

**IDENTIFIKASI PROFIL BIOAKTIF ALGA COKLAT *Turbinaria conoides*
DENGAN METODE GC-MS**

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

**Oleh :
DYAH AYU TRIANA A.
NIM. 115080300111016**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**IDENTIFIKASI PROFIL BIOAKTIF ALGA COKLAT *Turbinaria conoides*
DENGAN METODE GC-MS**

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

**Sebagai Salah Satu untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
DYAH AYU TRIANA A.
NIM. 115080300111016**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

LAPORAN SKRIPSI

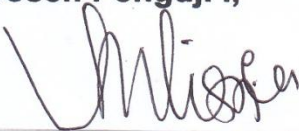
IDENTIFIKAS PROFIL BIOAKTIF ALGA COKLAT *Turbinaria conoides* DENGAN METODE GC-MS

Oleh :

DYAH AYU TRIANA A
NIM. 115080300111016

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 22 Desember 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui ,
Dosen Penguji I,

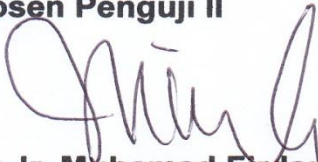


Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP
NIP. 19581231 198601 2 002

Tanggal : _____

13 JAN 2016

Dosen Penguji II

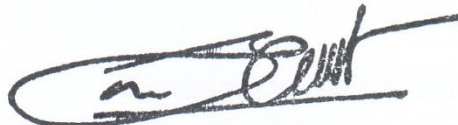


Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : _____

13 JAN 2016

Dosen Pembimbing I,

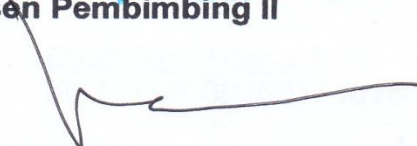


Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS
NIP. 19570119 198601 1 001

Tanggal : _____

13 JAN 2016

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal : _____

13 JAN 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : _____

13 JAN 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

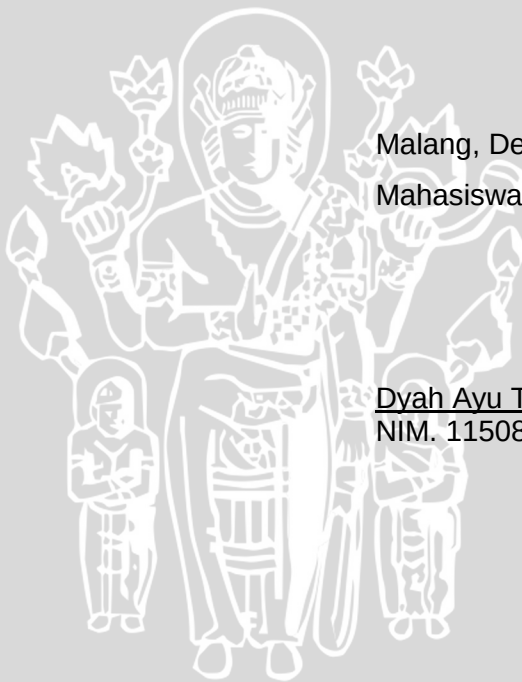
Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Desember 2015

Mahasiswa

Dyah Ayu Triana A

NIM. 115080300111016



UCAPAN TERIMA KASIH

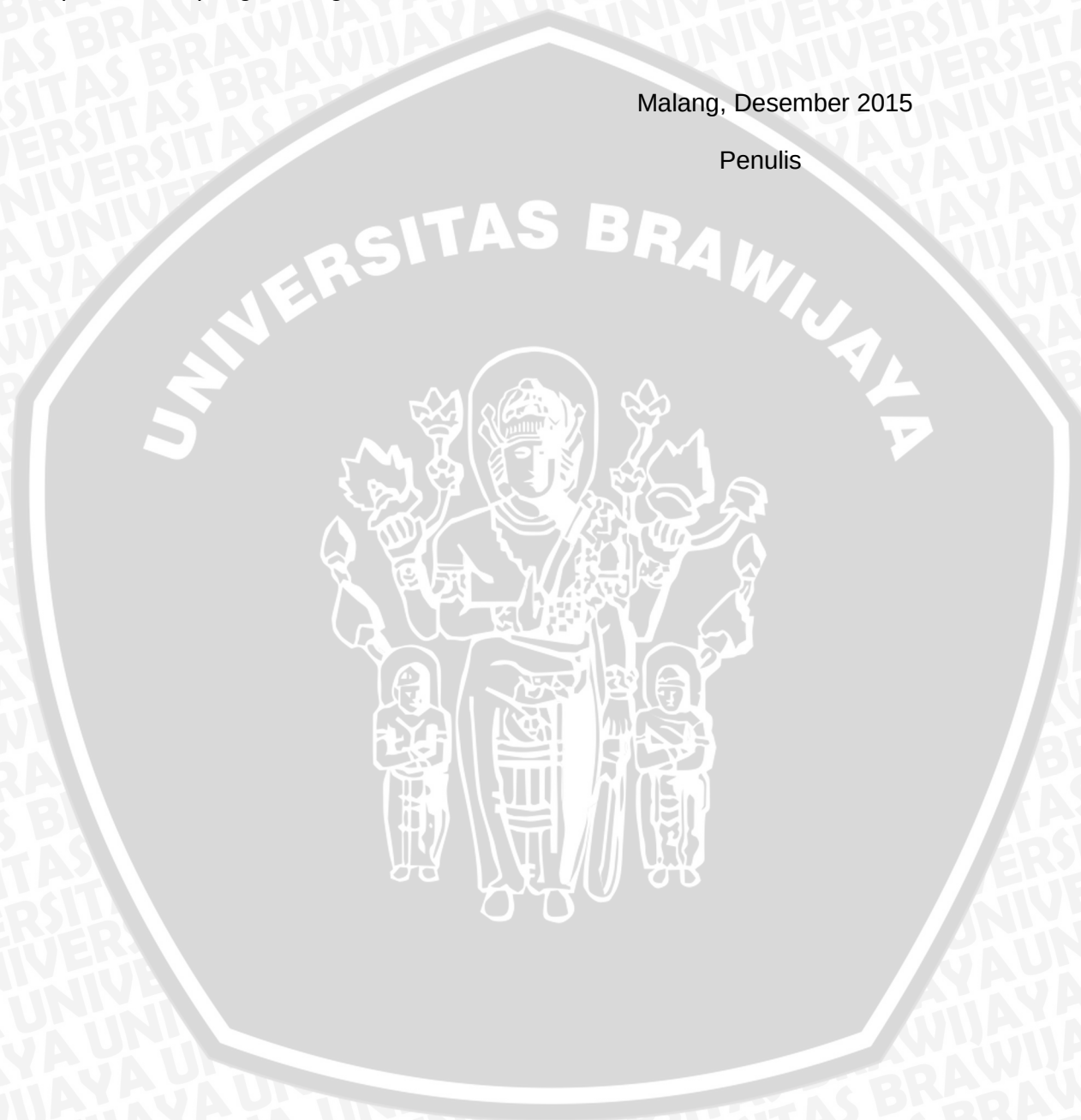
Alhamdulillahirobbilalamin, puji syukur kepada Tuhan yang Maha Esa, atas berkah, rahmat, ridho serta hidayahNya penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul IDENTIFIKASI PROFIL BIOAKTIF ALGA COKLAT *Turbinaria conoides* DENGAN METODE GC-MS. Atas terselesaikannya laporan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Praktek Kerja Lapang
2. Bapak Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku dosen pembimbing 1 dalam penulisan laporan praktek kerja lapang ini.
3. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing 2 dalam penulisan laporan praktek kerja lapang ini.
4. Ibu Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP dan Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, Mp selaku dosen penguji atas saran dan arahan.
5. Orang Tua Bapak Rimanto dan Ibu Hendry Cahyaningsih serta kakak saya Wawan Ardianto dan Rudy Febriana Putra yang telah banyak membantu, memberikan motivasi dan membimbing selama pelaksanaan Praktek Kerja Lapang berlangsung.
6. Rofi Aldita, Maghfirotn Marta, Indes Awalun, Lisniawati, Ayu Nurralita, Novi Christya, dan Novi teman dari semester 1 yang selalu memberikan semangat.
7. Kepada TIM BIOAKTIF (*Ria, Dewinta, Ely, Fati, Ani, Anis, Agung, Ronal, dan Dzaki*) yang membantu selama penelitian dari awal sampai selesai.
8. Kepada semua teman-teman THP 2011 dan semua pihak yang telah membantu penulisan laporan Praktek Kerja Lapang ini.

Penulis menyadari atas keterbatasan ilmu dan pengetahuannya sehingga diharapkan adanya kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan tulisan ini. Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak untuk pengembangan wawasan kita semua. Amin.

Malang, Desember 2015

Penulis



RINGKASAN

DYAH AYU TRIANA A. Identifikasi Profil Bioaktif Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan Metode GC-MC (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi S., MS** dan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS**).

Rumput laut coklat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang keberadaannya sangat melimpah dan tumbuh secara alami di perairan pantai Indonesia khususnya di perairan Madura, akan tetapi potensi ini belum dimanfaatkan secara optimal. *Turbinaria* sp. memiliki bentuk thallus, tegak, kasar, terdapat bekas percabangan. bentuk daun menyerupai kerucut segitiga dengan bentuk corong dengan tepi daun bergerigi. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan pada penelitian yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman. Hasil analisis fitokimia dapat memberikan petunjuk tentang keberadaan komponen kimia (senyawa) jenis golongan steroid/triterpenoid, alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui profil bioaktif alga coklat *Turbinaria conoides* dengan ekstraksi bertingkat dari pelarut yang berbeda berdasarkan kepolarannya. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 10 Juni – 19 Agustus 2015 di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Metode yang digunakan yaitu metode deskriptif dengan menguji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, dan total fenol. Total fenol dengan membuat konsentrasi 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, dan 32 ppm dimana keenam perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Nilai total fenol diperoleh dari analisis regresi asam galat dari konsentrasi 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, dan 32 ppm. Hasil ekstrak kemudian diuji kandungan polifenol dengan analisis GC-MS dengan proses kromatografi kolom terlebih dahulu.

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak *Turbinaria conoides* tidak mengandung alkaloid dan flavonoid. Tetapi *Turbinaria conoides* mengandung triterpenoid/steroid, saponin, dan tanin. Hasil total fenol ekstrak n-heksan *Turbinaria conoides* sebesar 24,647 mg GAE/mg. Ekstrak n-heksan – etil asetat *Turbinaria conoides* sebesar 27,079 mg GAE/g. Ekstrak etanol-etil asetat-n-heksan *Turbinaria conoides* sebesar 41,189 mg GAE/g. Ekstrak etanol *Turbinaria conoides* sebesar 39,353 mg GAE/g. Ekstrak etil asetat – etanol *Turbinaria conoides* sebesar 24,857 mg GAE/g. Ekstrak n-heksan – etil asetat – etanol sebesar 22,748 mg GAE/g. Hasil total fenol tertinggi dilakukan pemisahan senyawa bioaktif diperoleh 3 isolat warna. Hasil uji GC-MS terdapat beberapa senyawa dari ketiga isolat diantaranya pada isolat hitam terdapat senyawa *Neophytadiene* $\text{C}_{26}\text{H}_{44}$, *2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecene*, isolat orange terdapat senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*, dan isolat hijau terdapat senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*. Dari hasil GC-MS alga coklat *Turbinaria conoides* tidak mengandung senyawa polifenol.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi dengan judul **“IDENTIFIKASI PROFIL BIOAKTIF ALGA COKLAT *Turbinaria conoides* DENGAN METODE GC-MC”**. Dalam tulisan ini, disajikan penjelasan tentang senyawa bioaktif yang terdapat pada *Turbinaria conoides* dengan metode GC-MS.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan terdapat banyak hal yang kurang tepat. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Desember

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Ringkasan	iii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	v
Daftar Tabel	vi
Daftar Gambar	vii
Daftar Lampiran	viii
1. Pendahuluan	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Kegunaan	3
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	3
2. Pembahasan	
2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Turbinaria conoides</i>	4
2.2 Kandungan Gizi	5
2.3 Ekstraksi	6
2.4 Pelarut	7
2.4.1 N-heksan.....	7
2.4.2 Etil Asetat	8
2.4.3 Etanol	8
2.5 Senyawa Fitokimia	9
2.5.1 Alkaloid	9
2.5.2 Flavonoid	11
2.5.3 Triterpenoid/Steroid.....	11
2.5.4 Saponin	13
2.5.5 Tanin	14
2.5.6 Fenol	14
2.6 GC-MS	15
3. Materi dan Metode Penelitian	
3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan Penelitian	18
3.2 Metode Penelitian	18
3.3 Prosedur Penelitian	19
3.3.1 Ekstraksi	19
3.3.2 Skrining Fitokimia	21
3.3.3 Total Fenol	23
3.3.4 Kromatografi Kolom	23
3.3.5 GC-MS	25
4. Hasil dan Pembahasan	
4.1 Skrining Fitokimia	26
4.2 Total Fenol	28
4.3 Kromatografi Kolom	30
4.4 GC-MS	30

5. Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
Daftar Pustaka	38
Lampiran	43



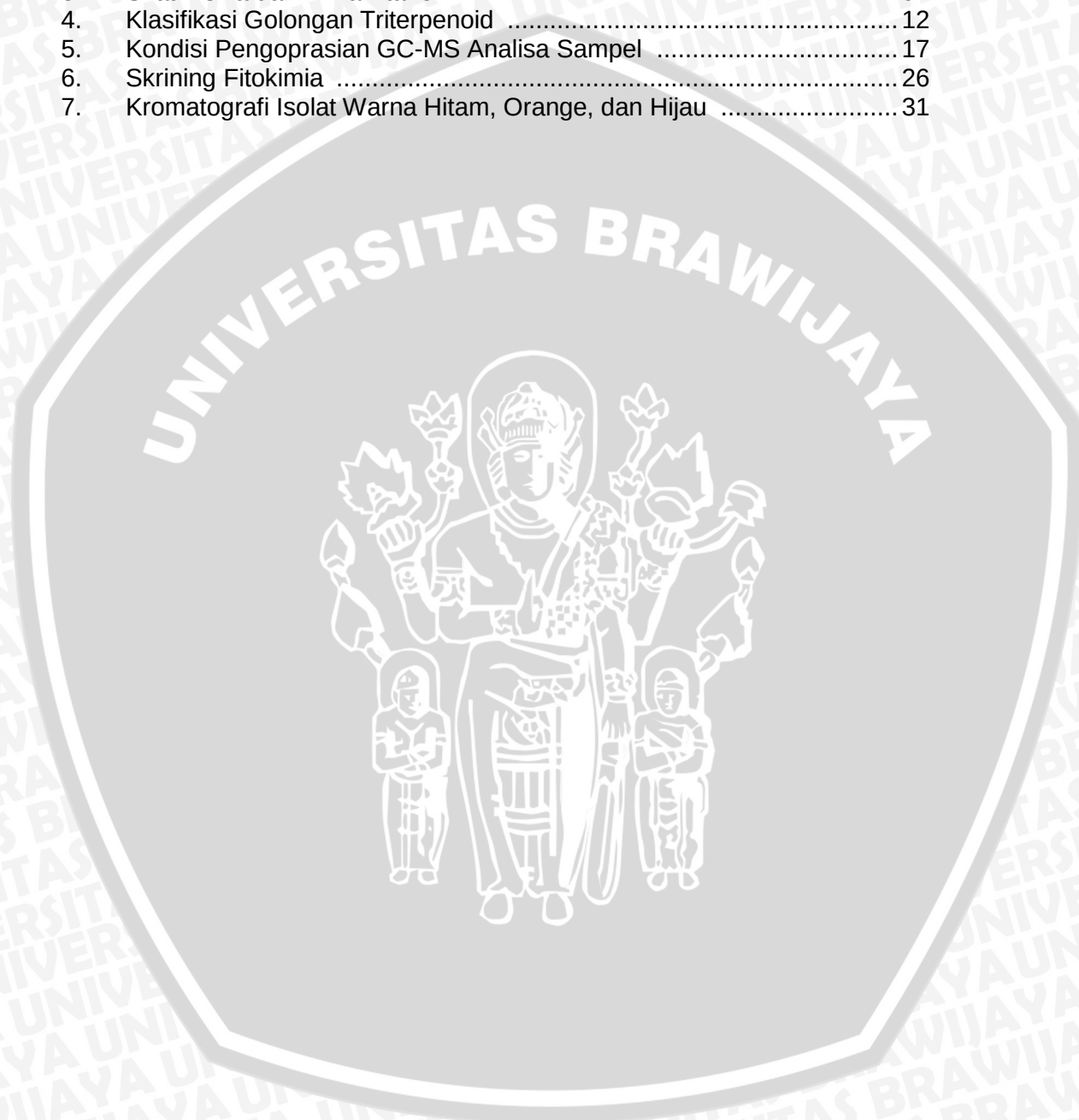
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Turbinaria conoides</i>	4
2. Struktur Golongan Alkaloid	10
3. Struktur Flavonoid	11
4. Struktur Saponin	13
5. Struktur Tanin	14
6. Senyawa Fenol	15
7. Rumus Bangun Fenol	15
8. Hasil Total Fenol	29
9. Hasil Kromatografi Kolom	30
10. Kromatogram GC (<i>Gas Chromathograp</i>) Isolat Warna Hitam	32
11. Spektrum Senyawa Masa Target Puncak 3 (SI=99)	33
12. Kromatogram GC (<i>Gas Chromathograp</i>) Isolat Warna Orange	34
13. Spektrum Senyawa Masa Target Puncak 13 (SI=49)	35
14. Kromatogram GC (<i>Gas Chromathograp</i>) Isolat Warna Hijau	35
15. Spektrum Senyawa Masa Target Puncak 2(SI=95)	36



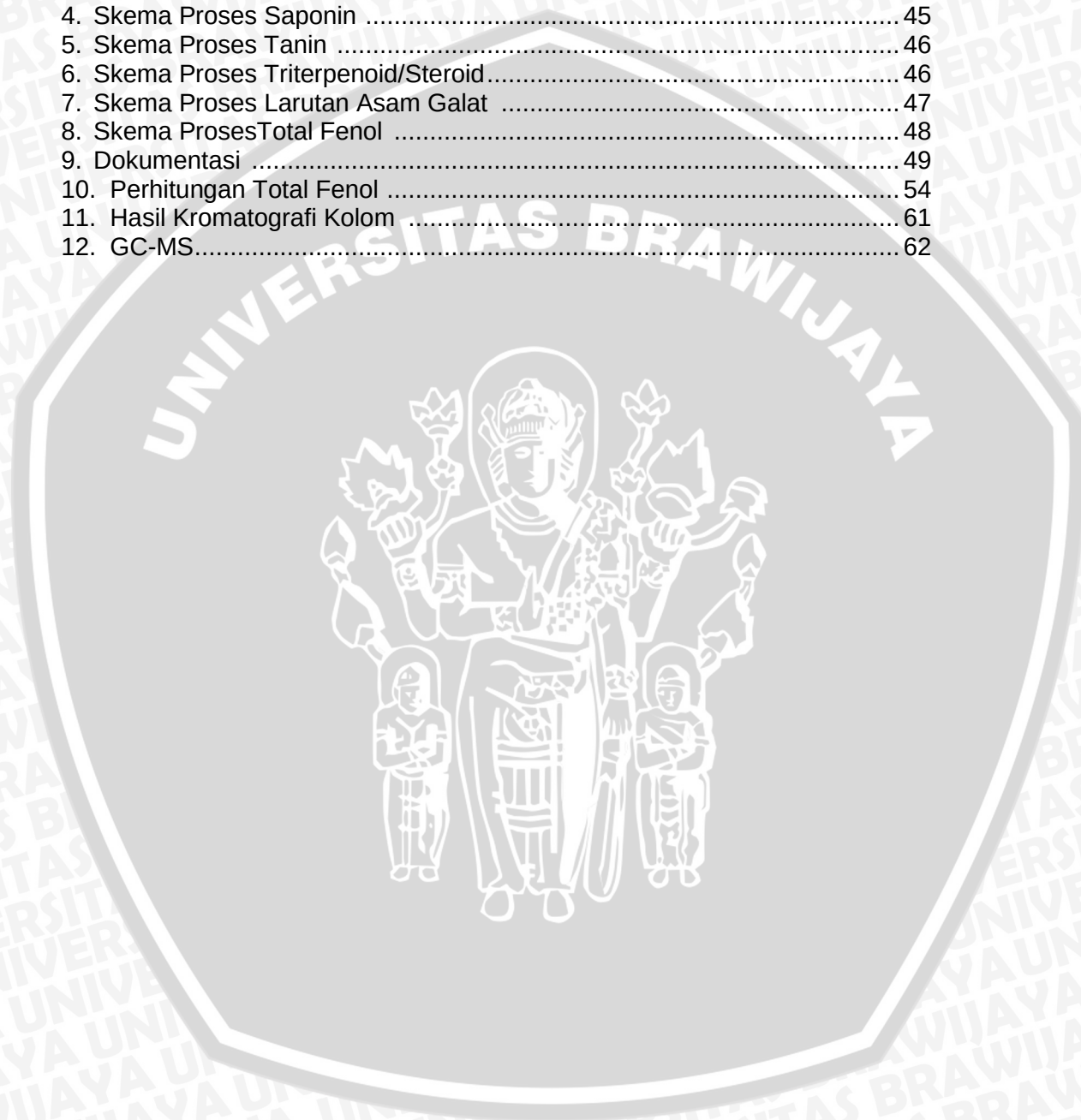
DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Sifat Fisika dan Kimia N-heksan	7
2.	Sifat Fisika dan Kima Etil Asetat	8
3.	Sifat Fisika dan Kima Etanol	9
4.	Klasifikasi Golongan Triterpenoid	12
5.	Kondisi Pengoprasian GC-MS Analisa Sampel	17
6.	Skrining Fitokimia	26
7.	Kromatografi Isolat Warna Hitam, Orange, dan Hijau	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Proses Maserasi	43
2. Skema Proses Alkaloid	44
3. Skema Proses Flavonoid	45
4. Skema Proses Saponin	45
5. Skema Proses Tanin	46
6. Skema Proses Triterpenoid/Steroid	46
7. Skema Proses Larutan Asam Galat	47
8. Skema Proses Total Fenol	48
9. Dokumentasi	49
10. Perhitungan Total Fenol	54
11. Hasil Kromatografi Kolom	61
12. GC-MS	62



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut coklat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang keberadaannya sangat melimpah dan tumbuh secara alami di perairan pantai Indonesia khususnya di perairan Madura, akan tetapi potensi ini belum dimanfaatkan secara optimal. Pada umumnya rumput laut coklat mengandung tiga jenis hidrokoloid, yaitu : agar-agar, alginat dan karagenan. Warna rumput laut coklat dipengaruhi oleh komposisi dan kandungan pigmen yang tersusun didalamnya, dimana komposisi pigmen dari masing-masing jenis rumput laut coklat berbeda (Limantara dan Heriyanto, 2011).

Turbinaria sp. merupakan tumbuhan Cryptogamae yang belum jelas alat reproduksinya. Konseptakel merupakan ujung-ujung cabang taluns agak membesar dan terdapat lekukan yang dimiliki *Turbinaria* sp. . *Turbinaria* banyak digunakan sebagai bahan makanan, rabuk, karena adanya kandungan aranilla yang tinggi, sebagai sumber algin, tanin dan phenol yang bermanfaat sebagai kesehatan dan sebagai anti serangga.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan dengan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut. Untuk memperoleh ekstrak yang baik dapat dilakukan ekstraksi secara bertingkat dimulai dari pelarut non polar (n-heksana, sikloheksana, toluene, dan kloroform), lalu dengan pelarut semipolar (diklorometan, dietil eter dan etil asetat) dan polar (metanol, etanol dan air) sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung berturut-turut senyawa nonpolar, semipolar dan polar (Pringgenies *et al.*, 2012). Dalam penelitian Yuniyanto *et al.* , (2014), tentang skrining fitokimia dengan ekstraksi bertingkat (n-heksan, etil asetat, dan metanol) didapatkan hasil bahwa ekstrak metanol mengandung

saponin, ekstrak n-heksan mengandung alkaloid, dan semua ekstrak mengandung steroid.

Sampai saat ini informasi mengenai senyawa bioaktif dari *Turbinaria conoides* belum banyak dipublikasikan. Menurut Wikanta *et al.*, (2013), rumput laut hijau *U. fasciata* mengandung flavonoid, saponin, dan steroid. *Sargassum duplicatum* mengandung alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan glikosida (Firdaus *et al.*, 2012). Pada penelitian Firdhayani *et al.*, (2014), *Padina gymnospora* mengandung bioaktif saponin, terpenoid, flavonoid, dan polivenol. Menurut Siregar *et al.*, (2012), *Caulerpa* sp. mengandung alkaloid, flavonoid, steroid tanani, dan triterpenoid. *Euchema* sp. ,mengandung steroid, *Gracilaria* mengandung alkaloid, flavonoid, steroid. Sedangkan *Sargassum* sp. mengandung steroid, alkaloid, dan tanin. Dari penelitian Bustami (2014), *Turbinaria decurrens* Bory memiliki senyawa bioaktif golongan glikosida, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid.

Saat ini masih belum banyak penelitian yang membahas tentang kandungan senyawa bioaktif dari alga coklat *Turbinaria conoides* dengan ekstraksi bertingkat dan tiga pelarut yang berbeda. Selanjutnya, dari hasil penelitian tentang skrining fitokimia pada alga coklat *Turbinaria conoides* diharapkan mampu memberikan informasi baru yang bermanfaat bagi masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang mendasari dalam penelitian ini adalah bagaimana profil boaktif yang terkandung dalam alga coklat *Turbinaria conoides* ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui profil bioaktif yang terkandung dalam alga coklat *Turbinaria conoides*.

1.4 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang profil bioaktif yang terkandung didalam alga coklat *Turbinaria conoides*

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan, Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, dan Laboratorium Keamnana Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 10 Juni – 19 Agustus 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Rachmaniar (1999), Klasifikasi dari *Turbinaria conoides* (J. Agardh) sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Filum	: Thallophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Suku	: Sargassaceae
Marga	: Turbinaria
Jenis	: <i>Turbinaria conoides</i>

Turbinaria sp. memiliki bentuk thallus, tegak, kasar, terdapat bekas percabangan. *Holdfast* berbentuk cakram kecil dengan perakaran yang berekspansi radial. Percabangan berputar mengelilingi batang utama. Tangkai dan lembaran daun umumnya berukuran kecil, diameter sekitar satu cm, membentuk setengah lingkaran melengkung, dan bentuk daun menyerupai kerucut segitiga dengan bentuk corong dengan tepi daun bergerigi. Warna batang coklat muda atau coklat tua dan tingginya mencapai 75 cm (Wibowo *et al.*, 2013). Gambar *Turbinaria conoides* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Turbinaria conoides*
Sumber : Google Image (2015)

Tingginya *Turbinaria* sekitar 35 cm memiliki cabang yang tegak lurus, dengan panjang cabang 15 cm. Daun menyebar atau tegak panjang mencapai 20 mm, lebar 10 mm sampai ujung, dan bagian tangkai dan kadang berbentuk segitiga. Daun tipis dan kecil, lunak, bergerigi dengan gigi yang besar, dan hemipeltate. Tangkai daun tidak bergerigi. Daun bagian atas tegak dan lebih rendah agak kebawah di sepanjang batang. Vesical umumnya tidak ada, saat terjadi dari dasar daun yang tipis (Ajisaka dan John, 1990).

2.2 Kandungan Gizi

Rumput laut mengandung senyawa-senyawa kimia seperti karaginan, protein, karbohidrat, lemak, serat kasar, alginat, dan karotenoid. Pigmen tersebut banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan, selain itu pada alga coklat juga mengandung pigmen tersebut yaitu *Turbinaria conoides*. *Turbinaria conoides* adalah spesies alga coklat sebagian sumber alginat dan berpotensi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas (Yenusi *et al.*, 2014).

Menurut Rajeshkumar *et al.*, (2013) *T. conoides* merupakan ganggang coklat berasal dari golongan *Fucales* dan golongan *Sargassum*. Komponen yang ditemukan dalam jumlah yang besar diantaranya sterols, ada juga fucosterol, dan molekul yang berbeda mengandung etil kolesterol dan jenis vinyl, cyclohexane, dan beberapa sulfat fucoidan seperti polisakarida, glucan netral, dan guluronic mannuronic, dan residu asam yang mengandung asam alginic, rhamnose, fucose, arabinose, xilose, mannose, galaktosa, glukosa, dan asam uronic.

2.3 Ekstraksi

Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang akan digunakan sangat mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstraksi. Pemilihan pelarut ekstraksi umumnya menggunakan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Siedel, 2008).

Metode yang mendasari proses ekstraksi pada umumnya adalah maserasi. Kata maserasi berasal dari bahasa Latin *maceratus* yang artinya melunakkan. Maserasi merupakan proses perendaman bahan yang dilakukan dengan atau tanpa pengadukan. Bahan yang akan dimaserasi bersama pelarut dimasukkan dalam wadah tertutup yang bertujuan untuk mencegah terjadinya penguapan (Longo 2008).

Keunggulan metode maserasi yaitu waktu yang digunakan cepat, mudah dilakukan, sederhana dan hasilnya lebih banyak (Purwani, 2012). Ditambahkan oleh Assagaf (2012), Metode ekstraksi maserasi menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman simplisia tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan berlangsung dengan sempurna karena waktu perendaman dapat diatur. Maserasi merupakan proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Keuntungannya dari maserasi yaitu lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan tidak memerlukan pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan relatif lama (Putra, 2014)

Kelemahan yang dimiliki adalah waktu ekstraksi yang lama dan hasil pengestrak kurang sempurna, bahan terekstrak haruslah stabil pada temperatur didih pelarut sangat tidak cocok digunakan untuk bahan yang sensitif

terhadap suhu tinggi, ekstraksi berlangsung relatif lama karena adanya pendinginan oleh udara (Sari, 2012)

2.4 Pelarut

Pada prose ekstraksi menggunakan 3 pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar).

2.4.1 N-heksan

Heksana adalah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$. Awalan heks- menunjukkan enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana merupakan alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon, sedangkan N Hexana merupakan jenis pelarut non polar (Munawaroh dan Prima, 2010).

N-heksan merupakan suatu senyawa hidrokarbon dengan rumus kimia $(C_6H_{14}(CH_3-(CH_2)_4-CH_3))$ (Romiyanto, 2014). Ditambahkan oleh Budi laksono *et al.*, (2013), n-heksan merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar kerana memiliki beberapa keunggulan, diantaranya bersifat stabil, mudah menguap, selektif, serta menghasilkan jumlah kecil lilin, albumin dan zat warna. Sifat Fisika dan Kimia n-heksan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia N-heksan

Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 g/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	-95°C
Titik didih	69°C (Pada 1 atm)
Densitas	0,6603 g/mL pada 20°C

Sumber : Munawaroh dan Prima (2010)

2.4.2 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa yang dihasilkan dari pertukaran gugus hidroksil pada asam karboksilat dengan gugus hidrokarbon yang terdapat pada etanol. Etil asetat biasanya disintesis dengan menggunakan katalisator cair berupa asam sulfat (Nuryoto, 2008). Etil asetat merupakan pelarut dari jenis semi polar dengan titik didih yaitu 77°C (Susanti *et al.*, 2012). Etil asetat berupa zat cair dan tidak berwarna serta beraroma khas (Romiyanto, 2014). Sifat Fisika dan kimia Etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat fisika dan Kimia Etil Asetat

Spesifik	Keterangan
Bentuk	Cairan tidak berwarna
Rumus molekul	$\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$
Berat molekul	88, 108 g/mol
Titik didih (1 atm)	77,1 °C
Temperature kritis	250 °C
Tekanan kritis	37,8 atm
Densitas	1,85 g/mol
Kemurnian	>99,5%

Sumber : Absori dan Paramitha (2011)

2.4.3 Etanol

Etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya. Kelemahan penggunaan pelarut etanol adalah etanol larut dalam air dan juga melarutkan komponen lain yaitu protein karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi dibandingkan jenis pelarut organik yang lain (Janan, 2013).

Menurut Wiratmaja *et al.*, (2011), etanol merupakan senyawa alkohol yang memiliki dua atom karbon ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). Rumus kimia dari etanol adalah $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{OH}$. Sifat yang dimiliki etanol yaitu larutan yang tidak berwarna (jernih), berfase cair pada temperatur kamar, mudah menguap, serta mudah terbakar. senyawa organik yang terdiri dari karbon, hydrogen dan oksigen, sehingga dapat dilihat

sebagai turunan senyawa hidrokarbon yang mempunyai gugus hidroksil dengan rumus C_2H_5OH . Ditambahkan oleh Endah *et al.*, (2007) , etanol ialah zat cair, yang tidak berwarna, mempunyai bau spesifik, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dalam air dengan semua perbandingan. Sifat Fisika dan Kimia Etanol dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

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

Sumber : Munawaroh dan Prima (2010)

2.5 Senyawa Fitokimia

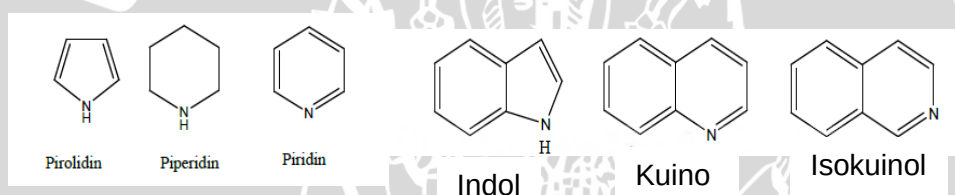
Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek bermanfaat yang ditunjukkan oleh ekstraksi kasar bila diuji dengan sistem biologi. Pelarut non polar efektif mengekstrak alkaloid dan terpenoid dari suatu bahan. Pelarut semipolar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, dan alkaloid. Pelarut bersifat polar, mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, tanin, dan komponen fenolik (Harborne, 1987).

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik bahan alam yang memiliki jumlah terbanyak baik dari segi jumlah maupun sebarannya. Alkaloid dapat didefinisikan sebagai kelompok senyawa yang mempunyai sifat basa (alkalis), dikarenakan mengandung atom nitrogen yang berasal dari tumbuhan maupun hewan. Harborne (1987) menyatakan bahwa alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa, yang mengandung satu atau lebih atom

nitrogen dengan sepasang elektron bebasnya, dalam bentuk cincin heterosiklik dan bersifat aktif biologis menonjol. Struktur alkaloid beraneka ragam mulai dari yang sederhana sampai rumit, dan efek biologisnya yang menyegarkan tubuh sampai toksik. Satu contoh yang sederhana adalah nikotina yang dapat menyebabkan penyakit jantung, kanker paru-paru, kanker mulut, tekanan darah tinggi, dan gangguan terhadap kehamilan dan janin.

Senyawa alkaloid diklasifikasikan menurut jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul. Menurut klasifikasi alkaloid dapat dibedakan menjadi beberapa jenis diantaranya alkaloid piridin, pirolidin, indol, piperidin, kuinolin, dan isokuinolin (Kristanti, 2007). Struktur golongan alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.



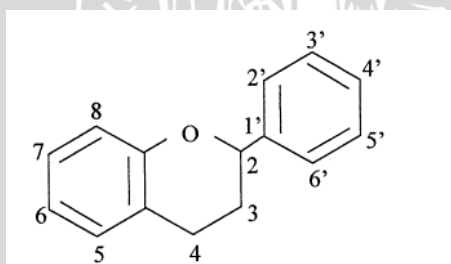
Gambar 2. Struktur Golongan Alkaloid
Sumber : Kristanti (2007).

Alkaloid merupakan senyawa basa organik yang mengandung unsur Nitrogen (N) pada umumnya berasal dari tanaman, yang memiliki efek fisiologis kuat terhadap manusia (Wullur *et al.*, 2013). Ditambahkan oleh Titis *et al.*, (2013), alkaloid ialah senyawa yang bersifat polar, sehingga dapat terikat dalam pelarut etanol. Alkaloid merupakan senyawa padat, berbentuk kristal, tidak berwarna dan memiliki rasa pahit (Rohyani *et al.*, 2015).

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbanyak terdapat di alam. Senyawa-senyawa ini bertanggung jawab terhadap zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning dalam tumbuhan. Semua flavonoid menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk “flavon”, yakni nama sejenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan juga lazim ditemukan. Sebagian besar flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada molekul gula sebagai glikosida dan dalam bentuk campuran, jarang sekali dijumpai dalam (berupa) senyawa tunggal (Tukiran *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan zat aktif yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ yang tiap bagian C_6 merupakan rantai alifatik. Flavonoid adalah golongan senyawa yang tidak tahan terhadap panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Rompas *et al.*, 2011). Ditambahkan Oleh Silalahi (2006), konsumsi flavonoid dalam makanan berkisar antara 50-80 mg/hari. Flavonoid dalam makanan diantaranya *quercetin*, *luteolin*, *morin*, dan katekin. Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Flavonoid
Sumber : Yumiko *et al* (2003)

2.5.3 Triterpenoid/Steroid

Triterpenoid dan steroid merupakan senyawa metabolit sekunder yang kebanyakan terkandung dalam jenis tanaman dan memiliki berbagai aktivitas biologis seperti fungisida, antiviral, bakterisida, sitotoksik, kardiovaskular, antikanker, antialergi, analgesik, dan lain sebagainya. Senyawa triterpenoid

terdapat dalam lapisan malam daun dan dalam buah, dan mungkin terdapat dalam damar, kulit batang, dan getah (Faustine, 2009). Beberapa macam aktivitas fisiologis yang menarik ditunjukkan oleh beberapa triterpenoid dan senyawa ini merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit termasuk diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (Robinson, 1995)

Steroid atau sterol merupakan salah satu bahan aktif yang terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi selain pada hewan. Steroid ditemukan dalam bentuk senyawa fitosterol seperti sitosterol, stimosterol, dan komposterol yang terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi. Biasanya bioaktif steroid merupakan golongan senyawa yang biasanya akan diuji dan diidentifikasi dalam uji fitokimia (Yunianto *et al.*, 2014).

Salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman adalah senyawa Triterpenoid. Triterpenoid merupakan senyawa metabolid sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid berbentuk siklik atau asiklik dan memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Widiyati, 2006). Tabel klasifikasi golongan triterpenoid dapat dilihat pada Tabel 4.

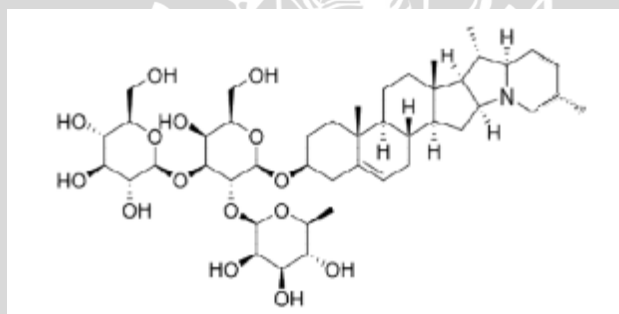
Tabel 4. Klasifikasi Golongan Triterpenoid

Kelompok triterpenoid	JumLah atom C
Monoterpen	10
Seskuiterpen	15
Diterpen	20
Triterpen	30
Tetraterpen	40
Politerpen	>40

Sumber : Kristina (2008)

2.5.4 Saponin

Saponin merupakan golongan dari senyawa glikosida kompleks, yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon) serta busa. Timbulnya busa inilah yang menjadikan mudahnya indikasi adanya saponin ketika dilakukan uji skrining fitokimia. Saponin terdiri dari dua kelompok, yaitu: saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin yang banyak digunakan dalam kehidupan manusia, salah satunya adalah untuk bahan pencuci kain (batik) dan sebagai shampoo. Saponin biasanya diperoleh dari tumbuhan melalui metoda ekstraksi dan isolasi (Tukiran *et al.*, 2014). Struktur saponin dapat dilihat pada Gambar 4.

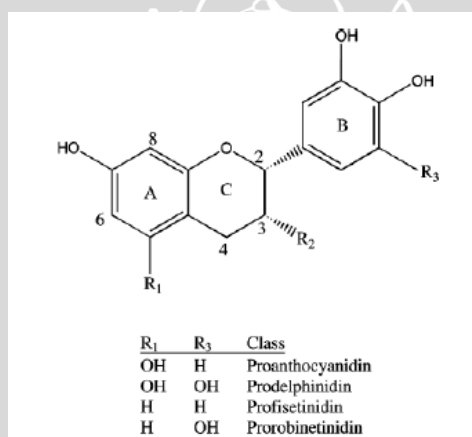


Gambar 4. Struktur Saponin
Sumber : Septiana dan Ari (2012)

Saponin dapat diklasifikasikan menjadi dua bagian berdasarkan strukturnya, yaitu : steroidal saponin dan triterpenoid saponin. Saponin larut dalam air dengan membentuk cairan yang berbusa (Purnomo *et al.*, 2004). Senyawa glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter merupakan saponin (Darsana *et al.*, 2013). Saponin merupakan steroid atau glikosida triterpenoid yang banyak terdapat pada tanaman (Suharti *et al.*, 2009).

2.5.5 Tanin

Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristik yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Jayanegara dan Sofyan, 2008). Tanin memiliki bobot molekul mulai dari 500 sampai lebih dari 20.000. Tanin terdiri dari tanin yang dapat terhidrolisis (*hydrolyzable* tanin) yaitu *ellagitannins* dan tanin terkondensasi yaitu *flavonoid* tanin yang tidak dapat dihidrolisis. Struktur tanin adalah kompleks karena memiliki keragaman struktur dalam kelompok senyawa (Marnoto *et al.*, 2012). Struktur tanin dapat dilihat pada Gambar 5.

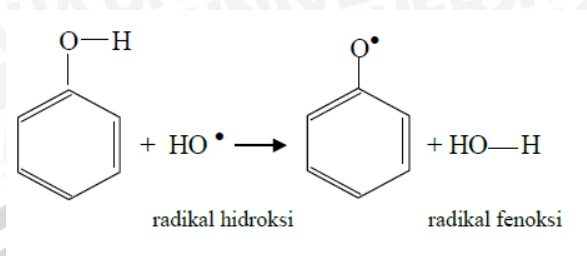


Gambar 5. Struktur Tanin
Sumber : Marnoto *et al.*, 2012.

2.5.6 Fenol

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Umumnya mudah terlarut dalam air karena sering berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat pada vakuola sel. Senyawa polifenol contohnya propanoid, tanin, flavonoid, dan beberapa terpenoid (Harborne, 1987). Ditambahkan oleh Wahyuningtyas (2008), senyawa fenol dapat mengikat protein. Sifat umum senyawa fenol adalah mampu

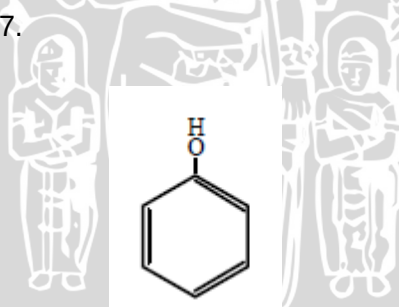
menambah permeabilitas sel dan mengndapkan protein. Senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Senyawa Fenol
Sumber : Harborne (1987).

Fenol merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik, dikenal juga sebagai asam karbolik yang merupakan asam lemah dibandingkan asam asetat. Dalam keadaan murni (pada temperatur ruang), fenol berbentuk kristal solid tidak berwarna. Fenol larut dalam air karena sifatnya yang polar akan terurai menurut persamaan reaksi berikut :

$$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{C}_6\text{H}_5\text{O}^-$$
 (Juliandini dan Yulianah, 2008). Rumus bangun fenol dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Rumus Bangun Fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$).
Sumber : Julianidi dan Yuliansah (2008)

2.6 GC-MS

GC-MS adalah perpaduan dari kromatografi gas dan spektroskopi massa. Senyawa yang sudah dipisahkan oleh kromatografi gas, kemudian dideteksi dengan menggunakan spektroskopi massa. Pada GC-MS aliran dari kolom terhubung secara langsung pada ruang ionisasi spektrometer massa. Pada

ruang ionisasi semua molekul (termasuk gas pembawa, pelarut, dan solut) akan terionisasi, ion dipisahkan berdasarkan massa dan rasio muatannya (Harvey, 2000).

Teknik analisis GC-MS adalah gabungan dari teknik kromatografi gas dengan teknik spektrofotometer massa. Kromatografi gas mempunyai fungsi sebagai pemisah senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel yang dianalisis dengan resolusi tinggi, sedangkan spektrofotometer mempunyai fungsi untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang sudah dipisahkan oleh kromatografi gas dimana senyawa akan dipisahkan dengan elektron hingga senyawa terpecah dalam fragmen-fragmen molekuler. Pola pecahannya ditunjukkan dengan karakteristik dan sidik jari molekuler dari suatu senyawa (Putra, 2007).

Prinsip kerja dari kromatografi berdasarkan pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Pelarut-pelarut yang mudah menguap (stabil terhadap panas) berpindah melalui kolom yang mempunyai fase diam dengan kecepatan tertentu tergantung pada rasio distribusinya. Fase gerak berupa gas akan mengelusi pelarut dari ujung kolom kemudian menghantarnya ke detektor. Pemisahan kromatografi gas berdasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang kemungkinan terjadi antara pelarut dengan fase diam. Menggunakan suhu yang meningkat biasanya antara 50°C - 350°C yang bertujuan untuk menjamin bahwa pelarut akan menguap dan akan cepat terelusi. Sampel dibawa melalui kolom-kolom *chromatographic*, dan pemisahan sampel pada temperatur mendidih dan afinitasnya pada kolom. Campuran identifikasi oleh waktu pemisahan, yang dikenal sebagai retention time. Retention time memiliki sifat yang unik pada berbagai jenis sampel dan ditunjukkan pada kolom *chromatographic* (Gandjar dan Rahma, 2007). Tabel Kondisi pengoperasian GC-MS analisa sampel, dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kondisi Pengoprasian GC-MS Analisa Sampel
Syarat Kondisi Gas Chromatography

Kolom	DB-%ms 25 m x 30 mm ID x 0,25 µm
Arus Initial Mode	1 mL/menit, terus mengalir (fase gerak)
Injeksi Mode	Berdenyut splitless
JumLah Injeksi	1 µL
Temperatur Injeksi Port	290°C
Pulse Pressure & Time	35 psi, 0,5 min
Purge vj Flow & Sisa	20 mL/menit, 2 menit
Solvent Delay	5 menit
Temperature Oven Awal, Tunggu Sisa	50°C, 1 menit
Temperatur Ramp 1, Plateau	30°C/menit, 280°C
Ramp Temperature 2, Plateau	15°C/menit, 310°C
Final Tahan Sisa	4 menit



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian Uji Bioaktif Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan Metode GC-MS meliputi timbangan analitik, erlenmeyer, *vacuum rotary evaporator*, kertas saring, spektrofotometer *UV-Visible*, aluminium foil, tabung reaksi, gelas ukur, pipet volumetrik, pipet tetes, dan beaker glass.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Turbinaria conoides* yang diperoleh dari Talango, Madura. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi diperoleh dari SMART LAB yang merupakan pelarut alami diantaranya etanol, etil asetat dan n-heksana. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah kloroform, amoniak, H_2SO_4 2 N, pereaksi Mayer, Wagner, Dragendorf, etanol 70%, etanol 96%, HCl pekat, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat, serbuk Mg, FeCl_3 1%, dan natrium karbonat. Bahan-bahan untuk uji total fenol adalah etanol, aquades, Na_2CO_3 5%, reagen *Folin-Ciocalteu* 5%, dan asam galat.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif eksploratif bertujuan untuk mengetahui suatu objek secara relatif. Metode eksploratif merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mengumpulkan data-data awal yang berhubungan (Irawan, 2007). Metode eksploratif adalah penelitian yang ditujukan untuk mencari secara luas tentang sebab-sebab atau hal-hal yang

mempengaruhi terjadinya suatu hal (Arikunto, 2006). Metode eksploratif adalah penelitian yang digunakan untuk mengumpulkan data-data awal tentang sesuatu. sedangkan metode deskriptif digunakan untuk mengkaji sesuatu seperti apa adanya (variabel tunggal) atau pola hubungan antara dua atau lebih variabel (Irawan, 2007).

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan pada penelitian identifikasi profil bioaktif alga coklat *Turbinaria conoides* dengan metode GC-MS, yaitu :

3.3.1 Ekstraksi

Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan cara maserasi. Proses awal yang dilakukan sebelum ekstraksi adalah membersihkan terlebih dahulu sampel *Turbinaria conoides* supaya kotoran yang masih menempel dapat terbuang. Sampel yang sudah bersih kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama ± 6 hari tujuannya untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga memudahkan pelarut melarutkan senyawa yang diinginkan. Selanjutnya sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan mesin penghalus, tujuan dari perlakuan ini adalah untuk memperluas permukaan sampel sehingga zat aktif yang terkandung akan lebih mudah ditarik oleh pelarut tertentu.

Selanjutnya adalah melakukan proses ekstraksi dengan cara maserasi. Pada ekstraksi pertama, dilarutkan sebanyak 150 g bubuk alga coklat *Turbinaria conoides* dalam 600 mL pelarut n-heksan (non polar) dengan perbandingan (1:4 b/v) kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam dengan suhu ruang dan dalam kondisi gelap kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan pada ekstraksi pertama kemudian ditambahkan dengan pelarut etil asetat (semi polar) sebanyak

600 mL dengan perbandingan (1:4 b/v) sebagai proses ekstraksi kedua dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam dengan suhu ruang dan dalam kondisi gelap kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan dari proses ekstraksi kedua kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol (polar) sebanyak 600 mL sebagai proses ekstraksi ketiga dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam dengan suhu ruang dan dalam kondisi gelap kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Selanjutnya, filtrat yang didapat dari masing-masing pelarut kemudian dipisahkan dengan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*.

Proses ekstraksi bertingkat yang kedua yaitu dimulai dari pelarut polar (etanol), semi polar (etil asetat), dan non polar (n-heksan), dilarutkan sebanyak 150 g bubuk alga coklat *Turbinaria conoides* dalam 600 mL pelarut etanol (polar) dengan perbandingan (1:4 b/v) kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam dengan suhu ruang dan dalam kondisi gelap kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan pada ekstraksi pertama kemudian ditambahkan dengan pelarut etil asetat (semi polar) sebanyak 600 mL dengan perbandingan (1:4 b/v) sebagai proses ekstraksi kedua dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam dengan suhu ruang dan dalam kondisi gelap kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan dari proses ekstraksi kedua kemudian ditambahkan dengan pelarut n-heksan (non polar) sebanyak 600 mL sebagai proses ekstraksi ketiga dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 24 jam dengan suhu ruang dan dalam kondisi gelap kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Selanjutnya, filtrat yang didapat dari masing-masing pelarut kemudian

dipisahkan dengan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*.

Proses ekstraksi dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.2 Skrining Fitokimia

3.3.2.1 Alkaloid (Harborne, 1987)

Sampel dari ekstraksi bertingkat non polar ke polar (n-heksan, etil aasetat, dan etanol) dan ekstraksi bertingkat dari polar ke non polar (etanol, etil aasetat, dan n-heksan) masing-masing diambil 1 mL dan dicampur dengan 1 mL kloroform dan 1 mL amoniak, masing-masing ekstraksi dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, kemudian tiap tabung reaksi ditambahkan 3 tetes asam sulfat 2N, kocok dan diamkan beberapa menit hingga terpisah. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Terbentuknya endapan jingga menunjukkan wagner, cokelat menunjukkan meyer, dan putih menunjukkan dragendraf. Proses alkaloid dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.3.2.2 Flavonoid

Sampel dari ekstraksi bertingkat non polar ke polar (n-heksan, etil aasetat, dan etanol) dan ekstraksi bertingkat dari polar ke non polar (etanol, etil aasetat, dan n-heksan) masing-masing diambil 1 mL, masing-masing ekstraksi dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk magnesium 0,5 mg dan 0,40 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1984). Proses flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.3.2.3 Saponin

Sampel dari ekstraksi bertingkat non polar ke polar (n-heksan, etil asetat, dan etanol) dan ekstraksi bertingkat dari polar ke non polar (etanol, etil asetat, dan n-heksan) masing-masing diambil 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok selama 10 detik secara vertikal, kemudian dibiarkan 10 menit dan ditambahkan HCl sebanyak 3 tetes. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin. Proses saponin dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.3.2.4 Tanin (Harborne, 1987)

Sampel dari ekstraksi bertingkat non polar ke polar (n-heksan, etil asetat, dan etanol) dan ekstraksi bertingkat dari polar ke non polar (etanol, etil asetat, dan n-heksan) masing-masing diambil 1 mL, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes (2-3 tetes) FeCl_3 1%, bila terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin. Proses tanin dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.3.2.5 Triterpenoid/steroid (Harborne, 1987)

Sampel dari ekstraksi bertingkat non polar ke polar (n-heksan, etil asetat, dan etanol) dan ekstraksi bertingkat dari polar ke non polar (etanol, etil asetat, dan n-heksan) masing-masing diambil 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian dicampur dengan 2 mL kloroform dan ditambah 3 tetes asam sulfat pekat dan 10 tetes asam asetat anhidrat. Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid atau terbentuknya warna merah kecoklatan pada antar permukaan menunjukkan adanya triterpenoid. Proses triterpenoid/steroid dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.3.3 Total Fenol (Ratnayani *et al.*, 2012)

Penetapan kandungan total senyawa fenolat ini dilakukan berdasarkan metode Folin- *Ciocalteu*. Sampel *Turbinaria conoides* sebanyak 1 mg ditimbang teliti dan dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Campuran tersebut disaring, dan filtratnya dipipet 1,0 mL kemudian ditambahkan dengan reagen folin 0,8 mL, dimasukkan pada labu ukur 10 mL. Setelah itu campuran tersebut dikocok. Selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 5% sampai tanda batas, sehingga volume total larutan menjadi 10 mL. Larutan didiamkan selama 60 menit, dan serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Konsentrasi senyawa fenolat dalam sampel dapat ditentukan dengan mengalurkan absorbansi sampel pada kurva kalibrasi. Proses asam galat dapat dilihat pada Lampiran 7.

Larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 0; 0,2; 0,4; 0,8; 0,16; dan 0,32 mL masing-masing ditambahkan dengan reagen *folin* sebanyak 0,8 mL, dimasukkan pada labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan Na_2CO_3 5% hingga tanda batas, sehingga menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi 0; 2; 4; 8; dan 16 ppm. Masing-masing larutan didiamkan selama 60 menit, dan serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum. Dengan mengalurkan absorbansi terhadap konsentrasi, dapat diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = bx + a$. Analisis ini menggunakan kurva standart asam galat. Proses total fenol dapat dilihat pada Lampiran 8.

3.3.4 Kromatografi Kolom

Langkah awal proses kromatografi kolom *Turbinaria conoides* ialah dengan memasukkan kapas yang telah direndam dengan fase gerak metanol dan kloroform (2:8 v/v). Kemudian silika gel dengan 60 mesh dibuat bubuh

terlebih dahulu dengan menghomogenkan 40 g silika gel kedalam 100 mL fase gerak metanol dan kloroform (2:8 v/v) menggunakan *magnetic stirrer* selama ± 1 jam. Setelah itu bubur silika dimasukkan kedalam kromatografi.

Kromatografi diketuk-ketuk perlahan untuk meratakan posisi silika gel dan didiamkan selama ± 12 jam agar bergerak dan ditutup dengan *plastic wrap* pada ujung dan pangkal kromatografi untuk menghindari pelarut menguap. Setelah ± 12 jam, dimasukkan *sea sand* (pasir laut halus) ± 3 g yang berfungsi sebagai penyaring partikel yang berukuran besar agar tidak ikut masuk kedalam fase diam dan menghalangi fase gerak.

Proses isolasi dimulai dengan melarutkan ekstrak ke dalam fase gerak 100 mL kloroform dan metanol. Selanjutnya seluruh fase gerak dikeluarkan terlebih dahulu dari kolom kromatografi sampai batas *sea sand*. Kemudian ekstrak dimasukkan secara perlahan menggunakan pipet tetes secara perlahan. Selanjutnya kran kolom kromatografi dibuka dan ditunggu hingga larutan ekstrak melewati *sea sand* dan masuk kedalam fase diam silika gel. Lalu ditambahkan fase gerak metanol dan kloroform (2:8 v/v) perlahan hingga tabung terisi penuh. Kemudian kran dibuka dan seluruh fraksi warna yang muncul ditampung dalam botol sampel (botol visl).

Fase gerak yang digunakan terus ditingkatkan kepolaran dengan rata-rata volume ± 100 mL yaitu perbandingan metanol dan kloroform (2:8 v/v), metanol dan kloroform (3:7 v/v), metanol dan kloroform (4:6 v/v), metanol dan kloroform (5:5 v/v) dan dibalik metanol dan kloroform (6:4 v/v), metanol dan kloroform (7:3 v/v), metanol dan kloroform (8:2 v/v). seluruh fraksi warna yang tertampung diberi tanda penomoran dengan keterangan warna dan waktu penampungan.

3.3.5 Uji GC-MS

Sebelum dilakukan uji GC-MS, ekstrak kasar dikromatografi kolom terlebih dahulu sehingga didapatkan 4 fraksi warna. Setelah itu, dianalisis dengan menggunakan GC-MS untuk mengetahui senyawa polifenol yang terkandung didalam alga coklat *Turbinaria conoides*. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut : suhu injektor 320°C, suhu awal oven 70°C. Laju kenaikan suhu 10 °C /menit, dan suhu akhir oven 310°C (Putra, 2007).

Sampel dimasukkan kedalam ruang suntik melalui gerbang suntik, berupa lubang yang ditutupi dengan pemisah karet. Ruang suntik dipanaskan terlebih dahulu, biasanya terpisah dari kolom pada suhu 10°C - 15°C lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel diuapkan terlebih dahulu setelah itu disuntikkan dan masuk kedalam kolom.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak bertingkat alga coklat *Turbinaria conoides* dengan menggunakan pelarut yang berbeda dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Skrining Fitokimia

Senyawa Bioaktif	Pelarut						Standar (Warna)
	A	B	C	D	E	F	
Alkaloid							
- Dragendorf	-	-	-	-	-	-	Perubahan warna menjadi jingga dan ada endapan
- Wagner	-	-	-	-	-	-	Perubahan menjadi coklat dan ada endapan
- Meyer	-	-	-	-	-	-	Perubahan menjadi putih dan ada endapan
Flavonoid	-	-	-	-	-	-	Perubahan warna menjadi merah
Triterpenoid/ Steroid	+	+	+	+	+	+	Perubahan warna hijau/biru
Saponin	+	+	-	+	-	-	Terbentuk busa
Tanin	-	+	+	+	+	-	Perubahan menjadi biru atau hitam

Keterangan :

A : n-heksan

B : etil asetat residu n-heksan

C : etanol residu etil asetat

D : etanol

E : etil asetat residu etanol

F : n-heksan residu etil asetat

+ : Positif

- : Negatif

Menurut Koche *et al.*, (2010), fitokimia pada dasarnya dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bagian primer dan bagian sekunder, tergantung pada fungsinya pada metabolisme tanaman. Bagian primer terdiri dari gula, asam amino, protein dan klorofil. Bagian sekunder terdiri dari alkaloid, terpenoid, saponin, komponen fenol, flavonoid, tanin dan lain-lain. Hasil analisa dari tabel 5 menunjukkan bahwa ekstrak bertingkat alga coklat *Turbinaria conoides* tidak mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid, hal ini sesuai dengan pernyataan Harborne (1986), senyawa flavonoid cenderung mudah larut dalam air karena umumnya mereka

saling berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang memiliki struktur $C_6-C_3-C_6$. Menurut Handayani et al., (2005), Jumlah flavonoid yang dihasilkan melalui metode isolasi hanya sedikit sekali. Pada alga coklat *Turbinaria conoides* tidak mengandung alkaloid disemua pelarut karena dipengaruhi oleh lokasi sampel penelitian ditambahkan oleh Prabowo (2014), kadar alkaloid yang dihasilkan oleh tumbuhan hijau tidak sama pada semua jaringan dan pada setiap tahap pertumbuhan serta lokasi geografis yang berpengaruh.

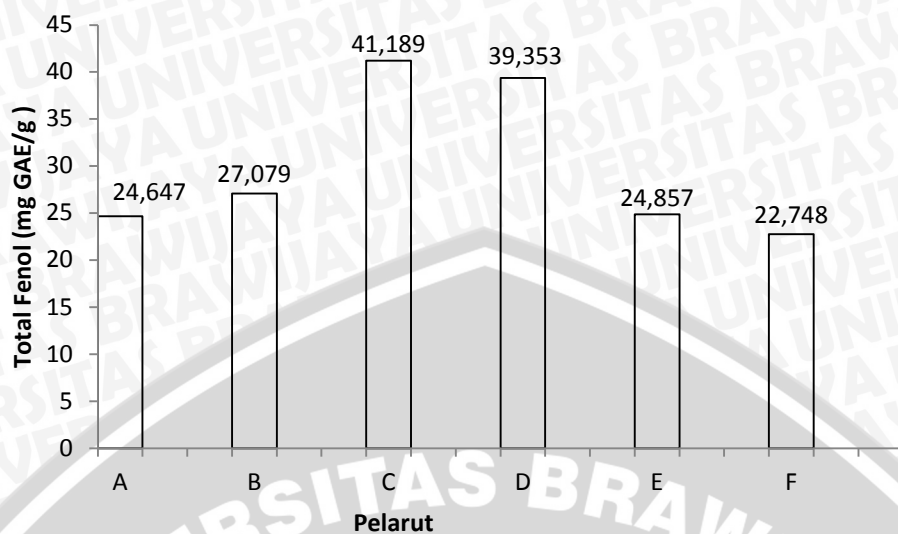
Turbinaria conoides mengandung triteropenoid/steroid di semua pelarut hal ini sesuai dengan pernyataan Widiyati (2005), salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam tanaman adalah triterpenoid. Senyawa tersebut biasanya terdapat pada batang, akar, daun, dan buah.

Dari hasil skrining *Turbinaria conoides* mengandung saponin, hal ini terlihat adanya busa pada pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol. Menurut Marlinda et al., (2012), senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif diatas permukaan, sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap keluar dan gugus nonpolarnya menghadap kedalam. Keadaan inilah yang biasanya terlihat seperti busa.

Alga coklat *Turbinaria conoides* mengandung tanin, hal ini dapat terlihat adanya perubahan warna hitam saat penambahan FeCl. Pada penambahan FeCl, larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Pereaksi FeCl pada umumnya biasanya digunakan untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (Dewi et al., 2008).

4.2 Total Fenol

Hasil dari pengukuran total fenol *Turbinaria conoides* dapat dilihat pada Gambar 8. Menurut Djapiala *et al.*, (2013), pengujian total fenol bertujuan untuk menentukan senyawa fenolik yang terkandung didalam sampel, selain itu adanya salah satu senyawa yang termasuk dalam senyawa fenol yaitu tanin. Cara pengukuran total fenolik bahan adalah menggunakan pereaksi Follin-Ciocalteu sebagai reagen. Analisa total fenol menggunakan kurva standart asam galat, dikarenakan asam galat bersifat stabil, memiliki sensitivitas yang tinggi, sampel ke dalam persamaan kurva asam galat. Analisa total fenol diawali dengan membuat kurva kalibrasi asam galat sebagai standart total fenol. Data dan kurva kalibrasi (standart) asam galat dapat dilihat pada Lampiran 10. kemudian hasil absorbansi analisa total fenol *Turbinaria conoides* yang diperoleh disubstitusikan kedalam persamaan garis pada kurva standart asam galat pada persamaan $y = 0,0596x + 0,0965$ dengan koefien korelasi (R^2)= 1,09928 yang artinya persamaan regresi tersebut adalah linier. Hasil yang diperoleh dari perhitungan dinyatakan dengan satuan mg GAE/g (Galic Acid Ekuivalent). Data hasil dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil total fenol *Turbinaria conoides* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil Total Fenol *Turbinaria conoides*

Keterangan :

- A : n-heksan
- B : etil asetat residu n-heksan
- C : etanol residu etilasetat
- D : etanol
- E : etil asetat residu etanol
- F : n-heksan residu etilasetat

Dari analisa total fenol *Turbinaria conoides* didapatkan hasil bahwa kandungan total fenol tertinggi terdapat pada pelarut C (etanol residu etilasetat) sebesar 41,189 mg GAE/g sedangkan nilai total fenol terendah terdapat pada pelarut F (n-heksan residu etil asetat) sebesar 22,748 mg GAE/g. Tingginya kandungan total fenol pada etanol karena sebagian besar senyawa fenol bersifat polar yang larut pada polar seperti etanol. Rendahnya kadar total fenol pada pelarut n-heksan dikarenakan pada *Turbinaria conoides* memiliki senyawa fenol yang sedikit pada kepolaran yang rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian Bangol *et al.*, (2014), ekstrak etanol mempunyai kandungan total fenol yang lebih tinggi daripada ekstrak n-heksana. Tingginya kandungan fenolik dalam etanol disebabkan oleh sebagian besar senyawa fenolik bersifat polar, yang larut dalam pelarut polar, seperti etanol. Rendahnya kadar total fenol yang terekstrak dengan

pelarut n-heksana menunjukkan bahwa ekstrak daun rumput santa maria mempunyai sedikit komponen fenolik dengan kepolaran yang rendah. Andayani *et al.*, (2008) menyatakan bahwa kandungan total fenol yang diekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda, berkurang seiring dengan menurunnya tingkat kepolaran pelarut.

4.3 Kromatografi Kolom

Dari hasil ekstraksi kasar *Turbinaria conoide* didapatkan hasil total fenol tertinggi yaitu ekstrak etanol dari residu etil asetat, kemudian diisolasi menggunakan kromatografi kolom dengan fase gerak dengan eluen metanol dan kloroform dan fase diam silika gel. Perbandingan eluen fase gerak metanol dan kloroform yaitu 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; dan 8:2. Dari proses isolasi kromatografi kolom diperoleh hasil 42 fraksi. Fraksi-fraksi tersebut dikelompokkan menjadi 3 isolat warna yaitu hitam, orange, dan hijau. Kemudian hasil tersebut dianalisa lanjut menggunakan GC-MS. Hasil kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 10. Hasil Kromatografi Kolom

4.4 GC-MS

Pada analisa menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrophotometric* didapatkan tiga isolat hasil pemisahan ekstrak dengan menggunakan kromatografi kolom. Tiga isolat tersebut terdiri dari isolat warna hitam, orange,

dan hijau. Hasil kromatogram isolat warna hitam, orange, dan hijau dapat dilihat pada Tabel 7. Kromatogram isolat warna kuning dapat dilihat pada Gambar 11.

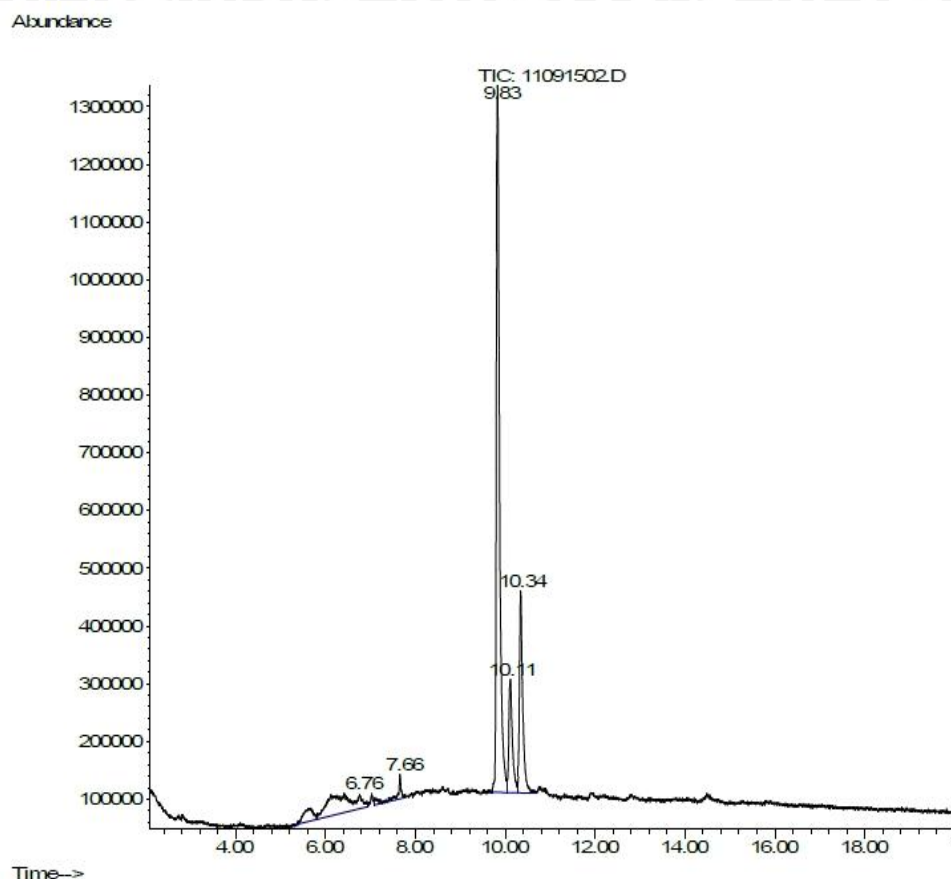
Tabel 7. Kromatografi Isolat Warna Hitam, Orange, dan Hijau

Puncak	Isolat	RT	%Area	Senyawa
1	Hitam	6,76	15,53	Cyclotridecane
2		7,66	2,48	<i>Butane, 2,2'-[(methylenebis(oxy))bis[2-methyl-</i>
3		9,83	56,02	<i>Neophytadiene</i> \$\$ 2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne
4		10.11	9,73	<i>Neophytadiene</i> \$\$ 2,6,10-Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne
5		10.35	16,24	<i>2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-</i>
1	Orange	6.43	0,52	<i>Tricyclo[4.3.1.1(3,8)undecane-1-carboxylic acid</i>
2		6.76	0,44	<i>Hexadecanoic acid(CAS) \$\$ Palmitic acid</i>
3		7.02	0,37	<i>Buthylated Hydroxytoluene</i>
4		7.09	0,29	<i>-formyl-2,2,6-trimethyl-3-cis-(3-methylbt-2-enyl)</i>
5		7,37	0,32	<i>Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(5-[2-[(TETRAHYDRO-1,1-dioxido-3-thienyl)amino]ethyl] ester</i>
6		7.50	0,21	<i>2(1H)-Naphthalenone,octahydro-4a,7,7-trimethyl-cis-</i>
7		7.65	0,40	<i>Ether, 1-dedocenyl methyl</i>
8		9.24	2,60	<i>Tetradecanoic acid</i>
9		9.82	2,86	<i>Neophytadiene</i> \$\$ 2,6,10-Trimethyl-14-Ethylene-14-Pentadecne
10		10.10	0,58	<i>Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(5-[2-[(TETRAHYDRO-1,1-dioxido-3-thienyl)amino]ethyl] ester</i>
11		11.47	1,48	<i>Thiosulfuric acid (H₂S₂O₃), S-(5-[2-[(TETRAHYDRO-1,1-dioxido-3-thienyl)amino]ethyl] ester</i>

12		10.34	1,18	<i>Z)-1-Ethyl-2-(1,2,2-trimethylpropyl)</i>
13	Orange	11.75	32,13	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester</i>
14		11.94	41,80	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester</i>
15		15.55	10,57	<i>Oleic acid</i>
16		16.26	4,25	<i>Hexanedecanoic acid, (CAS) Palmitic acid</i>
1	Hijau	11.83	34,46	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester</i>
2		11.92	65,54	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester</i>

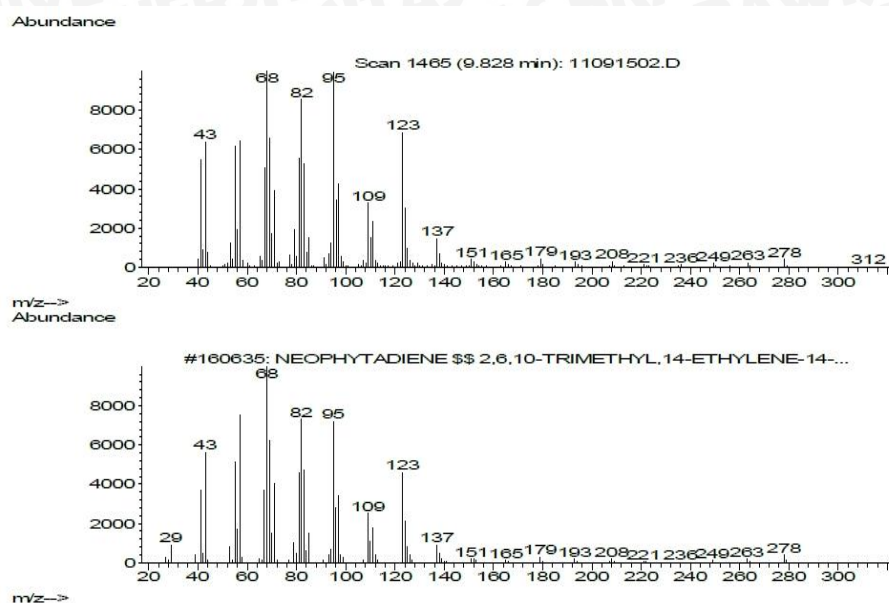
Dari hasil uji GC-MS alga coklat *Turbinaria conoides* dari ekstraksi etanol-etil asetat- n-heksan, senyawa yang paling dominan pada alga coklat *Turbinaria conoides* yaitu *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*, terdapat 4 puncak. Puncak pertama terdapat pada isolat orange dengan retensi 11.75, dengan luas area 32,12%. Puncak kedua terdapat pada isolat orange dengan retensi 11.94, dengan luas area 41,80%. Puncak ketiga terdapat pada isolat hijau dengan retensi 11.83, dengan luas area 34,46%. Puncak keempat terdapat pada isolat hijau dengan retensi 11.92, dengan luas area 65,54%.

Hasil kromatogram isolat warna hitam menunjukkan bahwa isolat warna hitam memiliki 5 puncak. Krimatogram isolat hitam dapat dilihat pada Gambar 10.



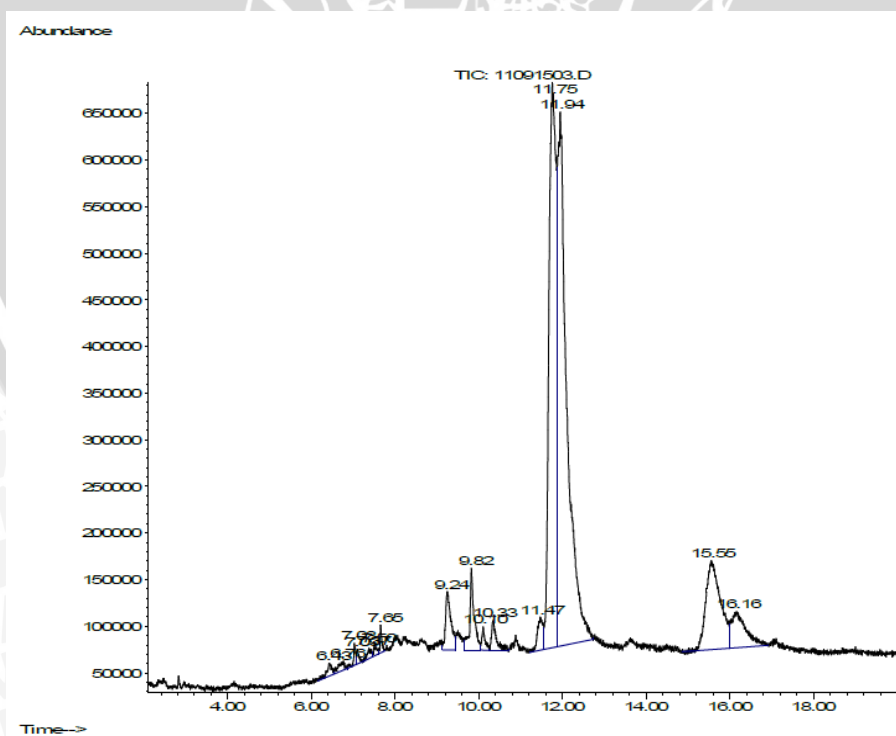
Gambar 10. Kromatogram GC (Gas Chromatography) Isolat Warna Hitam

Puncak ketiga memiliki luas area tertinggi sebesar 56,02%. Senyawa tersebut diduga sebagai senyawa *Neophytadiene* $2,6,10$ -Trimethyl,14-Ethylene-14- pentadecne. *Neophytadiene* $2,6,10$ -Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne memiliki rumus molekul $C_{20}H_{38}$ selain itu mempunyai sifat antikanker dan antiproliferative dan termasuk dalam senyawa olefins (Selvamangai dan Anusha, 2013). Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Spektrum Senyawa Masa Target Puncak ke 3 (SI=99)

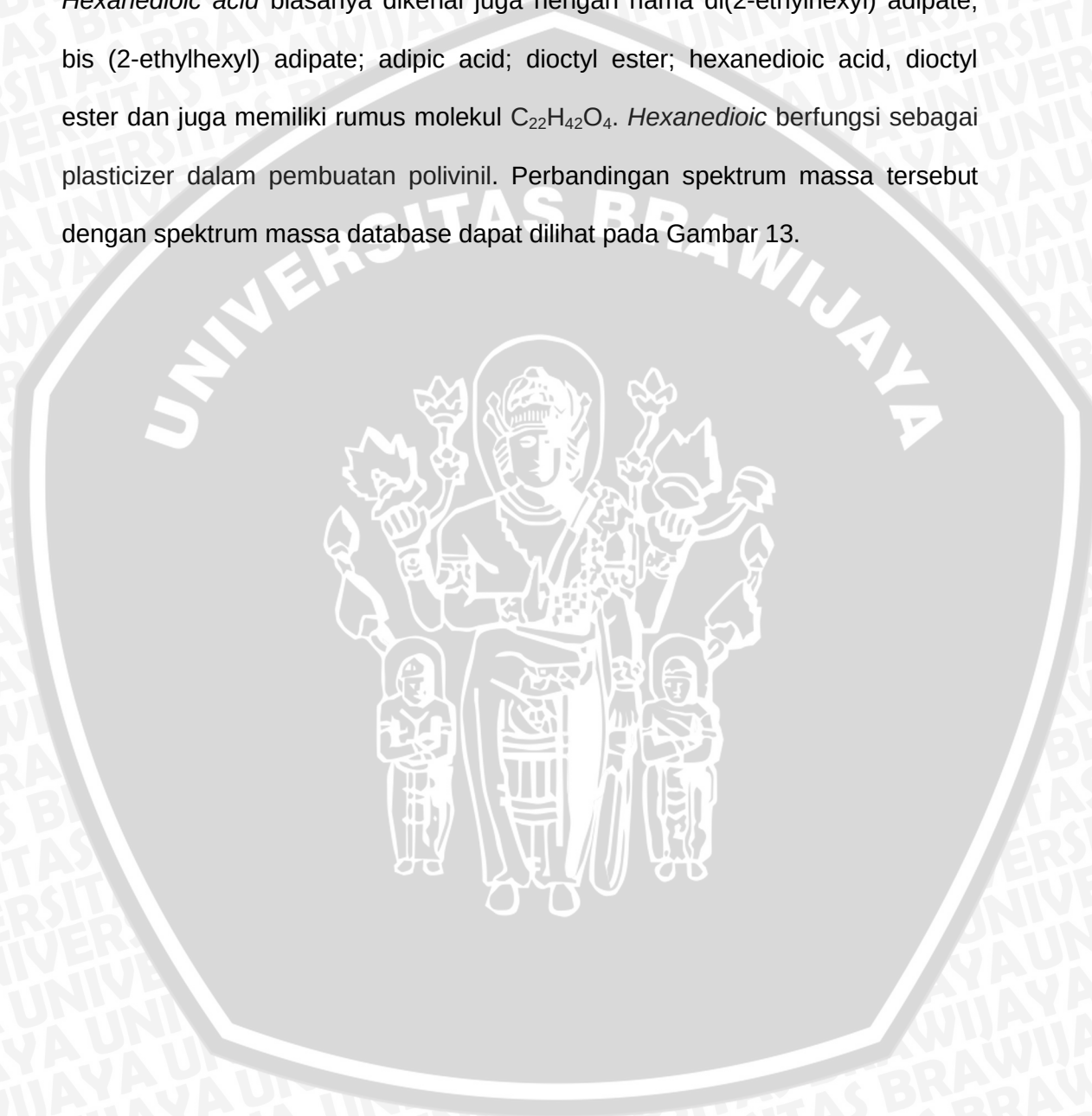
Hasil kromatogram isolat warna orange menunjukkan bahwa isolat warna orange terdeteksi memiliki 16 puncak. Kromatogram isolat warna orange dapat

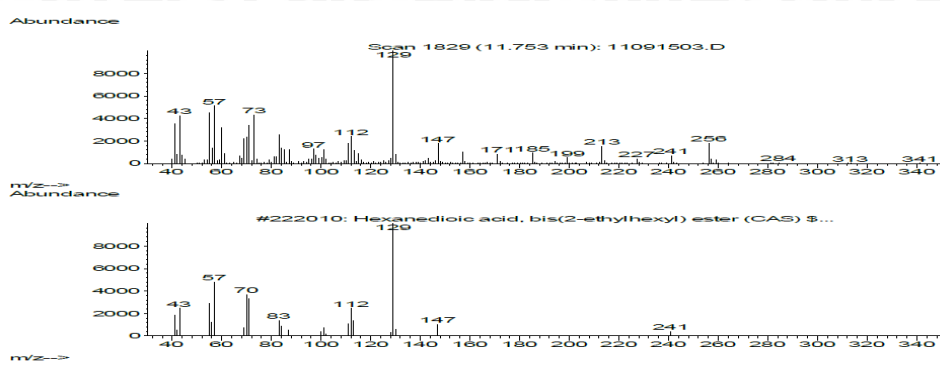


dilihat pada Gambar 12.

Gambar 12. Kromatogram GC (Gas Chromatography) Isolat Warna Orange

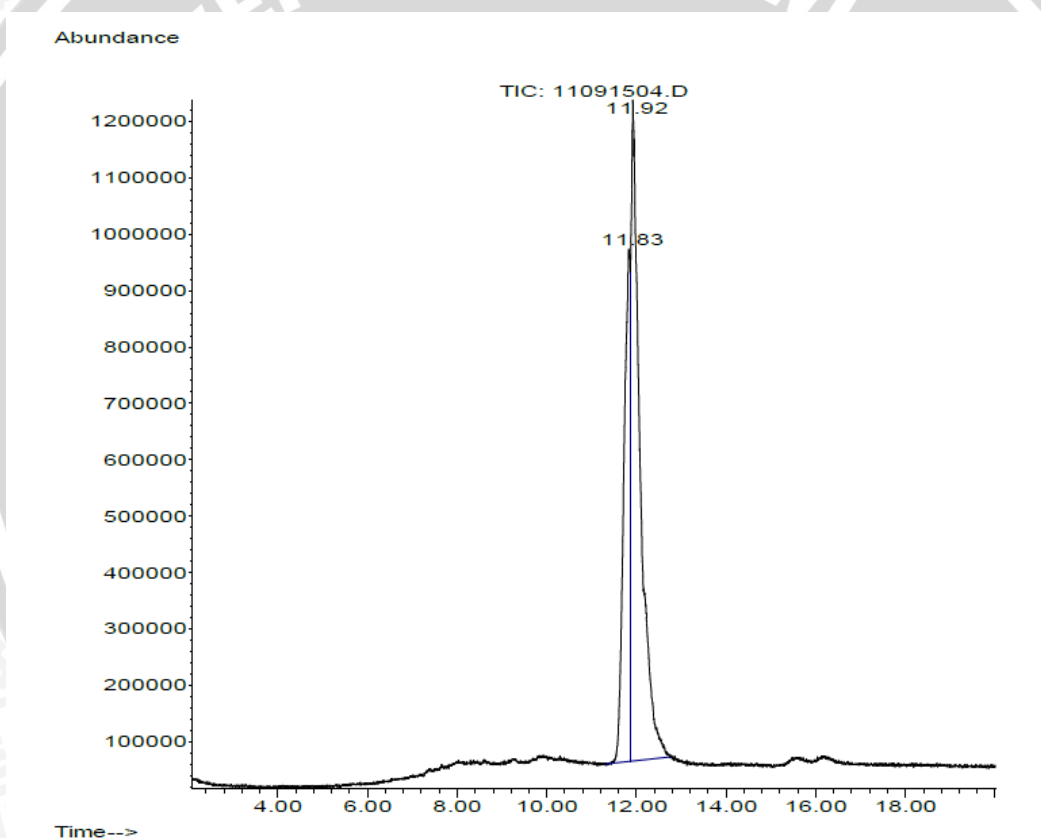
Puncak ketiga belas memiliki luas area tertinggi sebesar 41,80%. Senyawa tersebut diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*. *Hexanedioic acid* biasanya dikenal juga dengan nama di(2-ethylhexyl) adipate; bis (2-ethylhexyl) adipate; adipic acid; dioctyl ester; hexanedioic acid, dioctyl ester dan juga memiliki rumus molekul $C_{22}H_{42}O_4$. *Hexanedioic* berfungsi sebagai plasticizer dalam pembuatan polivinil. Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 13.





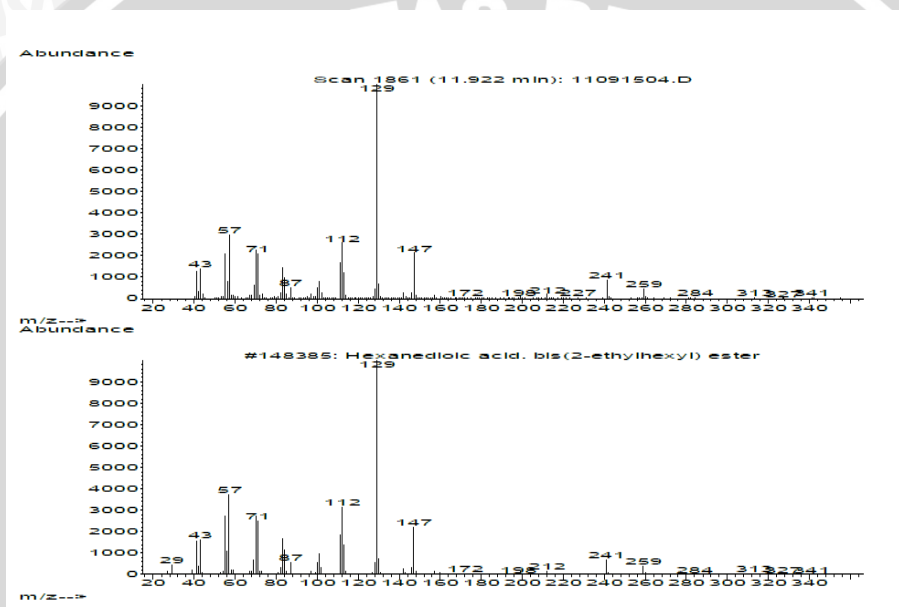
Gambar 13. Spektrum Senyawa Masa Target Puncak ke 13 (SI=49)

Pada isolat ketiga dengan warna hijau terdeteksi memiliki 2 puncak, dapat Kromatogram dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Kromatogram GC (Gas Chromatography) Isolat Warna Hijau

Puncak ke dua memiliki luas area tertinggi sebesar 65,54%. Senyawa tersebut diduga sebagai senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*. *Hexanedioic acid* biasanya dikenal juga dengan nama di(2-ethylhexyl) adipate; bis (2-ethylhexyl) adipate; adipic acid; dioctyl ester; hexanedioic acid, dioctyl ester dan juga memiliki rumus molekul $C_{22}H_{42}O_4$. *Hexanedioic* berfungsi sebagai plasticizer dalam pembuatan polivinil..Perbandingan spektrum massa tersebut dengan spektrum massa database dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Spektrum Senyawa Masa Target Puncak ke 2 (SI=95)

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian Identifikasi Profil Bioaktif Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan metode GC-MS diantaranya :

Dari skrining fitokima diperoleh hasil bahwa *Turbinaria conoides* tidak mengandung alkaloid dan flavonoid. Tetapi *Turbinaria conoides* mengandung triterpenoid/steroid, saponin, dan tanin. Hasil total fenol tertinggi terdapat pada pelarut etanol residu etilasetat sebesar 41, 189 mg GAE/g. Hasil uji GC-MS terdapat beberapa senyawa dari ketiga isolat diantaranya pada isolat hitam terdapat senyawa *Neophytadiene* $2,6,10$ -Trimethyl,14-Ethylene-14-pentadecne, isolat orange terdapat senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*, dan isolat hijau terdapat senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)ester*. Dari hasil GC-MS alga coklat *Turbinaria conoides* tidak mengandung senyawa polifenol

5.2 Saran

Dari penelitian ini perlu diadakan uji lanjut untuk mengetahui senyawa bioaktif yang lebih spesifik pada alga coklat *Turbinaria conoides*, sehingga dapat digunakan sebagai acuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Absori, M. U. dan Paramitha, S. B. U. 2011. Tugas Prarancangan Pabrik Etil Asetat dengan Reactive Distillation Kapasitas 30.000 Ton per Tahun. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ajisaka, T dan John, A. K. 1990. *Turbinaria* sp. (*Phaeophyceae*, *Sargassaceae*) from Iwayama Bay, Palau Islands (Western Caroline Islands). *South Pacific Study* **10** (2): 235-240.
- Andayani, R., Yovita, L., dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. **13** (1) : 31-37.
- Arikunto, S. 2006. Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Pratik. Ed Revisi VI. Jakarta : Rineka Cipta.
- Assagaf, M., Pudji H., Chusnul H., Dan Supriyadi. 2012. Perbandingan Ekstraksi Oleoresin Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Asal Maluku Utara Menggunakan Metode Maserasi dan Gabungan Distilasi – Maserasi. *Agritech* **32** (3):240-248.
- Bangol, E., Lidya I., Momuat., dan Jemmy A. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan n-Heksana dari Daun Rumpun Santa Maria (*Artemisia vulgaris* L.) pada Minyak Ikan. *Jurnal Ilmiah Sains* **14** (2):129-135.
- Bustami. 2014. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Serta Isolasi Alginat dari Talus *Turbinaria decurrens* Bory. SKRIPSI. Program Ekstensi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara Medan
- Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W., dan Warditiani, N.K. 2008. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95 % Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi*. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Djapiala, Y, F, U., Montolalu, L., dan Mentang, F. 2009. Kandungan Total Fenol dalam Rumpun Laut *Caulerpa racemosa* yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. **1** (1):25-30.
- Endah R. D., Sperisa. D., Adrian. N., dan Paryanto. 2007. Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut. *Gema Teknik* **10** (2):83-88.
- Firdhayani, I. N., Amin, M. A., dan Sri, S. 2014. Eksplorasi Bahan Aktif Rumpun Laut Coklat (*Phaeophyceae*) sebagai Biolarvasida *Aedes aegypti*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Ilmu Kelautan*. **6** (2):187-192.
- Firdaus, M., Setyawati., S. K., Made, A. 2009. Penapisan Fitokimia dan Identifikasi Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* **21**(1):60-65.

- Gandjar, I. G dan A. Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Harborne J. 1987. Metode Fitokimia. Edisi ke-2. Kosasih Padmawinata, penerjemah. Bandung : ITB-Press.
- Handayani, S., Sunarto., Kristianingrum, S. 2005. Optimization of Time Reaction and Hydroxide Ion Concentration on Flavonoid Synthesis from Benzaldehyde and Its Derivatives. *Indonesian Journal of Chemistry* **2** (5): 163-168.
- Harvey, D. 2000. Modern Analytical Chemistry. Mc-Gaw. New York.
- Irawan, P. 2007. Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif untuk Ilmu-Ilmu Sosial. Jakarta : DIA. FISIP. UI.
- Janan, F.F., Singgih R. S. S., dan Mardiaty M. 2013. Pengaruh Lama Maserasi dan Perbandingan Kuning Telur dengan Etanol pada Pembuatan Tepung Kuning Telur Puyuh terhadap Kadar Protein dan Lemak. *Jurnal Ilmiah Peternakan* **1** (2):710 – 717.
- Jayanegara, A dan Sofyan A. 2008. Penentuan Aktivitas Biologis Tanin Beberapa Hijauan secara *in Vitro* Menggunakan 'Hohenheim Gas Test' dengan Polietilen Glikol sebagai Determinan. *Media Peternakan* **31** (1):44-52.
- Juliandini, F dan Yulinah, T. 2008. Uji Kemampuan Karbon Aktif dari Limbah Kayu dalam Sampah Kota untuk Penyisihan Fenol. Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi VII.
- Kastianti, N. dan Amalia, Z.Q. 2008. Laporan Penelitian Pengambilan Minyak Atsiri Kulit Jeruk dengan Metode Ekstraksi Distilasi Vakum. Semarang: Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik UNDIP.
- Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga. P.47-48.
- Limantara, L dan Heriyanto. 2011. Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Ilmu Kelautan* **15** (1): 23 - 32
- Longo G. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Trieste: International Centre for Science And High Technology.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., dan Wuntu, A.D. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online* **1** (1):24-28.
- Marnoto, T., Gogot H., Dewi G., dan Fendy A. P. 2012. Ekstraksi Tanin sebagai Bahan Pewarna Alami dari Tanaman Putri malu (*Mimosa pudica*) Menggunakan Pelarut Organik. *Reaktor* **14** (1):39-45.

- Munawaroh, S dan Prima A. H. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* **2** (1):73-78.
- Nuryoto. 2008. Studi Kinerja Katalisator Lewat Monoplus s-100 pada Reaksi Esterifikasi antara Etanol dan Asam Asetat. *Jurnal Rekayasa Proses*. **2** (1):24-27.
- Purnomo, I., Lusiana D., dan Slamet S. 2004. Efektivitas Infusa Kayu Ules (*Helicteres isora* L.) sebagai Obat Hipnotik Sedatif. *JKM* **3** (2) :96-109.
- Purwani, E., Yulia D. S., Dwi P. N., Widati., dan Qudwatun Q. 2012. Karakteristik Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Perusak Pangan Hasil Isolasi dari Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) oleh Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*) dengan Pengencer Emulsi Tween 80. *Jurnal Kesehatan*, **5** (1):45-55.
- Putra, I.N. K. 2007. Study Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
- Putra, A. A. B., Bogoriani, N. W., Diantariani, N. P., dan Ni Luh, U., S. 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Metode Maserasi, Refluks, dan Sokletasi. *Jurnal Kimia* **8** (1):113-119.
- Rajeshkumar, S. M., Chelladurai, G., Gnanadhas, P., Kanniah, V., Mahendran, K., Chellapandian, A., dan Gurusamy. 2013. Seaweed-Mediated Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Turbinaria conoides* and its Characterization. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. **3** (1):1-7.
- Rachmaniar, R. 1999. Potensi Algae Coklat di Indonesia dan Prospek Pemanfaatannya. Jakarta : Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Ratnayani, K., Mayun, L. A. A. I. A., dan Ni, P. I. S. P. 2012. Kadar Total Senyawa Fenolat pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas dengan Metode DPPH (*Difenilpicril Hidrazil*). *Jurnal Kimia* **6** (2): 163-168.
- Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Bandung : Penerbit ITB. Hal. 152-196.
- Rohyani, I. S., Evy A., dan Suropto. 2015. Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal yang Sering Dimanfaatkan sebagai Bahan Baku Obat di Pulau Lombok. *PROSSEMNAS MASYBIOBIVINDON* **1**(2):388-391.
- Romiyanto, A. 2014. Study Kandungan β -Karoten pada Rumpun Laut Merah (*Eucheuma spinosum*) dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Universitas Brawijaya Malang.
- Rompas, R. A., Hosea J. E., dan Adithya Y. 2011. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). Program Studi Farmasi. FMIPA. UNSRAT. Manado.

Septiana, A. T. dan Ari A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*. **6** (1):22-28.

Silalahi J. 2006. Makanan Fungsional. Yogyakarta : Kanisius.

Siregar, A, F., Sabdono, A., dan Pringgenies, D. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus epidermidis* , dan *Micrococcus luteus* dari Laboratorium Balai Kesehatan Jawa. *Journal Of Marine Research* **1** (2) :152-160.

Seidel, V. 2008. Initial and Bulk Extraction. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., editors. Natural Products Isolation. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press. P.33-34.

Suharti, A., Astuti D. A., Dan Wina A. 2009. Kecernaan Nutrien dan Performa Produksi Sapi Potong Peranakan Ongole (Po) yang Diberi Tepung Lerak (*Sapindus rarak*) dalam Ransum. *JITV* **14**(3): 200-207.

Susanti, A. D., D. Ardiana, G. Gumelar P., dan Y. Bening G. 2012. Polaritas Pelarut sebagai Pertimbangan dengan Pemilihan Pelarut untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa glatinosa*). *Simposium Nasional RAPI*. **9** (6):8-14.

Titis, M. B. M., Enny F., dan Dewi K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem Info* **1** (1):196 – 201.

Tukiran, Suyatno, dan Nurul H. 2014. Skrining Fitokimia pada Beberapa Ekstrak dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff.). Prosiding Seminar Nasional Kimia. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Wahyuningtyas, E. 2008. Pengaruh Ekstrak *Graptophyllum Pictum* terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* pada Plat Gigi Tiruan Resin Akrilik. *Indonesian Journal of Dentistry* **15** (3):187-191

Wibowo, Arvianto, Ali Ridlo, dan Sri Sedjati. 2013. Pengaruh Suhu Ekstraksi terhadap Kualitas Alginat Rumput Laut *Turbinaria* sp. dari Pantai Krakal, Gunung Kidul-Yogyakarta. *Journal Of Marine Research* **2** (3):15-24.

Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien* **2** (1):116-122.

Wikanta, T., Andika, P., Dian, R., dan Hedi, I. J. 2013. Bioaktivitas Ekstrak Kasar Aseton, Fraksi, dan Subfraksinya dari *Ulva fasciata* terhadap Sel Lestari Tumor Hela. *Jurnal Kefarmasian Indonesia* **5** (1):31-36.

Wiratmaja I. G., I Gusti B. W. K., dan I Nyoman S. W. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin* **5** (1):75-84.

Wullur, A. C., Jonathan S., dan Andriani N. K. W. 2013. Identifikasi Alkaloid pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Manado.

Yenusi, T. N. B; Agus S; dan Ita W. 2014. Studi Komposisi dan Potensi Antioksidan dari Pigmen Rumput Laut *Turbinaria conoides* yang Berasal dari Perairan Pantai Hamadi Jayapura. Seminar Nasional Kimia dan pendidikan Kima VI. Jurusan PMIPA PKIP UNS. Surakarta.

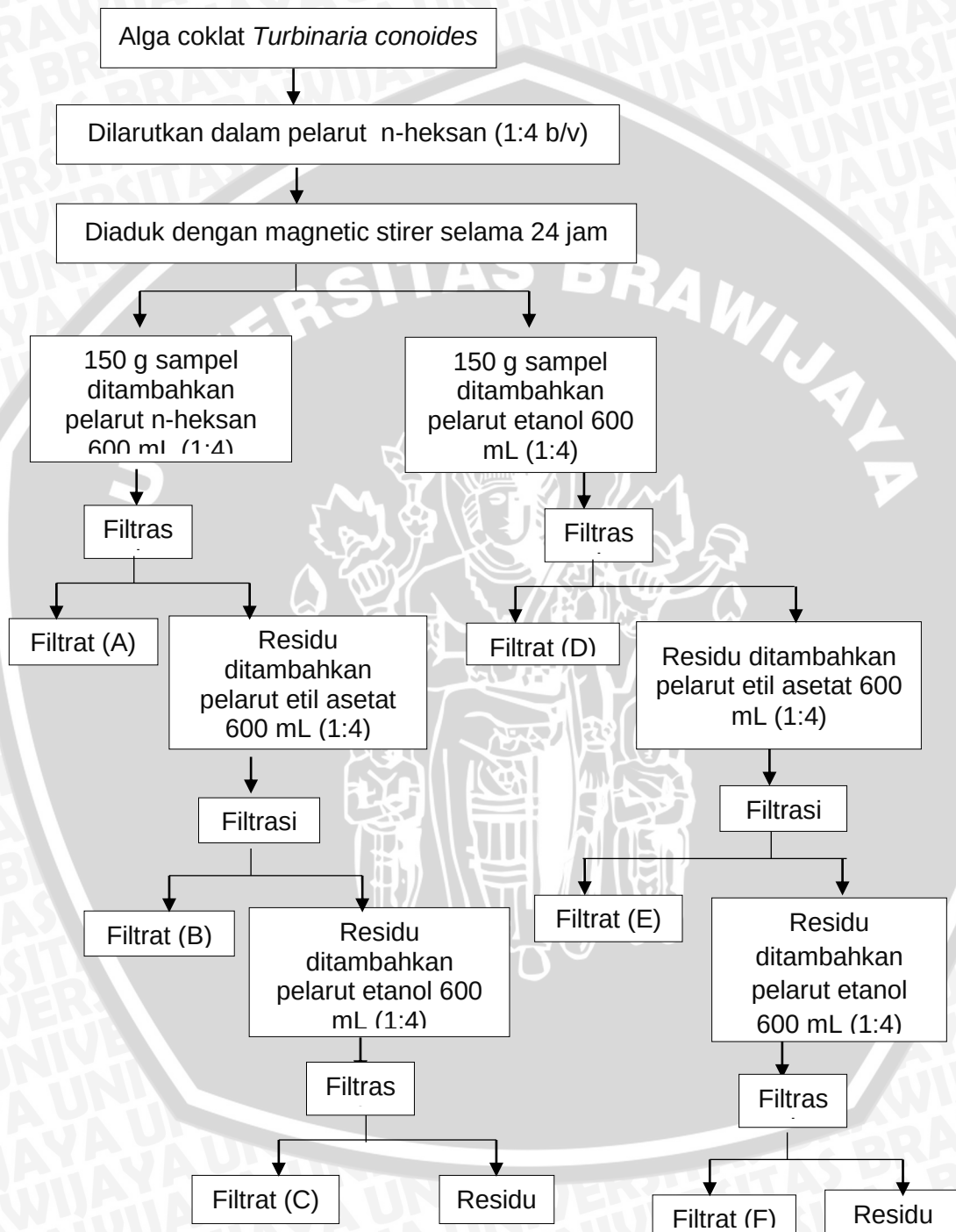
Yumiko, Y. S., Ya-pei, H., dan Takesi, S. 2003. Distribution of Flavonoid and Related Compounds from Seaweeds in Japan. *Journal of Tokyo University of Tokyo*. **89**: 1-6

Yunianto, Hendi P., Ita W., dan Ocky K. R. 2014. Skrining Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum plagyophyllum* dari Perairan Bandengan Jepara terhadap Bakteri Patogen Enterobacter, *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Marine Research*. **3**(3):165-172.

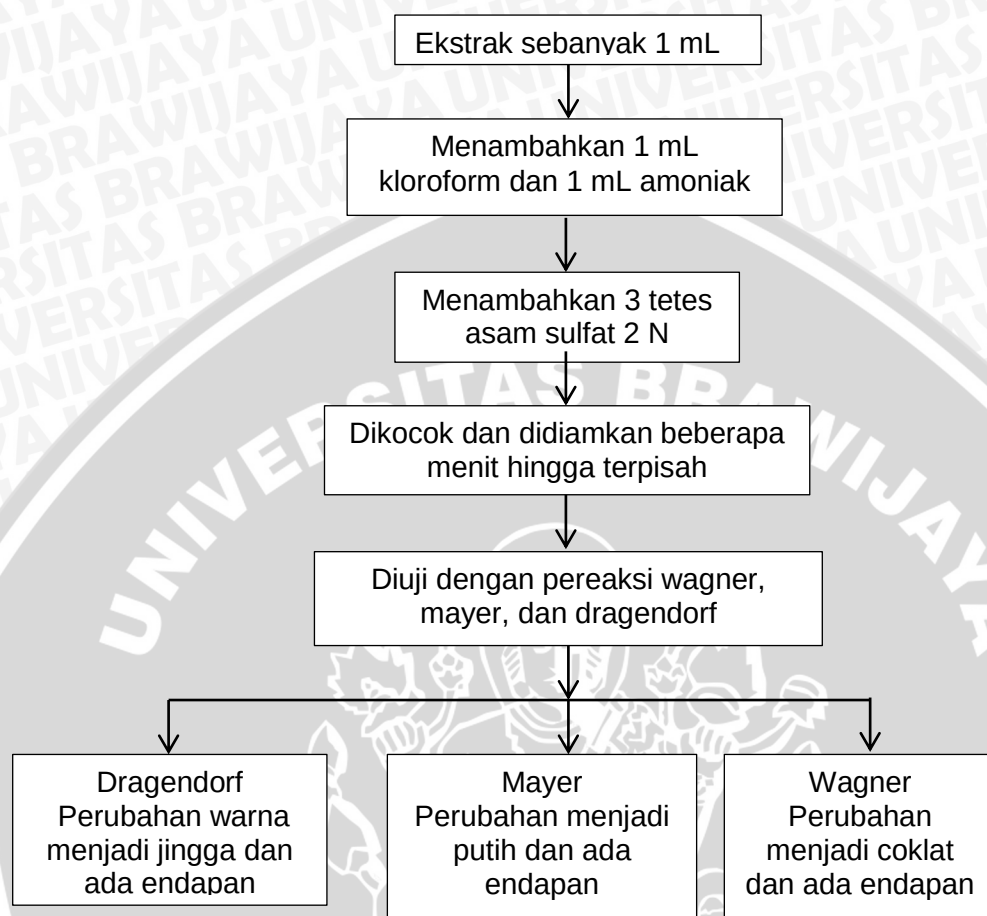


LAMPIRAN

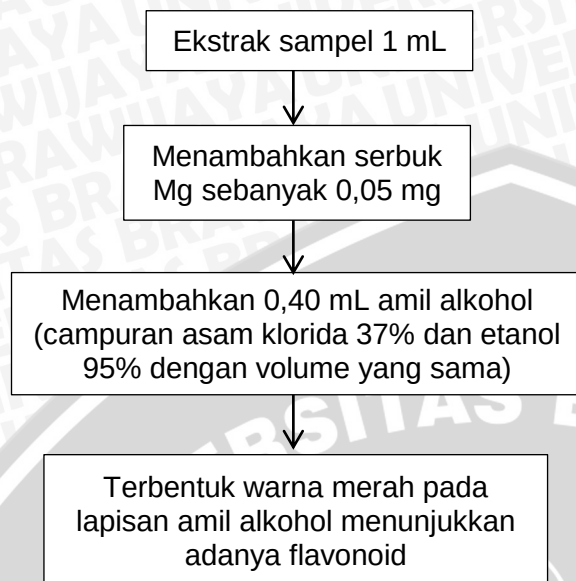
Lampiran 1. Sekem Proses Maserasi



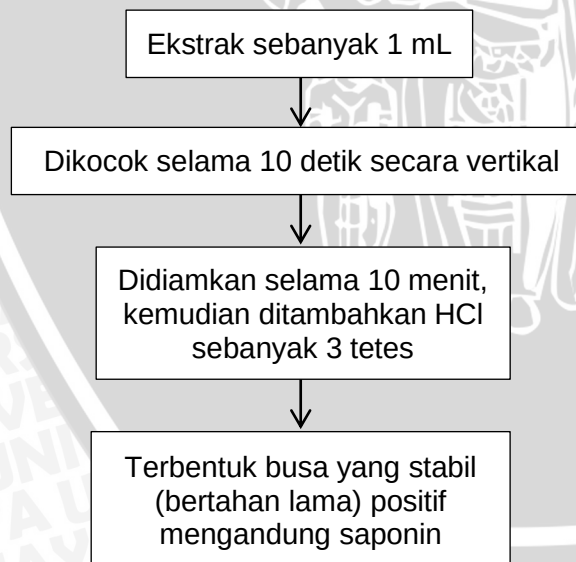
Lampiran 2. Skema Proses Alkaloid



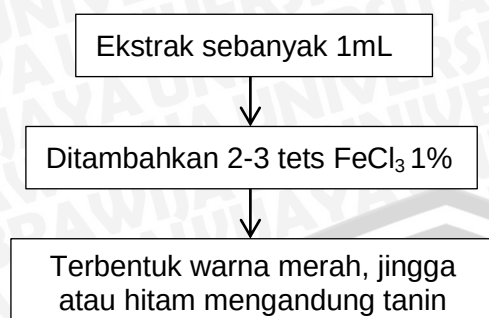
Lampiran 3. Skema Proses Flavonoid



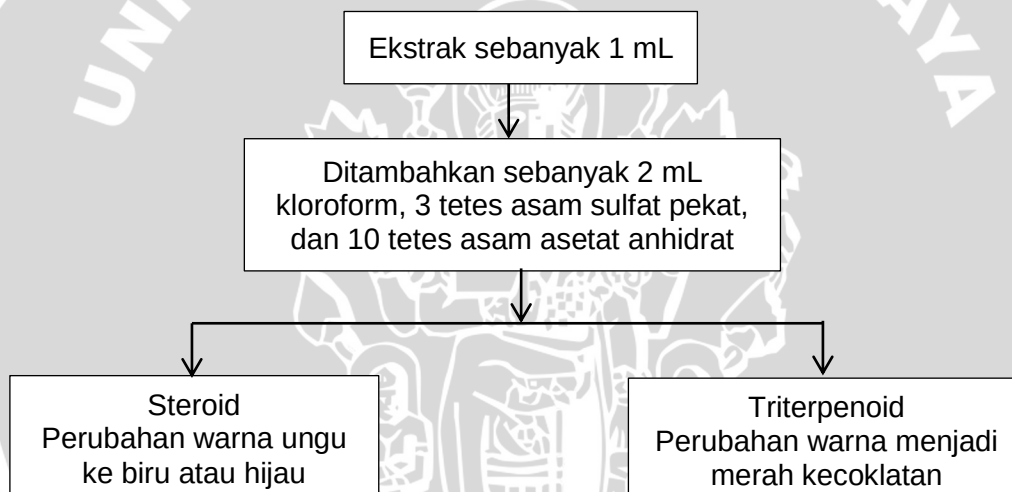
Lampiran 4. Skema Proses Saponin



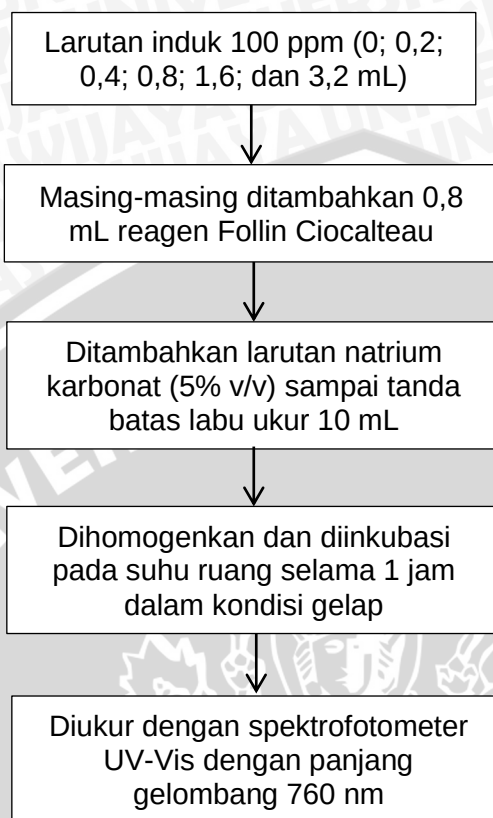
Lampiran 5. Tanin



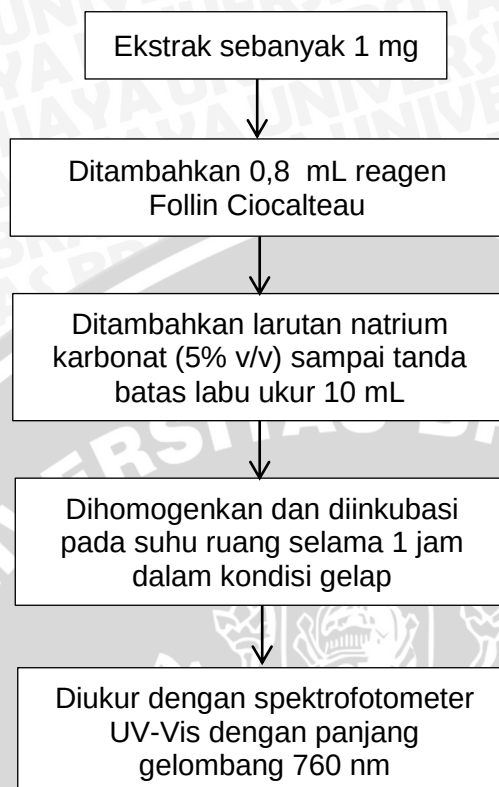
Lampiran 6. Triterpenoid/Steroid



Lampiran 8. Skema Proses Larutan Asam Galat



Lampiran 7. Skema Proses Total Fenol



Lampiran 9. Dokumentasi



Pencucian Rumput Laut



Penjemuran rumput laut



Pengilingan Rumput Laut



Penimbangan Rumput Laut



Pemberian pelarut n-heksan



Magnetic stirrer selama 24 jam



Penyaringan



Penambahan pelarut etil asetat



Magnetic stirrer selama 24 jam



Penyaringan

Lampiran 9. (lanjutan)



Penambahan pelarut etanol



Magnetic stirrer selama 24 jam



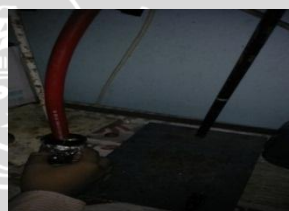
Penyaringan



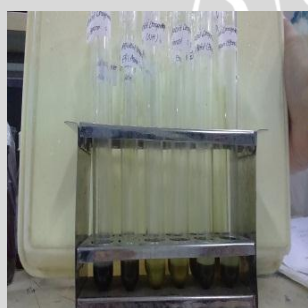
Penambahan etanol



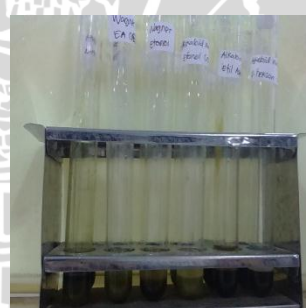
Evaporasi



Proses nitrogen



Alkaloid (Dragendraf)



Alkaloid (Wagner)



Alkaloid (Meyer)



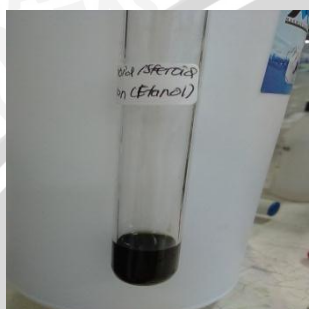
Triterpenoid/steroid (n-heksan)



Triterpenoid/steroid



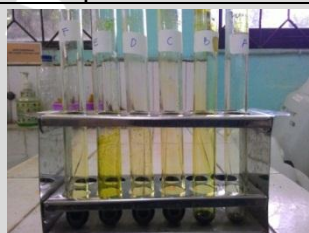
Triterpenoid/steroid (etanol)



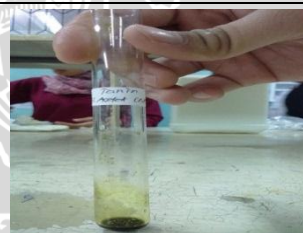
triterpenoid/steroid



Flavonoid



Saponin



Tanin



Tanin

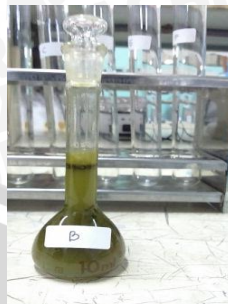


Pembuatan asam galat

Lampiran 9. (lanjutan)



Pembuatan larutan total fenol A (n-heksan)



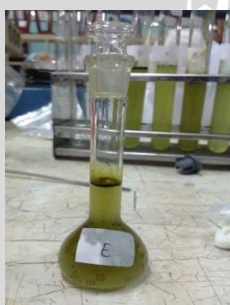
Pembuatan larutan total fenol B (n-heksan – etil asetat)



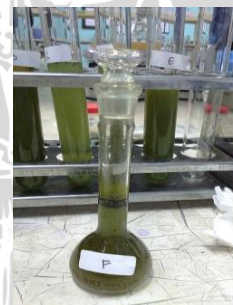
Pembuatan larutan total fenol C (n-heksan – etil asetat - etanol)



Pembuatan larutan total fenol D (etanol)



Pembuatan larutan total fenol E (etanol – etil asetat)



Pembuatan larutan total fenol F (etanpl – etil asetat – n-heksan)



Larutan total fenol



Pengukuran absorbansi 760nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis

Lampiran 9. (lanjutan)



Pembuatan bubur silica gel



Proses memasukkan bubur silica gel ke kromatografi kolom



Proses memasukkan sampel



Proses Isolasi

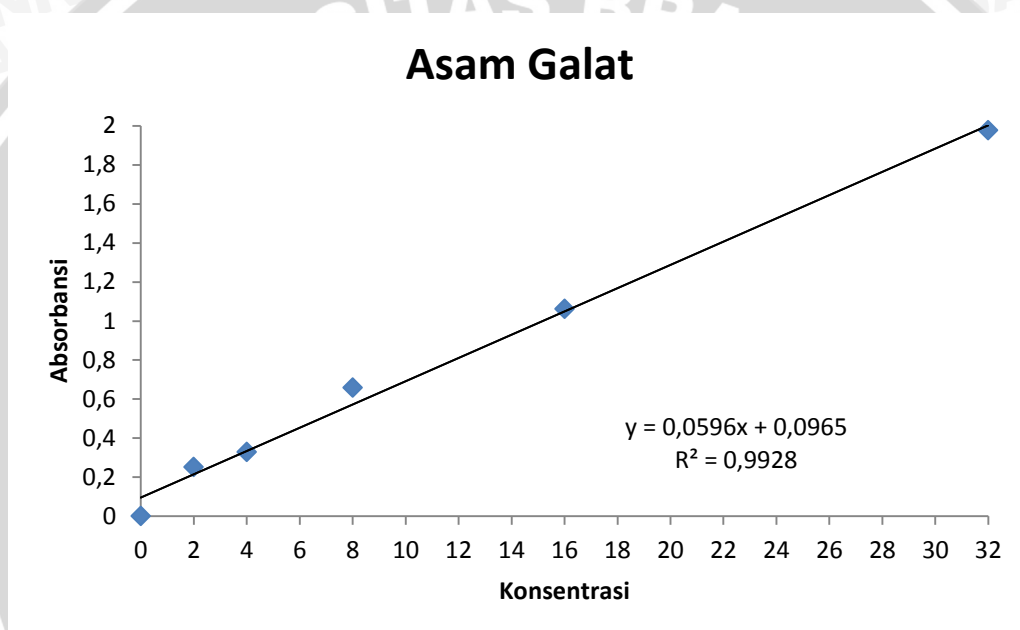


Hasil kromatografi kolom

Lampiran 10. Perhitungan Total Fenol

- Data Kurva Standart Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0
2	0,251
4	0,328
8	0,658
16	1,061
32	1,975



Lampiran 10. (lanjutan)

- Data Hasil Analisa Total Fenol

PELARUT	ULANGAN	ABSORBANSI	KONSENTRASI (ppm)	TOTAL FENOL (mg GAE/g)	RATA-RATA (mg GAE/g)
A	1	1,662	26,267	24,098	24,647 ± 1,073
	2	1,653	26,115	23,959	
	3	1,778	28,213	25,884	
B	1	1,924	30,663	28,131	27,079 ± 1,325
	2	1,884	29,992	27,515	
	3	1,759	27,894	25,591	
C	1	2,87	46,535	42,693	41,189 ± 1,52
	2	2,673	43,230	39,660	
	3	2,774	44,924	41,215	
D	1	2,786	45,126	41,400	39,353 ± 1,807
	2	2,564	41,401	37,983	
	3	2,609	42,156	38,675	
E	1	1,603	25,277	23,190	24,857 ± 1,567
	2	1,726	27,341	25,083	
	3	1,805	28,666	26,991	
F	1	1,521	23,901	21,928	22,748 ± 1,489
	2	1,516	23,817	21,850	
	3	1,686	26,669	24,467	

**KONSENTRASI
ULANGAN 1**

A) $y = 0,0596x + 0,0965$

$$1,622 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,622 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 26,267 \text{ ppm}$$

D) $y = 0,0596x + 0,0965$

$$2,786 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{2,786 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 45,126 \text{ ppm}$$

B) $y = 0,0596x + 0,0965$

$$1,924 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,924 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 30,663 \text{ ppm}$$

E) $y = 0,0596x + 0,0965$

$$1,603 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,603 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 25,277 \text{ ppm}$$

C) $y = 0,0596x + 0,0965$

$$2,870 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{2,870 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 46,535 \text{ ppm}$$

F) $y = 0,0596x + 0,0965$

$$1,521 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,521 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 23,901 \text{ ppm}$$

Lampiran 10. (lanjutan)

ULANGAN 2

A) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,653 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,653 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 26,116 \text{ ppm}$

B) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,884 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,884 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 29,992 \text{ ppm}$

C) $y = 0,0596x + 0,0965$

$2,673 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{2,673 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 43,230 \text{ ppm}$

ULANGAN 3

A) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,778 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,778 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 28,213 \text{ ppm}$

B) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,759 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,759 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 27,894 \text{ ppm}$

C) $y = 0,0596x + 0,0965$

$2,774 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{2,774 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 44,924 \text{ ppm}$

D) $y = 0,0596x + 0,0965$

$2,564 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{2,564 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 41,401 \text{ ppm}$

E) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,726 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,726 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 30,378 \text{ ppm}$

F) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,516 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,516 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 23,817 \text{ ppm}$

$$x = \frac{2,609 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 42,156 \text{ ppm}$

D) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,805 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,805 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 28,666 \text{ ppm}$

E) $y = 0,0596x + 0,0965$

$1,686 = 0,0596x + 0,0965$

$$x = \frac{1,719 - 0,0965}{0,0596}$$

$x = 26,669 \text{ ppm}$

$2,609 = 0,0596x + 0,0965$

Lampiran 10. (lanjutan)

TOTAL FENOL

$$\text{total fenol} = \frac{\text{konsentrasi}(\text{mg/L}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\text{L/ml})}{\text{bobot sample} (\text{g}) \times 10^{-3} (\text{g/mg})}$$

ULANGAN 1

$$\begin{aligned} \text{A) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi}(\frac{\text{mg}}{\text{L}}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\frac{\text{L}}{\text{ml}})}{\text{bobot sample} (\text{mg}) \times 10^{-3} (\frac{\text{g}}{\text{mg}})} \\ &= \frac{26,267 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 24,098 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi}(\frac{\text{mg}}{\text{L}}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\frac{\text{L}}{\text{ml}})}{\text{bobot sample} (\text{mg}) \times 10^{-3} (\frac{\text{g}}{\text{mg}})} \\ &= \frac{30,663 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 28,131 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi}(\frac{\text{mg}}{\text{L}}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\frac{\text{L}}{\text{ml}})}{\text{bobot sample} (\text{mg}) \times 10^{-3} (\frac{\text{g}}{\text{mg}})} \\ &= \frac{46,535 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 42,693 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi}(\frac{\text{mg}}{\text{L}}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\frac{\text{L}}{\text{ml}})}{\text{bobot sample} (\text{mg}) \times 10^{-3} (\frac{\text{g}}{\text{mg}})} \\ &= \frac{45,126 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 41,400 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{E) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi}(\frac{\text{mg}}{\text{L}}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\frac{\text{L}}{\text{ml}})}{\text{bobot sample} (\text{mg}) \times 10^{-3} (\frac{\text{g}}{\text{mg}})} \\ &= \frac{25,277 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 23,190 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi}(\frac{\text{mg}}{\text{L}}) \times \text{fpx} \times 10^{-3} (\frac{\text{L}}{\text{ml}})}{\text{bobot sample} (\text{mg}) \times 10^{-3} (\frac{\text{g}}{\text{mg}})} \\ &= \frac{23,817 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 21,928 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

Lampiran 10. (lanjutan)

ULANGAN 2

$$\begin{aligned} \text{A) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{26,116 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 23,959 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{29,992 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 27,515 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{43,230 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 39,660 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{41,401 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 37,982 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{E) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{27,341 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 25,083 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{23,817 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 21,850 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

Lampiran 10. (lanjutan)

ULANGAN 3

$$\begin{aligned} \text{A) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{28,213 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 25,883 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{27,894 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 25,591 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{44,924 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 41,215 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{42,156 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 38,675 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{E) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{28,666 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 26,299 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) total fenol} &= \frac{\text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{fpx} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}} \right)}{\text{bobot sample (mg)} \times 10^{-3} \left(\frac{\text{g}}{\text{mg}} \right)} \\ &= \frac{26,669 \text{ mg/L} \times 1 \times 10^{-3} \text{ L/m}}{1,09 \text{ mg} \times 10^{-3} \text{ g/mg}} \\ &= 24,467 \text{ mg GAE/g} \end{aligned}$$

Lampiran 10. (lanjutan)**RATA-RATA TOTAL FENOL**

$$\text{Rata-rata} = \frac{\text{ulangan 1} + \text{ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{3}$$

$$\begin{aligned} \text{A) Rata-rata} &= \frac{24,098 + 23,959 + 25,884}{3} \\ &= 24,647 \text{ mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \pm 1,073 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B) Rata-rata} &= \frac{28,131 + 27,515 + 25,591}{3} \\ &= 27,079 \text{ mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \pm 1,325 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C) Rata-rata} &= \frac{42,692 + 39,660 + 41,215}{3} \\ &= 41,189 \text{ mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \pm 1,516 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D) Rata-rata} &= \frac{41,400 + 37,983 + 38,675}{3} \\ &= 39,353 \text{ mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \pm 1,807 \end{aligned}$$

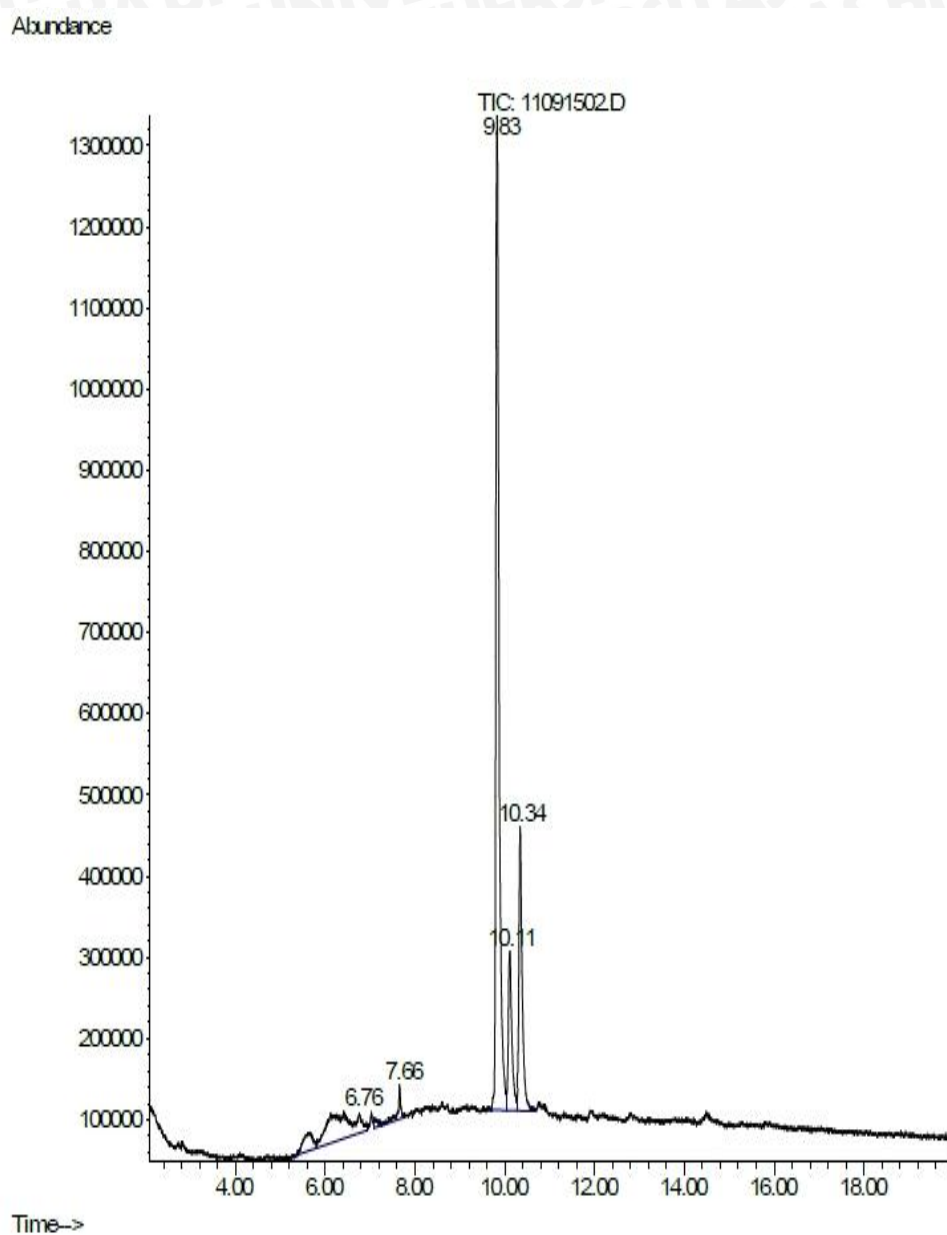
$$\begin{aligned} \text{E) Rata-rata} &= \frac{23,190 + 25,083 + 26,299}{3} \\ &= 24,857 \text{ mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \pm 1,567 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F) Rata-rata} &= \frac{21,928 + 21,850 + 24,467}{3} \\ &= 22,748 \text{ mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \pm 1,489 \end{aligned}$$

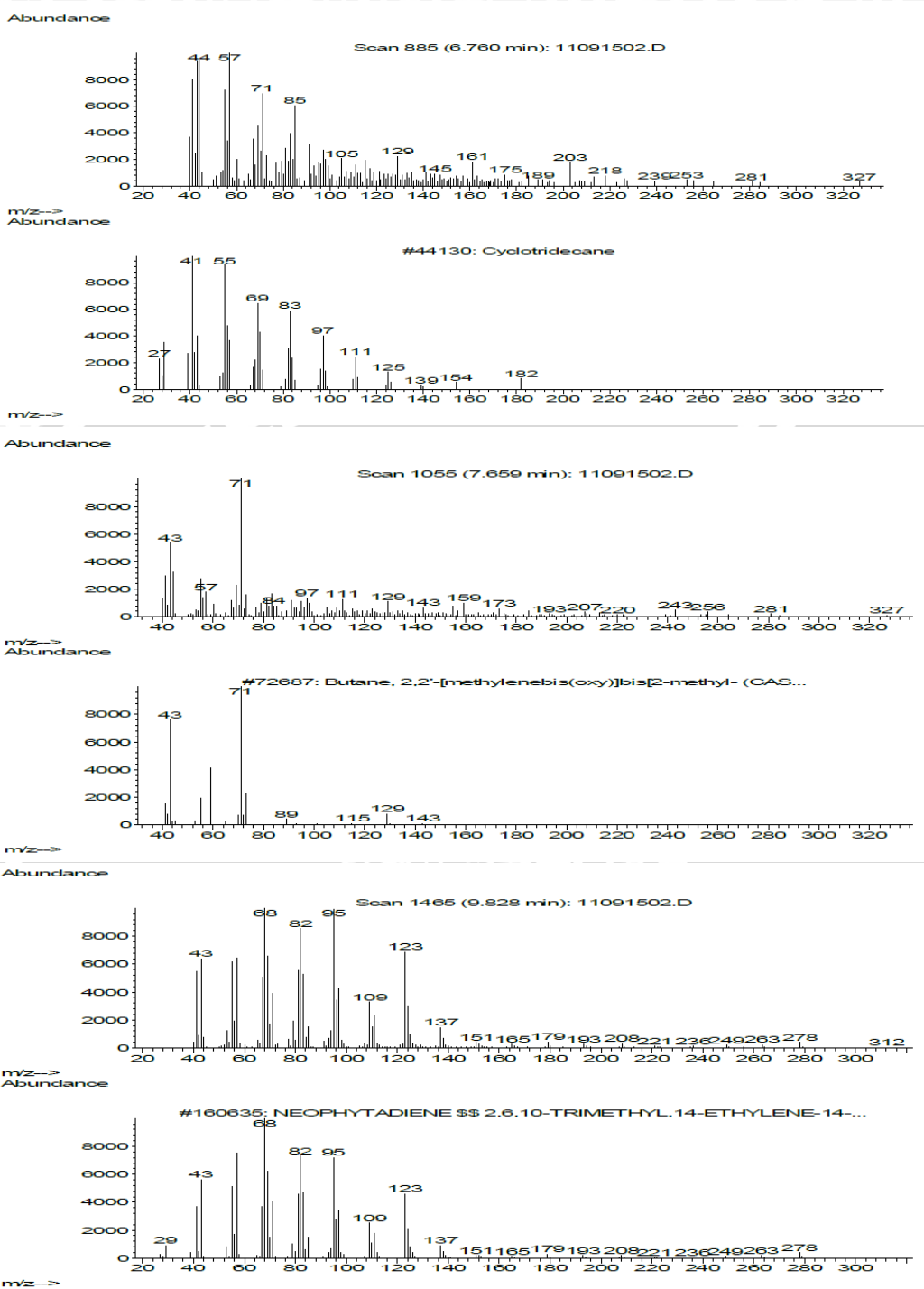
Lampiran 11. Hasil Kromatografi kolom

NO BOTOL	WARNA	WAKTU	KONSENTRASI (FASE GERAK)
1	Bening	10:45	2:8 (methanol:kloroform)
2	Bening	10:52	2:8
3	Kuning bening	11:02	2:8
4	Hitam pekat	11:07	2:8
5	Hitam pekat	11:11	2:8
6	Hitam bening	11:13	2:8
7	Orange	11:15	2:8
8	Coklat emas bening	11:16	2:8
9	Kuning bening	11:18	2:8
10	Kuning bening	11:20	2:8
11	Hijau	11:24	2:8
12	Hijau	11:28	3:7
13	Hijau	11:36	3:7
14	Hijau	11:46	3:7
15	Hijau	11:50	3:7
16	Hijau	11:57	3:7
17	Hijau bening	12:00	3:7
18	Hijau bening	12:06	3:7
19	Hijau bening	12:12	3:7
20	Hijau bening	12:18	4:6
21	Bening	12:27	4:6
22	Bening	12:37	4:6
23	Hijau bening	12:53	4:6
24	Bening	13:04	5:5
25	Bening	13:11	5:5
26	Bening	13:11	5:5
27	Bening	13:17	5:5
28	Bening	13:24	6:4 (methanol:kloroform)
29	Bening	13:32	6:4
30	Bening	13:40	6:4
31	Bening	13:46	6:4
32	Bening	13:54	6:4
33	Bening	14:01	7:3
34	Bening	14:16	7:3
35	Bening	14:23	7:3
36	Bening	14:32	7:3
37	Bening	14:40	7:3
38	Bening	14:46	8:2
39	Bening	14:54	8:2
40	Bening	15:01	8:2
41	Bening	15:11	8:2
42	Bening	15:17	8:2

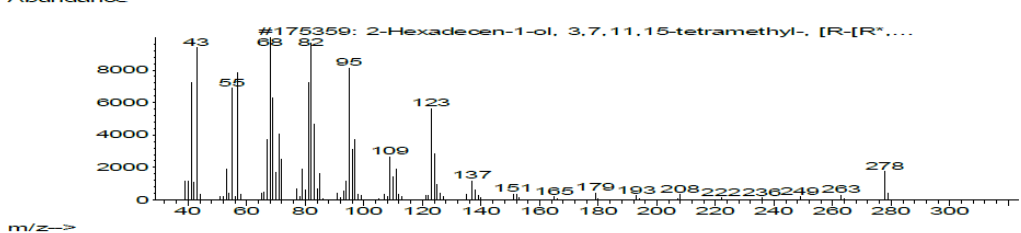
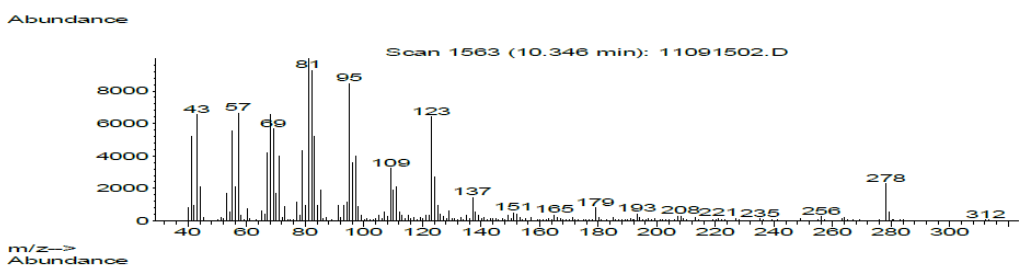
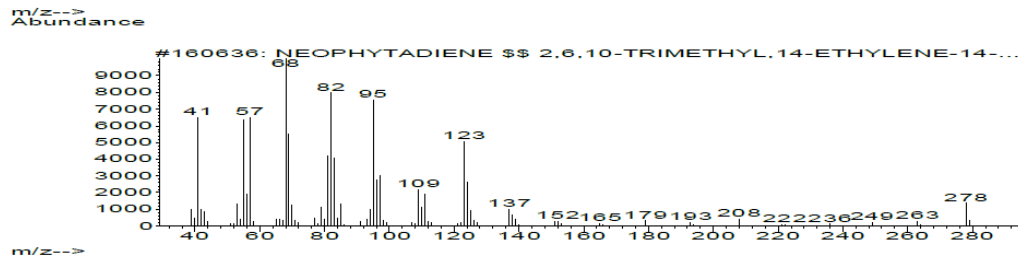
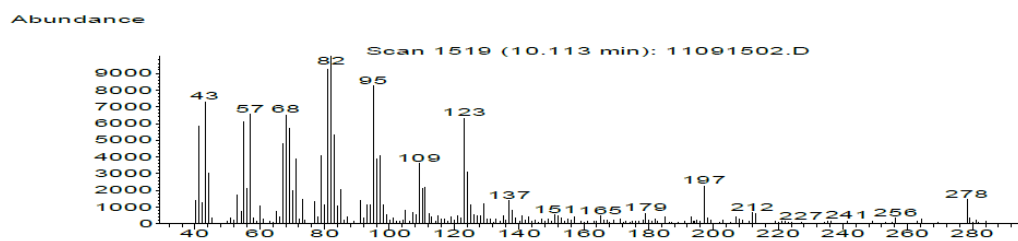
Lampiran 12. Hasil GC-MS



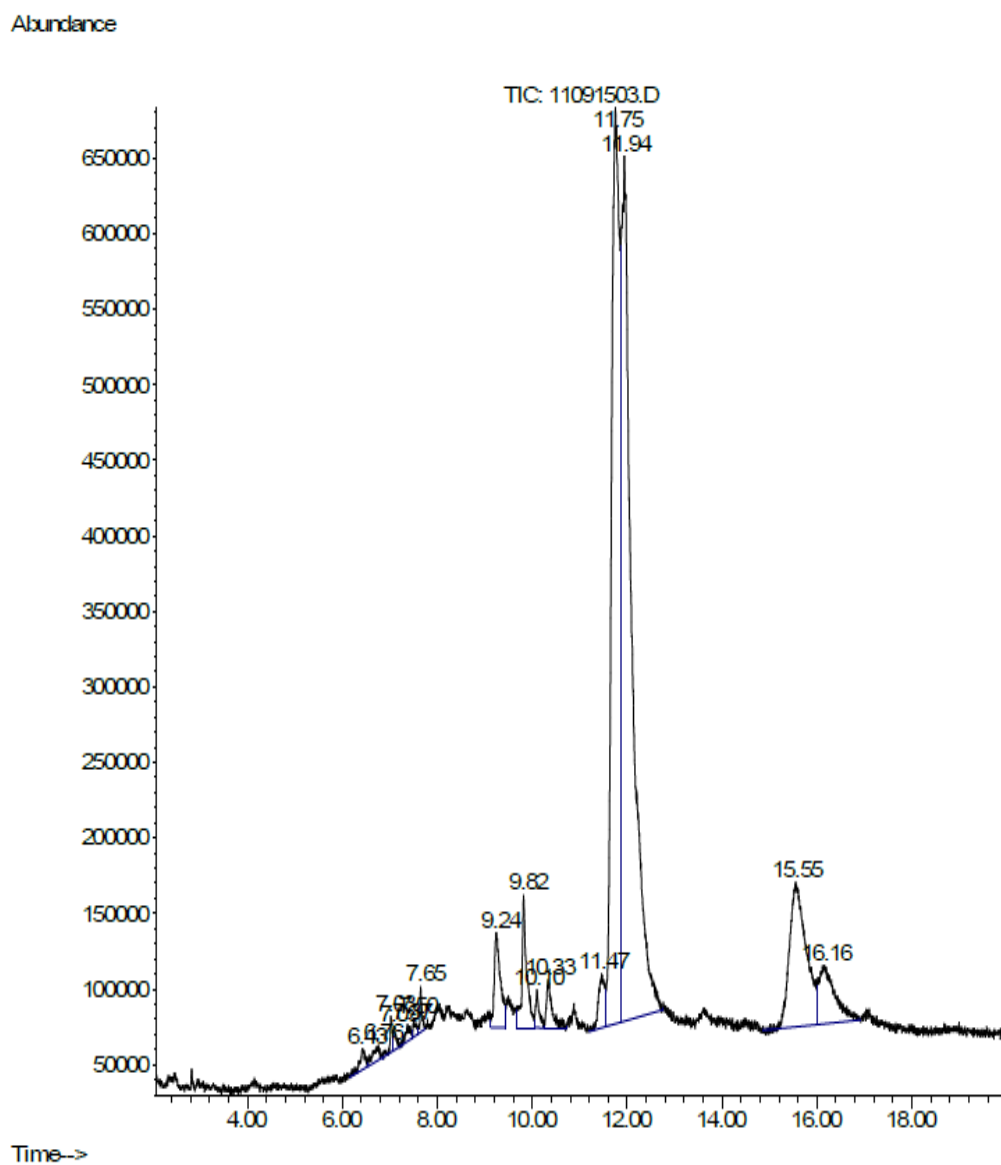
Lampiran 12. (lanjutan)



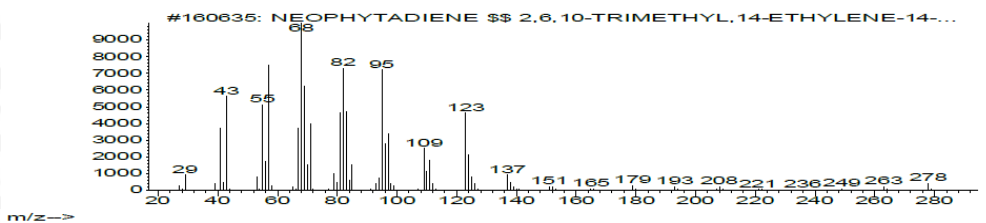
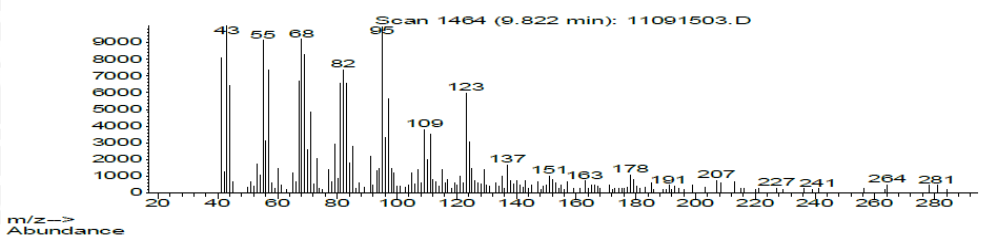
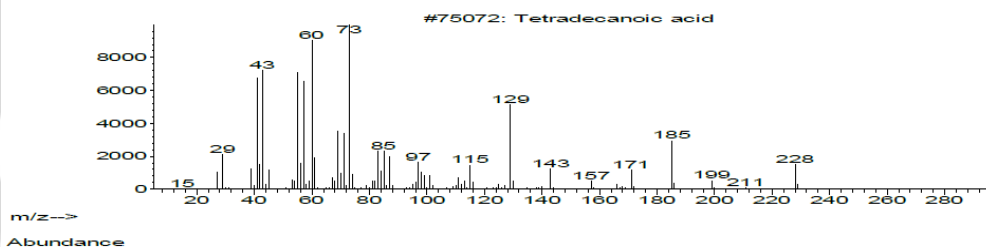
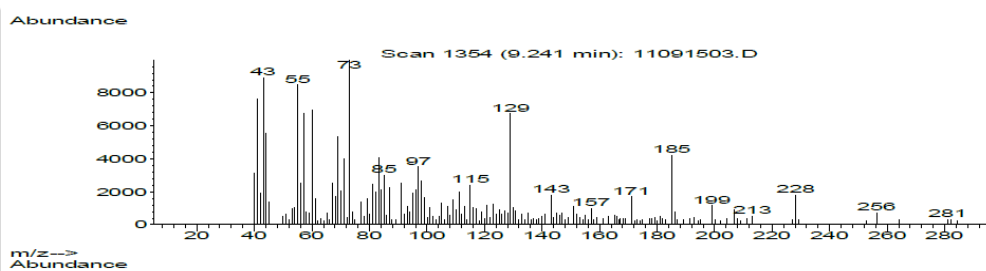
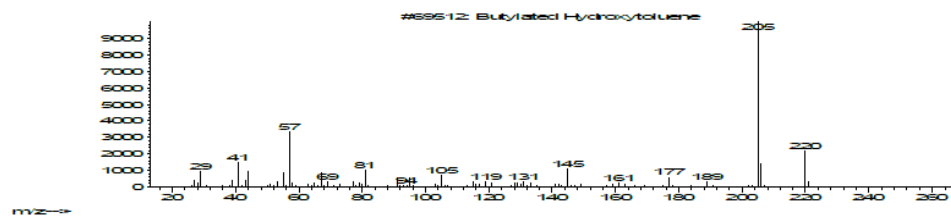
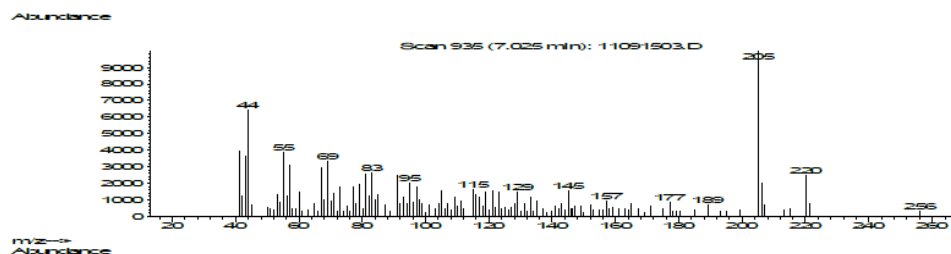
Lampiran 12. (lanjutan)



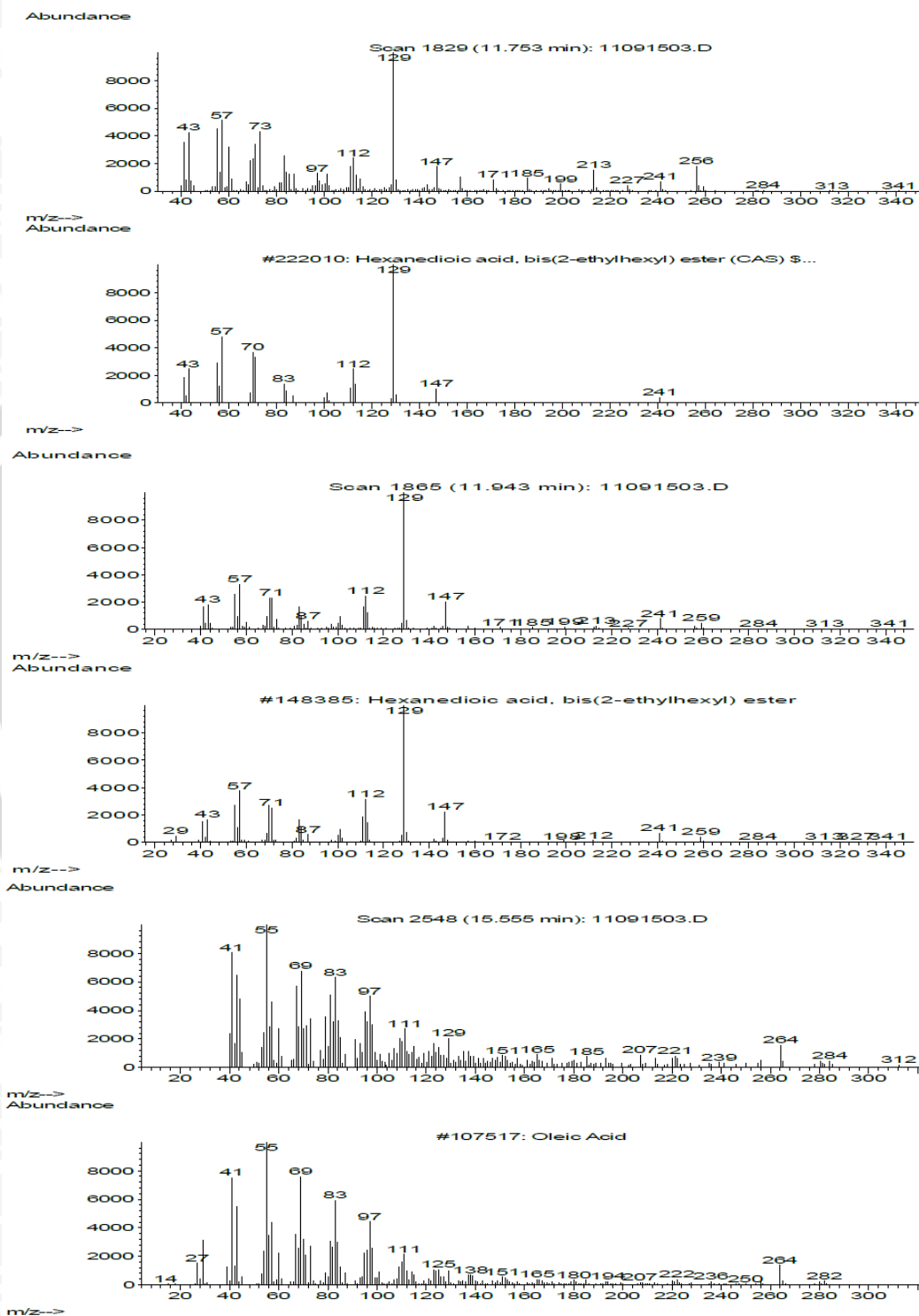
Lampiran 12. (lanjutan)



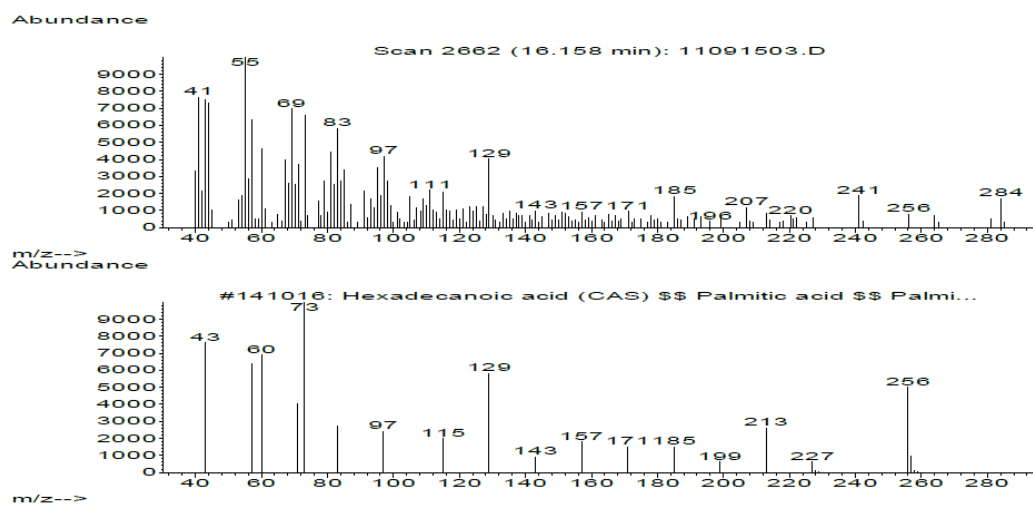
Lampiran 12. (lanjutan)



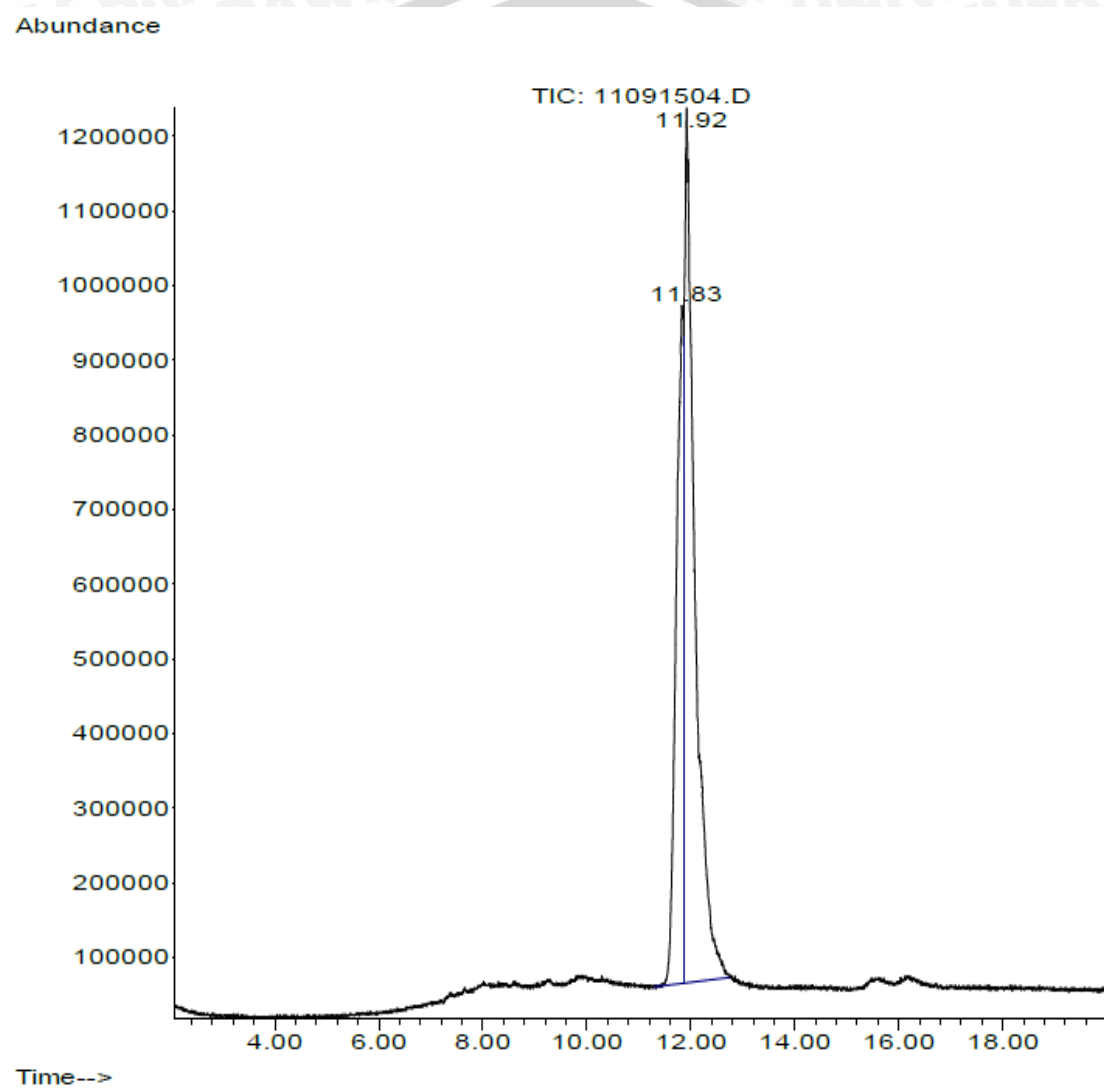
Lampiran 12. (lanjutan)



Lampiran 12. (lanjutan)



Lampiran 12. (lanjutan)



Lampiran 12. (lanjutan)

