

**KAJIAN POTENSI KANDUNGAN SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL  
*Sargassum sp.* MELALUI METODE SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

Oleh :

**MIFTAHUDIN**

**NIM. 125080101111035**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

**KAJIAN POTENSI KANDUNGAN SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL  
SARGASSUM sp. MELALUI METODE SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
Di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**MIFTAHUDIN**

**NIM. 125080101111035**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

SKRIPSI

KAJIAN POTENSI KANDUNGAN SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL  
*Sargassum sp.* MELALUI METODE SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN

Oleh:  
**MIFTAHUDIN**  
NIM. 125080101111035

Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal : 12 Januari 2017  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I



(Ir. Putut Widjarnarko, MP)  
NIP. 19540101 198303 1 006

Tanggal : 23 JAN 2017

Dosen Pembimbing I



(Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si)  
NIP. 19730702 200501 2 001

Tanggal : 23 JAN 2017

Dosen Penguji II



(Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si)  
NIP. 19610303 198602 2 001

Tanggal : 23 JAN 2017

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Muhammad Musa, MS)  
NIP. 19600505 198602 1 002

Tanggal : 23 JAN 2017



Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

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

Tanggal: 23 JAN 2017

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul "**Kajian Potensi Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol *Sargassum Sp.* Melalui Metode Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan**" 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, 24 November 2016

Mahasiswa

Miftahudin

NIM.125080101111035

## UCAPAN TERIMAKASIH

Bimillahirrahmanirrahim pada kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih tersebut penulis sampaikan kepada :

1. Allah SWT karena telah menciptakan saya dan masih memberikan kesehatan, kesadaran, dan kebahagiaan hingga saat ini.
2. Bapak Slamet Solihin dan ibu Siti Ummi yang merupakan kedua orang tua tercinta serta segenap keluarga di Batang atas semua dukungan baik nasehat/masukan/kritikan maupun materil.
3. Ibu Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si dan Bapak Dr. Ir. Muhammad Musa, MS. Selaku dosen pembimbing atas bimbingannya, kesabaran serta nasehat yang diberikan.
4. Teman seperjuangan penelitian yang tidak pernah putus asa dalam melakukan penelitian (Fiing, Yoeshi, dan Ulik) sukses selalu.

## RINGKASAN

**Miftahudin.** Kajian Potensi Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol *Sargassum Sp.* Melalui Metode Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan (di bawah bimbingan **Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si** dan **Dr. Ir. Muhammad Musa, MS.**)

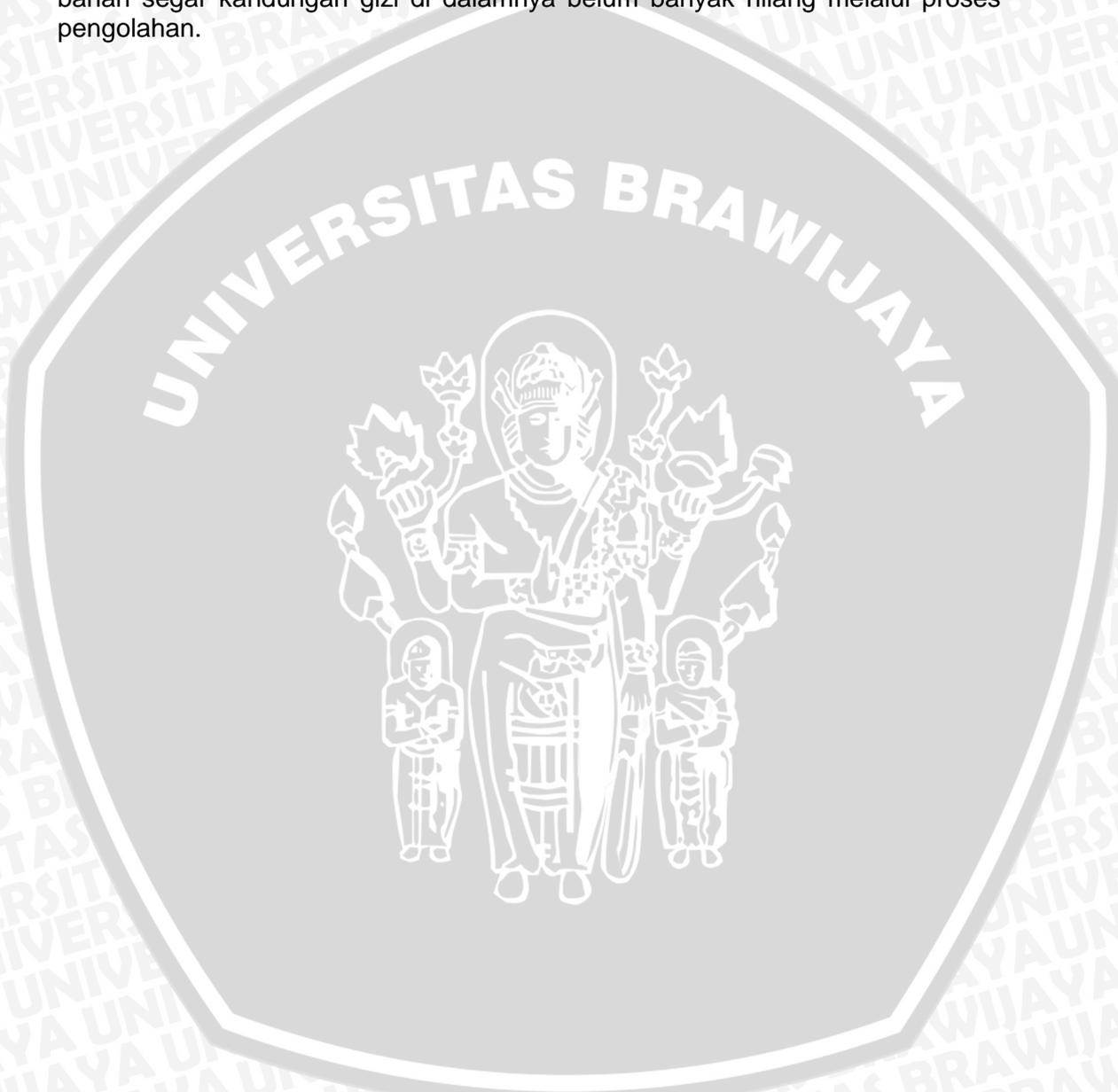
Rumput laut (*seaweed*) termasuk dalam kelompok tanaman laut yang dikenal sebagai alga (ganggang). Estimasi jumlah rumput laut yang tersebar di dunia adalah sekitar 45.000 jenis. Makroalga laut ini dikategorikan berdasarkan pigmentasinya, morfologi, anatomi dan komposisi nutrisinya, yaitu alga merah (*Rhodophyta*), alga coklat (*Phaeophyta*), dan alga hijau (*Clorophyta*). *Sargassum sp* adalah genus dari alga cokelat, rumput laut dalam ordo Fucales. Spesies ini terdistribusi di seluruh iklim dan lautan tropis dunia, di mana mereka umumnya menghuni perairan dangkal dan terumbu karang. *Sargassum* tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu, pada daerah intertidal maupun subtidal. Kandungan senyawa yang terdapat di dalam *Sargassum sp.* bermanfaat di bidang kesehatan, mikrobiologi, enzimologi, dan ekotoksikologi, sehingga tidak menutup kemungkinan bahwa *Sargassum sp.* ini juga berperan sebagai antioksidan. Kandungan polifenol yang terdapat rumput laut memiliki manfaat salah satunya adalah sebagai antioksidan sehingga diperkirakan mampu mencegah berbagai penyakit degeneratif maupun penyakit karena tekanan oksidatif, di antaranya kanker, penuaan, dan penyempitan pembuluh darah.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2016, di laboratorium Kimia Organik dan Biologi Genetika Universitas Islam Negeri Malang, dan laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya serta di UPT. Matera Medika Batu, Malang. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Sargassum sp*, mengetahui ulangan mana yang memiliki total asam askorbat tertinggi dari ekstrak *Sargassum sp*, dan mengetahui aktivitas ekstrak *Sargassum sp* sebagai antioksidan serta mengetahui nilai IC50 nya. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode deskriptif. Metode deskriptif adalah metode yang digunakan untuk melukiskan secara sistematis fakta atau karakteristik populasi tertentu atau bidang tertentu, secara aktual dan cermat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan metode DPPH. Pertama pembuatan larutan uji dan larutan senyawa pembanding, pembuatan larutan DPPH, pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas senyawa uji, pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas, senyawa pembanding masing-masing seri larutan pembanding (0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,3 ppm, 0,4 ppm, 0,5 ppm) diambil sebanyak 1,5 ml dan ditambahkan 3 ml larutan DPPH, kemudian dihomogenkan, dan diinkubasi selama 30 menit. Langkah selanjutnya diukur absorbansinya pada  $\lambda$  570 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antioksidan ekstrak rumput laut *sargassum sp* tergolong tidak aktif karena diperoleh data persamaan regresi  $y = 0,036x + 39,54$  yang didapat dari hubungan antara konsentrasi (x) dan %inhibisi (y). Persamaan tersebut kemudian digunakan untuk menentukan nilai IC50 ekstrak *Sargassum sp.*, dengan mensubstitusikan  $y = 50$ . Hasil dari perhitungan tersebut didapat nilai IC50 sampel ekstrak sebesar 283,333 ppm. Nilai IC50 tersebut tergolong tidak aktif karena  $>200$  ppm, Jadi dengan kata lain, ekstrak metanol rumput laut *Sargassum sp.* ini tidak aktif dalam menangkal radikal bebas.

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak *Sargassum sp.* tergolong sebagai antioksidan tidak aktif karena nilainya melebihi acuan yang telah ada yaitu

> 200 ppm, dapat dikatakan bahwa ekstrak *Sargassum* sp. tidak aktif dalam menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit. Sehingga saran yang dapat disampaikan sebaiknya dalam proses pengeringan dilakukan pada saat musim kemarau. Pengeringan pada saat musim hujan akan membuat ruangan untuk mengangin-anginkan rumput laut menjadi lembab, sehingga membuat rumput laut cepat kering dan berjamur yang dapat mengakibatkan rusaknya kandungan di dalamnya. Selain itu, untuk penelitian lebih lanjut diperlukan pengujian aktivitas antioksidan pada rumput laut segar, karena pada bahan segar kandungan gizi di dalamnya belum banyak hilang melalui proses pengolahan.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya kepada penulis sehingga penulis berhasil menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Kajian Potensi Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol *Sargassum Sp.* Melalui Metode Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan”**. Tujuan dibuatnya Laporan Skripsi ini adalah sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

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

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

Malang, 24 November 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kegunaan Penelitian .....	4
1.5 Waktu dan Tempat .....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Rumput Laut.....	6
2.2 Klasifikasi dan Deskripsi Sargassum Sp.....	7
2.3 Metabolit Rumput Laut .....	9
2.4 Ekstraksi Komponen Bioaktif Rumput Laut.....	10
2.5 Fitokimia.....	10
2.5.1 Alkaloid.....	12
2.5.2 Triterpenoid dan Steroid .....	13
2.5.3 Saponin .....	14
2.5.4 Fenol .....	14
2.5.5 Flavonoid.....	15
2.6 Vitamin C .....	16
2.6.1 Karakteristik Vitamin C .....	16
2.6.2 Manfaat Vitamin C.....	17
2.7 Radikal Bebas .....	17
2.8 Antioksidan.....	19
2.8.1 Manfaat Antioksidan .....	19
2.8.2 Sumber Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya.....	20
2.9 Uji Aktivitas Antioksidan .....	22
3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Materi Penelitian .....	24
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	24
3.3 Metode Penelitian.....	24
3.4 Sumber Data .....	25
3.4.1 Data Primer .....	25
3.4.2 Data Sekunder .....	25
3.5 Parameter Uji.....	25
3.6 Prosedur Penelitian .....	26
3.6.1 Preparasi Rumput Laur (Sargassum sp).....	26
3.6.2 Randemen.....	27
3.6.3 Prosedur Ekstraksi .....	27



3.6.4	Prosedur Skrining Fitokimia .....	28
3.6.5	Uji Kadar Air .....	30
3.6.6	Uji Kualitatif dan Kuantitatif Vitamin C.....	31
3.6.7	Uji Aktivitas Antioksidan.....	34
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	37
4.1	Ekstraksi .....	37
4.2	Randemen dan Kadar Air .....	38
4.3	Hasil Uji Kadar Air .....	38
4.4	Uji Spektrofotometri UV-Vis .....	40
4.5	Uji Fitokimia.....	42
4.6	Uji Kualitatif Kadar Vitamin C.....	43
4.7	Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C.....	44
4.8	Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan.....	49
4.9	Analisis Nilai %Inhibisi dan IC50.....	51
5.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	53
5.1	Kesimpulan .....	53
5.2	Saran .....	53
	DAFTAR PUSTAKA.....	54
	LAMPIRAN .....	59



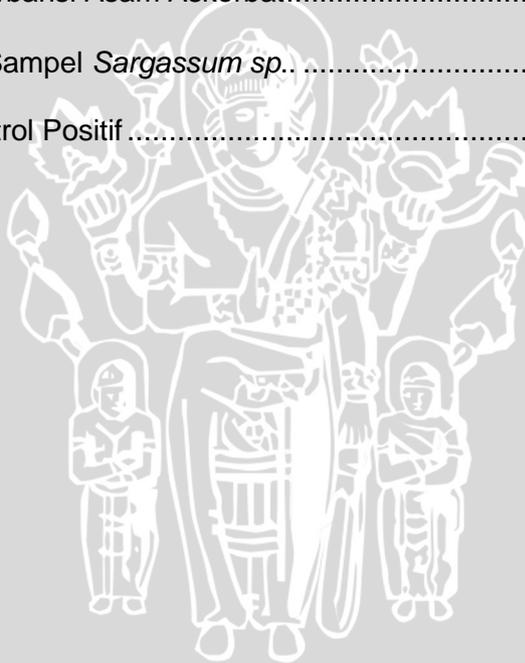
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Randemen dan Kadar Air Ekstrak <i>Sargassum sp.</i> .....	38
2. Hasil Uji Kadar Air Rumput Laut ( <i>Sargassum sp.</i> ).....	39
3. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal.....	41
4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Rumput Coklat <i>Sargassum sp.</i> .....	43
5. Absorbansi Vitamin C.....	45
6. Absorbansi Sampel.....	46
7. Hasil Absorbansi Vitamin C Dalam Sampel.....	48
8. Hasil Akhir Aktivitas Antioksidan.....	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sargassum Sp (Dokumen Pribadi,2016).....	8
2. Gambaran Parameter Uji.....	26
3. Tahapan Penelitian.....	27
4. Hasil Ekstrak Sargassum sp.....	37
5. Grafik Panjang Gelombang Maksimal 200-400 nm.....	41
6. Dokumentasi Hasil Uji Kualitatif Vitamin C.....	44
7. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat.....	47
8. Grafik Antioksidan Sampel <i>Sargassum sp.</i> .....	49
9. Grafik Aktivitas Kontrol Positif.....	50



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut merupakan salah satu komoditas laut yang penting, serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia. Tumbuhan ini bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun bukan makanan (industri kosmetik, tekstil dan farmasi), untuk memenuhi permintaan dalam negeri maupun luar negeri (Indriani dan Sumiarsih, 1992).

Salah satu spesies rumput laut yaitu *Sargassum sp* banyak dimanfaatkan penduduk pantai untuk sayur dan lalapan. Manfaat rumput laut sebagai bahan pangan sudah lama diketahui. Secara umum, *Sargassum sp* merupakan salah satu rumput laut yang sangat potensial sedangkan pemanfaatannya masih belum banyak dilakukan.

Akhir-akhir ini penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan. Antioksidan diketahui dapat menghambat kerja radikal bebas. Sebagai salah satu upaya untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam laut Indonesia, maka dalam penelitian ini dilakukan pengujian sebagai tahap awal mengukur potensi aktivitas antioksidan ekstrak metanol rumput laut *Sargassum sp*.

Aktivitas antioksidan dari senyawa aktif yang terkandung di dalam *Sargassum sp*. dapat dilakukan dengan cara pemisahan komponen kimia berupa metabolit sekunder melalui proses ekstraksi. Ekstraksi adalah sebuah kegiatan pencarian kandungan kimia dengan pelarut yang dapat melarutkan dan memisahkan kandungan kimia tersebut dari bahan yang tidak larut. Ekstraksi ada beberapa cara, tetapi pada penelitian ini metode digunakan yaitu maserasi. Maserasi adalah sebuah kegiatan perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan (Khiong, 2007). Sesuai dengan

pendapat Heinrich (2004) dalam Istiqomah (2013), bahwa metode maserasi memiliki keuntungan dibandingkan dengan metode lainnya. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan alami yang terkandung tetap terjaga dan memungkinkan banyak senyawa yang terekstraksi.

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti etanol, metanol, etil asetat, heksana dan air mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Sudarmadji *et al.*, 1989) sehingga akan mempengaruhi sifat fisikokimia ekstrak yang dihasilkan. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, 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 (Harborne, 1987 dalam Ika, 2013).

Pengaruh penggunaan pelarut dan jenis metode ekstraksi terhadap kandungan rumput laut dilakukan dengan menggunakan metode fitokimia. Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam tiap pelarut dari ekstrak tanaman. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon, sedangkan untuk mengetahui kadar fenol dan flavonoid digunakan metode spektrofotometri uv-vis. Menurut Sabrina *et al.* (2011), spektrofotometri uv-vis merupakan salah satu metode analisis yang memiliki prinsip spektrofotometri dan merupakan proses pengukuran dalam tahapan

analisis baik kualitatif maupun kuantitatif, sehingga dapat diketahui kandungan dan kadar suatu senyawa.

Aktivitas senyawa aktif sebagai antioksidan dari Alga cokelat (*Sargassum sp.*) akan diketahui menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode DPPH ini dilakukan dengan menggunakan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009).

## 1.2 Rumusan Masalah

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam *Sargassum sp.* bermanfaat di bidang kesehatan, mikrobiologi, enzimologi, dan ekotoksikologi, sehingga tidak menutup kemungkinan bahwa *Sargassum sp.* ini juga berperan sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki kaitan erat dengan imunitas, karena dengan adanya antioksidan keseimbangan oksidan di dalam tubuh tetap terjaga dalam menangkal radikal bebas dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan berfungsinya sistem imun tubuh. Dapat dikatakan bahwa dengan pemberian antioksidan maka struktur dan fungsi sel didalam tubuh menjadi terhindar dari radikal bebas atau penyakit dan sistem imun menjadi semakin meningkat. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan terhadap *Sargassum sp.* Dari uraian yang telah disebutkan di atas dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apa saja golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Sargassum sp.*

2. Dari ekstrak *Sargassum sp* ulangan manakah yang memiliki total asam askorbat tertinggi?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak *Sargassum sp* dari pelarut metanol dan berapa nilai  $IC_{50}$  nya?

### 1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah sebagai prasarat dalam menempuh pendidikan untuk jenjang sarjana dan juga sebagai bentuk aplikasi dari ilmu akademis yang telah diperoleh selama proses perkuliahan.

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Sargassum sp*.
2. Mengetahui ulangan mana yang memiliki total asam askorbat tertinggi dari ekstrak *Sargassum sp*.
3. Mengetahui aktivitas ekstrak *Sargassum sp* sebagai antioksidan serta mengetahui nilai  $IC_{50}$ nya.

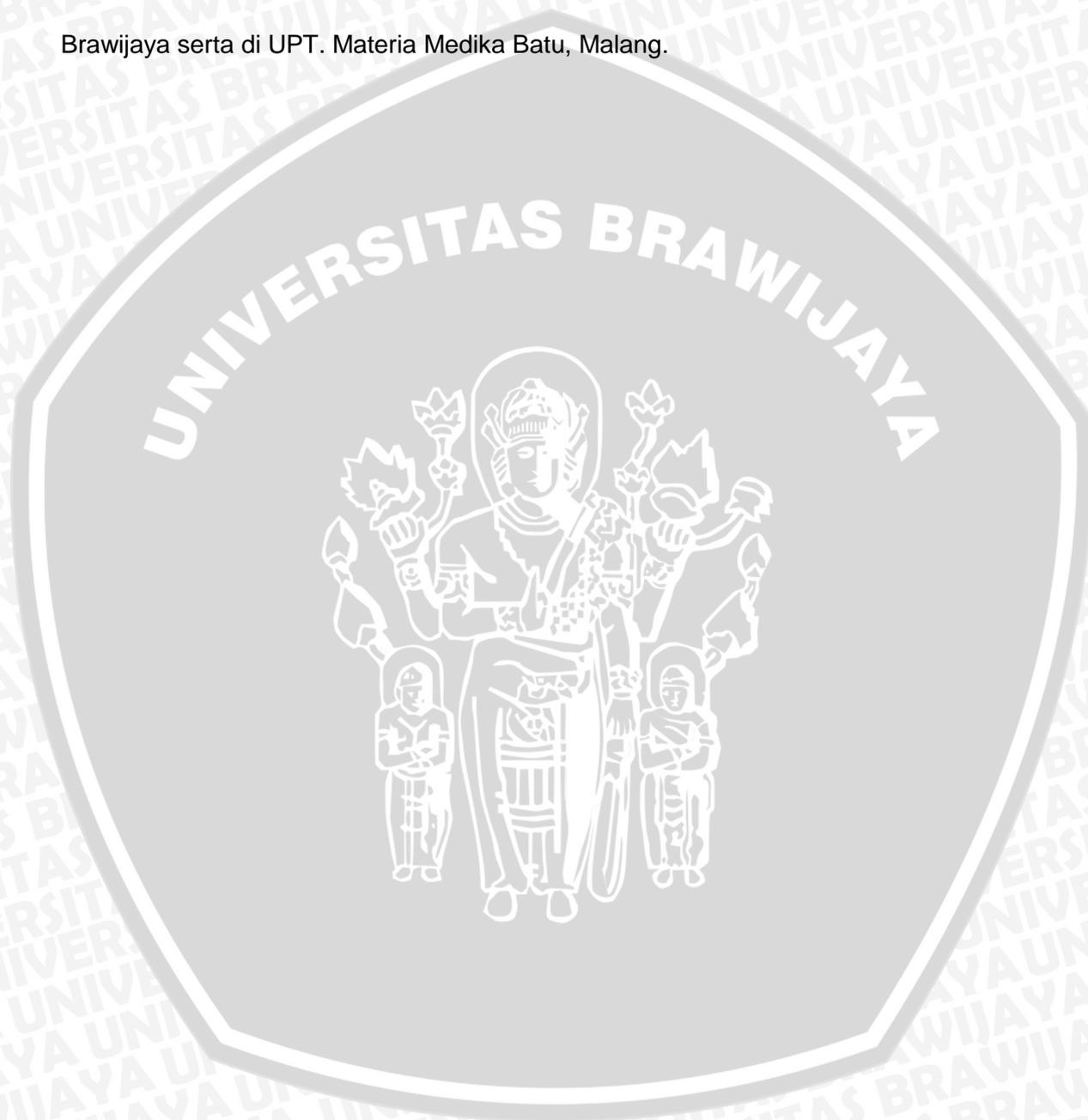
### 1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat berguna bagi :

1. Praktisi  
Sebagai informasi pendukung mengenai potensi *Sargassum sp* sebagai antioksidan yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan terhadap penyakit.
2. Akademis  
Memberikan informasi potensi senyawa aktif *Sargassum sp* sebagai antioksidan sehingga dapat digunakan dalam pengembangan ilmu bioteknologi kelautan.

### 1.5 Tempat dan Waktu

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2016, di laboratorium Kimia Organik dan Biologi Genetika Universitas Islam Negeri Malang, dan laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya serta di UPT. Matera Medika Batu, Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rumput Laut

Rumput laut merupakan tumbuhan laut jenis alga, masyarakat Eropa mengenalnya dengan sebutan seaweed. Tanaman ini adalah ganggang multiseluler golongan divisi thallophyta. Berbeda dengan tanaman sempurna pada umumnya, rumput laut tidak memiliki akar, batang dan daun. Jika kita amati jenis rumput laut sangat beragam, mulai dari yang berbentuk bulat, pipih, tabung atau seperti ranting dahan bercabang-cabang. Rumput laut biasanya hidup di dasar samudera yang dapat tertembus cahaya matahari. Seperti layaknya tanaman darat pada umumnya, rumput laut juga memiliki klorofil atau pigmen warna yang lain. Warna inilah yang menggolongkan jenis rumput laut. Secara umum, rumput laut yang dapat dimakan adalah jenis ganggang biru (*cyanophyceae*), ganggang hijau (*chlorophyceae*), ganggang merah (*rodophyceae*) atau ganggang coklat (*phaeophyceae*) (Yudhi, 2009). Rumput laut selama ini dimanfaatkan sebagai makanan untuk manusia. Akan tetapi, dengan semakin banyaknya kemajuan ilmu pengetahuan, pemanfaatan rumput laut sudah digunakan juga sebagai bahan baku pada industri obat-obatan, tekstil, minuman, kosmetik, pasta gigi dan sebagainya (Indriani dkk., 2003).

Menurut Shanab (2007), dalam bidang kesehatan kandungan polifenol yang terdapat rumput laut memiliki manfaat salah satunya adalah sebagai antioksidan sehingga diperkirakan mampu mencegah berbagai penyakit degeneratif, di antaranya kanker, penuaan, dan penyempitan pembuluh darah. Salah satu jenis rumput laut yang berperan sebagai antioksidan adalah *Phaeophyceae*. *Phaeophyceae* menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi diantara *Rhodophyceae* dan *Chlorophyceae*. *Phaeophyceae* di daerah tropis memproduksi metabolit sekunder lebih baik sebagai suatu sistem proteksi terhadap radiasi sinar

UV (*ultra violet*). Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan yang dihasilkan oleh *Phaeophyceae* (Putranti, 2013). Beberapa dari jenis *Phaeophyceae* yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan salah satunya adalah *Sargassum sp*, oleh karena itu spesies tersebut dalam berbagai pemanfaatannya juga berperan dalam bidang kesehatan.

## 2.2 Klasifikasi dan Deskripsi *Sargassum sp*.

*Sargassum sp* adalah genus dari alga cokelat, rumput laut dalam ordo *Fucales*. Spesies ini terdistribusi di seluruh iklim dan lautan tropis dunia, di mana mereka umumnya menghuni perairan dangkal dan terumbu karang. *Sargassum sp* tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu, pada daerah intertidal maupun subtidal. Pada umumnya *Sargassum sp* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, terutama di daerah rata-rata pasir (*sand flat*). Zat yang dapat diekstraksi dari *Sargassum sp* berupa alginat yaitu suatu garam dari asam alginik yang mengandung ion sodium, kalsium dan barium (Aslan, 1991). *Sargassum sp* adalah jenis alga cokelat yang mempunyai talus bercabang seperti jari dan merupakan tanaman perairan yang berwarna cokelat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat. Bagian atas tanaman menyerupai semak yang berbentuk simetris bilateral atau radial serta dilengkapi dengan bagian-bagian untuk pertumbuhan (Atmadja *et al.* 1996).

Spesies dari genus ganggang ini dapat tumbuh dengan panjang beberapa meter, mereka umumnya berwarna coklat atau gelap warna hijau dan terdiri dari holdfast, sebuah Stipe, dan frond. Memiliki tekstur yang lengket kasar dengan tubuh yang kuat tetapi fleksibel, membantu *Sargassum sp* untuk menahan arus air yang kuat. *Sargassum sp* memiliki thallus berbentuk silindris atau gepeng, banyak percabangan yang menyerupai pepohonan di darat, bentuk daun melebar, lonjong

atau seperti pedang, memiliki gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter (Guiry, 2008). Komposisi kimia dan pigmen yang terdapat pada rumput laut cokelat merupakan hasil dari fotosintesis yang jumlahnya sangat bervariasi, tergantung pada jenis, masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuh. Senyawa kimia terbanyak yang terdapat pada rumput laut cokelat adalah alginat, dalam jumlah sedikit terdapat pula laminaran, fukoidon, selulosa, manitol, dan senyawa bioaktif lainnya (Yunizal 2004).

Klasifikasi dari *Sargassum sp.* menurut Wardani (2008) adalah :



**Gambar 1.** *Sargassum Sp* (Dokumen Pribadi,2016)

Devisi	: <i>Phaeophyta</i>
Kelas	: <i>Phaeophyceae</i>
Sub kelas	: <i>Chcosporeae</i>
Bangsa	: <i>Fucales</i>
Suku	: <i>Sargassaceae</i>
Marga	: <i>Sargassum</i>
Jenis	: <i>Sargassum sp</i>

Ciri-ciri umum dari *Sargassum* ini adalah bentuk thallus umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, oval, atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya

soliter, ukuran panjang umumnya mencapai 3-7 meter, warna thallus umumnya coklat (Aslan, 1991). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh 3 sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Dawes, 1981; Tjitrosoepomo, 2005).

*Sargassum* sp. telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas, dan lain sebagainya. Hasil ekstraksi *Sargassum* sp. berupa *alginat* banyak digunakan industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pastel isi, dan kue. *Sargassum* sp. juga telah dimanfaatkan di bidang farmasi. (Poncomulyo, 2006). *Sargassum* sp yang berasal dari Indonesia kandungan *alginat* sebesar 20 % - 27 %. Secara fisika dan kimia *alginat* merupakan senyawa polimer yang bersifat koloid, membentuk gel, bersifat hidrofilik. *Alginat* juga diketahui memiliki kemampuan berikatan dengan senyawa polyvalen yang memiliki viskositas yang lebih baik dengan kekuatan gel yang lebih baik pula. Kemampuan berikatan dengan ion-ion ini pula merupakan salah satu sifat dasar dalam pengembangan berbagai macam pemanfaatan alginat (Rachmat, 1999).

### 2.3 Metabolit Rumput Laut

*Metabolit* diklasifikasikan menjadi 2, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer dibentuk dalam jumlah terbatas dan digunakan untuk pertumbuhan dan kehidupan organisme (Nofiani, 2008). Metabolit primer rumput laut adalah senyawa polisakarida hidrokoloid seperti karagenan, agar dan alginat (Chapman, 1970; Bhat *et al.*, 2009). Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim atau dari ancaman predator. Metabolit sekunder tidak digunakan untuk

pertumbuhan dan dibentuk dari metabolit primer pada kondisi stress (Nofiani, 2008; Bhat *et al.*, 2009). Metabolit sekunder biasanya dalam bentuk senyawa bioaktif.

Metabolit sekunder rumput laut merupakan senyawa bioaktif yang terus dimanfaatkan dan dikembangkan di berbagai bidang. Seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, penerapan metode ekstraksi dapat digunakan untuk mengisolasi metabolit sekunder dari rumput laut. Hal ini mendorong meluasnya pemanfaatan metabolit sekunder rumput laut di bidang farmasi, seperti antibakteri, antioksidan dan antikanker (Prajitno, 2006). Sifat metabolit sekunder sebagai alat pertahanan diri organisme laut ternyata mempunyai potensi yang sangat besar sebagai sumber bahan obat berbagai penyakit (Winston, 1988; Cragg *dkk.*, 1997).

#### **2.4 Ekstraksi Komponen Bioaktif Rumput Laut**

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 (Harborne, 1987). Ada beberapa metode umum ekstraksi yang sering dilakukan, yaitu ekstraksi dengan pelarut (maserasi), destilasi, *supercritical fluid extraction* (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi (Gritter *et al.*, 1991), serta secara enzimatik (Tahezadeh and Karimi, 2007; Hammed *et al.*, 2013). Destilasi dan ekstraksi dengan pelarut merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan untuk mendapatkan komponen bioaktif (Gritter *et al.*, 1991).

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti larut dalam eter, kloroform dan n-heksana (Gritter *et al.*, 1991).

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 (Harborne, 1987).

Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, 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 (Harborne, 1987).

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. Metode ini berguna bila kita bekerja dengan skala gram. Sedangkan ekstraksi tunggal dilakukan dengan cara merendam sampel dengan satu 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). Prinsip ekstraksi adalah zat yang akan diekstrak hanya dapat larut dalam pelarut yang digunakan, sedangkan zat lainnya tidak akan larut. Proses perpindahan komponen bioaktif dari dalam bahan ke pelarut terjadi secara difusi. Proses difusi merupakan perubahan secara spontan dari fase yang memiliki konsentrasi lebih tinggi menuju konsentrasi lebih rendah (Danesi 1992).

## 2.5 Fitokimia

Fitokimia adalah suatu disiplin ilmu yang bidangnya adalah aneka ragam senyawa organik yang dibentuk oleh tumbuhan meliputi struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebaran secara ilmiah dan fungsi biologisnya. Setiap tahap pengerjaan fitokimia merupakan bagian integral dari seluruh rangkaian pengerjaan dan merupakan aspek yang berhubungan. Hasil setiap tahap berkaitan satu sama lain, oleh karenanya harus dilakukan dengan cara yang tepat dan teknik yang benar.

Kajian fitokimia meliputi uraian 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; Sirait, 2007). Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harborne, 1987).

Penapisan fitokimia dimulai dengan pengumpulan sampel sebanyak mungkin. Oleh karena kegiatan ini memakan waktu cukup lama maka penapisan fitokimia memegang peranan terbesar dari kegiatan kimia bahan alam. Sekalipun kegiatan ini bertitik tolak pada daya tarik kimiawi, hal ini tidaklah mengurangi manfaat hasil penelitian. Spesies-spesies yang telah dianalisis secara fitokimia akan diinventarisasi untuk ditelaah lebih lanjut mengenai struktur kimia senyawa-senyawa aktifnya (Farnsworth, 1966 dan Lajis, 1985).

### 2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu

atau 2 atom nitrogen (Harborne, 1987; Bhat *et al.*, 2009). Alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan untuk pengobatan (Harborne, 1987). Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid (Sirait, 2007). Alkaloid tidak mempunyai tata nama sistematis, oleh karena itu, suatu alkaloid dinyatakan dengan nama trivial yang berakhiran -in (Lenny, 2006). Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalau dan penarik serangga (Harborne, 1987).

### 2.5.2 Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Harborne, 1987).

Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4 cincin yang saling bergabung (Lehninger, 1982; Bhat *et al.*, 2009). Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunan esternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar. Sedangkan pada membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterol yang hanya terdapat dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan 23 (Lehninger, 1982; Bhat *et al.*, 2009).

Bhat *et al.* (2009) mengklasifikasikan sterol menjadi beberapa golongan sebagai berikut :

- a. Zoosterol, merupakan sterol yang terdapat pada hewan. Contoh  $5\alpha$ -cholestan- $3\beta$  cholestan- $3\beta$ -ol.
- b. Fitosterol, merupakan sterol yang terdapat pada tumbuhan. Contoh stigmasterol.
- c. Mycoosterol, merupakan sterol yang ditemukan pada yeast dan fungi. Contoh mycoosterol.

### 2.5.3 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan suatu ekstrak (Harborne, 1987).

### 2.5.4 Fenol

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Senyawa fenol biasanya dapat ditemukan dalam berbagai macam jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007).

Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya. Misalnya lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin yaitu sebagai pigmen. Namun beberapa

lainnya hanya sebatas dugaan sementara yang belum diketahui. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana yaitu : orsinol, 4-metilresolsinol, 2- metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogallol dan floroglusinol. Sedangkan contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987; Apak *et al.*, 2007).

### 2.5.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang 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 (Sirait, 2007; Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).

Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen ini merupakan antraktan bagi serangga dan merupakan agen polinasi. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan (Bhat *et al.*, 2009). Bagi manusia, flavon dalam

dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler, sebagai diuretic dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

## 2.6 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu antioksidan yang saat ini banyak digunakan di dunia kesehatan, vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Menurut Davey (2006), keberadaan vitamin C pada tumbuhan berada dalam jumlah yang besar. Fungsi vitamin C bagi tumbuhan adalah sebagai agen antioksidan yang dapat menetralkan singlet oksigen yang sangat reaktif, berperan dalam pertumbuhan sel, berfungsi seperti hormon, dan ikut berperan dalam proses fotosintesis. Pendapat lainnya oleh Kurniawan (2010), menyatakan bahwa tumbuhan melakukan pembentukan vitamin C sebagai antioksidan untuk membentuk mekanisme pertahanan tubuh terhadap kondisi tekanan lingkungan seperti polutan.

### 2.6.1 Karakteristik Vitamin C

Menurut Martiningsih (2014), vitamin C larut dalam air dan memiliki peranan penting dalam menangkal berbagai penyakit. Vitamin C termasuk ke dalam golongan vitamin yang mampu menangkal berbagai radikal bebas ekstraseluler. Karakteristiknya antara lain sangat mudah teroksidasi oleh panas, cahaya, dan logam. Pendapat Safaryani *et al.*, (2007), mengatakan bahwa asam askorbat bersifat sangat sensitif terhadap pengaruh luar yang dapat menyebabkan kerusakan seperti suhu, oksigen, kadar air dan katalisator logam. Asam askorbat mudah teroksidasi menjadi L-dehidroaskorbat yang masih mempunyai keaktifan sebagai vitamin. Asam L-dehidroaskorbat secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan vitamin C.

### 2.6.2 Manfaat Vitamin C

Vitamin C berperan penting dalam menangkal berbagai penyakit. Menurut Taylor (1993) dalam Wardani (2008), vitamin C efektif dalam mengatasi radikal bebas yang merusak sel atau jaringan, selain itu vitamin ini juga berguna dalam melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi sehingga dapat digunakan untuk pencegahan terhadap penyakit katarak. Menurut Winarsi (2007) dalam Putranti (2013), vitamin C meningkatkan fungsi imun dengan cara menstimulasi produksi interferon (protein yang melindungi sel dari serangan virus). Interferon adalah salah satu sitokin yang dihasilkan karena adanya komunikasi sel yang baik dan untuk tetap menjaga komunikasi tersebut tetap baik maka diperlukan sel imun yang sehat dengan membrane sel yang utuh. Manfaat lain dari vitamin C adalah meningkatkan sintesa kolagen yang dapat menjaga kesehatan kulit, dimana kulit merupakan perlindungan pertama terhadap masuknya benda asing sehingga mencegah terjadinya infeksi.

### 2.7 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan (Winarsi, 2007). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Radikal bebas erat kaitannya dengan kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel, yaitu protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. Asam lemak tak jenuh adalah yang paling rentan. Radikal bebas akan merusak lemak tak jenuh ganda pada

membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak pembuluh darah dan menimbulkan aterosklerosis. Radikal bebas juga merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetika dan membentuk sel kanker. Jaringan lipid juga akan dirusak oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya dapat menyebabkan reaksi berantai dan kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Hal ini akan menimbulkan kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif hingga kanker. Berbagai gangguan akibat kerja radikal bebas adalah gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul yang tidak teridentifikasi oleh sistem imun bahkan mutasi. Semua gangguan tersebut memicu timbulnya berbagai macam penyakit (Sadikin, 2001 *dalam* Winarsi, 2007).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan reaksi radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas, tahap propagasi merupakan pemanjangan rantai dan tahap terminasi merupakan bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan cara (Winarsi, 2007) : Mencegah (*prevention*) atau menghambat (*inhibition*) pembentukan radikal bebas baru. Menginaktivasi (*inactivation*) atau menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) dan memotong propagasi (pemutusan rantai) Memperbaiki (*repaire*) kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas

Antioksidan merupakan substansi penting yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredamnya. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi

dan menghambat timbulnya penyakit seperti halnya degenerative yang berakibat penuaan (Winarsi,2007).

## 2.8 Antioksidan

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan/reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Tamat *et al.* (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan.

Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan yang diproduksi secara kontinyu untuk menangkal atau meredam radikal bebas, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Bila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan alami dalam tubuh maka radikal bebas akan menyerang komponen lipid, protein dan DNA. Sehingga tubuh kita membutuhkan asupan antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas tersebut (Wardani, 2008).

### 2.8.1 Manfaat Antioksidan

Antioksidan penting untuk kesehatan dan kecantikan serta mempertahankan mutu produk pangan. Di bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.* 2007). Antioksidan juga

mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).

Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007).

Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga dapat digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan. Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan yang memproduksi asam, aroma tak sedap dan toksik selama proses pengolahan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi mutu dan keamanan produk pangan (Heo *et al.*, 2005).

### **2.8.2 Sumber Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya**

Berdasarkan mekanisme kerja dan sumbernya, antioksidan diklasifikasikan menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier. Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan endogenus, yaitu antioksidan yang diproduksi secara alami dan kontinue oleh tubuh. Antioksidan primer merupakan jenis antioksidan enzimatis, yaitu mampu memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas ini

menjadi lebih stabil. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007). Contoh antioksidan primer adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH) (Winarsi, 2007).

Antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan eksogenus atau antioksidan non-enzimatis, yaitu antioksidan yang tidak diproduksi secara alami oleh tubuh dan didapatkan dari asupan makanan maupun minuman. Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalamnya adalah vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, asam lipoat, bilirubindan albumin, likopen dan klorofil (Winarsi, 2007). Antioksidan sintetik dibuat dari bahan-bahan kimia antara lain *butylated hydroxyanisol* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Heo *et al.*, 2005).

Antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-*repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-basa (Winarsi, 2007).

## 2.9 Uji Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Badarinath *et al.*, 2010).

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009). Pada metode lain selain *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010).

Pada metode ini, larutan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004). Pengukuran

aktivitas antioksidan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) adalah dengan nilai IC50 (*Inhibitor Concentration*). IC50 merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm ( $IC_{50} < 50$  ppm), kuat ( $50 \text{ ppm} < IC_{50} < 100$  ppm), sedang ( $100 \text{ ppm} < IC_{50} < 150$  ppm), lemah ( $150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200$  ppm), dan sangat lemah ( $IC_{50} > 200$  ppm).



## MATERI DAN METODE PENELITIAN

### 3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini meliputi kandungan vitamin C total, %inhibisi yaitu prosentase antioksidan dalam menghambat radikal bebas, dan IC50 (*inhibition concentration 50%*) yang merupakan aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas sebesar 50%.

### 3.2 Alat dan Bahan 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.

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 laut (*Sargassum sp*) yang diperoleh dari Madura. Bahan-bahan penunjang dapat dilihat pada Lampiran 1

### 3.3 Metode Penelitian

Metode pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif yaitu metode yang digunakan untuk melukiskan secara sistematis fakta atau karakteristik populasi tertentu atau bidang tertentu, secara aktual dan cermat. Menurut Suryana (2010), metode deskriptif yaitu metode yang digunakan untuk mencari unsur-unsur, ciri-ciri, sifat-sifat suatu fenomena atau permasalahan yang ada. Pelaksanaan metode deskriptif ini tidak terbatas pada penyusunan data maupun pengumpulan data, tetapi meliputi analisis dan pembahasan tentang data tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan

gambaran secara umum, sistematis, aktual dan valid mengenai fakta dan sifat-sifat populasi tempat tersebut. Sedangkan, data adalah suatu informasi atau keterangan mengenai suatu hal yang berkaitan dengan tujuan penelitian.

### 3.4 Sumber Data

Pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan mengambil dua macam data yaitu data primer dan data sekunder.

#### 3.4.1 Data Primer

Data primer adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh peneliti secara langsung dari sumber data utama. Data primer disebut juga sebagai data asli atau data baru yang memiliki sifat *up to date*. Untuk mendapatkan data primer, peneliti harus mengumpulkannya secara langsung. Teknik yang dapat digunakan peneliti untuk mengumpulkan data primer antara lain observasi, wawancara, dan penyebaran kuesioner (Aedi, 2010).

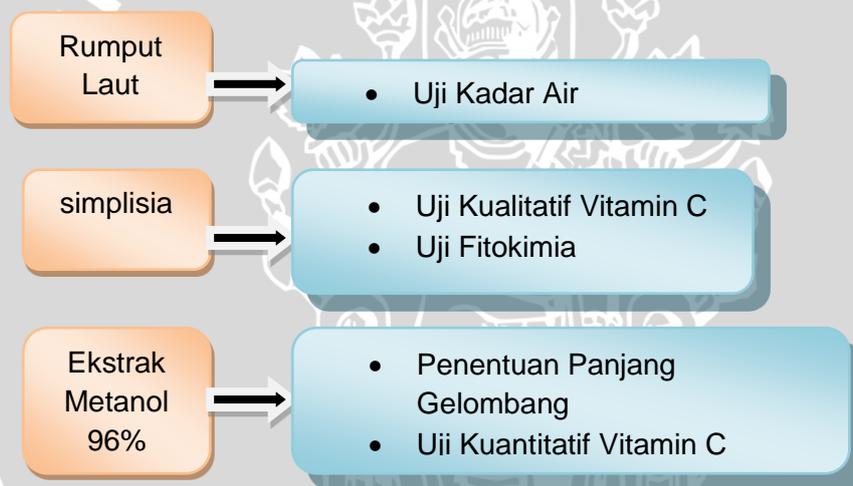
#### 3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data atau informasi yang dikumpulkan dan dilaporkan oleh seseorang untuk suatu tujuan tertentu maupun sebagai pengetahuan ilmiah. Menurut Hartono (2014), data sekunder ini digunakan oleh peneliti untuk diproses lebih lanjut. Data ini bisa diperoleh dari pihak lain seperti kepustakaan, majalah, tabloid, atau media masa lainnya seperti internet, arsip, refrensi lain yang dapat mendukung penelitian. Data sekunder didalam penelitian ini didapatkan dari laporan, jurnal, buku, situs internet serta kepustakaan yang dapat menunjang dari penelitian

### 3.5 Parametr Uji

Parameter uji meliputi parameter uji kualitatif dan kuantitatif. Parameter Kualitatif lebih menekankan 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 Rumput Laut (*Sargassum sp.*)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut jenis *Sargassum sp.* yang berasal dari Madura. *Sargassum sp.* yang diambil masih segar lalu dipisahkan ke dalam kantong plastik hitam dan ditimbang, kemudian dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan selama 2 minggu, suhu antara 23<sup>0</sup> – 27<sup>0</sup> C lalu digiling menjadi simplisia.

### 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 laut (*Sargassum sp*) 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 :

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

### 3.6.3 Prosedur Ekstraksi

Senyawa yang terkandung pada tumbuhan dapat dihasilkan melalui proses ekstraksi. Ekstraksi 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 laut (*Sargassum sp*) 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 metanol. Metanol 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 Skrining Fitokimia

Proses skrining fitokimia dilakukan melihat bahan kimia yang ini diketahui hasil positif atau negatifnya. Bahan kimia hasil skrining fitokimia meliputi flavonoid,

terpenoid, alkanoid, fenol dan saponin. Bahan yang di uji dalam bentuk Simplisia (Harborne, 1987). Skema dari fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### a. Uji Alkaloid

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 care 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.

#### b. Pemeriksaan Saponin

Langkah-langkah dalam uji saponin 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.

#### c. Pemeriksaan Tanin

Langkah-langkah dalam uji tanin 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.

#### **d. Pemeriksaan 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 pelarut 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.

#### **e. Pemeriksaan 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

#### **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 4.

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

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 (*Sargassum sp*). Skema dari uji kualitatif 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  $\text{KMnO}_4$  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  $\mu\text{m}$  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 $\mu$ l pada 4 ppm, 800 $\mu$ l pada 8 ppm, 1200 $\mu$ l pada 12 ppm, 1600 $\mu$ 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  $y = a + bx$ .

### 3.6.7. Uji Aktivitas Antioksidan

Proses uji antioksidan ekstrak rumput laut (*Sargassum sp*) 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 IC<sub>50</sub>. 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 metanol 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 $\mu$ l pada 100ppm, 1000 $\mu$ l pada 200ppm, 2000 $\mu$ l pada 400ppm, 4000 $\mu$ 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 $\mu$ l pada 5ppm, 200 $\mu$ l pada 10ppm, 300 $\mu$ l pada 15ppm, 400 $\mu$ l pada 20ppm pada tabung reaksi.
6. Menambahkan aquabides sebanyak 10 ml pada masing-masing konsentrasi.
7. Menutup tabung reaksi dengan *aluminium 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 *aluminium 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 inkubator.
5. Mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
6. Menghitung % Inhibisi.
7. Menghitung persamaan  $y = a + bx$ .



#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Ekstraksi

Hasil maserasi dalam proses ekstraksi rumput laut *Sargassum sp* memiliki warna hijau kehitaman yang pekat. 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 kehitaman dengan bau yang khas.



Gambar 4. Hasil Ekstrak *Sargassum sp*  
(Dokumen Peibadi)

Hasil ekstrak rumput laut *Sargassum sp* 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 Randeman dan Kadar Air

Hasil pada penelitian ini didapatkan 3 randemen yaitu randemen *Sargassum sp* kering, simplisia dan hasil ayakan. Berikut tabel 1. Hasil randemen pada penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 1. Hasil Randemen rumput laut *Sargassum sp*

<i>Sargassum sp.</i>	Berat (kg)	Randemen (%)
Basah	90,9	-
Kering	12,62	13,88
Simplisia	9,59	75,99
Hasil Ayakan	6,15	64,13

Berdasarkan hasil data randemen diatas didapat nilai randemen kering 13,88%, rendemen simplisia 75,99% dan rendemen hasil ayakan sebesar 64,13% sehingga didapatkan rata-rata rendemen sebesar 51,33%. 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 mengindikasi banyaknya metabolit sekunder yang terdapat pada sampel tetapi dapat mengindikasi tingkat keawatean 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 Wati (2010), pemilihan pelarut untuk ekstraksi cukup berpengaruh pada rendemen yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan pelarut yang berbeda akan mengekstrak atau mengisolasi senyawa yang berbeda pula tergantung kepolarannya, seperti prinsip *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non-polar.

#### 4.3 Hasil Uji Kadar Air

Hasil uji kadar air pada rumput laut (*Sargassum sp*) dapat dilihat pada Tabel 2. sedangkan hasil perhitungan terdapat pada Lampiran 9.

Tabel 2. Hasil Uji Kadar Air Rumput Laut (*Sargassum sp*)

Berat Cawan (A)	Berat Sampel	Berat Cawan+Sampel Sebelum Oven(B)	Berat Cawan+Sampel Sesudah Oven (C)	%Kadar Air
42,9189 gr	2,0331 gr	44,952 gr	44,3778 gr	28,2425

Dari Tabel. 2 diatas didapatkan hasil kadar air rumput merah (*Sargassum sp*) yaitu sebesar 28,2425%. 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 berpengaruh terhadap tingkat keawetan suatu bahan. 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

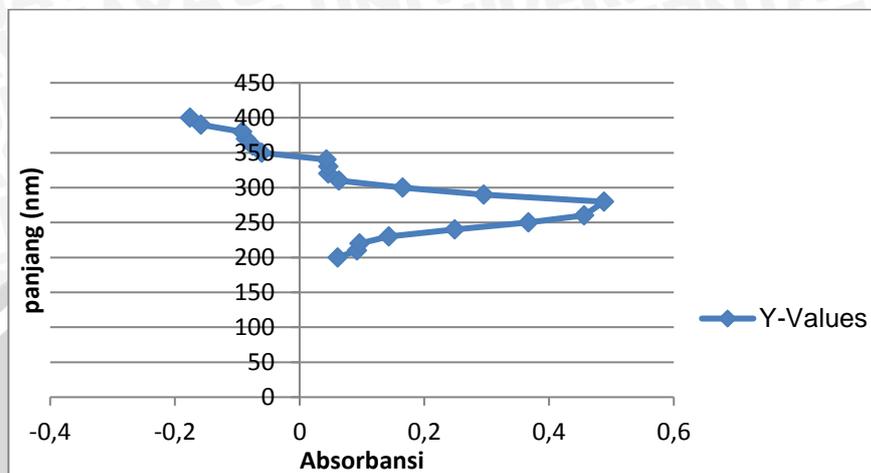
basah) atau 12-25% persen basis kering atau kadar air basis kering (Winarno, 2004). Menurut Widyartini *et al.* (2012), kandungan air dalam rumput laut mempengaruhi daya tahan rumput laut terhadap serangan mikroba. Suatu produk dengan kadar air tinggi berpotensi mengalami kerusakan lebih cepat dibanding dengan kadar air rendah.

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

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 3. 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 absorbansi maksimum dari suatu unsur senyawa. Pergeseran panjang gelombang ke arah lebih pendek atau ke arah 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 9.

#### 4.5 Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut *Sargassum sp* memiliki hasil positif uji fitokimia untuk senyawa alkaloid, saponin, tanin, terpenoid (triterpenoid), serta memiliki hasil negatif untuk uji fitokimia untuk senyawa flavonoid. Hasil pengujian fitokimia pada ekstrak rumput coklat *Sargassum sp* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Rumpuk coklat *Sargassum sp*

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

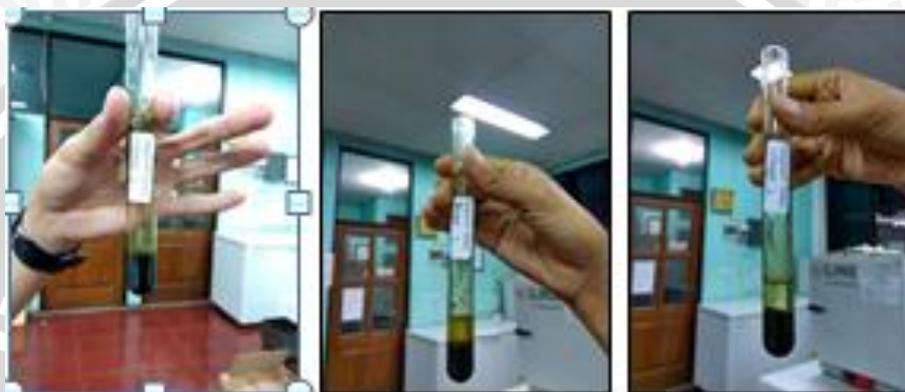
Tanda (-) : Tidak terkandung senyawa dan tidak terdapat bercak warna

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 alkaloid, tanin, saponin dan triterpenoid. Dalam analisis ini, ekstrak rumput laut *Sargassum sp* terbukti mengandung senyawa aktif metabolit sekunder.

#### 4.6 Uji Kualitatif Kadar Vitamin C

Analisis vitamin C secara kualitatif bertujuan untuk mengetahui positif atau negatif kandungan vitamin C. Rumput laut coklat (*Sargassum sp*) 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 *Sargassum sp* 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 coklat maka pada ekstrak *Sargassum sp* positif mengandung antioksidan. Hasil uji vitamin C secara kualitatif rumput laut

*Sargassum sp* dengan pelarut mentanol 96% memiliki warna coklat, hal ini sesuai pernyataan Wardani (2012), bahwa reaksi asam askorbat dapat mereduksi ion permanganat karena permanganat 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 6.



Gambar 6. Dokumentasi Hasil Uji Kualitatif Vitamin C

Berdasarkan gambar terlihat bahwa ekstrak *Sargassum sp.* yang telah ditetesi cairan  $KMNO_4$  mengalami perubahan warna menjadi coklat gelap. Hal ini menandakan bahwa ekstrak *Sargassum sp.* ini mengandung vitamin C. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat Ramdani (2013), bahwa pemberian akuades ditambahkan dengan  $KMNO_4$  ke dalam ekstrak yang memperlihatkan hasil warna coklat menunjukkan adanya kandungan asam askorbat atau vitamin C di dalamnya.

#### 4.7 Uji Kuantitatif Kadar Vitamin C

Hasil uji kuantitatif kadar Vitamin C pada rumput laut coklat (*Sargassum sp*) 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 7 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	0,475	0,583	0,460	0,506
8	0,682	0,722	0,788	0,730
12	0,912	1,003	0,999	0,971
16	1,078	1,249	1,165	1,164

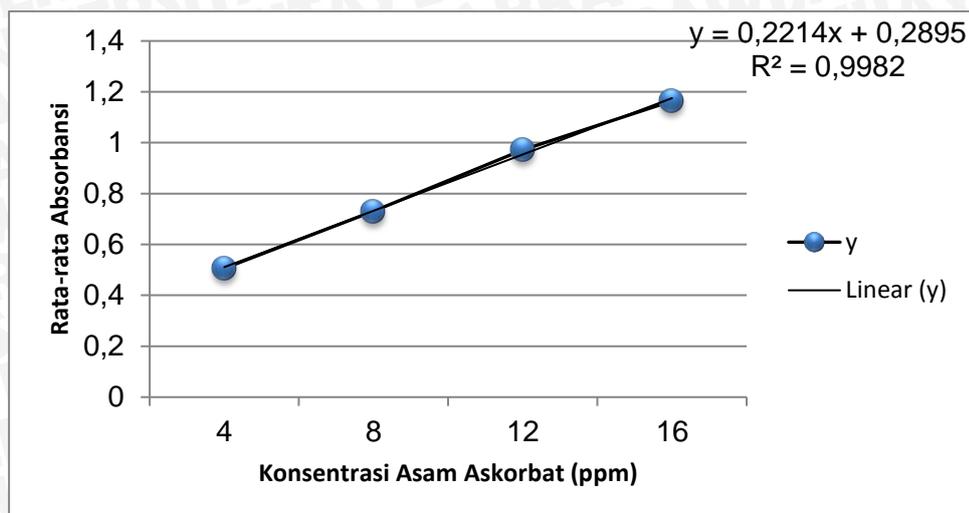
Hasil absorbansi asam askorbat pada uji Kuantitatif vitamin C menunjukkan bahwa absorbansi terendah yaitu pada konsentrasi 4 ppm pada ulangan ke 3 yaitu 0,460 sedangkan absorbansi tertinggi pada 16 ppm pada ulangan ke 3 yaitu 1,165. Berdasarkan hasil rata-rata diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi 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. Hal tersebut dibuktikan oleh pendapat Kumalaningsih (2006), bahwa vitamin C mudah larut dalam air dan agak sukar larut dalam metanol. Vitamin ini sangat peka dan mudah rusak apabila terkena cahaya, panas, udara dan oksigen.

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). Hal demikian dapat dijadikan acuan sebagai bahan yang bermanfaat sebagai antioksidan. 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	1,300
2	1,172
3	1,750

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 7. dari kurva Regresi Vitamin C. Hasil absorbansi sampel pada uji Kuantitatif vitamin C menunjukkan bahwa absorbansi terendah yaitu pada ulangan ke 1 yaitu 1,300 sedangkan absorbansi tertinggi pada ulangan ke 3 yaitu 1,750. 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  $Y=0,2214x + 0,2895$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9982 yang artinya 99,82% 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 *Sargassum sp* dapat dilihat pada Lampiran 9.

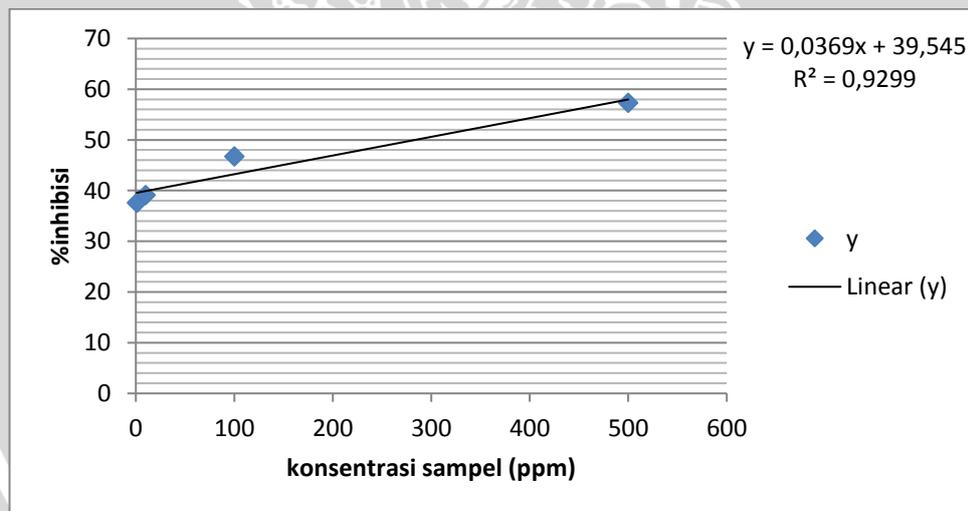
Tabel 7. Hasil Absorbansi Vitamin C dalam Sampel

Ulangan	Absorbansi	kadar Vit. C 500 ppm	kadar Vit. C 5000 ppm	Prosentase kadar Vit. C
1	1,300	18,381	183,81	3,6762%
2	1,172	16,054	160,54	3,2108 %
3	1,750	26,563	265,63	5,3126 %

Berdasarkan data pada Tabel.7 diatas menunjukkan bahwa kadar vitamin C terendah yaitu pada sampel ulangan ke 2 yaitu sebesar 160,54 ppm dengan prosentase 3,2108% sedangkan hasil yang tertinggi yaitu pada sampel ulangan yang ke 3 yaitu sebesar 265,63 ppm dengan prosentase 5,3126%. Kadar vitamin C rumput laut ini lebih rendah dibandingkan dengan kadar vitamin C rumput laut coklat secara umum. Menurut Burtin (2003), kadar vitamin C rumput laut coklat sebesar 50-300 mg/100 g berat basah. Faktor yang mempengaruhi perbedaan kadar vitamin C pada setiap ulangan adalah waktu, proses pengayakan, maserasi, pengadukan, *rotary evaporator* hingga pembuatan sampel uji vitamin C. Hal ini sesuai pernyataan (Kumalaningsih. 2006), vitamin C sangat peka dan mudah rusak apabila terkena cahaya, panas, udara dan oksigen. 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 coklat *sargassum Sp* lebih tinggi dibandingkan dengan rumput laut merah seperti *Gracillaria verrucosa*. 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

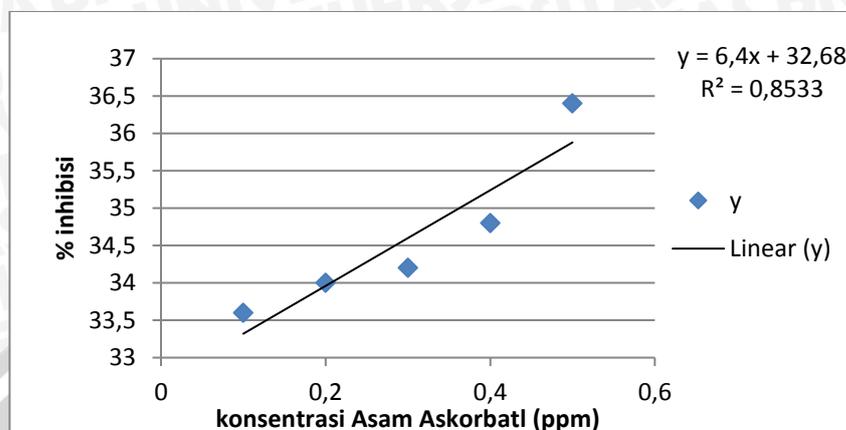
Berbagai macam metode untuk pengukuran antioksidan telah banyak digunakan untuk melihat dan membandingkan aktivitas antioksidan pada berbagai macam sumber antioksidan. Pengujian antioksidan dengan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) merupakan salah satu metode sederhana dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 517nm (Sharma dan Bhat, 2009). Metode uji *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) digunakan untuk memperkirakan efisiensi kinerja dari substansi yang berperan sebagai antioksidan. Metode ini merupakan salah satu metode yang sederhana dengan menggunakan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) sebagai senyawa pendeteksi (Molyneux, 2004). Berikut adalah Hasil Uji Antioksidan rumput laut *Sargassum sp.* Berikut adalah Grafik Inhibisi sampel dan Vitamin C :



Gambar 8. Grafik Antioksidan Sampel *Sargassum sp*

Grafik pada Gambar 8 diatas merupakan hasil uji antioksidan pada sampel ekstrak dimana dari data sampel didapatkan hasil persamaan regresi yaitu  $y = 0,0369x + 39,545$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9299 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 92,99% yang memiliki hubungan linier.



Gambar 9. Grafik Aktivitas Kontrol Positif

Grafik pada Gambar 9 diatas merupakan hasil uji antioksidan pada kontrol positif, dimana dari data sampel didapatkan hasil persamaan regresi yaitu  $y = 6,4x + 32,68$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,8533 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 85,33% 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). Diperkuat oleh Zheng *et al.* (2001) menyatakan antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Hasil diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi

%inhibisi pada sehingga dapat dikatakan bahwa semakin meningkat aktivitas antioksidan untuk meredam DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Semua perhitungan mengenai antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 10.

#### 4.9 Analisis Nilai %Inhibisi dan IC50

Tabel 8. Hasil Akhir Aktivitas Antioksidan

Uji Aktivitas Antioksidan							
sampel ekstrak metanol			larutan perbandingan			IC50	IC50
konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	Konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	sampel	Vit. C
Kontrol	1,087	-	kontrol	1,087	-		
1	1,076	37,6	0,1	1,145	33,6		
10	1,050	39,1	0,2	1,139	34	283,333	0,27
100	0,920	46,7	0,3	1,135	34,2		
500	0,737	57,3	0,4	1,125	34,8		
			0,5	1,097	36,4		

Nilai %inhibisi diperoleh dari perhitungan larutan yang telah diencerkan dengan berbagai konsentrasi menghasilkan absorbansi yang berbeda sehingga menghasilkan persen inhibisi. %inhibisi adalah suatu zat kimia yang dapat menghambat atau memperlambat suatu reaksi kimia (Lehninger, 1997). %inhibisi merupakan kemampuan suatu bahan untuk meredam radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan Hanani *et al*, (2005). Pada Gambar 7 dan 8 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 *Sargassum sp* yaitu 45,17% dengan konsentrasi 1ppm, 10ppm, 100ppm, 500ppm sedangkan pada vitamin C 34,6% dengan konsentrasi 0,1ppm, 0,2ppm, 0,3ppm, 0,4ppm dan 0,5ppm. 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  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*) 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 *Sargassum sp* 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  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*) diperoleh dari persamaan regresi linier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi larutan uji (x) dan nilai %inhibisi (y). Hasil persamaan regresi  $y = 0,0369x + 39,545$  Persamaan tersebut kemudian digunakan untuk menentukan  $IC_{50}$  dengan mensubstitusi  $y = 50$ . sehingga didapatkan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*) rumput laut *Sargassum sp* sebesar 283,333 hasil ini menunjukkan bahwa rumput laut *Sargassum sp* tidak aktif sebagai antioksidan karena nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*) yang aktif terhadap antioksidan yaitu berkisar antara 50-200 (shanab, 2007). Diperkuat oleh pendapat Amin (2015) menyatakan bahwa suatu sampel dikatakan tidak aktif jika memiliki nilai  $IC_{50} > 200$  ppm. Dibandingkan dengan antioksidan larutan pembanding atau asam askorbat sangat jauh perbedaannya, hasil  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*) asam askorbat yaitu 0,27. Hal ini dikarenakan ekstrak tersebut masih dalam bentuk simplisia yang belum dimurnikan sehingga diduga masih terdapat senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan. Senyawa lain tersebut ikut terekstrak dalam pelarut selama proses ekstraksi.

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia dari rumput laut *Sargassum sp* diperoleh kadar air 28,2425%. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia

dari rumput laut *Sargassum sp* mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin dan steroida/triterpenoida.

2. Dari ketiga ulangan ekstrak *Sargassum sp.*, konsentrasi vitamin c pada ulangan 3 yang memiliki konsentrasi tertinggi yaitu sebesar 265,63 ppm dan presentasinya sebesar 5,3126 %.

3. Nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration*) ekstrak *Sargassum sp.* sebesar 283,333 ppm. Nilai tersebut tergolong sebagai antioksidan tidak aktif karena nilainya melebihi acuan yang telah ada yaitu > 200 ppm, sehingga dapat dikatakan ekstrak *Sargassum sp.* tidak aktif dalam menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada rumput laut *Sargassum sp* 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.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aedi, N. 2010. Pengolahan dan Analisis Data Hasil Penelitian. Bahan Belajar Mandiri Metode Penelitian Pendidikan. Fakultas Ilmu Pendidikan. Universitas Pendidikan Indonesia. Jakarta. Budiarto. E dan D. Anggraeni. 2003. *Pengantar Epidemiologi*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Afriani, N., N. Idiawati., A.H. Alimuddin. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva *Artemia*

salina. *Jurnal Kesehatan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. Pontianak. 7 hlm.

Aisyah, T. S., A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia ekstrak Rumpun Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Fakultas Sains dan Teknik. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto. 7 hlm.

Amin, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan dan Telaah Fitokimia *Sargassum crassifolium* J. G. Agardh. Rumpun Laut Alam Asal Pantai Batu Karas Kecamatan Cijulang Kabupaten Ciamis. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* .14 (1).

Apak, R., K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E. Çelik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker and D. Özyurt. 2007. *Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPPRAC Assay*. *Molecules*, 12 : 1496-1547.

Aslan, L. M. 1991. *Budidaya Rumpun Laut*. Kanisius, Yogyakarta.

Atmadja WS, Soelistijo. 1998. *Beberapa Aspek Vegetasi dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik di Pulau-pulau Seribu*. Jakarta: LIPI.

Badarinath, A. V., K. M. Rao, C. M. S. Chetty, S. Ramkanth, T. V. S. Rajan and K. Gnanaprakash. 2010. A review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of Pharmaceutics Technology Research*. 2 (2) : 1276-1285.

Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi and S. Meenakshi. 2009. *Natural Products : Chemistry and Application*. Narosa Publishing House, New Delhi. India.

Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweed. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 2 (4): 1-6.

Cahyadi, M., S. S. Karyono dan M. Astawan. 2009. *Penapisan Fitokimia dan Identifikasi Ekstrak Rumpun Laut Coklat (Sargassum duplicatum)*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (Life Sciences)*, 21 : 1. (abstrak).

Danesi. 1992. Perbedaan diare ekstrak rumpun laut (*Euchema* sp.) dan insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia. *Media Medika Indonesia* 40: 23-30

Davey, M. W., K. Kenis, dan J. Keulemans. 2006. Genetic Control of Fruit Vitamin C Contents. *Plant Physiology*. 142 : 343–351

Dimitrios , S., P. Potin, C. Leblanc and L. Delage. 2010. *The Halogenated Metabolism of Brown Algae (Phaeophyta), Its Biological Importance and Its Environmental Significance*. *Marine Drugs*, 8 : 988-1010. *Laut*. PT. AgroMedia Pustaka, Jakarta

Farnworth, N. R. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *J. Pharm. Sci.*, 55: 59.

Fessenden. J.R. dan Fessenden, S.L. 1982. *Kimia Organik*. Penerjemah Pudjaatmaka A.H. Penerbit ITB. Bandung.

- Guiry, M. D. dan Guiry, G. M. 2011. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway. <http://.algaebase.org>. diakses pada tanggal 20 September 2016.
- Gritter, R. J., M. B James dan E. S. Arthur. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata).
- Hanani, S. A., S. Raharjo, D. W. Marseno and I. Y. B. Lelana. 2012. Antioxidant activity of brown algae *Sargassum* species extract from the coastline of Java island. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 7(3) : 337-346.
- Hartono, A. M., I. Jaswir, A. Amid, Z. Alam, T. T. Asiyani-H. and N. Ramli. 2013. *Enzymatic Hydrolysis of Plants and Algae for Extraction of Bioactive Compounds*. Food Review International (abstract).
- Hafiludin. 2011. Karakteristik Proksimat dan Kandungan Senyawa Kimia Daging Merah Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). *Jurnal Kelautan* 4(1): 1-10
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro).
- Hariana, A.H., 2004, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 1*, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Heo, S. J., S. H. Cha., K. W. Lee., S. K. Cho. And Y. J. Jeon. 2005. Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. *Algae*. 20 (3) : 251-260.
- Hendra . 2007. *Seri farmasi Industri : Teknologi Bahan Alam*. cetakan pertama. ITB. Bandung.
- Huda, N. 2001. *Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis. Bidang Evaluasi dan Pengembangan Keselamatan Instalasi*. Sigma Epsilon.
- Husna, M., H. Barroroh., E. K. Hayati. 2009. Identifikasi dan uji Aktivitas Golongan Senyawa Antioksidan Ekstrak Kasar Buah Pepino (*Solanum muricatum Aiton*) Berdasarkan Variasi pelarut.
- Indriani, Heti., dan Emi Sumiarsih. 2003. *Rumput Laut Budi Daya Pengolahan dan Pemasaran*. Jakarta. Penebar Swadaya. Hal. 4-8, 11-12.
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (Piperis retrofracti fructus)*. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Malang Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Juniarti, D. O., dan Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (brine shrimp lethality test) dan antioksidan (1,1-diphenyl- 2-pikrilhidrazyl) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius L.*). *Makara Sains*. 13 (1) : 50-54.
- 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, 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.

Khiong, B. 2007. *Isolasi dan identifikasi senyawa sitotoksik dari alga merah Rhodymenia palamata* (Linnaeus) Greville. *Skripsi*. Universitas Pancasila. Jakarta.

Kumalaningsih, 2006, Antosianin Alami, *Trubus Agrisarana*, Surabaya.

Kurniawan, M., M. Izzati., dan Y. Nurchayati. 2010. Kandungan Klorofil, Karotenoid, dan Vitamin C pada Beberapa Spesies Tumbuhan Akuatik. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 18 (1).

Limantara, L. 2006. Buku Panduan Praktikum. Widya Sari Press. Salatiga.

Lehninger, A. L., 1982. *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers. New York.

Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. [Karya Ilmiah]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.

Mardawati, E., Cucu. S. A., Herlina M. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak 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

Martiningsih, N. W., I. N. Sukarta, dan P. E. Yuniana. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Buah Terong Ungu (*Solanum melongena L.*). *Jurnal Kimia*. 8 (2) : 145-152. ISSN 1907-9850.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radicals diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26 (2):211-219.

Nofiani, R. 2008. *Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut*. *Jurnal Natur Indonesia*, 10 (2) : 120-125.

Poncomulyo, T., M. Herti dan K. Lusi. 2006. *Budi Daya dan Pengolahan Rumput*

Prajitno, A. 2006. Pengendalian Penyakit *Vibrio harveyii* dengan Ekstrak Rumput Laut (*Halimeda opuntia*) Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) PL-13. Desertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.

Putranti, R., I. 2013. Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Sargassum Duplicatum* dan *Turbinaria Ornata* dari Jepara. *Tesis*. Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang.

Ramazanov , C., Scubert, R, Jahreis, G. 2007. *Jurnal Amind Acid, Fatty Acids, and Dietary Fibre In Edible Seaweed Product*. *Food Cheimistry*. 103 :891-899.

- Ramdani, F. A., G. Dwiyantri, W. Siswaningsih. 2013. Penentuan Aktivitas Antioksidan Buah Pepaya (*Carica Papaya*. L) dan Produk Olahannya Berupa Manisan Pepaya. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 4 (2) : 115-124. ISSN 2087-7412.
- Rohimat., I. Widowati., 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 Research*3(3): 5-9.
- Syahputri, A. S. J dan N. Zakia. 2011. *Perbandingan metode spektrofotometri UV-Vis dan KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) pada analisis kadar asam benzoat dan kafein dalam teh kemasan*. Skripsi. Universitas Negeri Malang : 3-10.
- Safaryani, Nurhayati, S. Haryanti, dan E. D. Hastuti. 2007. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Penurunan Kadar Vitamin C Brokoli (*Brassica oleracea* L). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 15 (2).
- Sani, R.N., C.N. Fithri., D.A. Ria., M.M. Jaya. 2014. Analisis Randemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chunii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 2 No. 2*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- 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.
- Shanab, S., M., M., 2007. Antioxidant and antibiotic activities of some seaweeds (Egyptian isolates). *International Journal of Agriculture and Biology*. 9(2): 220-225.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Shah, R., Karhad, H., Sheth, R, dan Sheth, N. 2010. In Vitro Antioxidant Activity of Roots of *Tehrosia purpurea* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 2 (3) : 30-33.
- SNI (Standar Nasional Indonesia), 2015. Rumput Laut Kering. Badan Standarisasi Nasional. 2690 : 2015.
- Suarsa, I.W., P. Suarya dan I. Kurniawati. 2011. Optimasi Jenis Pelarut dalam Ekstraksi Zat Pewarna Alam dari Batang Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L. cv *kepok*) dan Batang Pisang Susu (*Musa paradisiaca* L. cv *susu*). *Jurnal Kimia* 5 (1): 72-80
- Sudarmadji, S. B., Haryono dan Suhardi. 1989. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Suharno . 2005. *Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia*. *Oseana*, 30 (4) : 19-29.
- Sumanto., 1995. *Metode Penelitian Sosial dan Pendidikan*. Yogyakarta. Andi Offset

- Surakhmad, W. 2004. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar, Metode dan Teknik (Edisi Revisi). Penerbit Tarsito : Bandung
- Suryana. 2010. Metodologi Penelitian: Model Praktis Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif. Buku Ajar Perkuliahan. Universitas Pendidikan Indonesia. Jakarta
- Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumpun Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5 (1) : 31-36.
- Tjitrosoepomo, G. 2001. *Taksonomi Tumbuhan : Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wardani, W., D. 2008. Isolasi dan karakterisasi natrium alginat dari rumput laut *Sargassum sp* untuk pembuatan bakso ikan tenggiri (*scomberomus commerson*). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Wati, A.I. 2010. Optimasi Ekstraksi Daun Dandang Gendis Menggunakan Parameter Waktu, Nisbah Sampel Pelarut, dan Jenis Pelarut. *Skripsi*. FMIPA IPB.
- Widyartini, D. S., Insan, A. I., dan Sulistiani. Keanekaragaman Morfologi Rumpun Laut *Sargassum* Dari Pantai Permisian Cilacap Dan Potensi Sumber Daya Alginatnya Untuk Industri. *Prosiding Seminar Nasional : Pengembangan Sumber Daya Pedesaan Dan Kearifan Lokal II*.
- 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 dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Yudihapsari, E. Kajian Kadar Protein, pH, Viskositas dan Randemen Kecap Whey dari Berbagai Tingkat Penggunaan Tepung Kedelai. Universitas Brawijaya. Malang. 5 halaman.
- Yunizal. 2004. *Teknologi Pengolahan Alginat*. Jakarta: Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan.
- Zheng X, Liu B, Li L, Zhu X. 2011. Microwave-assisted extraction and antioxidant activity of total phenolic compounds from pomegranate peel. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(6):1004-1011.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat dan Bahan

Alat bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

#### a. Pengeringan

Alat	Oven
	Nampan
	Thermometer alkohol

Bahan	Plastik mulsa hitam
	Warin
	Raffia
	Kertas Koran

b. Uji Kadar Air.

Alat	Desikator
	Crushtable tang
	Waring
	Timbangan analitik
Bahan	Cawan petri
Bahan	Rumput laut kering

c. Penggilingan

Alat	Penggilingan
	Bak besar
Bahan	<i>Sargassum sp</i> kering

d. Maserasi

Alat	Toples kaca
	Magnetik stirrer
	Jerigen
	Timbangan digital
	Spatula
	Erlenmeyer
	Kertas saring
Bahan	Corong
	Pelarut metanol 90%
	Alumunium foil

e. Evaporasi

Alat	Rotary vacuum evaporator
	Spatula
	Botol fial
	Timbangan digital
Bahan	Erlenmeyer
	Alumunium foil
	Pelarut metanol

f. uji kualitatif Vitami C

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

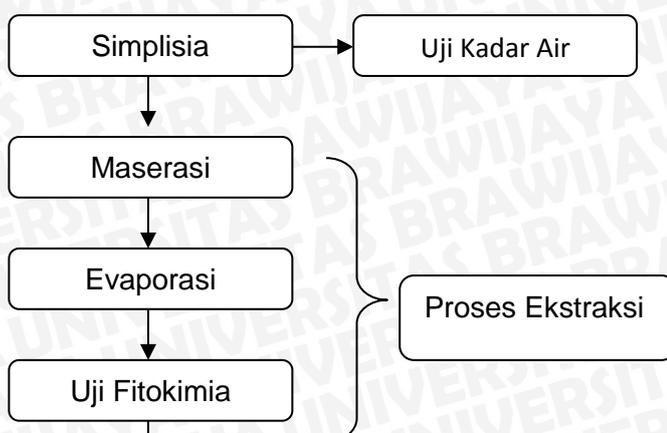
g. uji Kuantitatif Vitamin C

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

h. uji Aktivitas Antioksidan

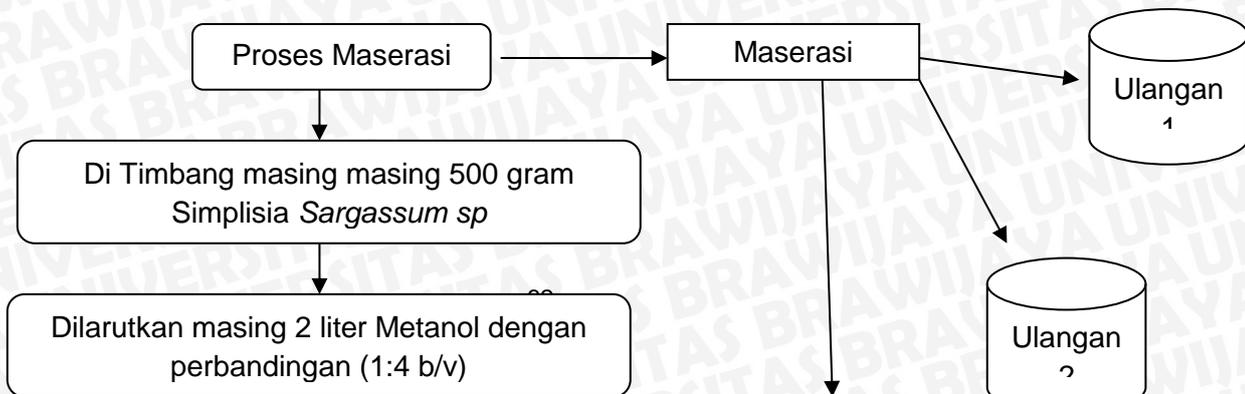
Alat	Spektrofotometri UV-Vis
	Timbangan analitik
	Botol fial
	Mikropipet
	Pipet volum 10 ml
	Tabung reaksi
	Gelas ukur 10 ml
	Erlenmeyer 100 ml
	Beaker glass 250 ml,500 ml
Bahan	Ekstrak rumput laut
	Larutan DPPH 0,1 %
	Metanol
	Alumunium foil

Lampiran 2. Skema Tahapan Penelitian





Lampiran 3. Skema Proses Ekstraksi





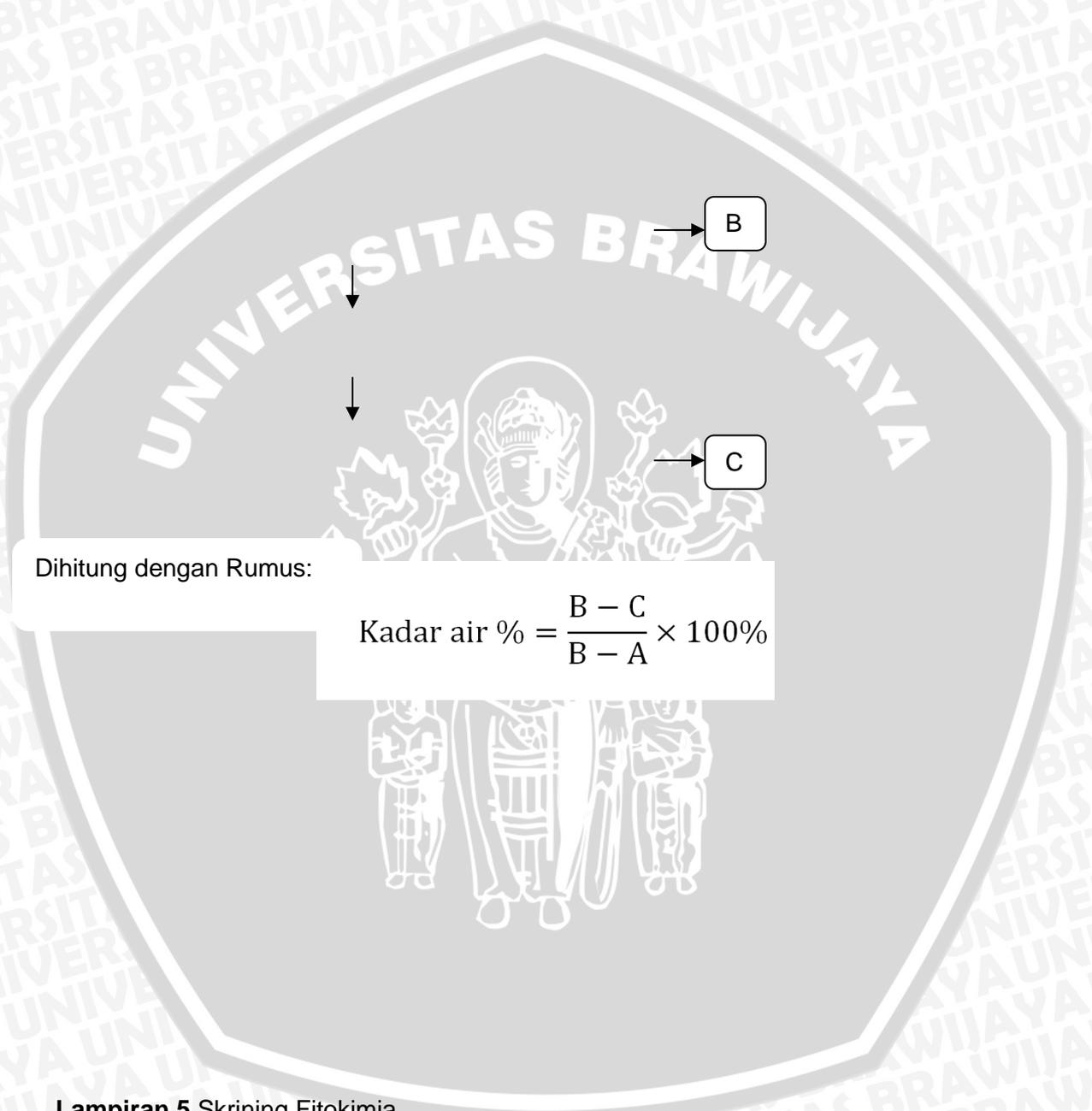
Lampiran 4. Uji Kadar Air dengan Metode Oven Persiapan

Cawan dioven dengan suhu 100-105°C selama 30 menit

Ditimbang dan dapat Berat Tetap

Didesikator selama 30 Menit

Ditimbang dan dapat Berat Tetap



Dihitung dengan Rumus:

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

**Lampiran 5. Skrining Fitokimia**

a. Uji Alkaloid

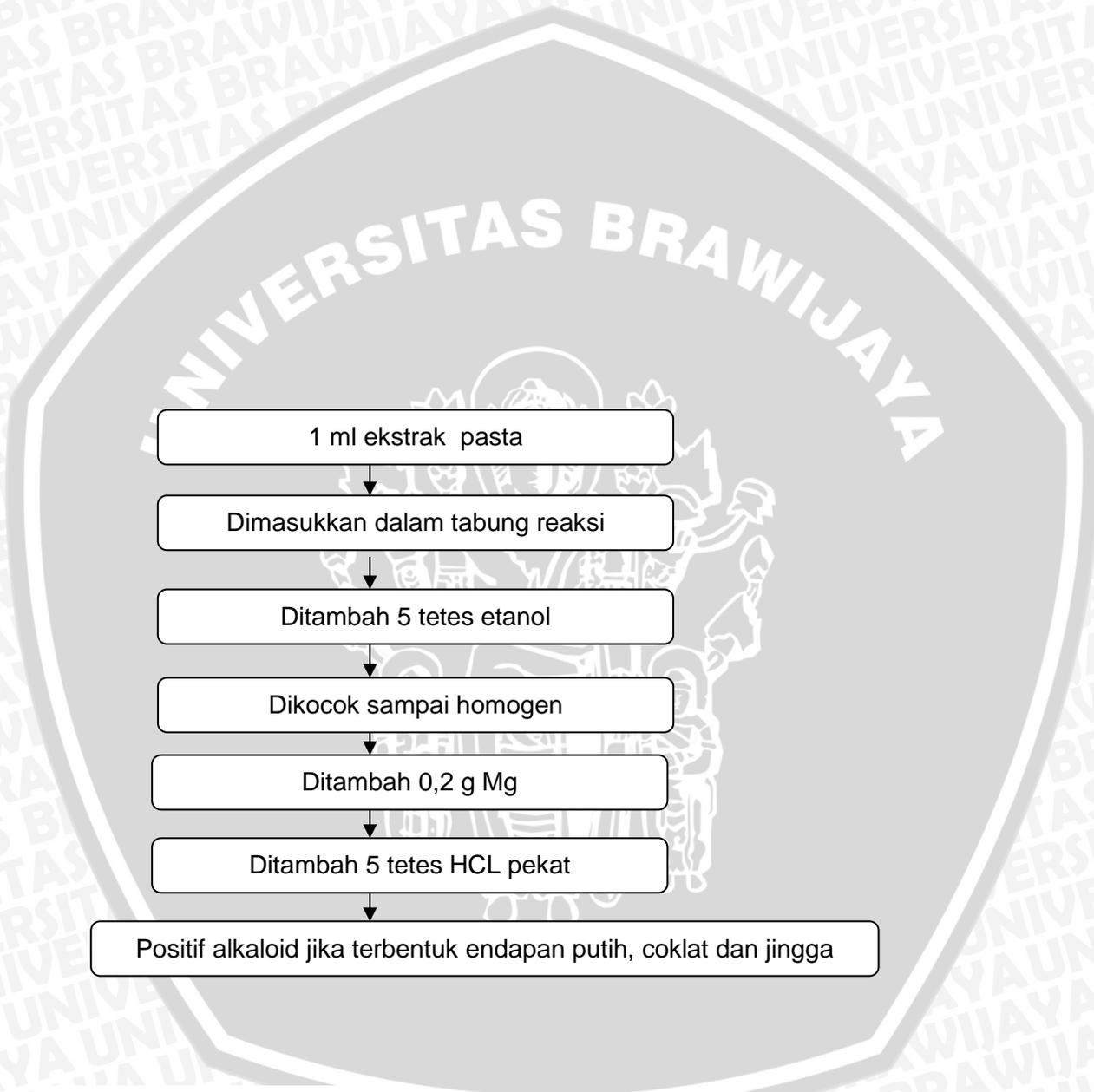
3 ml Ekstrak Pasta

Dimasukkan dalam tabung reaksi

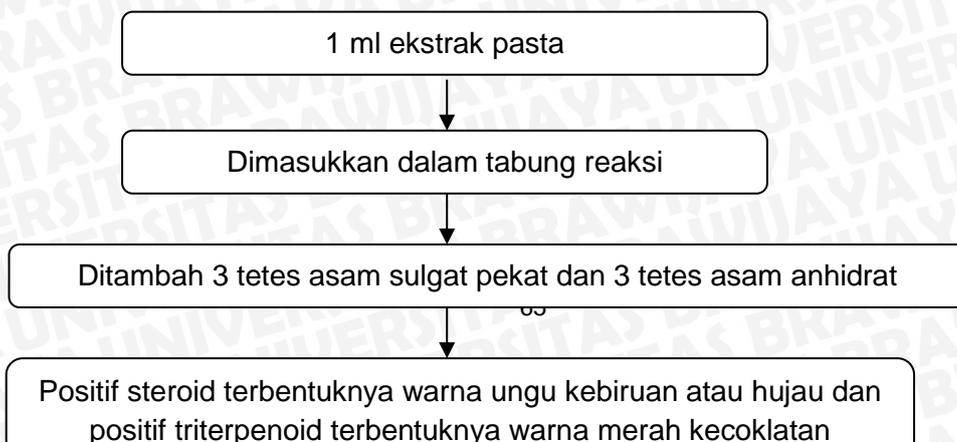
Ditambahkan 1ml kloroform dan 5 tetes

Ditambahkan 5 tetes asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 2 N

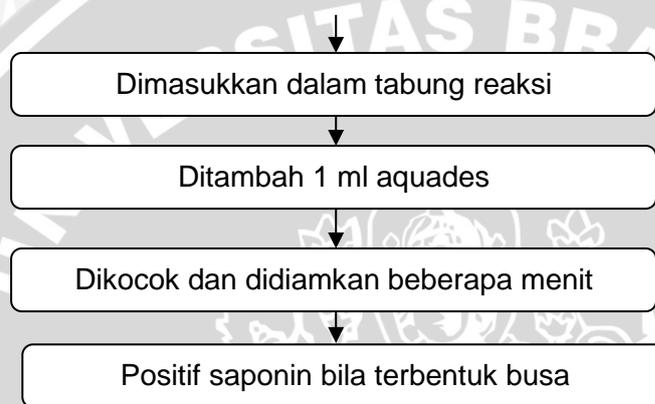




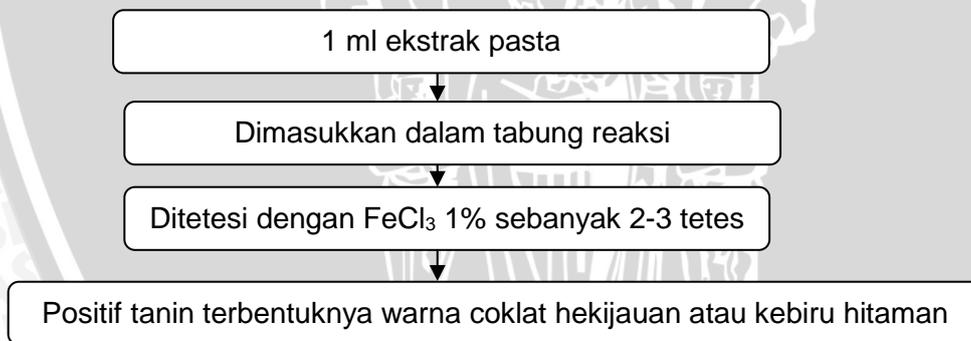
c. Uji Steroid/ Triterpenoid



d. saponin

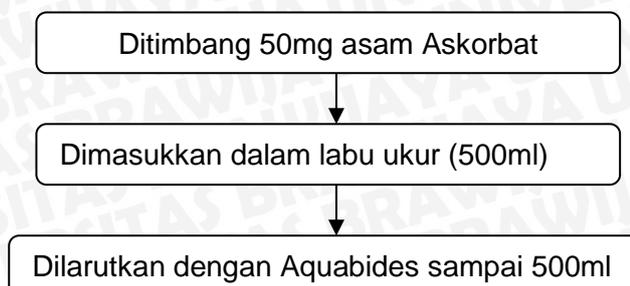


e. Tanin

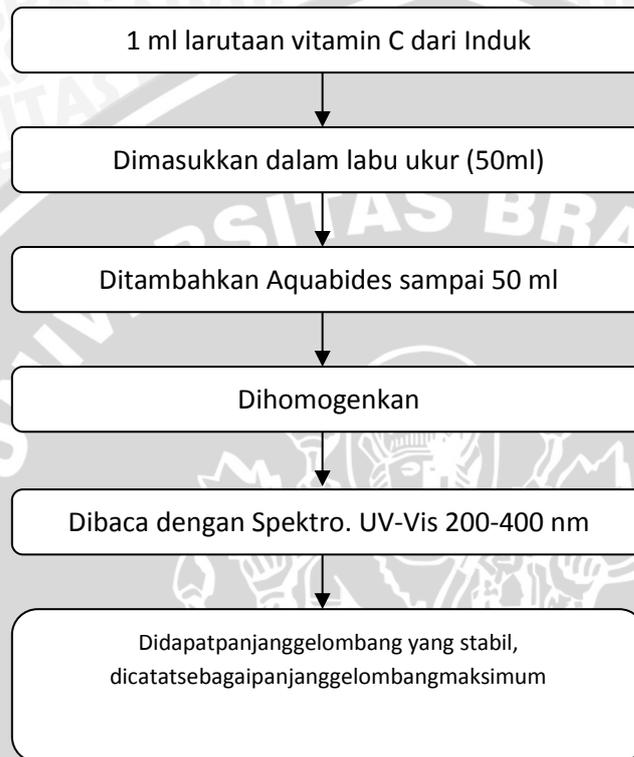


Lampiran 6. Skema Uji Kuantitatif Vitamin C

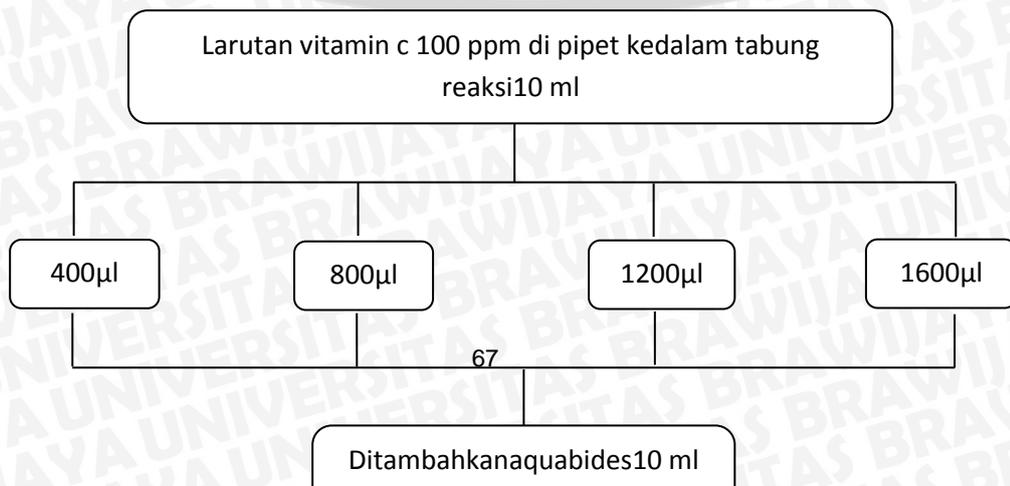
a. Pembuatan Larutan Induk 100ppm



b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



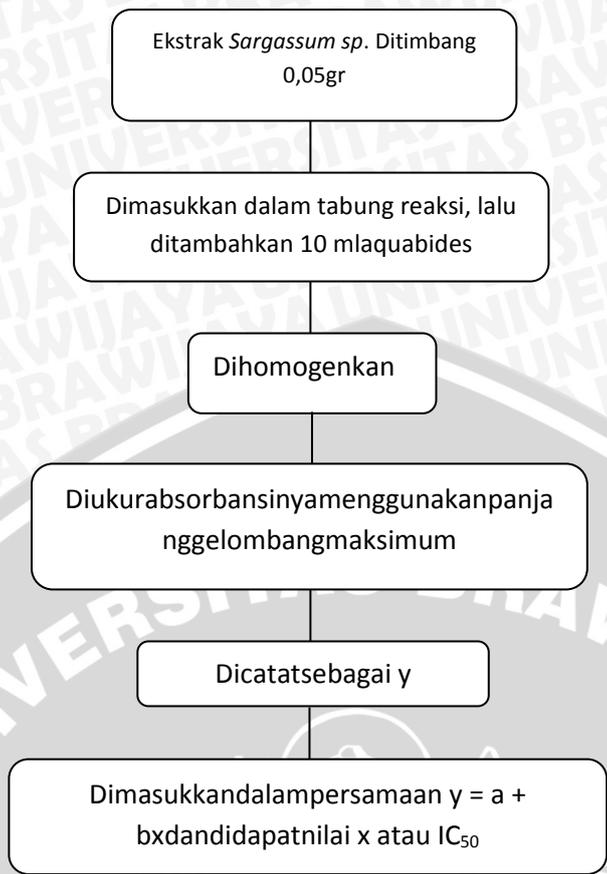
c. Pembuatan Kurva Kalibrasi



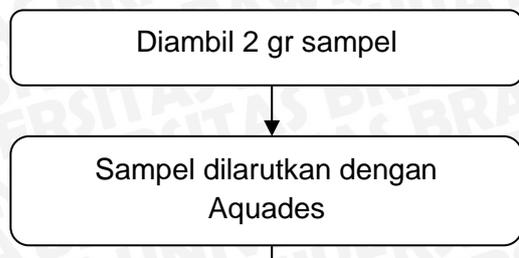


d. Penentuan Kadar Sampel





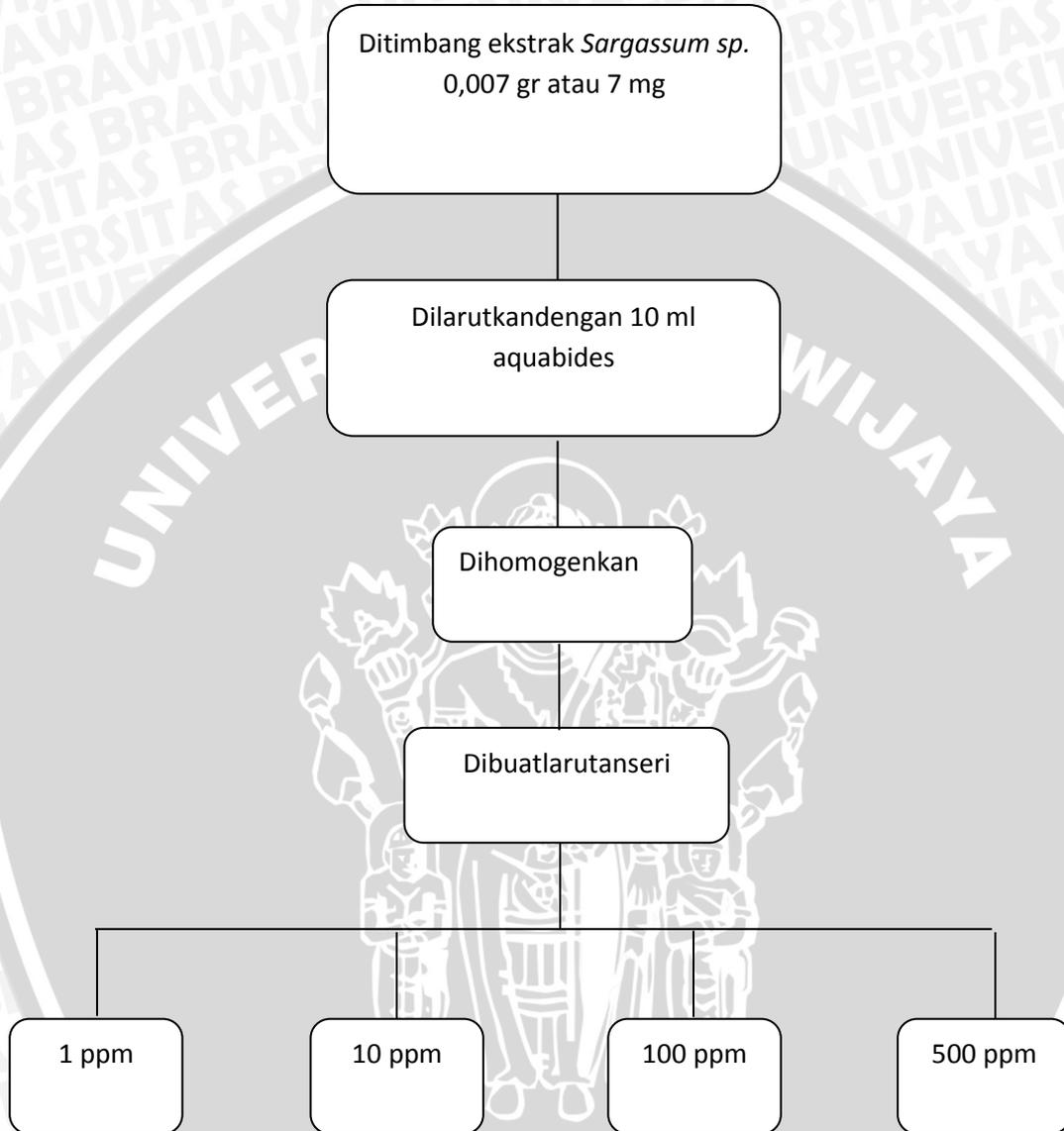
Lampiran 7. Skema Uji Kualitatif Vitamin C



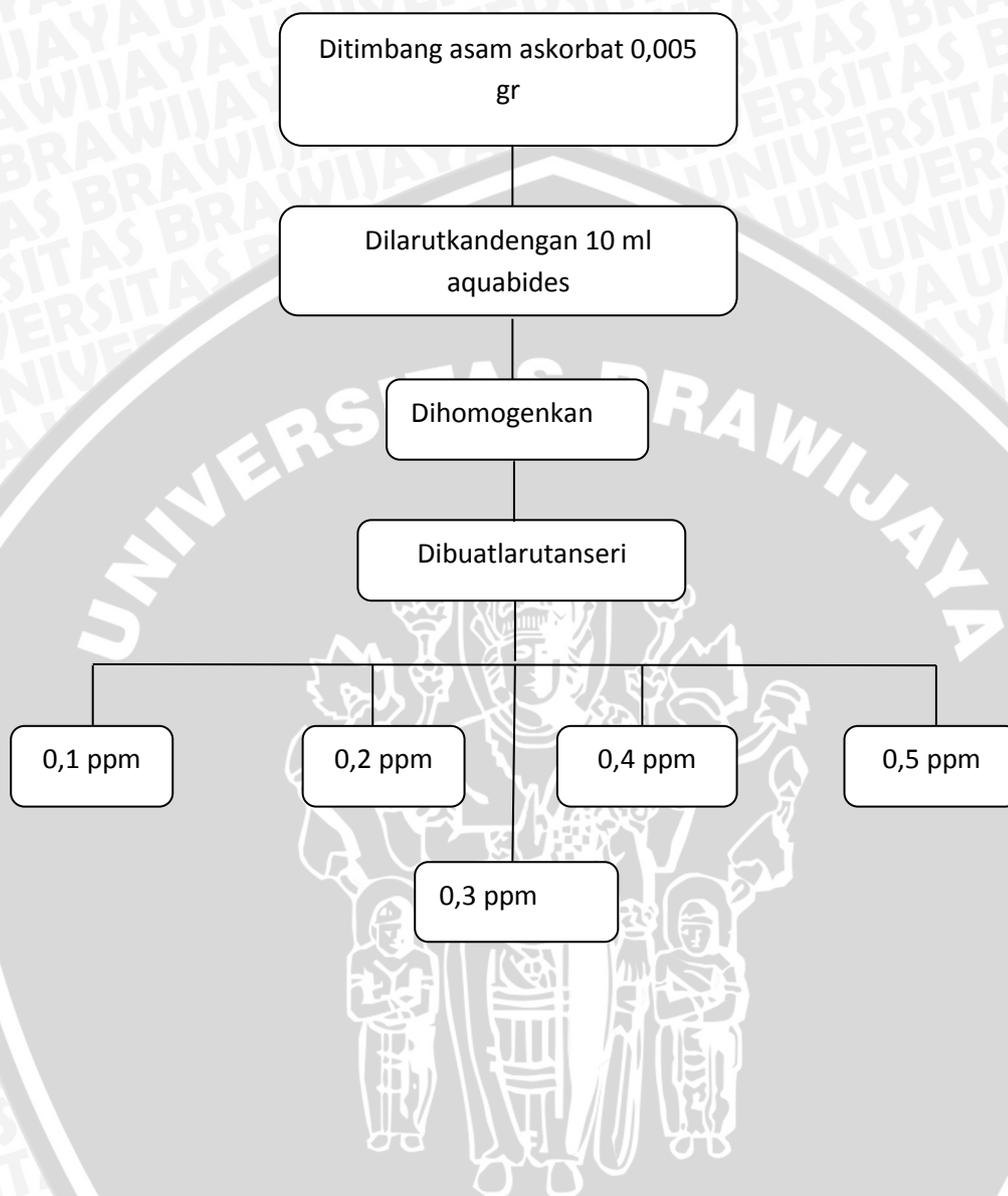


Lampiran 8. Skema Uji Aktivitas Antioksidan

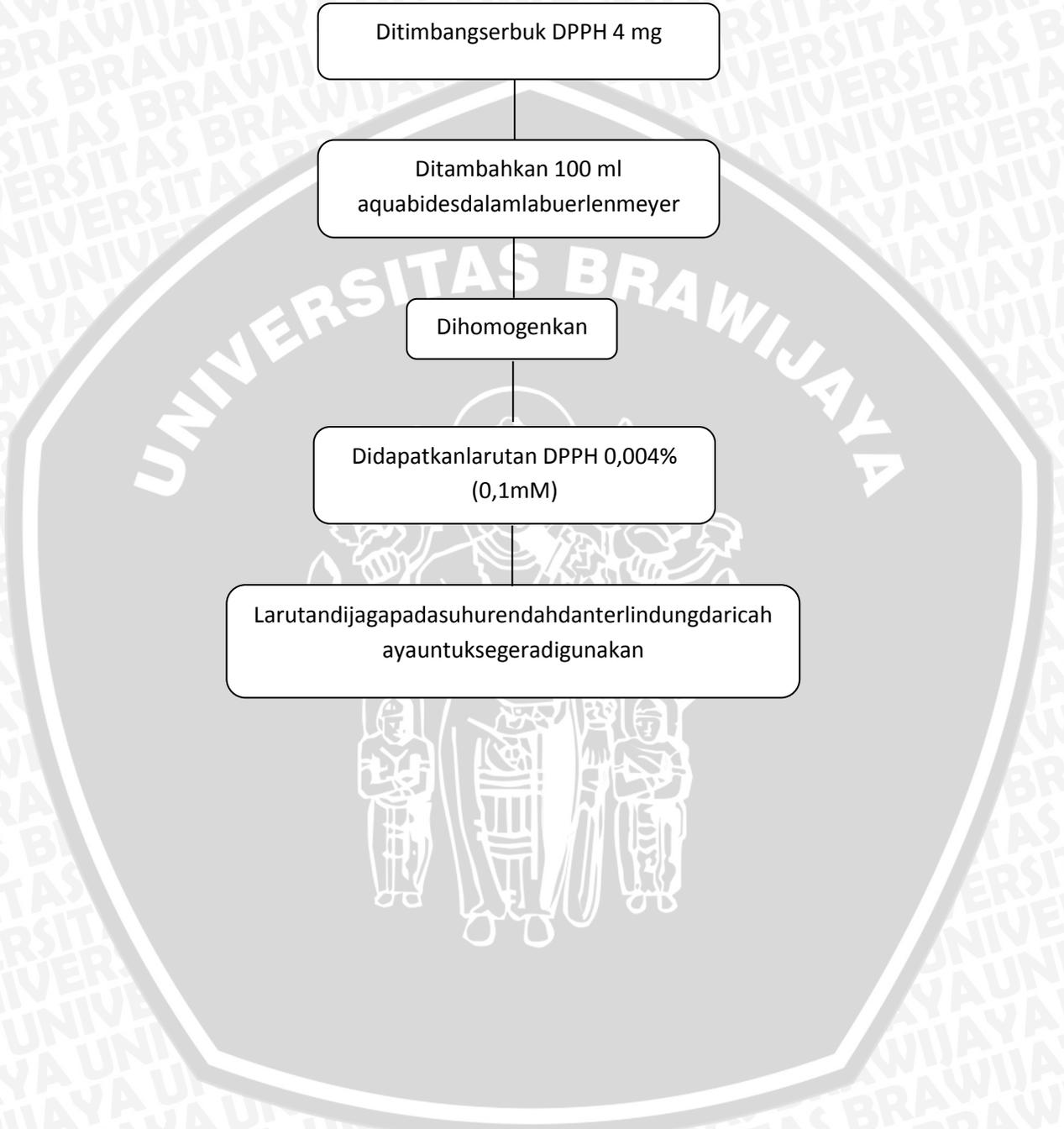
a. Pembuatan Larutan induk senyawa uji antioksidan 700 ppm



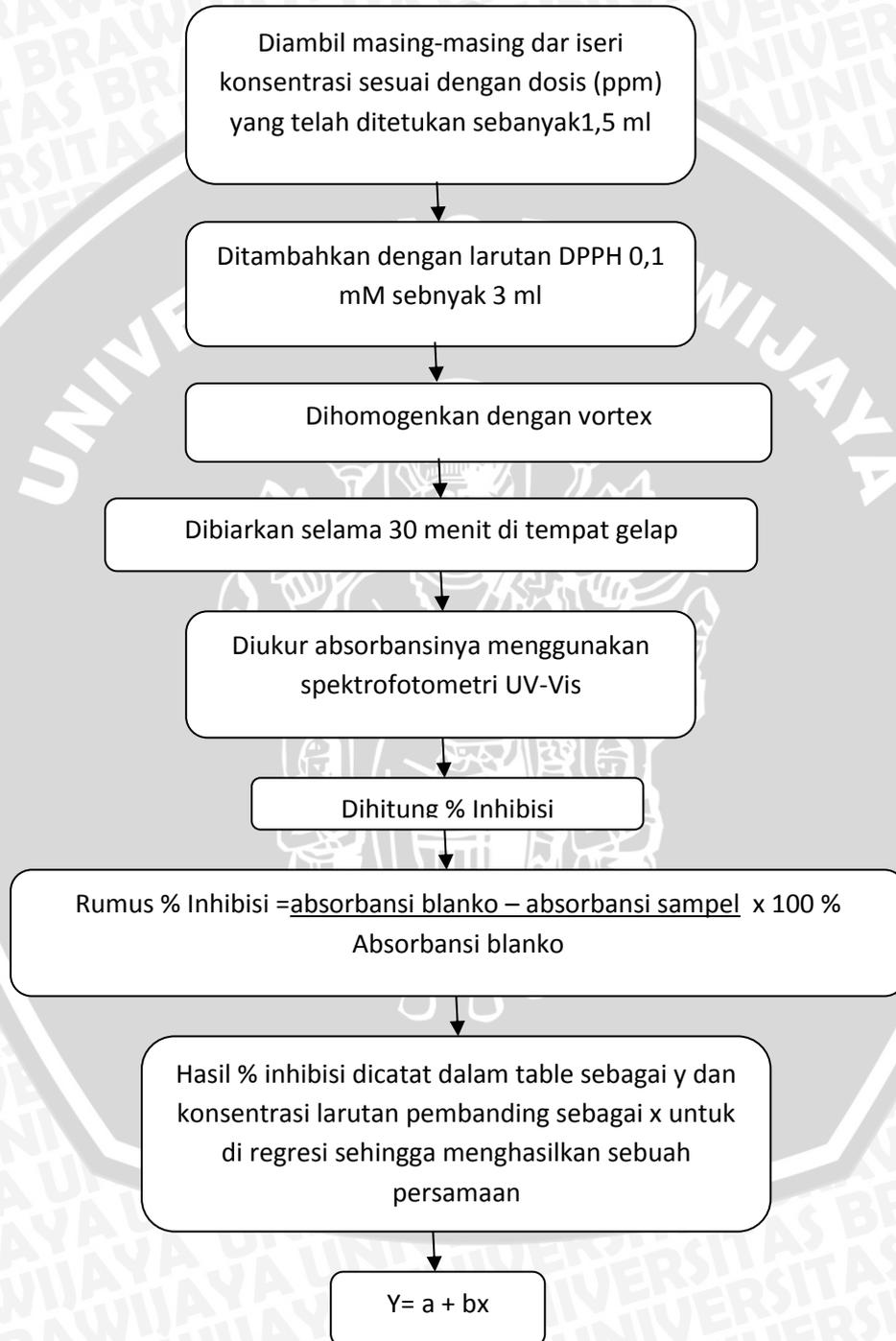
b. Pembuatan Larutan Senyawa Perbandingan 500 ppm



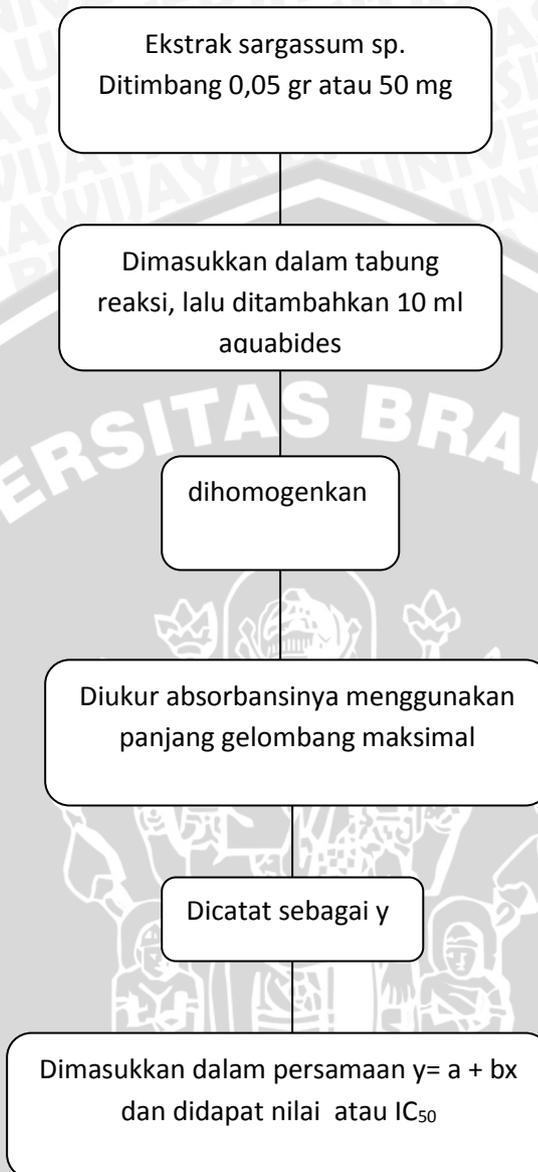
c. Pembuatan Larutan DPPH 0,004% (0,1 mM)



## d. Pengukuran Larutan Senyawa Pembanding



e. penentuan kadar sampel



## Lampiran 9. Perhitungan Randemen

### ➤ Tabel Randemen Rumput Laut (*Sargassum sp.*)

Sargassum sp.	Berat (kg)	Randemen (%)
Basah	90,9	-
Kering	12,62	13,88
Simplisia Kasar	9,59	75,99
Simplisia Halus	6,15	64,13

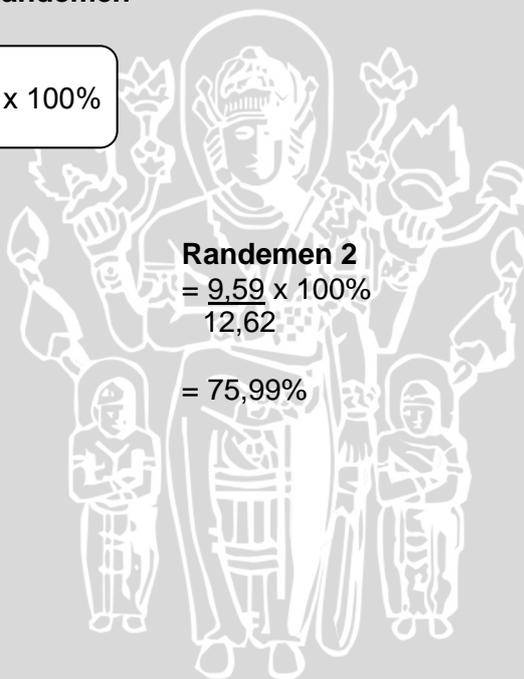
### ➤ Perhitungan Randemen

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

$$\begin{aligned} \text{Randemen 1} \\ &= \frac{12,62}{90,9} \times 100\% \\ &= 13,88\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Randemen 2} \\ &= \frac{9,59}{12,62} \times 100\% \\ &= 75,99\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Randemen 3} \\ &= \frac{6,15}{9,59} \times 100\% \\ &= 64,13\% \end{aligned}$$



Tabel Hasil Pengujian Kadar Air *Sargassum* sp.

Berat Cawan (A)	Berat Sampel	Berat Cawan+Sampel Sebelum Oven(B)	Berat Cawan+Sampel Sesudah Oven (C)	%Kadar Air
42,9189 gr	2,0331 gr	44,952 gr	44,3778 gr	28,2425

➤ 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

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

$$= \frac{44,952 \text{ gr} - 44,3778 \text{ gr}}{44,952 \text{ gr} - 42,9189 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 28.2425 \%$$

Jadi total kadar air pada rumput laut *sargassum* sp adalah 28.2425 %

➤ **Data Hasil Uji Kuantitatif Vitamin C**

**Pembuatan larutan induk 100 ppm Asam askorbat ( $C_6H_8O_6$ )**

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

$$= 72 + 8 + 96$$

$$= 176$$

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

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

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

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

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

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

3. Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 100 ppm

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

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

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

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

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

➤ **Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Larutan Asam Askorbat**

- **Larutan Asam Askorbat 2 ppm**

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

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

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

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

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 2 ppm diperlukan 1000 $\mu\text{l}$  asam askorbat 100 ppm dilarutkan ke dalam 50 ml pelarut

**Tabel Uji Pendahuluan Panjang Gelombang Maksimal 200 - 400 nm**

<b>Panjang Gelombang (nm)</b>	<b>Absorbansi</b>
	0,061
210	0,092
220	0,096
230	0,143
240	0,249
250	0,367
260	0,456
<b>270</b>	<b>0,488</b>
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

➤ Pengenceran Larutan Standar Asam Askorbat ( $C_6H_8O_6$ ) 4, 8, 12, 16

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

1. Larutan seri 4 ppm

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

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml atau } 400 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 4 ppm diperlukan 400  $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

2. Larutan Seri 8 ppm

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

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 8 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ ml atau } 800 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 8 ppm diperlukan 800  $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

3. Larutan Seri 12 ppm

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

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 12 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ml} \cdot 12 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1,2 \text{ ml atau } 1200 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 12 ppm diperlukan 1200  $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

4. Larutan Seri 16 ppm

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

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

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

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

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 16 ppm diperlukan 3200 $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 10 ml pelarut.

➤ **Pembuatan Larutan Sampel 5000 ppm**

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

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

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

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

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

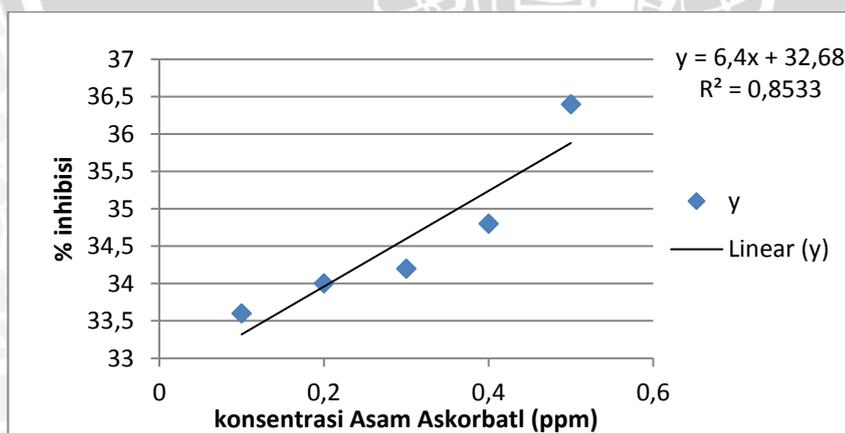
**Tabel Hasil Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C**

Konsentrasi	Absorbansi			Absorbansi Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
4	0,475	0,583	0,460	0,506
8	0,682	0,722	0,788	0,730
12	0,912	1,003	0,999	0,971
16	1,078	1,249	1,165	1,164

**Tabel Hasil Absorbansi Vitamin C dalam Sampel 500 ppm**

Ulangan	Absorbansi	kadar Vit. C 500 ppm	kadar Vit. C 5000 ppm	Prosentase kadar Vit. C
1	1,300	18,381	183,81	3,6762%
2	1,172	16,054	160,54	3,2108 %
3	1,750	26,563	265,63	5,3126 %

Kurva Regresi absorbansi asam askorbat dalam uji kuantitatif vitamin C



➤ **Perhitungan**

**1. Kadar Vitamin C dalam Sampel 500 ppm**

$$Y = 0,0554x + 0,2895$$

Ulangan 1

$$Y = 0,0554x + 0,2895$$

$$1,300 = 0,0554x + 0,2895$$

$$0,0554x = 1,300 - 0,2895$$

$$x = \frac{1,300 - 0,2895}{0,0554}$$

$$x = 18,381 \text{ ppm}$$

Ulangan 2

$$Y = 0,0554x + 0,2895$$

$$1,172 = 0,0554x + 0,2895$$

$$0,0554x = 1,172 - 0,2895$$

$$x = \frac{1,172 - 0,2895}{0,0554}$$

$$x = 16,054 \text{ ppm}$$

Ulangan 3

$$Y = 0,0554x + 0,2895$$

$$1,750 = 0,0554x + 0,2895$$

$$0,0554x = 1,750 - 0,2895$$

$$x = \frac{1,750 - 0,2895}{0,0554}$$

$$x = 26,563 \text{ ppm}$$



## 2. Kadar Vitamin C dalam Sampel 5000 ppm

Ulangan 1 = Kadar vitamin c sampel (500 ppm) x Pengenceran

$$= 18,381 \times 10$$

$$= 183,81 \text{ ppm}$$

Ulangan 2 = Kadar vitamin c sampel (500 ppm) x Pengenceran

$$= 16,054 \times 10$$

$$= 160,54 \text{ ppm}$$

Ulangan 3 = Kadar vitamin c sampel (500 ppm) x Pengenceran

$$= 26,563 \times 10$$

$$= 265,63 \text{ ppm}$$

## 3. % Vitamin C Sampel 5000 ppm

Ulangan 1 = Kadar vitamin c sampel (5000 ppm) x 100%

$$\begin{aligned} & \frac{5000 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ & = \frac{183,81 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ & = 3,6762 \% \end{aligned}$$

Ulangan 2 = Kadar vitamin c sampel (5000 ppm) x 100%

$$\begin{aligned} & \frac{5000 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ & = \frac{160,54 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ & = 3,2108 \% \end{aligned}$$

Ulangan 3 = Kadar vitamin c sampel (5000 ppm) x 100%

$$\begin{aligned} & \frac{5000 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ & = \frac{265,63 \text{ ppm}}{5000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ & = 5,3126 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 10. Perhitungan Uji Antioksidan**

➤ **Pembuatan Larutan Induk 500 ppm Asam Askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)**

1. 
$$1 \text{ M (C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = (\text{Ar C} \times \text{Jumlah Atom C}) + (\text{Ar H} \times \text{Jumlah Atom H}) + (\text{Ar O} \times \text{Jumlah Atom O})$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ M C}_6\text{H}_8\text{O}_6 &= (12 \times 6) + (1 \times 8) + (16 \times 6) \\ &= 72 + 8 + 96 \\ &= 176 \text{ gr} \end{aligned}$$

Jadi, dalam 1 M C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> terdapat 176 gr .

2. 
$$\text{Molekul 500 ppm} = \frac{\text{Berat Asam Askorbat (500ppm)}}{\text{Berat Molekul C}_6\text{H}_8\text{O}_6}$$

$$\text{Mol 500 ppm} = \frac{500 \text{ mg}}{176 \text{ gr}} \quad \text{Mol 500 ppm} = \frac{500 \text{ mg}}{176.000 \text{ gr}}$$

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

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

3. Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat 500 ppm

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

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

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

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

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

➤ **Pengenceran Larutan Standar Asam Askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)**

**Seri 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 ppm**

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

1. Larutan seri 0,1 ppm

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

$$V1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 0,1 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 0,1 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,001 \text{ ml atau } 1 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,1 ppm diperlukan 1  $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

2. Larutan seri 0,2 ppm

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

$$V1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 0,2 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 0,2 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,002 \text{ ml atau } 2 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,2 ppm diperlukan 2  $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

3. Larutan seri 0,3 ppm

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

$$V1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 0,3 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 0,3 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,003 \text{ ml atau } 3 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,3 ppm diperlukan 3  $\mu\text{l}$  dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

4. Larutan seri 0,4 ppm

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

$$V1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 0,4 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 0,4 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,004 \text{ ml atau } 4 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,4 ppm diperlukan 4 $\mu$ l dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.

5. Larutan seri 0,5 ppm

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

$$V1 \cdot 500 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 0,5 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 0,5 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,005 \text{ ml atau } 5 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,5 ppm diperlukan 5 $\mu$ l dilarutkan ke dalam 5 ml pelarut.



➤ **Pembuatan Larutan DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) 0,1 mM**

$$1 \text{ M (C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6) = (\text{Ar C} \times \text{Jumlah Atom C}) + (\text{Ar H} \times \text{Jumlah Atom H}) + (\text{Ar N} \times \text{Jumlah Atom N}) + (\text{Ar O} \times \text{Jumlah Atom O})$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ M C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6 &= (12 \times 18) + (1 \times 12) + (14 \times 5) + (16 \times 6) \\ &= 216 + 12 + 70 + 96 \\ &= 394 \text{ gr} \end{aligned}$$

Jadi, dalam 1 M C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> terdapat 394 gr .

2.

$$\text{Molekul 40 ppm} = \frac{\text{Berat DPPH (40 ppm)}}{\text{Berat Molekul C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6}$$

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

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

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

Jadi, dalam 40 ppm DPPH(C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) terdapat 0,1 mM

3. Pembuatan Larutan DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) 40 ppm

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

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

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

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

Jadi, untuk mendapatkan 40 ppm larutan induk dibutuhkan DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) seberat 4 mg atau 0,004 gram dilarutkan dengan 100 ml pelarut.

➤ **Pembuatan Larutan Sampel 700 ppm**

$$700 \text{ ppm} = \frac{700 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{700 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

$$\frac{700 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{700 \text{ mg} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$x = 7 \text{ mg atau } 0,007 \text{ gram}$$

Jadi, untuk mendapatkan 700 ppm dibutuhkan sampel ekstrak seberat 7 mg atau 0,007 gram dilarutkan dengan 10 ml pelarut.

➤ **Pengenceran Larutan Sampel Seri 1, 10, 100, 500 ppm**

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

1. Seri 1 ppm

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

$$V1 \cdot 700 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 1 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 1 \text{ ppm}}{700 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,00714 \text{ ml atau } 7,14 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 1 ppm larutan diperlukan 7,14  $\mu\text{l}$  larutan induk sampel 700 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut.

2. Seri 10 ppm

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

$$V1 \cdot 700 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}}{700 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,0714 \text{ ml atau } 71,4 \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 10 ppm larutan diperlukan 71,  $\mu\text{l}$  larutan induk sampel 700 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut

## 3. Seri 100 ppm

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

$$V1 \cdot 700 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ppm}}{700 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,714 \text{ ml atau } 714 \text{ } \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm larutan diperlukan 714  $\mu\text{l}$  larutan induk sampel 700 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut.

## 4. Seri 500 ppm

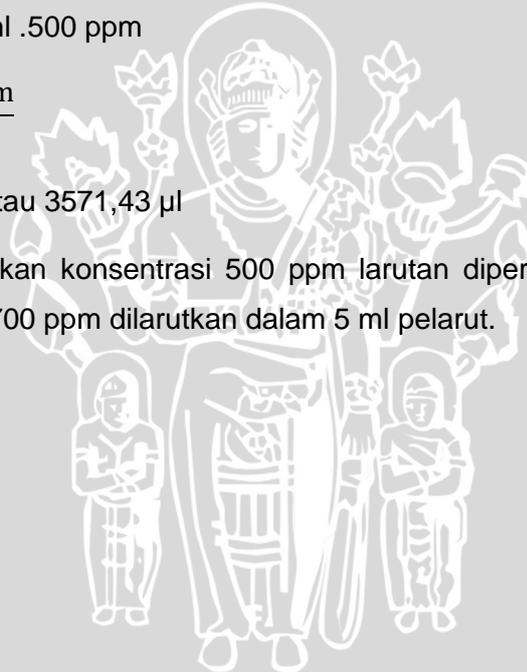
$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 700 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 500 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{5 \text{ ml} \cdot 500 \text{ ppm}}{700 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 3,57143 \text{ ml atau } 3571,43 \text{ } \mu\text{l}$$

Jadi, untuk mendapatkan konsentrasi 500 ppm larutan diperlukan 3571,43  $\mu\text{l}$  larutan induk sampel 700 ppm dilarutkan dalam 5 ml pelarut.



### Uji Aktivitas Antioksidan

sampel ekstrak metanol			larutan pembanding			IC50	IC50
konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	Konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	sampel	Vit. C
Kontrol	1,087	-	kontrol	1,087	-		
1	1,076	37,6	0,1	1,145	33,6		
10	1,050	39,1	0,2	1,139	34	283,333	0,27
100	0,920	46,7	0,3	1,135	34,2		
500	0,737	57,3	0,4	1,125	34,8		
			0,5	1,097	36,4		

#### Perhitungan Larutan Pembanding

##### ➤ Perhitungan

##### 1. % Inhibisi

Rumus % Inhibisi =

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

- **0,1 ppm**

$$\begin{aligned} &= \left[ 1 - \left( \frac{1,145}{1,724} \right) \right] \times 100\% \\ &= (1 - 0,664) \times 100\% \\ &= 0,336 \times 100\% \\ &= 33,6 \end{aligned}$$

- **0,2 ppm**

$$\begin{aligned} &= \left[ 1 - \left( \frac{1,139}{1,724} \right) \right] \times 100\% \\ &= (1 - 0,660) \times 100\% \\ &= 0,34 \times 100\% \\ &= 34 \end{aligned}$$

- **0,3 ppm**

$$\begin{aligned} &= \left[ 1 - \left( \frac{1,135}{1,724} \right) \right] \times 100\% \\ &= (1 - 0,658) \times 100\% \\ &= 0,342 \times 100\% \\ &= 34,2 \end{aligned}$$

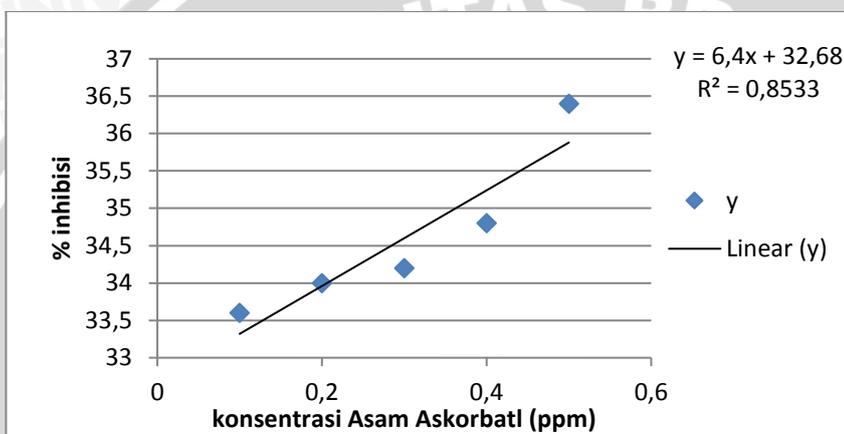
- **0,4 ppm**

$$\begin{aligned} &= \left[ 1 - \left( \frac{1,130}{1,724} \right) \right] \times 100\% \\ &= (1 - 0,655) \times 100\% \\ &= 0,348 \times 100\% \\ &= 34,8 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 &= 0,5 \text{ ppm} \\
 &= \left[ 1 - \left( \frac{1,097}{1,724} \right) \right] \times 100\% \\
 &= (1 - 0,636) \times 100\% \\
 &= 0,364 \times 100\% \\
 &= 36,4
 \end{aligned}$$

Tabel kurva regresi uji aktivitas antioksidan pembanding Vitamin C



**IC50 Asam Askorbat**

$$Y = 6.4x + 32.68$$

$$50 = 6.4x + 32.68$$

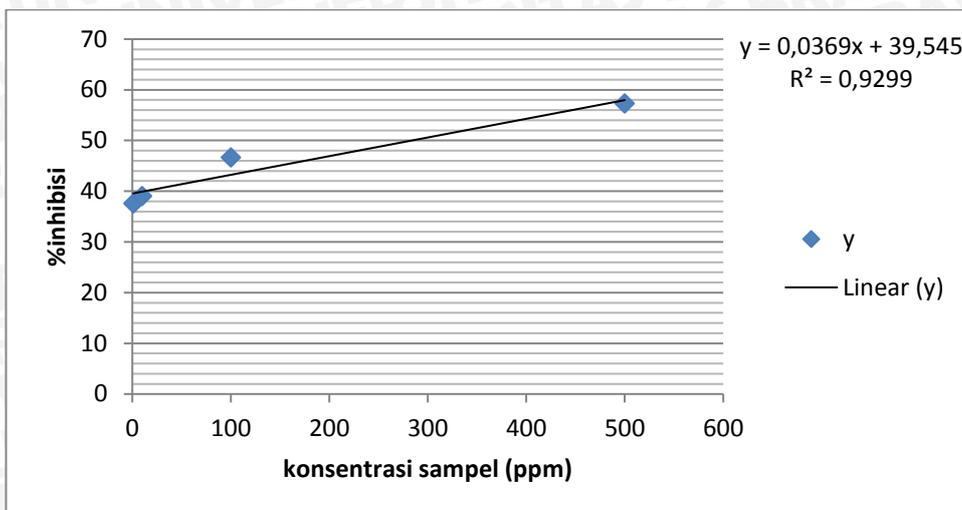
$$50 - 32.68 = 6.4x$$

$$X = \frac{50 - 32.68}{6.4}$$

$$x = 2,70625 \text{ atau IC50} = 2,70625$$



kurva regresi uji aktivitas antioksidan *Sargassum sp*



➤ **Perhitungan**

**IC50 Sampel**

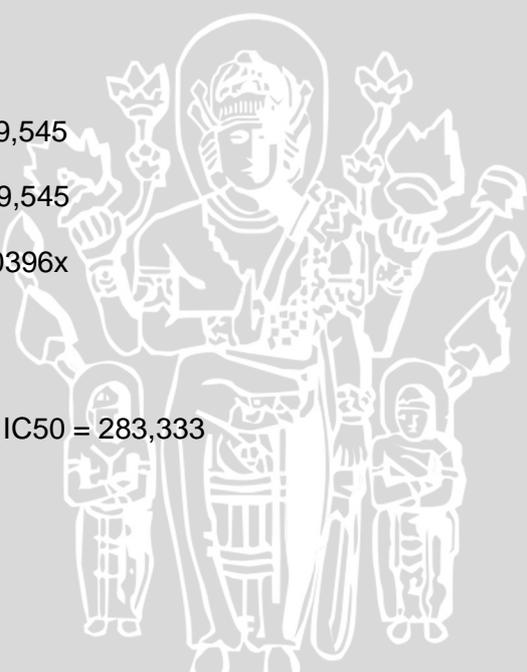
$$y = 0,0369x + 39,545$$

$$50 = 0,0369x + 39,545$$

$$50 - 39,545 = 0,0369x$$

$$x = \frac{50 - 39,545}{0,0369}$$

$$x = 283,333 \text{ atau IC50} = 283,333$$



Lampiran 11. Persiapan



Pengambilan *Sargassum* sp. segar



Penimbangan *Sargassum* sp. segar



*Sargassum* sp. segar



Proses Pencucian *Sargassum* sp. segar



Persiapan Penjemuran



*Sargassum* sp. digantungkan pada tali



Proses pengeringan angin-angin



*Sargassum* sp. kering

Kadar air



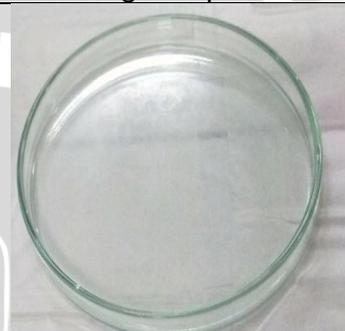
Silica gel dituang ke loyang



Silica gel siap dioven



Cawan petri di cuci dan di keringkan dengan tisu



Cawan petri siap dioven



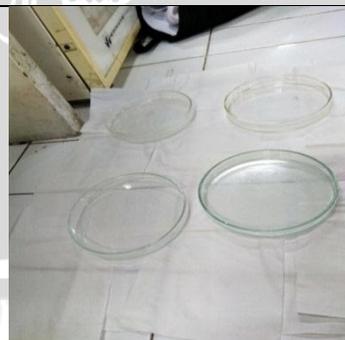
Pengovenan silica gel dan cawan petri



Silica gel setelah dioven dan dituang ke dalam desikator



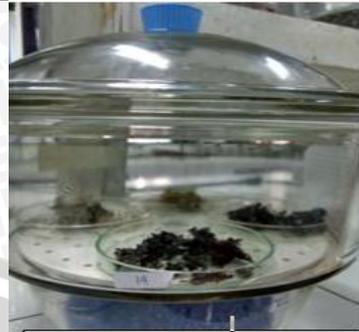
Cawan petri dimasukkan ke dalam desikator



Cawan ditimbang dan dicatat beratnya



*Sargassum* sp. kering



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



Proses Penggilingan



Sargassum sp. dimasukkan dalam cool box



Di angina-anginkan dalam ruangan



Digiling



Dimasukkan ke dalam plastik



Ditimbang



Simplisia Kasar

Proses ekstraksi



Simplisia yang telah diayak



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



Dihomogenkan setiap 2 jam selama 24 jam



Disaring dengan kertas saring



Dimasukkan ke dalam jurigen



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

Uji Kualitatif Kadar Vitamin C pada ekstrak *Sargassum* sp.



Ekstrak *Sargassum* sp



Ekstrak *Sargassum* sp. ditimbang 5 mg



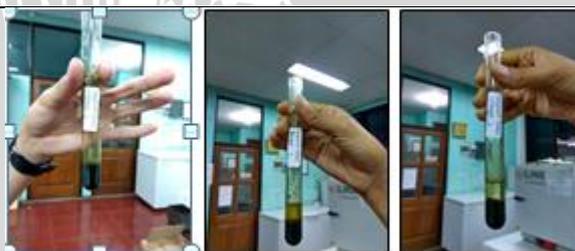
Dilartukan dengan aquades sebanyak 5 ml



Ditambahkan  $KMNO_4$  0,1%

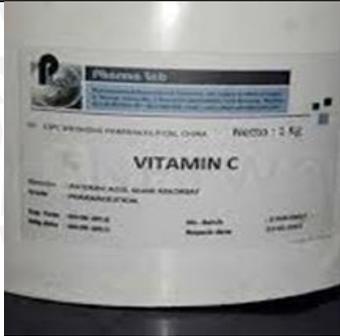


Ditambah  $KMNO_4$  0,1%, hasil positif jika terjadi endapan coklat



Hasil uji kualitatif vitamin c

Proses Uji Kuantitatif pada *Sargassum* sp.



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 *Sargassum* sp. seberat 0,05 gr



Dilarutkan dalam aquabides masing-masing 10 ml



Didapat larutan induk sampel 5000 ppm ulangan 1,2,3



Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 270 nm

Diencerkan 1 ml larutan induk bersama aquabides sebanyak 10 ml



Absorbansi dicatat



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 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 ppm



Ekstrak Sargassum sp



Ditimbang 7 mg (0,007 gram) ekstrak



Dilarutkan dengan 10 ml aquabides



Dihomogenkan



Larutan induk 700 ppm ekstrak *Sargassum* sp.



Diencerkan ke dalam deret konsentrasi 1, 10, 100, 500 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



Larutan ditutup dan dihomogenkan kemudian di inkubasi 30 menit



Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 270 nm dan hasilnya di catat

