hydrate* (DPPH) Ekstrak Metanol Knema laurina. Jurnal Majalah Farmasi Indonesia., 17 (1): 32-36.

Pryor, W. A. 1966. Free Radicals, United States of America: Me Graw Hill Book Company.

Putinella, J.D. 2001. Evaluasi Lingkungan Budidaya Rumput Laut Di Teluk Bagula Maluku.

Putri , T. D., D.P, Priadi., dan Sriati. 2014. Dampak Usaha Perikanan Budidaya Terhadap Kondisi Lingkungan Dan Sosial Ekonomi Masyarakat Pada Lahan Psang Surut Kabupaten Banyuasin Propinsi Sumtera Selatan. 2(1) : 43-54. ISSN: 2303-2960.

Rahmasari, V. 2008. Pemanfaatan Air Sabut Kelapa Dalam Pembuatan Agar-Agar Kertas Dari Rumput Laut *Gracilaria* sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Institut pertanian Bogor. Bogor.

Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, SifatAntioksidan dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Jurnal Belian. 9 (2) :196-202.

Regina A., Y, Lisawati dan Maimunah. 2003. Pennetuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum l)*. Akreditas DIKTI Depdiknas RI. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

Rienoviar dan H, Nashrianto. 2010. Penggunaan Asam Askorbat (Vitamin C) Untuk Meningkatkan Daya Simpan Sirup Rosela (*Hibiscus sabdariffa Linn*.). Hasil Penelitian Industri. 23 (1) : 8-18.

Rizani, K. Z. 2000. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi dan Inokulum *Saccharomyces cerevisease* pada Proses Fermentasi Sari Kulit nanas (*Ananas cornosus I. Merr)* untuk Produksi Etanol. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya Malang. 86 hlm.

Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung: ITB.

Rosida, J. 2002. Uji Saponin dalam Lidah Buaya, Limbah Buah Mengkudu dan Daun Mimba. Temu Teknis Fungsional Non Penelitian :70-76.

Sani, R.N., C.N. Fithri., D.A. Ria., dan 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.

Sapri., P.R., dan F, Mohd. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tumbuhan Singgah Perempuan (*Loranthus* sp) Dengan Metode DDPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). ISBN :978-602-19421-0-9. Prosiding Seminar Nasional.

Sari, B.L., N,Susanti., dan Sutanto. 2015. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Alga Merah *Euchema spinosum.*Pharm Sci Res ISSN: 2407-2345. 2(1) : 59-68.

Silalahi, J. 2006. Makanan Fungsional. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. Hal 40, 47-48.

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.

Soegiarto, A., Sulistijo., W.S, Atmadja., dan H, Mubarak. 1978. Rumput Laut (Algae) Manfaat, Potensi dan Usaha Budidayanya. LON-LIPI, Jakarta.

Sompie, G.J. 2014. Analisis Sumberdaya Perikanan Dalam Pembangunan Daerah Kota Bitung. Jurnal Studi Pembangunan Interdisiplin. 28 (1) : 44-63.

Soo-Jin H,. P, Pyo-Jam., P, Eun-Ju., K, Se-Kwon., dan J, You-Jin. 2005. Antioxidant activity of enzymatic extracts from a brown seaweed Ecklonia cava by electron spin resonance spectrometry and comet assay. Eur Food Res Technol 221:41–47.

Sudarmadji, S., B. Haryono., dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta. Yogyakarta 165 hlm.

Sudjadi. 1986. Metode Pemisahan. Kanisius. Yogyakarta.

Sukmiwati, M. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Pada 16 Spesies Teripang Yang Ditemukan Pada Perairan Natuna Kepulauan Riau. Prosiding Semirata BKS PTN-B MIPA. ISBN 978-602-9115-20-8.

Suparmi dan S, Achmad. 2009. Mengenal Potensi Rumput Laut : Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri Dan Kesehatan. Sultan Agung. 44(118): 95-116.

Toripah, S. S., J, Abidjulu.,dan F, Wehantouw. 2014. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera Lam). 3(4): 37-44. ISSN 2302-2493.

Vaya, J., dan M, Aviram. 2001. Nutritional Antioxidant : Mechanism of Action , Analyses of Activities and Medical Applications. Curr Med Chem-Imm, Endoc and Metabolism Agents. 1(1):99-117.

Windono, T. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (vitis vinifera) Probolinggo biru dan Bali, Artikel Hasil Penelitian, Artocarpus, Vol I no.1: 34-43, Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya.

Wardani, L. A. 2012. Validasi Metode Analisis Dan Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Buah Kemasan Dengan Spektrofotometri UV-Visibel. Skripsi. Universitas Indonesia, Depok :Depok.

Wibisono, D. 2003. Riset Bisnis Panduan Bagi Praktis dan Akademisi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 107 hlm.

Winarno, F.G., S. Fardiaz dan D, Fardiaz. 1980. Pengantar Teknologi Pangn PT. Gramedia Jakarta.

Winarno. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi.* Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius, Yogyakarta.

Wiratmaja, I. Gede., I.G. Kusuma., dan I.N. Winaya. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua Dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottonii* sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Mesin Cakram.* 5 (1) : 75-84.

Yudihapsari, E. 2009. Kajian Kadar Protein, pH, Viskositas dan Randemen Kecap Whey dari Berbagai Tingkat Penggunaan Tepung Kedelai. Universitas Brawijaya. Malang. 5 halaman.

Yunizal. 1999. Teknologi Ekstraksi Alginat dari Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae). Instalasi Penelitian Perikanan Laut Slipi, Balai Penelitian Perikanan Laut, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.

Zentimer, S. 2007. Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan Terhadap Mutu minuman Sari Buah Sirsak [Skripsi]. Departemen Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan

a. Pengeringan

Alat	Oven
	Nampan
	Termometer alkohol
Bahan	Plastik mulsa hitam
	Waring
	Rafia
	Kertas koran

b. Uji Kadar Air

Alat	Desikator
	Crushtable tang
	Oven
	Timbangan analitik
	Cawan petri
Bahan	*Gracilaria verrucosa* kering

c. Penggilingan

Alat	Penggilingan
	Bak besar
Bahan	*Gracilaria verrucosa* kering

d. Maserasi

Alat	Toples kaca
	Magnetik stirer
	Jerigen
	Timbangan digital
	Spatulla
	Erlenmeyer
	Kertas saring
	Corong
Bahan	Pelarut etanol 96%
	Alumunium foil

e. Evaporasi

Alat	Rotary vacum evaporator
	Spatulla
	Botol fial
Bahan	Timbangan digital
	Erlenmeyer
	aluminium foil

f. Uji Kualitatif Vitamin C

Alat	Cuvet
	Pipet volum
	Timbangan analitik
	Tabung reaksi
	Beaker glass
Bahan	Ekstrak *Gracilaria verrucosa*
	Asam askorbat
	$KMnO_4$ 0,1%

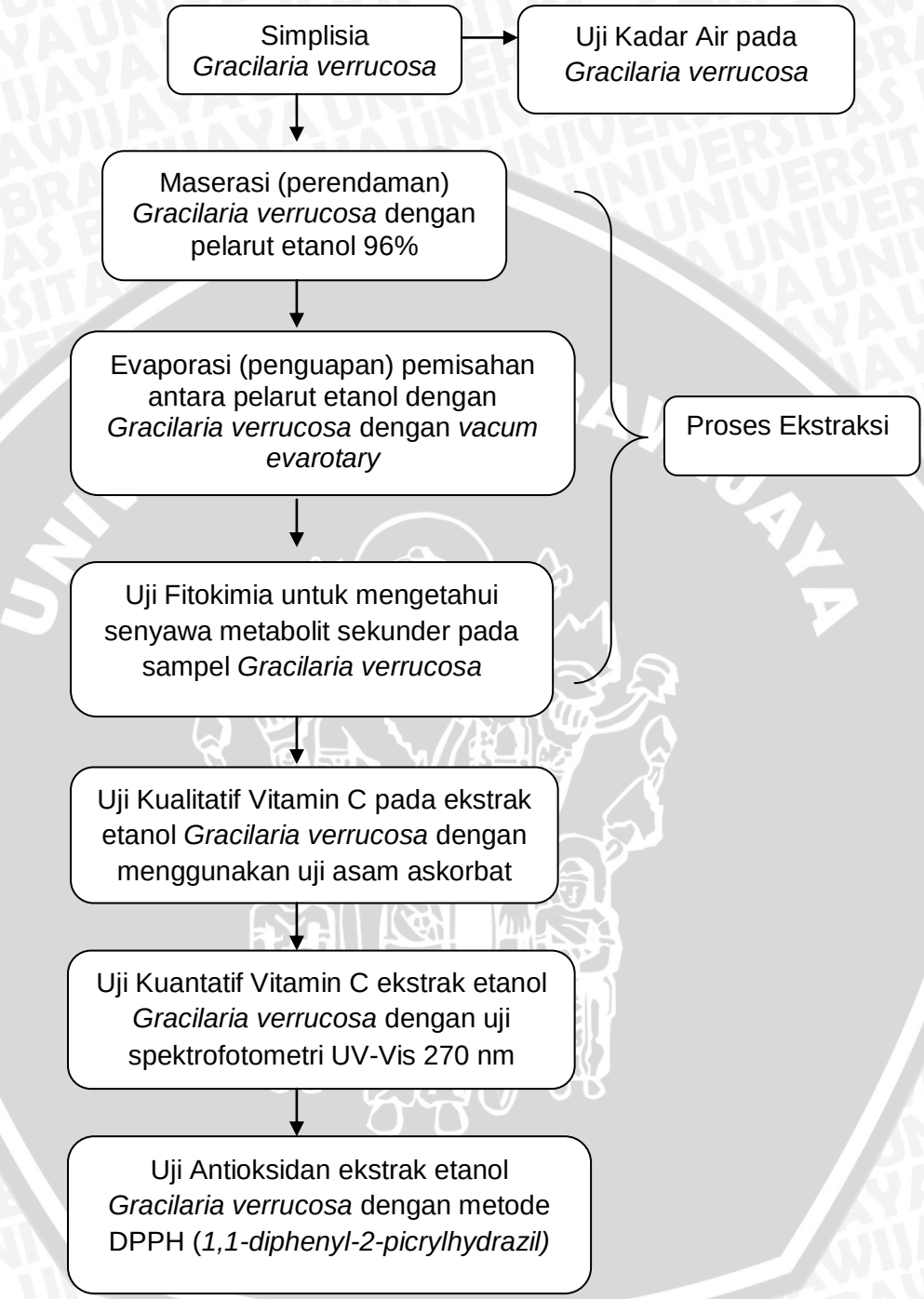
g. Uji Aktivitas Antioksidan

Alat	Spektrofotometri UV-Vis
	Timbangan analitik
	Botol vial
	Mikropipet 1000µl, 20µl, 0µl
	Pipet volum 10 ml
	Tabung reaksi
	Gelas Ukur 10ml
	Erlenmeyer 100ml
	Beaker glass 250ml, 500ml
Bahan	Ekstrak *Gracilaria verrucosa*
	Larutan DPPH 0,1 %
	Metanol
	Alumunium foil

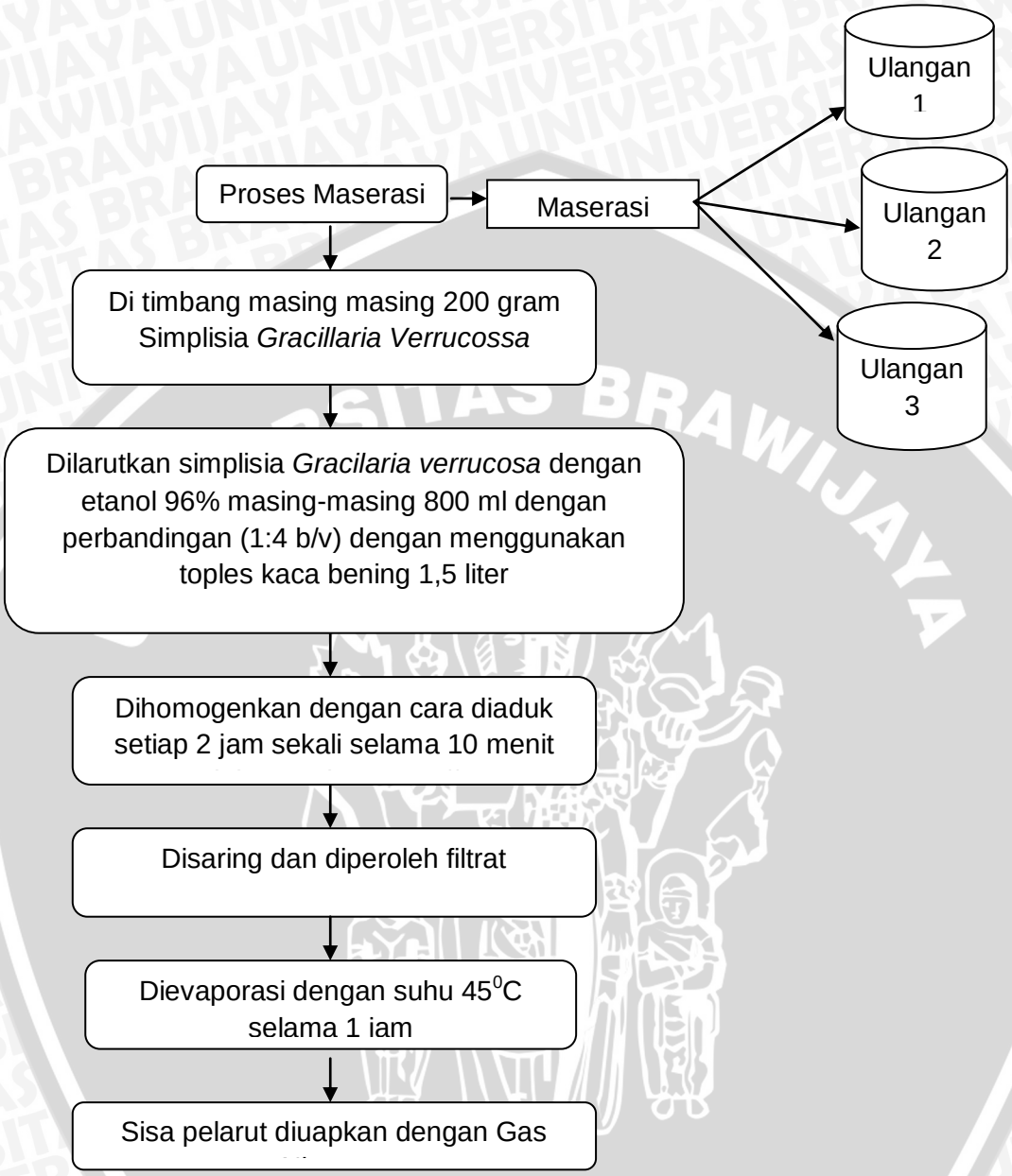
h. Uji Kuantitatif Vitamin C

Alat	Spektrofotometri UV-Vis
	Timbangan analitik
	Corong kaca
	Tabung reaksi
	Pipet volum
Bahan	Ekstrak *Gracilaria verrucosa*
	Asam askorbat
	Aquabides

Lampiran 2. Skema Penelitian

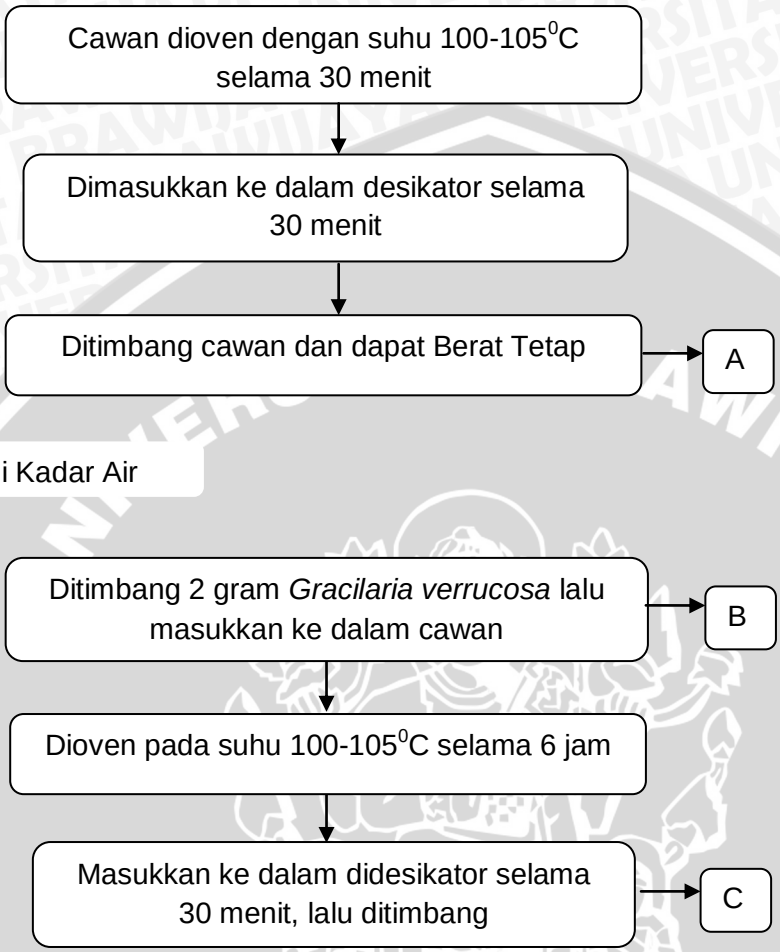


Lampiran 3. Skema Proses Ekstraksi



Lampiran 4. Skema Uji Kadar Air dengan Metode Oven

Persiapan

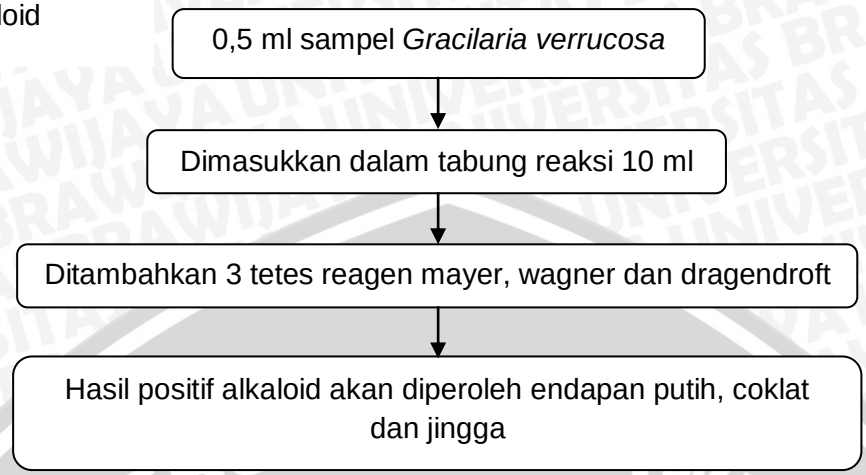


Dihitung dengan Rumus:

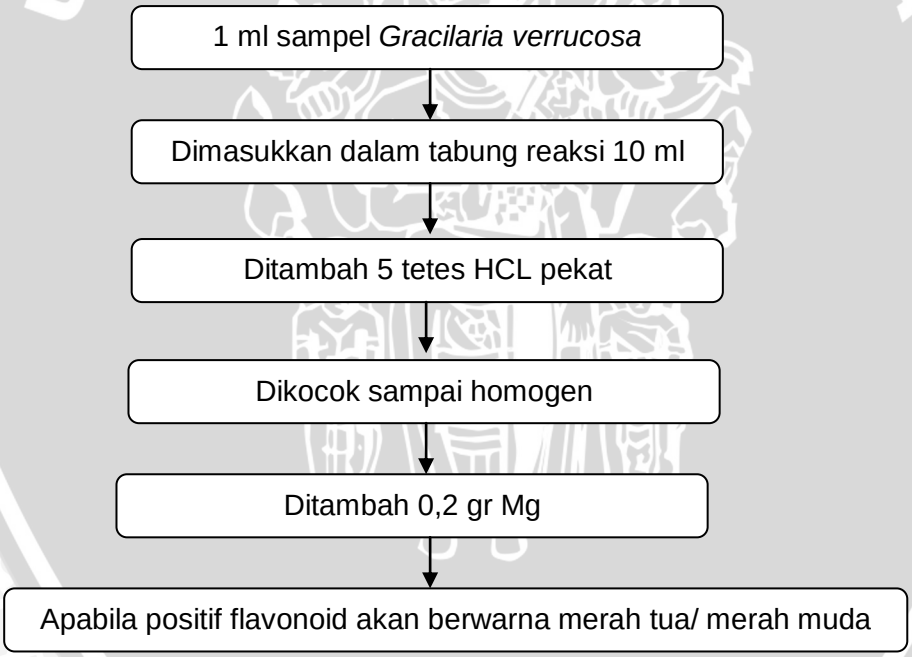
$$\text{Kadar air } \% = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Lampiran 5. Skema Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

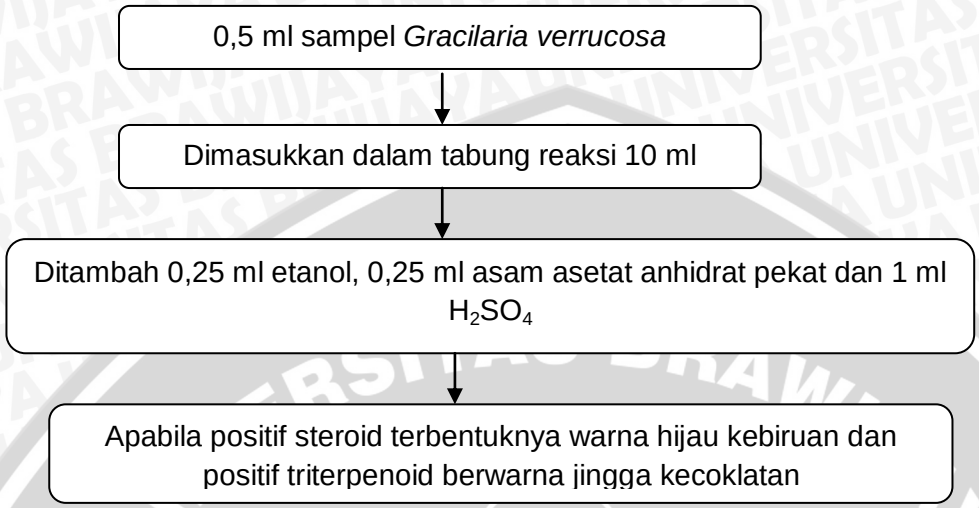


b. Uji Flavonoid

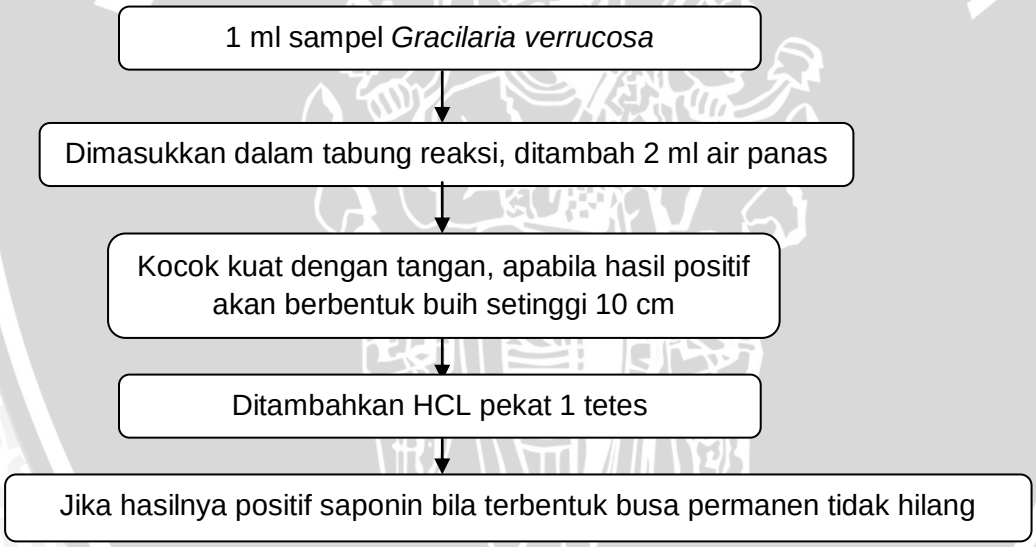


Lampiran 5. Lanjutan

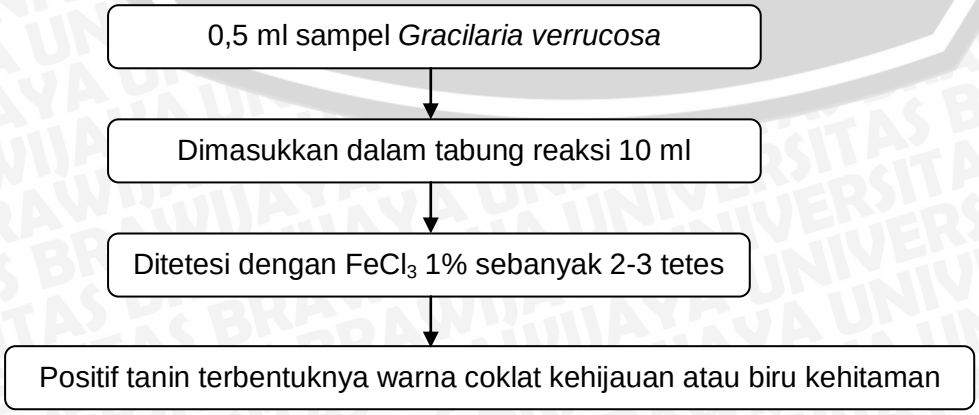
c. Uji Steroid/ Triterpenoid



d. saponin

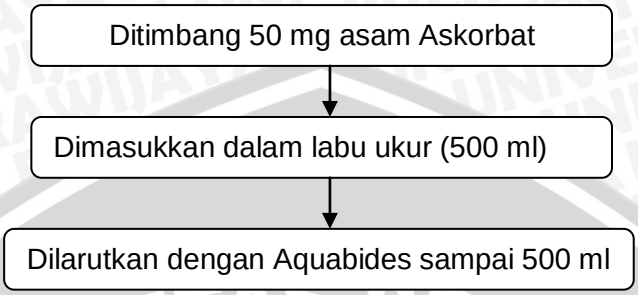


c. Tanin

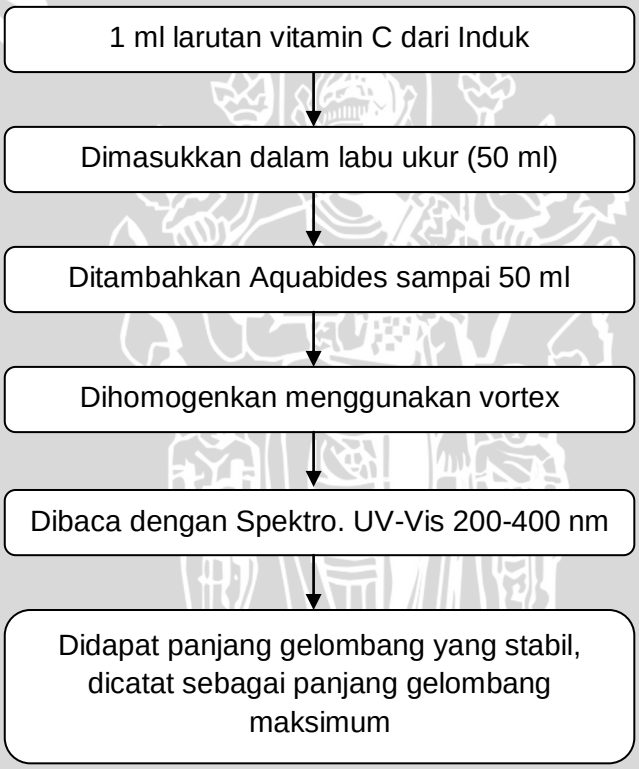


Lampiran 6. Skema Uji Kuantitatif Vitamin C

a. Pembuatan Larutan Induk 100 ppm

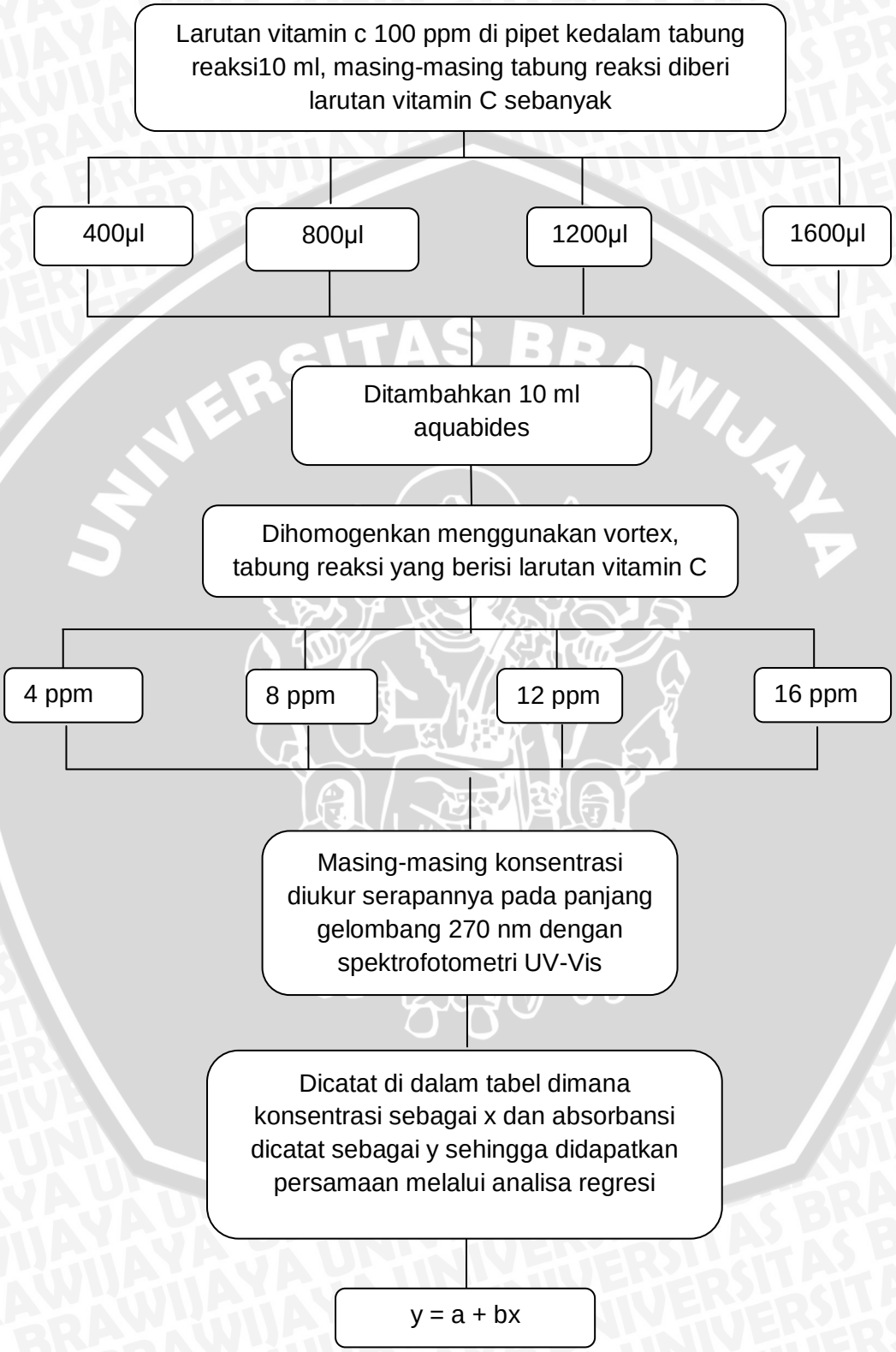


b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



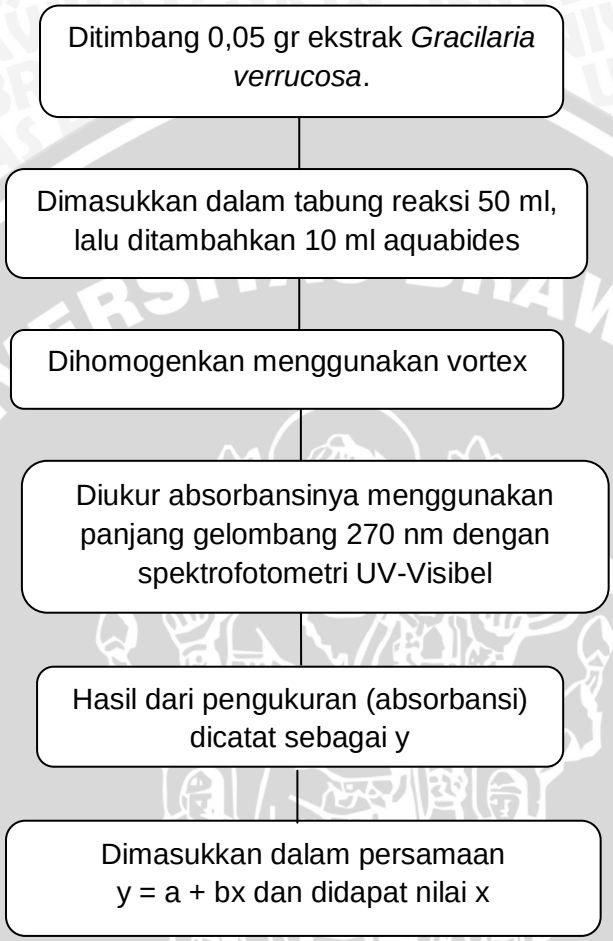
Lampiran 6. Lanjutan

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi

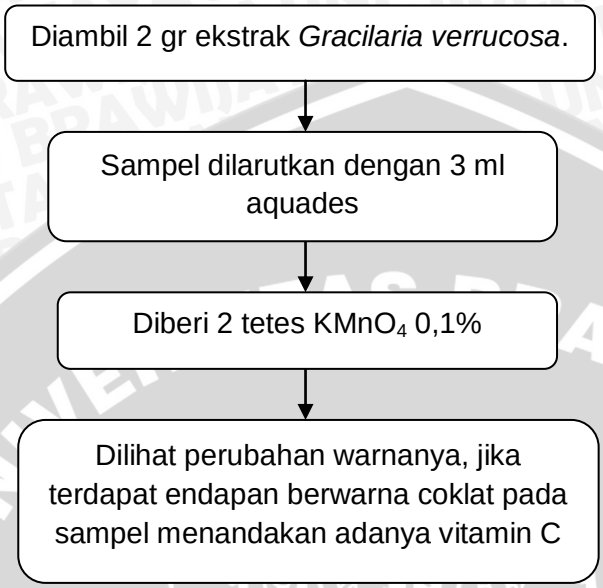


Lampiran 6. Lanjutan

d. Penentuan Kadar Sampel

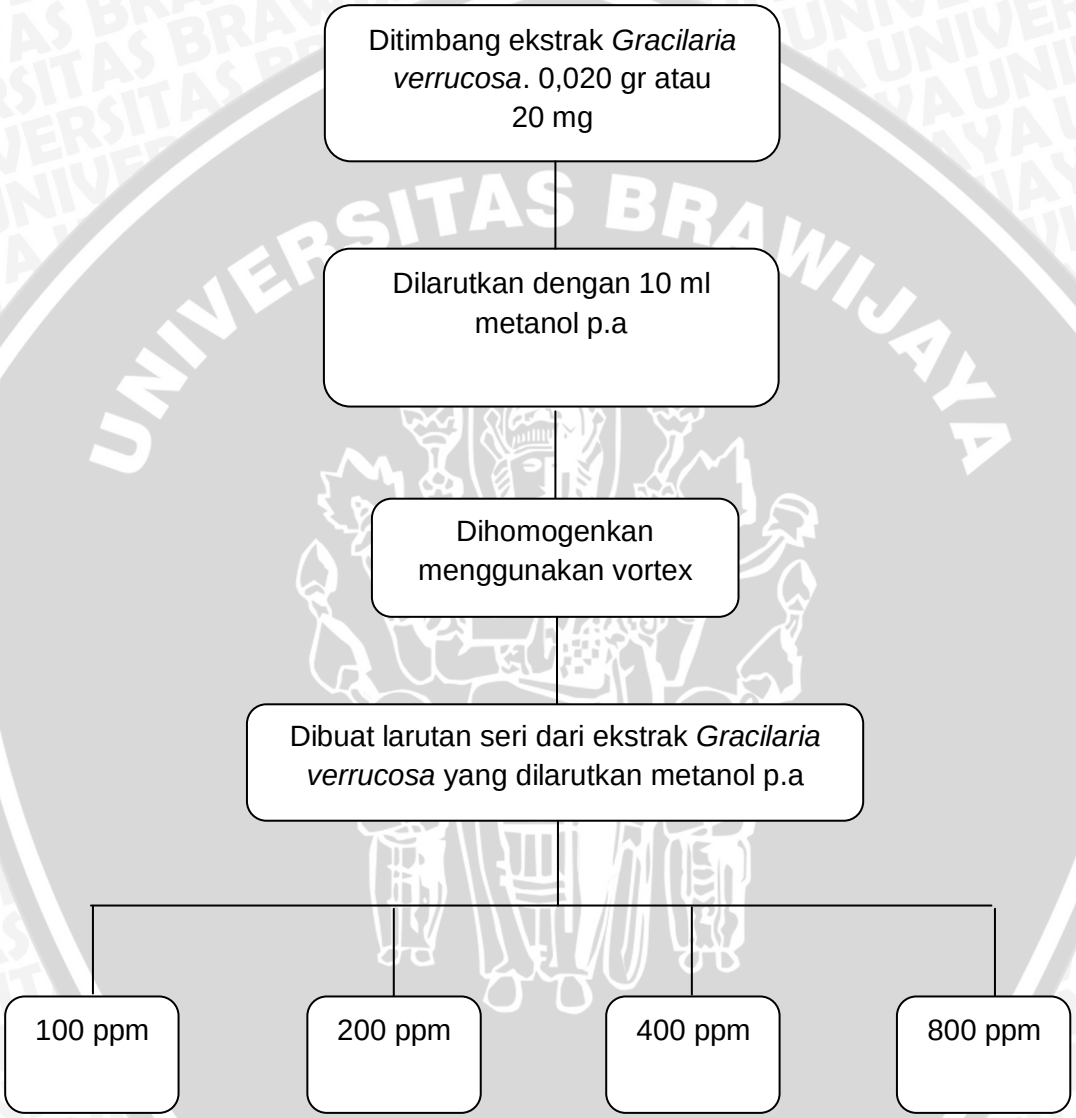


Lampiran 7. Skema Uji Kualitatif Vitamin C



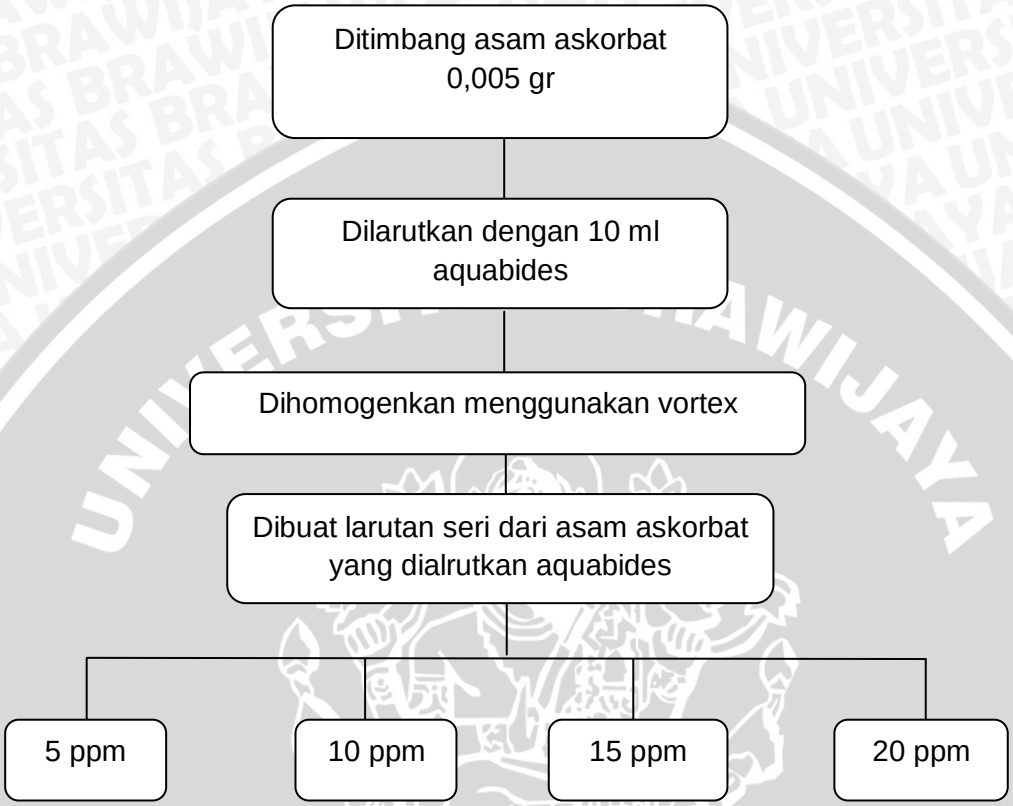
Lampiran 8. Skema Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan induk senyawa uji antioksidan 2000 ppm



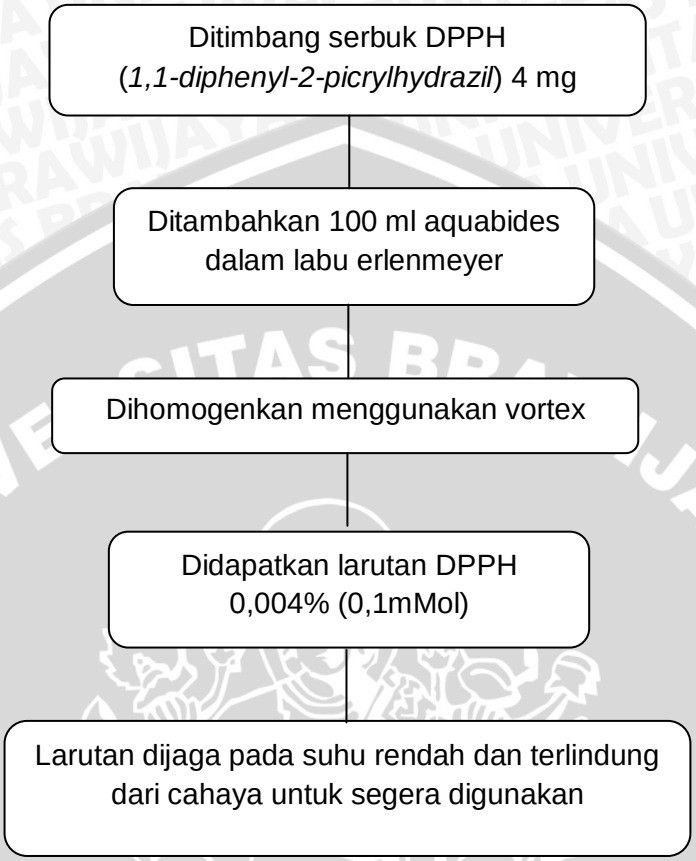
Lampirab 8. Lanjutan

b. Pembuatan Larutan Senyawa Pembanding 500 ppm



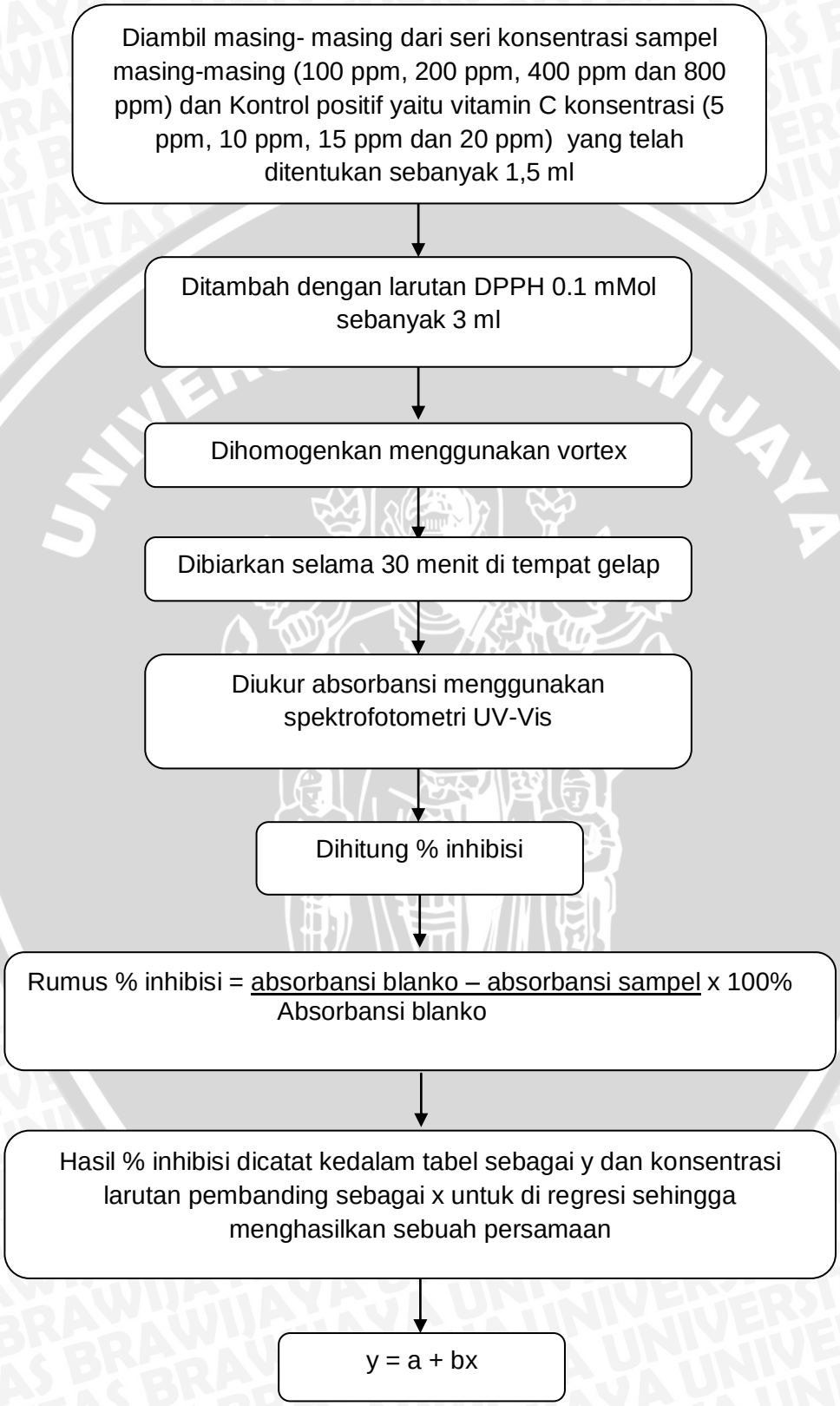
Lampirab 8. Lanjutan

c. Pembuatan Larutan DPPH 0,004% (0,1 mMol)



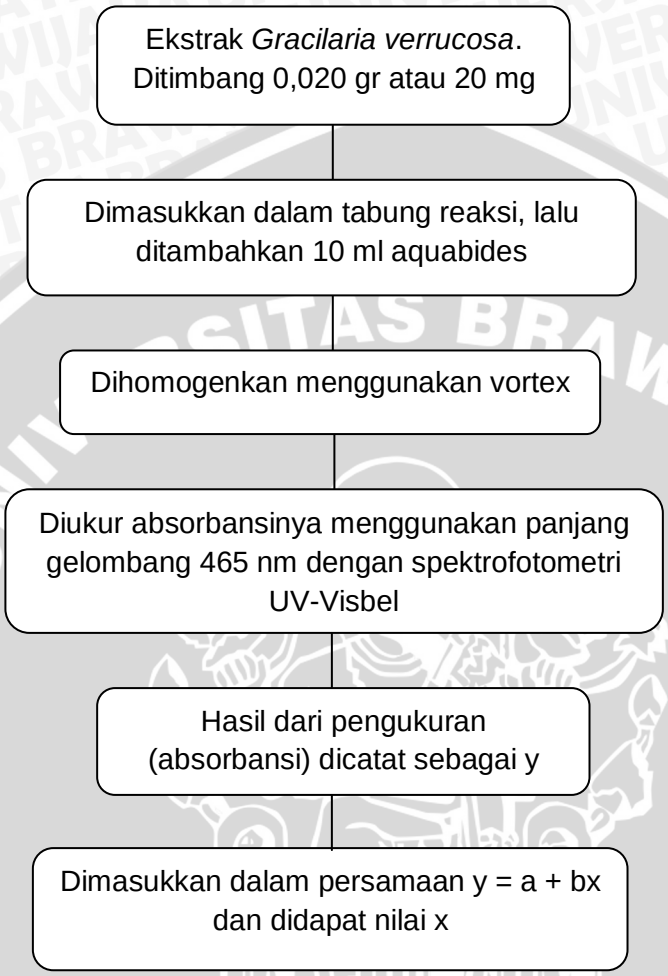
Lampiran 8. Lanjutan

d. Pengukuran Larutan Senyawa Pembanding

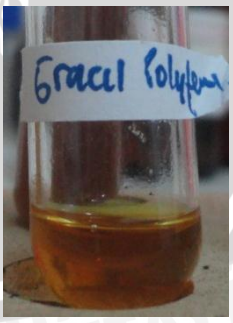


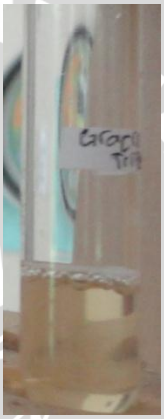
Lampiran 8. Lanjutan

e. Penentuan Kadar Sampel



Lampiran 9. Hasil Uji Fitokimia *Gracilaria verrucosa*

No	Golongan Senyawa	Hasil Skrining Fitokimia	Gambar
1.	Alkaloid		
	Pereaksi Mayer	-	
	Pereaksi Dragendrof	-	
2.	Saponin	+	
3.	Tanin / Polifenol	-	

4.	Flavonoid	-	
5.	Terpenoid		
	Triterpenoid	+	
	Steroid	-	

Keterangan : (+) positif : mengandung golongan senyawa

(-) negatif : tidak mengandung golongan senyawa

Lampiran 10. Tabel Hasil Pengujian Kadar Air *Gracilaria verrucosa*

Tabel Hasil Pengujian Kadar Air *Gracilaria verrucosa*

Berat Cawan (A)	Berat Sampel	Berat Cawan+Sampel Sebelum Oven(B)	Berat Cawan+Sampel Sesudah Oven (C)	%Kadar Air
49,1189 gr	2,0191 gr	51,138 gr	50,7248 gr	20,46

Perhitungan Kadar Air

Rumus = $\frac{B - C}{B - A}$ x 100%

Keterangan :

A = Berat Cawan

B = Berat Cawan + Sampel Sebelum di Oven

C = Berat Cawan + Sampel Sesudah di Oven

$$= \frac{B - C}{B - A} \; x \; 100\%$$

$$= \frac{51{,}138 \text{ gr} - 50{,}724 \text{ gr}}{51{,}138 \text{ gr} - 49{,}1189 \text{ gr}} \; x \; 100\%$$

= 20,47 %

Lampiran 11. Tabel Randemen Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Gracilaria verrucosa	Berat (gram)	Randemen (%)
Berat Awal	200	-
Ulangan 1	10,87	5,435
Ulangan 2	11,3	5,65
Ulangan 3	9,36	4,68

Perhitungan Randemen

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$$

Randemen 1

$= \frac{10,87}{200} \; x \; 100\%$

= 5,435 %

Randemen 2

$= \frac{11,3}{200} \; x \; 100\%$

= 5,65%

Randemen 3

$= \frac{9,36}{200} \; x \; 100\%$

= 4,68%

Lampiran 11. Lanjutan

Tabel Randemen Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Gracilaria verrucosa	Berat (kg)	Randemen (%)
Basah	71,18	-
Kering	10,12	14,21
Simplisia	9,74	96,24
Hasil Ayakan	5,64	57,90

Perhitungan Randemen

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100\%$$

Randemen 1

$= \frac{10,12}{71,18} \times 100\%$

= 14,21 %

Randemen 2

$= \frac{9,74}{10,12} \times 100\%$

= 96,24%

Randemen 3

$= \frac{5,64}{9,74} \times 100\%$

= 65,90%

Lampiran 12. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Larutan Asam Askorbat

Pembuatan Larutan Induk 100 ppm Asam Askobat ($C_6H_8O_6$)

1. 1 M ($C_6H_8O_6$) = (Ar C x Jumlah Atom C) + (Ar H x Jumlah Atom H) + (Ar O x Jumlah Atom O)

   1 M $C_6H_8O_6$ = (12 x 6) + (1 x 8) + (16 x 6)

   = 72 + 8 + 96

   = 176 gr

Jadi, dalam 1 M $C_6H_8O_6$ terdapat 176 gr .

2. $$\text{Molekul 100 ppm} = \frac{\text{Berat Asam Askorbat (100 ppm)}}{\text{Berat Molekul } C_6H_8O_6}$$

$$\text{Mol 100 ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{176 \text{ gr}}$$

$$\text{Mol 100 ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{176.000 \text{ mg}}$$

Mol 100 ppm = 0, 00057 M

Jadi, dalam 100 ppm asam askorbat terdapat 0,00057 M

3. Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 100 ppm

$$100 \text{ ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{x} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

$$\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{100 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{100 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

x = 10 mg atau 0,01 gram

Jadi, untuk mendapatkan 100 ppm larutan Induk dibutuhkan asam askorbat seberat 10 mg atau 0,01 gram dilarutkan dengan 100 ml pelarut.

- **Larutan Asam Askorbat 2 ppm**

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 100 ppm (asam askorbat) = 50 ml . 2 ppm

$$V1 = \frac{50\ ml\ .2\ ppm}{100\ ppm}$$

V1 = 1 ml atau 1000 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 2 ppm diperlukan 1000 µl asam askorbat 100 ppm dilarutkan ke dalam 50 ml pelarut

Tabel Uji Pendahuluan Panjang Gelombang Maksimal 200 - 400 nm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
	0,061
210	0,092
220	0,096
230	0,143
240	0,249
250	0,367
260	0,456
270	0,488
280	0,295
290	0,165
300	0,063
310	0,046
320	0,046
330	0,043
340	-0,061
350	-0,075
360	-0,086
370	-0,092
380	-0,146
390	-0,158
400	-0,176

Lampiran 13. Pengenceran Larutan Standar Asam Askorbat ($C_6H_8O_6$)

4, 8, 12, 16 ppm

Rumus = V1 . M1 = V2 . M2

1. Larutan seri 4 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 100 ppm = 10 ml . 4 ppm

$$V1 = \frac{10\ ml\ .4\ ppm}{100\ ppm}$$

V1 = 0,4 ml atau 400 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 4 ppm diperlukan 400 µl dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

2. Larutan Seri 8 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 100 ppm = 10 ml . 8 ppm

$$V1 = \frac{10\ ml\ .8\ ppm}{100\ ppm}$$

V1 = 0,8 ml atau 800 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 4 ppm diperlukan 800 µl dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

3. Larutan Seri 12 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 100 ppm = 10 ml . 12 ppm

$$V1 = \frac{10\ ml\ .12\ ppm}{100\ ppm}$$

V1 = 1,2 ml atau 1200 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 4 ppm diperlukan 1200 µl dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

4. Larutan Seri 16 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 100 ppm = 10 ml . 16 ppm

$$V1 = \frac{10\ ml\ .16\ ppm}{100\ ppm}$$

V1 = 1,6 ml atau 1600 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 4 ppm diperlukan 3200 µl dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

Pembuatan Larutan Sampel 5000 ppm

$$5000\ ppm = \frac{5000\ mg}{x} = \frac{5000\ mg}{1000\ ml}$$

$$\frac{5000\ mg}{1000\ ml} = \frac{x}{10\ ml}$$

$$x = \frac{5000\ mg\ x\ 10\ ml}{1000\ ml}$$

x = 50 mg atau 0,05 gram

Jadi, untuk mendapatkan 5000 ppm dibutuhkan sampel ekstrak seberat 50 mg atau 0,05 gram dilarutkan dengan 10 ml pelarut.

Pengenceran Larutan Sampel 5000 ppm ke 1000 ppm

Rumus = V1 . M1 = V2 . M2

Pengenceran Larutan Induk 5000 ppm ke 1000 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 5000 ppm = 10 ml . 1000 ppm

$$V1 = \frac{10\ ml.\ 1000\ ml}{5000\ ml} = 2\ ml$$

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 1000 ppm larutan diperlukan 2 ml larutan induk 5000 ppm dilarutkan dalam 10 ml pelarut

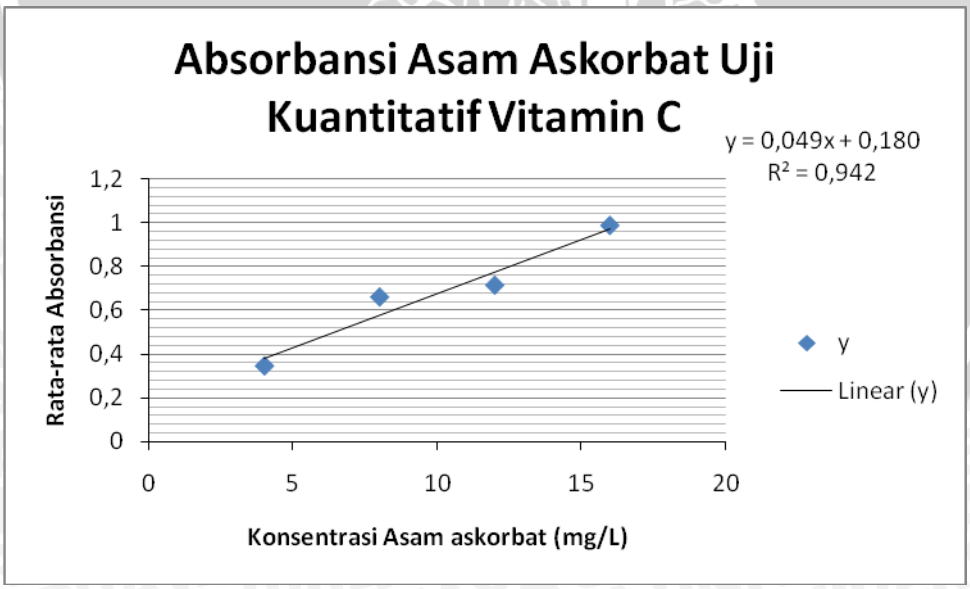
Lampiran 14. Tabel Hasil Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
4	0,396	0,313	0,323	0,344
8	0,644	0,657	0,676	0,659
12	0,691	0,735	0,714	0,713
16	1,029	0,970	0,958	0,986

Tabel Hasil Absorbansi Vitamin C dalam Sampel 1000 ppm

Ulangan	Absorbansi
1	0,815
2	1,088
3	0,890

Kurva Regresi



SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0,97081921
R Square	0,942489939
Adjusted R Square	0,913734908
Standard Error	0,077333693
Observations	4

ANOVA

	df	SS	MS	F	Significance F
Regression	1	0,19602	0,19602	32,7765237	0,02918079
Residual	2	0,011961	0,0059805		
Total	3	0,207981			

	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95,0%	Upper 95,0%
Intercept	0,1805	0,094714043	1,905736401	0,19695846	-0,2270216	0,58802164	-0,22702164	0,588021637
X Variable 1	0,0495	0,00864617	5,725078489	0,02918079	0,01229853	0,08670147	0,012298534	0,086701466

Perhitungan

1. Kadar Vitamin C dalam Sampel 1000 ppm

$$Y = 0{,}049x + 0{,}180$$

Ulangan 1

Y = 0,049x + 0,180

0,815 = 0,049x + 0,180

0,049x = 0,815 - 0,180

$$x = \frac{0{,}815 - 0{,}180}{0{,}049}$$

x = 12,959 ppm

Ulangan 3

Y = 0,049x + 0,180

0,890 = 0,049x + 0,180

0,049x = 0,890 - 0,180

$$x = \frac{0{,}890 - 0{,}180}{0{,}049}$$

x = 14,48 ppm

Ulangan 2

Y = 0,049x + 0,180

1,088 = 0,049x + 0,180

0,049x = 1,088 – 0,180

$$x = \frac{1{,}088 - 0{,}180}{0{,}049}$$

x = 18,53 ppm

2. Kadar Vitamin C dalam Sampel 5000 ppm

Ulangan 1 = Kadar vitamin c sampel (1000 ppm) x Pengenceran

= 12,96 x 5

= 64,8 ppm

Ulangan 2 = Kadar vitamin c sampel (1000 ppm) x Pengenceran

= 18,53 x 5

= 92,65 ppm

Ulangan 3 = Kadar vitamin c sampel (1000 ppm) x Pengenceran

= 14,5 x 5

= 72,5 ppm

Lampiran 15. Pembuatan Larutan Induk 500 ppm Asam Askobat ($C_6H_8O_6$)

1. 1 M ($C_6H_8O_6$) = (Ar C x Jumlah Atom C) + (Ar H x Jumlah Atom H) + (Ar O x Jumlah Atom O)

1 M $C_6H_8O_6$ = (12 x 6) + (1 x 8) + (16 x 6)

= 72 + 8 + 96

= 176 gr

Jadi, dalam 1 M $C_6H_8O_6$ terdapat 176 gr .

2. $$\text{Molekul 500 ppm} = \frac{\text{Berat Asam Askorbat (500ppm)}}{\text{Berat Molekul } C_6H_8O_6}$$

$$\text{Mol 500 ppm} = \frac{500\ \text{mg}}{176\ \text{gr}}$$

$$\text{Mol 500 ppm} = \frac{500\ \text{mg}}{176.000\ \text{gr}}$$

Mol 500 ppm = 0, 00284 M

Jadi, dalam 500 ppm asam askorbat terdapat 0,00284 M

3. Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 500 ppm

$$500\ \text{ppm} = \frac{500\ \text{mg}}{x} = \frac{500\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}}$$

$$\frac{500\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}} = \frac{x}{10\ \text{ml}}$$

$$x = \frac{500\ \text{mg} \times 10\ \text{ml}}{1000\ \text{ml}}$$

x = 5 mg atau 0,005 gr

Jadi, untuk mendapatkan 500 ppm larutan Induk dibutuhkan asam askorbat seberat 5 mg atau 0,005 gram dilarutkan dengan 10 ml pelarut.

Lampiran 16. Pengenceran Larutan Standar Asam Askorbat ($C_6H_8O_6$)

Seri 5, 10, 15, 20 ppm

Rumus = V1 . M1 = V2 . M2

1. Larutan seri 5 ppm

   V1 . M1 = V2 .M2

   V1 . 500 ppm = 5 ml . 5 ppm

   $$V1 = \frac{5\ ml \times 5\ ppm}{500\ ppm}$$

   V1 = 0,05 ml atau 50 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 5 ppm diperlukan 50 µl dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

2. Larutan seri 10 ppm

   V1 . M1 = V2 .M2

   V1 . 500 ppm = 5 ml . 10 ppm

   $$V1 = \frac{5\ ml\ .\ 10\ ppm}{500\ ppm}$$

   V1 = 0,1 ml atau 100 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 10 ppm diperlukan 100 µl dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

3. Larutan seri 15 ppm

   V1 . M1 = V2 .M2

   V1 . 500 ppm = 5 ml . 15 ppm

   $$V1 = \frac{5\ ml\ .\ 15\ ppm}{500\ ppm}$$

   V1 = 0,15 ml atau 150 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 15 ppm diperlukan 150 µl dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

4. Larutan seri 20 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 500 ppm = 5 ml . 20 ppm

$$V1 = \frac{5\ ml\ .\ 20\ ppm}{500\ ppm}$$

V1 = 0,2 ml atau 200 µl

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 20 ppm diperlukan 200 µl dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

Lampiran 17. Pembuatan Larutan DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) 0,1 mMol

1. 1 M ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) = (Ar C x Jumlah Atom C) + (Ar H x Jumlah Atom H) + (Ar N x Jumlah Atom H) + (Ar O x Jumlah Atom O)

1 M $C_{18}H_{12}N_5O_6$ = (12 x 18) + (1 x 12) + (14 x 5) + (16 x 6)
= 216 + 12 + 70 + 96
= 394 gr

Jadi, dalam 1 M $C_{18}H_{12}N_5O_6$ terdapat 394 gr .

2. $$\text{Molekul 40 ppm} = \frac{\text{Berat DPPH (40 ppm)}}{\text{Berat Molekul } C_{18}H_{12}N_5O_6}$$

$$\text{Mol 40 ppm} = \frac{40\ \text{mg}}{394\ \text{gr}}$$

$$\text{Mol 40 ppm} = \frac{40\ \text{mg}}{394.000\ mg}$$

Mol 40 ppm = 0, 0001 M atau 0,1 mMol

Jadi, dalam 40 ppm DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) terdapat 0,1 mMol

3. Pembuatan Larutan DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) 40 ppm

$$40\ \text{ppm} = \frac{40\ \text{mg}}{x} = \frac{40\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}}$$

$$\frac{40\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}} = \frac{x}{100\ \text{ml}}$$

$$x = \frac{40\ \text{mg} \times 100\ \text{ml}}{1000\ \text{ml}}$$

x = 4 mg atau 0,004 gr

Jadi, untuk mendapatkan 40 ppm larutan Induk dibutuhkan DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$ seberat 4 mg atau 0,004 gram dilarutkan dengan 100 ml pelarut.

Lampiran 18. Pembuatan Larutan Sampel 2000 ppm

$$1\ \text{ppm} = \frac{1\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}} = \frac{2000\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}}$$

$$\frac{2000\ \text{mg}}{1000\ \text{ml}} = \frac{x}{10\ \text{ml}}$$

$$x = \frac{2000\ \text{mg} \times 10\ \text{ml}}{1000\ \text{ml}}$$

x = 20 mg atau 0,020 gram

Jadi, untuk mendapatkan 2000 ppm dibutuhkan sampel ekstrak seberat 20 mg atau 0,020 gram dilarutkan dengan 10 ml pelarut.

Pengenceran Larutan Sampel Seri 100, 200, 400, 800 ppm

Rumus = V1 . M1 = V2 . M2

1. Seri 1 ppm

   V1 . M1 = V2 .M2

   V1 . 2000 ppm = 5 ml . 100 ppm

   $$V1 = \frac{5\ \text{ml} . 100\ \text{ppm}}{2000\ \text{ppm}}$$

   V1 = 0,25 ml atau 250 µl

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm larutan diperlukan 250 µl larutan induk sampel 2000 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut.

2. Seri 200 ppm

   V1 . M1 = V2 .M2

   V1 . 2000 ppm = 5 ml .200 ppm

   $$V1 = \frac{5\ \text{ml} . 200\ \text{ppm}}{2000\ \text{ppm}}$$

   V1 = 0,5 ml atau 500 µl

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 200 ppm larutan diperlukan 500 µl larutan induk sampel 2000 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut

3. Seri 400 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 2000 ppm = 5 ml . 400 ppm

$$V1 = \frac{5\ \text{ml} \cdot 400\ \text{ppm}}{2000\ \text{ppm}}$$

V1 = 1 ml atau 1000 µl

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 400 ppm larutan diperlukan 1000µl larutan induk sampel 2000 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut.

4. Seri 800 ppm

V1 . M1 = V2 .M2

V1 . 2000 ppm = 5 ml . 800 ppm

$$V1 = \frac{5\ \text{ml} \cdot 800\ \text{ppm}}{2000\ \text{ppm}}$$

V1 = 2 ml atau 2000 µl

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 800 ppm larutan diperlukan 2000 µl larutan induk sampel 2000 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut.

Lampiran 19. Tabel% Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Larutan Pembanding

Uji Aktifitas Antioksidan		
Konsentrasi Asam Askorbat (ppm)	**Absorbansi**	**%Inhibisi**
Kontrol	0,379	-
5 ppm	0,246	35,1
10 ppm	0,237	37,5
15 ppm	0,225	40,6
20 ppm	0,208	45,1

Perhitungan

1. % Inhibisi

Rumus % Inhibisi = [1-(Absorbansi Sampel) x 100%] / (Absorbansi DPPH)

- **5 ppm**

$= [\,1 - \left(\frac{0,246}{0,379}\right)]x\,100\%$

$= (1 - 0,649\,)\,x\,100\%$

$= 0,351\;x\;100\%$

$= 35,1$

- **10 ppm**

$= [\,1 - \left(\frac{0,237}{0,379}\right)]x\,100\%$

$= (1 - 0,625\,)\,x\,100\%$

$= 0,375\;x\;100\%$

$= 37,5$

- **15 ppm**

$= [\,1 - \left(\frac{0,225}{0,379}\right)]x\,100\%$

$= (1 - 0,594)\,x\,100\%$

$= 0,406\;x\;100\%$

$= 40,6$

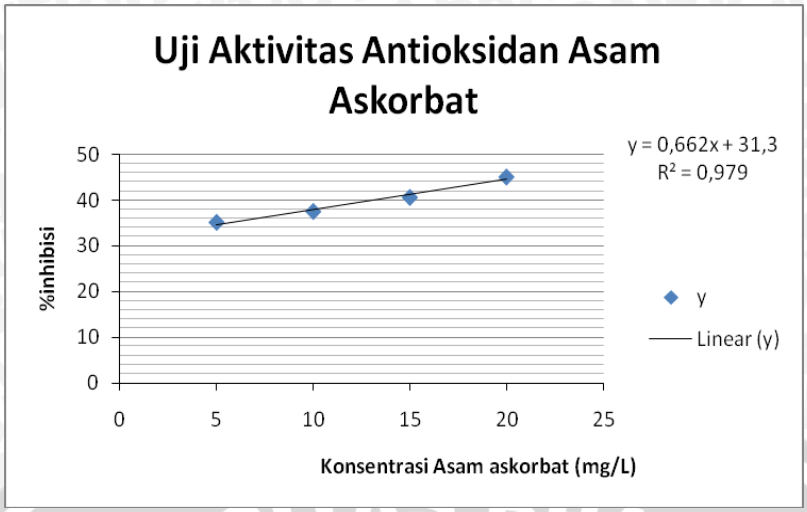
- **20 ppm**

$= [\,1 - \left(\frac{0,208}{0,379}\right)]x\,100\%$

$= (1 - 0,549\,)\,x\,100\%$

$= 0,451x\;100\%$

$= 45,1$



2. IC_{50} Sampel

$$y = 0{,}662x + 31{,}3$$

$$50 = 0{,}662x + 31{,}3$$

$$50 - 31{,}3 = 0{,}662x$$

$$x = \frac{50 - 31{,}3}{0{,}662}$$

$$x = 28{,}24$$

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0,98987
R Square	0,979842
Adjusted R Square	0,969763
Standard Error	0,750666
Observations	4

ANOVA

	Df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	1	54,7805	54,7805	97,21473	0,01013
Residual	2	1,127	0,5635		
Total	3	55,9075			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95,0%*	*Upper 95,0%*
Intercept	31,3	0,919375	34,04488	0,000862	27,34425	35,25575	27,34425	35,25575
X Variable 1	0,662	0,067142	9,859753	0,01013	0,373113	0,950887	0,373113	0,950887

Lampiran 20. Tabel% Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Sampel *Gracilaria verrucosa*

Uji Aktifitas Antioksidan		
Konsentrasi Sampel (ppm)	**Absorbansi**	**%Inhibisi**
Kontrol	1.876	-
100	1,305	30,4
200	1,206	35,7
400	1,142	39,1
800	1,020	45,6

Perhitungan

1. % Inhibisi Rumus % Inhibisi = $\frac{[1-(\text{Absorbansi Sampel}) \times 100\%]}{(\text{Absorbansi DPPH})}$

- **100 ppm**

$= [1 - \left(\frac{1,305}{1,876}\right)] x\ 100\%$

$= (1 - 0,696) \times 100\%$

$= 0,304\ x\ 100\%$

$= 30,4$

- **200 ppm**

$= [1 - \left(\frac{1,206}{1,876}\right)] x\ 100\%$

$= (1 - 0,643) \times 100\%$

$= 0,35\ x\ 100\%$

$= 35,7$

- **400 ppm**

$= [1 - \left(\frac{1,142}{1,876}\right)] x\ 100\%$

$= (1 - 0,609) \times 100\%$

$= 0,391\ x\ 100\%$

$= 39,1$

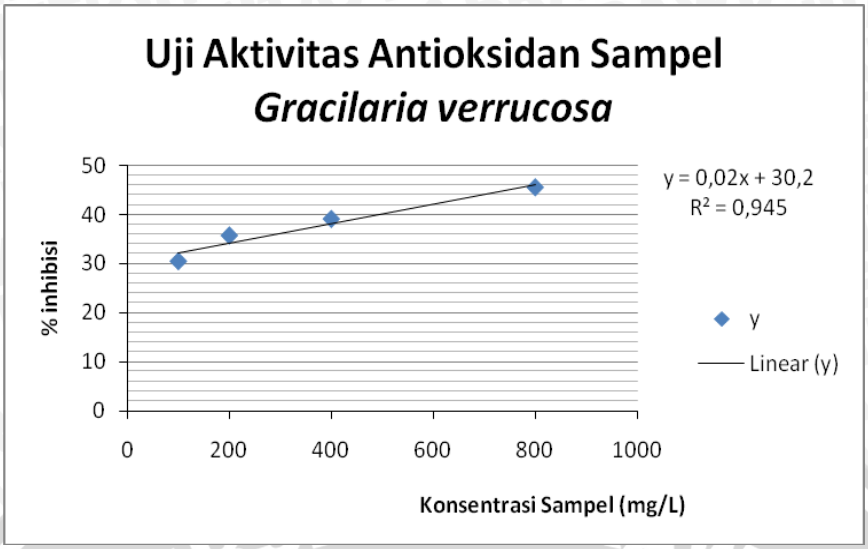
- **800 ppm**

$= [1 - \left(\frac{1,020}{1,876}\right)] x\ 100\%$

$= (1 - 0,544) \times 100\%$

$= 0,456\ x\ 100\%$

$= 45,6$



2. IC_{50} Sampel

$$y = 0{,}02x + 30{,}2$$

$$50 = 0{,}02x + 30{,}2$$

$$50 - 30{,}2 = 0{,}02x$$

$$x = \frac{50 - 30{,}2}{0{,}02}$$

$$x = 990$$

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0,972243
R Square	0,945257
Adjusted R Square	0,917886
Standard Error	1,824829
Observations	4

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	1	115	115	34,53453	0,027757
Residual	2	6,66	3,33		
Total	3	121,66			

	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95,0%*	*Upper 95,0%*
Intercept	30,2	1,568854	19,24971	0,002688	23,44976	36,95024	23,44976	36,95024
X Variable 1	0,02	0,003403	5,876609	0,027757	0,005357	0,034643	0,005357	0,034643

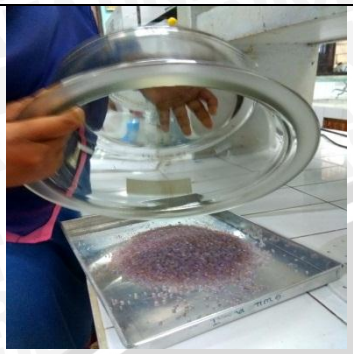
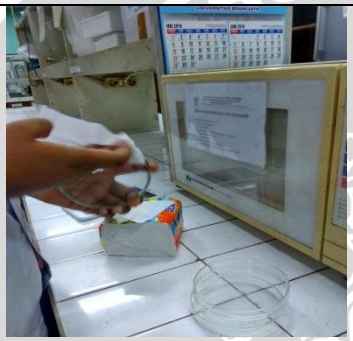
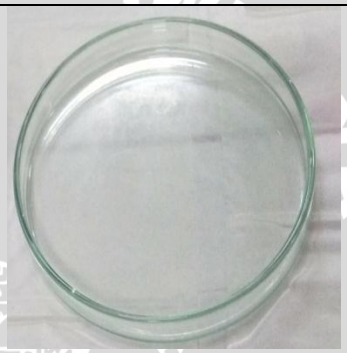
Lampiran 21. Proses Pengambilan, Pencucian dan Pengeringan *Gracilaria verrucosa*

 Pengambilan. *Gracillaria verucosa* segar ditempatkan dalam coolbox	 Penimbangan *Sargassum* sp. Segar
 Gracillaria verucosa	 Proses Pencucian *Gracillaria verucosa* segar
 Penjemuran	 *Gracillaria verucosa* Kering

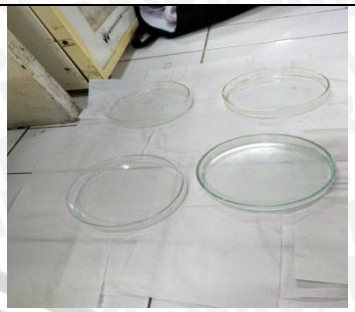
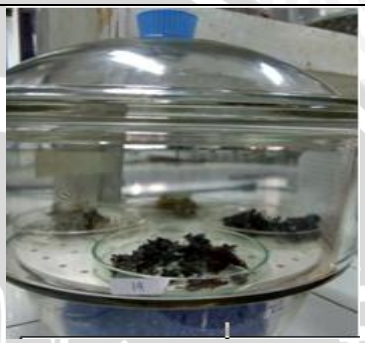
Lampiran 22. Proses Maserasi pada *Gracilaria verrucosa*

 Simplisia yang telah diayak	 Dimasukkan ke dalam toples kaca ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbangdingan 1 : 4
 Dihomogenkan setiap 2 jam selama 24 jam	 Disaring dengan kertas saring
 Dimasukkan ke dalam jurigen	 Dipisahkan pelarut dengan ekstraknya dengan alat evaporotary dengan suhu 40^0C

Lampiran 23. Proses Uji Kadar Air pada *Gracilaria verrucosa*

 *Silica gel* dituang ke loyang	 *Silica gel* siap dioven
 Cawan petri di cuci dan di keringkan dengan tisu	 Cawan petri siap dioven
 Pengovenan *silica gel* dan cawan petri	 *Silica gel* setelah dioven dan dituang ke dalam desikator

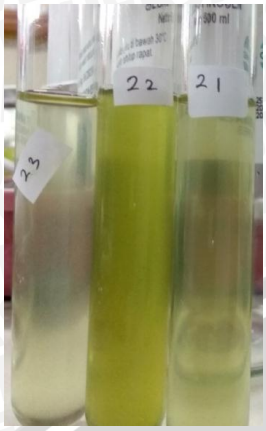
Lampiran 23. Lanjutan Uji Kadar Air

 Cawan petri dimasukkan ke dalam desikator	 Cawan ditimbang dan dicatat beratnya
 Gracillaria verucosa Kering	 *Sargassum* sp. dimasukkan ke dalam cawan,dioven 6 jam (100-105^{0}C) dan didesikator

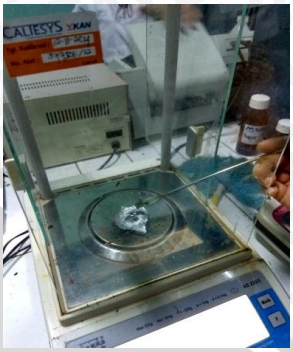
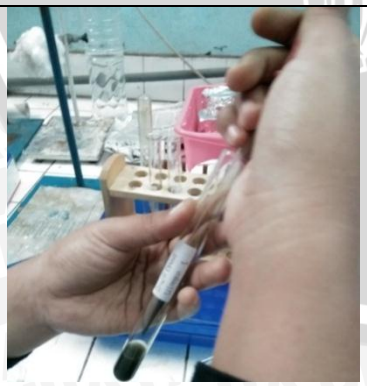
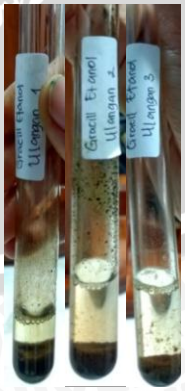
Lampiran 24. Proses Uji Kuantitatif pada Gracilaria verrucosa

 50 mg vitamin c (asam askorbat)	 Dilarutkan dalam aquabides 500 ml
 Dibaca dengan Spektrofotometri UV-Visibel panjang gelombang 200-400 nm , dicatat panjang gelombang maksimumnya	 Ditimbang sampel ektrak *Sargassum* sp.
 Hasil timbangan ekstrak *Gracillaria verucosa* seberat 0,05 gr	 Dilarutkan dalam aquabides masing-masing 10 ml

Lampiran 24. lanjutan Proses Uji Kuantitatif

 Didapat laruntan induk sampel 5000 ppm ulangan 1,2,3	 Diencerkan 1 ml larutan induk bersama aquabides sebanyak 10 ml
 Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 270 nm	 Absorbansi dicatat

Lampiran 25. Uji Kualitatif Kadar Vitamin C pada *Gracilaria verrucosa*

Ekstrak *Gracillaria verucosa*	 Ekstrak *Gracillaria verucosa* ditimbang 5 mg
Dilarutkan dengan aquades sebanyak 5 ml	Ditambahkan KMNO4 0,1%
 Ditambah $KMNO_4$ 0,1%, hasil positif jika terjadi endapan coklat	 Hasil uji kulitatif vitamin c

Lampiran 26. Proses Uji Antioksidan pada *Gracilaria verrucosa*

Disiapkan alat dan bahan	Ditambahkan aquabides ke dalam tabung reaksi larutan induk sampel, larutan induk pembanding, dan pada deret konsentrasi masing-masingsebanyak 10 ml
Ditimbang 50 mg dilarutkan dalam 10 ml aquabides dan di encerkan menjadi 5, 10, 15, 20 ppm	Ekstrak *Gracillaria verucosa*
Ditimbang 7 mg (0,007 gram) ekstrak	Dilarutkan dengan 10 ml aquabies

Lampiran 26. Lanjutan Uji aktifitas antioksidan

 Dihomogenkan	 Larutan induk 2000 ppm ekstrak *Gracilaria verucosa*
 Diencerkan ke dalam deret konsentrasi 100, 200, 400, 800 ppm	 Ditimbang 4 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 100 ml aquabides
 Diambil 1,5 ml dari masing-masing deret ke dalam botol vial	 Ditambah larutan DPPH 3 ml

Lampiran 26. Lanjutan Uji aktifitas antioksidan

Larutan ditutup dan dihomogenkan kemudian di inkubasi 30 menit	Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm dan hasilnya di catat