

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ALGA COKLAT (*Sargassum binderi*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN BERBAGAI PELARUT PADA SUHU RUANG DAN SUHU RENDAH**

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

Oleh:

**INDRIANI EKA RAHMAWATI**

**NIM. 0610830050**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2011**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ALGA COKLAT (*Sargassum binderi*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN BERBAGAI PELARUT PADA SUHU RUANG DAN SUHU RENDAH**

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

Oleh:

**INDRIANI EKA RAHMAWATI**

**NIM. 0610830050**

**Mengetahui  
Ketua Jurusan MSP**

**Menyetujui  
Dosen Pembimbing I**

**Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, M.Si  
NIP. 19600322 198601 1 001  
Tanggal:**

**Ir. BAMBANG BUDI S., MS  
NIP. 19570119 198601 1 001  
Tanggal:**

**Dosen Pembimbing II**

**Rahmi Nurdiani, S.Pi, MApp.Sc  
NIP. 19761116 200112 2 001  
Tanggal:**

## RINGKASAN

**INDRIANI EKA RAHMAWATI.** Skripsi tentang Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Alga Coklat (*Sargassum binderi*) yang Diekstraksi dengan Berbagai Pelarut pada Suhu Ruang dan Suhu Rendah. Dibawah bimbingan **Ir. Bambang Budi S., MS** dan **Rahmi Nurdiani, S.Pi, MApp.Sc.**

---

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Radikal bebas merupakan jenis oksigen yang memiliki tingkat reaktivitas yang tinggi dan secara alami ada di dalam tubuh sebagai hasil dari reaksi biokimia di dalam tubuh. Radikal bebas dapat merusak sel tubuh apabila tubuh kekurangan zat antioksidan. Salah satu tanaman yang dilaporkan mengandung senyawa antioksidan adalah alga coklat.

*Sargassum binderi* merupakan salah satu spesies alga coklat yang berasal dari marga *Sargassum*. *Sargassum binderi* mengandung senyawa aktif, diantaranya alkaloid dan fenol. Senyawa alkaloid merupakan hasil metabolisme sekunder tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan.

Metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu bahan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap.

Tujuan dari penelitian ini antara lain adalah untuk mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antioksidan pada alga coklat *Sargassum binderi* dan mengetahui pengaruh perbedaan suhu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan dari alga coklat *Sargassum binderi*.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak etanol *Sargassum binderi* mengandung senyawa antioksidan alkaloid, flavonoid dan fenol. Pada uji DPPH, diketahui bahwa ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang menunjukkan hasil tertinggi yang didapat ekstrak etanol sebesar 117,087 ppm. Sedangkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu rendah dengan ekstrak etanol sebesar 165,877 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat, karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 200 ppm.

Senyawa antioksidan yang diidentifikasi dari hasil analisis GC-MS yaitu lain Benzenediol, 2-methoxy.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Alga Coklat (*Sargassum binderi*) yang Diekstraksi dengan Berbagai Pelarut pada Suhu Ruang dan Suhu Rendah”** disusun dan diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Perikanan (S.Pi) Program Studi Teknologi Industri Hasil Perikanan Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya..

Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Teristimewa kedua orang tua tercinta, saudara/saudari tersayang atas doa, kasih sayang, dan perhatian baik moril maupun materil yang selalu menyertai penulis.
2. Bapak Ir. Bambang Budi Sasmito, MS., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran sehingga penelitian penulis dapat selesai dengan baik dan skripsi ini dapat tersusun dengan baik.
3. Ibu Rahmi Nurdiani, S.Pi, M.App.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan pikirannya dalam membantu dan membimbing penulis dalam penyusunan skripsi.
4. Bapak Dr. Ir. Happy Nursyam, MS., selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan FPIK UB.
5. Para dosen, khususnya di Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK UB yang dengan ikhlas telah mentransfer ilmu dan pengalamannya demi kepentingan pendidikan.

6. Teman-teman Teknologi Industri Hasil Perikanan yang telah memberikan dorongan dan dukungan.
7. Pihak lain yang namanya tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan, doa serta semangat selama penulis menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari adanya keterbatasan kemampuan dan pengetahuan di dalam menyusun skripsi ini. Oleh karenanya penulis sangat mengharapkan masukannya, baik berupa saran dan kritik yang membangun demi perbaikan skripsi ini di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Malang, Mei 2011

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

<b>RINGKASAN</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Hipotesa.....	5
1.5 Kegunaan Penelitian .....	6
1.6 Tempat dan Waktu.....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 <i>Sargassum binderi</i> .....	7
2.2 Antioksidan .....	8
2.2.1 Fungsi Antioksidan .....	9
2.2.2 Sumber Antioksidan .....	9
2.3 Mekanisme Kerja Antioksidan .....	10
2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif .....	11
2.5 Pelarut .....	12
2.6 Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan.....	14

2.7 Kandungan Kimia Rumput Laut yang Berpotensi Sebagai Antioksidan .....	17
2.8 Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) .....	19
<b>3. METODOLOGI .....</b>	<b>21</b>
3.1 Materi Penelitian .....	21
3.1.1 Bahan .....	21
3.1.2 Alat .....	22
3.2 Materi Penelitian .....	22
3.2.1 Metode Penelitian.....	22
3.2.2 Variabel Penelitian .....	23
3.2.3 Rancangan Penelitian .....	24
3.2.4 Parameter Uji .....	25
3.2.5 Analisis Data .....	25
3.3 Prosedur Penelitian.....	25
3.3.1 Ekstraksi <i>Sargassum binderi</i> .....	25
3.3.2 Uji Antioksidan (DPPH) .....	26
3.3.3 Uji Fitokimia .....	27
3.3.3 Uji GC-MS.....	28
3.4 Skema Kerja .....	29
3.4.1 Skema Kerja Ekstraksi <i>Sargassum binderi</i> .....	29
3.4.2 Skema Kerja Uji DPPH.....	30
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Ekstraksi Alga Coklat <i>Sargassum binderi</i> .....	31
4.1.1 Rendemen .....	32
4.2 Aktivitas Antioksidan .....	33
4.2.1 Aktivitas Antioksidan pada Suhu Ruang.....	34

4.2.2 Aktivitas Antioksidan pada Suhu Rendah .....	38
4.2.3 Aktivitas Antioksidan Vitamin C .....	39
4.2.4 Pengaruh Perbedaan Suhu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan <i>Sargassum binderi</i> .....	42
4.3 Skrining Fitokimia .....	44
4.4 Analisis GC-MS .....	46
<b>5. PENUTUP</b> .....	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan .....	50
5.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>56</b>

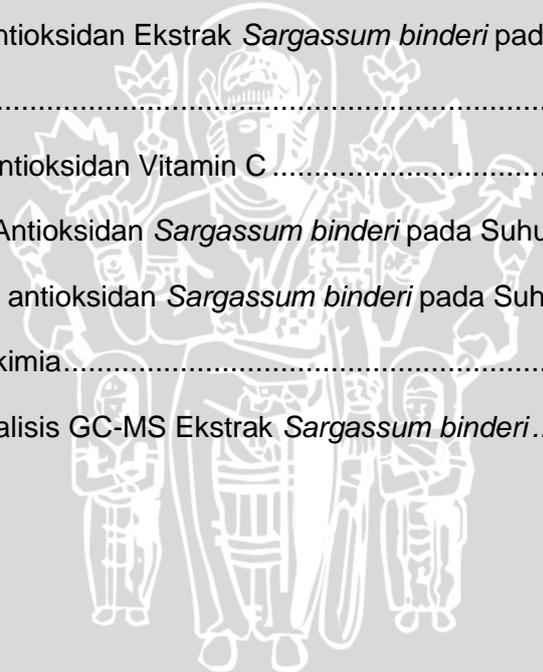


## DAFTAR GAMBAR

No.	Gambar	Halaman
1.	<i>Sargassum binderi</i> .....	8
2.	Reaksi Penghambatan antioksidan Primer terhadap Radikal Lipid .....	11
3.	Contoh Mekanisme Reaksi Senyawa Antioksidan dengan DPPH .....	16
4.	Hasil Ekstraksi dari <i>Sargassum binderi</i> dengan Pelarut Etanol, Etil Asetat, Heksan pada Suhu Ruang dan Suhu Rendah .....	31
5.	Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> yang Dimaserasi pada Suhu Ruang dengan Pelarut Etanol, Etil Asetat dan Heksan .....	37
6.	Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> yang Dimaserasi pada Suhu Rendah dengan Pelarut Etanol, Etil Asetat dan Heksan .....	40
7.	Mekanisme Reaksi yang Terjadi Antara Vitamin C dengan DPPH .....	41
8.	Hasil Skrining Fitokimia .....	45
9.	Hasil GC-MS Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> dengan Pelarut Etanol pada Suhu Ruang .....	47
10.	Struktur Benzenediol, 2 methoxy .....	48

## DAFTAR TABEL

No.	Tabel	Halaman
1.	Konstanta Dielektrik Beberapa Pelarut .....	13
2.	Sifat-sifat Pelarut Umum .....	14
3.	Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	23
4.	Rendemen Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> pada Suhu Ruang .....	32
5.	Rendemen Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> pada Suhu Rendah.....	32
6.	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> pada Suhu Ruang .....	34
7.	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> pada Suhu Ruang .....	38
8.	Nilai IC <sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan Vitamin C .....	40
9.	Notasi BNT 5% Uji Antioksidan <i>Sargassum binderi</i> pada Suhu Ruang ...	43
10.	Notasi BNT 5% Uji antioksidan <i>Sargassum binderi</i> pada Suhu Rendah	43
11.	Hasil Skrining Fitokimia.....	44
12.	Senyawa Hasil Analisis GC-MS Ekstrak <i>Sargassum binderi</i> .....	47



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut adalah bentuk poliseluler dari ganggang (alga) yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi *Thallophyta*. Tanaman ini tidak mempunyai akar, batang dan daun seperti lazimnya tanaman tingkat tinggi. Struktur tanaman secara keseluruhan merupakan batang yang dikenal sebagai *thallus* (Guhardja, 1981). Rumput laut mempunyai banyak jenis, terbagi berdasarkan warna/pigmennya ke dalam beberapa kelas, yaitu *chlorophyceae* (alga hijau), *phaeophyceae* (alga coklat), *rhodophyceae* (alga merah), *cyanophyceae* (alga hijau-biru), *myxophyceae*, dan *xanthophyceae* (Istini, *et al.*, 2009).

Jenis rumput laut coklat yang terdapat di perairan Indonesia ada 28 spesies yang berasal dari 6 genus yaitu *Sargassum*, *Turbinaria*, *Padina*, *Dictyota*, *Hormophysa* dan *Hydroclathrus* (Yunizal, 2004). *Sargassum binderi* merupakan salah satu spesies alga yang berasal dari marga *Sargassum*. Kandungan yang sangat bernilai ekonomis dari *Sargassum* adalah alginat. Karbohidrat yang terdapat dalam *Sargassum* antara lain mannitol, fukosan, galaktose, xylose, dan asam guluronat. Selain karbohidrat beberapa jenis *Sargassum* juga mengandung senyawa aktif, diantaranya sterisdea, alkaloida, fenol. *Sargassum* sp. juga dikenal banyak mengandung *trace elements* yang sangat baik untuk kesehatan, kandungan mineralnya yang tinggi merupakan alasan utama mengapa *Sargassum* banyak dikonsumsi di negara-negara Jepang, Cina, Thailand dan negara-negara lain sebagai makanan kesehatan (Rachmat, 1999).

Hasil penelitian beberapa tahun terakhir menunjukkan adanya kandungan antioksidan di beberapa jenis alga sehingga berpotensi sebagai produk pangan

fungsional. Beberapa penelitian mengenai antioksidan yang terkandung dalam makroalga diantaranya oleh Jimenez-Escrig *et al.* (2001), yang mempelajari tentang aktivitas antioksidan di dalam alga-alga yang tumbuh di Spanyol dan Portugal dalam bentuk segar maupun hasil olahannya, dengan aktivitas tertinggi terdapat pada *Fucus vesiculosus* (alga coklat). Nagai & Yukimoto (2003) meneliti tentang aktivitas antioksidan dalam minuman yang dibuat dari alga di Jepang yaitu *Undaria pinnatifida*, *Ecklonia cava*, *Hizikia fusiforme* dan *Ulva pertusa* dengan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada *Ecklonia cava* (alga coklat). Sedangkan Santoso *et al.* (2004), meneliti aktivitas antioksidan dari ekstrak methanol dari alga di Indonesia diantaranya alga dari spesies *Caulerpa serlaroides*, *Cladophoropsis vaucheriaeformis*, *Halimeda macroloba*, *Ulva reticulata*, *Padina australis*, *Sargassum polycystum* dan *Turbinaria cocoides* dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada *Ulva reticulata* (alga hijau) (Kusumawati, 2009).

Antioksidan merupakan senyawa penting yang mampu menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk selama metabolisme tubuh (Hernandi dan Rahardjo, 2005). Tubuh memerlukan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini (Sibuea, 2003). Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, atau DNA. Reaksi antara radikal bebas dan molekul tersebut dapat berujung pada timbulnya suatu penyakit (Sofia 2008). Radikal bebas dalam jumlah berlebih di dalam tubuh sangat berbahaya karena menyebabkan kerusakan sel, asam nukleat, protein dan jaringan lemak. Radikal bebas terbentuk di dalam tubuh akibat produk sampingan proses metabolisme

ataupun karena terdapat radikal bebas dalam tubuh melalui pernapasan (Dalimarta dan Soedibyo, 1998 dalam Pratiwi *et al.* 2006).

Senyawa fenol merupakan kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini diklasifikasikan dalam dua bagian yaitu fenol sederhana dan polifenol (Marinova, *et al.* (2005) dalam Indraswari (2008)). Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Umumnya mudah larut dalam air karena sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol (Harbone, 1987).

Untuk mendapatkan senyawa antioksidan dari *Sargassum binderi*, dilakukan proses ekstraksi. Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Proses ekstraksi senyawa antioksidan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueous phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueous phase* dilakukan dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi *organic phase* menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978).

Suatu ekstrak tumbuhan dapat diekstraksi secara maksimal dengan suatu seri pelarut yang meningkat kepolarannya, yaitu heksana, etil asetat dan etanol, maka fraksi bobot ekstrak yang paling besar pada umumnya adalah etanol (Munifah, *et al.*, 2005). Suratmo (2009), mengekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan pelarut etanol, etil asetat dan heksan dan didapatkan hasil

bahwa daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang diekstrak dengan etanol mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi.

Dalam proses melarutkan komponen antioksidan ekstrak *Sargassum binderi*, faktor pelarut dan suhu dapat berpengaruh dalam keberhasilan suatu ekstraksi (Wassil, 1995). Pada suhu yang lebih tinggi pelarut lebih mudah menembus sel-sel bahan dan mengekstrak komponen-komponen yang bertitik didih tinggi. Suhu yang rendah pelarut sulit menembus sel-sel bahan sehingga komponen-komponen dalam ekstrak tidak terekstrak sempurna (Fajriyani, 2008).

Metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu bahan adalah dengan menggunakan radikal bebas *diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH). DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan cara mendelokasi elektron bebas pada suatu molekul, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas yang lain. Proses delokalisasi ini ditunjukkan dengan adanya warna ungu (violet) pekat yang dapat dikarakterisasi pada pita absorbansi (Molyneux, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam laut Indonesia dengan menguji aktivitas antioksidan dan mengidentifikasi senyawa berkhasiat sebagai antioksidan dalam alga coklat *Sargassum binderi*. Penggunaan pelarut dan suhu yang tepat dapat mengoptimalkan proses ekstraksi dan senyawa antioksidan yang didapatkan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya informasi mengenai kandungan senyawa antioksidan *Sargassum binderi* yang dapat bermanfaat untuk bidang pangan. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai jenis pelarut dan suhu yang tepat digunakan pada proses ekstraksi antioksidan alga coklat *Sargassum binderi*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan studi pustaka alga coklat adalah salah satu biota laut yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan telah banyak diketahui manfaatnya. Manfaat tersebut antara lain adalah sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan dan menghambat aktivitas enzim (Satari, 1996). Untuk mendapatkan zat antioksidan diperlukan metode ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi yang tepat memerlukan adanya pelarut dan suhu ekstraksi yang sesuai, sehingga diperoleh senyawa antioksidan sesuai dengan kualitas dan kuantitas yang diinginkan. Dari uraian tersebut didapat permasalahan sebagai berikut:

1. Pelarut manakah yang efektif digunakan untuk mengekstrak komponen antioksidan pada alga coklat *Sargassum binderi*?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan suhu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan dari alga coklat *Sargassum binderi*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan ini adalah:

1. Mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antioksidan pada alga coklat *Sargassum binderi*.
2. Mengetahui pengaruh perbedaan suhu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan dari alga coklat *Sargassum binderi*.

#### 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

Ho: Diduga pelarut dengan polaritas yang berbeda dan suhu ekstraksi yang berbeda tidak memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sargassum binderi*.

H1: Diduga pelarut dengan polaritas yang berbeda dan suhu ekstraksi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sargassum binderi*.

#### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga dan institusi lain mengenai manfaat senyawa bioaktif yang ada pada *Sargassum binderi* dan masyarakat dapat memanfaatkan *Sargassum binderi* sebagai alternatif antioksidan alami yang sangat potensial.

#### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan Laboratorium Kimia Organik Universitas Gajah Mada, pada bulan Oktober-Desember 2010.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Sargassum binderi*

Karakteristik *Sargassum binderi* antara lain: batang gepeng (1,5 mm), halus licin, tinggi mencapai sekitar 60 cm, percabangan teratur, opposite (kiri-kanan). Cabang utama yang pendek (1-2 cm) diatas *holdfast*. Daun lonjong, pinggir bergerigi, panjang 5 cm, lebar 1 cm ujung runcing. Tumbuh pada substrat batu umumnya di daerah rataaan terumbu dekat bagian ujung luar yang terkena gerakan air relatif lebih kuat dan konstan (Zaifbio, 2009).

Klasifikasi ilmiah *Sargassum binderi* dalam Ensiklopedia (2009) adalah sebagai berikut:



Domain	: <a href="#">Eukaryota</a>
Kingdom	: <a href="#">Chromista</a>
Subkingdom	: Chromobiota
Infrakingdom	: <a href="#">Heterokonta</a>
Filum	: <a href="#">Ochrophyta</a>
Subfilum	: <a href="#">Phaeista</a>
Infrafilum	: <a href="#">Chrysista</a>
Superkelas	: Phaeistia
Kelas	: <a href="#">Phaeophyceae</a>
Ordo	: <a href="#">Fucales</a>
Famili	: <a href="#">Sargassaceae</a>
Genus	: <a href="#">Sargassum</a>
Spesies	: <i>Sargassum binderi</i>

Alga *Sargassum binderi* merupakan salah satu spesies rumput laut yang berasal dari marga *Sargassum* kelas *Phaeophyta*. Alga *Sargassum* mudah diperoleh di perairan Indonesia, kandungan bahan kimia utama sebagai sumber alginat dan mengandung protein, vitamin C, tannin, iodine, phenol sebagai obat gondok, anti bakteri dan tumor (Kadi, 2009). Gambar *Sargassum binderi* dapat dilihat pada Gambar 1.



a. sampel

b. Kadi (2009)

**Gambar 1. *Sargassum binderi***

Kelas *Phaeophyta* atau lebih dikenal sebagai alga coklat mengandung berbagai *trace element* antara lain kalsium, vitamin, mineral, kalium, magnesium, natrium, Fe, Iod, Cu, Zn, S, P dan N, alkohol, polisakarida. Kandungan polisakarida berupa alginat, laminaran dan fukoidan. Kandungan lainnya yaitu mannitol, pigmen beta karoten, xanthin dan picoxanthin yang berwarna merah dan dipakai sebagai zat warna untuk lipstik. Kandungan metabolit sekunder dalam alga coklat juga sudah mulai diteliti antara lain kandungan steroid, alkaloid, phenol, dan vitamin. Ternyata alga coklat sangat kaya akan kandungan steroid, alkaloid dan phenol. Beberapa alga coklat telah diteliti aktivitasnya sebagai antioksidan, kemungkinan yang berkhasiat disini adalah senyawa fenol yang dikandungnya (Rachmat, 1999).

## 2.2 Antioksidan

Zat antioksidan adalah substansi yang dapat menetralkan atau menghancurkan radikal bebas. Radikal bebas merupakan jenis oksigen yang memiliki tingkat reaktif yang tinggi dan secara alami ada di dalam tubuh sebagai hasil dari reaksi biokimia di dalam tubuh. Radikal bebas dapat merusak sel tubuh apabila tubuh kekurangan zat antioksidan atau saat tubuh kelebihan radikal bebas (Prangdimurti, 2007). Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Kuncahyo dan Sunardi, 2007).

Beberapa tipe bahan kimia efektif menghambat proses autooksidasi lemak tidak jenuh dan menghambat polimerisasi. Pada umumnya, antioksidan mengandung struktur inti yang sama, yaitu mengandung cincin benzene tidak jenuh disertai gugusan hidroksi atau gugusan amino. Beberapa golongan antioksidan dapat dibagi menjadi golongan phenol, golongan amin, dan golongan amino-phenol (Ketaren, 2004).

### 2.2.1 Fungsi Antioksidan

Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas, sehingga atom dan elektron yang tidak berpasangan mendapatkan pasangan elektron dan menjadi stabil. Keberadaan antioksidan dapat melindungi tubuh dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker. Selain itu antioksidan juga membantu menekan proses penuaan/*antiaging* (Tapan, 2005).

### 2.2.2 Sumber Antioksidan

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat, Tert-butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain (Rohman dan Rianto, 2005).

### 2.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

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

repository.ub.ac.id

permutasan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990). Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (Gambar 2). Radikal-radikal antioksidan (A●) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon,1993).



Radikal lipid



**Gambar 2. Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer Terhadap Radikal Lipida (Gordon, 1993).**

#### 2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif

Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Proses ekstraksi senyawa antioksidan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueus phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueus phase* dilakukan dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi *organic phase* menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisa dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif akan larut. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan. Bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh simplisa. Rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau perubahan warna). Waktu maserasi pada umumnya 5 hari. Setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai. Dengan pengocokan dijamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya bahan aktif (Indraswari, 2008).

## 2.5 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan. Dalam pemilihan pelarut harus melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar (Guether, 1987).

Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar, dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non polar (Vogel, 1987).

Menurut Susanto (1999), akhir-akhir ini ada kecenderungan semakin banyak pelarut bukan air digunakan dalam pemeriksaan kimia, pelarut tersebut biasanya berupa pelarut organik. Selain itu, pelarut tersebut bisa digunakan sebagai campuran dengan beberapa pelarut organik lain atau dengan air. Salah satu ciri penting dari pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat/ senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan/ kutub dalam ruangan hampa dengan gaya bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut. Jadi umumnya pelarut-pelarut yang berkutub (polar) dapat melarutkan zat-zat yang berkutub, dan pelarut yang tak berkutub dapat melarutkan zat-zat yang tidak berkutub. Beberapa tetapan dielektrik bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut**

Pelarut	Konstanta Dielektrik (D)	Tingkat Kelarutan Dalam Air
Kloroform	4,806	Sedikit
Etil asetat	6,02	Sedikit
n-butanol	17,80	Sedikit
2-propanol	18,30	Misibel
1-propanol	20,10	Sedikit
Aseton	20,70	Misibel
Etanol	24,30	Misibel
Metanol	33,60	Misibel
Air	80,40	Misibel

Keterangan : Misibel = dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi

Sumber : Sudarmadji, *et al.*, (1997)

Ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut dengan kepolaran sedang, maka diharapkan yang terekstrak senyawa-senyawa dengan kepolaran yang sedang (Suratmo, 2009).

Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa-senyawa yang diinginkan. Larutan pengekstraksi yang digunakan yaitu:

- a. Heksana: Heksana termasuk golongan alkana  $C_nH_{2n+2}$ . Heksana merupakan cairan yang tidak berwarna, memiliki titik didih  $690^{\circ}C$  dan titik beku  $-94,30^{\circ}C$ , tidak larut dalam air (non polar) dan memiliki rumus struktur  $C_6H_{14}$ . Pada umumnya heksana dimanfaatkan sebagai pelarut karena sifatnya yang inert, tidak bereaksi dengan komponen yang akan disintesis (Iskandar, 2007).
- b. Etil Asetat: Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid (Harbone, 1987).
- c. Etanol: Tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Umumnya yang digunakan sebagai cairan pengekstraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan. Etanol akan melarutkan senyawa polar yang terdapat dalam protoplasma seperti senyawa glikosida, vitamin C dan saponin (Harbone, 1987).

Tabel 2. Sifat-Sifat Pelarut Umum

Solvent	Rumus kimia	Titik didih	Konstanta Dielektrik	Massa jenis
<b>Pelarut Non-Polar</b>				
<a href="#">Heksana</a>	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	69 °C	2.0	0.655 g/ml
<a href="#">Benzena</a>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	80 °C	2.3	0.879 g/ml
<a href="#">Toluena</a>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>3</sub>	111 °C	2.4	0.867 g/ml
<a href="#">Dietil eter</a>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	35 °C	4.3	0.713 g/ml
<a href="#">Kloroform</a>	CHCl <sub>3</sub>	61 °C	4.8	<b>1.498 g/ml</b>
<a href="#">Etil asetat</a>	CH <sub>3</sub> -C(=O)-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	77 °C	6.0	0.894 g/ml
<b>Pelarut Polar Aprotic</b>				
1,4-Dioksana	/-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-\	101 °C	2.3	<b>1.033 g/ml</b>
<a href="#">Tetrahidrofuran (THF)</a>	/-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -\	66 °C	7.5	0.886 g/ml
Diklorometana (DCM)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40 °C	9.1	<b>1.326 g/ml</b>
<a href="#">Asetona</a>	CH <sub>3</sub> -C(=O)-CH <sub>3</sub>	56 °C	21	0.786 g/ml
Asetonitril (MeCN)	CH <sub>3</sub> -C≡N	82 °C	37	0.786 g/ml
Dimetilformamida (DMF)	H-C(=O)N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	153 °C	38	0.944 g/ml
Dimetil sulfoksida (DMSO)	CH <sub>3</sub> -S(=O)-CH <sub>3</sub>	189 °C	47	<b>1.092 g/ml</b>
<b>Pelarut Polar Protic</b>				
<a href="#">Asam asetat</a>	CH <sub>3</sub> -C(=O)OH	118 °C	6.2	<b>1.049 g/ml</b>
<i>n</i> -Butanol	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	118 °C	18	0.810 g/ml
Isopropanol (IPA)	CH <sub>3</sub> -CH(-OH)-CH <sub>3</sub>	82 °C	18	0.785 g/ml
<i>n</i> -Propanol	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	97 °C	20	0.803 g/ml
<a href="#">Etanol</a>	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	79 °C	30	0.789 g/ml
<a href="#">Metanol</a>	CH <sub>3</sub> -OH	65 °C	33	0.791 g/ml
<a href="#">Asam format</a>	H-C(=O)OH	100 °C	58	<b>1.21 g/ml</b>
<a href="#">Air</a>	H-O-H	100 °C	80	1.000 g/ml

Sumber: Wikipedia, (2009)

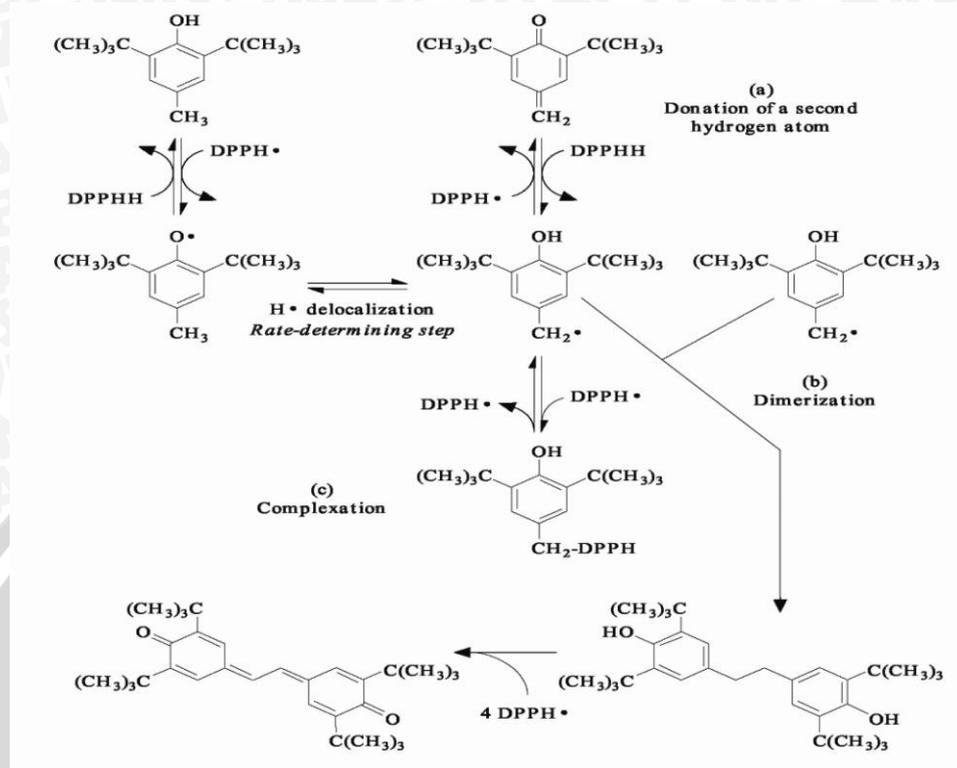
## 2.6 Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif karena kehilangan satu atau lebih elektron yang bermuatan listrik, dan untuk mengembalikan keseimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut. Radikal bebas dalam jumlah berlebih di dalam tubuh

sangat berbahaya karena menyebabkan kerusakan sel, asam nukleat, protein atau jaringan lemak (Praptiwi *et al.*, 2006).

Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang. Perubahan ini dapat diukur secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat antioksidan (Suratmo, 2009).

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk *screening* aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu mereka ini terbukti akurat, reliable dan praktis (Pratimasari, 2009). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2005). Contoh mekanisme reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH terdapat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Contoh mekanisme reaksi senyawa antioksidan (BHT) dengan DPPH (Bondet, *et al.*, 1997)**

Mekanisme reaksi antara antioksidan dengan DPPH tergantung pada struktur antioksidan. Beberapa senyawa bereaksi sangat cepat dengan DPPH dengan mereduksi molekul DPPH sama dengan jumlah gugus hidroksil yang tersedia. Tiga jalur reaksi BHT/ DPPH yang memungkinkan yaitu delokalisasi, dimerisasi dan kompleksasi. Setelah reaksi pertama, yaitu  $\text{DPPH} + \text{AH} \leftrightarrow \text{DPPHH} + \text{A}$ . BHT membentuk gugus kenolik dengan diberikannya atom hidrogen kedua setelah regenerasi gugus hidroksil dengan cara dimerisasi. Hal ini dapat menimbulkan reaksi untuk kedua kalinya dengan DPPH untuk memproduksi bi-quinonoid. Jalur ketiga melibatkan kompleksasi (Bondet, *et al.*, 1997).

Menurut Brand-Williams (1995) ada tiga langkah reaksi antara DPPH dengan zat antioksidan, dicontohkan senyawa monofenolat. Langkah pertama

meliputi delokalisasi satu elektron pada gugus yang tersubstitusi para dari senyawa tersebut, kemudian memberikan atom hidrogen untuk mereduksi DPPH. Langkah berikutnya meliputi dimerisasi antara dua radikal fenoksil, yang akan mentransferradikal hydrogen yang akan bereaksi kembali dengan radikal DPPH. Langkah terakhir adalah pembentukan kompleks antara radikal aril dengan radikal DPPH. Pembentukan dimer maupun kompleks antara zat antioksidan dengan DPPH tergantung pada kestabilan dan potensial reaksi dari struktur molekulnya.

## 2.7 Kandungan Kimia Rumput Laut yang Berpotensi Sebagai Antioksidan

### a. Senyawa Fenol

Senyawa fenol tersubstitusi telah banyak digunakan sebagai antioksidan. Kerja antioksidan dalam reaksi oksidasi adalah menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada tahap propagasi dari reaksi autooksidasi. Antioksidan yang baik adalah senyawa yang mampu membuat radikal fenol dari antioksidan menjadi lebih stabil. Senyawa turunan fenol tersubstitusi ini banyak terdapat pada berbagai tumbuhan tropis berupa senyawa turunan polifenol (Tahir, *et. al.*, 2003)

Senyawa fenol merupakan kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini diklasifikasikan dalam dua bagian yaitu fenol sederhana dan polifenol. Fenol sederhana disebut juga asam fenolat contohnya katekol dengan 2 gugus OH dan pirogalol dengan 3 gugus OH, sedangkan senyawa polifenol contohnya fenilpropanoid, kuinon, tannin, flavonoid, dan beberapa terpenoid (Harbone, 1987).

Kandungan senyawa fenolik banyak diketahui sebagai terminator radikal bebas dan pada umumnya kandungan senyawa fenolik berkorelasi positif terhadap aktivitas antiradikal, sedangkan polifenol memiliki kemampuan untuk berikatan dengan metabolit lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat membentuk senyawa kompleks yang stabil sehingga menghambat mutagenesis dan karsinogenesis. Selain itu, polifenol memiliki sifat antioksidatif dan antitumor (Mukhopadhyay, 2000).

#### b. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia tanaman hasil metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran (Sirait, 2007). Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa (adanya gugus amino) yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik (Harborne, 1984).

#### c. Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mempunyai struktur C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida (Harborne, 1984). Senyawa flavonoid dilaporkan mempunyai berbagai aktivitas farmakologis seperti: antiinflamasi, antioksidan, antibakteri dll. Senyawa ini tersebar pada tumbuhan baik tingkat rendah maupun tinggi, pada hampir pada setiap bagian tanaman (Mun'im, 2005).

Flavonoid memberikan kontribusi keindahan dan kesemarakan pada buah-buahan di alam. Flavon memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warna merah, ungu atau biru, yaitu semua warna yang terdapat pada pelangi kecuali hijau (Sastrohamidjojo, 1996). Flavonoid pada tumbuhan

berfungsi dalam pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus dan kerja terhadap serangga (Robinson, 1995).

## 2.8 Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS)

Teknik analisis GC-MS merupakan gabungan dari teknik kromatografi gas dan teknik spektrometri massa. Kromatografi gas berfungsi sebagai pemisah senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel yang dianalisis dengan resolusi tinggi, sedangkan bagian spektrometri massa berfungsi mengidentifikasi senyawa-senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas dimana senyawa akan dibombardir dengan elektron sehingga senyawa terpecah dalam fragmen-fragmen molekuler. Pola pecahannya menunjukkan karakteristik, dan disebut "sidik jari molekuler" dari suatu senyawa (Putra, 2007).

Prinsip kerja kromatografi didasarkan pada pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi. Gas membawa sampel melalui kolom-kolom *chromatographic*, dan sampel dipisahkan pada temperatur mendidih dan afinitasnya pada kolom. Campuran diidentifikasi oleh timing pemisahan, dikenal dengan *retention time*. *Retention time* ini bersifat unik pada berbagai jenis sampel dan itu ditunjukkan pada kolom *chromatographic* (Gandjar dan Rohman, 2007).

Sebagai pelengkap perangkat analisis GC-MS, spektrometri massa berfungsi menembaki bahan yang sedang diteliti dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu fragmen. Terpisahnya fragmen didasarkan pada massanya (lebih tepat, massa dibagi muatan). Keuntungan utama spektrometri massa sebagai metode analisis yaitu metode ini lebih sensitif dan spesifik untuk identifikasi senyawa yang tidak diketahui. Hal ini disebabkan adanya pola fragmentasi yang khas sehingga dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul dan rumus molekul. Puncak ion molekul penting dikenali karena memberikan bobot molekul senyawa yang diperiksa. Puncak paling kuat pada spektrum disebut puncak dasar (*base peak*) dan dinyatakan dengan nilai 100% (Silverstein, 1991).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan

Alga coklat *Sargassum binderi* segar diperoleh dari perairan Kabupaten Sumenep, Pulau Madura, Jawa Timur. Rumput laut dicuci menggunakan air mengalir untuk membersihkan sisa lumpur, pasir dan kotoran lainnya yang masih melekat. Setelah itu sampel dibungkus dalam kantong plastik warna hitam, lalu sampel dimasukkan ke dalam *coolbox* lalu diberi es balok dan bagian luar *coolbox* disegel dengan lakban untuk mempertahankan suhu rendah (*cold chain system*) dalam *coolbox* selama proses transportasi. Selang waktu pengangkutan dari tempat pemanenan ke laboratorium adalah semalam (24 jam).

Bahan kimia yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan alga coklat *Sargassum binderi* yaitu pelarut n-heksan teknis, pelarut etil asetat teknis, serta pelarut etanol teknis. Ketiga pelarut teknis yang digunakan memiliki konsentrasi yang sama yakni 96%, hal ini bertujuan untuk menghindari pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap kadar ekstrak yang didapat. Bahan lain yang digunakan adalah aquades yang digunakan pada *waterbath* pada saat proses pengentalan ekstraksi (pemisahan pelarut dari ekstrak) dengan *vacuum rotary evaporator*.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji DPPH adalah serbuk DPPH sebesar 20 mg yang diperoleh dari Laboratorium THP Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Malang.

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah sebagai berikut:

- Uji Alkaloid: HCL 2N, dan 6 ml aquadest
- Uji Fenol: 20 ml etanol 96%, larutan  $\text{FeCl}_3$ ,
- Uji Flavonoid serbuk magnesium (Mg) dan 2 ml HCL 2N.

### 3.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam maserasi (ekstraksi) senyawa antioksidan dari alga coklat *Sargassum binderi* adalah baskom, pisau, talenan, timbangan analitik, *beaker glass* 300 ml, erlenmeyer 300 ml, gelas corong, spatula, gelas ukur, inkubator oven untuk pengondisian suhu 40 °C serta lemari es untuk pengondisian suhu rendah dan untuk menyimpan sampel. Alat-alat yang digunakan pada saat pemisahan pelarut dari ekstrak adalah 1 unit *rotary vacuum evaporator* dan botol vial. Adapun alat-alat yang digunakan untuk uji DPPH adalah botol vial, erlen meyer 250 ml, beaker glas 100 ml, bola hisap, pipet volume 10 ml dan pipet volume 5 ml. Untuk identifikasi senyawa fitokimia digunakan alat beaker glass 100 ml, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, dan untuk identifikasi kandungan senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak digunakan 1 unit alat GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) yang terdapat pada Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

## 3.2 Materi Penelitian

### 3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen. Penelitian eksperimental lebih mudah dilakukan di laboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia, dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen. Penelitian dapat dilakukan tanpa atau dengan kelompok pembanding (Nazir,1989).

Metode eksperimen dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pelarut dan suhu yang paling baik terhadap aktivitas antioksidan hasil ekstraksi alga coklat *Sargassum binderi*. Hipotesis ini dibuktikan dengan melakukan uji daya penghambatan radikal bebas dari senyawa yg berhasil diekstraksi oleh jenis pelarut yang berbeda. Indikator atau parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ), yaitu konsentrasi yang diperlukan antioksidan untuk menangkap 50% radikal DPPH. Ekstrak dengan nilai  $IC_{50}$  terbaik selanjutnya diidentifikasi komponen antioksidannya dengan metode uji Fitokimia dan Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS). Senyawa diidentifikasi berdasarkan kesamaan *peak* hasil GC-MS dengan *peak* standar pada luas dan retensi waktu tertentu.

### 3.2.2 Variabel Penelitian

Menurut Surachmad (1994), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang

diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan jenis pelarut yang berbeda pada saat ekstraksi yaitu heksana 96%, etil asetat 96% dan etanol 96%, serta perbedaan suhu ekstraksi, yaitu suhu ruang dan suhu rendah. Variabel terikat penelitian ini adalah nilai *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ) ekstrak *Sargassum binderi*.

### 3.2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian uji DPPH yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 16 perlakuan yakni 12 perlakuan dengan menggunakan ekstrak *Sargassum binderi* yang dibuat dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dengan pelarut yang berbeda-beda dan 4 perlakuan vitamin C yang dibuat dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm yang digunakan sebagai kontrol perbandingan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan diuji daya hambatnya pada suhu maserasi yang berbeda yaitu suhu ruang dan suhu rendah.

**Tabel 3. Rancangan Penelitian RAL**

Pelarut	Ulangan IC <sub>50</sub> (ppm)			Total
	1	2	3	
A				
B				
C				
D				

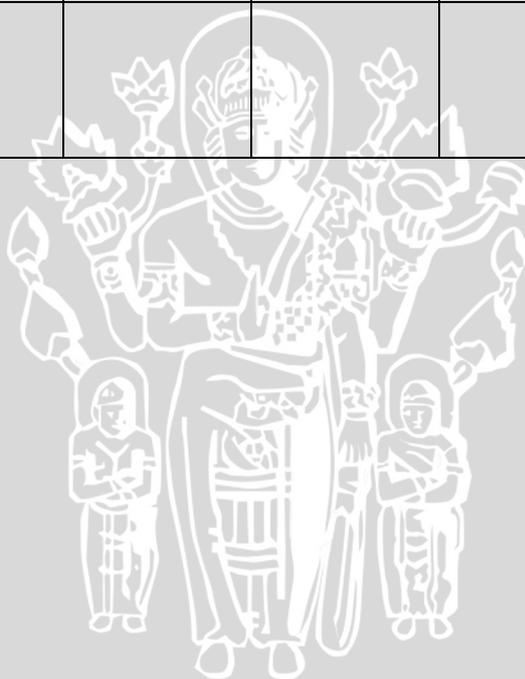
Perlakuan:

A : Pelarut Etanol

B : Pelarut Etil Asetat

C : Pelarut Heksan

D : Kontrol Vitamin C



### 3.2.4 Parameter Uji

Parameter yang dilakukan adalah parameter kuantitatif dan kualitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil perhitungan  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi yang diperlukan antioksidan untuk menangkap 50% radikal DPPH. Sebagai pembanding (kontrol) digunakan vitamin C, kemudian dilakukan pengukuran zona hambat dari masing-masing pelarut untuk mengetahui apakah zona hambat yang dihasilkan berasal dari daya antoksidan ekstrak itu sendiri atau berasal dari pelarutnya yang memang hakikatnya sudah memiliki memiliki daya antioksidan dan hasil identifikasi fitokimia berupa senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, untuk parameter kualitatif yaitu dari hasil analisis uji GC-MS untuk mengetahui senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan.

### 3.2.5 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT pada taraf 5 % untuk mengetahui perlakuan terbaik, dalam hal ini jenis pelarut yang digunakan.

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Ekstraksi *Sargassum binderi*

Prosedur ekstrak *Sargassum binderi*:

- *Sargassum binderi* segar dicuci bersih.
- Setelah dicuci, diangin-anginkan hingga kering.
- Setelah kelihatan kering, *Sargassum binderi* dipotong kecil-kecil.
- Setelah itu ditimbang sebanyak 200 g.
- Dimaserasi menggunakan 3 macam pelarut (heksan, etil asetat, etanol) 3x24 jam.
- Setelah dimaserasi sampel disaring menggunakan kertas saring.
- Didapatkan filtrat dengan 3 macam fase (polar, semi polar, non polar).
- Filtrat dengan 3 macam fase yang berbeda di rotary evaporator dengan suhu 40°C.
- Dihasilkan 3 macam ekstrak yaitu polar, semi polar, non polar dari *Sargassum binderi*.

#### 3.3.2 Uji Antioksidan (DPPH)

Analisis DPPH dilakukan terhadap hasil ekstrak heksan, etil asetat, etanol dari *Sargassum binderi* dan dilihat nilai anti radikal bebasnya. Berdasarkan Hanani *et al.* (2005), ekstrak heksan, etil asetat, dan etanol *Sargassum binderi* dilarutkan dalam etanol dan dibuat dalam konsentrasi (25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm). Masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 4,5 ml. Ke dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 0,5 mL larutan DPPH 1mM dalam etanol. Volume dicukupkan dengan etanol sampai 5,0 mL, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan ini selanjutnya

diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan vitamin C. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100$$

Nilai konsentrasi dan hambatan ekstrak diplot masing-masing pada sumbu x dan y. Persamaan garis yang diperoleh dalam bentuk  $y = b(x) + a$  digunakan untuk mencari nilai IC (inhibitor concentration), dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai  $IC_{50}$  menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%.

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode analisis kimia secara kualitatif dan secara kuantitatif. Analisis secara kualitatif berdasarkan pada panjang gelombang yang ditunjukkan oleh puncak spektrum sedangkan analisis secara kuantitatif berdasarkan pada penurunan intensitas cahaya yang diserap oleh suatu media. Intensitas ini tergantung pada tebal tipisnya media dan konsentrasi warna spesies yang ada pada media tersebut. Pembentukan warna dilakukan dengan cara menambahkan bahan pengompleks yang selektif terhadap unsur yang ditentukan (Fatimah dan Yoskasih, 2006).

Menurut Sudarmadji, et al., (1980), bahwa prosedur dasar dalam analisis kuantitatif secara spektrofotometri adalah membandingkan absorbansi energi radiasi pada suatu panjang gelombang tertentu oleh larutan, contoh terhadap larutan dua standar. Hal ini sesuai dengan Ketaren (2005), bahwa spektrofotometer dapat digunakan untuk menentukan warna dan kejernihannya. Kejernihan dan warna dapat dinyatakan persen transmittan dengan menggunakan alat spektrofotometer.

### 3.3.3 Uji Fitokimia (Harborne, 1987)

Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak *Sargassum binderi* masing-masing pelarut. Uji fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, steroid, flavonoid, fenol. Metode uji didasarkan pada Harborne (1987).

#### a. Uji Alkaloid

Larutan ekstrak sebanyak 3 ml ditambahkan dengan 1 ml HCl 2 N, dan 6 ml air suling, kemudian panaskan selama 2 menit didinginkan kemudian disaring. Filtrat diperiksa adanya senyawa alkaloid dengan terdapatnya endapan berwarna putih.

#### b. Uji Fenol (pereaksi $\text{FeCl}_3$ )

Sebanyak 1 gram diekstrak dengan 20 ml etanol 70%. Larutan yang dihasilkan diambil 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%. Hasil uji positif sampel mengandung senyawa fenol yaitu terbentuknya warna hijau biru.

#### c. Flavonoid

Larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambahkan dengan sedikit serbuk seng atau magnesium dan 2 ml HCl 2N. senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

### 3.3.4 Uji GC-MS

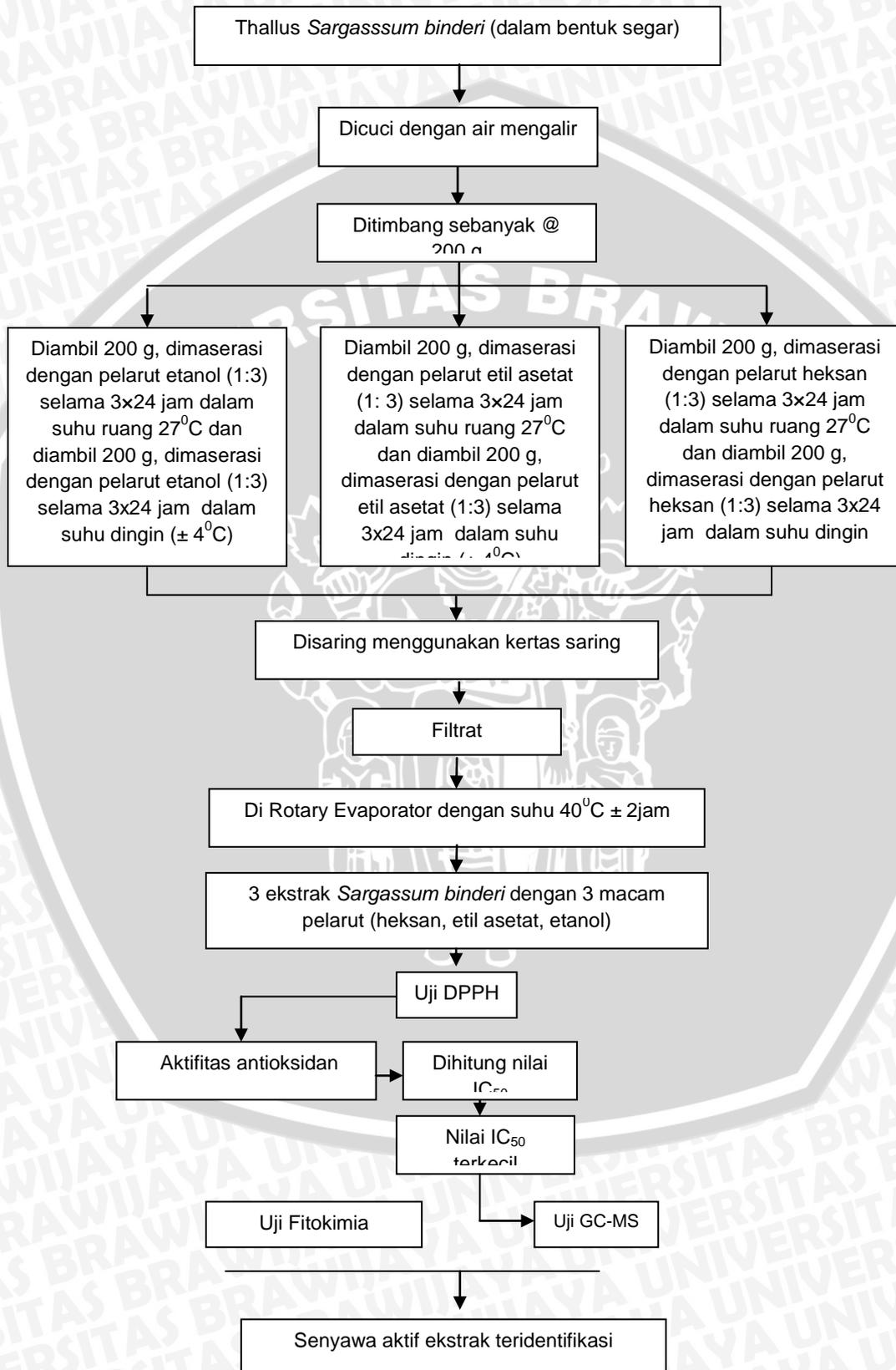
Analisis GC-MS dilakukan terhadap hasil ekstrak yang positif mengandung senyawa yang berkemampuan sebagai antioksidan. Analisis GC-MS dilakukan berdasarkan metode Sumartini, *et al* (2000). Gas pembawa yang

digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injector 320°C, suhu awal oven 70°C. laju kenaikan suhu 10°C/menit, dan suhu akhir oven 310°C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC.

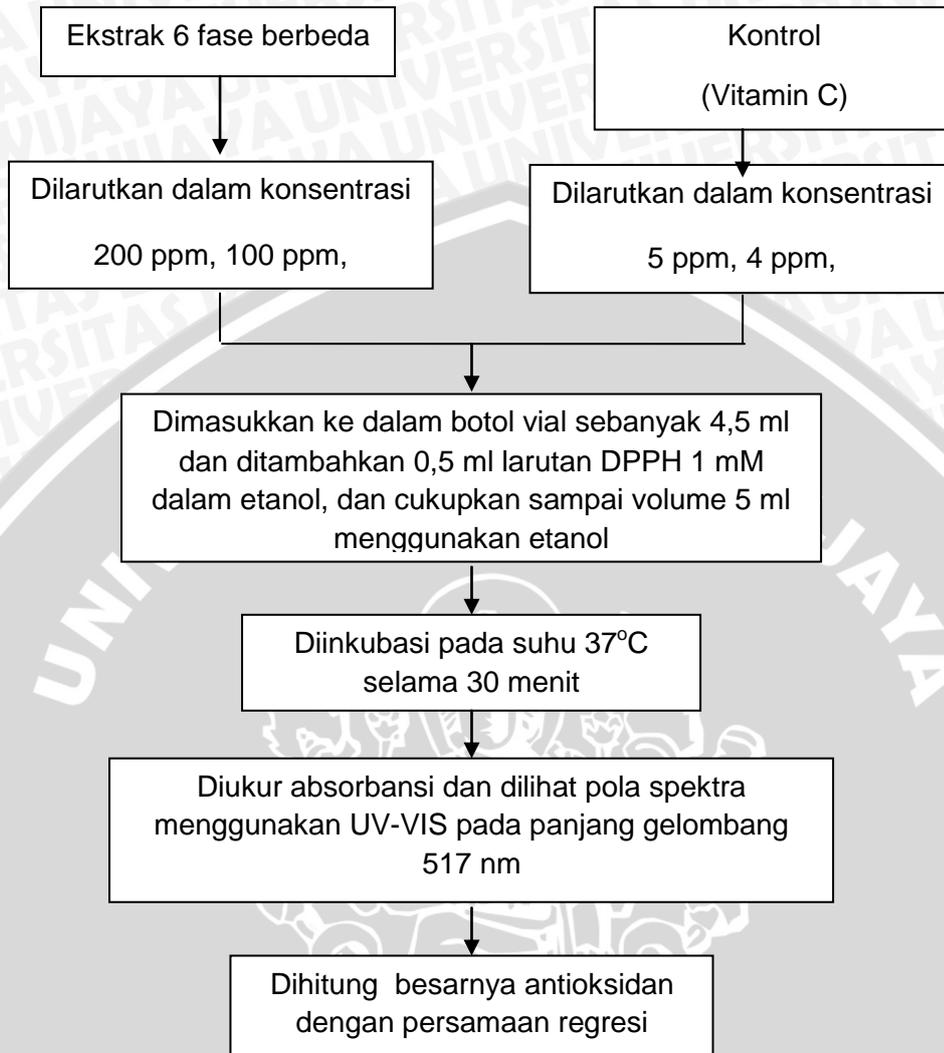


### 3.4 Skema Kerja

#### 3.4.1 Skema Kerja Ekstraksi *Sargassum binderi*



### 3.4.2 Skema Kerja Uji DPPH



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Ekstraksi Alga Coklat *Sargassum binderi*

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Menurut Andayani *et al.*, (2008), metode ekstraksi maserasi merupakan metode yang mudah dilakukan dan menggunakan alat-alat sederhana, cukup dengan merendam sampel dalam pelarut. Sampel sebanyak 200 gram dimaserasi menggunakan 3 macam pelarut (etanol, etil asetat, dan heksan), dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:3. Ekstraksi sampel *Sargassum binderi* dilakukan dengan dua kondisi suhu yang berbeda, yaitu suhu ruang ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu rendah ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) selama 3 x 24 jam. Ekstraksi sampel yang dimaserasi pada suhu ruang dan suhu rendah dengan pelarut etanol menghasilkan ekstrak yang agak kental berwarna hijau kecoklatan. Proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak berwarna coklat, sedangkan proses ekstraksi dengan heksan menghasilkan ekstrak cair berwarna hijau kekuningan. Perbedaan hasil ekstrak pada suhu ruang dan suhu rendah yaitu, ekstrak yang dimaserasi pada suhu ruang berbentuk sedikit kental, sedangkan ekstrak suhu rendah berbentuk cair. Hasil ekstraksi dari *Sargassum binderi* dengan pelarut etanol, etil asetat dan heksan disajikan dalam Gambar 4.



a. Suhu ruang



b. Suhu rendah

**Gambar 4. Hasil Ekstraksi dari *Sargassum binderi* dengan pelarut etanol, etil asetat dan heksan pada suhu ruang (a) dan suhu rendah (b)**

#### 4.1.1 Rendemen

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak kasar yang dihasilkan dengan bobot awal yang digunakan. Sampel *Sargassum binderi* ditimbang berat awalnya setelah dipotong kecil-kecil. Kemudian ditimbang kembali beratnya setelah dilakukan proses evaporasi yang merupakan berat akhir sampel. Hasil rendemen ekstraksi *Sargassum binderi* dengan 3 pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya dan suhu ekstraksi yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda pula. Data rendemen ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang dan suhu rendah disajikan pada Tabel 4 dan Tabel 5.

**Tabel 4. Rendemen ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang**

Pelarut	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g) Ekstrak			Rendemen (%)			Rerata
		1	2	3	1	2	3	
Etanol	200	10,66	10,68	11,12	5,33	5,34	5,56	5,41±0,13
Etil Asetat		7,81	6,25	7,33	3,91	3,12	3,66	3,56±0,40
Heksan		3,31	2,18	3,99	1,65	1,09	1,99	1,58±0,45

**Tabel 5. Rendemen ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu rendah**

Pelarut	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g) Ekstrak			Rendemen (%)			Rerata
		1	2	3	1	2	3	
Etanol	200	12,1	12,79	11,14	6,05	6,39	5,57	6±0,41
Etil Asetat		8,77	8,38	7,29	4,39	4,19	3,65	4,08±0,38
Heksan		4,1	3,55	3,45	2,05	1,76	1,73	1,85±0,18

Rendemen ekstrak senyawa bioaktif yang diperoleh dari sampel segar *Sargassum binderi* yang diekstraksi pada suhu ruang dengan 3 pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya, lebih kecil dibandingkan dengan sampel segar *Sargassum binderi* yang diekstraksi pada suhu rendah dengan pelarut yang sama. Perbedaan ini diduga dikarenakan oleh suhu ekstraksi yang berbeda.

Sampel yang diekstrak pada suhu rendah berbentuk cair, yaitu berupa campuran antara ekstrak dan cairan yang bisa berupa pelarut ataupun berupa air. Timbulnya air diduga disebabkan oleh suhu rendah yang digunakan pada proses ekstraksi yang menyebabkan terjadinya pengembunan. Hal ini menyebabkan berat akhir ekstrak menjadi tinggi, sehingga nilai rendemen menjadi tinggi juga. Menurut Tensiska, *et. al.* (2007), kandungan air yang tinggi pada hasil ekstraksi akan membuat proses pemekatan menjadi sulit karena air memiliki titik didih yang lebih tinggi dibandingkan pelarut organik yang digunakan.

Hasil ekstraksi *Sargassum binderi* menggunakan pelarut etanol (polar) lebih banyak dibandingkan dengan etil asetat (semi polar), heksan (non polar). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum binderi* lebih banyak yang bersifat polar dari pada semi polar atau non polar.

#### 4.2 Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sargassum binderi* dilakukan dengan metode DPPH (1,1-Diphenil-2-Picrylhidrazyl). Prinsip DPPH adalah penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas. Dalam hal ini DPPH menjadi sumber radikal bebas, untuk dipertemukan dengan ekstrak *Sargassum binderi* yang menjadi antioksidan. DPPH stabil dengan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan dapat direduksi oleh senyawa antioksidan.

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Uji aktivitas antioksidan *Sargassum binderi* yang diekstrak pada suhu ruang dan suhu ruang menggunakan konsentrasi 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm dan 25 ppm. Sedangkan antioksidan pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C dengan konsentrasi 5 ppm, 4 ppm, 3 ppm dan 2

ppm. Contoh perhitungan konsentrasi uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 4.2.1 Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Sargassum binderi* pada Suhu Ruang

Aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang dinyatakan dalam persentase penghambatan (%) dan nilai  $IC_{50}$ . Sampel yang diekstrak dengan 4 konsentrasi berbeda, yaitu 200, 100, 50 dan 25 ppm, serta konsentrasi 0 ppm sebagai blanko diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer, sehingga didapat % inhibisi dan nilai  $IC_{50}$ . Berdasarkan hasil analisis pengujian antioksidan dari ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol pada konsentrasi 100 dan 200 ppm dapat memberikan daya inhibisi diatas 50%.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sargassum binderi* yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol, etil asetat dan heksan pada suhu ruang dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang**

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% inhibisi			$IC_{50}$ (ppm)			Rata-rata
		1	2	3	1	2	3	
Ekstrak etanol	200	64,195	65,678	54,237	110,206	108,444	132,613	117,087
	100	54,131	56,886	52,966				
	50	46,504	40,890	46,822				
	25	42,585	43,644	38,877				
	blanko	0	0	0				
Ekstrak etil asetat	200	46,178	49,005	41,885	196,834	181,606	198,341	192,260
	100	35,288	36,335	44,921				
	50	23,455	33,613	27,330				
	25	18,743	14,869	10,995				
	blanko	0	0	0				
Ekstrak N-heksan	200	18,958	18,514	16,519	533,044	550,478	613,380	565,634
	100	11,419	9,534	10,532				
	50	7,650	4,878	6,541				
	25	3,659	3,326	3,769				
	blanko	0	0	0				

Hasil perhitungan rata-rata persentase penghambatan menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang memiliki kemampuan menghambat radikal bebas tertinggi pada konsentrasi 200 ppm, sedangkan kemampuan menghambat radikal bebas terendah terdapat pada konsentrasi 25 ppm. Semakin tingginya konsentrasi ekstrak *Sargassum binderi* yang digunakan, menghasilkan persentase penghambatan radikal bebas yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hanani (2005), persentase penghambatan terhadap radikal bebas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Grafik hubungan % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak *Sargassum binderi* dapat dilihat pada Lampiran 2.

IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Nilai rata-rata IC<sub>50</sub> ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang menunjukkan bahwa ekstrak etanol dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50% pada konsentrasi 117,087 ppm, ekstrak etil asetat pada konsentrasi 192,260 ppm, dan ekstrak heksan pada konsentrasi 565,634 ppm. Nilai IC<sub>50</sub> yang rendah mengindikasikan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Suratmo (2007), zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga IC<sub>50</sub> yang rendah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* dengan pelarut etanol, etil asetat dan heksan adalah berbeda. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Hal ini terjadi karena DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti etanol dan metanol (Rohman dan Riyanto, 2005). Hal ini sesuai dengan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978). Sehingga kelarutan ekstrak pada pelarut etanol yang

merupakan pelarut polar lebih besar dibandingkan dengan etil asetat maupun heksan.

Ekstrak *Sargassum binderi* hasil ekstraksi pada suhu ruang dengan menggunakan pelarut etanol mempunyai  $IC_{50}$  sebesar 117,087 ppm dan dengan pelarut etil asetat sebesar 192,260 ppm, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat, karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 200 ppm (Blois, 1958 diacu dalam Hanani *et al.*, 2005).

Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Molyneux 2004). Menurut Permana (2003), adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat.

Reaksi penghambatan radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol *Sargassum binderi* diindikasikan dengan berubahnya ungu menjadi kuning terjadi pada konsentrasi 100 dan 200 ppm. Perubahan ini membuktikan bahwa ekstrak *Sargassum binderi* memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi yang tinggi. Sedangkan pada ekstrak etil asetat dan ekstrak heksan tidak mengalami perubahan warna, yang berarti tidak memberikan reaksi penghambatan yang signifikan terhadap radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* yang dimaserasi pada suhu ruang disajikan pada Gambar 9.



(a) Ekstrak etanol



(b) Ekstrak etil asetat



(c) Ekstrak heksan

**Gambar 5. Aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* yang dimaserasi pada suhu ruang dengan pelarut etanol (a) etil asetat (b) dan heksan (c)**

Berdasarkan Gambar 5, ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol dapat meluruhkan warna ungu dari DPPH menjadi kuning pada konsentrasi 200 dan 100 ppm, pada konsentrasi 50 ppm terjadi perubahan warna menjadi kuning tua, sedangkan pada konsentrasi 25 ppm, tidak terjadi perubahan warna yang signifikan.

Ekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat dan heksan tidak mengalami perubahan warna yang signifikan pada semua konsentrasi. Berdasarkan pernyataan diatas, dapat disimpulkan bahwa dari ketiga pelarut yang diuji aktivitas antioksidannya, ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, karena dapat meluruhkan warna ungu dari radikal DPPH menjadi kuning. Sedangkan ekstrak dengan pelarut etil asetat

dan heksan memiliki aktivitas antioksidan yang rendah, karena tidak ada perubahan warna yang signifikan.

#### 4.2.2 Aktivitas Antioksidan pada Suhu Rendah

**Tabel 7. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu rendah**

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% inhibisi			IC <sub>50</sub> (ppm)			Rata-rata
		1	2	3	1	2	3	
Ekstrak etanol	200	49,732	49,016	46,333	159,905	159,611	178,114	165,877
	100	48,837	48,122	47,048				
	50	38,193	40,787	30,501				
	25	23,882	36,047	36,225				
	blanko	0	0	0				
Ekstrak etil asetat	200	36,497	32,355	37,274	263,739	303,968	254,753	274,153
	100	29,336	29,422	30,112				
	50	21,915	23,641	22,865				
	25	18,119	20,535	17,774				
	blanko	0	0	0				
Ekstrak N-heksan	200	16,697	16,152	16,425	629,014	654,783	642,845	642,214
	100	15,699	14,882	13,884				
	50	14,247	11,343	12,250				
	25	6,806	7,623	6,080				
	blanko	0	0	0				

Hasil perhitungan rata-rata persentase penghambatan menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu rendah memiliki rata-rata kemampuan menghambat radikal bebas tertinggi pada konsentrasi 200 ppm, sedangkan rata-rata kemampuan menghambat radikal bebas terendah terdapat pada konsentrasi 25 ppm. Semakin tingginya konsentrasi ekstrak *Sargassum binderi* yang digunakan, menghasilkan persentase penghambatan radikal bebas yang tinggi pula.

Nilai rata-rata IC<sub>50</sub> ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu rendah menunjukkan bahwa ekstrak etanol dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50% pada konsentrasi 165,877 ppm, ekstrak etil asetat pada

konsentrasi 274,153 ppm, dan ekstrak heksan pada konsentrasi 624,214 ppm. Nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak etanol yang rendah mengindikasikan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Suratmo (2007), zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga  $IC_{50}$  yang rendah. Sedangkan ekstrak *Sargassum binderi* dari pelarut etil asetat dan heksan tergolong lemah karena memiliki nilai  $IC_{50}$  lebih besar dari 200 ppm.

Ekstrak *Sargassum binderi* hasil ekstraksi pada suhu rendah dengan menggunakan pelarut etanol mempunyai  $IC_{50}$  sebesar 165,877 ppm, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat, karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 200 ppm (Blois, 1958 diacu dalam Hanani *et al.*, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* dengan pelarut etanol, etil asetat dan heksan adalah berbeda. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Hal ini terjadi karena DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti etanol dan metanol (Rohman dan Riyanto, 2005). Hal ini sesuai dengan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978). Sehingga kelarutan ekstrak pada pelarut etanol yang merupakan pelarut polar lebih besar dibandingkan dengan etil asetat maupun heksan.

Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004).

Ekstrak etanol dengan konsentrasi 100 dan 200 ppm yang mengalami perubahan warna menjadi kuning tua. Sedangkan pada konsentrasi 25 dan 50 ppm, tidak mengalami perubahan warna yang signifikan. Sedangkan ekstrak

dengan etil asetat dan heksan pada berbagai konsentrasi, tidak mengalami peluruhan warna ungu. Aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* yang dimaserasi pada suhu ruang disajikan pada Gambar 6.



(a) Ekstrak etanol



(b) Ekstrak etil asetat



(c) Ekstrak heksan

Gambar 6. Aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* yang dimaserasi pada suhu rendah dengan pelarut etanol (a) etil asetat (b) dan heksan (c)

#### 4.2.3 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Tabel 8. Nilai IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan vitamin C

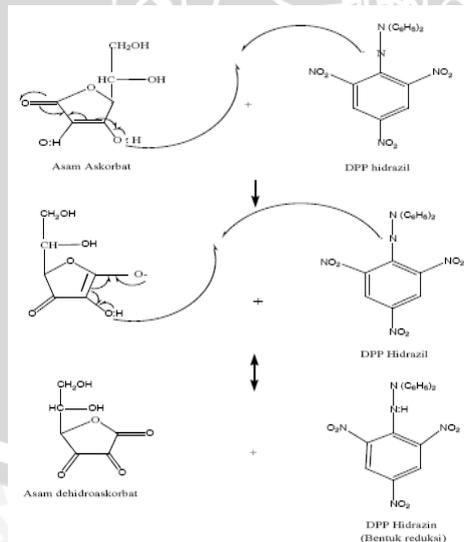
Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi			IC 50 (ppm)		
		1	2	3	1	2	3
Vitamin C	5	91,21	91,89	90,73			
	4	89,28	91,11	90,54			
	3	88,51	88,8	89,96	1,55	1,56	1,51
	2	88,51	86,48	89,47			
	blanko	0	0	0			

Antioksidan pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa vitamin C

memiliki persen penghambatan radikal bebas tertinggi pada konsentrasi 5 ppm dengan rata-rata 91,28%. Sedangkan persen penghambatan radikal bebas terendah pada konsentrasi 2 ppm, yaitu rata-rata 88,15%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Secara keseluruhan aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi* masih di bawah aktivitas antioksidan Vitamin C yaitu rata-rata 1,54 ppm, menurut Suratmo (2007), hal ini karena ekstrak tersebut bukan merupakan senyawa murni, tetapi masih mengandung senyawa-senyawa lain yang kemungkinan tidak mempunyai aktivitas antioksidan.

Vitamin C adalah nutrisi dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C dikenal sebagai antioksidan terlarut air paling dikenal, vitamin C juga secara efektif memungut formasi ROS dan radikal bebas (Iswara, 2009). Mekanisme reaksi yang terjadi antara vitamin C dengan DPPH dapat dilihat pada Gambar 14.



**Gambar 7. Mekanisme reaksi yang terjadi antara vitamin C dengan DPPH (Sudarmadji (1996) dalam Choliso dan Utami (2008))**

#### 4.2.4 Pengaruh Perbedaan Suhu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan *Sargassum binderi*

Dari dua uji aktivitas senyawa antioksidan yang diekstraksi pada suhu yang berbeda, yaitu pada suhu ruang dan suhu rendah dapat disimpulkan bahwa senyawa antioksidan yang diekstraksi pada suhu ruang menghasilkan nilai  $IC_{50}$ , yaitu penghambatan 50% radikal bebas oleh senyawa antioksidan yang lebih besar, dibanding dengan senyawa antioksidan yang diekstraksi pada suhu rendah. Ekstrak yang dimaserasi dengan etanol pada suhu ruang memberikan penghambatan radikal bebas terbaik pada rata-rata konsentrasi 117,087 ppm dan hanya memberikan penghambatan terbaik rata-rata konsentrasi 165,877 ppm pada suhu rendah.

Aktivitas antioksidan fraksi etanol suhu ruang bersifat lebih kuat dibandingkan dengan fraksi etanol suhu rendah. Menurut Blois (1958) aktivitas antioksidan tergolong kuat jika  $IC_{50} < 200$  ppm. Hal ini sesuai dengan dengan prinsip ekstraksi, prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan, dalam proses melarutkan komponen faktor pelarut dan suhu dapat berpengaruh dalam keberhasilan suatu ekstraksi (Wassil, 1995). Pada suhu yang lebih tinggi pelarut lebih mudah menembus sel-sel bahan dan mengekstrak komponen-komponen yang bertitik didih tinggi. Suhu yang rendah pelarut sulit menembus sel-sel bahan sehingga komponen-komponen dalam ekstrak tidak terekstrak sempurna (Fajriyani, 2008).

Berdasarkan hasil analisis ANOVA dapat diketahui bahwa hipotesis 1 diterima, yaitu pelarut dengan polaritas yang berbeda dan suhu ekstraksi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sargassum binderi*. Hal ini ditunjukkan dengan nilai nilai F hitung (347,87) lebih besar dari  $F_{5\%}$  (4,07) dan  $F_{1\%}$  (7,59) pada suhu ruang, sedangkan pada suhu rendah nilai F hitung (917,51) lebih besar dari  $F_{5\%}$  (4,07) dan  $F_{1\%}$  (7,59).

Selanjutnya untuk mengetahui kelompok yang berbeda, maka dilakukan uji BNT dengan taraf uji 5% yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 9 dan Tabel 10.

**Tabel 9. Notasi BNT 5% uji antioksidan *Sargassum binderi* pada suhu ruang**

Rata-rata IC <sub>50</sub>	D (1,54)	A (117,087)	B (192,260)	C (565,634)
D (1,54)	-	-	-	-
A (117,087)	115,547*	-	-	-
B (192,260)	190,720*	75,173*	-	-
C (565,634)	549,094*	448,546*	373,373*	-
Notasi BNT <sub>0,05</sub> = 42,656	a	b	c	d

**Tabel 10. Notasi BNT 5% uji antioksidan *Sargassum binderi* pada suhu rendah**

Rata-rata IC <sub>50</sub>	D (1,54)	A (165,877)	B (274,153)	C (642,214)
D (1,54)	-	-	-	-
A (165,877)	164,337*	-	-	-
B (274,153)	272,613*	108,276*	-	-
C (642,214)	640,674*	476,337*	368,061*	-
Notasi BNT <sub>0,05</sub> = 29,253	a	b	c	d

Ket: \* = Selisih sepasang nilai tengah > BNT<sub>0,05</sub>

- A = *Sargassum* pengekstrak etanol
- B = *Sargassum* pengekstrak etil asetat
- C = *Sargassum* pengekstrak heksan
- D = Kontrol

Setelah dilakukan uji BNT 5%, terjadi perbedaan antara perlakuan A, B, C, dan D. Ekstrak *Sargassum binderi* dengan pelarut etanol lebih efektif melarutkan senyawa antioksidan dibandingkan dengan ekstrak dengan pelarut etil asetat dan heksan. Sedangkan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibanding ekstrak *Sargassum binderi* dengan ketiga pelarut tersebut.

Berdasarkan uji BNT dan ANOVA dapat disimpulkan bahwa *Sargassum binderi* yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol pada suhu ruang dan suhu rendah memiliki daya hambat terhadap aktivitas radikal bebas DPPH, tetapi

aktivitas ekstrak tersebut jika dibandingkan dengan pembandingnya vitamin C lebih rendah, dikarenakan vitamin C merupakan senyawa murni. Penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas proses ekstraksi antioksidan dari *Sargassum binderi*. Perbedaan efektivitas ekstraksi antioksidan yang dipengaruhi oleh perbedaan polaritas pelarut mempengaruhi persentase penghambatan (IC<sub>50</sub>) terhadap radikal bebas DPPH.

#### 4.3 Skrining Fitokimia

Metode fitokimia digunakan untuk mengetahui kandungan sekunder, makromolekul serta penggunaan data yang diperoleh untuk menggolongkan tumbuhan. Metode ini juga penting untuk menentukan ciri atau sifat kimia dari fitotoksin (hasil sintesis mikroba yang terbentuk dalam tumbuhan tinggi bila tumbuhan tersebut diserang bakteri atau fungi) dan fitoaleksin (Harborne, 1987).

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder apa yang terkandung dalam ekstrak. Senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan biasanya tersebar merata ke seluruh bagian tumbuhan tetapi dalam kadar yang berbeda-beda (Asih dan Setiawan, 2008). Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 11 dan Gambar 14 di bawah ini.

**Tabel 11. Uji Fitokimia Ekstrak Pelarut Etanol**

Uji Fitokimia	Ekstrak	Indikator standar warna
Alkaloid: R.Wagner R. Meyer	+ +	Endapan putih Endapan putih kecoklatan
Flavonoid	+	Terdapat warna merah
Fenolik	+	Warna hitam pekat



a. Alkaloid

b. Flavonoid

c. Fenol

### Gambar 8. Hasil Skrining Fitokimia

Hasil uji alkaloid pada ekstrak etanol dengan pereaksi Mayer diperoleh warna hijau dengan endapan berwarna putih, sedangkan uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff diperoleh warna coklat kehijauan dengan endapan berwarna kecoklatan. Hasil uji dengan pereaksi Mayer dan Wagner ini menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum binderi* mengandung alkaloid. Sedangkan pada uji flavonoid terdapat warna merah, serta ekstrak yang diuji fenol berwarna hitam pekat.

Menurut Wagner (1996), alkaloid positif bila timbul noda berwarna coklat atau jingga setelah penyemprotan Dragendorff. Bila tanpa pereaksi kimia, di bawah lampu UV 365 nm, alkaloid akan berfluoresens biru, biru-hijau atau ungu. Pada uji flavonoid, bila tanpa pereaksi kimia, flavonoid berfluoresensi kuning, biru atau hijau, tergantung jenis strukturnya.

Menurut Harbrone (1987), flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder, kemungkinan keberadaannya dalam daun dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Di samping itu, sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas. Penggolongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula – mula didasarkan pada telaah sifat kelarutan dan reaksi warna. Kemudian diikuti

dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis secara kromatografi.

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya dapat menjelaskan mengapa flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995).

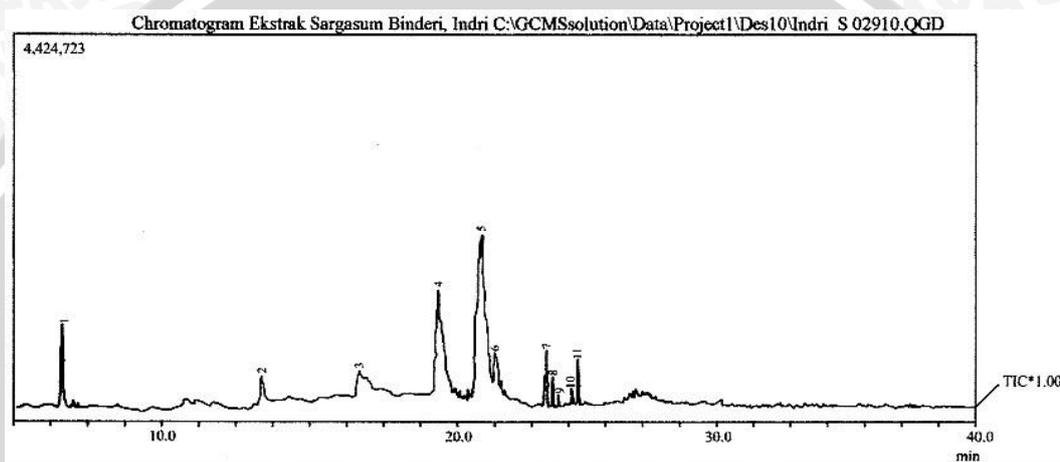
Senyawa fenol tersubstitusi telah banyak digunakan sebagai antioksidan. Kerja antioksidan dalam reaksi oksidasi adalah menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada tahap propagasi dari reaksi autooksidasi. Antioksidan yang baik adalah senyawa yang mampu membuat radikal fenol dari antioksidan menjadi lebih stabil. Senyawa turunan fenol tersubstitusi ini banyak terdapat pada berbagai tumbuhan tropis berupa senyawa turunan polifenol (Tahir, *et. al.*, 2003). Senyawa fenol merupakan kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini diklasifikasikan dalam dua bagian yaitu fenol sederhana dan polifenol. Fenol sederhana disebut juga asam fenolat contohnya katekol dengan 2 gugus OH dan pirogallol dengan 3 gugus OH, sedangkan senyawa polifenol contohnya fenilpropanoid, kuinon, tannin, flavonoid, dan beberapa terpenoid (Harbone, 1987).

#### 4.5 Analisis GC-MS

Hasil dari analisis GC-MS berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu jenis senyawa. Analisis senyawa antioksidan dengan metode GC-MS terhadap ekstrak

*Sargassum binderi* dengan pelarut etanol suhu ruang menghasilkan 11 tampilan peak dengan 1 jenis senyawa antioksidan berhasil diidentifikasi dari seluruh peak tersebut (Lampiran 5). Tampilan kromatogram Hasil GC-MS disajikan pada Gambar 9 dan profil senyawa ekstrak *Sargassum binderi* dapat dilihat pada Tabel 12.

**Gambar 9. Hasil GC-MS Ekstrak *Sargassum binderi* dengan pelarut etanol pada suhu ruang**



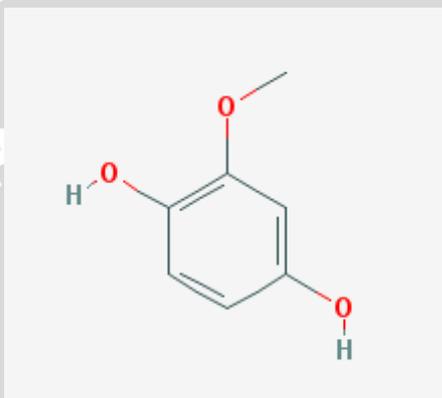
**Tabel 12. Senyawa Hasil Analisis GC-MS Ekstrak *Sargassum binderi***

Peak	Waktu Retensi	SI	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Area (%)
1	6,643	78	1,4-Dioxepin, 2,3-dihydro-2,5-dimethyl (CAS)	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	128	0,88
2	13,533	90	1,4 Benzenediol, 2-methoxy	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	140	0,20
3	16,356	68	Methyl 3,6-di-O-acetyl	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>9</sub>	350	0,47
4	20,412	83	Dodecanamide	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>3</sub>	287	7,63
5	21,581	82	Home inositol	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	194	68,56
6	22,211	93	Octadecenal	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	266	1,46
7	28,458	87	Bis(2-ethylhexyl) ether	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	3,82
8	28,656	86	Bis(2-ethylhexyl) ether	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	3,30
9	30,002	81	Progesterone	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	314	3,89
10	30,975	59	Methyl commate B	C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub>	470	5,78
11	32,674	73	As-indacene	C <sub>29</sub> H <sub>54</sub>	402	4,01

Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan pola fragmentasi spektra massa dengan pola fragmentasi senyawa *reference*. Senyawa yang dipilih adalah senyawa hasil penelusuran pustaka yang memiliki SI (*Similarity Index*) lebih besar sama dengan 90 dan mempertimbangkan kesesuaian

senyawa tersebut dengan komposisi serta sifat sampel asal. Sehingga hasil senyawa yang kemungkinan sifatnya tidak sesuai dengan sampel asal dapat kita abaikan.

Berdasarkan kromatogram tersebut ekstrak *Sargassum binderi* mengandung senyawa antioksidan. Senyawa yang berhasil diidentifikasi yaitu Benzenediol, 2-methoxy, dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10. Struktur Benzenediol, 2-methoxy**

Benzenediol, 2-methoxy mempunyai rumus molekul  $C_7H_8O_3$ , dengan berat molekul 140, terdapat pada peak 2 dengan luas area 0,2%. Senyawa antioksidan berdasarkan gugus fungsi tergolong ke dalam kelompok senyawa alkanol. Senyawa alkanol memiliki gugus hidroksi  $-OH$ . Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan jika senyawa tersebut memiliki gugus hidroksi yaitu  $-OH$  yang berpotensi sebagai antioksidan. Menurut Rahayu *et al.*, (2009), semakin banyak gugus hidroksil bebas yang dapat menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH.

Menurut Suryaningrum, *et al.*, (2006), senyawa aromatik mengandung gugus hidroksi, khususnya ortho-di atau trihidroksi yang membentuk radikal cukup stabil. Adanya gugus hidroksi juga menjadi salah satu syarat agar suatu senyawa dapat memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan ini memberikan manfaat sangat besar bagi sistem metabolisme tubuh, khususnya untuk meredam radikal bebas. Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat

penting dalam mencegah penyakit degeneratif dan antikanker akibat nonviral dan non bakterial, misalnya akibat zat simbiotik yang menimbulkan mutasi genetik atau DNA.

Dari senyawa yang berhasil diidentifikasi tergolong ke dalam gugus alkanol yakni jenis alkanol menurut Zubia, M., *et al* (2007), senyawa kimia yang memiliki gugus aktif  $-OH$ . gugus aktif  $-OH$ , terdapat pada senyawa fenolik yang telah diketahui memiliki berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, serta pendonor elektron (Harbone, 1987). Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi warna kekuningan (Moluneux, 2004). Alkanol dapat dinyatakan dengan rumus  $R-OH$ , dimana R mewakili rantai karbon.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan *Sargassum binderi* ini dapat diambil kesimpulan :

- Dari ketiga pelarut yakni etanol, etil asetat, dan heksan, etanol merupakan pelarut yang paling baik digunakan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan *Sargassum binderi*. Suhu yang lebih efektif untuk menghambat senyawa radikal bebas DPPH oleh ekstrak *Sargassum binderi* yaitu suhu ruang.
- Nilai rata-rata  $IC_{50}$  ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu ruang menunjukkan hasil tertinggi yang didapat ekstrak etanol sebesar 117,087 ppm. Sedangkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak *Sargassum binderi* pada suhu rendah dengan ekstrak etanol sebesar 165,877 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat, karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 200 ppm.
- Senyawa antioksidan yang diidentifikasi dari hasil analisis GC-MS yaitu Benzenediol, 2-methoxy.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai ekstraksi dengan pelarut berbagai pelarut menggunakan metode lain untuk mendapatkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

Andayani, R., Y. Lisawati dan Maimunah. 2008. **Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum L.*)**. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 13, No. 1.

Anggadiredja, J., A. Zatnika, W. Sujatmiko, S. Istini dan Z. Noor. 1993. **Teknologi Produk Perikanan dalam Industri Farmasi: Potensi dan Pemanfaatan Makroalgae Laut. Studium Generale Teknologi dan Alternatif Produk Perikanan dalam Industri Farmasi.** Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Ballantine, D.L., W.H. Gerwick and S.M. Velez. 1987. **Antibiotic Activity of Lipid Soluble Extract From Caribbean Marine Algae.** Hydrobiologia 151/152: 463 – 469.

Bondet, V, W. Brand-Williams and C. Berset. 1997. **Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method.** Academic Press Limited. Iwt/vol. 30 (1997) No. 6.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, dan C. Berset. 1995. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity.** Lebensmittel-wissenschaft und Technologie, 28, 25-30.

Cahyana, A. H., Y. Shuto dan Y. Konoshita. 1992. **Pyropheophytin as an Antioxidative Substance From The Marine Alga, Arame (*Esenia bycylis*)**. Biosci. Biotech. Biochem. 56 (10). 1533-1535.

Cholisoh, Z dan W. Utami. 2008. **Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Ethanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*)**. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

Ensiklopedia. 2009. **Algae-algae and Their Characteristic, Types of Algae, Ecological Relationship, Factors Limiting The Productivity of Algae.** [www.science.irank.org](http://www.science.irank.org). Diakses Tanggal 4 Juni 2009.

Fajriyani, G. 2008. **Pengaruh Suhu dan Lama Ekstraksi terhadap Rendemen Oleoresin Kunyit (*Curcuma domestica*).** Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Andalas. Padang.

Fatimah, S dan Yoskasih. 2006. **Analisis Kandungan Uranium dalam Limbah Cair dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.** Bidang Pengembangan Radiometalurgi dan Bidang Operasi Sarana Penunjang, Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir, BATAN.

Fujimoto, K., H. Ohmura dan T. Kaneda. 1985. **Screening For Antioxygenic Compounds in Marine Algae and Bromophenols as Effective Principles in a Red Algae *Polysiphonia ureolata*.** Bulletin of The Japanese Society of Scientific Fisheries. 51 (7), 1139-1143.

Gandjar, I.G dan A, Rohman. 2007. **Kimia Farmasi Analisis.** Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

Gordon, M. H. 1990. **The Mechanism of Antioxidants In Vitro.** Elsevier Applied Science. London.

Guether, E. 1987. **Minyak Atsiri I.** Penerbit UI. Jakarta. Diterjemahkan S. Ketaren.

Guhardja E. 1981. **Algae dalam Botani Umum.** Departemen Botani, IPB.

Hanani, E, Abdul M, Ryany S. 2005. **Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu.** Departemen Farmasi, FMIPA-UI, Kampus UI Depok.

Harborne. I.B. 1987. **Metode Fitokimia**. Terjemahan K. Radmawinata dan I. Soediso, penerbit ITB, Bandung. 69-94, 142-158, 234-238.

Hernani dan M. Rahardjo. 2005. **Tanaman Berkhasiat Antioksidan**. Penebar Swadaya. Jakarta.

Indraswari, A. 2008. **Optimalisasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid**. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

Iskandar, Y. 2007. **Karakterisasi Zat Metabolit Sekunder dalam Ekstrak Bunga Krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) Sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida**. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Semarang.

Istini, S, A. Zalnika dan Suhaimi. 2009. **Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut**. Deputi Pengkajian Ilmu Dasar dan Terapan, BPP Teknologi Jakarta.

Iswara, A. 2009. **Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar *Allethrin***. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.

Kadi, A. 2009. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia**. Bidang Sumberdaya Laut, Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta.

Ketaren, S. 2005. **Minyak dan Lemak**. UI Press. Jakarta.

Kuncahyo, Ilham dan Sunardi. 2007. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH)**. Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007). D-III Teknologi Farmasi Fakultas Teknik Universitas Setia Budi. Yogyakarta

Kusumawati, P. 2009. **Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan dari Makroalga dan Mikroalga**. UPT Loka Konservasi Biota Laut. Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Bitung.

Kresnawati, I dan Achmad Z. 2009. **Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Derivat Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir**. Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, jurusan Kimia, Universitas Padjajaran, Sumedang.

Mun'im, A. 2005. **Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Flavonoida dari *Crotalaria anagyroides***. Departemen Farmasi FMIPA UI Kampus UI.

Molyneux P. 2004. **The Use of The Stable Free Radicals Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity**. Songklanakarin Journal of Science Technology.

Munifah, I., H.I. Januar dan T. Wikanta. 2005. **Screening of Antioksidan and Antikanker Extracts From Macro Algae**. Research Center of Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology. Jakarta.

Nazir, M. 1989. **Metode Penelitian**. PT. Ghalia Indonesia. Jakarta.

Permana, D.,N. Hj. Lajis, Faridah Abas, A. Ghafar othman, Rohaya Ahmad, Mariko Kitajama, Hiromitsu Takayama, Nario Aimi, Cl. 2003. **Antioksidative Constituents Of Hedotis Diffusa Wild**. Natural Product Sciences, 9(1), 7-9.

Prangdimurti, E. 2007. **Sekilas Mengenai Radikal Bebas dan Bahayanya**. <http://SmallCrab. Online.Blogspot.com>. Diakses pada tanggal 3 April 2010 pukul 19.00 WIB.

Pratimasari D, 2009. **Uji Aktivitas Penangkap Radikal Buah Carica papaya L dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik serta Flavonoid Totalnya**. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

Pratiwi, Puspa D, dan Mindarti H. 2006. **Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas Diphenyl Piclil Hydrazil Hidrate (DPPH) Ekstrak Metanol Knema Laurina**. Bidang botani, LIPI, Bogor; Pusat Penelitian Kimia=LIPI, Serpong.

Putra, I. N. K. 2007. **Studi Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya**. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.

Putra, Sinly Evan. 2008 . **Alga Laut sebagai Biotarget Industri**. [www.chem-is-try.org](http://www.chem-is-try.org). Diakses tanggal 20 juni 2010 pukul 13.34 WIB.

Rachmat, R. 1999. **Kandungan dan Karakteristik Fisiko Kimia Alginat dari *Sargassum* sp. yang Dikumpulkan dari Perairan Indonesia**. Laboratorium Produk Alam Laut. Puslitbang Oseanologi LIPI.

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

Rohman A, dan S. Rianto. 2005. **Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) in Vitro**. Laboratorium Kimia Analisis, Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Satari, R dan A, Kadi,. 1994. **Aktivitas Antibakteri Sponge Asal Pulau Pari**. Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor.

Sastrohamidjojo H. 1996. **Sintesis Bahan Alam**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Sibuea, P., 2003, **Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini**. Sinar Harapan. Yogyakarta.

Silverstein. R.M, 1991. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**, 5<sup>th</sup> Edition. John Wiley & Sons Inc. London.

Sofia, D. 2008. **Antioksidan dan Radikal Bebas**. <http://www.chem-is-try.org>. Diakses tanggal 20 Juni 2010 pukul 13.30 WIB.

Sudarmadji, S.B, Haryono dan Suhardi. 1997. **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty. Yogyakarta.

Sumartini, S. 2000. **Identifikasi Senyawa Amina Aromatik Lewat Iodinasi Menggunakan Kromatografi Gas Spektroskopi Massa**. Puslitbang Kimia Terapan Lipi. Komplek Puspittek. Serpong. Tangerang. 1 : 3 halaman.

Sunarni, T. (2005). **Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae**, *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 2001, 53-61.

Suratmo. 2007. **Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antioksidan**. Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.

Susanto, W.H. 1999. **Teknologi Lemak dan Minyak Makan**. Jurusan THP Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

Tahir, I, K. Wijaya, D. Widianingsih dan B. Purwono. 2003. **Terapan Analisis Hansch untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/ Flavonol**. Jurusan Kimia Fakultas MIPA UGM. Yogyakarta.

Tapan E. 2005. **Kanker, Antioksidan, dan Terapi Komplementer**. PT Gramedia. Jakarta.

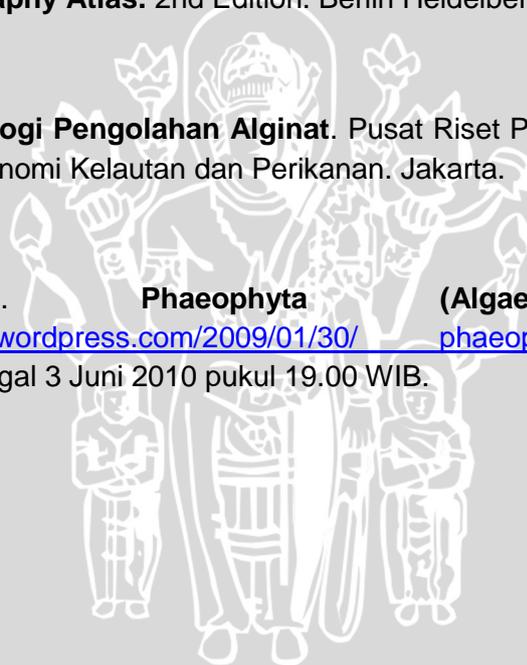
Utami, T. S., R. Arbianti, H. Hermansyah, dan A. Reza. 2009. **Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpur (*Dillenia indica*) dari Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA**. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok.

Vogel, A.I 1987. **Textbook of Practical Organic Chemistry**. Revised by Furnies B.S. 4<sup>nd</sup> Edition. New York.

Wagner, H. and S. Bland. 1996. **Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2nd Edition. Berlin Heidelberg: Springer.

Yunizal. 2004. **Teknologi Pengolahan Alginat**. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.

Zaifbio. 2009. **Phaeophyta (Algae Coklat)**.  
<http://zaifbio.wordpress.com/2009/01/30/phaeophyta-algae-coklat/>  
Diakses tanggal 3 Juni 2010 pukul 19.00 WIB.



Lampiran 1. Contoh perhitungan konsentrasi uji aktivitas antioksidan

DPPH

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

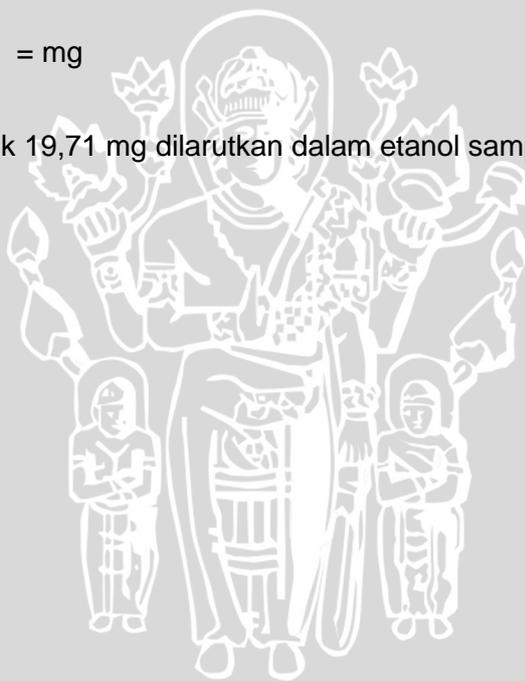
$$0,001 M = \frac{g}{394,33} \times \frac{1000}{50}$$

$$0,001 \times 394,33 = 20 \text{ g}$$

$$0,01971 = g$$

$$19,71 = \text{mg}$$

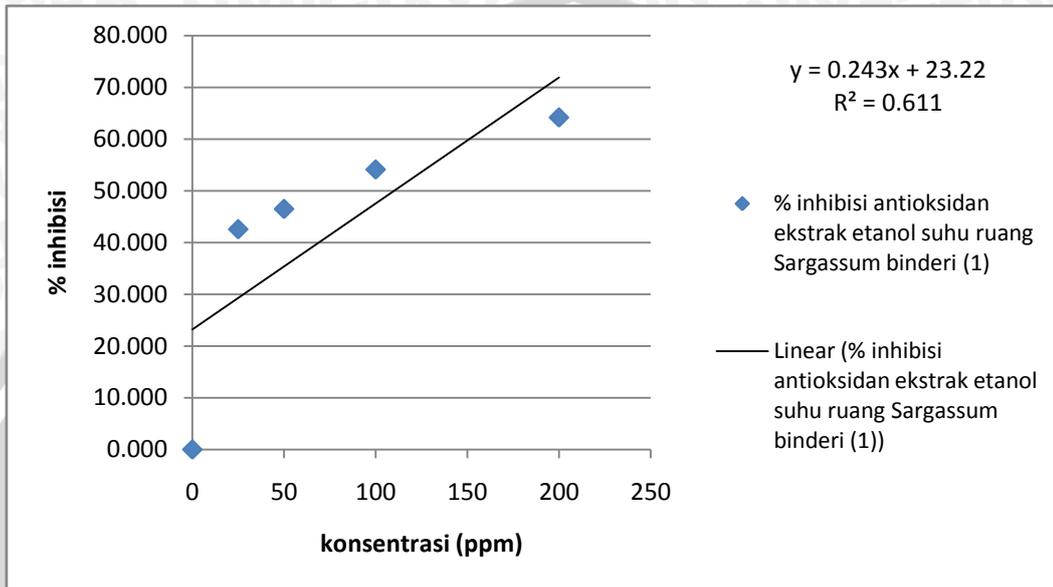
DPPH sebanyak 19,71 mg dilarutkan dalam etanol sampai 50 ml.



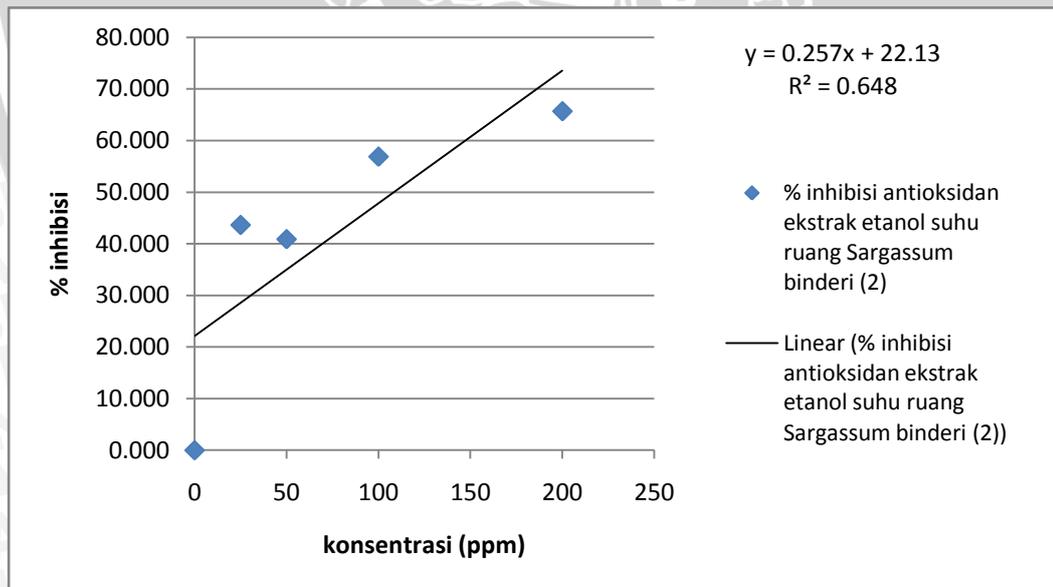
Lampiran 2. Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak *Sargassum binderi*

1. Suhu Ruang

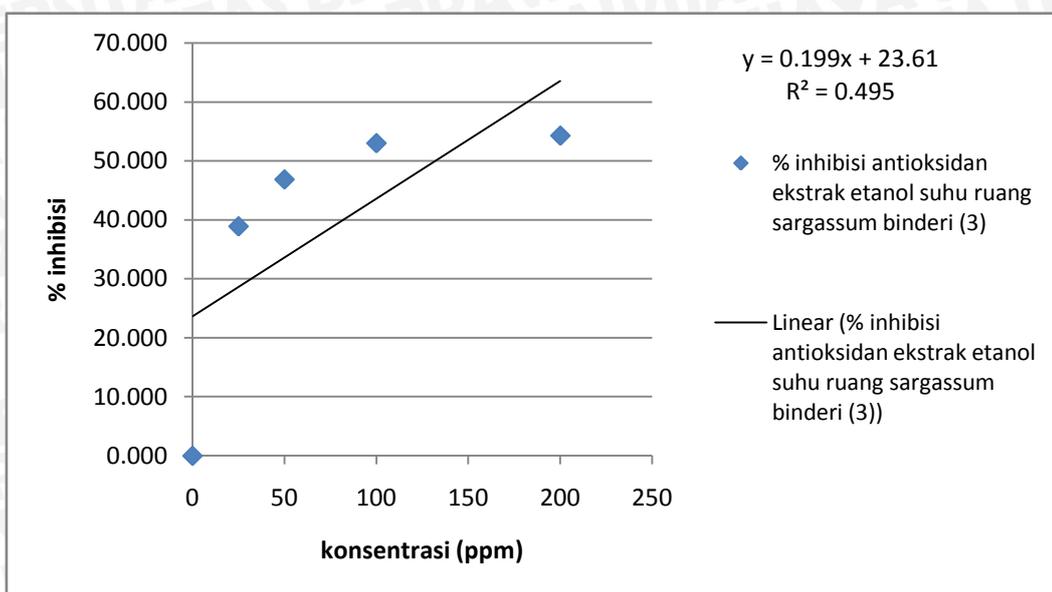
Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak etanol *Sargassum binderi*



a. Ulangan 1

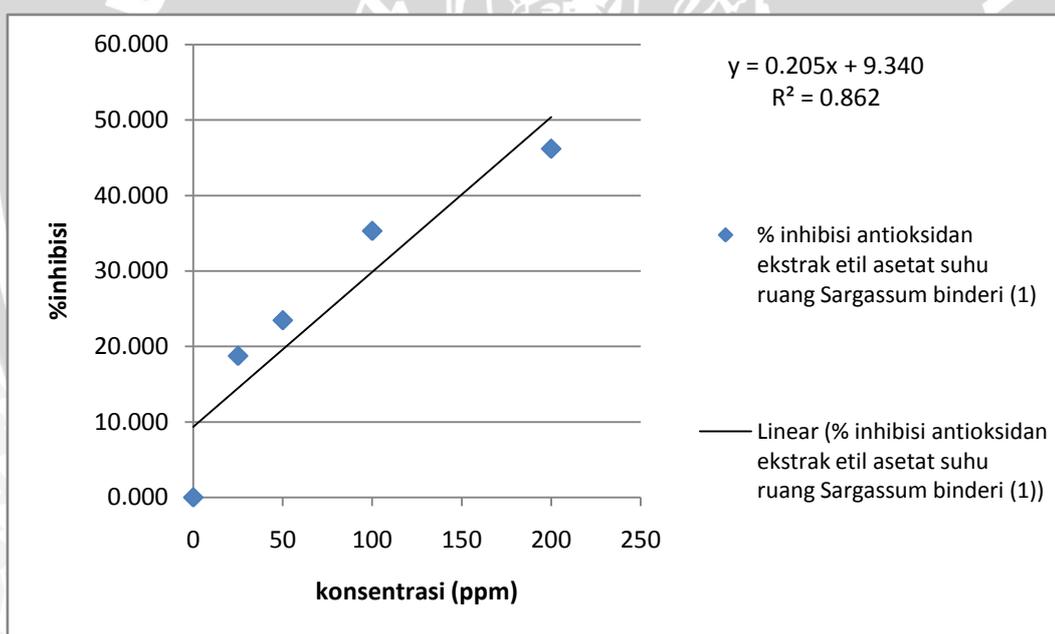


b. Ulangan 2

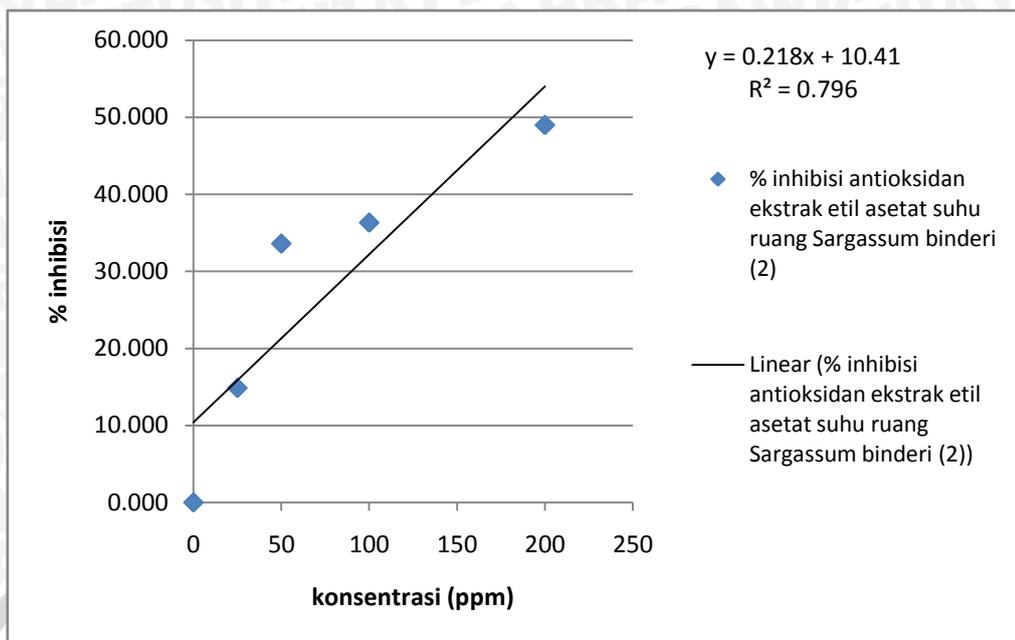


c. Ulangan 3

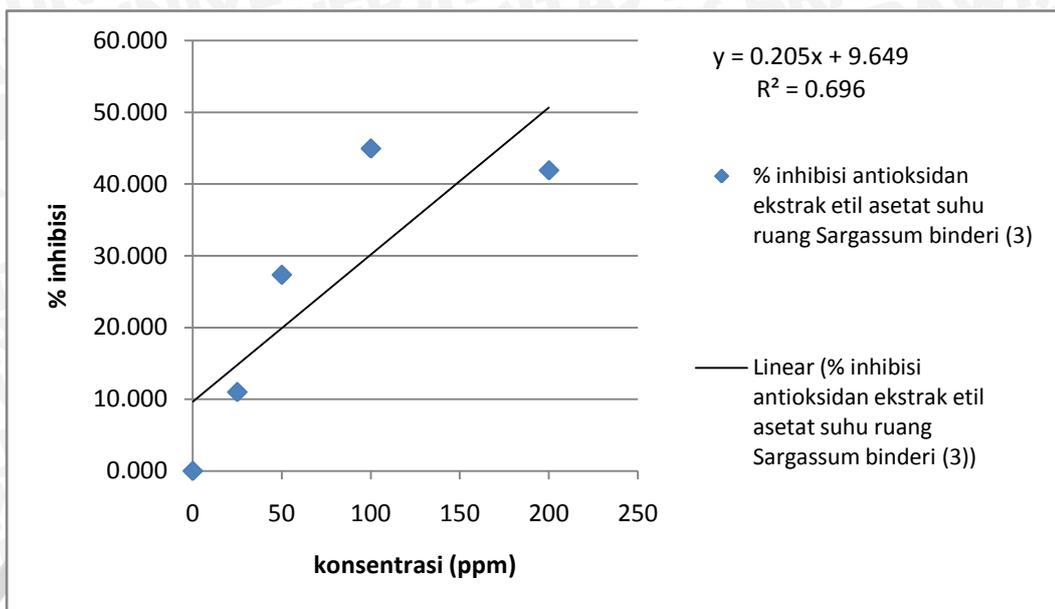
**Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak etil asetat *Sargassum binderi***



a. Ulangan 1



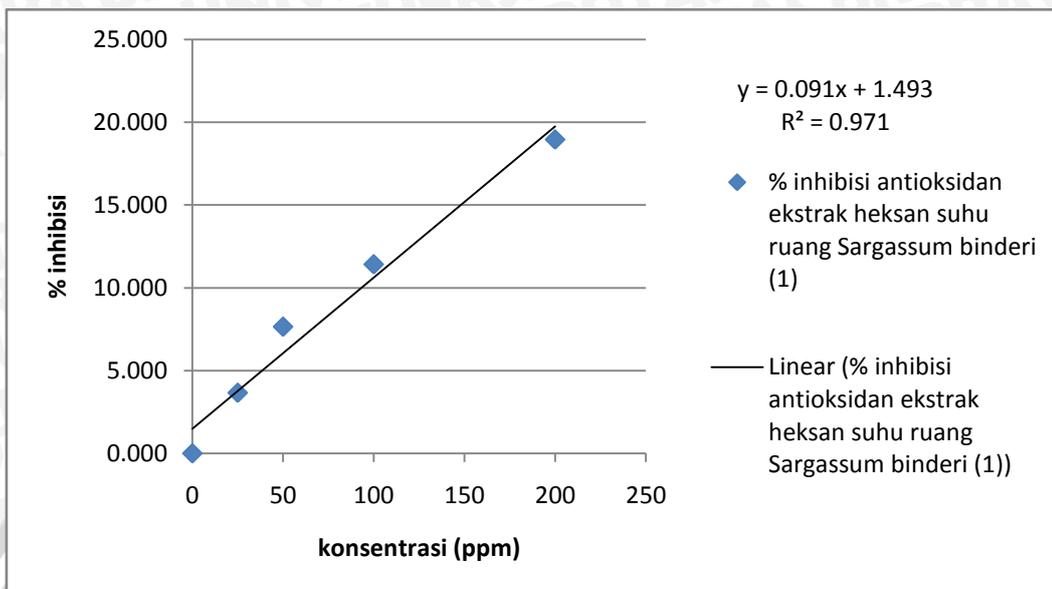
b. Ulangan 2



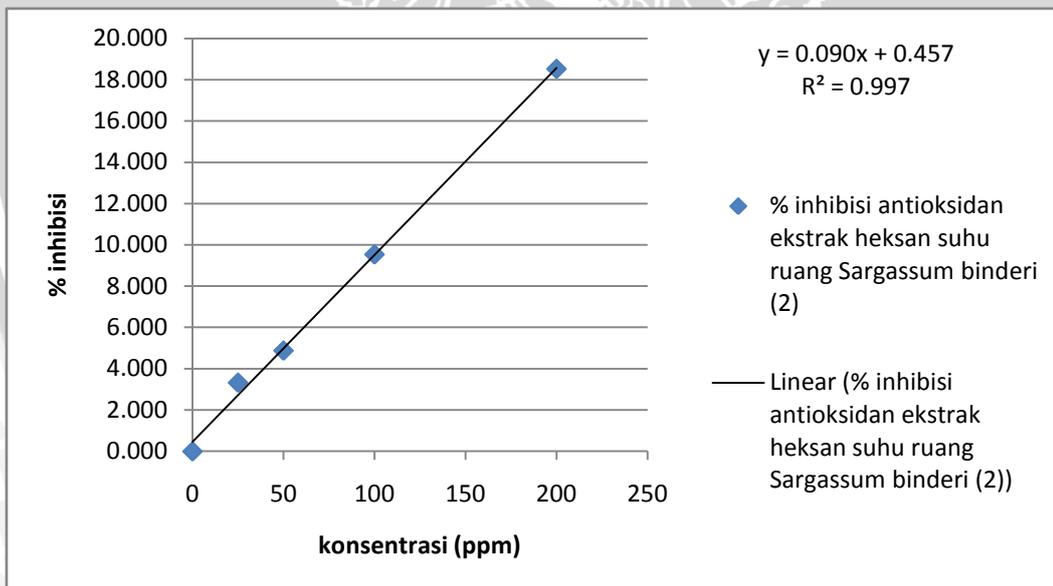
c. Ulangan 3



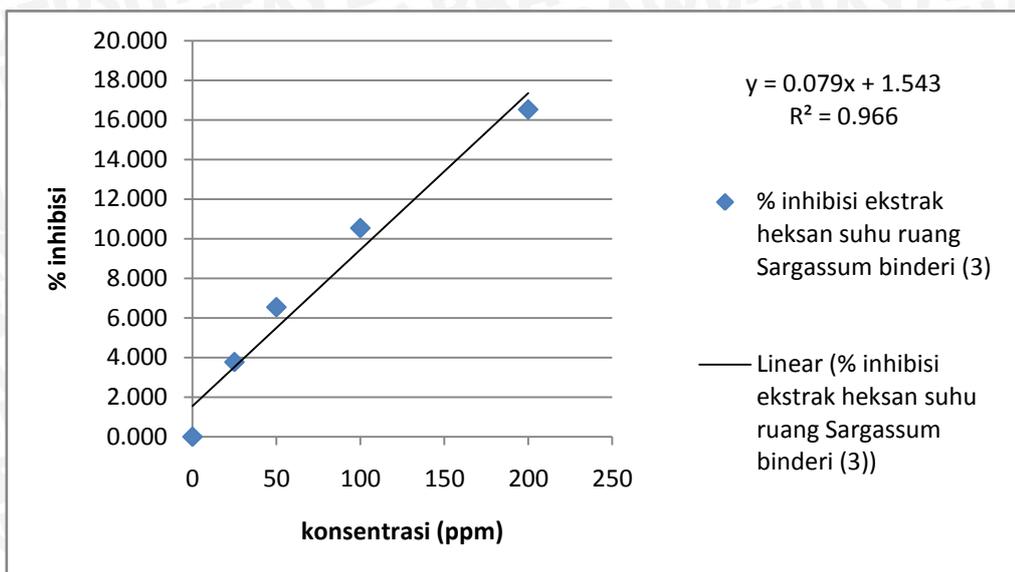
**Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak Heksan Sargassum binderi**



a. Ulangan 1



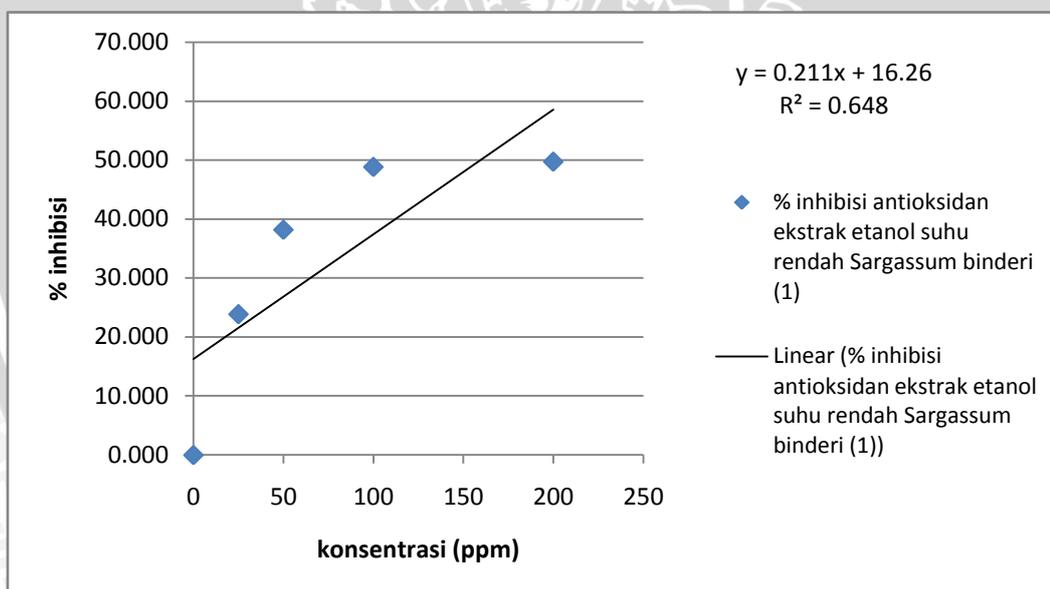
b. Ulangan 2



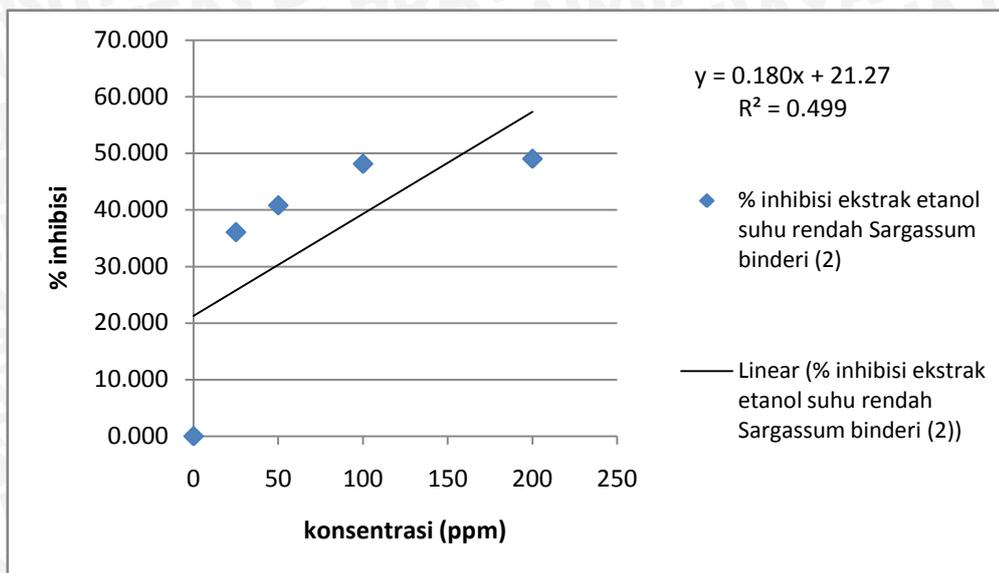
c. Ulangan 3

## 2. Suhu Rendah

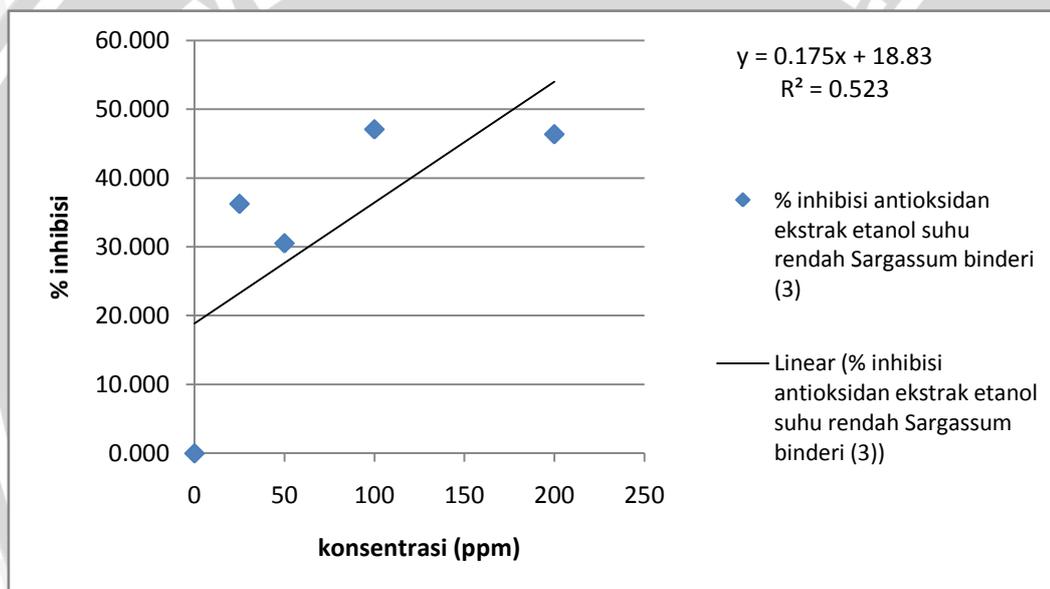
### Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak etanol *Sargassum binderi*



a. Ulangan 1

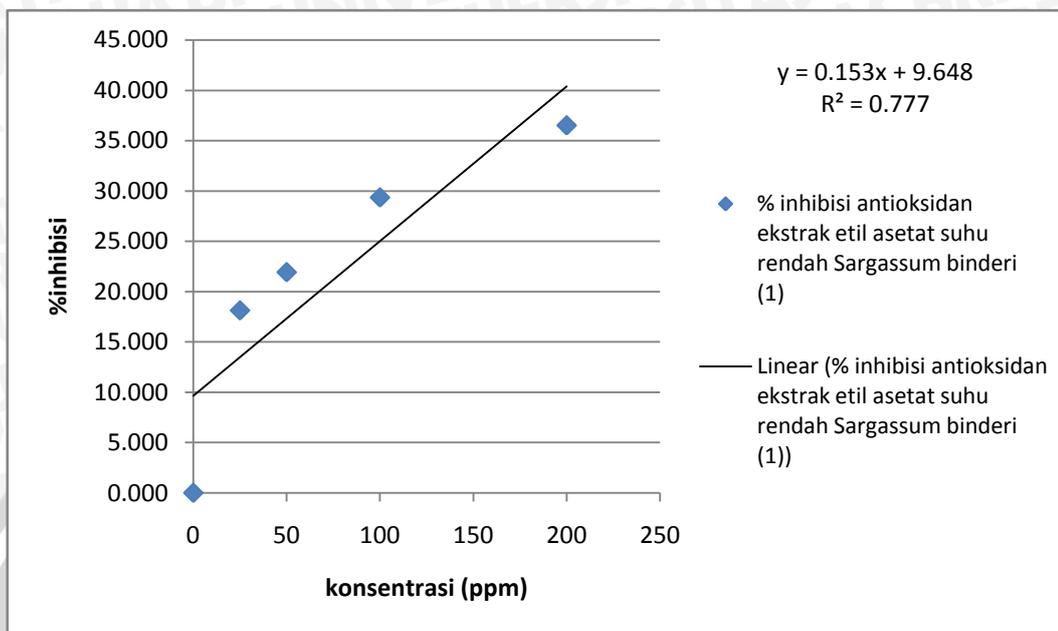


b. Ulangan 2

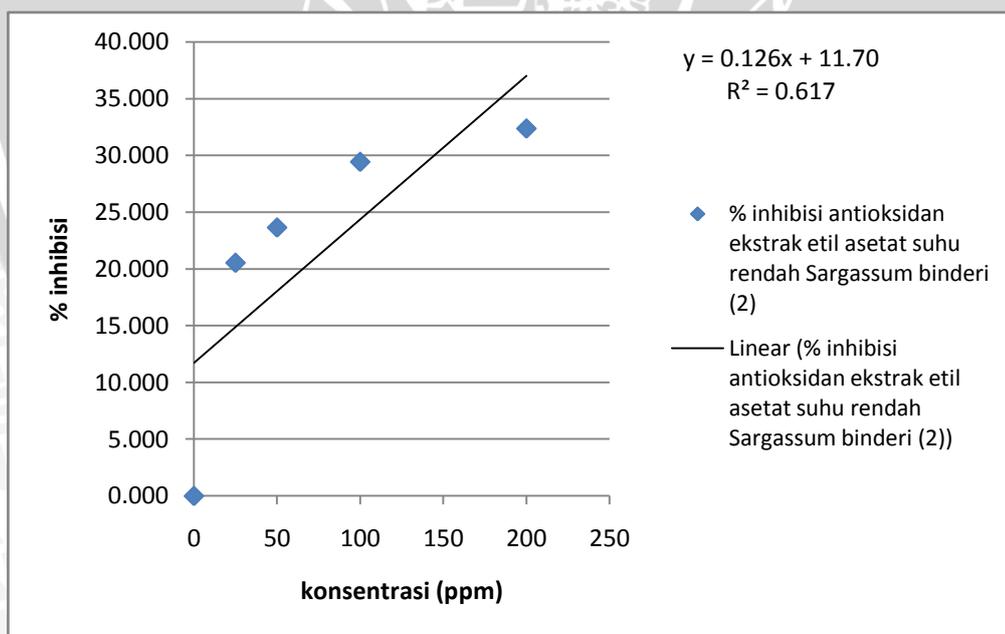


c. Ulangan 3

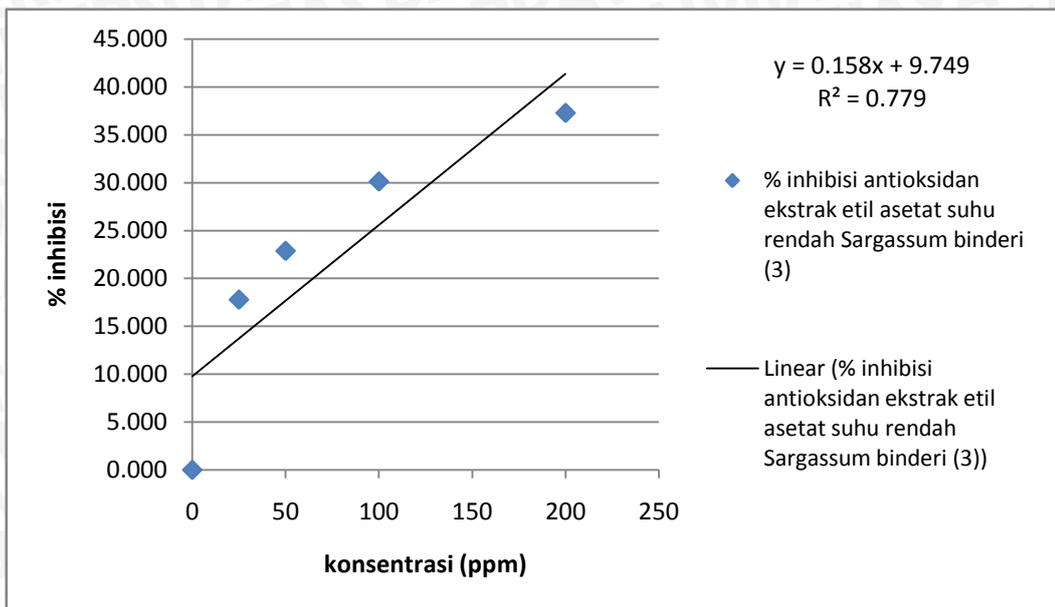
**Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat *Sargassum binderi***



a. Ulangan 1

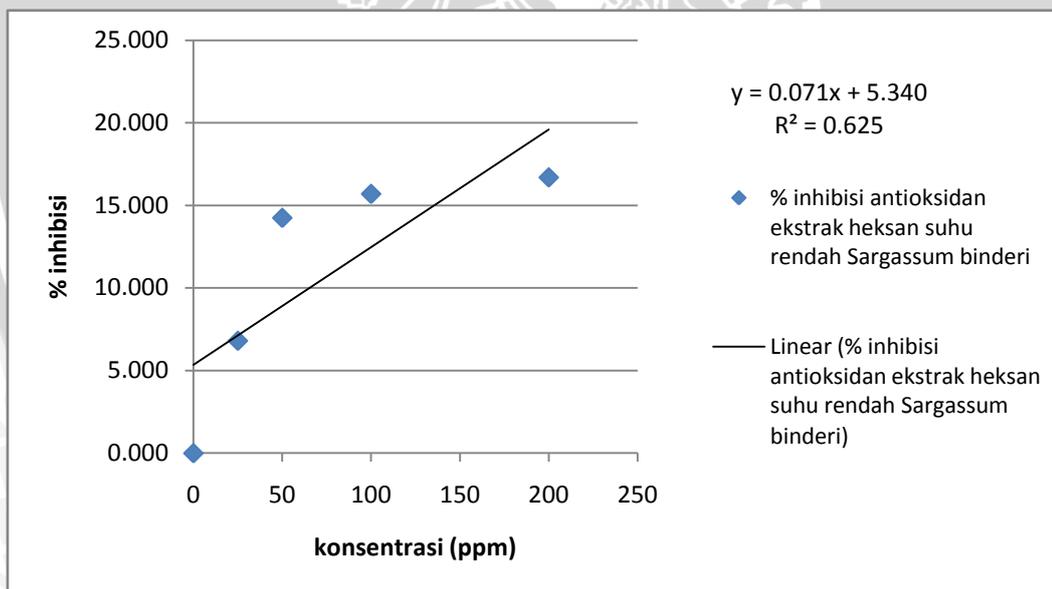


b. Ulangan 2

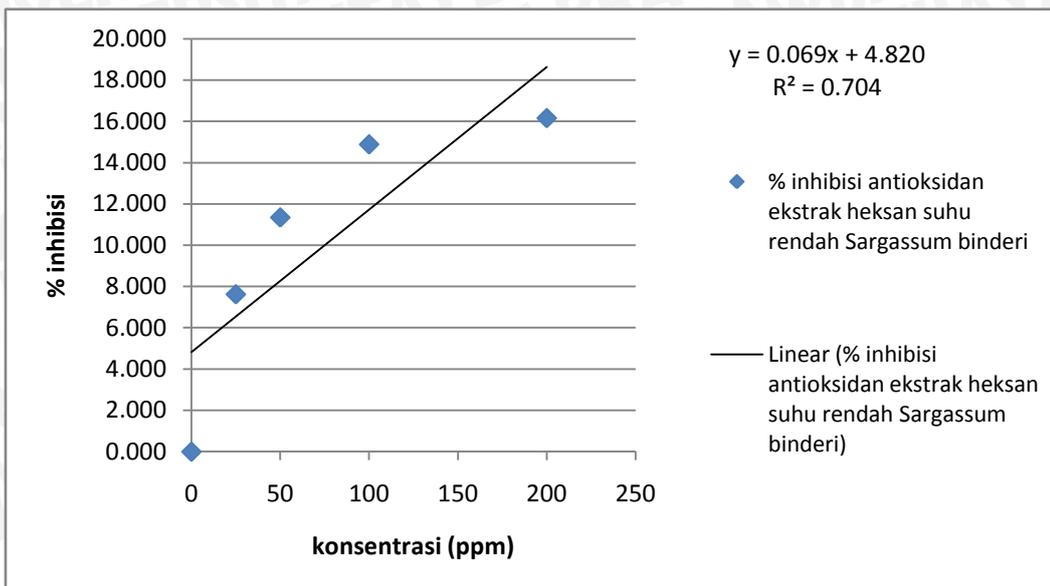


c. Ulangan 3

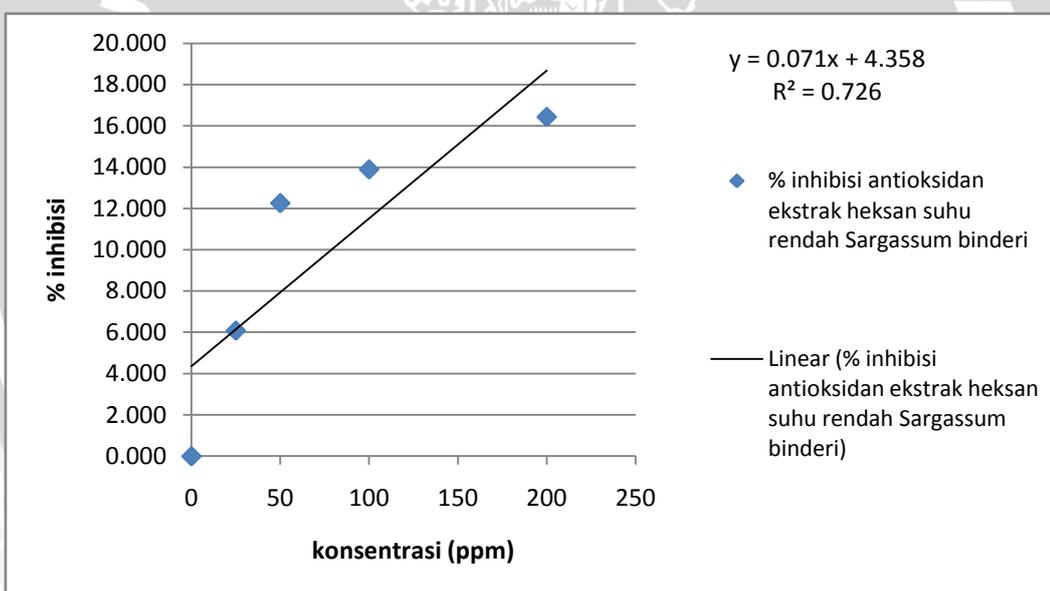
**Grafik Hubungan % Inhibisi dan Konsentrasi Ekstrak Heksan *Sargassum binderi***



a. Ulangan 1



b. Ulangan 2



c. Ulangan 3

### Lampiran 3. Contoh perhitungan persen inhibisi dan nilai IC 50

Pengukuran spektrofotometri UV-Vis menghasilkan nilai absorbansi untuk sampel ekstrak dan vitamin C. Nilai absorbansi masing-masing sampel dimasukkan ke dalam rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100$$

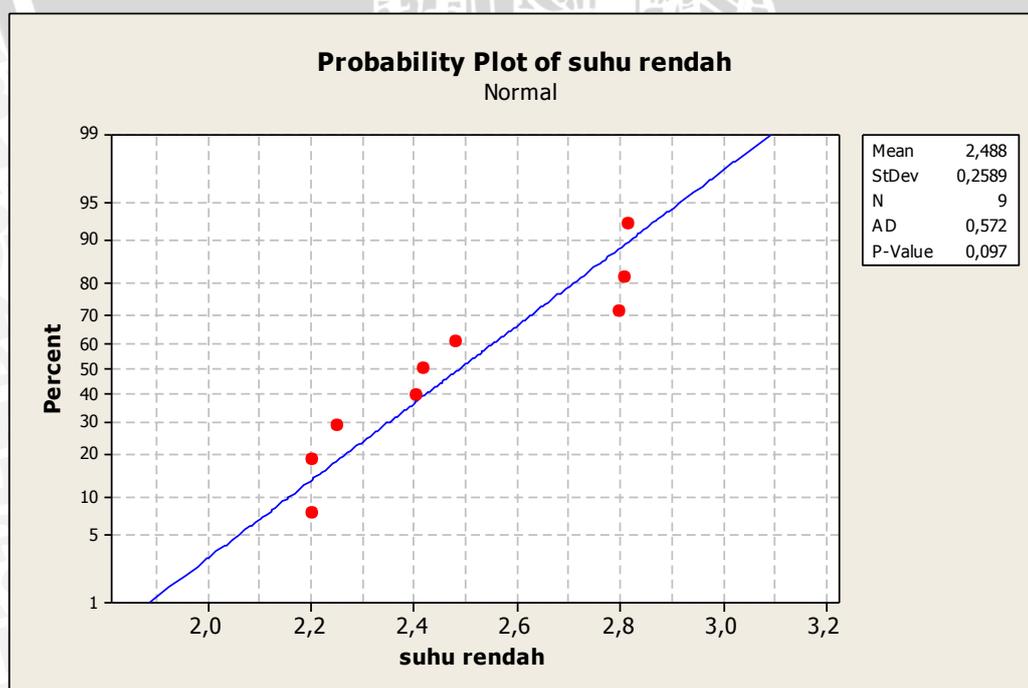
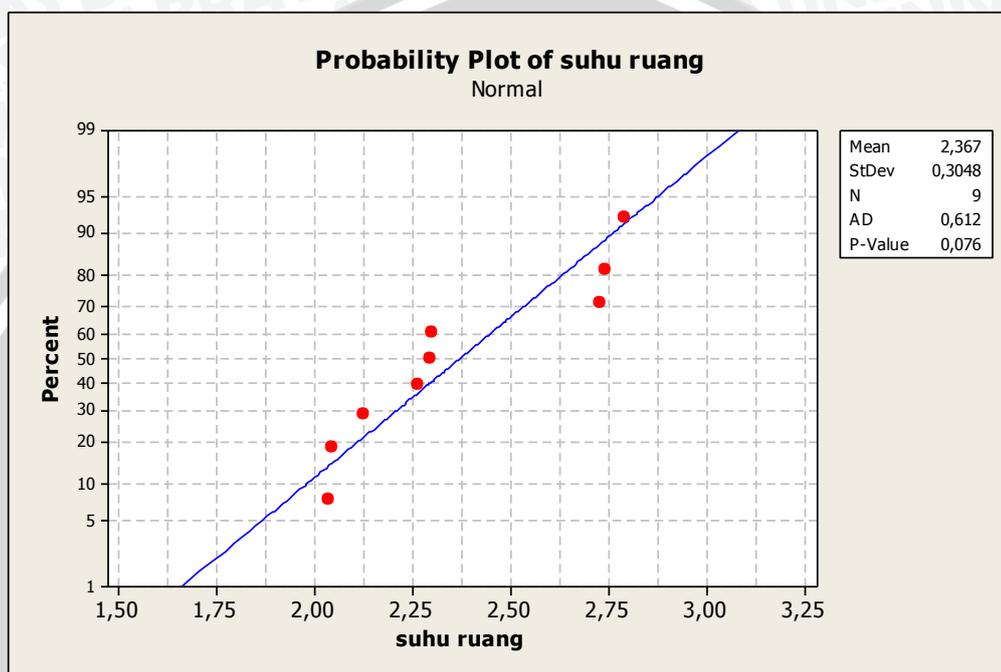
Contoh: % inhibisi sampel ekstrak pada suhu ruang 200 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,944 - 0,338}{0,944} \times 100 = 64,195 \%$$

Nilai konsentrasi dan hambatan ekstrak diplot masing-masing pada sumbu x dan y. Persamaan garis yang diperoleh dalam bentuk  $y=b\ln(x) + a$  digunakan untuk mencari nilai IC (inhibitor concentration), dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai  $IC_{50}$  menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%.

Lampiran 4. Analisis sidik ragam aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum binderi*

P-value > 0,05 aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) pada suhu ruang dan suhu rendah memiliki sebaran normal pada data di bawah ini:



## 1. Data Rancangan Acak Lengkap (RAL) Suhu Ruang

Perlakuan	Ulangan (IC 50)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	110,206	108,444	132,613	351,262	117,087
B	196,834	181,606	198,341	576,781	192,260
C	533,044	550,478	613,380	1.696,901	565,634
D	1,55	1,56	1,51	4,620	1,540
<b>Total</b>				2.629,565	

Keterangan:

A : Sargassum pengekstrak etanol

B : Sargassum pengekstrak etil asetat

C : Sargassum pengekstrak heksan

D : Kontrol

## 2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

### 2.1 Hipotesis :

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

$H_1$  = paling tidak ada sepasang  $T_i$  (nilai tengah) yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0,05(n-1)} \longrightarrow$  terima  $H_0$  ; tidak ada perbedaan sepasang  $T_i$  (tidak berbeda nyata)

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$  terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$  ; perbedaan sepasang  $T_i$  nyata

$f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$  terima  $H_1$ ; perbedaan sepasang  $T_i$  sangat nyata

## 2.2 Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

### 2.2.1 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{rn} = \frac{(2.629,565)^2}{3 \times 4} = \frac{6.914.612,089}{12} = 576.217,67$$



### 2.2.2 Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (110,206^2 + 108,444^2 + 132,613^2 + \dots + 1,51^2) - \text{FK} \\ &= 1.115.959,261 - 576.217,67 \\ &= 539740,920 \end{aligned}$$

### 2.2.3 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(351,262^2 + 576,781^2 + 1.696,901^2 + 4,62^2)}{3} - \text{FK} \\ &= 1.111.851,888 - 576.217,67 \\ &= 535.634,896 \end{aligned}$$

### 2.2.4 Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 539.740,920 - 535.634,896 \\ &= 4.106,024 \end{aligned}$$

### 2.3 Analysis of variance (ANOVA)

#### ANOVA Daya Hambat Antioksidan Pada Suhu Ruang

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	KT ((JK/db)	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	3	535.634,896	178.544,965	347,87**	4,07	7,59
Galat	8	4.106,024	513,253			
Total	11	539.740,920				

Kesimpulan :

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)}$  → terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$  ; perbedaan sepasang  $T_i$  nyata

### 2.4 Interpretasi

Ekstrak antioksidan *Sargassum binderi* memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap aktivitas radikal bebas DPPH pada pelarut etanol, dibandingkan ekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat maupun heksan. Tetapi aktivitas ekstrak tersebut jika dibandingkan dengan pembandingnya vitamin C lebih rendah, diduga dikarenakan bahwa ekstrak *Sargassum binderi* masih dalam bentuk kasar. Penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas proses ekstraksi antioksidan dari rumput laut *Sargassum binderi*. Perbedaan efektivitas ekstraksi antioksidan yang dipengaruhi oleh perbedaan polaritas pelarut mempengaruhi persentase penghambatan ( $IC_{50}$ ) radikal bebas DPPH.

### 3. Menentukan Jenis Pelarut yang Paling Potensial (Uji BNT 5%)

#### 3.1 Perhitungan BNT 5%

$$BNT_a = t_{a(\text{db galat})} \times \sqrt{\frac{2KT \text{ galat}}{\text{ulangan}}}$$

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(8)} \times \sqrt{\frac{513,253 \times 2}{3}}$$

$$= 2,306 \times 18,498$$

$$= 42,656$$

#### 3.2 Notasi BNT 5%



Tabel Notasi BNT 5%

Rata-rata IC <sub>50</sub>	D (1,54)	A (117,087)	B (192,260)	C (565,634)
D (1,54)	-	-	-	-
A (117,087)	115,547*	-	-	-
B (192,260)	190,720*	75,173*	-	-
C (565,634)	549,094*	448,546*	373,373*	-
Notasi	a	b	c	d
BNT <sub>0,05</sub> = 42,656				

Ket: \* = selisih sepasang nilai tengah > BNT<sub>0,05</sub>

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan perbedaan polaritasnya, etanol merupakan pelarut yang paling baik digunakan dalam proses ekstraksi antioksidan *Sargassum binderi*. Sampel yang diekstrak dengan pelarut etil asetat dan heksan kurang memiliki aktivitas antioksidan.

#### 1.2 Data Rancangan Acak Lengkap (RAL) Suhu Rendah

Perlakuan	Ulangan (IC 50)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	159,905	159,611	178,114	497,631	165,877

B	263,739	303,968	254,753	822,460	274,153
C	629,014	654,783	642,845	1.926,642	642,214
D	1,55	1,56	1,51	4,620	1,540
<b>Total</b>				3.251,352	

Keterangan:

- A : Sargassum pengekstrak etanol
- B : Sargassum pengekstrak etil asetat
- C : Sargassum pengekstrak heksan
- D : Kontrol

## 2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

### 2.1 Hipotesis :

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

$H_1 =$  paling tidak ada sepasang  $T_i$  (nilai tengah) yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0,05(n-1)} \longrightarrow$  terima  $H_0$  ; tidak ada perbedaan sepasang  $T_i$  (tidak berbeda nyata)

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$  terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$  ; perbedaan sepasang  $T_i$  nyata

$f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$  terima  $H_1$ ; perbedaan sepasang  $T_i$  sangat nyata

## 2.2 Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

### 2.2.1 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{rn} = \frac{(3.251,352)^2}{3 \times 4} = \frac{10.571.292,132}{12} = 880.941,011$$

### 2.3.2 Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (159,905^2 + 159,611^2 + 178,114^2 + \dots + 1,51^2) - FK \\ &= 1.547.279,973 - 880.941,011 \\ &= 666.338,859 \end{aligned}$$

### 2.3.3 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(497,631^2 + 822,460^2 + 1.926,642^2 + 4,62^2)}{3} - FK \\ &= 1.545.349,268 - 880.941,011 \\ &= 664.407,814 \end{aligned}$$

### 2.3.4 Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 666.338,859 - 664.407,814 \end{aligned}$$

= 1.931,046

## 2.4 Analysis of Variance (ANOVA)

### ANOVA Daya Hambat Antioksidan Pada Suhu Rendah

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	KT ((JK/db)	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	3	664.407,814	221.469,271	917,51**	4,07	7,59
Galat	8	1.931,046	241,381			
Total	11	666.338,859				

Kesimpulan :

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)}$  → terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$  ; perbedaan sepasang  $T_i$  nyata

## 2.4 Interpretasi

Ekstrak antioksidan *Sargassum binderi* memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap aktivitas radikal bebas DPPH pada pelarut etanol, dibandingkan ekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat maupun heksan. Tetapi aktivitas ekstrak tersebut jika dibandingkan dengan pembandingnya vitamin C lebih rendah, karena vitamin C merupakan senyawa yang murni. Penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas proses ekstraksi antioksidan dari rumput laut *Sargassum binderi*. Perbedaan efektivitas ekstraksi antioksidan yang

dipengaruhi oleh perbedaan polaritas pelarut mempengaruhi persentase penghambatan (IC<sub>50</sub>) radikal bebas DPPH.

### 3. Menentukan Jenis Pelarut yang Paling Potensial (Uji BNT 5%)

#### 3.1 Perhitungan BNT 5%

$$BNT_a = t_{a(db\ galat)} \times \sqrt{\frac{2KT\ galat}{ulangan}}$$

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(8)} \times \sqrt{\frac{241,381 \times 2}{3}}$$

$$= 2,306 \times 12,685$$

$$= 29,253$$

#### 3.2 Notasi BNT 5%

##### Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata IC <sub>50</sub>	D	A	B	C
	(1,54)	(165,877)	(274,153)	(642,214)
D (1,54)	-	-	-	-
A (165,877)	164,337*	-	-	-

B (274,153)	272,613*	108,276*	-	-
C (642,214)	640,674*	476,337*	368,061*	-
Notasi	a	b	c	d
BNT <sub>0,05</sub> = 29,253				

Ket: \* = selisih sepasang nilai tengah > BNT<sub>0,05</sub>

#### 4. Kesimpulan

Setelah dilakukan uji BNT 5%, dapat diketahui hasil dari masing-masing perlakuan berbeda. Berdasarkan perbedaan polaritasnya, etanol merupakan pelarut yang paling efektif digunakan dalam proses ekstraksi antioksidan *Sargassum binderi* pada suhu rendah, dibanding dengan menggunakan pelarut etil asetat maupun heksan. Vitamin C sebagai kontrol pembanding memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat atau nilai IC<sub>50</sub> lebih kecil, karena vitamin C merupakan senyawa yang murni.

Lampiran 5. Senyawa hasil identifikasi GC-MS ekstrak *Sargassum binderi* pelarut etanol suhu ruang

No	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak	Area %
1	Benzenediol, 2-methoxy	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	140	2,2,2,2,2	0,200
2	1,4-Dioxepin, 2,3-dihydro- 2,5-dimethyl	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	128	1,1	0,320
3	Methacrylic acid	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	128	1	0,176
4	Home inositol	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	194	5	13,712
5	D-fructose, 3-O-methyl	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	194	5,5	27,424
6	2-Hexenal Propylene Glycol Acetal	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	156	1	0,176
7	Methyl 4-O-methyl	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	236	5,5	27,424
8	Allyl Heptoate	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	170	1	0,176
9	Undecanoid Acid	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	186	4	1,526
10	Methyl uronate	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>	292	3	0,094
11	Methyl-3-O-acetyl	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	278	3	0,094
12	Decene methyl	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	168	7,7	1,528
13	Dehidro-4-oxo-beta-ionol	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	206	11	0,802
14	Beta-D-Mannopyranose	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	306	3	0,094
15	Nonane, 4-methyl-5-propyl (CAS)	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	8	0,660
16	Undecane, 4,5-dimethyl-(CAS)	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	8	0,660
17	Dimethyl-6'-methyliden-1'-cyclohexyliden	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	206	11	0,802
18	Tetradecenal	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O	210	6	0,292
19	Tetradecanoic acid (CAS)	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228	4,4	3,052
20	-	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	254	11	0,802
21	Methyl 3,6-di-O-acetyl	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>9</sub>	350	3	0,094
22	Methyl 6-O-acetyl	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>7</sub>	320	3	0,094
23	Dodecanamide	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>3</sub>	287	4	1,526
24	Decane, 5,6-dipropyl	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	8	0,660
25	Bis(2-ethylhexyl) ether	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	7,7,7,8,8	3,612
26	Heptadecanoic acid	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	4	1,526
27	Epoxynaphth oxepin	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278	10,10	2,312
28	Octadecenal	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O	266	6,6,6	0,876
29	Heptadecene-carbonic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	6	0,292
30	Androst-4-en-3-one	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	288	9	0,778
31	Progesterone	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	314	9,9,9	2,334
32	Beta-acetoxy-delta	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	330	9	0,778
33	Methyl 18-isopimaranoate	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	320	11	0,802
34	As-indacene	C <sub>29</sub> H <sub>54</sub>	402	11	0,802
35	Friedoolean-6-ene (CAS)	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	10	1,156
36	Methyl commate B	C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub>	470	10	1,156
37	Methyl commate E	C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> O <sub>5</sub>	502	10	1,156
Total					100

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



1. *Sargassum binderi*



2. Proses Pencucian



3. Sampel yang telah dipotong kecil-kecil



4. Ekstraksi pada suhu ruang ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ )



5. Ekstraksi pada suhu rendah ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ )



6. Proses penyaringan ekstrak



8. Rangkaian Alat Vacum Rotary Evaporator

7. Proses Evaporasi



9. Ekstrak Suhu Ruang

10. Ekstrak Suhu Rendah



12. Uji GC-MS ekstrak yang dimaserasi dengan Etanol pada suhu ruang

11. Proses Penambahan Radikal Bebas DPPH pada larutan sampel