

**UJI BAHAN AKTIF PADA EKSTRAK METANOL RUMPUT LAUT MERAH
(*Gracilaria verrucosa*) SEBAGAI KANDIDAT ANTIOKSIDAN DENGAN
METODE DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil)**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:

YOESHI AYU LESTARIE

125080101111039



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

**UJI BAHAN AKTIF PADA EKSTRAK METANOL RUMPUT LAUT MERAH
(*Gracilaria verrucosa*) SEBAGAI KANDIDAT ANTIOKSIDAN 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:

YOESHI AYU LESTARIE

125080101111039



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

SKRIPSI

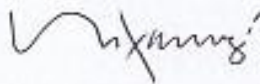
UJI BAHAN AKTIF PADA EKSTRAK METANOL RUMPUT LAUT (*Gracilaria verrucosa*) SEBAGAI KANDIDAT ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH
(1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil)

Oleh:

YOESHI AYU LESTARIE
125080101111039

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

Dosen Penguji I



Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS
NIP. 19600505 198601 1 004

Tanggal:

12 3 JAN 2017

Dosen Penguji II



Dr. Ir. Muhammad Musa, MS
NIP. 19570507 198602 1 002

Tanggal:

12 3 JAN 2017

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si
NIP. 19730702 20051 2 001

Tanggal:

12 3 JAN 2017

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si
NIP. 19591230 198503 2 002

Tanggal:

12 3 JAN 2017



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

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

Tanggal:

12 3 JAN 2017

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul **“Uji Bahan Aktif Pada Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*) Sebagai Kandidat Antioksidan 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

Yoeshi Ayu Lestarie
125080101111039

KATA PENGANTAR

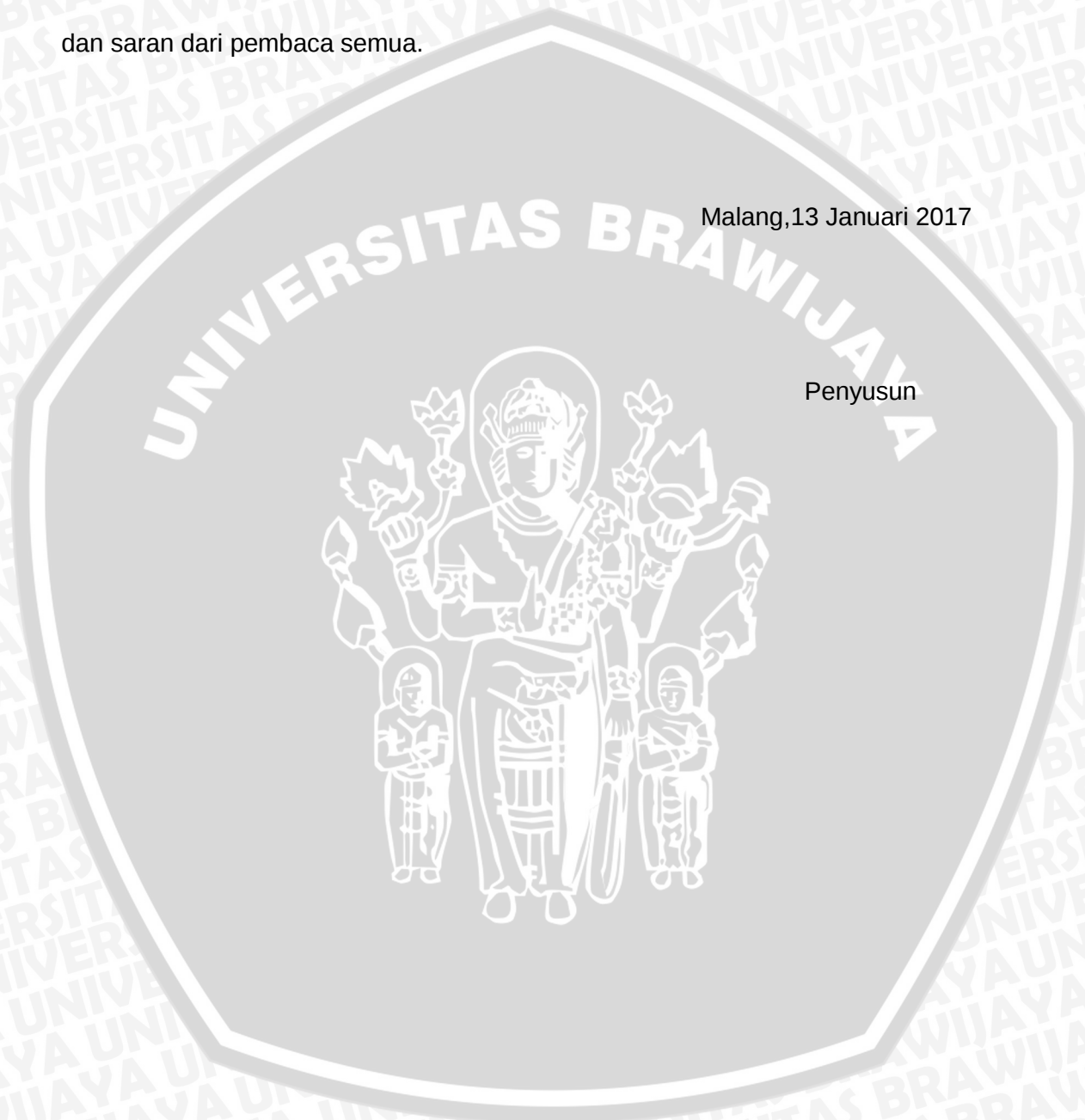
Segala puji kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyajikan laporan penelitian yang berjudul **Uji Bahan Aktif Pada Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*) Sebagai Kandidat Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil)**. Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan kasih sayang, pencerahan, kemudahan dan perlindungan-Nya.
2. Kedua orang tua, kakak dan keluarga besar yang selalu memberikan do'a terbaiknya, dorongan baik moril, spiritual maupun material.
3. Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si selaku dosen pembimbing 1 yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan dalam pengerjaan usulan skripsi.
4. Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si Selaku dosen pembimbing 2 yang telah membantu memberikan saran-saran dalam penulisan usulan skripsi ini.
5. Teman – teman satu tim Fiing Resti Setyo Pambudi, Zikruly Putri Palarum, dan Miftahudin yang selalu bersama-sama saling mengingatkan, memberi dukungan dan bekerjasama dengan baik.
6. Saudara Nur Hidayat dan Mansyur sebagai teman sekampung, seperjuangan, dan se SMK yang telah mendukung dalam situasi suka maupun duka
7. Teman-teman MSP 2012 yang telah membantu dan memberikan dukungan terbaiknya.
8. Seluruh pihak yang telah membantu yang tidak bias saya sebutkan satu persatu.

Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca sekalian, khususnya kepada mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, untuk dijadikan sebagai tambahan wawasan. Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini memiliki kekurangan dan keterbatasan, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca semua.

Malang, 13 Januari 2017

Penyusun



RINGKASAN

YOESHI AYU LESTARIE. Skripsi Tentang Uji Bahan Aktif pada Ekstrak Metanol Rumput Merah (*Gracillaria Verrucosa*) Sebagai Kandidat Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil) (**Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si dan Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si**)

Pemanfaatan rumput laut merah (*Gracillaria verucosa*) sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas dan lain sebagainya. Hasil ekstraksi *Gracillaria verucosa* berupa alginat banyak digunakan industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pasta isi, dan kue. Selain itu juga dimanfaatkan dibidang farmasi dan ternak (Paranginangin *et al.*, 2013). Tujuan dari pelaksanaan penelitian ini adalah mengetahui vitamin C sebagai metabolit sekunder yang terkandung dalam *Gracilaria verrucosa*, mengetahui pengaruh kadar vitamin C pada ekstrak *Gracilaria verrucosa* terhadap aktivitas antioksidan dan mendapatkan kadar terbaik dari senyawa aktif *Gracilaria verrucosa*.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut merah (*gracilaria verrucosa*) dalam bentuk rumput laut kering kemudian digiling menjadi simplisia kemudian diekstrak dengan metode maserasi dan evaporasi. Hasil ekstrak kemudian dilakukan uji kadar air, uji kualitatif vitamin C, penentuan panjang gelombang UV-Vis, uji kuantitatif vitamin C, uji fitokimia, dan antioksidan. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Data diperoleh tidak hanya dengan pengumpulan data, tetapi juga melakukan analisis data dan pembahasan dari data yang telah diperoleh secara langsung saat berada dilapang dan hasil yang didapatkan setelah dilakukan pengujian di laboratorium.

Hasil pengujian rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh hasil kadar air 20,46%. Hasil uji kualitatif vitamin C yaitu positif hal ini karena, karena adanya endapan berwarna coklat setelah diberi 2 tetes KMnO_4 . Penentuan panjang gelombang pada spektrofotometri UV-Vis dilakukan terlebih dahulu sebelum uji kuantitatif Vitamin C, hasil panjang gelombang tertinggi yaitu 270 nm, panjang gelombang yang diuji yaitu 200-400 dengan rentan 10. Uji kuantitatif vitamin C pada ekstrak rumput laut dengan pelarut methanol 96% diperoleh hasil tertinggi terdapat pada ulangan ke 3 yaitu 1,37% kemudian pada ulangan ke 2 yaitu 0,84% dan yang terendah terdapat pada ulangan ke 1 yaitu 0,077%. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* mengandung golongan senyawa saponin, dan steroida/triterpenoida. Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan antara sampel *Gracilaria verrucosa* dengan pembanding kontrol positif asam askorbat dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 517 nm. Semakin kecil konsentrasi semakin besar nilai absorbansinya. Hasil IC_{50} ekstrak methanol memiliki aktivitas antioksidan lebih kecil dibandingkan dengan asam askorbat. Nilai kontrol positif asam askorbat 25,71 sedangkan sampel *Gracilaria verrucosa* 868,18 hal ini menunjukkan bahwa sampel tidak memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
RINGKASAN.....	vi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Tempat dan Waktu.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Klasifikasi dan morfologi.....	6
2.2 Manfaat dan Kegunaan.....	7
2.3 Ekstraksi <i>Gracilaria verucosa</i>	9
2.4 Bentuk Bahan Uji rumput merah (<i>Gracilaria verucosa</i>).....	10
2.4.1 Simplisia.....	10
2.4.2 Pasta.....	11
2.5 Bahan Aktif.....	11
2.6 Vitamin C.....	13
2.7 Fitokimia.....	13
2.7.1 Alkaloid.....	14
2.7.2 Tripernoid/steroid.....	14
2.7.3 Flavonoid.....	15
2.7.4 Tanin.....	16
2.7.5 Saponin.....	16
2.8 Kadar Air.....	17
2.9 Uji Vitamin C dengan Spektrofotometri UV-Vis.....	18
2.10 Antioksidan.....	19
3. MATERI DAN METODE.....	22
3.1 Materi Penelitian.....	22
3.2 Alat dan bahan penelitian.....	22
3.2.1 Alat Penelitian.....	23
3.2.2 Bahan Penelitian.....	23
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.4 Metode Penelitian.....	24
3.5 Parameter Uji.....	24
3.6 Prosedur Penelitian.....	25
3.6.1 Preparasi Sampel.....	26
3.6.2 Rendemen.....	26
3.6.3. Prosedur Ekstraksi.....	26
3.6.4. Prosedur fitokimia.....	27

3.6.5. Uji Kadar Air.....	29
3.6.6 Uji Kualitatif dan Kuantitatif Vitamin C.....	30
3.7.7 Uji aktivitas Antioksidan	33
3.7 Teknik Pengumpulan Data	35
3.7.1 Data Primer.....	35
3.7.2 Data Sekunder.....	36
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Ekstraksi	37
4.3 Randemen Ekstrak Rumput laut.....	38
4.4 Hasil Uji Kadar Air	39
4.5 Uji Spektrofotometri UV-Vis.....	40
4.6 Uji Fitokimia.....	42
4.7 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C.....	44
4.8 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C	45
4.9 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan.....	50
4.10 Analisis Nilai %Inhibisi dan IC50	52
5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
LAMPIRAN.....	63



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Randemen rumput laut <i>Gracillaria verrucosa</i>	38
2. Hasil Uji Kadar Air Rumpuit Laut (<i>Gracillaria verrucosa</i>)	39
3. Standart Kadar Air Menurut Bariyah <i>et al</i> , 2013.	40
4. Hasil pengukuran Panjang Gelombang Maksimal.	41
5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Rumpuit Merah <i>Glacillaria verrucosa</i>	43
6. absorbansi Sampel.....	47
7. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat.....	48
8. Hasil Absorbansi Vitamin C dalam Sampel	49
9. Hasil Akhir Aktivitas Antioksidan	52



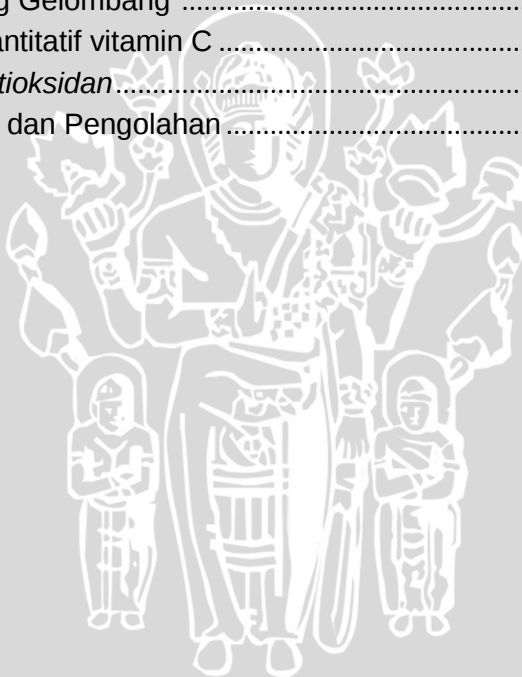
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Gracillaria veruccossa</i>	6
2. Gambaran parameter Uji	25
3. Tahapan Penelitian.....	25
4. Proses Evaporasi <i>Gracilaria verrucosa</i>	37
5. Grafik Panjang Gelombang Maksimal 200-400 nm.	41
6. Dokumentasi Hasil Uji Kualitatif Vitamin C	45
7. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat.....	48
8. grafik antioksidan sampel <i>Gracillaria verrucosa</i>	50
9. grafik aktivitas kontrol positif	51



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan	63
2. Skema Penelitian	65
3. Skema Proses Ekstraksi	52
4. Skema Skrining Fitokimia	53
5. Skema Uji Kadar Air dengan Metode Oven	55
6. Skema Uji Kualitatif Vitamin C	56
7. Skema Uji Kuantitatif Vitamin C	57
8. Skema Uji Aktivitas Antioksidan	58
9. Perhitungan Rendemen	62
10. Tabel Hasil Pengujian Kadar Air <i>Gracilaria verrucosa</i>	63
11. Penentuan Panjang Gelombang	61
12. Perhitungan uji kuantitatif vitamin C	63
13. Perhitungan Uji Antioksidan	67
14. Gambar Persiapan dan Pengolahan	71



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Potensi perikanan yang sangat besar tersebut dapat memberikan manfaat yang maksimal secara berkelanjutan bagi negara dan masyarakat Indonesia, bila dikelola dengan baik dan bertanggungjawab (Direktorat Kelautan dan Perikanan, 2014). Hal tersebut juga telah diamanatkan dalam Undang-Undang Republik Indonesia (UU RI) Nomor 45 tahun 2009 pasal 6 ayat 1 yang menegaskan bahwa pengelolaan perikanan ditujukan untuk tercapainya manfaat yang optimal dan berkelanjutan, serta terjaminnya kelestarian sumber daya ikan. Salah satu potensi perikanan yang sangat berkembang yaitu perikanan budidaya. Perikanan budidaya merupakan sektor produksi pangan yang paling pesat perkembangannya di dunia dengan proyeksi bahwa produksi akan berlipatganda dalam 15-20 tahun mendatang.

Pertumbuhan perikanan budidaya di masa mendatang merupakan bagian kunci dalam menyediakan pasokan ikan dalam sistem perikanan untuk pangan nasional, regional dan dunia. Untuk memastikan pertumbuhan perikanan budidaya ini tetap berkelanjutan baik secara ekonomi maupun ekologi maka kita harus lebih memahami pola pertumbuhannya serta peluang dan tantangan yang dihadapi. Cara budidaya Ikan Yang Baik (CBIB) adalah penerapan cara memelihara dan atau membersarkan ikan serta memanen hasilnya dalam lingkungan yang terkontrol sehingga memberikan jaminan pangan dari pembudidayan dengan memperhatikan sanitasi, pakan obat ikan dan bahan kimia serta bahan biologi. Dalam menerapkan CBIB, pembudidaya perlu memahami ketentuan yang dipersyaratkan sehingga dapat juga melakukan pengawasan internal terhadap pelaksanaan usaha budidaya dengan menggunakan

checklist CBIB. Tindakan pencegahan penyakit lebih diutamakan karena tindakan pencegahan lebih ekonomis dibanding pengobatan. Tindakan pengobatan tidak menjamin 100% keberhasilannya. Terkadang juga memerlukan biaya dan tenaga yang tidak seimbang dengan keuntungan yang diperoleh. Secara umum, pengobatan yang dilakukan yaitu secara tidak alami dan tidak sesuai dengan CBIB antara lain dengan pemberian antibiotik seperti PK.

Proses pencegahan penyakit dapat menggunakan bahan alami yang sangat berpotensi seperti rumput laut. Rumput laut merupakan tanaman atau tumbuhan tingkat tinggi yang mengandung substansi aktif yang berperan dalam sistem pertahanan tumbuh. Pemanfaatan rumput laut selama ini masih terbatas pada produk agar dan karagenan. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa rumput laut dapat menjadi alternatif dalam bidang kesehatan karena mengandung senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan (Ridlo dan Pramesti., 2009). Rumput laut banyak dimanfaatkan karena memiliki kandungan metabolit primer dan sekunder, kandungan metabolit primer seperti vitamin, mineral, serat, alginat, karaginan dan agar yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik untuk pemeliharaan kulit. Selain kandungan primer yang memiliki nilai ekonomis, kandungan metabolit sekunder dari rumput laut juga memiliki potensi sebagai bioaktif yang beragam dengan aktifitas yang luas sebagai anti bakteri, antivirus, antijamur, dan sitotasti. Metabolit sekunder terdapat di berbagai rumput laut, salah satunya ada pada rumput laut merah (*Gracillaria Verrucossa*) yang banyak dibudidayakan maupun yang terdapat di alam (Zainuddin dan Malina, 2009).

Rumput laut merah (*Glacilaria verucossa*) merupakan rumput laut yang ditemukan di daerah tropis, hingga saat ini pemanfaatannya hanya sebatas ekstraksi polisakarida berupa alginat, serta pemanfaatan sebagai produk agar-agar (Yulianto, 2007). Nilai komersil *Glacilaria verucossa* dalam bidang agarofit, keberadaan spesies ini cukup bervariasi yaitu sekitar lebih dari 100 spesies

tersebar di wilayah lautan tropik dan sub tropis. Selain itu juga terdapat berbagai cara penanaman rumput laut merah berdasarkan morfologi, anatomi dan organ reproduksinya (Andasari *et al.*, 2014)

Pemanfaatan rumput laut merah (*Glacillaria verucosa*) sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas dan lain sebagainya. Hasil ekstraksi *Glacillaria verucosa* berupa alginat banyak digunakan industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pasta isi, dan kue. Selain itu juga dimanfaatkan dibidang farmasi dan ternak (Paranginangin *et al.*, 2013). Kandungan senyawa aktif *Glacillaria verucosa* dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut. Prinsip dari ekstraksi ini adalah memisahkan komponen dengan pelarut tertentu (Matanjun *et al.*, 2008). Proses ekstraksi dapat mengikat bahan aktif seperti fenol, flavonoid maupun vitamin (Septiana dan asnaini, 2012).

Vitamin adalah zat-zat organik kompleks yang dibutuhkan dalam jumlah yang sangat kecil dan pada umumnya tidak dapat dibentuk oleh tubuh. Vitamin dalam tubuh dibagi menjadi 2 golongan yaitu golongan vitamin yang larut dalam lemak yang meliputi vitamin A, D, E dan K dan vitamin yang larut dalam air seperti vitamin C dan vitamin B. Vitamin sebagai antioksidan yang dapat menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Winarno, 2002).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, dan dapat menghambat terjadinya kerusakan sel (winarsi, 2007). Antioksidan memiliki 5 fungsi yaitu : (1) antioksidan primer, berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru, (2) antioksidan sekunder berfungsi sebagai menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang dapat menyebabkan kerusakan yang lebih parah, (3) antioksidan tersier, merupakan senyawa yang

memperbaiki sel-sel atau jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas, (4) *Oxygen Scavenger*, antioksidan yang mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, (5) *chelators* atau *sequestrants*, yaitu dapat mengikat logam yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, masalah-masalah yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa jumlah kadar vitamin C yang terkandung dalam ekstrak *Glacilaria vericossa* dengan menggunakan pelarut metanol?
2. Apakah kadar vitamin C mempengaruhi nilai %inhibisi dan IC_{50} dalam uji aktivitas antioksidan?
3. Apakah ekstrak *Glacilaria vericossa* dengan menggunakan pelarut metanol, bisa digunakan sebagai antioksidan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian pada uji aktivitas vitamin C pada ekstrak metanol rumput Merah (*Gracillaria verrucossa*) sebagai kandidat antioksidan dengan metode DPPH yaitu:

1. mengetahui kadar vitamin C pada ekstrak rumput laut *Gracillaria verrucossa* serta berapa besar pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan.
2. Mengetahui berapa besar pengaruh vitamin C terhadap nilai %inhibisi dan IC_{50}
3. Mengetahui Pengaruh penggunaan pelarut metanol, dalam uji aktivitas antioksidan

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan kegunaan sebagai berikut:

1. Secara akademis, hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi potensi pemanfaatan *Glacillaria verucosa* sehingga dapat digunakan sebagai pedoman dalam pengembangan ilmu bioteknologi kelautan.
2. Secara ekonomi, hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang potensi *Glacillaria verucossa* sebagai senyawa yang memiliki banyak manfaat sehingga dapat meningkatkan optimalisasi dan nilai tambah secara ekonomi di masa mendatang.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai September 2016 yang bertempat di dilakukan di laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Ilmu Kelautan FPIK UB, Laboratorium Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, Laboraturium Kimia Universitas Muhhamadiyah Malang dan Laboratorim Materia Medica Dinas Kesehatan Kota Batu.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan morfologi

Klasifikasi dan morfologi *Glacillaria verucossa* menurut Dawes (1981), dalam Soegiarto *et al*, (1978) adalah sebagai berikut :

Filum	: Rhodophyta
Kelas	: Florideophyceae
Ordo	: Glacilariales
Famili	: Glacilariaceae
Genus	: Gracilaria
Spesies	: <i>Glacilaria verucossa</i>



Gambar 1. *Gracilaria verucossa*
(dokumentasi pribadi)

Rumput laut merupakan tanaman makro rumput yang hidup di laut, tidak memikirkan akar, batang, daun sejati dan umumnya hidup di dasar perairan. Fungsi akar, batang dan daun yang tidak dimiliki rumput laut tersebut diganti oleh thallus. Rumput laut disebut tanaman karena memiliki klorofil (zat hijau daun) sehingga bisa berfotosintesis (Junaidi, 2004). *Glacilaria verucossa* berbentuk rumpun, dengan tipe percabangan tidak teratur, thallus umumnya berbentuk silindris atau memipih, ujung thallus meruncing, permukaan thallus halus dan berbintik-bintik. Keadaan permukaan thallus yang berbintil, umumnya ditemukan

pada tumbuhan dalam bentuk karposporofit. Panjang thallus sangat bervariasi, sampai mencapai lebih dari 50 cm. (Sjafrie, 1990).

Ciri-ciri *Glacilaria verucossa* adalah memiliki thallus silindris.licin, berwarna kuning kecoklatan, atau kuning-hijau (Mulyaningrum, 2015). Percabangan berselang seling tidak beraturan, sering memusat ke bagian pangkal. Ukuran panjang sekitar 250 mm dengan diameter thallus 0,5-1,5 (Sulistidjo, 2002). Rumput laut jenis *Glacilaria verucossa* merupakan salah satu jenis rumput merah (Rhodophyta) yang tumbuh di daerah tropik dan sub tropik serta menyebar pada perairan laut.

2.2 Manfaat dan Kegunaan

Manfaat dan kegunaan rumput laut dalam Pengembangan dalam upaya menggali potensi laut sangat menarik perhatian, bukan hanya terhadap pelaku pembudidaya tetapi juga terhadap kelestarian alam. Salah satu diantaranya adalah rumput laut, yang merupakan sebagai sumber bahan pangan dan sumber obat-obatan maupun industri (Mulyaningrum, 2015). Rumput laut selamat ini dimanfaatkan sebagai makanan untuk manusia. Semakin banyak kemajuan ilmu pengetahuan, pemanfaatan rumput laut dapat digunakan sebagai bahan baku pada industri obat-obatan tekstil, minuman, kosmetik, pasta gigi dan sebagainya (Handayani, 2004).

Menurut Simpson (2006), Jenis rumput laut merah mengandung beberapa pigmen yang berguna sebagai penangkal radikal bebas, anti bakteri maupun antivirus adapun jenis pigmen yang terdapat pada rumput merah yaitu klorofil *a*, Klorofil *d*, dan pikobiliprotein (pikoeritrin dan pikosianin) selain mengandung pigmen rumput laut juga mengandung sejumlah polisakarida. Polisakarida yang terkandung dalam rumput laut merah adalah karagenan dan agar. Kebanyakan dari polisakarida bila bertemu dengan bakteri dalam sistem

pencernaan, polisakarida tersebut tidak bisa di cerna secara maksimal sehingga rumput laut berfungsi sebagai serat (Anggadiredja *et al*, 2006). Kandungan polisakarida dalam rumput laut berperan dalam sistem peredaran darah maupun sistem pencernaan, beberapa polisakarida seperti fucoidan menunjukkan aktivitas biologis yang penting bagi dunia kesehatan seperti antitrombotik, antikoagulan, antikanker, antiproliferasi (pembelahan sel secara tidak terkendali, antivirus dan antioksidan (Shahab, 2007).

Selain kandungan polisakarida yang terdapat pada rumput laut merah, ada pula kandungan mineral rumput laut yang sangat tinggi. Mineral utama yang terkandung pada sebagian besar rumput laut adalah iodine dan kalsium yang berfungsi sebagai pencegahan terkena resiko defisiensi (Ma'ruf *et al*, 2013). kemudian ada juga protein tetapi secara umum kandungan protein dalam rumput laut memang sangat kecil, untuk rumput merah kandungan protein yang terdapat berkisar antara 10-30% dari berat kering, kadar ini lebih besar dibandingkan dengan sayuran yang mengandung protein tinggi (Almatsier, 2005).

Beberapa kandungan rumput laut selain polisakarida dan protein, rumput laut juga mengandung lipid dan asam lemak, vitamin dan polifenol. Kandungan asam lemak dan lipid yang terdapat pada rumput laut sangat kecil yaitu berkisar antara 1-5% dari berat kering, komposisi dari asam lemak rumput laut yaitu omega 3 dan omega 6 (Burtin, 2003). Komposisi asam lemak tersebut berperan penting dalam mencegah berbagai penyakit serta memiliki aktivitas antioksidan. Bisa dikatakan sebagai antioksidan karena rumput laut juga mengandung beberapa jenis vitamin yang berperan sebagai antioksidan antara lain yaitu vitamin C dan Vitamin E. Vitamin E berperan sebagai antioksidan karena mampu menghambat oksidasi Low Density Lipoprotein (LDL) yang memicu terjadinya penyakit. Rumput laut merah juga mengandung α , β , dan γ -tokofenol tetapi kadarnya masih sangat sedikit. Rumput laut merah juga mengandung polifenol

sehingga dapat dikatakan sebagai antioksidan karena mampu mencegah berbagai penyakit seperti kanker, penuaan, paparan virus serta penyempitan pembuluh darah serta dapat dijadikan sebagai antibiotik maupun imunostimulan karena dapat melawan berbagai penyebab penyakit (Shanab, 2007).

2.3 Ekstraksi *Gracilaria verucosa*

Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Putranti, 2013). Beberapa metode umum ekstraksi yang sering dilakukan, yaitu ekstraksi dengan pelarut (maserasi), destilasi, *supercritical fluid extraktion* (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi serta secara enzimatik destilasi dan ekstraksi dengan pelarut merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan (Novianti, 2012).

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut ekstraksi. Senyawa polar hanya larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non polar juga hanya akan larut pada pelarut non polar, seperti eter, kloroform dan n-heksan. Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah terbakar (Setiyowati, 2007). Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstraksi senyawa alkonoid kuarterner, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino, dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Tuarita *et al.*, 2013).

Secara umum, ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut berbeda secara berurutan, dimulai dengan pelarut non polar lalu dengan pelarut yang kepolarannya menengah kemudian dengan pelarut polar, dengan demikian akan diperoleh ekstrak kasar yang mengandung berturut-turut senyawa non polar, semi polar, dan polar (Wahyuni dan Simon, 2015). Metode ini berguna bila kita bekerja dengan skala gram. Sedangkan ekstraksi tunggal dilakukan dengan merendam sampel dengan jenis pelarut tertentu. Bila menggunakan beberapa pelarut yang berbeda maka pada setiap pelarut dicampurkan dengan sampel yang belum pernah dilarutkan dengan pelarut lain sebelumnya (Harborne, 1987).

2.4 Bentuk Bahan Uji rumput merah (*Gracillaria verucossa*)

Ekstrak dapat dibagi menjadi 2 yaitu simplisia (ekstrak kasar) dan ekstrak murni. simplisia adalah ekstrak yang mengandung semua bahan yang masih segar tanpa melalui proses kimia, hanya dengan proses pengeringan dan penggilingan, sedangkan ekstrak murni hasil maserasi menggunakan pelarut organik sehingga banyak senyawa-senyawa yang diikat oleh pelarut (Chamidah *et al*, 2013). Ekstrak murni lebih disukai karena mempunyai bahan aktif atau komponen kimia yang jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar, sebagai contoh kandungan senyawa aktif dalam simplisia 20%, setelah dijadikan ekstrak, senyawa aktif akan meningkat menjadi 60% (Wijesekera, 1991).

2.4.1 Simplisia

Simplisia adalah bahan alam digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Nur, 2011). Simplisia nabati adalah berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia

hewani adalah berasal dari bagian hewan ataupun zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat murni. Simplisia pelikan (Mineral) merupakan yang belum di olah dengan cara-cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan dan Mulyani, 2004). Menurut (Putri *et al.*, 2012) Pembuatan simplisia dimulai dari bahan rumput laut yang masih segar kemudian dikeringkan secara alami tanpa paparan sinar matahari secara langsung selama 2 minggu. Uji yang dilakukan dalam bentuk simplisia yaitu uji kadar air (tanpa penyelipan), uji kualitatif vitamin C, uji pendahuluan kualitatif kadar vitamin C.

2.4.2 Pasta

Ekstrak rumput coklat (*Gracillaria verrucosa*) dengan pelarut metanol memperlihatkan dalam bentuk pasta setelah melalui proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan alat *rotary vacum evaporator* yang berfungsi sebagai pemisahan ekstrak dengan pelarut. Menurut Dimara dan Yenusi (2011) Adanya kadar air yang terlalu banyak pada proses ekstraksi akan membuat hasil ekstraksi kurang maksimal, sehingga perlu diperhitungkan randemen hasil ekstraksinya.

2.5 Bahan Aktif

Bahan aktif yang terkandung dalam *Gracilaria verucosa* yaitu hemagglutinin. Terdapat empat jenis hemagglutinin yang terkandung didalam *G. verucosa* antara lain yaitu GVA-1 yang merupakan protein atau glycoprotein dengan kandungan karbohidrat yang rendah, kemudian yaitu proteoglican dan H-GVH polisakarida sulfat dengan berat molekul yang besar dan yaitu L-GVH dengan berat molekul yang rendah (Bhat (1982) dalam Ananti *et al.*, (2011)). Jenis yang pertama dan kedua memiliki berat molekul rendah, struktur oligomer dan tidak memiliki ikatan disulfida. Selain sebagai antibakteri, rumput laut juga digunakan sebagai salah satu bahan imunostimulan karagenan . Substransi yang

banyak terdapat pada rumput merah (Rhodophyta) termasuk didalamnya *G. verucossa* yang memiliki kandungan bahan aktif β -glucan yang dapat digunakan sebagai imunostimulan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh baik pada ikan maupun udang (Kadi,2005).

Jenis rumput laut dari perairan pantai indonesia mempunyai aktifitas sebagai zat antibakteri, antara lain *E. Cottoni*, *E. Spinocium*, *G. Verucossa*, *G. Conferviodes*, *Sargassum* sp. *H. Opuntia* yang menunjukkan aktivitas antibakteri patogen pada *Staphylococusaureus*, *vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* (Prajitno, 2006). Golongan senyawa kimia utama yang mempunyai sifat antibakteri adalah fenol, alkohol, halogen, logam berat, zat warna, detergen, senyawa kuarter, asam dan basa. Senyawa fenol dapat ditoleransi dengan komponen dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan dapat juga berdifusi ke dalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati, selain itu senyawa ini juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi (Trisnawati dan Susanto, 2003)

Senyawa-senyawa yang disolasi dari rumput laut memiliki fungsi sebagai antibakterial, senyawa-senyawa tersebut antara lain yaitu asam amino, terpenoida, phlorotanin, asam acrilic, senyawa phenol, steroid, hologenated keton, alkanes, cyclic polysulphida dan asam lemak (michera dan samesi, 1992). Rumput merah juga mengandung senyawa phenol dan golongan florotanin yang memiliki kemampuan antibakteri dan antifungsi (Ramazanov, 2000). Sedangkan menurut Gerwick *et al.* (1987), menyatakan bahwa *Glacillaria verucossa* memiliki antibakteri pada jenis *Bacillus subtilus* dan *Staphylococcus aureus*.

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak rumput laut (*Gracillaria verrucossa*), bukan hanya sebagai antibakteri atau antifungi, beberapa senyawa juga berfungsi sebagai koenzim atau kofaktor. Salah satu bahan yang dapat

digunakan sebagai kofaktor adalah vitamin C. Vitamin C dibutuhkan karena mampu mereduksi dan bertindak sebagai antioksidan dalam reaksi hidroksilasi (Winarno, 2002).

2.6 Vitamin C

Vitamin adalah zat organik kompleks yang dibutuhkan dalam jumlah yang sangat sedikit dan pada umumnya tidak dapat dibentuk oleh tubuh, vitamin dibagi menjadi dua golongan yaitu golongan yang larut dalam lemak dan yang larut dalam air, golongan yang larut dalam lemak yaitu vitamin A, D, E, dan K, sedangkan vitamin yang larut dalam air adalah vitamin C dan B (Winarno, 2002).

Vitamin C adalah salah satu zat gizi yang berperan sebagai antioksidan dan efektif menangkal radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan, termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi (Karinda, 2013). vitamin C dibutuhkan karena berfungsi sebagai koenzim atau kofaktor yang mampu mereduksi dan bertindak sebagai antioksidan dalam reaksi-reaksi hidroksilasi. Manfaat vitamin C bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan, antiaterogenik, antikarsinogenik dan imunomodulator. Vitamin C merupakan antioksidan yang sangat baik dalam tubuh secara alami melindungi tubuh dari serangan oksidatif akibat radikal bebas (Suhartono *et al.* 2007).

2.7 Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi muraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Harborne 1987). Analisis fitokimia adalah analisi yang mencakup pada aneka ragam senyawa organik

yang dibentuk dan ditimbun oleh makhluk hidup yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya. Fitokimia mempunyai peran penting dalam penelitian obat yang dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan (Sirait, 2007).

2.7.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia tanaman hasil metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan senyawa campuran. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misal nikotina) pada suhu kamar (Sirait, 2007). Alkaloid memiliki fungsi dalam bidang farmatologis antara lain sebagai analgetik (menghilangkan rasa sakit), mengubah kerja jantung, mempengaruhi peredaran darah dan pernapasan, antimalaria, stimulan uterus dan anaestetika lokal (chemical, 2010). sumber senyawa alkaloid potensial adalah tumbuhan yang tergolong dalam kelompok gimnospermae misalnya paku-pakuan, lumut dan tumbuhan tingkat rendah lainnya (Druglead, 2009). Alkaloid pada tumbuhan dipercaya sebagai hasil metabolisme dan merupakan sumber nitrogen. Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Dekomposisi alkaloid selama atau setelah isolasi dapat menimbulkan berbagai persoalan jika penyimpangan berlangsung dalam waktu yang lama (Lenny, 2006).

2.7.2 Triperenoid/steroid

Triperenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isopen dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Senyawa tersebut berupa senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, seringkali bertitik leleh tinggi dan aktif optik yang

umumnya sukar dicirikan karena tidak ada keaktifan kimianya. Triterpenoid dapat dibagi menjadi empat kelompok senyawa, yaitu triterpen sebenarnya, steroid, saponin dan glikosida jantung (Harborne, 1987).

Steroid adalah molekul kompleks yang larut didalam lemak dengan cincin yang saling bergabung. Steroid yang paling banyak adalah steroid yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunan esternya, dengan lemak berantai panjang adalah komponen penting dari esternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar (Dwiyana *et al.*, 2009).

2.7.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa terdiri dari C₆-C₃-C₆ dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (saastrohamidjojo, 2007). flavonoid merupakan sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Kandungan flavonoid dalam tanaman sangat rendah sekitar 25% komponen tersebut pada umumnya terdapat dalam keadaan terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Winarsih, 2007).

Flavonoid umumnya golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino serta terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Flavonoid terdapat diseluruh bagian tanaman termasuk pada buah, sari tepung dan akar (Siraid, 2007). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol, oleh karena itu larutan ekstrak yang mengandung komponen flavonoid akan berubah warna jika diberi larutan basa

atau amonia, zat ini juga berikatan dengan gula sebagai glikosida dan pula yang berada dalam aglikon (Dwiyana *et al.*, 2009).

2.7.4 Tanin

Tanin merupakan komponen zat organik derivat polimer glikosida yang terdapat dalam bermacam-macam tumbuhan, terutama tumbuhan berkeping 2 (dikotil). Monomer tanin adalah digallic acid dan D-glukosa. Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks dan biasanya tergabung dengan karbohidrat rendah. Adanya gugus fenol menyebabkan tanin dapat berkondensasi dengan formaldehida. Tanin terkondensasi sangat reaktif terhadap formaldehid dan mampu membentuk produk kondensasi, berguna untuk bahan perekat yang tahan air dan panas. Tanin diharapkan mampu memsubstitusi gugus genol dan resin fenol formaldehida yang berguna untuk mengurangi pemakaian fenol sebagai sumberdaya alam tak terbarukan (Linggawati *et al.*, 2002). Menurut Nanguade (2007), tanin adalah senyawa polifenol yang membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dengan protein. Senyawa ini terdapat pada berjenis-jenis tanaman yang digunakan baik untuk bahan pangan maupun pakan ternak. Tanin dapat menghambat aktivitas enzim seperti tripsin, kimotripsin, amilase dan lipase. Tanin juga terbukti dapat menghambat absorpsi besi.

2.7.5 Saponin

Saponin adalah glikosida yang mungkin ada pada banyak macam tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Saponin dalam tumbuhan berfungsi sebagai penyimpanan karbohidrat atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Selain itu saponin antara lain mempunyai rasa pahit, membentuk busa yang

stabil dalam larutan air menghemolisis eritrosit, merupakan racun yang kuat untuk ikan dan amfibi, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan steroid lain, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi serta memiliki berat molekul yang tinggi (Eri, 2007) Berdasarkan sifat kimianya saponin dapat dibagi dalam 2 kelompok yaitu steroid dengan 27 C atom dan triterpenoid dengan 30 C atom. Aglicon (sapogenin) dan karbohidrat macam-macam saponin berbeda, sehingga tumbuhan tertentu dapat mempunyai macam-macam saponin yang berlainan. Macam-macam saponin pada tumbuhan antara lain quillage saponin (campuran dari 3 atau 4 saponin), alfalfa saponin (campuran dari paling sedikit 5 saponin) dan soy bean saponin (terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam sapogenin atau karbohidratnya atau kedua-duanya) (Simanjuntak, 1995).

Saponin menyebabkan stimulasi pada jaringan tertentu misalnya pada epitel hidung, bronkus dan ginjal. Stimulasi pada ginjal diperkirakan menimbulkan efek diuretika. Sifat menurunkan tegangan permukaan yang dimiliki oleh saponin dapat dihubungkan dengan ekspektoransi, dengan sifat ini lendir akan dilunakkan atau dicairkan. Saponin bisa juga sebagai prekursor hormon steroid (Sirait, 2007). Saponin dapat menimbulkan rasa pahit pada bahan pangan nabati. Banyak saponin dapat menimbulkan rasa pahit pada bahan pangan nabati. Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asal glukuronat. Pembentukan busa yang baik sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin. Saponin jauh lebih polar dari pada sapogenin karena ikatan glikosidanya (Yunus *et al.*, 2009).

2.8 Kadar Air

Langkah yang dilakukan setelah pemanenan yaitu adalah proses pengolahan. proses pengolahan pasca panen berbeda-beda tergantung tujuan

pemanfaatan rumput laut, ada yang diolah secara langsung dalam bentuk segar, ada pula yang harus melalui proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan untuk menyusutkan kadar air yang terkandung dalam rumput laut. proses pengeringan merupakan langkah untuk mengelola rumput laut secara optimal (Ika, 2009). proses pengeringan harus dilakukan dengan tepat, jika salah dalam penanganan pengeringan, maka akan mengakibatkan kerugian yaitu sifat dan karakteristik bahan yang dikeringkan dapat berubah. Perubahan yang terjadi seperti berubah warna dan bentuk serta sifat mutu (istiadi dan sitompul, 2000).

Jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam rumput laut dipengaruhi oleh proses serta waktu pengeringan, jika proses pengeringan dilakukan dengan tepat maka akan menghasilkan senyawa aktif yang masih lengkap (Husna, 2009). Proses pengeringan yang paling sederhana yaitu dengan mengangin-anginkan sedangkan cara lain untuk mengeringkan rumput laut yaitu dengan menggunakan oven, tetapi cara membutuhkan biaya yang mahal serta beresiko bahwa senyawa fenolik maupun metabolit yang terkandung dalam rumput laut akan jauh lebih berkurang (Masduqi, *et al.*, 2014).

2.9 Uji Vitamin C dengan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri sinar ultra violet (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar UV mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (Visible) mempunyai panjang gelombang 400-750nm, pengukuran spektrofotometri menggunakan spektrofotometer yang melibatkan energi elektron yang cukup besar pada molekul yang dianalisis (Widiastuti, 2011). Spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif. Dosis analit didalam larutan

bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Spektrofotometer UV-Vis sangat bermanfaat untuk menentukan dosis senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultra violet (200-400 nm) atau daerah sinar tampak (400-800 nm). Analisis ini dapat digunakan yakni dengan penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur. Spektrofotometri adalah alat yang terdiri dari dua komponen yaitu spektrofotometri berfungsi menghasilkan spektra dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer yang berfungsi mengukur intensitas cahaya yang ditransmisi dan difleksi. Spektrofotometer UV-Vis adalah instrumen analisis berdasarkan prinsip kolorimetri yaitu metode yang menyatakan tua mudanya warna yang timbul pada larutan tergantung kepekatan dosis suatu unsur (Sastroharmidjojo, 1991).

2.10 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007). Berdasarkan sumbernya, antioksidan digolongkan menjadi 2 jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintesis (Trilaksani, 2003). Antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman seperti biji-bijian buah dan sayur-sayuran (Prakash, 2001). Antioksidan alami antara lain turunan fenol, kumarin, hidroksi sinamat, tokofenol, difenol, flavonoid, dihidroflavonoid, katekin dan asam asorbat. Antioksidan sintesis antara lain butil hidroksilanisol, butil hidroksitoluena, propil galat, dan etoksiquin (Cahyadi, 2006).

Antioksidan atau reduktor berfungsi untuk mencegah terjadinya oksidasi atau menetralkan senyawa yang telah teroksidasi dengan menyumbangkan

hidrogen atau elektron (Silalahi, 2006). Menurut Kumalaningsih (2006), antioksidan dibedakan menjadi lima atas dasar fungsinya yakni : (1). Antioksidan primer, berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru karena dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya; (2). Antioksidan sekunder, berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar; (3). Antioksidan tersier, senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas; (4). *oxygen scavenger*, antioksidan ini dapat mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi; (5). Chelators atau sequestrants, mengikat logam berat yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi.

2.11 %Inhibisi dan IC50

%inhibisi merupakan prosentase antioksidan dalam menghambat radikal bebas yang didapatkan nilainya dari pengukuran dengan alat spektrofotometri untuk mengetahui suatu polarisasi cahaya yang terserap oleh bahan (komponen kimia) pada panjang gelombang tertentu (Martiningsih, 2014). Inhibisi berhubungan dengan nilai IC50, nilai IC50 (*Inhibition Concentration 50%*) merupakan nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambatan aktivitas radikal bebas (Matheos *et al.*, 2014). Harga IC50 (*Inhibition Concentration 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). 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 IC50 (*Inhibition Concentration 50%*) yang menunjukkan konsentrasi sampel antioksidan yang dapat menghambat atau meredam aktivitas antioksidan yang semakin tinggi atau dengan kata lain IC50 sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. semakin kecil nilai IC50 menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan (Sapri *et al.*, 2013).



3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah Rumput laut merah (*Gracillaria verrucosa*) merupakan bahan utama yang digunakan sebagai sampel uji, sampel rumput laut diambil dari Pantai Kartini, Desa Bulu, Kabupaten Jepara. Terletak di utara Pulau Jawa, perairan sekitar Pantai Kartini identik dengan kegiatan wisata dan pelabuhan. Pengambilan sampel rumput laut dilakukan dengan cara manual yaitu mengambil langsung dari substratnya menggunakan tangan. Hal ini bertujuan meminimalisir rusaknya metabolit sekunder akibat terlalu lama terpapar sinar matahari. Pengambilan saat air laut sedang surut yaitu pada sore hari, dengan tujuan agar lebih mudah saat pengambilan sampel. Rumput laut dimasukkan ke dalam plastik kemudian dimasukkan ke dalam *cool box*. Rumput merah (*Gracillaria verrucosa*) kemudian dikeringkan dan digiling sehingga berupa simplisia (serbuk) lalu dijadikan ekstrak dengan metode maserasi dan evaporasi. Uji yang dilakukan pada sampel rumput laut yaitu mulai dari Uji kadar air, uji kualitatif vitamin C, penentuan panjang gelombang spektrofotometri UV-Vis, Uji kuantitatif vitamin C, uji fitokimia, dan uji antioksidan.

3.2. Alat dan bahan penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian Uji Aktivitas Vitamin C pada Ekstrak Methanol Rumput Merah (*Gracillaria verrucosa*) sebagai kandidat Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) yang digunakan dalam penelitian ini akan dibahas dalam sub bab alat penelitian dan bahan penelitian.

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk proses maserasi, evaporasi, uji kadar air, uji spektrofotometri UV-Vis, uji kualitatif dan kuantitatif vitamin C dan uji antioksidan. Setiap peralatan dipinjam di masing-masing laboratorium. Peralatan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama, bahan untuk proses maserasi, evaporasi, uji kadar air, uji Spektrofotometri UV-Vis dan uji Antioksidan. Bahan utama yang digunakan berupa rumput merah (*Gracillaria verrucosa*) yang diperoleh dari BBPBAP, Kabupaten Jepara Provinsi Jawa tengah. Bahan-bahan penunjang dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - September 2016. Sampel rumput merah (*Gracillaria verrucosa*) diambil dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Kabupaten Jepara Provinsi Jawa tengah. Proses ekstraksi dan uji kadar air dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Ilmu Kelautan, dan Perekayasaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, sedangkan uji UV-Vis dilakukan Laboratorium Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, kemudian Analisis Fitokimia dilakukan di Laboratorim Materia Medica Dinas Kesehatan Kota Batu dan Uji Antioksidan dilakukan di Laboraturium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

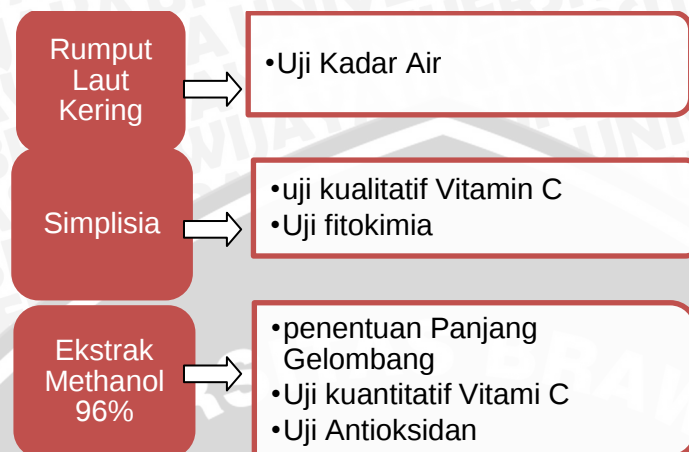
3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Eksperimen adalah suatu cara untuk mencari hubungan sebab akibat (hubungan causal) antara 2 faktor yang sengaja ditimbulkan oleh penelitian dengan mengeliminasi atau mengurangi atau menyisihkan faktor-faktor lain yang mengganggu. Eksperimen selalu dilakukan dengan maksud untuk melihat akibat suatu pelakuan (Arikunto, 2013). Penelitian eksperimen dilakukan di laboratorium dan pengaruh luar dapat dicegah selama eksperimen berlangsung (singarimbun dan effendi, 1989). Proses yang dilakukan dalam penelitian meliputi pengumpulan dan preparasi bahan, penggilingan simplisia, pembuatan ekstrak methanol, skrining fitokimia, penentuan panjang gelombang, uji kualitatif dan kuantitatif vitamin C, uji kadar air dan uji aktivitas antioksidan dengan metode aktivitas antiradikal bebas DPPH dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visible. Gambaran skema penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5 Parameter Uji

Parameter uji meliputi parameter uji kualitatif dan kuantitatif. Parameter Kualitatif lebih menekan pada aspek pemahaman terhadap suatu masalah, pada penelitian ini parameter kualitatif meliputi uji asam askorbat dan skrining fitokimia dimana uji tersebut untuk mengetahui ada tidaknya kandungan vitamin C dan metabolit sekunder dalam ekstrak rumput laut. Parameter kuantitatif mengacu pada pengukuran secara objektif (Sumanto, 1995) yang meliputi pengujian kadar air pada rumput laut yang sudah kering, pembacaan UV-Vis untuk mengetahui prosentase vitamin C yang ada dalam ekstrak rumput laut, dan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui %inhibisi sehingga lakukan regresi untuk menghitung IC_{50} (inhibition concentration 50%). IC_{50} merupakan nilai yang

menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat radikal bebas 50%. Berikut adalah Gambaran parameter yang diuji.



Gambar 2. Gambaran parameter Uji

3.6 Prosedur Penelitian

Prosesur penelitian merupakan tahapan-tahapan yang dilakukan pada proses penelitan, mulai dari preparasi sampel sampai proses penelitian berlangsung seperti Gambar 3. Dibawah ini:



Gambar 3. Tahapan Penelitian

3.6.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel rumput laut merah (*Gracillaria verrucosa*) yang berasal dari UPT. BBPBAP Kabupaten Jepara Provinsi Jawa Tengah. Proses pengambilan rumput laut yaitu dengan menggunakan perahu kecil dan kemudian rumput laut disimpan didalam *coolbox*. Proses pengemasan untuk pengeringan harus ditutup rapat menggunakan lakban. Proses pengeringan dilakukan 24 jam setelah pengambilan dari tambak, hal ini dilakukan karena perjalanan Malang-jepara yang memakan waktu 13 jam. Proses pengeringan dilakukan diruangan semi terbuka dan semua sudut diberi plastik mulsa hitam untuk menghindari paparan cahaya matahari. Pengeringan dengan suhu antara 23⁰ – 27⁰ C selama 2 minggu.

3.6.2 Rendemen

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). Rendemen ekstrak rumput merah (*Gracillaria veruccossa*) dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat sampel) dikalikan 100% (Jannah *et al*, 2014). Rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.7.3. Prosedur Ekstraksi

Senyawa yang terkandung pada tumbuhan dapat dihasilkan melalui proses ekstraksi. Esktraksi merupakan penarikan senyawa aktif yang terkandung pada suatu bahan dengan menggunakan pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi dengan berbagai pelarut

(Septianan dan Asnani, 2012). Sebelum dilakukan maserasi, sampel rumput merah (*Gracillaria verrucosa*) yang diperoleh dalam kondisi segar, dikeringkan sampai kadar airnya sangat rendah tetapi tidak boleh dipaparkan langsung dibawah sinar matahari karena akan berpengaruh terhadap antioksidan, setelah itu digiling untuk memperkecil ukuran partikel serta memecah sel-sel yang terdapat dalam jaringan sehingga komponen akan dapat cepat keluar (Sarastani *et al*, 2002).

maserasi dengan menggunakan pelarut polar yaitu methanol. Methanol secara umum dapat melarutkan kandungan metabolit sekunder dari bahan alam dengan berbagai kepolarannya (Syahputri, 2012). Bahan yang digunakan dalam bentuk simplisia dengan perbandingan 1:4(b/v) dan dilakukan secara triplo dengan lama waktu perendaman 24 jam. Pengadukan diharapkan dapat memperluas kontak sampel dengan pelarut sehingga semakin banyak komponen bioaktif yang terikat (Wahyuningtyas, 2008). Setelah 24 jam residu dan filtrat disaring dengan menggunakan kain dan kertas saring. Dari hasil maserasi diperoleh hasil filtrat yang akan *rotary evaporator* dan didapatkan ekstrak dalam bentuk pasta. Skema dari maserasi dapat dilihat pada Lampiran 3.

Berikut adalah prosedur maserasi:

1. Menimbang sampel seberat 500 gram
2. Menyiapkan tolpes kaca dengan volume 3,5 Liter
3. Masukkan sampel simplisia kemudian tambahkan 2 Liter pelarut methanol teknis 96%
4. Mengaduk setiap 2 jam sekali selama 10 menit dalam kurun waktu 24 jam

3.6.4. Prosedur fitokimia

Proses skrining fitokimia dilakukan dengan melihat positif atau negatifnya senyawa metabolit sekunder di dalam simplisia. Prosedur kerja dari fitokimia

untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 4. Senyawa aktif yang diuji dalam skrining fitokimia meliputi flavonoid, terpenoid, alkanoid, fenol dan saponin (Harborne, 1987).

a. Uji flavonoid

Langkah-langkah dalam uji flavonoid adalah sebagai berikut:

1. Menimbang sampel seberat 0,2 gram Sampel ekstrak.
2. Menambahkan 5 ml etanol.
3. Menghomogenkan sampel dengan perlarut dengan cara mengocok.
4. Menaikkan suhu pada sampel kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring.
5. Menambahkan 3 tetes HCl.
6. Bila hasil positif maka akan terbentuk lapisan warna merah pada sampel.

b. Uji terpenoid

Langkah-langkah dalam uji terpenoid adalah sebagai berikut:

1. Menimbang 0,2 mg sampel ekstrak.
2. Menambahkan 2 ml kloroform dan asam sulfat pekat.
3. Bila hasil positif maka akan terbentuk warna coklat.

c. Uji alkanoid

Langkah-langkah dalam uji alkanoid adalah sebagai berikut:

1. Menimbang 0,2 mg sebanyak 3x.
2. Menambahkan 5 ml kloroform dan 5 ml amonia pada tiap sampel.
3. Menghomogenkan dengan cara dikocok.
4. Menaikkan suhu pada sampel kemudian menyaring dengan kertas saring.
5. Menambahkan 5 tetes asam sulfat 2 N pada tiap sampel.
6. Menghomogenkan dengan cara mengocok.

7. Menambahkan pereaksi mayer, wagner dan dragendrof pada sampel yang berbeda
8. Bila hasil positif maka akan terbentuk warna jingga pada mayer, warna coklat pada wagner dan warna putih pada dregendroft.

d. Uji tanin

Langkah-langkah dalam uji alkanoid adalah sebagai berikut:

1. Menimbang sebanyak 0,2 mg sampel.
2. Memanaskan 20 ml aquades.
3. Memanaskan hingga mendidih.
4. Menambahkan 3 tetes feriklorida 1%.
5. Bila hasil positif maka akan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman.

e. Uji saponin

Langkah-langkah dalam uji alkanoid adalah sebagai berikut:

1. Menimbang 0,2 mg sampel.
2. Menambahkan 20 ml aquades.
3. Menghomogenkan sampel dengan aquades kemudian dipanaskan.
4. Mengocok sampel dan kemudian didiamkan selama 15 menit.
5. Bila hasil positif maka akan terbentuk busa.

3.6.5. Uji Kadar Air

Pengukuran kadar air metode oven adalah metode analisis kimia secara kuantitatif yang dimana pengeringan dengan menggunakan oven dengan prinsip menguapkan molekul air (H_2O) bebas yang ada didalam sampel (Skoog, 2004). Kehilangan berat bahan yang terjadi menunjukkan jumlah air yang terkandung.

Menurut AOAC dalam Hafiludin (2011), dilakukan dengan menggunakan metode oven. Skema dari uji kadar air dapat dilihat pada Lampiran 5.

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

Keterangan:

- A : Berat cawan kosong dinyatakan dalam gram
B : berat cawan + sampel awal yang dinyatakan dalam gram
C : berat cawan + sampel kering dinyatakan dalam gram

Langkah-langkah dalam uji kadar air adalah sebagai berikut:

1. Mengoven *silica gel* hingga berwarna biru.
2. Mengoven cawan pada suhu 100-105 °C selama 15 menit.
3. Menimbang berat tetap cawan yang telah di oven.
4. Meletakkan cawan dalam desikator selama 1 jam.
5. Menimbang cawan yang telah didesikator sebagai (A).
6. Menimbang 2 gr sampel rumput laut kering didalam cawan (B).
7. Mengoven sampel dalam cawan selama 6 jam pada suhu 100-105 °C.
8. Mendinginkan sampel dalam desikator selama 30 menit.
9. Menimbang berat cawan dan sampel (C).

3.6.6 Uji Kualitatif dan Kuantitatif Vitamin C

Vitamin C dalam penelitian ini yaitu berupa uji kualitatif dimana uji tersebut adalah untuk mengetahui positif negatif vitamin C dalam ekstrak sedangkan uji kuantitatif yaitu untuk mengetahui kadar vitamin C dalam sampel.

a. Pengujian Kualitatif

Analisis vitamin C secara kualitatif bertujuan untuk mengetahui positif atau negatif kandungan vitamin C pada sampel sehingga dengan adanya uji kualitatif kita dapat mengetahui keberlanjutan penelitian (Husna et al, 2009). Pengujian

vitamin C secara kualitatif yaitu secara skrining, dengan tujuan mengetahui positif negatif vitamin C yang terdapat pada ekstrak rumput laut (*Gracillaria verrucosa*).

Skema dari uji kuantitatif vitamin C dapat dilihat pada Lampiran 6. Berikut Langkah-langkah dalam uji kualitatif vitamin C adalah sebagai berikut:

1. Menimbang ekstrak sebanyak 1 gr.
2. Melarutkan 10 ml aquades.
3. Menambahkan 3 tetes KMnO_4 0,1 %
4. Bila positif maka akan terbentuk warna coklat.

b. Penentuan Panjang Gelombang Spektrofotometri UV-Vis

Panjang gelombang optimal dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel dilakukan terhadap larutan standart vitamin C Hal ini sesuai dengan pernyataan Karinda *et.al.*, (2013), yang menyatakan bahwa panjang gelombang optimum dengan menggunakan larutan standar vitamin C pada rentang 200-400 nm dengan rentang 10. Pada saat penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan larutan asam askorbat. Skema dari penentuan panjang gelombang dapat dilihat pada Lampiran 7.

Langkah-langkah dalam penentuan panjang gelombang adalah sebagai berikut:

1. Melarutkan 5 mg asam askorbat dengan 50 ml aquabides
2. Menghomogen 100 ppm asam askorbat dengan menggunakan vortex
3. Mengambil 1000 μm untuk setiap pembacaan spektrovotometri Uv-VIs
4. Didapatkan hasil

C. Pengujian Kuantitatif

Pengujian kuantitatif vitamin C menggunakan metode spektrofotometri, prosedur ini menentukan panjang gelombang vitamin C yang diserap dalam spektrovotometri UV-Vis. Adapun prosedur yang dilakukan adalah proses pembuatan larutan induk Vitamin C, penentuan panjang gelombang vitamin C,

pembuatan kurva kalibrasi dan penentuan kadar sampel (Ika, 2009). Untuk lebih rincinya dapat dilihat pada skema Lampiran 7.

Langkah-langkah Pembuatan larutan induk dan kurva kalibrasi sebagai berikut:

1. Menimbang asam askorbat 50 mg untuk 100 ppm.
2. Melarutkan asam askorbat dengan Aquabides 500ml pada labu ukur ukuran 500 ml.
3. Menghomogenkan dengan menggunakan vortex.
4. Menyiapkan 4 tabung reaksi volume 15 ml
5. Memberi label 4ppm, 8ppm, 12ppm, 16ppm pada 1 tabung reaksi.
6. Menambahkan 400 μ l pada 4 ppm, 800 μ l pada 8 ppm, 1200 μ l pada 12 ppm, 1600 μ l pada 16 ppm pada tabung reaksi.
7. Menambahkan aquabides sebanyak 10 ml pada masing-masing konsentrasi.
8. Menghomogenkan dengan vortex pada masing-masing konsentrasi.
9. Mengukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 270 nm.
10. Mencatat konsentrasi sebagai x dan absorbansi sebagai y
11. Mengitung persamaan regresi $y = a + bx$.

Langkah-langkah dalam menentukan kadar sampel dalam uji kuantitatif vitamin C adalah sebagai berikut:

1. Menimbang 50 mg sampel ekstrak untuk 5000 ppm.
2. Melarutkan sampel dengan aquabides 10 ml pada tabung reaksi volumr 50 ml.
3. Menghomogenkan dengan menggunakan vortex.
4. Mengukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 270 nm.
5. Mencatat hasil sebagai Y.
6. Mengitung persamaan regresi $y = a + bx$.

3.7.7. Uji aktivitas Antioksidan

Proses uji antioksidan ekstrak rumput merah (*Gracillaria veruccossa*) diawali dengan pembuatan DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) dengan melarutkan murni dengan menggunakan metanol P.A. Proses selanjutnya adalah pembuatan larutan induk Kemudian dimasukan kedalam botol vial yang sudah dibungkus dengan alumunium foil untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan, Kemudian dibuat kontrol negatif tanpa penambahan sampel dan dibuat juga kontrol positif yaitu antioksidan vitamin c dengan konsentrasi dosis yang telah ditentukan. Konsentrasi uji antioksidan dilakukan setelah diketahui kadar vitamni C (Rohimat *et al*, 2014 dan wikanta *et al.*, 2010). Hasil dari absorbansi dilakukan perhitungan % inhibisi dan perhitungan IC₅₀. Skema uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 8. Langkah-langkah dalam uji aktivitas antioksidan adalah sebagai berikut:

1. Menimbang sampel ekstrak 20 mg untuk 2000 ppm.
2. Menambahkan 10 ml methanol P.A.
3. Menghomogenkan dengan menggunakan vortex.
4. Menyiapkan tabung reaksi 15 ml dan diberi label 100ppm, 200ppm, 400ppm, dan 800ppm pada setiap tabung
5. Menambahkan 500 μ l pada 100ppm, 1000 μ l pada 200ppm, 2000 μ l pada 400ppm, 4000 μ l pada 800ppm pada tabung reaksi.
6. Menambahkan aquabides sebanyak 10 ml pada masing-masing konsentrasi.
7. Menutup tabung reaksi dengan *alumunium foil*.
8. Menghomogenkan dengan menggunakan vortex.

Langkah-langkah pembuatan larutan pembanding asam askorbat adalah sebagai berikut:

1. Menimbang asam askorbat 5 mg untuk 500ppm.
2. Melarutkan asam askorbat dengan 10 ml aquabides.

3. Menghomogenkan dengan vortex.
4. Menyiapkan tabung reaksi 15 ml dan diberi label 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm.
5. Menambahkan 100 μ l pada 5ppm, 200 μ l pada 10ppm, 300 μ l pada 15ppm, 400 μ l pada 20ppm pada tabung reaksi.
6. Menambahkan aquabides sebanyak 10 ml pada masing-masing konsentrasi.
7. Menutup tabung reaksi dengan *alumunium foil*.
8. Menghomogenkan dengan menggunakan vortex.

Langkah-langkah dalam pembuatan larutan DPPH 0,004% (0,1 mMol) adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan erlenmeyer yang dibungkus rapat dengan *alumunium foil*.
2. Menimbang serbuk DPPH 4 mg.
3. Menambahkan dengan 100 ml aquabides dalam erlenmeyer.
4. Menghomogenkan dengan menggunakan vortex.

Langkah-langkah dalam pengukuran larutan pembanding adalah sebagai berikut:

1. Mengambil dari 1,5 ml pada tiap konsentrasi 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm asam askorbat.
2. Menambahkan 3 ml larutan DPPH 0,004% (0,1 mMol).
3. Menghomogenkan menggunakan vortex.
4. Menginkubasi selama 30 menit pada inkunbator.
5. Mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
6. Menghitung % Inhibisi.
7. Menghitung persamaan $y = a + bx$

Langkah-langkah dalam pengukuran sampel ekstrak adalah sebagai berikut:

1. Mengambil dari 1,5 ml pada tiap konsentrasi 100ppm, 200ppm, 400ppm, 800ppm asam askorbat.

2. Menambahkan 3 ml larutan DPPH 0,004% (0,1 mMol).
3. Menghomogenkan menggunakan vortex.
4. Menginkubasi selama 30 menit pada inkunbator.
5. Mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
6. Menghitung % Inhibisi.
7. Menghitung persamaan $y = a + bx$.

3.7 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini didapatkan berdasarkan dari data primer dan data sekunder. Data primer merupakan data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti. Sedangkan data sekunder merupakan data yang penelitian didapat dari berbagai referensi, seperti jurnal, buku dan artikel yang menunjang penelitian.

3.7.1 Data Primer

Data primer merupakan data yang diperoleh langsung dengan mengadakan pengamatan terhadap objek yang telah diselidiki baik dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan yang khusus. Data primer diambil secara langsung dari sumber dan belum melalui proses pengumpulan dari pihak lain serta merupakan data yang di dapat dari sumber pertama atau individu. (Siagian dan sudiarto, 2002) pengumpulan data primer menggunakan beberapa metode yaitu observasi, wawancara (interview), partisipasi aktif, quesioner maupun memakai instrumen pengukuran tertentu yang khusus sesuai dengan tujuan penenlitian (Suryabarata, 2005).

a. Observasi

Observasi atau yang disebut dengan pengamatan yang meliputi kegiatan pemuatan perhatian terhadap suatu objek dengan menggunakan seluruh alat

indera. Dalam artian observasi dapat dilakukan dengan tes dan rekaman gambar (Hendri, 2009). Observasi dilakukan terhadap berbagai hal yang berkaitan dengan proses ekstraksi dan skrining fitokimia.

3.7.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari sumber tidak langsung dan telah dikumpulkan serta dilaporkan oleh orang diluar dari penelitian itu sendiri (Azwar,1998). 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.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi

Hasil maserasi dalam proses ekstraksi memiliki warna hijau pekat, proses pemisahan dari pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu air 40 °C. Proses *rotary evaporator* dapat memisahkan pelarut dengan zat aktif. Faktor yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut untuk ekstraksi yaitu sifat kepolaran, tidak bersifat racun, mudah diuapkan dan harga yang terjangkau (Gamse, 2002). Hasil *rotary evaporator* berupa pasta pekat dengan jumlah yang sangat sedikit yang berwarna hijau kecoklatan dengan bau yang khas.



Gambar 4. Hasil ekstrak *Gracilaria verrucosa*
(Dokumentasi Pribadi)

Hasil ekstrak pada proses evaporasi, masing-masing ekstrak yang diperoleh, dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diberi label dan ditimbang sebelumnya, untuk penghitungan nilai rendemen. Hasil ekstrak pada setiap ulangan, dimasukkan ke dalam botol vial yang berbeda-beda. Hasil ekstrak dapat disimpan pada ruang suhu rendah dan botol vial ditutup dengan aluminium foil supaya tidak mudah terpapar sinar.

4.2 Randemen Ekstrak Rumput laut

Hasil Pada penelitian ini didapatkan 3 randemen yaitu randemen *Gracillaria verrucosa*, kering, simplisia dan hasil ayakan. Berikut Tabel 1. Hasil rendemen pada penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 1. Hasil Randemen rumput laut *Gracillaria verrucosa*

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

Berdasarkan hasil data rendemen diatas didapat nilai rendemen kering 14,21%, rendemen simplisia 96,24% dan rendemen hasil ayakan sebesar 57,90% sehingga didapatkan rata-rata rendemen sebesar 56,11%. Randemen sangat berhubungan dengan kadar air, karena penyusutan rendemen dikarenakan kadar air yang semakin kecil. Kadar air yang masih tinggi pada simplisia akan meningkatkan jumlah bakteri dan jamur sehingga mempercepat kebusukan dan ketengikan pada bahan maka dari itu sampel yang kering perlu dilakukan pengujian kadar air. Hasil diatas sesuai dengan pernyataan Cahyadi (2006) yang menyatakan bahwa proses pengeringan mengakibatkan terbentuknya senyawa-senyawa serta nilai rendemen yang tinggi tidak mengindikasikan banyaknya metabolit sekunder yang terdapat pada sampel tetapi dapat mengindikasikan tingkat keawetan dan ketengikan.

Randemen juga berhubungan dengan proses maserasi karena melihat dari kepolaran simplisia. Menurut Suarsa *et al.*, (2011), menyatakan bahwa proses ekstraksi dengan penggunaan pelarut yang berbeda, akan menghasilkan ekstrak yang berbeda pula, pada umumnya pelarut yang bersifat polar akan

mendapatkan hasil ekstrak lebih banyak. Ditambahkan oleh Siregar *et al.*, (2012), ekstraksi menggunakan pelarut tidak dapat menghasilkan komponen yang diinginkan secara sempurna, kecuali dilanjutkan dengan tahap pemurnian. Hal tersebut terjadi karena komponen lain yang tidak dikehendaki ikut terekstraksi dan sulit untuk dipisahkan yang mengakibatkan ekstrak yang diperoleh mengandung campuran komponen lain, seperti pigmen, vitamin dan asam-asam lemak.

4.3 Hasil Uji Kadar Air

Hasil uji kadar air pada rumput laut (*Gracillaria verrucosa*) dapat dilihat pada Tabel 2. sedangkan hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 10.

Tabel 2. Hasil Uji Kadar Air Rumput Laut (*Gracillaria 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

Dari Tabel. 2 diatas didapatkan hasil kadar air rumput merah (*Gracillaria verrucosa*) yaitu sebesar 20,46%. Hasil penetapan kadar air pada sampel kering yang telah memenuhi persyaratan Standar Nasional Indonesia (SNI) (2015), yaitu tidak boleh melebihi 10% untuk jenis tanaman obat sedangkan untuk rumput laut <30%. Apabila kadar air yang telah melebihi persyaratan kemungkinan terjadinya pertumbuhan jamur. Kadar air sangat mempengaruhi kualitas dan daya tahan dalam bahan pangan. Oleh karena itu penentuan kadar air dari suatu bahan sangat penting karena air karena berpengaruh terhadap tingkat keawetan suatu bahan (Gunawan dan Suhendra, 2012). Kadar air rumput laut pada umumnya berkisar antara 80-100% Hal ini disebabkan karena rumput laut yang diambil adalah rumput laut segar, Banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen basis basah (kadar air basah) atau

12-25% persen basis kering atau kadar air basis kering (Winarno, 2004). Berikut adalah Tabel 3. standart mutu jenis rumput laut kering.

Tabel 3. Standart Kadar Air Menurut Bariyah *et al*, 2013.

karakterik	standart mutu		
	E. Cottoni	hypnea	Gracillaria
kadar air max (%)	15	32	30
benda asing max (%)	5**	5**	5**

*) Benda asing garam, pasir, kayu, dan kerang

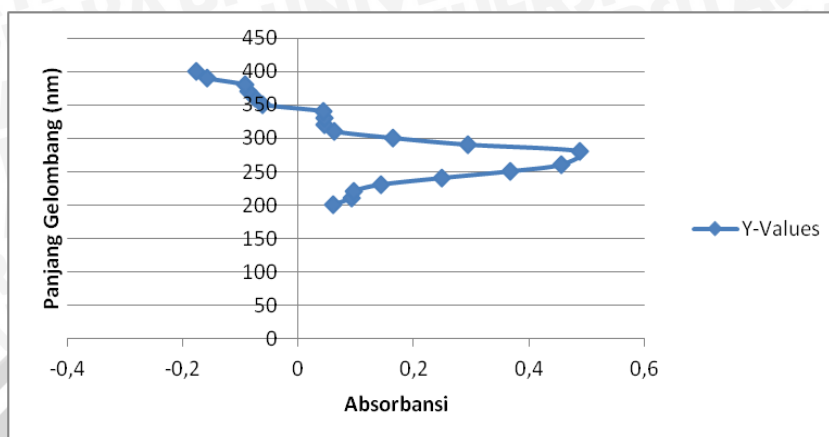
Kadar air rumput laut merupakan komponen yang penting karena berhubungan mutu rumput laut, tingginya kadar air dan lama waktu pengeringan pada rumput laut dapat mempercepat terjadinya kerusakan akibat adanya aktivitas organisme (Kurniawati *et al*, 2016). Bahan pangan yang kering akan lebih tahan lama dibandingkan dengan bahan pangan yang memiliki kandungan air lebih tinggi karena pada bahan pangan yang memiliki kadar air yang tinggi sangat memungkinkan bila tumbuh organisme maupun jamur.

4.4 Uji Spektrofotometri UV-Vis

Pengukuran panjang gelombang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum yang didapat dengan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm terhadap larutan standart vitamin C.

Hasil pengukuran menunjukan bahwa data yang diukur dengan rentang 10 pada panjang gelombang 200-400 nm didapat nilai maksimum pada nilai 270 nm dengan absorbansi 0,488 sedangkan panjang gelombang minimum terdapat pada nilai 340 nm dengan absorbansi -0,061. Pernyataan diatas tidak jauh berbeda dengan pernyataan Karinda (2013), bahwa panjang gelombang maksimum larutan vitamin C yaitu 267 nm. Berikut Adalah grafik dan tabel yang

merupakan Hasil penelitian pengukuran panjang gelombang maksimal sebagai syarat pengujian vitamin C secara kuantitatif.



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

Tabel 4. Hasil pengukuran Panjang Gelombang Maksimal.

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
200	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

Prinsip dari Spektrofotometer UV-Vis adalah menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi (Aisyah dan asnani, 2012). Spektrofotometer UV-Visible merupakan alat yang umum digunakan di laboratorium kimia untuk analisis kimia kuantitatif. Spektrofotometri menggunakan dua sumber cahaya yang berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya visible (Huda, 2001). Spektrofotometer sangat berhubungan dengan pengukuran pengabsorbansian energi cahaya pada suatu sistem kimia sebagai fungsi panjang gelombang dengan absorban maksimum dari suatu unsur senyawa. Pergeseran panjang gelombang kearah lebih pendek atau kearah merah (hipsokromik) maupun ke arah yang lebih panjang (batakromik) sehingga menunjukkan terjadinya degradasi (Limantara, 2006).

Panjang gelombang optimal dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel dilakukan terhadap larutan standart vitamin C pada rentang panjang gelombang 200-400 nm karena moleku-molekul dengan ikatan rangkaplah yang mempunyai energi eksistasi yang cukup rendah menimbulkan penyerapan dalam daerah UV dekat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Karinda *et.al.*, (2013), yang menyatakan bahwa panjang gelombang optimum dengan menggunakan larutan standar vitamin C pada rentang 200-400 nm. Perhitungan panjang gelombang dapat dilihat pada lampiran 11.

4.5 Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak rumput merah *Glacillaria verrucosa* memiliki hasil positif uji fitokimia untuk senyawa saponin dan terpenoid (triterpenoid), serta memiliki hasil negatif untuk uji fitokimia untuk senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid. Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak rumput coklat *Glacillaria verrucosa* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Rumput Merah *Glacillaria 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

Tanda (+) : Terkandung senyawa dan bercak warna

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

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak rumput laut mempunyai senyawa metabolit sekunder yang mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Afriani, *et. al.*, 2014). Hasil uji diatas menunjukkan bahwa sampel mengandung saponin dan triterpenoid. Saponin merupakan glikosida larut air yang mempunyai sifat seperti sabun, dan larutan dalam airnya mudah membentuk buih yang dapat memberikan pengaruh toksik terhadap hewan apabila masuk melalui pencernaan tidak akan beracun (Kayani, *et. al.*, 2012). Senyawa yang mempunyai gugus polar dan non-polar bersifat aktif di permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap keluar, sedangkan gugus non polar menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tambak seperti busa (Sangi *et. al.*, 2012). Dalam analisis ini, ekstrak rumput merah *Glacillaria verrucosa*, hasil uji saponinnya positif memiliki kemampuan untuk membentuk busa.

.Senyawa steroid/triterpenoid berfungsi dalam penghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian steroid dan triterpenoid didasari pada kemampuan senyawa

tersebut membentuk warna. Hasil yang diperoleh positif steroid, apabila terbentuk warna biru atau hijau, dan apabila membentuk warna ungu maka positif triterpenoid (Nafisah *et. al.*, 2014). Pada hasil uji fitokimia ekstrak rumput merah *Gracillaria verrucosa* negatif mengandung steroid (tidak terbentuk warna biru atau hijau) dan positif mengandung triterpenoid (terbentuk warna merah atau ungu). Menurut Robinson (1991), pada penambahan pereaksi, molekul-molekul asam asetat anhidrat dan asam sulfat akan berikatan dengan molekul senyawa triterpenoid atau steroid sehingga menghasilkan reaksi yang tampak pada setiap perubahan warna.

4.6 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C

Analisis vitamin C secara kualitatif bertujuan untuk mengetahui positif atau negatif kandungan vitamin C. Rumput merah (*Gracilaria verrucosa*) memiliki kandungan vitamin B1, B2 dan vitamin C. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan salah satunya adalah vitamin C. Tujuan dilakukannya uji kuantitatif kadar vitamin C adalah untuk memastikan bahwa didalam ekstrak metanol pada *Gracilaria verrucosa* terdapat senyawa yang mampu bekerja sebagai antioksidan. Hasil uji identifikasi kandungan vitamin C yaitu uji reaksi warna Menurut Anggraeni (2014), apabila adanya perubahan warna dari pereduksi kalium permanganat yang semula berwarna ungu berubah menjadi cokelat maka pada ekstrak *Gracilaria verrucosa* positif mengandung antioksidan. Hasil uji vitamin C secara kualitatif rumput laut *Gracillaria verrucossa* dengan pelarut mentanol 96% memiliki warna coklat, hal ini sesuai pernyataan Wardani (2012), bahwa reaksi asam askorbat dapat mereduksi ion permanganat karena permangat dapat direduksi dalam suasana asam menjadi ion mangan. Sedangkan asam askorbat dioksidasi ion permanganat karena berpotensi untuk

melepas H^+ menjadi asam hidroaskorbat. Hasil uji kualitatif vitamin C dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 6. Dokumentasi Hasil Uji Kualitatif Vitamin C

Dilihat dari reaksi tersebut merupakan reaksi redoks karena permanganat dan asam askorbat membutuhkan $6H^+$ untuk bereaksi. Vitamin C, asam urat, albumin, bilirubin, vitamin E karotenoid dan flavonoid merupakan pertahanan antioksidan karena merupakan golongan enzim yang berfungsi memperbaiki kerusakan DNA, protein, oksidasi lemak, dan peroksida serta menghentikan rantai propagasi pada peroksidasi lipid (gupta dan sharma, 2006). Vitamin C sangat mudah teroksidasi oleh panas sinar, sinar, alkali, dan enzim sehingga proses pengujian vitamin C secara kualitatif harus dilakukan di ruangan yang tertutup dan tidak terkontaminasi oleh paparan sinar matahari.

4.7 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C

Hasil uji kuantitatif kadar Vitamin C pada rumput laut merah (*Gracillaria verrucosa*) meliputi hasil absorbansi asam askorbat dan absorbansi sampel. Absorbansi ini berguna dalam analisis regresi antara konsentrasi (x) dan absorbansi (y). Berikut adalah Tabel 5. merupakan absorbansi asam askorbat,

Tabel 6. yaitu absorbansi sampel, gambar 5 merupakan kurva regresi vitamin C dan Tabel 7. Merupakan hasil kadar vitamin C.

Tabel 5. Absorbansi Vitamin C

Konsentrasi	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

Hasil absorbansi asam askorbat pada uji Kuantitatif vitamin C menunjukan bahwa absorbansi terendah yaitu pada konsentrasi 4 ppm pada ulangan ke 2 yaitu 0,313 sedangkan absorbansi tertinggi pada 16 ppm pada ulangan ke 1 yaitu 1,029. Berdasarkan hasil rata-rata diatas menunjukan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi absorbansi (Hariana, 2004). Nilai absorbansi pada Uji kuantitatif vitamin C digunakan untuk menghitung persamaan regresi linear $y = a + bx$. Proses pengukuran panjang gelombang pada asam askorbat atau vitamin C harus dilakukan pada ruang yang tertutup karena Asam askorbat mempunyai sifat yang mudah berubah akibat oksidasi namun stabil jika merupakan kristal murni, selain itu asam askorbat mudah rusak oleh pH, cahaya, dan temperatur (safaryani *et al.* 2007). Penggunaan suhu yang tinggi mengakibatkan kerusakan serta akan menurunkan kadar asam askorbatnya. Dengan pernyataan yang demikian maka proses pengeringan rumput laut dilakukan di dalam ruangan yang semi terbuka dan pada setiap sudut ditutup dengan plastik berwarna gelap sehingga sinar matahari yang masuk tidak kontak secara langsung dengan rumput laut. Manfaat vitamin C bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan, antiatherogenik, antikarsinogenik dan Imunomodulator. Asam askorbat merupakan sumber antioksidan yang sangat

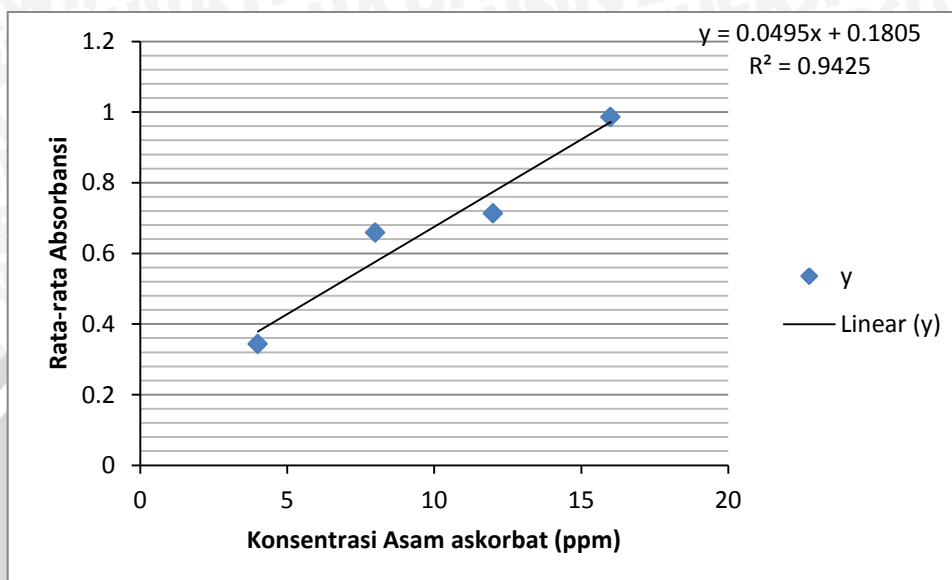
baik dalam tubuh (suharno, *et al.* 2007). Secara alami melindungi tubuh dari serangan oksidatif akibat radikal bebas. Asam askorbat bekerja secara sinergis dengan vitamin E untuk menangkal radikal bebas. Sebagai senyawa peredam radikal bebas, asam askorbat dapat langsung bereaksi dengan anion supertoksida, radikal hidroksil, oksigen, singlet dan lipid peroksida. Hal demikian dapat dijadikan acuan sebagai bahan yang bermanfaat sebagai penangkal radikal bebas. Tahap selanjutnya dalam uji kuantitatif vitamin C yaitu mengukur absorbansi sampel ekstrak dengan konsentrasi yang sama. Berikut adalah Tabel 6 hasil absorbansi sampel.

Tabel 6. absorbansi Sampel	
Ulangan	Absorbansi
1	0,218
2	0,596
3	0,854

Metode yang digunakan yaitu spektrofotometri sama seperti uji asam askorbat yang mengacu pada Karinda *et al.* , (2013) yang mengatakan bahwa, Uji kuantitatif vitamin C dilakukan dengan mengencerkan sampel 500.000 ppm kemudian diuji dengan spektro UV-Vis tetapi hasil yang didapatkan yaitu absorbansi 4, yang menandakan bahwa sampel terlalu pekat. sehingga pada uji selanjutnya konsentrasi di perkecil menjadi 5000 ppm dan diperlu dilakukan pengenceran 10 kali lipat lebih encer dari acuan jurnal yaitu dari 5000 ppm ke 500 ppm untuk memudahkan dalam pembacaan sehingga didapat hasil. Setelah dilakukan pembacaan absorbansi dicatat dan dilakukan perhitungan persamaan regresi. Berikut adalah Gambar 5. dari kurva Regresi Vitamin C. Hasil absorbansi sampel pada uji Kuantitatif vitamin C menunjukkan bahwa absorbansi terendah yaitu pada ulangan ke 1 yaitu 0,218 sedangkan absorbansi tertinggi pada

ulangan ke 3 yaitu 0,854. Berdasarkan hasil rata-rata diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi absorbansi (Hariana, 2004).

Gambar 7. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat



Menurut Amra (2011), penentuan kadar vitamin C menggunakan spektrofotometri sangat sensitif karena vitamin C bersifat mudah terpengaruh terhadap suhu, cahaya, pH dan juga keberadaan ion logam seperti FE, Cu dan Ca sehingga perlu memperhatikan stabilitas asam askorbat agar tidak terdegradasi menjadi senyawa asam hidroskorbat. Uji Kuantitatif Vitamin C Pada panjang gelombang 270 nm berdasarkan uji pendahuluan penentuan panjang gelombang. Hasil regresi konsentrasi 500ppm memberikan persamaan garis $Y=0,0495 + 0,1805$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9425 yang artinya 94,25% data memiliki hubungan linier. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan, artinya semakin tinggi konsentrasi maka absorbansi juga akan tinggi. Menurut Wardhani (2012), pembuatan daerah linier bertujuan untuk mengetahui daerah rentang kerja yang baik dari kelinieran standar vitamin C. Hal ini sangat perlu dilakukan karena pada

daerah ini akan didapatkan metode validasi yang tepat dari analisis suatu analit. Perhitungan kadar vitamin C sampel *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Lampiran 12.

Tabel 8. Hasil Absorbansi Vitamin C dalam Sampel

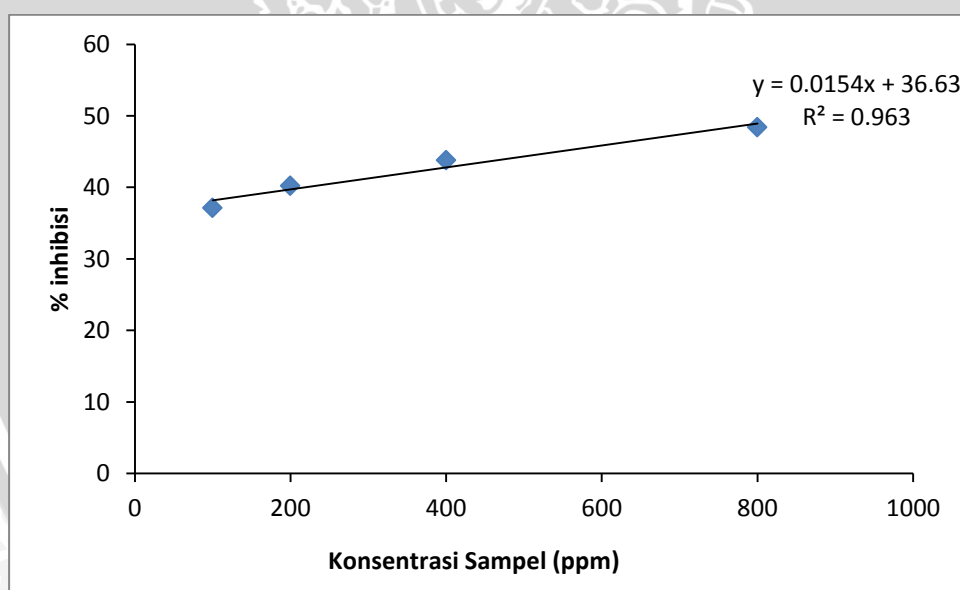
Ulangan	Absorbansi	kadar Vit. C 1000 ppm	kadar Vit. C 5000 ppm	Prosentase kadar Vit. C
1	0,218	0,775	3,875	0,077%
2	0,596	8,48	42,4	0,84 %
3	0,854	13,75	68,75	1,37 %

Dari yang perhitungan pada Tabel diatas menunjukan bahwa kadar vitamin C terendah yaitu pada sampel ulangan ke 1 yaitu sebesar 3,875 ppm dengan prosentase 0,077% sedangkan hasil yang tertinggi yaitu pada sampel ulangan yang ke 3 yaitu sebesar 68,75 ppm dengan prosentase 1,37%. Faktor yang mempengaruhi perbedaan kadar vitamin C pada setiap ulangan adalah waktu, karena dalam setiap proses penelitian ulangan 1 selalu didahulukan mulai dari proses pengayakan, maserasi, pengadukan, rotary evaporator hingga pembuatan sampel uji vitamin C. Proses ekstraksi menggunakan *mikrowave* pada ulangan 1 juga merupakan faktor kesalahan yang menyebabkan nilai vitamin C sangat kecil. Ekstraksi menggunakan *mikrowave* dengan suhu udara yang stabil yaitu 45°C. Hal ini sesuai pernyataan (Koffi *et al.* 2010) senyawa antioksidan yang sudah teroksidasi akan menjadi rusak dan mengurangi kemampuannya dalam merendam dan menangkal radikal bebas, vitamin C dan betakaroten adalah senyawa antioksidan yang sangat sensitif terhadap panas, sedangkan fenol memiliki tingkat sensitifitas yang lebih baik dibanding dengan vitamin C dan betakaroten. Sedangkan prosentase vitamin C pada rumput laut merah *Gracillaria verrucosa* lebih rendah dibandingkan dengan rumput laut coklat

seperti *sargassum Sp.* menurut Ramazanov, (2006) kadar vitamin C dapat mencapai 500-3000 mg/kg pada berat kering pada rumput laut coklat dan 100-800 mg/kg pada rumput laut merah.

4.8 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan

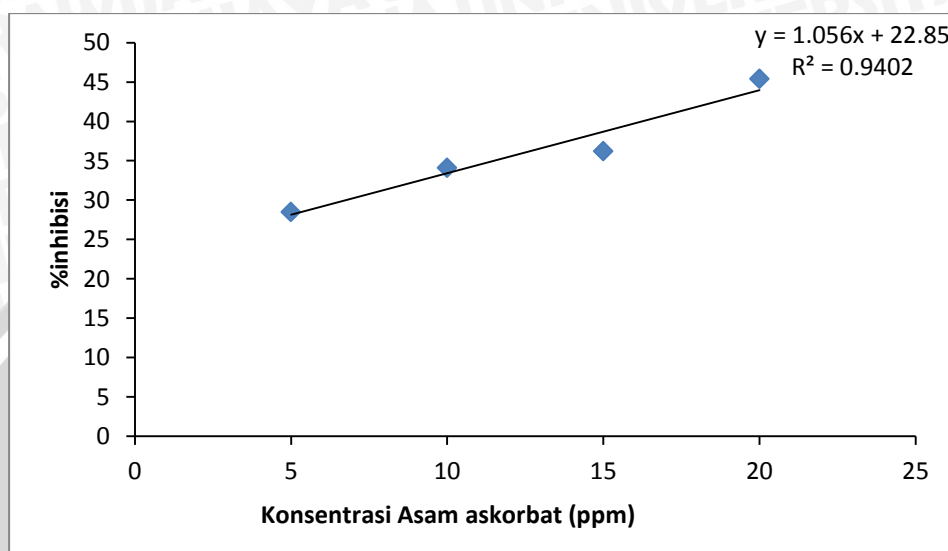
Berbagai macam metode untuk pengukuran antioksidan telah banyak digunakan untuk melihat dan membandingkan aktivitas antioksidan pada berbagai macam sumber antioksidan. Pengujian antioksidan dengan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) merupakan salah satu metode sederhana dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 517nm (Sharma dan Bhat, 2009). Berikut adalah Hasil Uji Antioksidan rumput laut *Gracilaria verrucosa*. Berikut adalah Grafik Inhibisi sampel dan Vitamin C :



Gambar 7. grafik antioksidan sampel *Gracilaria verrucosa*

Grafik pada Gambar 7 diatas merupakan hasil uji antioksidan pada sampel ekstrak dimana dari data sampel didapatkan hasil persamaan regresi yaitu $y = 0.0154x + 36,63$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,963 dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan,

yang artinya dengan meningkatnya konsentrasi maka absorbansi juga akan meningkat. Hal ini dapat dikatakan bahwa terdapat 96,3% yang memiliki hubungan linier.



Gambar 8. grafik aktivitas kontrol positif

Grafik pada Gambar 8 diatas merupakan hasil uji antioksidan pada kontrol positif, dimana dari data sampel didapatkan hasil persamaan regresi yaitu $y = 1,056x + 22,85$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9402 dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan, yang artinya dengan meningkatnya konsentrasi maka absorbansi juga akan meningkat. Hal ini dapat dikatakan bahwa terdapat 94,02% yang memiliki hubungan linier.

Komponen antioksidan memiliki peranan penting bagi kesehatan tubuh, para ahli menyatakan bahwa antioksidan mampu mereduksi resiko penyakit kronis, penggunaan antioksidan alami saat ini dianggap lebih aman karena diperoleh dari ekstrak tanaman. Antioksidan dapat dikatakan sebagai suatu substansi yang pada konsentrasi rendah dapat mencegah atau memperlambat proses oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul kecil tetapi mampu

menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mencegah kerusakan oksidatif (dimitrios, 2006). Hasil diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi %inhibisi pada sehingga dapat dikatakan bahwa semakin meningkat aktivitas antioksidan untuk meredam DPPH dengan bertambahnya waktu (Sari *et al.* 2015).

Rumput laut hasil olahan dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Pelarut yang digunakan yaitu metanol merupakan pelarut polar yang sesuai untuk senyawa antioksidan. pemilihan pelarut bertujuan untuk mengetahui polaritas senyawa bioaktif dari rumput laut *Gracillaria Verrucosa*. Prinsip ekstraksi adalah *like dissolves like*, artinya suatu pelarut akan mengisolasi komponen yang memiliki sifat yang sama dengan pelarutnya. Oleh karena itu, pelarut nonpolar akan mengekstrak komponen yang bersifat nonpolar dan bahan bersifat polar akan diekstrak oleh pelarut yang bersifat polar (Gamse, 2002). Semua perhitungan mengenai antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 13.

4.10 Analisis Nilai %Inhibisi dan IC50

Tabel 9. Hasil Akhir Aktivitas Antioksidan

Uji Aktivitas Antioksidan							
sampel ekstrak metanol			larutan pembanding			IC50	IC50
konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	Konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	sampel	Vit. C
Kontrol	1,876	-	kontrol	0,379	-		
100	1,305	37,15	5	0,271	28,5		
200	1,265	40,2	10	0,250	34,1	868,18	25,71
400	1,112	43,8	15	0,242	36,2		
800	1,029	48,4	20	0,207	45,4		

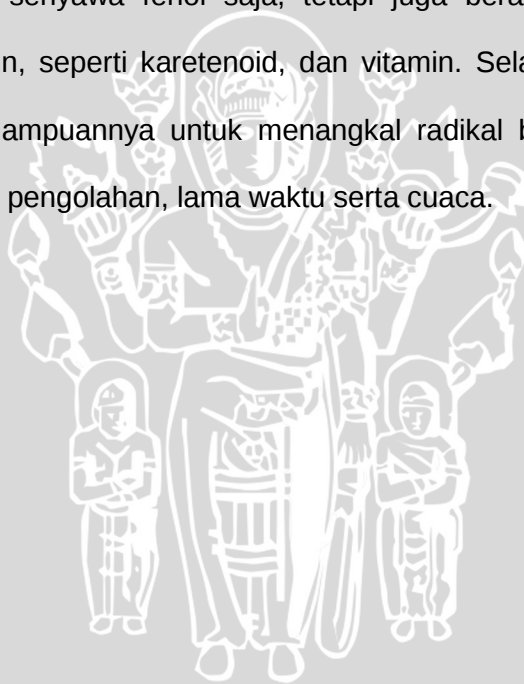
Nilai %inhibisi diperoleh dari perhitungan larutan yang telah diencerkan dengan berbagai konsentrasi menghasilkan absorbansi yang berbeda sehingga menghasilkan persen inhibisi. %inhibisi merupakan kemampuan suatu bahan untuk meredam radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi suatu

bahan Hanani *et al*, (2005). Pada Gambar 6 dan 7 menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan %inhibisi yang dihasilkan. Gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka akan semakin besar pula nilai %inhibisi. Nilai %inhibisi rata-rata pada sampel *Gracillaria verrucosa* yaitu 43,39% dengan konsentrasi 100ppm, 200ppm, 400ppm, 800ppm sedangkan pada vitamin C 36,05% dengan konsentrasi 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm. Hasil tersebut sesuai pernyataan Mardawati *et al.*, (2008) bahwa semakin tinggi prosentase inhibisi, maka semakin tinggi kandungan antioksidan sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan.

Nilai-nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil) sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai nilai persen peredaman sebagai ordinat. Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh untuk ekstrak metanol dari rumput laut *Gracillaria verrucosa* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan vitamin C sebagai kontrol positif yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Hal ini karena ekstrak metanol dari rumput laut tersebut bukan merupakan senyawa murni, tetapi masih mengandung senyawa-senyawa lain yang kemungkinan tidak mempunyai aktivitas antioksidan (Hendra, 2014).

Hasil perhitungan IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi larutan uji (x) dan nilai %inhibisi (y). Hasil persamaan regresi $y = 0,0154x + 36,63$ Persamaan tersebut kemudian digunakan untuk menentukan IC_{50} dengan mensubstitusi $y = 50$. sehingga didapatkan nilai IC_{50} rumput laut *Gracillaria verrucosa* sebesar 868,181, hasil ini menunjukkan bahwa rumput laut *gracillaria verrucosa* belum dikategorikan aktif sebagai antioksidan jika dilihat dari sudut pandang vitamin C, karena ekstrak yang di uji merupakan ekstrak kasar belum murni vitamin C. Sedangkan pada sampel

ekstrak mengandung bahan antioksidan lain seperti Fenol, saponin, flavonoid dan terpenoid. Ekstrak rumput laut mungkin dapat aktif sebagai antioksidan bila diuji melalui parameter bahan antioksidan lain seperti disebutkan sebelumnya atau bisa juga dengan cara meningkatkan dosis pengujian sampel dengan demikian nilai IC_{50} juga dapat meningkat seiring dengan peningkatan dosis uji. Nilai IC_{50} yang aktif terhadap antioksidan yaitu berkisar antara 50-200 (shanab, 2007). Hal ini sesuai pernyataan Javamardi *et al*, (2003), bila dibandingkan dengan antioksidan larutan pembanding atau asam askorbat sangat jauh perbedaannya, hasil IC_{50} asam askorbat yaitu 25,71. Aktivitas antioksidan dari suatu bahan tidak hanya terbatas pada senyawa fenol saja, tetapi juga berasal dari metabolit metabolit sekunder lain, seperti karetenoid, dan vitamin. Selain itu, penurunan vitamin C dalam kemampuannya untuk menangkal radikal bebas disebabkan oleh bnyak faktor yaitu pengolahan, lama waktu serta cuaca.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh kadar air 20,46%, skrining fitokimia mengandung senyawa saponin, dan steroid/triterpenoida kemudian kadar vitamin C terbesar terdapat pada ulangan ke 3 sebesar 1,37%. Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 517 nm pada konsentrasi 100ppm, 200ppm, 400ppm dan 800ppm diperoleh hasil ekstrak metanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* dengan nilai nilai IC_{50} rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebesar 868,181, hasil ini menunjukkan bahwa rumput laut *Gracilaria verrucosa* belum dikategorikan aktif sebagai antioksidan jika dilihat dari sudut pandang vitamin C sebagai pembanding, karena ekstrak yang diuji merupakan ekstrak kasar yang belum murni vitamin C. Sedangkan pada sampel ekstrak mengandung bahan antioksidan lain seperti saponin, flavonoid dan terpenoid. Ekstrak rumput laut mungkin dapat aktif sebagai antioksidan bila diuji melalui parameter bahan antioksidan lain seperti disebutkan sebelumnya atau bisa juga dengan cara meningkatkan dosis pengujian sampel, dengan demikian nilai IC_{50} juga dapat meningkat seiring dengan peningkatan dosis uji.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada rumput laut *Gracilaria verrucosa* dengan bahan ekstrak yang telah dipartisi sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni dengan demikian maka hasil antioksidan akan lebih aktif karena kandungan vitamin C sebagai metabolit sekunder kemungkinan tinggi melalui proses partisi. dengan demikian diperoleh nilai kapasitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan hasil simplisia

yang dijadikan ekstrak. Selain itu, pengujian dengan parameter bahan antioksidan lain sebagai standart seperti fenol, flavonoid, saponin dan terpenoid juga akan mempengaruhi nilai IC_{50} sebagai antioksiian dengan demikian perlu dilakukan penelitian lanjutan sehingga informasi mengenai bahan aktif sebagai antioksidan.



DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, N., N. Idiawati., dan A.H. Alimuddin. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Jurnal Kesehatan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. Pontianak. 7 hlm.
- Aisyah, T. S., dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Fakultas Sains dan Teknik. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto. 7 hlm.
- Almatzer, S. 2005. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Ananthi, S., V. Gayathry., C. Chandronita., R. Laksmisundaram and H. R. Vashanti. 2011. Free Radical Scavenging and Anti-Inflammatory Potential Of Marine Brown Rumput Turbilaria ornata. *Indian Jurnal of Geo-Marine Science* 40(5): 664-670
- Andasari, S .E., Desty, R. S., dan A. Roesyadi. Kontroversi Rumput Laut Menjadi Monosakarida Secara Hidrotermal. *Jurnal Teknik Pomits* 3(2) : 126-129
- Anggadiredja J. T., A. Zalnika., H. Purwoto dan S. Istini. 2006. Rumput Laut. Cetakan I. Jakarta: Penerbit Swadaya
- Arikunto, S. 2013. Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik. PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Artini, P. E. U. D., K.W. Astuti., dan N. Warditiani. K.2013. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). *Jurnal*. Jurusan Farmmasi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali. 7 hlm.
- Azwar, S. 1998. Metode Penelitian. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Bariyyah, S. H., F.Ghanim., A. Munirul, dan A. Hanapi. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ektrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi Dalam Ekstrak Tauge. *Jurnal Achemy* 2(3): 150-24.
- Burtin, P. 2003. Nutritional Value of Seaweeds. *Elektron. J. Environ. Agriculture Food chemical* 2(4): 498-503
- Chamidah, A. Y. Marsono, E. Harmayani., dan Haryadi. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Karakteristik Crude Laminaran Dari *Sargassum Duplicatum*. *Agritech*. 33(3): 251-257
- Dimara, L. dan T. N. B. Yenusi. 2011. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ektrak Pigmen Klorofil Rumput Laut *Caulerpa racamosa* (Forsskal) J Argadh. *Jurnal Biologi Papua* 3 (2): 53-59

- Eva, S.S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Jurnal Pharmacy*. Fakultas MIPA. Universitas Cendrawasih. Jayapura. 10 hlm.
- Gunawan, D dan S. Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1. Penebar Swadaya. Jakarta
- Hafiludin. 2011. Karakteristik Proksimat dan Kandungan Senyawa Kimia Daging Merah Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). *Jurnal Kelautan* 4(1): 1-10
- Handayani, T. Sutarno, dan A. D. Setyawan. 2004. Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum Crassifolium* J Agardh. *Jurnal Biofarmasi* 2(2); 42-52
- Harborne, J. B. 1996. Metode fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Diterjemahkan oleh : K. Padmawinata dan I. Soediro Penerbit ITB, Bandung.
- Hariana, A.H., 2004, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 1*, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hendi, P. Y., I. Widowati., dan O.K. Radjasa. 2014. Skrining Antibakteri Rumput Laut *Sargassum plagyophyllum* dari Perairan Bandengan Jepara Terhadap Bakteri Patogen *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. FPIK. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hendri, J. 2009. Riset Pemasaran. Univeritas Gunadarma: Jakarta.
- Huda, N. 2001. Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis. Bidang Evaluasi dan Pengembangan Keselamatan Instalasi. Sigma Epsilon.
- Husna, M., H. Barroroh., dan E. K. Hayati. 2009. Identifikasi dan uji Aktivitas Golongan Senyawa Antioksidan Ektrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum Aiton*) Berdasarkan Variasi pelarut.
- Ika, D. 2009. Alat Otomatisasi Pnegukur Kadar Vitamin C dengan Metode TiTrasi Asam Basa. *Jurnal Neurtrindo*. 1(2): 1-16
- Istadi dan J.P. Sitompul. 2000. A Heterogenous Model For Deepbed Corn Grain Drying. *Mesin*. Vol 15(3). Institut Pertanian Bogor.
- Jannah, M., A. Hannapi., dan A. G. Fasya. 2014. Uji Toksisitas dan Fitokimia Ektrak Kasar Metanol, Kloroform dan N-Heksan Alga Coklat *Sargassum Vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Alchemy* 3(2) : 194-203
- Junaedi, W. A. 2004. Rumput Laut , Jenis dan Morfologinya. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Nabire.
- Kadi, A. 2005. Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia. *Oseana*. 30(4): 19-29
- 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.

- Karinda, M., Fatmawali, dan G. Citraningsih. Perbandingan Hasil Penetapan Kadar Vitamin C Mangga Dodol Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Dan Iodometri. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi* . 2 (01). ISSN 2302 – 2493.
- Katarzyna, C., A. Saeid., Z. Wikowska., L. Tuhy. 2012. Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts – The Prospects for the Application. *Open Conference Proceedings Journal*. Institute of Inorganic Technology and Mineral Fertilizers. Wrowclaw University of Technology. 9 page.
- Kayani, W., M. Fifendy dan Rizki. 2013. Daya Hambat Infusa Daun Bayam Ungu (*Alternanthera brasiliiana Kuntze*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. Universitas Negeri Padang. Sumatera Barat. 6 hlm.
- Kurniawati. I., Maftuch dan M. H. Anik 2016. Penentuan Pelarut Dan Lama Ekstraksi Terbaik pada Teknik Maserasi *Gracillaria* sp. Serta Pengaruhnya Terhadap Kadar Air dan Rendemen. *Jurnal Ilmu Perikanan* 7(2): 72-77.
- Leenawaty, L. dan Heriyanto. 2011. Optimasi proses Ekstraksi Fukosantin Rumput Laut Coklat *Padina australis* Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Universitas Ma Chung. Malang..
- Limantara, L. 2006. Buku Panduan Praktikum. Widya Sari Press. Salatiga.
- Lisdawati, V. , S. Wiryowidagdo dan L. B. S. Kardono. 2006. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak dari Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa. *Buletin Panel Kesehatan* 34 (3): 111-118.
- Luximom-Ramma, A., T. Bahorun, M.A. Soobrate, and O.I. Aruoma. 2002. *Antioxidant Activities of Phenolic, Proanthocyanidin, and Flavonoid Components in Extract of Cassia fistula*. *J.Agric.Food Chem.* 50:5042-5047.
- Mardawati, E., S. A. Cucu., dan M. Herlina. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ektrak Kulit Manggis (*Gracinia mangostana L*) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran Fakultas Teknologi Industri Pertanian. Bandung.
- Masduqi A. F., M. Izzati., dan E. Prihastanti. 2014. Efek Metode Pengeringan Terhadap kandungan Bahan Kimia Dalam Rumput Laut. *Jurnal Anatomi dan Fisiologi* Vol. 22(1) Undip. Semarang.
- Matanjun P., S. Muhamed., N. M. Mustapha., dan K. Muhammad., C. H. Ming. 2008. Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweeds From North Borneo. *J Appl Phycol* 20: 360-368.
- Nafisah, M., Tukiran., Suyanto., dan N. Hidayati. 2014. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform, Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). FMIPA. Universitas Negeri Surabaya. Surabaya.

- Novianti, N. D. 2012. Isolasi Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Jambo-Jambo (*Kjelbergiodendron celebicus*).
- Nur, A. M. 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang dayak (*eleutherine palmifolia*) Dalam Bentuk Segar, Simplisia, dan Keripik Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Paranginangin, R., E. Sinurat dan M. Darmawan. 2013. Memproduksi Karaginan dari Rumput Laut. Penebar Swadaya Hal. 7
- Prajitno, A. 2006. Pengendalian Penyakit *Vibrio harveyi* dengan Ekstrak Rumput Laut (*Halimeda opuntia*) Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) PL-13. Desertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* Terhadap Bakteri *Salmonella Chaleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta.
- Putranti, R. I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum Duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. Universitas Deponegoro. Semarang
- Putri, E. Anggaraeni., dan Y. Khairina. 2012. Standarisasi Ekstrak Etanol herbal Pegagan (*Cantella asiata* L. Urban) yang Berasal Dari Malang dan Penetapan Kadar Asiatikosida. Jurusan Farmasi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta hal. 2-3
- Putri, W.S., N.K. Warditiani dan L.P.F. Larasanty. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Universitas Udayana. Bali. 60 hlm.
- Ridlo, A dan R. Pramesti. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Imunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopenaeus Vannamei*). Jurnal Ilmu Kelautan. 14(3): 133-137
- Ristyana, I. P. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang. 104 hlm.
- Robinson, T. 1991. The Organic Consistituents of Higher Plants, 6 Th Edition. Terjemahan oleh Kokasih Padmawinata. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung. 284 hlm.
- Rohimat., I. Widowati., dan A. Trianto. 2014. Aktivitas antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut Coklat (*Turbinaria conodies* dan *Sargassu*, *Cristofoluim*) yang Dikoleksi dari Pantai Rancabuaya Garut Jawa Barat. Journal Of Marine Research3(3): 5-9.
- Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Cetakan I. Penerbit Pustaka Pelajar : Yogyakarta
- Sani, R.N., C.N. Fithri., D.A. Ria., M.M. Jaya. 2014. Analisis Randemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. Jurnal

Pangan dan Agroindustri Vol. 2 No. 2. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

Santi, R. A., S. T. C., Triwisari, D. A. 2012. Komposisi Kimia dan Profil Polisakarida Rumput Laut Hijau. FPIK. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Sarastani, D., S. T. Soekarto., T. R. Muchtadi., D. Fardiaz., dan A. Apriyanto. 2002. Aktivitas Antioksidan dan Fraksi Ekstrak Biji Atung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 8(2): 149-156.

Septiadi, T., D. Pringgenies dan O. K. Radjasa. 2013. Uji Fitokimia dan aktivitas Antijamur Ektrak Teripang keling (*Holothuria atra*) Dari Pantai bandengan jepara Terhadap Jamur *Candida albicans*. *Journal of Marine Research* 2(2): 76-84.

Septiana, A. T. dan A. Asnaini. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum Duplicatum Menggunakan berbagai pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal AGROTEK* 6 (1): 22-30

Setiyowati, V. 2007. Karakteristik dan Pengujian Aktivitas Antioksidan Tablet Effervescent Ektrak Teh Hijau Pada Lama Ektaksi dan jenis Bahan Pengisian yang Berbeda. Universitas Brawijaya malang.

Shahab, S. M. M. 2007. Antioxidant and Antibiotic Activities of Some Seaweed (Egyptian Isolates). *International Journal Of Agriculture and Biology* 9(2): 220-225

Siagian, D dan Sugiarto. 2012. Metode Statistik Untuk Bisnis Dan ekonomi. Gramedia Pustaka utama. Jakarta

Simaremare, S.E. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Jurnal Pharmacy*. Fakultas MIPA. Universitas Cendrawasih. Jayapura. 10 hlm.

Simpson, M. G. 2006. Plant Systematics. Elsevier Academic Press. Canada

SNI (Standar Nasional Indonesia), 2015. Rumput Laut Kering. Badan Standarisasi Nasional. 2690 : 2015.

Singarumbun, M dan S. Effendi. 1989. Metode Penelitian Survey. LP3ES.Jakarta

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.

Sjafrie, N. D. M. 1990. Beberapa Catatan Mengenai Rumput Laut Gracillaria Verrucosa. LON-LIPI. Jakarta

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

Suarsa, I.W., P. Suarya dan I. Kurniawati. 2011. Optimasi Jenis Pelarut dalam Ekstraksi Zat Pewarna Alam dari Batang Pisang Kepok (*Musa*

paradiasiaca L. cv kepok) dan Batang Pisang Susu (*Musa paradiasiaca L. cv susu*). *Jurnal Kimia* 5 (1): 72-80

Sulistidjo, M. S. 2002. Penelitian Budidaya Rumput Laut (Alga Makro/Seaweed) di Indonesi. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta

Sulistyowati, H. 2003. Struktur Komunitas *Seaweed* (Rumput Laut) di Pantai Pasir Putih Kabupaten Situbondo. *Jurnal Ilmu Dasar* 4 : 56-61

Sumanto., 1995. Metode Penelitian Sosial dan Pendidikan. Yogyakarta. Andi Offset

Suryabrata, S. 2005. Metodologi Penelitian. Rajawali Press. Jakarta.

Suryaningrum, D., W. Thamrin dan H. Hendy. 2006. Uji Aktivitas senyawa Antioksidan dari sumpat laut *Halymenia Harveyana* dan *Euchema Cottony*. *Jurnal Pasca panen dan Bioteknologi Kelautan Perikanan* 1(1):51-63.

Tuarita, M. Z., H. Kartaningsih dan H. Nursam. 2013. Karakteristik Antioksidan dan Kandungan Polifenol Teh Alga Coklat (*Sargassum Cristofolium*) dengan Pelarut Metanol. *TPHPi Student Journal*. 1 (2): 61-70

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

Wijesekera, R.O.B. 1991. The Medicinal Plant Industry. CRC Press, London. 236 hlm.

Winarno, F. G. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia

Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 251 hlm.

Winarsi, H. 2007. Antioksidan alami dab Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya dalam kesehatan. Kanisius. Yogyakarta.

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

Yulianto K. 2007. Penelitian Isolasi Alginat Algae Laut Coklat dan Prospeknya Menuji Industri. *Prosiding Seminar Riptek Kelautan Nasional*. Jakarta 2 (1): 104-108.

Zainuddin E. N dan A. C. Malina. 2009. Skrining Rumput Laut Asal Sulawesi Selatan Sebagai Antibiotik Melawan Bakteri Patogen Pada Ikan. Laporan penelitian *Research Grant*. Biaya IMHERE-DIKTI.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan

a. Pengeringan

Alat	Oven
	Nampan
	Termometer alcohol
Bahan	Plastik mulsa hitam
	Waring
	Rafia
	Kertas Koran

b. Uji Kadar Air

Alat	Desikator
	Crushtable tang
	Oven
	Timbangan analitik
	Cawan petri
Bahan	<i>Gracilaria verrucosa</i> kering

c. Penggilingan

Alat	Penggilingan
	Bak besar
Bahan	<i>Gracilaria verrucosa</i> kering

d. Maserasi

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

e. Evaporasi

Alat	Rotary vacum evaporator
	Spatulla
	Botol fial

Lampiran 1. lanjutan

Bahan	Timbangan digital
	Erlenmeyer
	aluminium foil
	pelarutetanol 96%

f. Uji Kualitatif Vitamin C

Alat	Cuvet
	Pipet volum
	Timbangan analitik
	Tabung reaksi
	Beaker glass
Bahan	Ekstrak <i>Sargassum</i> sp.
	Asam askorbat
	KmNO ₄ 0,1%

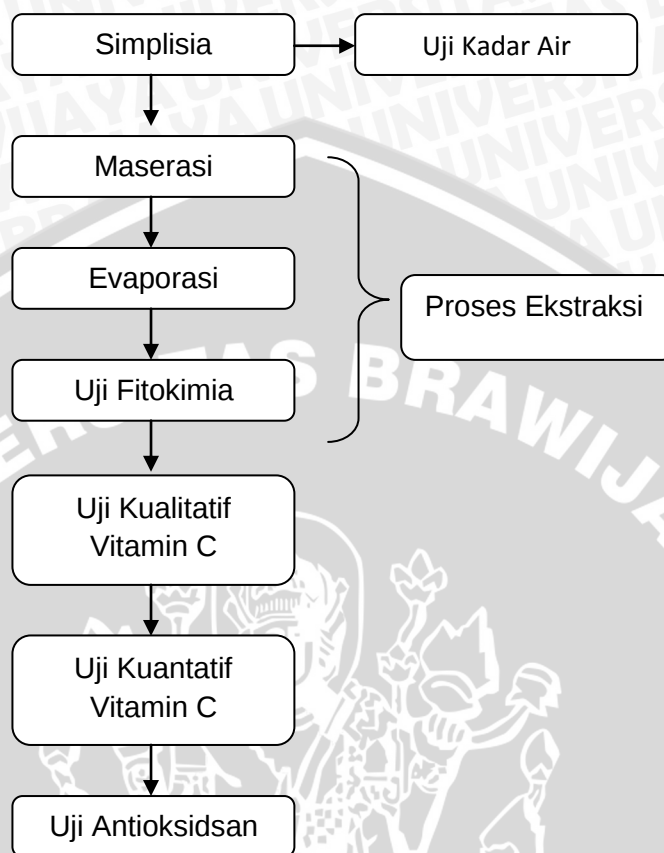
g. Uji Kuantitatif Vitamin C

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

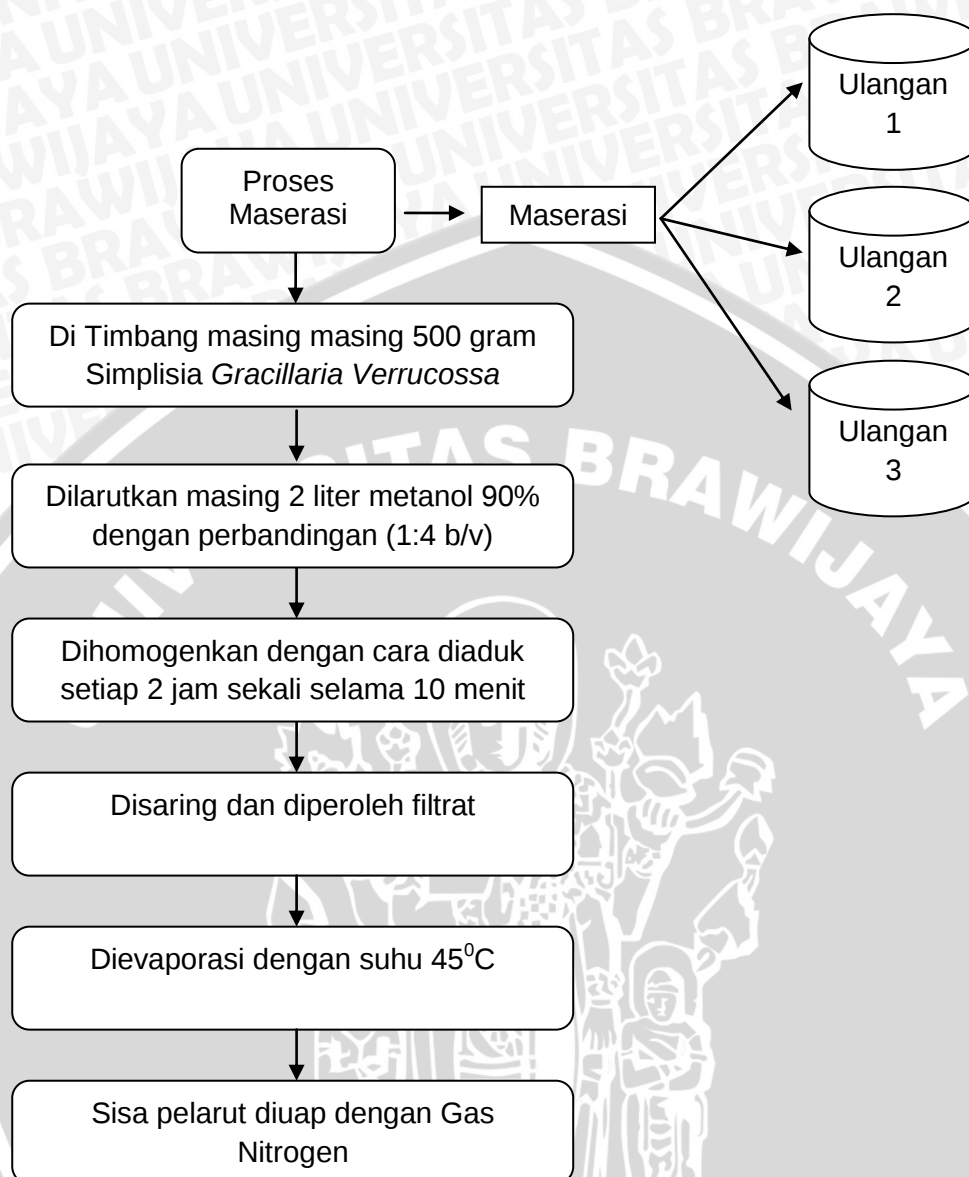
h. Uji Aktivitas Antioksidan

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

Lampiran 2. Skema Penelitian

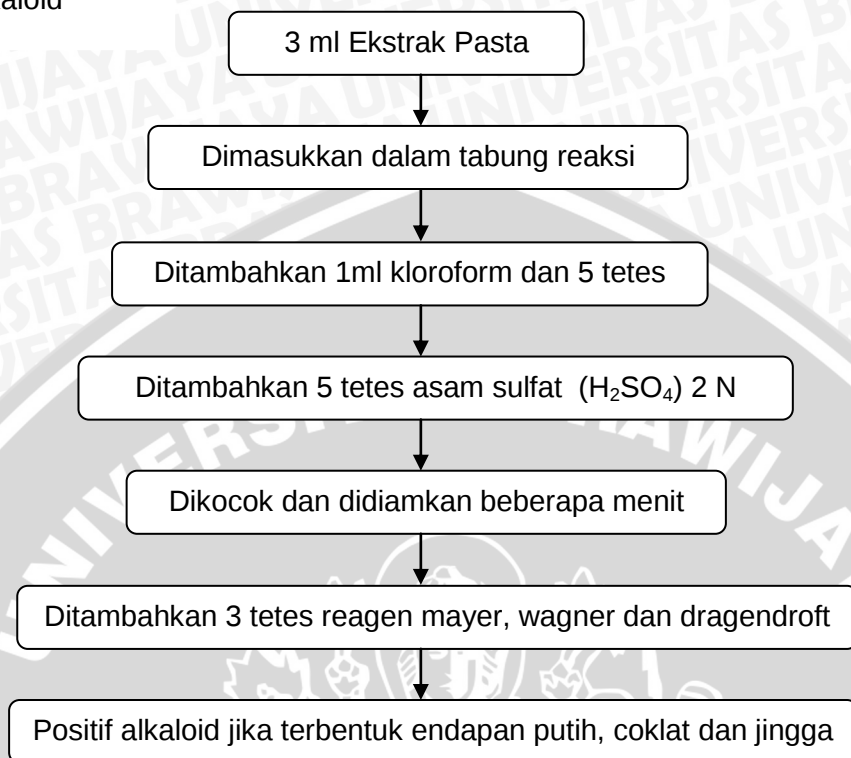


Lampiran 3. Skema Proses Ekstraksi

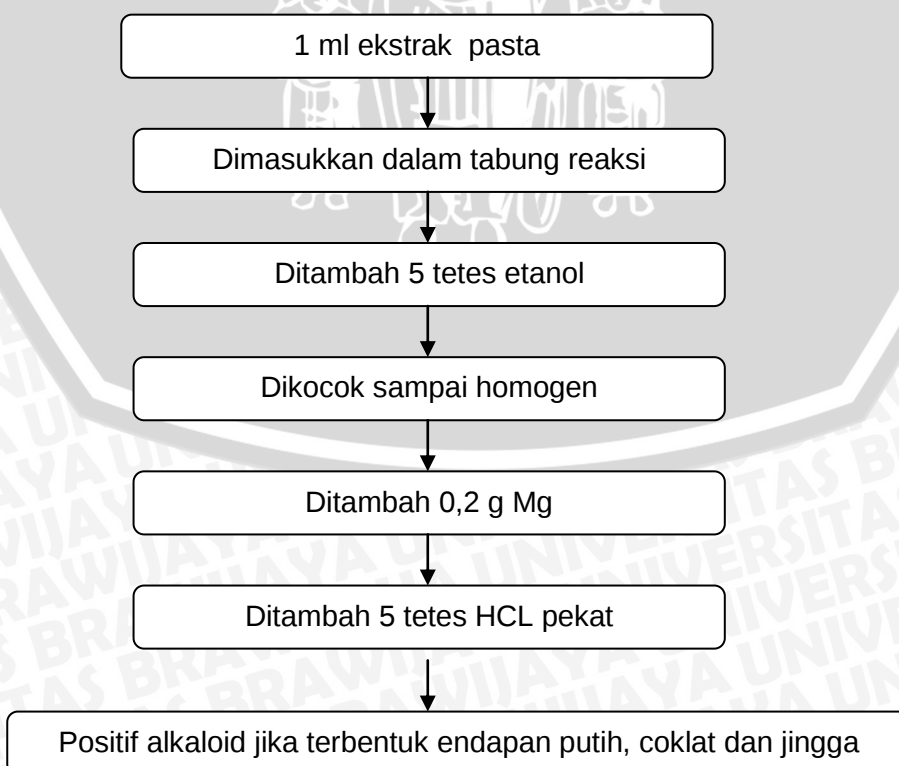


Lampiran 4. Skema Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

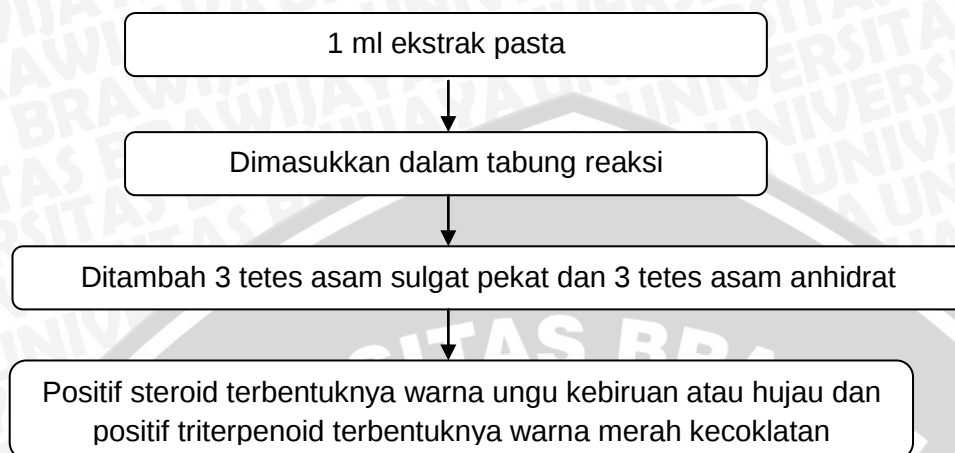


b. Uji Flavonoid

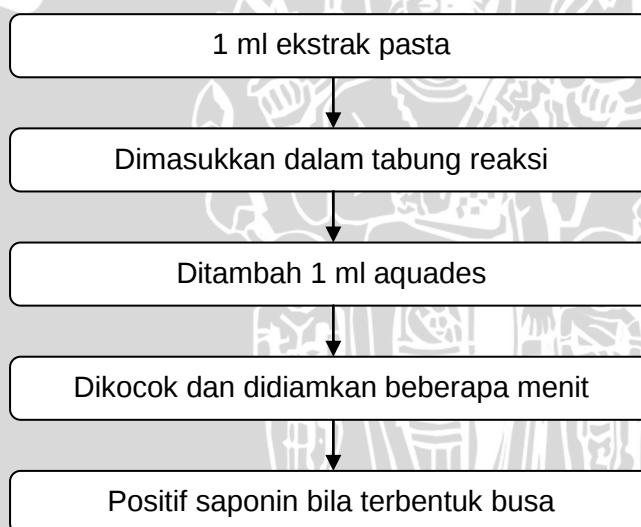


Lampiran 4. Lanjutan

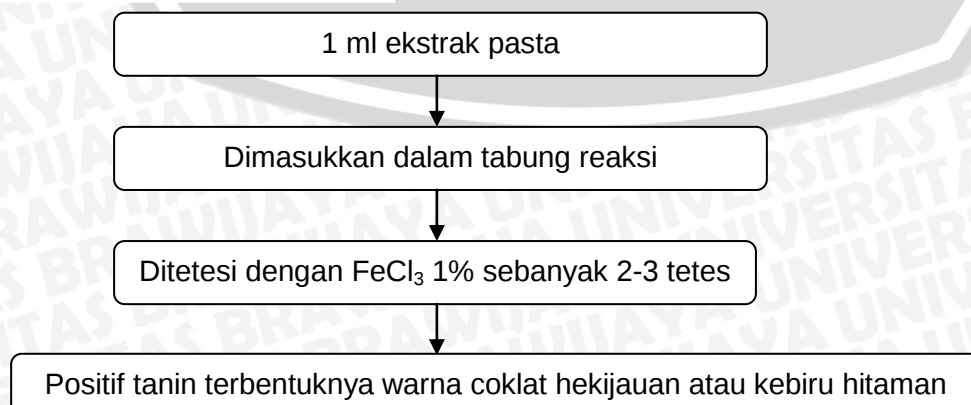
c. Uji Steroid/ Triterpenoid



d. saponin

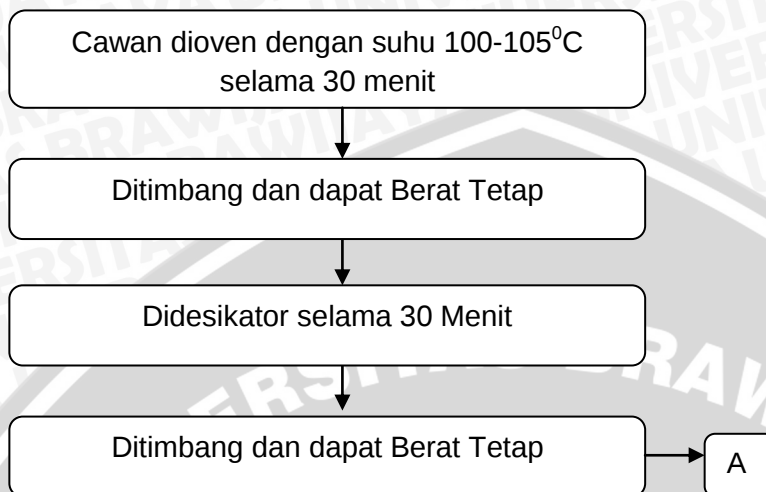


c. Tanin

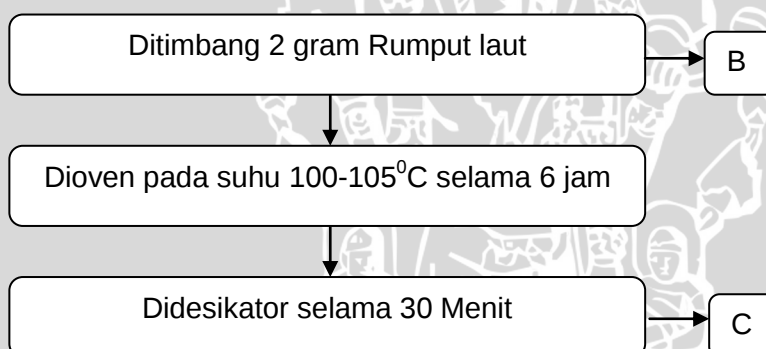


Lampiran 5. Skema Uji Kadar Air dengan Metode Oven

Persiapan



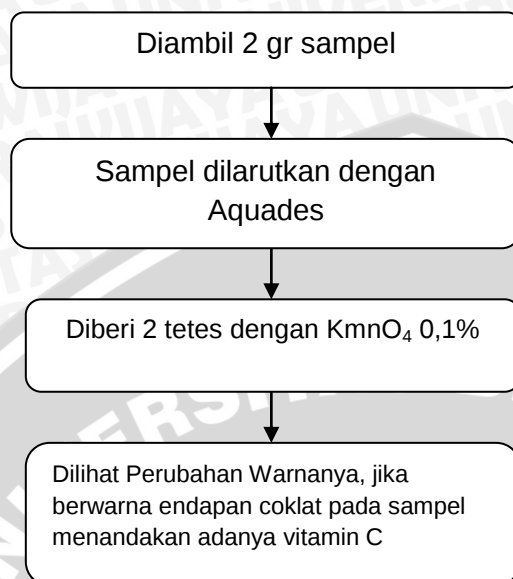
Uji Kadar Air



Dihitung dengan Rumus:

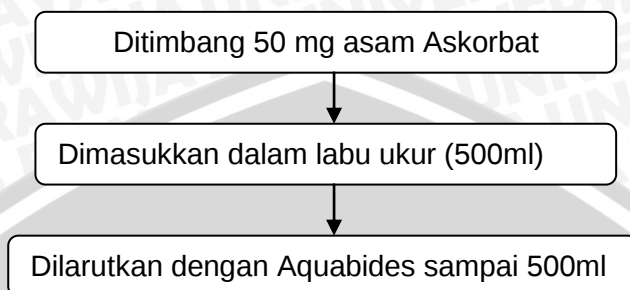
$$\text{Kadar air \%} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Lampiran 6. Skema Uji Kualitatif Vitamin C

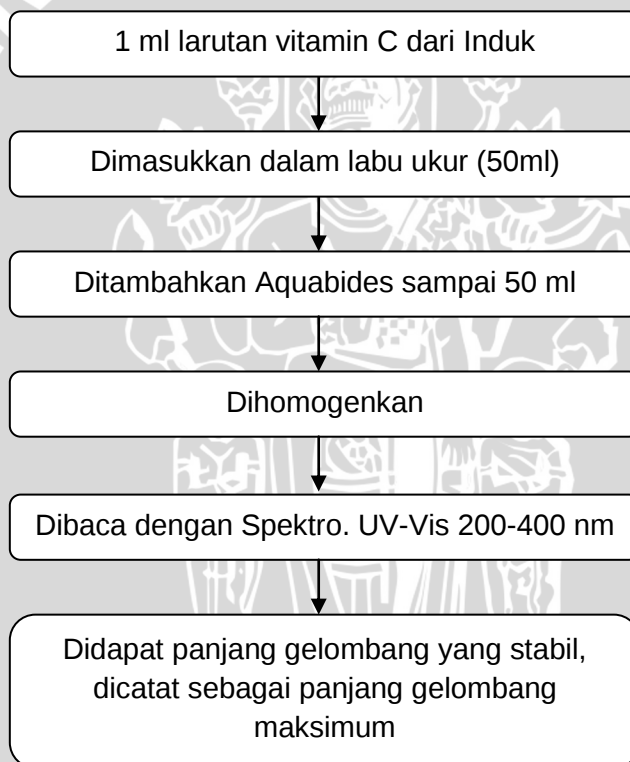


Lampiran 7. Skema Uji Kuantitatif Vitamin C

a. Pembuatan Larutan Induk 100ppm

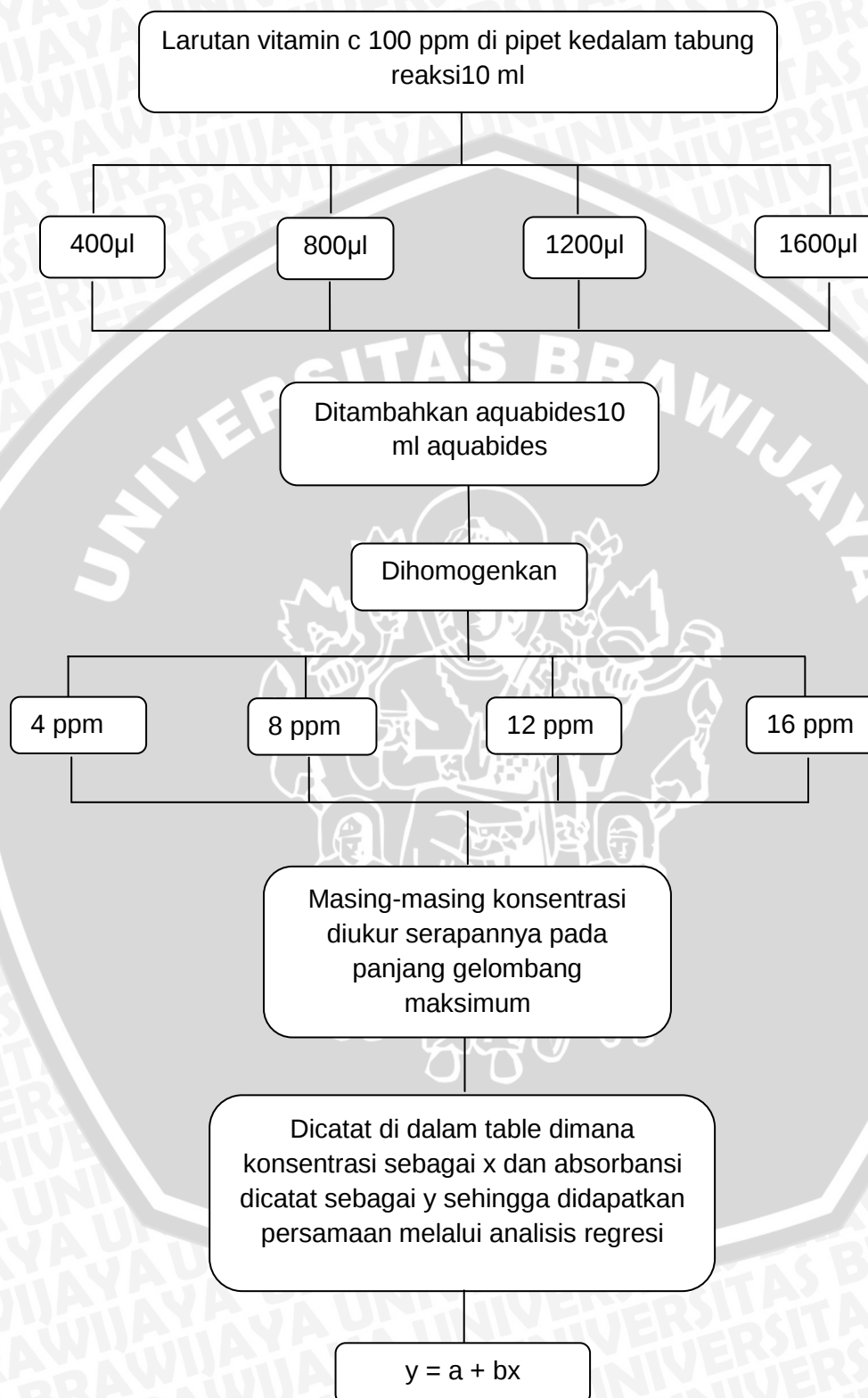


b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



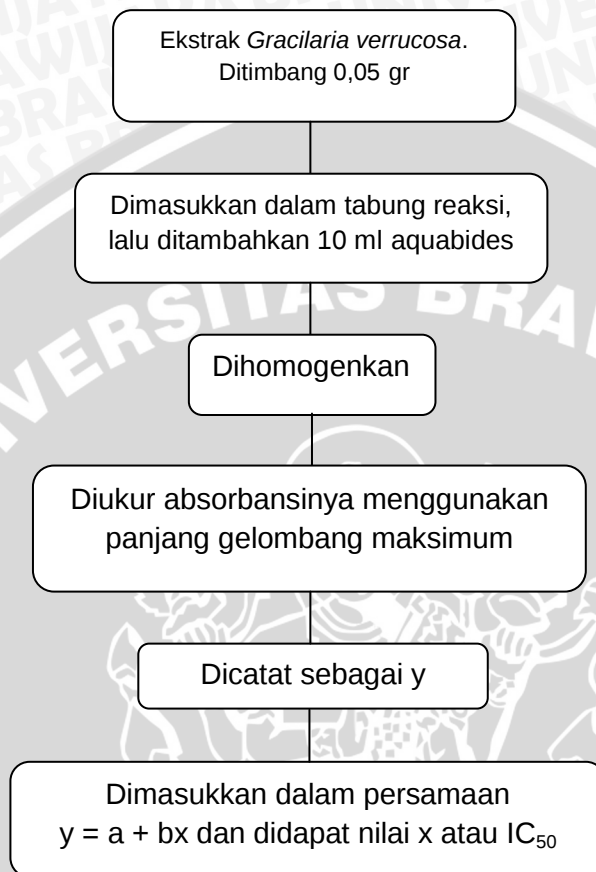
Lampiran 7. Lanjutan

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi



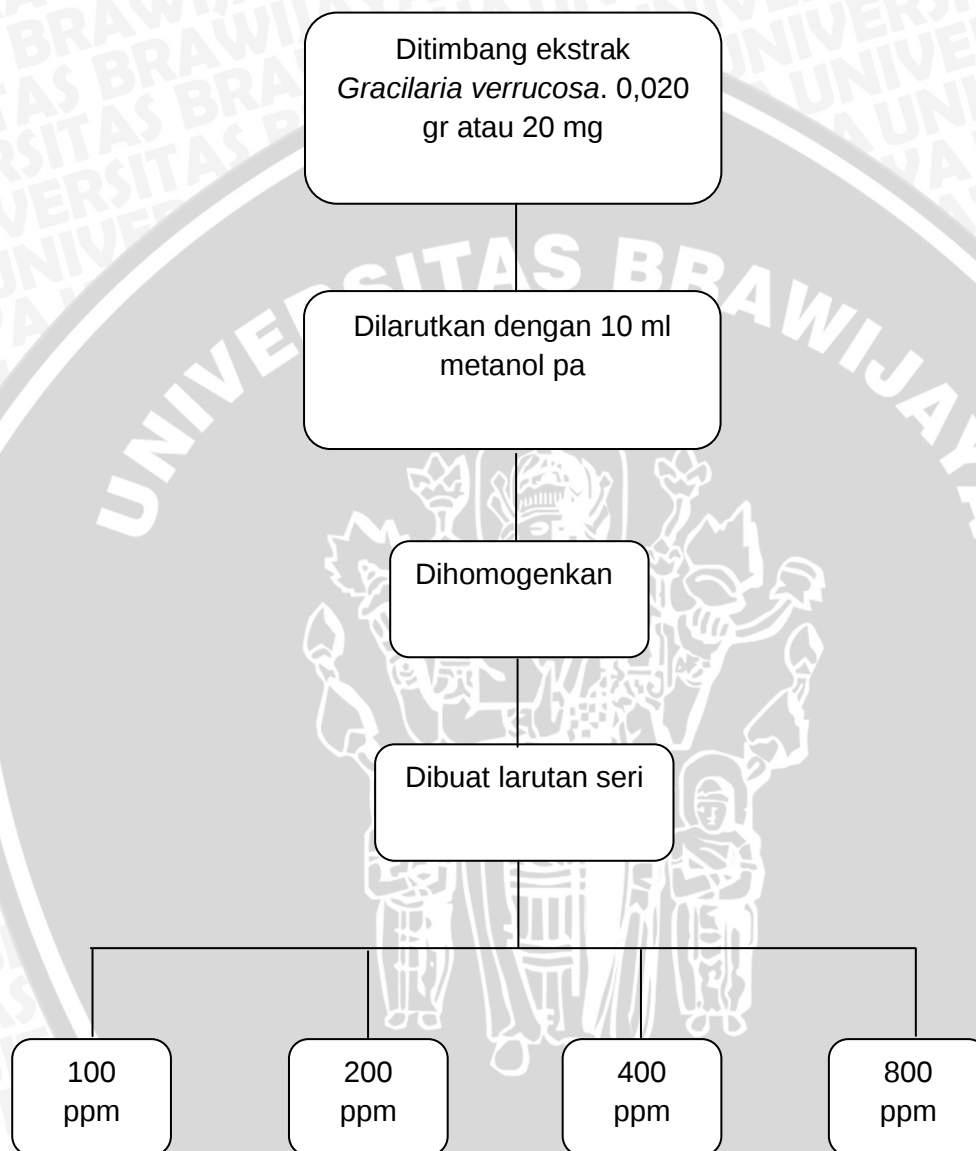
Lampiran 7. Lanjutan

d. Penentuan Kadar Sampel



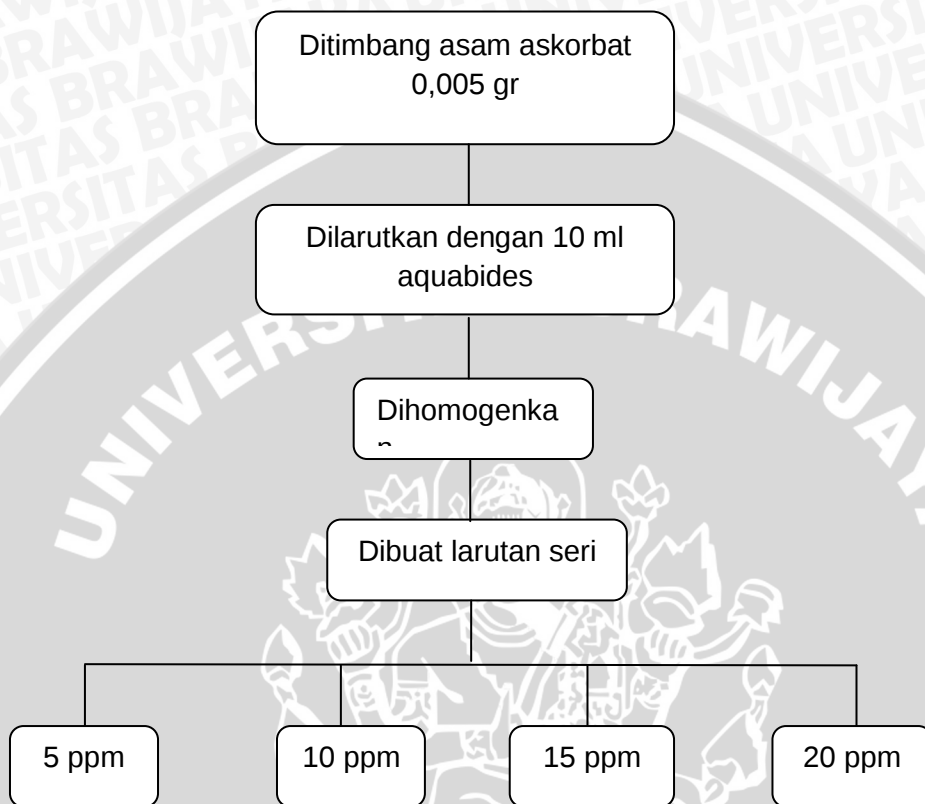
Lampiran 8. Skema Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan induk senyawa uji antioksidan 2000 ppm



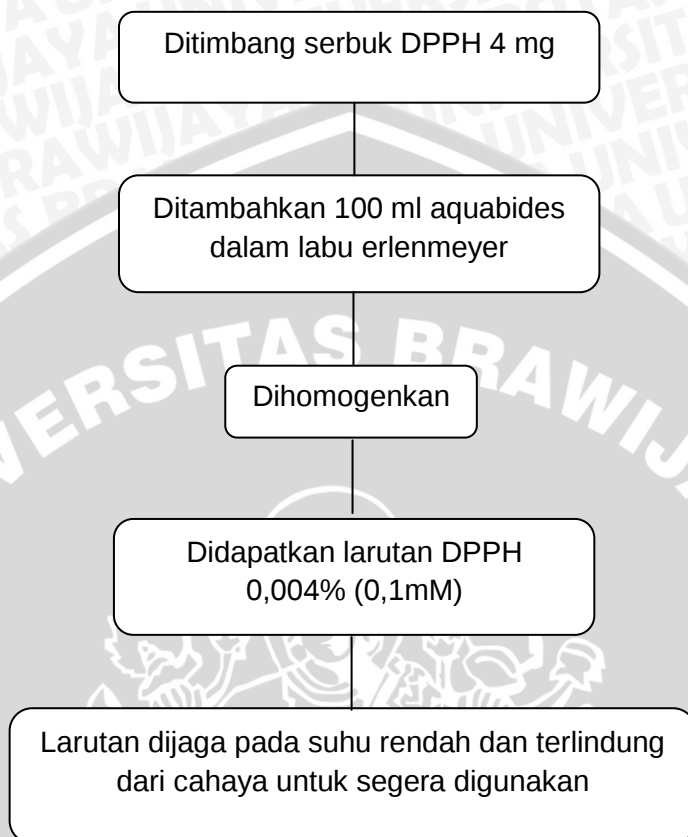
Lampiran 8. Lanjutan

b. Pembuatan Larutan Senyawa Pembanding 500 ppm



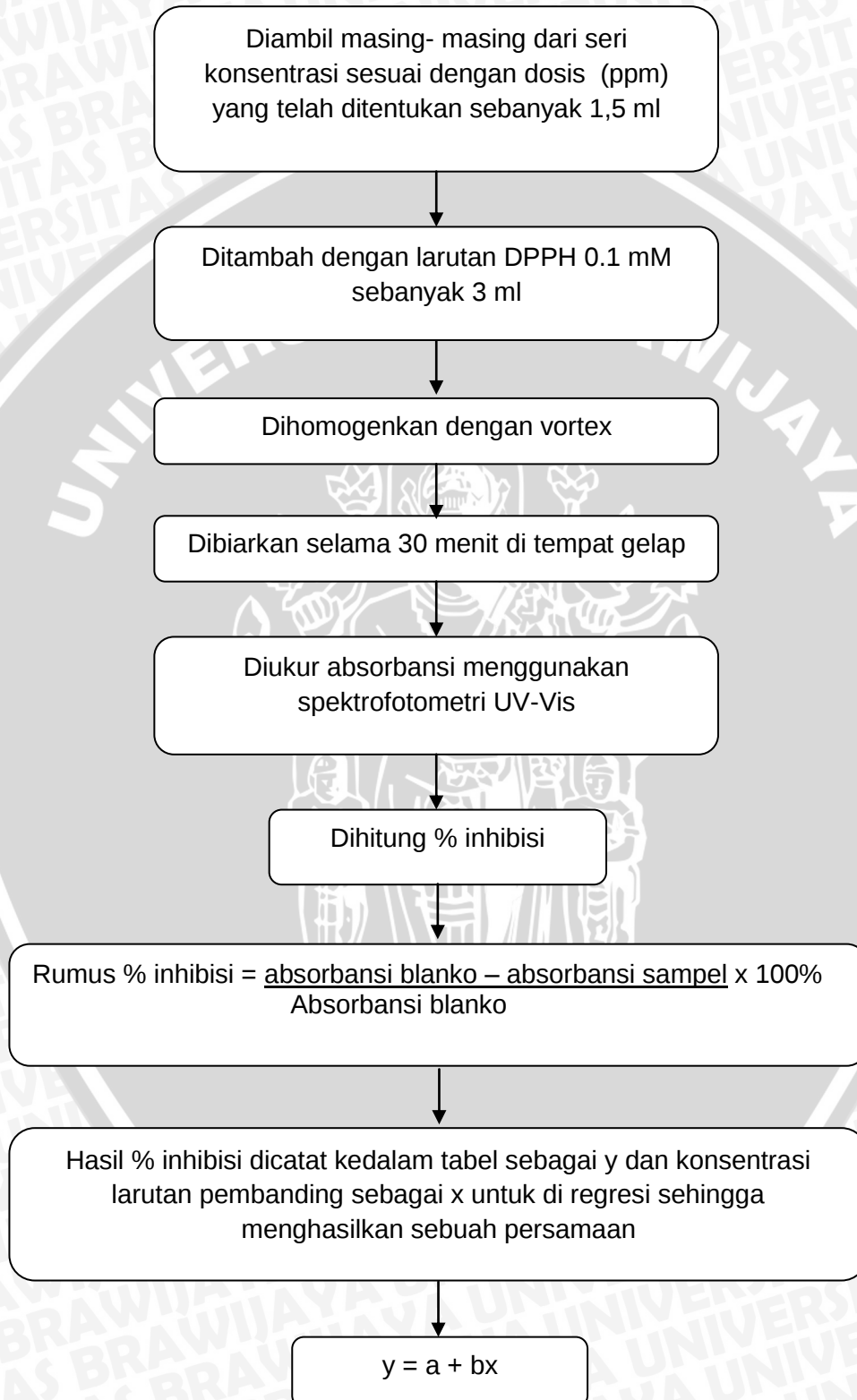
Lampiran 8. Lanjutan

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



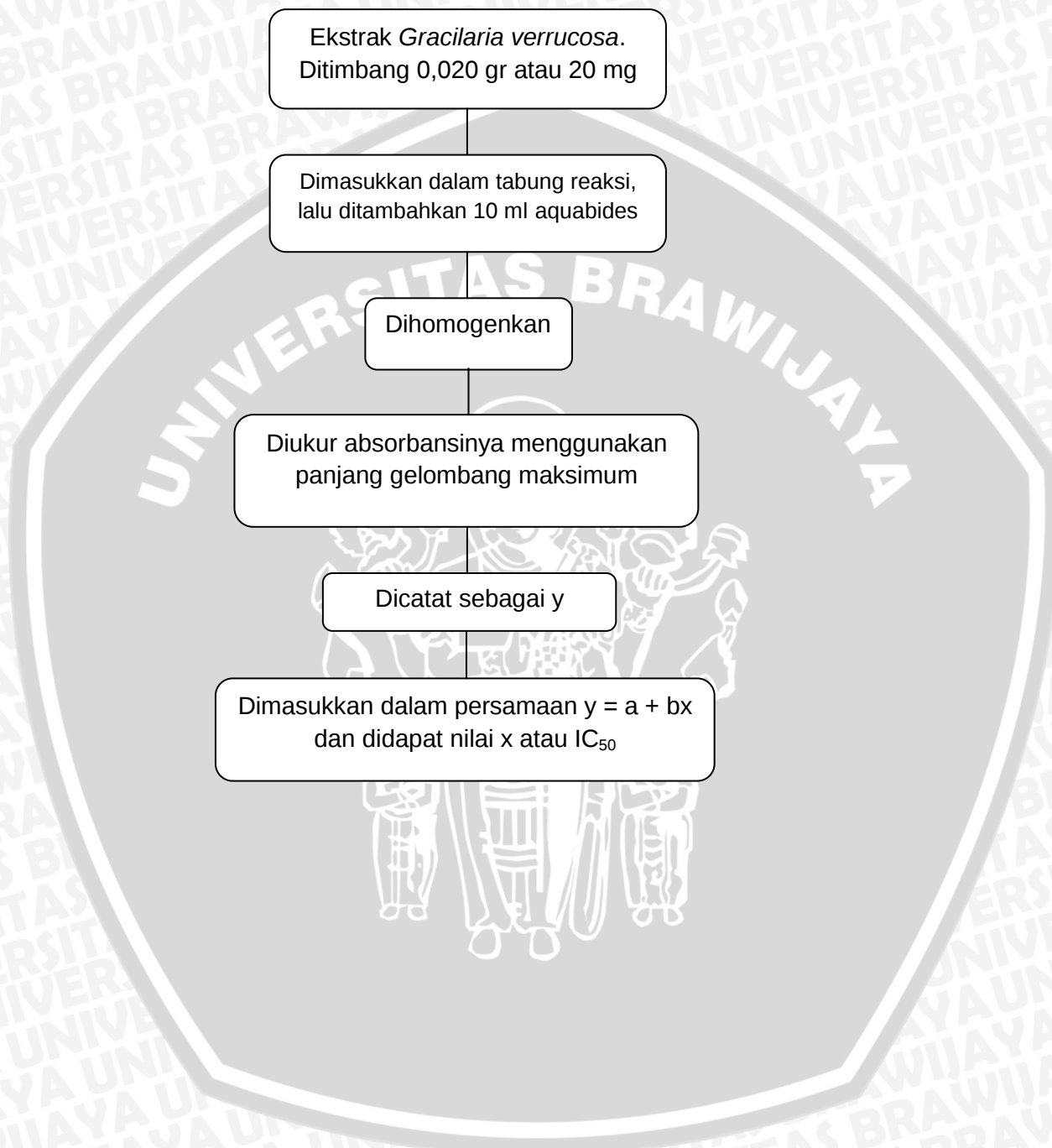
Lampiran 8. Lanjutan

d. Pengukuran Larutan Senyawa Pembanding



Lampiran 8. Lanjutan

e. Penentuan Kadar Sampel



Lampiran 9. Perhitungan Rendemen

Tabel Rendemen Rumput Merah (*Gracilaria verrucosa*)

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

Perhitungan Rendemen

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

Randemen 1 (basah-kering)

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

$$= 14,21 \%$$

Randemen 2 (kering-simplisia)

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

$$= 96,24\%$$

Randemen 3 (simplisia-ayakan)

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

$$= 57,90\%$$

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

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

Keterangan :

A = Berat Cawan

B = Berat Cawan + Sampel Sebelum di Oven

C = Berat Cawan + Sampel Sesudah di Oven

$$= \frac{B - C}{B - A} \times 100\% = \frac{51,138 \text{ gr} - 50,724 \text{ gr}}{51,138 \text{ gr} - 49,1189 \text{ gr}} \times 100\% = 20,47 \%$$

Lampiran 11. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Larutan Asam Askorbat
Pembuatan Larutan Induk 100 ppm Asam Askorbat ($C_6H_8O_6$)

$$1. \quad 1 \text{ M } (C_6H_8O_6) = (Ar \text{ C} \times \text{Jumlah Atom C}) + (Ar \text{ H} \times \text{Jumlah Atom H}) + (Ar \text{ O} \times \text{Jumlah Atom O})$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ M } C_6H_8O_6 &= (12 \times 6) + (1 \times 8) + (16 \times 6) \\ &= 72 + 8 + 96 \\ &= 176 \text{ gr} \end{aligned}$$

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

2.

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

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

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

$$\text{Mol 100 ppm} = 0,00057 \text{ M}$$

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

3. Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 100 ppm

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

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

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

$$x = 10 \text{ mg atau } 0,01 \text{ gram}$$

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

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 50 \text{ ml} \cdot 2 \text{ ppm}$$

Lampiran 11. lanjutan

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

$$V1 = 1 \text{ ml atau } 1000 \mu\text{l}$$

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 12. Perhitungan uji kuantitatif vitamin C

4 8 12 16 ppm

$$\text{Rumus} = V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

1. Larutan seri 4 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 4 \text{ ppm}$$

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

$$V1 = 0,4 \text{ ml atau } 400 \mu\text{l}$$

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

2. Larutan Seri 8 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 8 \text{ ppm}$$

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

$$V1 = 0,8 \text{ ml atau } 800 \mu\text{l}$$

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

3. Larutan Seri 12 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 12 \text{ ppm}$$

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

$$V1 = 1,2 \text{ ml atau } 1200 \mu\text{l}$$

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

Lampiran 12. Lanjutan

4. Larutan Seri 16 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 16 \text{ ppm}$$

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

$$V1 = 1,6 \text{ ml atau } 1600 \mu\text{l}$$

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

Pembuatan Larutan Sampel 5000 ppm

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

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

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

$$x = 50 \text{ mg atau } 0,05 \text{ gram}$$

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 500 ppm

$$\text{Rumus} = V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Pengenceran Larutan Induk 5000 ppm ke 500 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 5000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 500 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 500 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} = 1 \text{ ml}$$

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 500 ppm larutan diperlukan 1 ml larutan induk 5000 ppm dilarutkan dalam 10 ml pelarut.

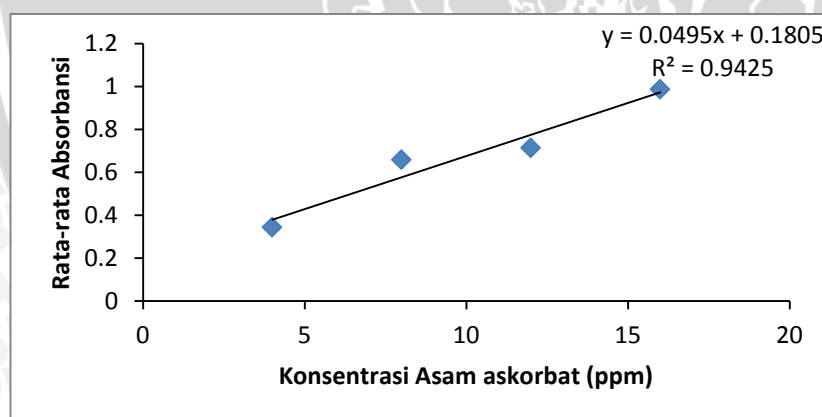
Lampiran 12. Lanjutan

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 500 ppm

Ulangan	Absorbansi	kadar Vit. C 1000 ppm	kadar Vit. C 5000 ppm	Prosentase kadar Vit. C
1	0,218	0,775	3,785	0,077 %
2	0,596	8,48	42,4	0,84 %
3	0,854	13,75	68,57	1,37%

Kurva Regresi absorbansi asam askorbat dalam uji kuantitatif vitamin C



Lampiran 12. Lanjutan

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 500 ppm

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

Ulangan 1

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

$$0,218 = 0,049x + 0,180$$

$$0,049x = 0,218 - 0,180$$

$$x = \frac{0,218 - 0,180}{0,049}$$

$$x = 0,775 \text{ ppm}$$

Ulangan 2

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

$$0,596 = 0,049x + 0,180$$

$$0,049x = 0,596 - 0,180$$

$$x = \frac{0,596 - 0,180}{0,049}$$

$$x = 8,48 \text{ ppm}$$

Ulangan 3

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

$$0,854 = 0,049x + 0,180$$

$$0,049x = 0,854 - 0,180$$

$$x = \frac{0,854 - 0,180}{0,049}$$

$$x = 13,75 \text{ ppm}$$

Lampiran 12. Lanjutan

2. Kadar Vitamin C dalam Sampel 5000 ppm

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

$$= 0,775 \times 5$$

$$= 3,875 \text{ ppm}$$

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

$$= 8,48 \times 5$$

$$= 42,4 \text{ ppm}$$

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

$$= 13,75 \times 5$$

$$= 68,75 \text{ ppm}$$

3. % Vitamin C Sampel 5000 ppm

$$\text{Ulangan 1} = \frac{\text{Kadar vitamin c sampel (5000 ppm)}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= \frac{3,785 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 0,077\%$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{\text{Kadar vitamin c sampel (5000 ppm)}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= \frac{42,4 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 0,84\%$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{\text{Kadar vitamin c sampel (5000 ppm)}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= \frac{68,75 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= 1,375\%$$

Lampiran 13. Perhitungan Uji Antioksidan

Pembuatan Larutan Induk 500 ppm Asam Askobat ($C_6H_8O_6$)

$$1 \text{ M } (C_6H_8O_6) = (Ar \text{ C} \times \text{Jumlah Atom C}) + (Ar \text{ H} \times \text{Jumlah Atom H}) + (Ar \text{ O} \times \text{Jumlah Atom O})$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ M } C_6H_8O_6 &= (12 \times 6) + (1 \times 8) + (16 \times 6) \\ &= 72 + 8 + 96 \\ &= 176 \text{ gr} \end{aligned}$$

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

2.

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

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

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

$$\text{Mol 500 ppm} = 0,00284 \text{ M}$$

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

3. Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 500 ppm

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

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

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

$$x = 5 \text{ mg atau } 0,005 \text{ gr}$$

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

Lampiran 13. Lanjutan

Seri 5, 10, 15, 20 ppm

$$\text{Rumus} = V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

1. Larutan seri 5 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 5 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ ml} \times 5 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ ml atau } 50 \mu\text{l}$$

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

2. Larutan seri 10 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml atau } 100 \mu\text{l}$$

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

3. Larutan seri 15 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 15 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 15 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,15 \text{ ml atau } 150 \mu\text{l}$$

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

4. Larutan seri 20 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

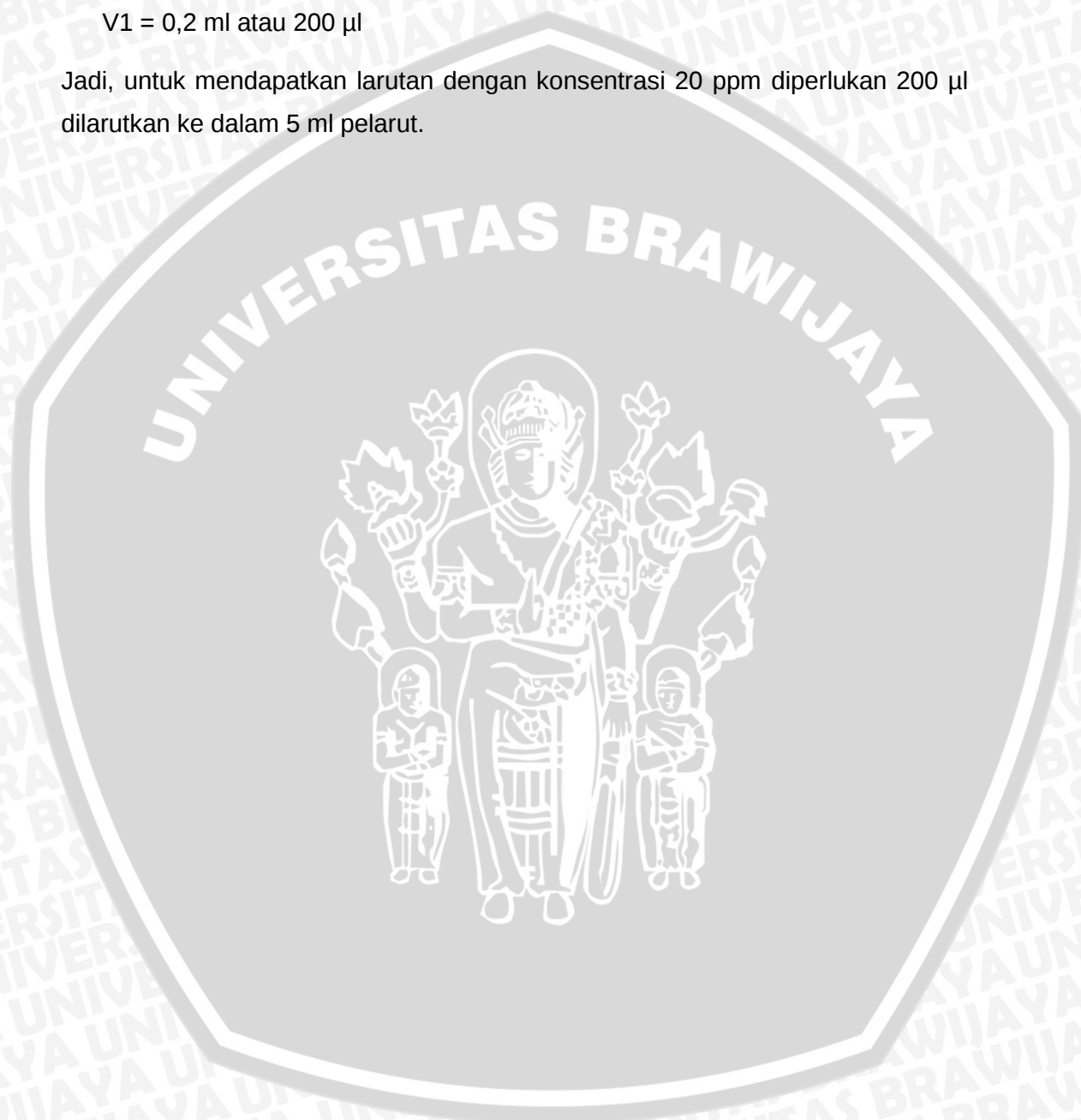
Lampiran 13. Lanjutan

$$V1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm}$$

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

$$V1 = 0,2 \text{ ml atau } 200 \mu\text{l}$$

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



Lampiran 13. Lanjutan

Pembuatan Larutan DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) 0,1 mM

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

$$\begin{aligned} 1 \text{ M } C_{18}H_{12}N_5O_6 &= (12 \times 18) + (1 \times 12) + (14 \times 5) + (16 \times 6) \\ &= 216 + 12 + 70 + 96 \\ &= 394 \text{ gr} \end{aligned}$$

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

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

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

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

$$\text{Mol 40 ppm} = 0,0001 \text{ M atau } 0,1 \text{ mM}$$

Jadi, dalam 40 ppm DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) terdapat 0,1 mM3. Pembuatan Larutan DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) 40 ppm

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

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

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

$$x = 4 \text{ mg atau } 0,004 \text{ gr}$$

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 13. Lanjutan

Pembuatan Larutan Sampel 2000 ppm

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

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

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

$$x = 20 \text{ mg atau } 0,020 \text{ gram}$$

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

$$\text{Rumus} = V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

1. Seri 100 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

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

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

$$V1 = 0,25 \text{ ml atau } 250 \mu\text{l}$$

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

2. Seri 200 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

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

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

$$V1 = 0,5 \text{ ml atau } 500 \mu\text{l}$$

Lampiran 13.Lanjutan

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

3. Seri 400 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

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

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

$$V1 = 1 \text{ ml atau } 1000 \text{ µl}$$

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

4. Seri 800 ppm

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

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

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

$$V1 = 2 \text{ ml atau } 2000 \text{ µl}$$

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

Lampiran 13.Lanjutan

Uji Aktivitas Antioksidan							
sampel ekstrak metanol			larutan pembanding			IC50	IC50
konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	Konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	sampel	Vit. C
Kontrol	1,876	-	kontrol	0,379	-		
100	1,305	37,15	5	0,271	28,5		
200	1,265	40,2	10	0,250	34,1	868,18	25,71
400	1,112	43,8	15	0,242	36,2		
800	1,029	48,4	20	0,207	45,4		

Perhitungan Larutan Pembanding

1. % Inhibisi

Rumus % Inhibisi =

$$\left[1 - \frac{(\text{Absorbansi Sampel})}{(\text{Absorbansi DPPH})} \right] \times 100\%$$

$$\begin{aligned} & - 5 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{0,271}{0,379} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,715) \times 100\% \\ & = 0,285 \times 100\% \\ & = 28,5 \end{aligned}$$

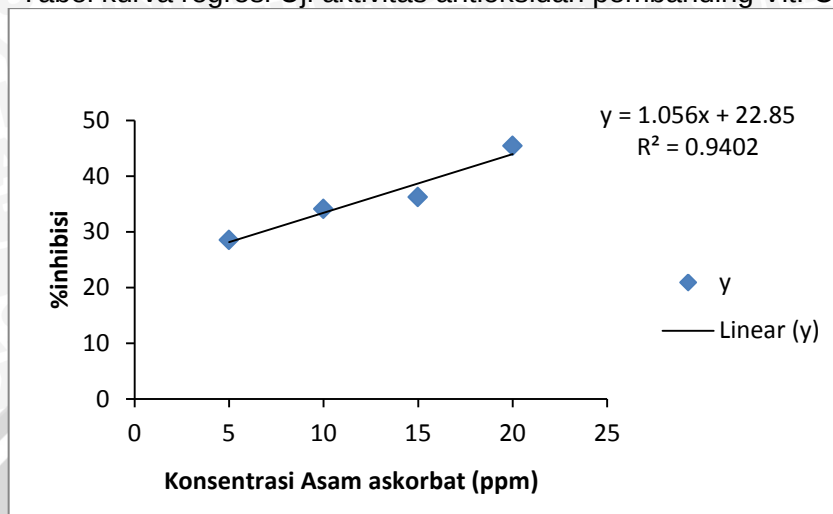
$$\begin{aligned} & - 15 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{0,250}{0,379} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,659) \times 100\% \\ & = 0,341 \times 100\% \\ & = 34,1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & - 10 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{0,242}{0,379} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,638) \times 100\% \\ & = 0,362 \times 100\% \\ & = 36,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & - 20 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{0,207}{0,379} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,546) \times 100\% \\ & = 0,454 \times 100\% \\ & = 45,4 \end{aligned}$$

Lampiran 13. Lanjutan

Tabel kurva regresi Uji aktivitas antioksidan pembanding Vit. C



2. IC₅₀ Larutan Pembanding Vit. C

$$Y = 1,056x + 22,85$$

$$50 = 1,056x + 22,85$$

$$50 - 22,85 = 1,056x$$

$$x = \frac{50 - 22,85}{1,056}$$

$$x = 25,71$$

Lampiran 13. Lanjutan

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,969665
R Square	0,94025
Adjusted R Square	0,910374
Standard Error	2,104519
Observations	4

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	139,392	139,392	31,47257	0,030335
Residual	2	8,858	4,429		
Total	3	148,25			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	22,85	2,577499	8,865184	0,012486	11,75992	33,94008	11,75992	33,94008
X Variable 1	1,056	0,188234	5,610042	0,030335	0,246095	1,865905	0,246095	1,865905



Lampiran 13. Lanjutan

Perhitungan Sampel

1. % Inhibisi Rumus % Inhibisi =

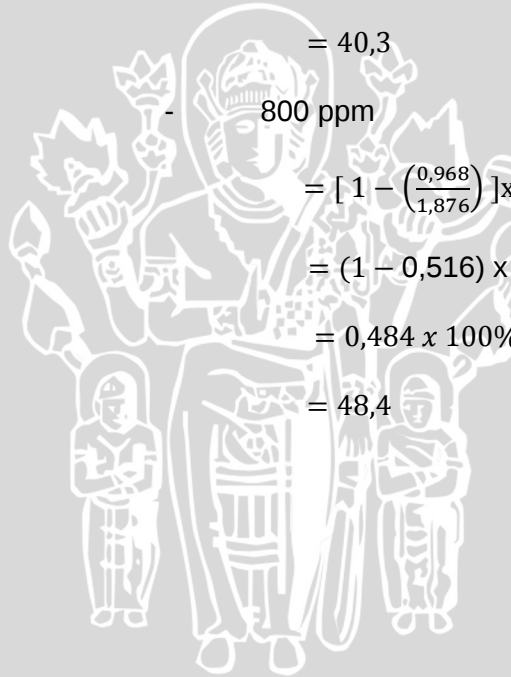
$$\frac{[1 - (\text{Absorbansi Sampel}) \times 100\%]}{(\text{Absorbansi DPPH})}$$

$$\begin{aligned} & - 100 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{1,179}{1,876} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,628) \times 100\% \\ & = 0,372 \times 100\% \\ & = 37,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & - 400 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{1,054}{1,876} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,561) \times 100\% \\ & = 0,439 \times 100\% \\ & = 43,9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & - 200 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{1,121}{1,876} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,597) \times 100\% \\ & = 0,403 \times 100\% \\ & = 40,3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & - 800 \text{ ppm} \\ & = \left[1 - \left(\frac{0,968}{1,876} \right) \right] \times 100\% \\ & = (1 - 0,516) \times 100\% \\ & = 0,484 \times 100\% \\ & = 48,4 \end{aligned}$$



Lampiran 13. Lanjutan

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,981341
R Square	0,963031
Adjusted R Square	0,944546
Standard Error	1,140442
Observations	4

ANOVA

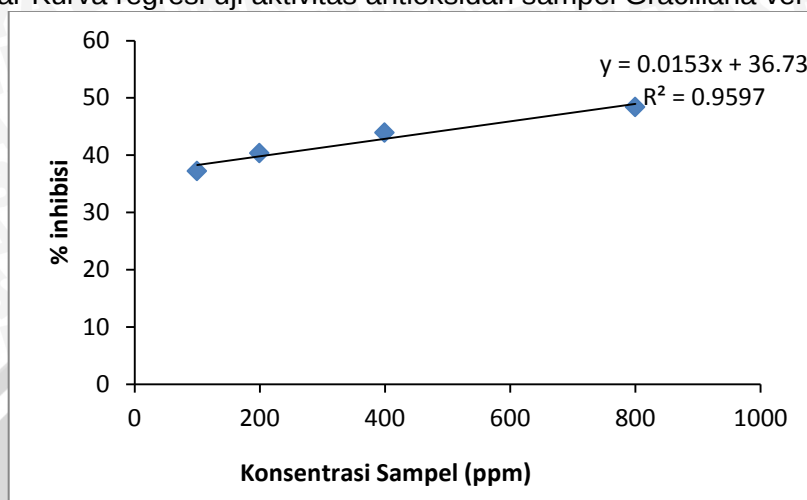
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	67,76066	67,76066	52,09919	0,018659
Residual	2	2,601217	1,300609		
Total	3	70,36188			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	36,63043	0,980469	37,36011	0,000716	32,41182	40,84905	32,41182	40,84905
X Variable 1	0,015352	0,002127	7,217977	0,018659	0,006201	0,024504	0,006201	0,024504



Lampiran 13. Lanjutan

Gambar Kurva regresi uji aktivitas antioksidan sampel *Gracillaria verrucosa*



2. IC₅₀ Sampel

$$Y = 0,015x + 36,73$$

$$50 = 0,015x + 36,73$$

$$50 - 36,73 = 0,015x$$

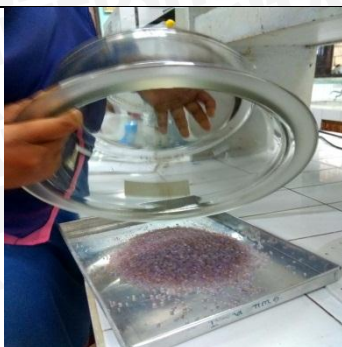
$$x = \frac{50 - 36,73}{0,015}$$

$$x = 884,67$$

Lampiran 14. Gambar Persiapan dan Pengolahan

 Pengambilan. <i>Gracillaria verucosa</i> segar ditempatkan dalam coolbox	 Penimbangan <i>Sargassum</i> sp. Segar
 <i>Gracillaria verucosa</i>	 Proses Pencucian <i>Gracillaria verucosa</i> segar
 Penjemuran	 <i>Gracillaria verucosa</i> Kering

Lampiran 14.laniutan Uii Kadar air



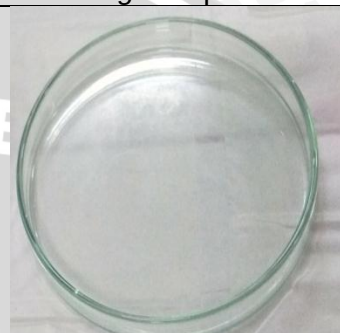
Silica gel dituang ke loyang



Silica gel siap dioven



Cawan petri di cuci dan di keringkan dengan tisu



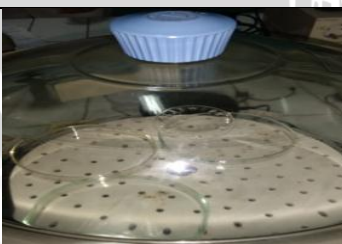
Cawan petri siap dioven



Lampiran 10. Lanjutan Uji Kadar air



Silica gel setelah dioven dan dituang ke dalam desikator



Cawan petri dimasukkan ke dalam desikator



Cawan ditimbang dan dicatat beratnya

Lampiran 14.laniutan Uii Kadar air



Gracillaria verucosa Kering



Sargassum sp. dimasukkan ke dalam cawan,dioven 6 jam (100-105°C) dan didesikator

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 14. Lanjutan Proses Penggilingan



Lampiran 14. lanjutan Gambar Proses ekstraksi



Simplisia yang telah diayak



Dimasukkan ke dalam toples kaca
ditambahkan pelarut metanol 96%
dengan perbandingan 1 : 5



Dihomogenkan setiap 2 jam selama 24
jam



Disaring dengan kertas saring



Dimasukkan ke dalam jurigen



Dipisahkan pelarut dengan ekstrak
dengan alat evaporatory dengan suhu
40°C

Lampiran 14. Lanjutan Gambar Uji Kualitatif Kadar Vitamin C



Ekstrak *Gracillaria verucosa*



Ekstrak *Gracillaria verucosa* ditimbang
5 mg



Dilartukan dengan aquades sebanyak
5 ml



Ditambahkan KMNO_4 0,1%



Ditambah KMNO_4 0,1%, hasil positif
jika terjadi endapan coklat



Hasil uji kualitatif vitamin c

Lampiran 14. Lanjutan Gambar Proses Uji Kuantitatif



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 ekstrak *Sargassum* sp.



Hasil timbangan ekstrak *Gracillaria verucosa* seberat 0,05 gr



Dilarutkan dalam aquabides masing-masing 10 ml

Lampiran 14.laniutan Proses Uji Kuantitatif



Didapat larutan 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

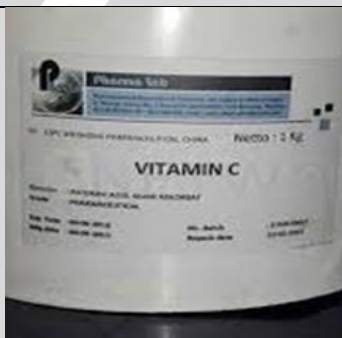
Lampiran 14. Lanjutan Gambar Uji aktifitas antioksidan



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 14. Lanjutan Gambar Uji aktifitas



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 14. Lanjutan Gambar Uji aktifitas



Larutan ditutup dan dihomogenkan kemudian di inkubasi 30 menit



Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm dan hasilnya di catat

