

**UJI AKTIVITAS SENYAWA AKTIF *Sargassum cristaefolium* SEBAGAI
ANTIOKSIDAN PADA MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN DAN KELAUTAN**

Oleh :

FONDA DANISWARA

NIM. 09108300029



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

MALANG

2016

**UJI AKTIVITAS SENYAWA AKTIF *Saragassum cristaefolium* SEBAGAI
ANTIOKSIDAN PADA MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)**

Oleh :

FONDA DANISWARA

NIM. 0910830029

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal

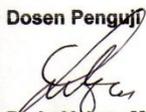
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I



Dr. Ir. Yahya, MP

NIP: 19600322 1986011 001

Tanggal : 22 DEC 2015

Dosen Pembimbing I

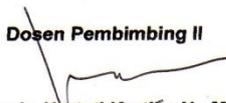


Ir. Daritas M. Biotech

NIP. 19500531 198103 1 003

Tanggal : 22 DEC 2015

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS

NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal :

22 DEC 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

NIP: 1962005 198603 2 001

Tanggal: 22 DEC 2015

PERNYATAAN ORISINALITAS

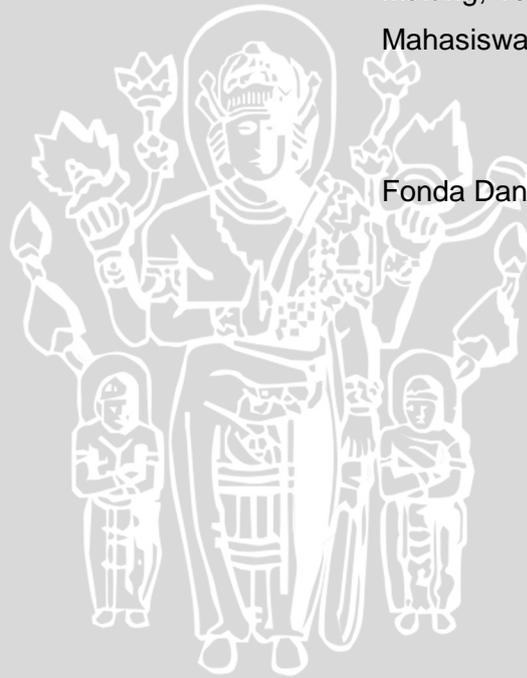
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar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

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

Malang, 10 November 2015

Mahasiswa

Fonda Daniswara



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT atas berkah, rahmat-Nya, penulis bisa menyelesaikan Laporan Skripsi ini. Laporan Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Dalam penyusunan Laporan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Ucapan terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Kedua orang tua yang selalu menjadi pendukung . Berkat doa dan dukungan segala hal kedua beliau skripsi saya tidak akan selesai sampai saat ini
2. Bapak Ir. Darius M. Biotech selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dengan penuh kesabaran sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini. .
4. Guru saya dari Tk sampai bapak ibu dosen yang telah membantu saya mengenalkan dunia pendidikan
5. Sahabat-sahabat no.9 De cluster semuanya, terima kasih atas dorongan semangat dan kebersamaannya.
6. Sahabat-sahabat seperjuangan komunitas No Name yang telah membantu dengan sepenuh hati, memberi semangat, berbagi informasi, dan berjuang bersama dalam suka dan duka.
7. keluarga besar THP 2009 tercinta yang selalu kompak dan menjadi motivator dalam penyelesaian laporan skripsi ini. .

Laporan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran sangat penulis harapkan. Penulis berharap Laporan skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, 12 November 2015

Penulis

FONDA DANISWARA (NIM 09108300029). Skripsi Tentang Uji Aktivitas Senyawa Aktif Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Sebagai Antioksidan Pada Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) (di bawah bimbingan **Ir. Darius M. Biotech dan Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS**)

Rumput laut adalah bentuk poliseluler dari ganggang (alga) yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi *Thallophyta*. Tanaman ini tidak mempunyai akar, batang dan daun seperti lazimnya tanaman tingkat tinggi. Struktur tanaman secara keseluruhan merupakan batang yang dikenal dengan *thallus*. *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu golongan alga coklat *Phaeophyceae*. *Sargassum cristaefolium* merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya sebagai antioksidan. antioksidan merupakan salah satu bahan aditif yang dapat melindungi bahan pangan dari kerusakan oksidasi penyebab ketengikan pada minyak ikan. Sehingga dilakukan penelitian tentang *Sargassum cristaefolium* sebagai antioksidan terhadap minyak ikan lemuru.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum cristaefolium* terbaik untuk menghambat kerusakan minyak ikan lemuru serta mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Sargassum cristaefolium*. Penelitian ini dilaksanakan di, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya serta Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang pada September- Desember 2014.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Dalam penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini ialah konsentrasi (0 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm) dan masa simpan (H1, H5, dan H10). Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini ialah Bilangan peroksida dan Bilangan iod parameter uji yang dilakukan antara lain dpph, bilangan iod, bilangan peroksida, UV-Vis, LCMS.

Berdasarkan hasil ekstrak senyawa aktif *Sargassum cristaefolium* diperoleh aktivitas radikal bebas dengan rata-rata nilai IC50 sebesar $108,828 \pm 21,11$ ppm. Penambahan senyawa aktif dari *Sargassum cristaefolium* dapat mencegah terjadinya kerusakan pada proses netralisasi minyak ikan lemuru dengan perlakuan terbaik atau konsentrasi optimum yaitu pada konsentrasi sebesar 300 ppm pada uji bilangan peroksida sebesar 3.57 mg/kg, sedangkan pada uji bilangan iod terbaik pada konsentrasi 300 ppm sebesar 10,82 g/100g. Hasil analisis dengan metode LC-MS, diduga pada puncak ke 4 terdapat senyawa *Glycyrrhethinic* golongan terpenoid.

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung pada *Sargassum cristaefolium* dengan pengaplikasian yang berbeda namun tetap menggunakan isolasi dari *Sargassum cristaefolium*.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Kegunaan Penelitian	2
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	4
2.1.1 Manfaat Alga Coklat	5
2.1.2 Bioaktif Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	6
2.1.2.1. Fenol	6
2.1.2.2. Flavanoid.....	7
2.2 Antioksidan	7
2.2.1 Fungsi Antioksidan <i>Sargassum cristaefolium</i>	8
2.3 Minyak Lemuru <i>Sardinella sp.</i>	9
2.4 Uji DPPH.....	10
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	11
3.1.1 Sampel Penelitian.....	11
3.1.2 Alat Penelitian.....	11
3.1.3 bahan Penelitian	11
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	12
3.3 Prosedur Penelitian.....	12
3.3.1 Penelitian 1.....	12
3.3.1.1 Persiapan Bahan	13
3.3.1.2 Ekstraksi	14
3.3.1.3 Evaporasi.....	15
3.3.1.4 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom	15
3.3.2 Penelitian 1 Pengujian Minyak Ikan Lemuru.....	17
3.3.2.1 Uji Kualitas Bilangan Iod Minyak Ikan Lemuru.....	17
3.3.2.2 Uji Kualitas Bilangan Peroksida Minyak Ikan Lemuru.....	17
3.3.2.3 Bilangan Iod dan Peroksida Minyak Ikan Lemuru pada Penelitian 1	18
3.3.3 Penelitian 2.....	20
3.3.3.1 Identifikasi isolat <i>Sargassum cristaefolium</i> dengan Spektrofotometri UV-Vis	20



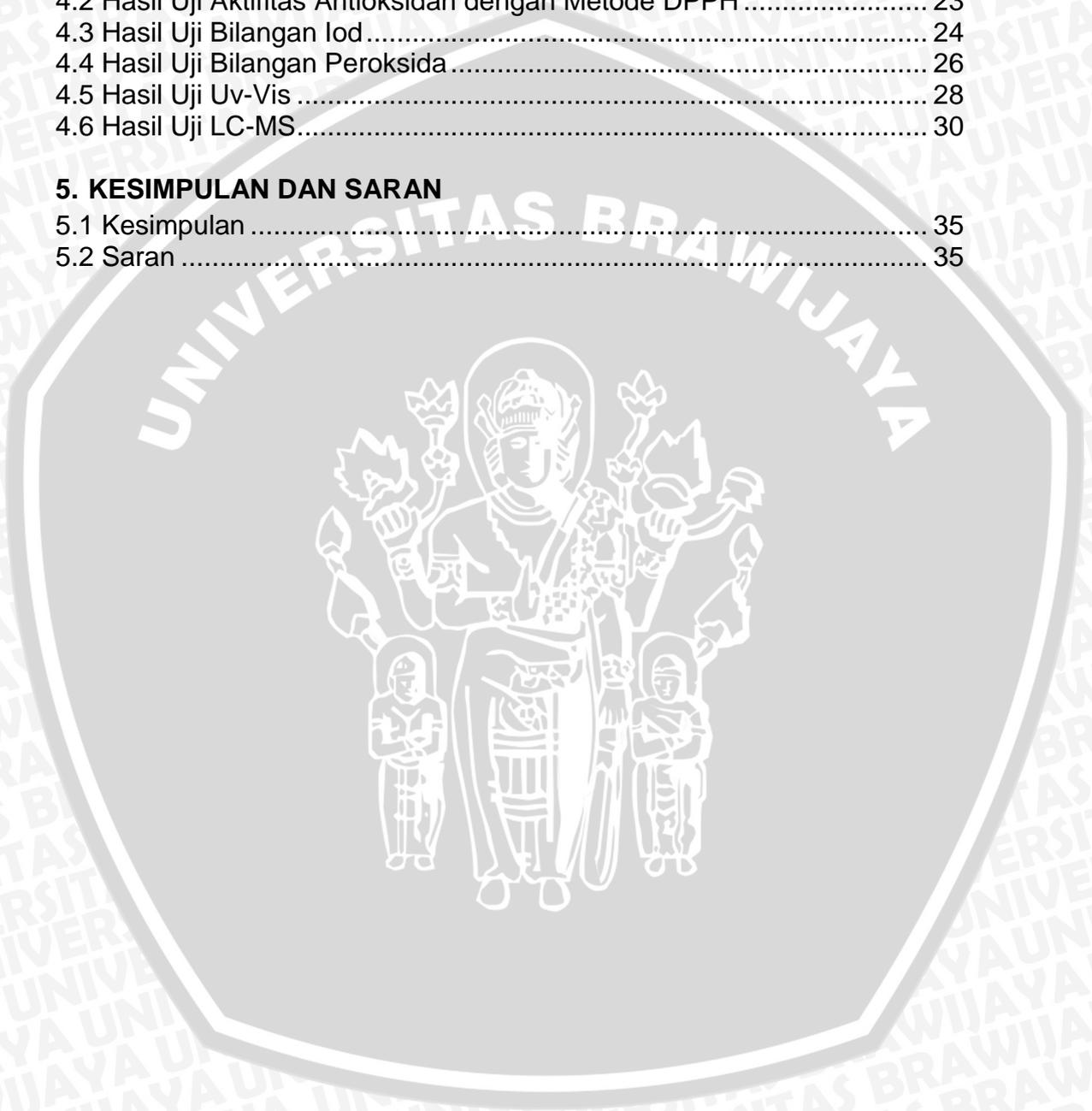
3.3.3.2 Uji Struktur Kimia Bioaktif Sargassum cristaefolium dengan LCMS 21
 3.3.3.3 Uji Aktifitas Antioksidan dengan Metode DPPH..... 21

4. PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian 2 23
 4.2 Hasil Uji Aktifitas Antioksidan dengan Metode DPPH 23
 4.3 Hasil Uji Bilangan Iod 24
 4.4 Hasil Uji Bilangan Peroksida 26
 4.5 Hasil Uji Uv-Vis 28
 4.6 Hasil Uji LC-MS 30

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan 35
 5.2 Saran 35



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Hasil uji kromatografi kolom *Sargassum cristaefolium*..... 17

Tabel 2 Bilangan iod dan peroksida pada minyak lemuru
 penelitian 1 19

Tabel 3 Hasil Uji Penelitian 2 23

Tabel 4 Pengukuran nilai IC50 aktivitas antioksidan metode DPPH 24

Tabel 5 Uji bilangan iod terhadap interaksi lama masa simpan dengan
 konsentrasi 25

Tabel 6 Uji bilangan peroksida terhadap interaksi lama masa simpan dengan
 konsentrasi 27



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Sargassum cristaefolium</i>	5
Gambar 2. Diagram Alir Penelitian.....	13
Gambar 3. Grafik Rata-rata Hasil IC50	24
Gambar 4. Grafik Bilangan iod.....	26
Gambar 5. Grafik Bilangan Peroksida.....	28
Gambar 6. Spectra UV-Vis isolat hijau.....	29
Gambar 7. Spectra UV-Vis Co turunan klorofil.....	29
Gambar 8. Nilai gelombang dan absorbansi UV-Vis ekstrak hijau <i>Sargassum cristaefolium</i>	30
Gambar 9. Hasil uji LC MS Isolat Hijau <i>Sargassum cristaefolium</i>	31
Gambar 10. Puncak 1 isolat hijau uji LC-MS.....	32
Gambar 11. Struktur senyawa 4-Deoxyphloridzin (polifenol).....	32
Gambar 12. Puncak 2 isolat hijau uji LC-MS.....	32
Gambar 14. Puncak 4 isolat hijau	33

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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

Sargassum cristaefoilum merupakan salah satu golongan alga coklat (*Phaeophyceae*). *Sargassum cristaefoilum* merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya sebagai antioksidan (Fahri *et al.*, 2010). Sehingga perlu diadakan sebuah penelitian tentang antioksidan dari *Sargassum cristaefoilum*.

Antioksidan merupakan senyawa penting yang mampu menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang banyak terbentuk selama metabolisme tubuh. Tubuh memerlukan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangkaian radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, atau DNA.

(Sibuea,2003). Muawanah *et al.* (1997) menambahkan bahwa antioksidan merupakan salah satu bahan aditif yang dapat melindungi bahan pangan dari kerusakan oksidasi penyebab ketengikan pada minyak ikan.

Kerusakan minyak atau lemak yang disebabkan oleh reaksi oksidasi dapat dicegah dengan penambahan antioksidan. Antioksidan mampu menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi dan menghambat kelanjutan reaksi autooksidasi pada tahap propagansi. Hal ini disebabkan karena antioksidan memiliki energi aktivasi yang rendah untuk melepaskan satu atom hidrogen kepada radikal lemak. Sehingga tahap oksidasi lebih lanjut dapat dicegah (Mudasir *et al.*, 2007).

Meskipun telah ada penelitian sebelumnya mengenai kandungan senyawa bioaktif pada *Sargassum christaefolium*, namun masih sedikit informasi mengenai pemanfaatan *Sargassum christaefolium* ini sebagai antioksidan terhadap minyak ikan lemuru. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum christaefolium* yang tepat untuk menghambat oksidasi minyak ikan lemuru.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini antara lain:

- Berapakah konsentrasi ekstrak rumput laut *Sargassum cristaeifolium* mampu menghambat kerusakan minyak ikan lemuru?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

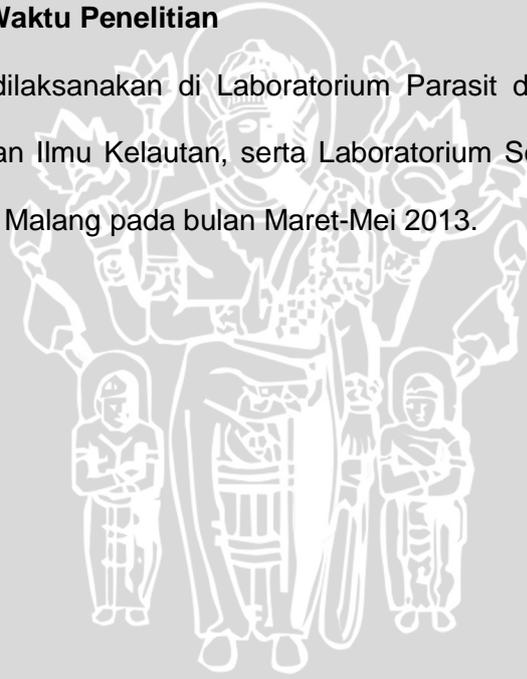
- Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak yang terbaik rumput laut *Sargassum cristaefolium* dalam menghambat kerusakan minyak ikan lemuru.

1.4 Kegunaan Penelitian

Memberikan informasi mengenai kemampuan ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium* dalam menghambat oksidasi minyak ikan lemuru *Sardinella cristaefolium* serta untuk meningkatkan manfaat alga coklat sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk mengembangkan obat baru dari bahan alam bahari.

1.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, serta Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Maret-Mei 2013.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Di Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis alga *Sargassum* dan yang telah dikenal mencapai 12 jenis. Sedangkan di perairan Indo-Pasifik tercatat 58 jenis. Alga *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun, alga ini setiap musim barat maupun timur dapat dijumpai di berbagai perairan (Bosse, 1998).

Alga coklat *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu marga *Sargassum* termasuk dalam kelas Phaeophyceae. Ada 150 jenis marga *Sargassum* yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim, dingin (Nizamudin, 1970). Habitat alga *Sargassum cristaefolium* tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5-10 m. Klasifikasi *Sargassum cristaefolium* menurut Algaebase (2013) antara lain sebagai berikut :

Kingdom	: Chromista
Filum	: Ochrophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Fucales
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum cristaefolium</i> .

Sargassum cristaefolium merupakan salah satu golongan alga coklat (Phaeophyceae). *Sargassum* merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya sebagai antioksidan (Fahri et al., 2010). *Gambar Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1.

Sargassum cristaefolium memiliki thalli agak gepeng, licin, tetapi batang utama bulat agak kasar, holdfast cakram menggaruk. Cabang pertama timbul pada bagian pangkal sekitar 1 cm dari holdfast. Percabangan berselang-seling teratur. Daun oval atau memanjang, 40 x 10 mm. Alga ini hidup di zona pasang surut bagian tengah hingga subtidal. Menempel pada batu karang atau substrat keras lainnya. Sering membentuk koloni dan berasosiasi dengan kelompok *Sargassum* dan *Turbinaria*. Sebaran. Kosmopolitan di perairan tropis (Ahmad, 2011)



Gambar 1. *Sargassum cristaefolium* (google image, 2013)

2.1.1. Manfaat Alga Coklat

Hasil penelitian beberapa tahun terakhir menunjukkan adanya kandungan antioksidan diberbagai jenis alga diluar negeri sehingga berpotensi sebagai produk pangan fungsional. Selama ini sumber antioksidan yang dikenal masyarakat adalah yang berasal dari tanaman darat dan masih sangat jarang yang mengetahui potensi alga sebagai antioksidan. Mengingat alga memiliki potensi yang besar di Indonesia dan selama ini digunakan sebagai penghasil

agar-agar, karaginan dan asam alginat yang difungsikan dalam bidang pangan, mikrobiologi, bioteknologi, tekstil dan farmasi, maka perlu adanya informasi mengenai potensi fungsional alga dalam bidang kesehatan sebagai antioksidan.

Rumput laut alga coklat merupakan salah satu sumber bahan alam hayati lautan yang sangat berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan dan banyak digunakan sebagai suplemen kesehatan. Rumput laut mengandung vitamin, mineral, asam amino, dan enzim, sehingga dipercaya dapat membersihkan tubuh dari ancaman radikal bebas (Putra, 2008).

2.1.2. Bioaktif Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi pemanfaatan alga dalam bentuk olahan semakin meluas. Kandungan metabolit sekunder dalam alga coklat juga sudah mulai diteliti antara lain kandungan steroid, alkohol, phenol, vitamin dan pigmen. Ternyata alga coklat sangat kaya akan kandungan steroid, alkaloid, phenol dan pigmen (Rachmat, 1999)

2.1.2.1 Fenol

Sargassum cristaefolium mengandung *fucoidan* dan komponen *fenolik*. Jenis komponen *fenolik* yang banyak dijumpai pada rumput laut adalah *phlorotannin* yang berkisar antara 0,74% sampai 5,06%. Penelitian dari Majiatun et al (2008) membuktikan bahwa rumput laut memiliki banyak kadar fenolik (total fenol) yang berbeda-beda tergantung jenis pelarutnya dan metode ekstraksi serta spesies rumput laut itu sendiri (Muawannah et al, 1997).

.Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang baik untuk makanan maupun untuk pengobatan seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas (Boer, 2000). Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan di

dalam tubuh (Trilaksani, 2003). Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralsasi radikal bebas (Rahayu,2012)

2.1.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun nonenzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dan dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Utama, 2002)

Flavonoid merupakan kelompok besar fitokimia yang bersifat melindungi dan banyak terdapat pada buah dan sayuran. Flavonoid sering dikenal sebagai bioflavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan atau menginaktifkan reaksi yang tidak stabil pada molekul yang disebut sebagai radikal bebas yang dapat menyerang sel tubuh. Flavonoid terdapat beberapa jenis dan masing-masing berperan dalam menjaga kesehatan (Winarsi,2007)

2.2 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi. Senyawa antioksidan memegang peran penting dalam pertahanan tubuh terhadap pengaruh buruk yang disebabkan radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya cuma-cuma kepada radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Runtuwene,2008). Sedangkan menurut Rusdiana (2007) antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat

memperlambat dan mencegah proses oksidasi. Senyawa ini dapat menstabilkan senyawa radikal bebas yaitu dengan cara bereaksi dengan elektron bebas pada kulit terluar dari radikal bebas sehingga terbentuk senyawa yang relatif stabil.

Menurut Hernani dan Raharjo (2005) dalam Kunchahyo (2007), fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori nutrisi. Lipid peroksida merupakan salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan.

2.2.1 Fungsi Antioksidan *Sargassum cristaefolium*

Prabowo (2012) mengatakan *Sargassum cristaefolium* adalah salah satu jenis rumput laut coklat yang belum dimanfaatkan secara optimal. Pengembangan aplikasi alga coklat *Sargassum cristaefolium* tidak hanya dapat dikembangkan pada bidang pangan seperti alginat, makanan ternak serta pupuk, akan tetapi antioksidan yang terdapat pada alga coklat *Sargassum cristaefolium* juga mampu menghambat kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas pada produk seperti minyak ikan (Patra, 2008; Winberget *al.*, 2009). Penelitian Koivikko (2008) menyebutkan bahwa pada alga coklat *Sargassum cristaefolium* ditemukan florotanin yaitu senyawa fenolik yang berperan sebagai sumber antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Hal tersebut dapat menghambat kerusakan sel. Berkaitan dengan

reaksinya di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara berlanjut dibentuk sendiri oleh tubuh. Jika jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut dengan *stress oksidatif* (Winarsi 2007).

Antioksidan mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan (Winarsi 2007). Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Berbagai kerusakan, yaitu ketengikan, perubahan gizi, perubahan warna dan aroma serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi. Proses oksidasi tersebut dapat dihambat oleh antioksidan (Hernani dan Raharjo 2005).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengurangi dampak terjadinya oksidasi. Pada umumnya minyak ikan komersial menggunakan antioksidan komersil seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) ataupun *butylated hydroxyanisole* (BHA). Belum ada antioksidan alami yang digunakan pada minyak ikan komersial. (Santoso *et al* ,2004).

2.3 Minyak Ikan Lemuru *Sardinella sp*

Di Indonesia ada beberapa spesies ikan yang mengandung asam lemak omega 3 dengan kadar yang tinggi seperti ikan lemuru, tetapi pemanfaatannya sebagai sumber asam lemak omega 3 masih terbatas. Penelitian sebelumnya

menunjukkan bahwa minyak hasil samping ikan lemuru dari daerah muncar Banyuwangi mengandung asam lemak omega 3 dalam kadar tinggi dan dapat digunakan sebagai sumber asam lemak omega 3. Jumlah minyak ikan hasil samping pengolahan (pengalengan dan penepungan) ini cukup tinggi, yaitu 4.300 pada tahun 1996 dan belum dimanfaatkan optimal sebagai sumber asam lemak omega 3 (Ahmadi,2010).

Minyak ikan lemuru merupakan minyak limbah pengolahan ikan lemuru yang diperoleh dari daerah Muncar (Jawa Timur) yang mempunyai kandungan minyak sebanyak 4,511,8%. Ikan lemuru sebanyak 100 kg akan diperoleh minyak ikan lemuru sebanyak 20 kg. Limbah dari minyak ikan lemuru masih mengandung asam lemak tidak jenuh ganda omega-3 yang sangat tinggi sehingga perlu terdapat penimbunan bahan-bahan mengandung kolesterol pada dinding pembuluh darah yang menyebabkan pembekuan sehingga menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah (Rusmana *et al*,2008).

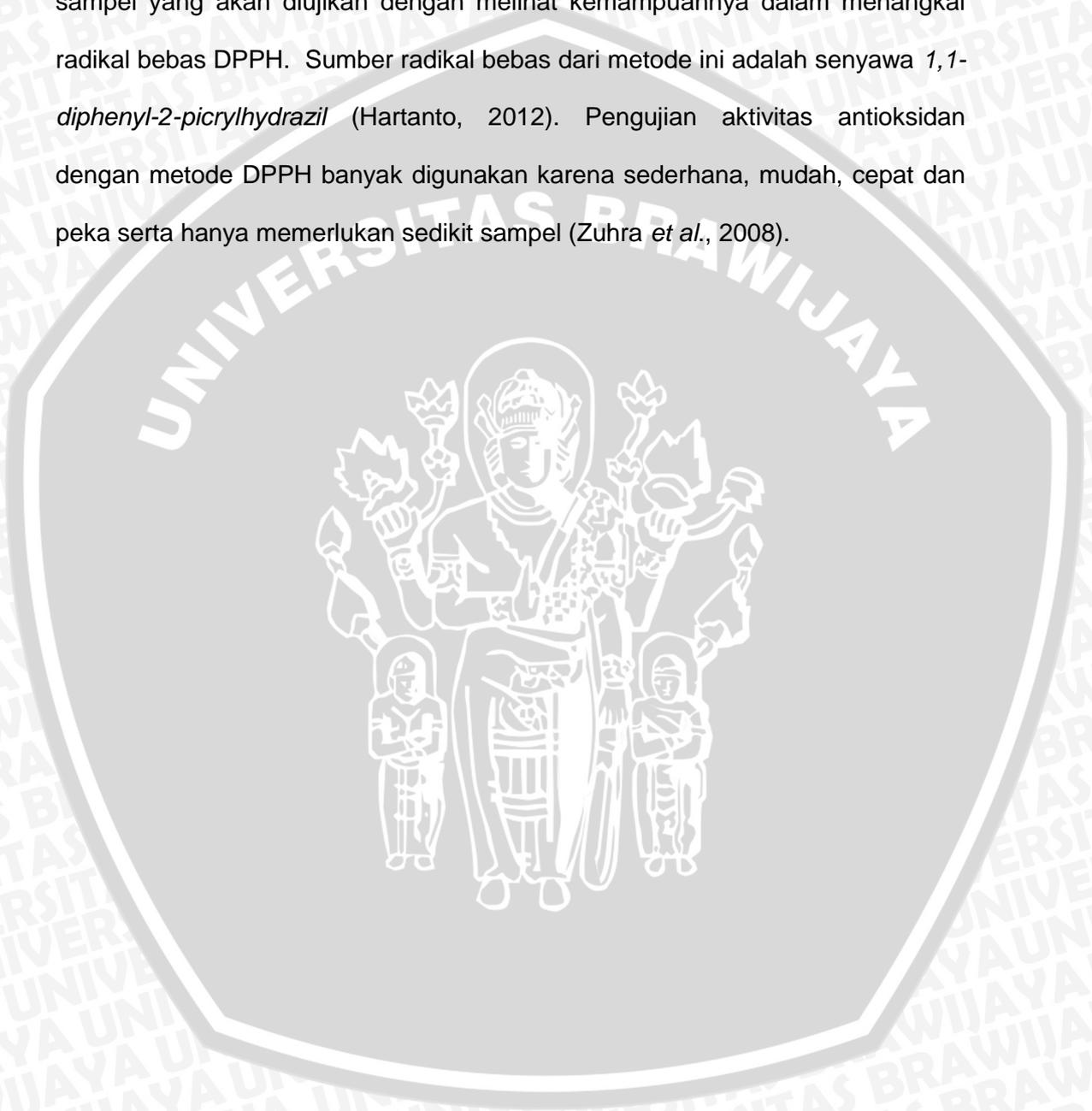
Total kandungan asam lemak n-3 terbanyak adalah pada spesies ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) ukuran besar (>20 cm panjang total) adalah sebesar 69,8 g/100 g minyak atau mendekati 70% dari kandungan minyaknya. Sedangkan individu asam lemak n-3 yang terdapat pada ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) adalah 18 : 3n-3, 18 : 4n-3, 20:3n-3, 20:3n-3 (EPA), 22 : 3n-3 dan 22 : 6n-3 (DHA), porsi paling banyak adalah DHA sebesar 26,2 g/100 g minyak atau sebesar 26 persen, diikuti oleh EPA sebesar 21,8 g/100 g minyak atau hampir 22 persen (Sumardi,1998).

2.4 Uji DPPH

Uji daya antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picril Hydrazil) dimaksudkan untuk menguatkan aktivitas suatu senyawa uji sebagai antioksidan.

DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol (Rohman dan Riyanto, 2005)

Uji DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang akan diujikan dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH. Sumber radikal bebas dari metode ini adalah senyawa *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (Hartanto, 2012). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH banyak digunakan karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Zuhra *et al.*, 2008).



3 METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

3.1.1. Sampel Penelitian

Sampel untuk penelitian ini berupa alga coklat *Sargassum christaeefolium*. segar yang diperoleh dari perairan Desa Talangu, Kabupaten Sumenep, Madura. Alga yang diperoleh menempel di karang dan dasar perairan berpasir dengan kedalaman ± 7 m dibawah permukaan air laut. Alga dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran dan pasir yang menempel kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik. Selanjutnya alga dicuci dengan air bersih kemudian dimasukkan *coolbox* berisi es balok dan ditutup rapat dengan disegel menggunakan *lackban* untuk mempertahankan suhu rendah selama proses transportasi. Selang waktu pengangkutan dari tempat penangkapan ke laboratorium ± 5 jam.

3.1.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam ekstraksi alga coklat antara lain adalah erlenmeyer 300 ml, gelas piala 300 ml, corong 100ml, gelas ukur 100 ml, baskom, pisau, telenan, blender, spatula, *rotary vacum evaporator*, neraca analitik dan botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji antioksidan antara lain tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, spektrofotometer multispec-1600 UV-Vis merk Shimadzu, Liquid Chromatography Mass Spektrocopy (LC-MS) waters tipe Hitachi L 6200. Sedangkan untuk identifikasi senyawa antioksidan dalam minyak ikan lemuru digunakan adalah tabung kolom diameter 50 mm dengan tinggi 1 m, statif, tabung reaksi, rak tabung reaksi.

3.1.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi rumput laut *Sargassum christaeefolium*. dan minyak ikan lemuru. Sedangkan pelarut yang digunakan yaitu

pelarut n heksan teknis dengan konsentrasi 96% sebagai pelarut non polar. Bahan lain yang digunakan adalah aquades yang diletakkan pada waterbath untuk proses pemekatan ekstrak kasar rumput laut melalui *rotary vacuum evaporator* dan larutan DPPH. Kapas, wol, kaca, pasir laut, *silica gel* F-254 sebagai uji kromatografi kolom. Minyak ikan lemuru sebagai bahan yang akan di uji.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

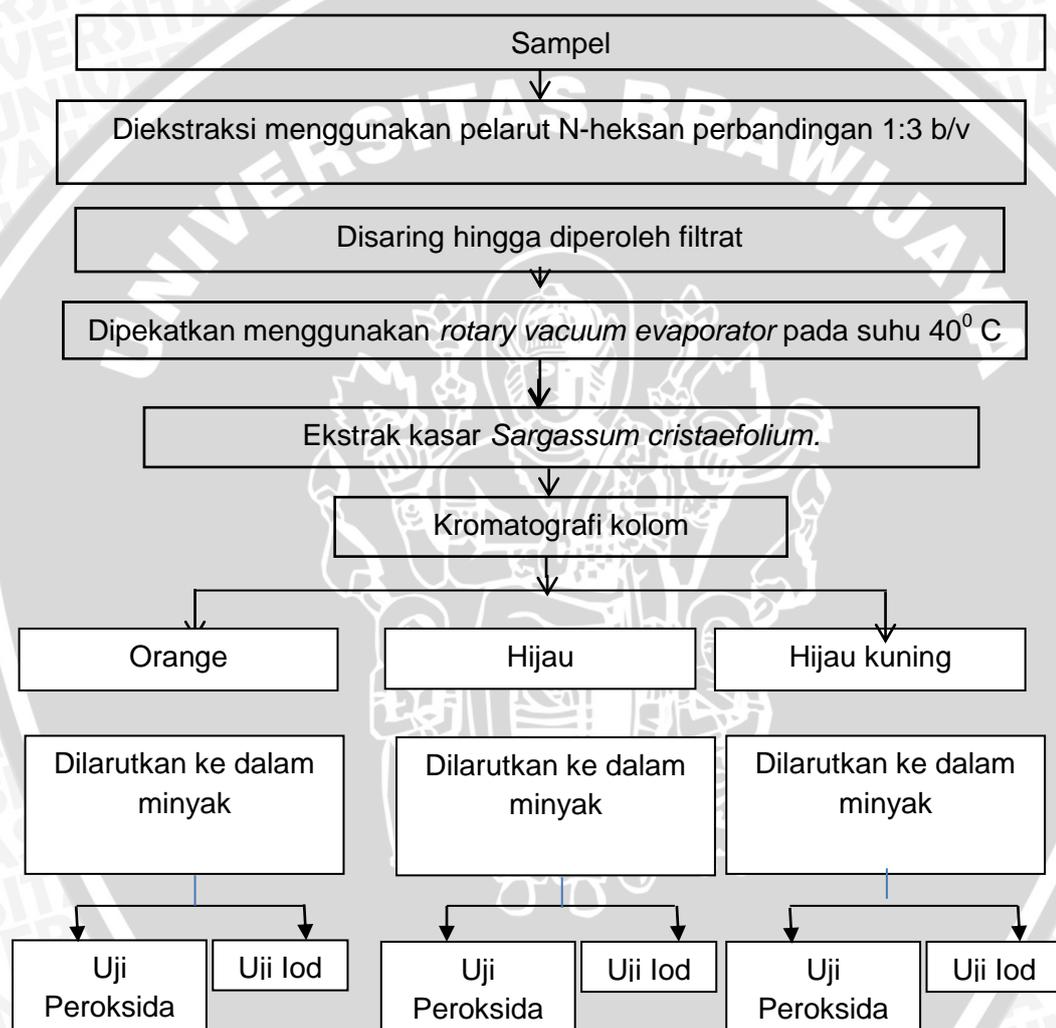
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah mengadakan kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil. Hasil itu yang akan menegaskan bagaimana kedudukan hubungan kausal antara variabel yang diselediki (Surakhmad, 1998). Sedangkan menurut Nazir (1989), tujuan penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada kelompok percobaan. Ditambahkan oleh Zulnaidi (2007), metode eksperimen adalah prosedur penelitian yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode ini dilaksanakn dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya didalam variabel terikat. Berikut tabel model rancangan penelitian.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penelitian 1.

Dalam penelitian ini, dilakukan terlebih dahulu penelitian ke-1. Penelitian ke-1 bertujuan untuk memperoleh warna ekstrak yang mempunyai nilai terbaik dalam uji minyak ikan lemuru yang akan digunakan sebagai penelitian ke-2. Setiap warna ekstrak yang diperoleh di uji dengan menambahkan minyak ikan

lemuru dengan perbandingan konsentrasi 3:5 m/v. Warna ekstrak terbaik berdasarkan uji iod dan peroksida digunakan sebagai penelitian ke-2. Setiap warna ekstrak yang diperoleh, di uji dengan mencampurkan minyak ikan lemuru . Warna ekstrak terbaik berdasarkan hasil uji bilangan iod dan peroksida digunakan sebagai penelitian ke-2.



Gambar 2. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan (Khotimah, 2012)

3.3.1.1 Persiapan Bahan

Sargassum cristaefolium, diambil secara acak dari dari perairan Desa Talangu, Kabupaten Sumenep, Kepulauan Madura. Sampel dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir kemudian dibilas dengan air bersih lagi. Setelah bersih, *sargassum cristaefolium* ditiriskan dan diangin-anginkan terlebih dulu sampai kering, kemudian dipotong kecil-kecil. Selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 200 gr kemudian dihaluskan dengan blender untuk memperluas permukaan. Menggunakan sampel kering dikarenakan meneruskan penelitian sebelumnya yang juga menggunakan sampel kering. Dan sampel kering kadar airnya sudah berkurang.

3.3.1.2 Ekstraksi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif akan terlarut. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan. Bejana ditutup rapat kemudian di kocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh simplisia. Rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau perubahan warna) (Indraswari, 2008).

Langkah awal dalam penelitian ini yaitu sampel yang telah didapatkan dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran maupun lendir yang menempel. Setelah itu sampel dikeringkan dan dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaan. Dilanjutkan dengan ditumbuk bersama CaCO_3 sebanyak 0,5 gram dengan berat sampel yang telah dipotong kecil-kecil sebanyak 100 gram tujuan menambahkan CaCO_3 fungsinya yaitu sebagai agen penetral. Kemudian sampel

dimasukkan ke dalam beaker glass 1000 ml dan diekstraksi dengan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:3 untuk sampel pelarut. Setiap 24 jam pelarut diganti dengan pelarut yang baru sampai warna dari pelarut sudah mulai pudar. Tujuan dari digunakannya pelarut n-heksan adalah untuk mengambil senyawa metabolit yang ada pada sampel. Penggunaan pelarut dengan menggunakan n-heksan dikarenakan sifat dari minyak adalah non polar, sehingga agar ekstrak bisa tercampur dengan minyak menggunakan pelarut non polar yaitu n heksan.

3.3.1.3 Evaporasi

Setelah sampel terekstrak semua langkah berikutnya dilakukan evaporasi. Nurmagfirah (2013) menambahkan evaporasi atau penguapan juga dapat didefinisikan sebagai perpindahan kalor ke dalam zat cair mendidih. Evaporasi dilaksanakan dengan cara menguapkan sebagian dari pelarut pada titik didihnya, sehingga diperoleh larutan zat cair pekat yang konsentrasinya lebih tinggi. Uap yang terbentuk pada evaporasi biasanya hanya terdiri dari satu komponen, dan jika uapnya berupa campuran umumnya tidak diadakan usaha untuk memisahkan komponen-komponennya.

Tiap 800 ml larutan ekstrak dievaporasi dengan alat rotary evaporator. Dengan lama proses kurang lebih 15 menit. Setelah proses evaporasi selesai dipindahkan ke dalam botol vial 20 ml. Kemudian ekstrak diuapkan dengan menggunakan nitrogen. Penguapan dengan nitrogen bertujuan agar ekstrak tidak mengalami kerusakan.

3.3.1.4 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom (*Diah et al., 2003*)

Partisi atau pemisahan kandungan senyawa bioaktif *Sargassum cristaefolium*. dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Kolom. Kromatografi kolom merupakan metode untuk pemisahan campuran.

Menurut Sastrohamidjojo (2007), prinsip kerja kromatografi kolom ialah kolom pemisah diisi dengan penyerap zat padat seperti alumina (fasa tetap) dan dialiri dengan pelarut seperti benzena (fasa bergerak).

Langkah pertama adalah melakukan preparasi fase diam (*silica gel*) untuk kromatografi kolom. Disiapkan *beaker glass* 500ml untuk melarutkan *silicagel*, dimana *Silica gel* sebanyak 30 gram dilarutkan dalam heksan : etil asetat (8 : 2 v/v) 200 mL dan distirer selama ± 1 jam dengan kecepatan 150 rpm. Tujuan dari stirer sendiri adalah untuk ekuilibrasasi antara fase gerak dan fase diam agar fase diam yang di *packing* dalam kolom tidak pecah atau retak.

Langkah selanjutnya dilakukan pengisian kolom. Bagian bawah kolom diisi dengan sedikit kapas dengan cara bantuan kawat atau lidi. Kemudian dimasukkan bubuk *silica gel* 70-230 mesh, sambil diaduk agar tidak terdapat rongga udara dalam kolom. Cara memasukkan bubuk *silica gel* adalah gelas corong di taruh di atas tabung kolom. Kemudian bubuk *silica gel* yang terdapat pada *beaker glass* dituangkan pelan-pelan ke dalam tabung kolom sambil diaduk dengan spatula agar *silica gel* bisa larut dalam pelarut. Panjang timbunan bubuk *silica gel* dalam kolom ± 15 cm. Setelah pengisian *silica gel* selesai, kemudian dibiarkan selama 12 jam dan ujung tabung kolom di tutup oleh plastik wrap agar pelarut tidak menguap dan *silica gel* tidak pecah. Setelah persiapan dengan pengisian kolom, dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom. Mula-mula kromatografi kolom dialirkan ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium*., kemudian kran kromatografi dibuka sedikit. Hasil ekstrak dari tabung kolom ditampung di tabung reaksi. Ekstrak akan meresap ke *silica gel*

dalam kolom sampai batas atas *silica gel*. Selanjutnya, dimasukkan pereaksi terus menerus sambil kran kolom dibuka. Pereaksi yang digunakan dalam pemisahan ini adalah eluen campuran pelarut semipolar berupa etil asetal teknis dan non polar berupa heksan teknis dengan perbandingan 5:5 v/v, 6:4 v/v, 7:3v/v, 8:2 v/v.

Untuk perbandingan pelarut 5:5 v/v tabung pertama sampai ke dua masih belum ada warna yang muncul. Kemudian pada tabung ketiga sudah ada sedikit warna bening kehijauan sampai tabung ke empat. Pada tabung ke enam sampai ke kedelapan tabung sudah mulai hijau. Pada tabung reaksi ke sembilan warna sudah mulai berubah menjadi hijau kekuningan. Pada tabung reaksi ke sepuluh sampai ke empat belas warna sudah berubah menjadi kuning dengan perbandingan volume pelarut 6:4 v/v. Untuk tabung reaksi ke lima belas warna berubah kuning oranye. Kemudian untuk tabung reaksi ke enam belas sampai delapan belas warna sudah berubah menjadi orange dengan perbandingan volume pelarut 7:3 v/v. Kemudian tiap isolat hijau, kuning dan orange dimasukkan ke dalam botol vial. Berikut tabel hasil uji kolom *Sargassum cristaefolium*

:

Tabel 1. Hasil Uji Kromatografi Kolom *Sargassum cristaefolium*

TABUNG	WARNA	WAKTU (PUKUL)
1	Bening	10.20
2	Bening	10.25
3	Bening kehijauan	10.29
4	Bening kehijauan	10.35
5	Bening kehijauan	10.41
6	Hijau	10.44
7	Hijau	10.48
8	Hijau	10.52
9	Hijau kekuningan	10.56
10	Kuning	11.01
11	Kuning	11.05
12	Kuning	11.10
13	Kuning	11.13
14	Kuning	11.17
15	Kuning keorange	11.22
16	Orange	11.26
17	Orange	11.31
18	Orange	11.34

3.3.2 Penelitian ke-1 Pengujian Minyak Ikan Lemuru

Pada hasil uji kromatografi kolom sebelumnya terdapat tiga ekstrak yaitu ekstrak hijau, kuning dan orange. Kemudian masing-masing ekstrak diujikan kedalam minyak untuk diketahui bilangan iod dan peroksida. Dalam pengujian mutu menggunakan bilangan iod dan peroksida, dikarenakan dalam kedua pengujian bilangan tersebut sudah dikatakan bisa untuk mengetahui kualitas minyak ikan lemuru. Uji iod digunakan sebagai parameter baik minyak ikan, sedangkan uji peroksida digunakan sebagai parameter kerusakan minyak ikan.

3.3.2.1 Uji kualitas Bilangan Iod pada Minyak Lemuru (Sudarmadji et al., 2007)

Bilangan iod merupakan jumlah (gram) iodin yang dapat diikat oleh 100 gram lemak. Ikatan rangkap yang terdapat pada asam lemak yang tidak jenuh akan bereaksi dengan iodin atau senyawa – senyawa iodin dalam jumlah yang

lebih besar. Bilangan iod dinyatakan sebagai jumlah gram iod yang diserap oleh 100 g minyak atau lemak pada kondisi yang digunakan (Siew,1995). Persamaan Bilangan Iod :

Bilangan Iod

$$= \frac{(v \text{ titran sampel} - v \text{ titran blanko}) \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \times 12.691}{v \text{ sampel}}$$

3.3.2.2 Uji kualitas Bilangan Peroksida pada Minyak Lemuru (AOAC, 1990)

Peroksida merupakan suatu tanda adanya pemecahan atau kerusakan pada minyak karena terjadi oksidasi (kontak dengan udara), yang menyebabkan bau/aroma tengik pada minyak. Pengukuran angka peroksida pada dasarnya adalah mengukur kadar peroksida dan hiperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Oksidasi lemak oleh oksigen terjadi secara spontan jika bahan dibiarkan kontak dengan udara, sedangkan kecepatan proses oksidasinya tergantung pada tipe lemak dan kondisi penyimpanannya. Metode uji bilangan peroksida pada minyak ikan menggunakan metode AOAC.:

Bilangan Peroksida

$$= \frac{(v \text{ titran sampel} - v \text{ titran blanko}) \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \times 1000}{v \text{ sampel}}$$

3.3.2.3 Bilangan Iod dan Peroksida Minyak Lemuru pada Penelitian 1

Dari hasil penelitian pendahuluan dapat diketahui bilangan iod dan peroksida pada minyak ikan lemuru pada Tabel 2 di bawah ini. Data selengkapnya bisa dilihat pada lampiran 1.

Tabel 2. Bilangan iod dan peroksida pada minyak lemuru

Isolat	Angka Iod (g/100g)	SNI bilangan Iod	Angka peroksida (mg/kg)	Standart Bil. Peroksida, Ahmadi (2009)
Minyak ikan lemuru	8,06 ± 0,36		9,29 ± 0,14	
Minyak ikan + ekstrak Hijau	10,39 ± 0,93	Mutu A (140-165%)	3,84 ± 0,07	
Minyak ikan + ekstrak Kuning	9,00 ± 0,08		8,29 ± 0,14	3-20 meq/kg
Minyak ikan + ekstrak Orange	9,76 ± 0,07	Mutu B (<140%)	6,44 ± 0,36	

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa ekstrak hijau berperan baik dalam hasil pengujian bilangan iod. Hal ini mengacu pada data BSN bahwa nilai mutu bilangan iod grade B adalah < 140%, sedangkan pada ekstrak hijau nilainya mendekati syarat BSN bermutu B. Berdasarkan data (BSN,2013) menyatakan bahwa kualitas bilangan iod minyak ikan lemuru berdasarkan kualitasnya dibagi dalam 2 mutu yaitu mutu A dan mutu B. Untuk mutu A sendiri nilainya berkisar 140-165 %, sedangkan unruk mutu B berkisar < 140 %. Menurut Hidayati (2002) menyatakan bahwa, iodium akan mengadisi ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh maupun dalam bentuk ester. Bilangan iodium tergantung pada jumlah asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Semakin banyak jumlah asam lemak tidak jenuh dalam minyak semakin tinggi pula bilangan iodium yang dikandung oleh minyak tersebut. Adanya ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh akan memudahkan terjadinya oksidasi di udara atau jika dipanaskan.

Pada hasil pengujian bilangan peroksida menunjukkan bahwa isolat warna hijau berperan sangat baik dalam pengujian bilangan peroksida. Hal ini dikarenakan pada isolat warna hijau memiliki bilangan peroksida yang terkecil dari semua isolat. Menurut Maulana *et al* (2014) Parameter mutu suatu minyak ikan juga ditunjukkan dari besaran angka peroksida. Angka peroksida memperlihatkan tingkat kerusakan dari suatu minyak ikan, dimana semakin besar angka peroksida maka kualitas minyak ikan semakin rendah. Ahmadi (2009) menambahkan standart mutu pada bilangan peroksida antar 3-20 meq/kg.

3.3.3 Penelitian ke-2

Penelitian ke-2 melanjutkan penelitian ke-1. Senyawa ekstrak hijau diidentifikasi oleh Spektrofotometri Uv-vis dengan panjang gelombang 300-800. Untuk menguji seberapa besar aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH dan untuk mengetahui struksur bahan aktifnya menggunakan alat LC-MS

3.3.3.1 Identifikasi isolat *Sargassum cristaefolium* dengan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode analisis kimia secara kualitatif dan secara kuantitatif. Analisis secara kualitatif berdasarkan pada panjang gelombang yang ditunjukkan oleh puncak spectrum sedangkan analisis secara kuantitatif berdasarkan pada penurunan intensitas cahaya yang diserap oleh suatu media. Intensitas ini tergantung pada tebal tipisnya media dan konsentrasi warna spesies yang ada pada media tersebut. Pembentukan warna dilakukan dengan cara

menambahkan bahan pengompleks yang selektif terhadap unsur yang ditentukan (Fatimah dan Yoskasih, 2006)

Spektrofotometer ini digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi ekstrak hijau pada *Sargassum cristaefolium*. Hasil ekstrak terbaik berdasarkan pengujian awal kualitas minyak ikan lemuru dikeringkan dengan gas nitrogen. ekstrak yang sudah dikeringkan kemudian ditambahkan n heksan 100% hingga pengenceran 10^3 dan larutan isolat yang dipilih dituang ke dalam kuvet ± 3 ml. Selanjutnya spektrofotometer dinyalakan dan panjang gelombang diatur pada kisaran 300 – 800 nm, lalu kuvet dimasukkan ke dalam instrumen spektrofotometer UV-Vis 1700 merk Shimadzu dan dilakukan pengujian. Hasil dari pengujian yang berupa serapan maksimum yang dibentuk oleh ekstrak yang dipilih kemudian dibandingkan dengan serapan maksimum spektra ekstrak.

3.3.3.2 Uji struktur kimia bioaktif *Sargassum cristaefolium* dengan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS)

LC-MS digunakan fasa gerak atau pelarut untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan di antara fasa gerak dan fasa diam tersebut, sehingga terjadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik menghasilkan spektra massa. Spektra massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Khopkar, 2008)

3.3.3.3 Uji aktifitas antioksidan dengan metode DPPH

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2005). Uji DPPH digunakan dikarenakan uji tersebut sudah umum digunakan oleh semua kalangan sehingga hasilnya bisa terpercaya. Dan pada penelitian sebelumnya juga menggunakan metode DPPH.

Uji DPPH mengacu pada metode yang dilakukan oleh Hanani *et al.* (2005) dengan beberapa modifikasi. Ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium* dilarutkan dalam pelarut n heksan lalu dibuat dalam berbagai konsentrasi antara lain 100, 200 dan 300 ppm. Masing-masing konsentrasi sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH 1mM dalam n heksan. Setelah itu, campuran diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit, selanjutnya serapannya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai aktivitas antioksidan diperoleh dari persamaan:

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

4. PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian 2

Hasil uji IC50, bilangan peroksida, bilangan iod, UV Vis, dan hasil LCMS senyawa hijau tua terlihat pada **Tabel 3**

Tabel 3. Hasil Uji Penelitian Utama

IC50 (ppm)	Perlakuan		Peroksida mg/kg *	Iod g/100g **	UV-Vis	LCMS
	Konsentrasi (ppm)	Masa simpan (hari)				
108,82 8 ± 21,11	0	H1	6,53±0,58	9,07±0,06	667 nm	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂
		H5	7,22±0,98	8,94±0,10		
		H10	8,42±2,18	8,48±0,05	610 nm	C ₂₁ H ₂₆ O ₅
	100	H1	4,54±0,45	10,13±0,01	533 nm	C ₂₃ H ₃₄ O ₅
		H5	6,59±0,51	10,02±0,06		
		H10	4,55±0,59	9,74±0,03	502 nm	C ₂₈ H ₃₇ ClO ₇
	200	H1	3,80±0,02	10,38±0,02	403 nm	C ₃₀ H ₄₂ O ₈
		H5	4,20±4,20	10,26±0,06		
		H10	3,67±0,57	9,90±0,12	268 nm	C ₁₅ H ₁₈ O ₃
	300	H1	2,76±0,28	10,82±0	210 nm	C ₂₁ H ₂₄ O ₉
		H5	3,20±0,36	10,39±0,06		
		H10	3,57±0,58	10,08±0,09		

Ket : * Standart mutu bilangan peroksida 3-20 mg/kg (Ahmadi, 2009)

**Standart mutu B bilangan iod <140 g/100g (SNI, 2013)

4.2 Hasil Uji Aktifitas Antioksidan Metode DPPH

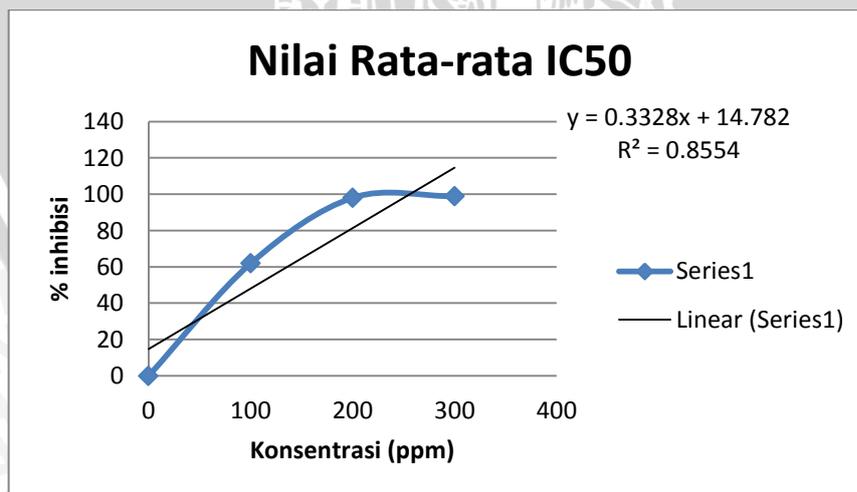
Dari **Tabel 3.** terlihat nilai rata-rata IC50 ekstrak hijau *Sargassum cristaefolium* sebesar 108,824 ppm. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pratama *et al*, (2015) pada sampel *Sargassum duplicatum* dengan pelarut etanol menunjukkan nilai IC50 sebesar 14,351 µg/mL. Hal ini menunjukkan nilai antioksidan pada *sargassum duplicatum* mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Berbeda dengan penelitian yang saya lakukan menggunakan sampel jenis *sargassum cristaefolium* dengan pelarut n heksan menunjukkan nilai IC50 sebesar 108,828ppm. Untuk nilai IC50 108,828 ppm tergolong sedang

aktivitas antioksidannya. Perbedaan nilai IC50 pada penelitian tersebut, diduga karna terjadi perbedaan pelarut antara etanol (polar) dan n heksan (non polar).

Tabel 4. Pengukuran nilai IC50 aktivitas antioksidan metode DPPH (Pratama et al, 2015)

Nomor	Nilai IC50	Keterangan
1	(IC50 < 50ppm)	Sangat kuat
2	(50ppm < IC50 < 100ppm)	Kuat
3	(100ppm < IC50 < 150ppm)	Sedang
4	(150ppm < IC50 < 200ppm)	Lemah
5	(IC50 > 200ppm)	Sangat lemah

Budhiyanti et al., (2012) menambahkan, suatu hal yang mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan suatu sampel antara lain metode ekstraksi, musim, lokasi dan spesies yang digunakan dalam penelitian. Berikut grafik rata-rata hasil IC50.



Gambar 3. Grafik Rata-rata Hasil IC50

4.3 Hasil Uji Bilangan Iod

Hasil uji statistik nilai bilangan iod ekstrak hijau *S. cristaefolium* bisa dilihat pada **Tabel 3**. Hal selengkapnya bisa dilihat pada **Lampiran 2**. Dari tabel interaksi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi 0 ppm atau kontrol memberikan pengaruh nyata pada masa simpan dengan ditunjukkan adanya perbedaan masing-masing notasi. Untuk perlakuan terbaik bilangan iod pada konsentrasi 300 ppm masa simpan hari 1 sebesar 10,82 g/100g. Pada konsentrasi 100 ppm antara H1 dan H5 memberikan pengaruh yang nyata. Sedangkan H5 dan H10 tidak memberikan pengaruh yang nyata. Pada konsentrasi 200 ppm antara H1 dan H5 tidak memberikan pengaruh yang nyata dikarenakan mempunyai notasi yang sama. Hal ini dikarenakan, ikatan rangkap yang terdapat pada asam lemak yang tidak jenuh akan bereaksi dengan senyawa-senyawa iod. Bilangan iod menunjukkan derajat ketidak jenuhan suatu minyak atau lemak. Minyak atau lemak yang memiliki bilangan iod tinggi, bisa dikatakan tingkat ketidaknya juga tinggi (Ningsih,2008)

Untuk tabel masa simpan, diketahui pada H1 nilai tertinggi bilangan iod terdapat pada konsentrasi 300ppm. Pada H5 nilai tertinggi bilangan iod tertinggi pada konsentrasi 300ppm. Sedangkan pada H10 nilai bilangan iod tertinggi pada konsentrasi 300ppm. Dalam hasil tersebut, untuk hasil bilangan iod pada H10 mengalami penurunan dibanding dengan H5. Di duga diakibatkan karna senyawa aktif yang terdapat pada *sargassum cristaefolium* mengalami penurunan sehingga lemah dalam mencegah terbentuknya radikal bebas. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, semakin tinggi pula nilai bilangan iod. Hal ini diduga ekstrak *sargassum cristaefolium* mengikat radikal bebas sehingga penurunan kualitas minyak ikan bisa dihambat. Bilangan iod merupakan parameter banyaknya ikatan rangkap pada minyak atau lemak. Semakin banyak ikatan rangkap, semakin mudah minyak teroksidasi karena

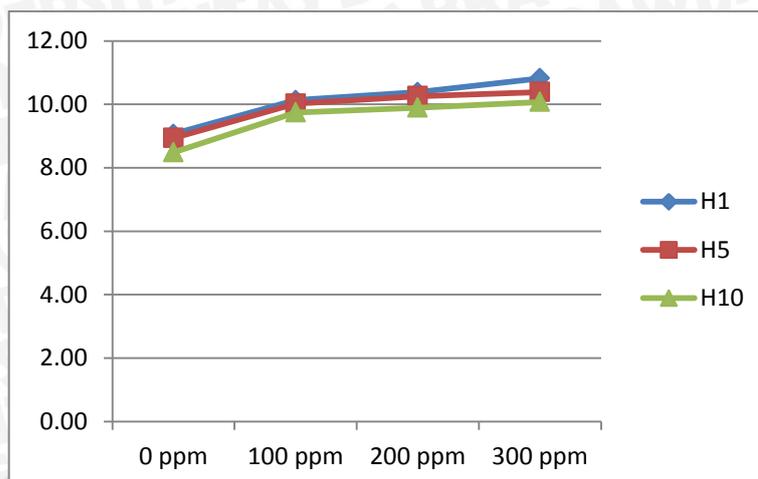
berikatan dengan oksigen membentuk radikal bebas. Adanya antioksidan mampu mencegah terbentuknya radikal bebas (Djarkasi *et al.*, 2011 ; Oktaviani, 2009)

Berikut **tabel 5**. uji bilangan iod terhadap interaksi lama masa simpan dengan konsentrasi.

Kosentrasi (ppm)	Masa simpan (Hari)		
	1	5	10
0	9,07 ± 0,06 ^c	8,94 ± 0,10 ^b	8,48 ± 0,05 ^a
100	10,13 ± 0,01 ^e	10,02 ± 0,06 ^d	9,74 ± 0,03 ^d
200	10,38 ± 0,02 ^f	10,26 ± 0,06 ^f	9,90 ± 0,12 ^e
300	10,82 ± 0,00 ^h	10,39 ± 0,06 ^g	10,08 ± 0,09 ^g

Ket : angka yang didampingi dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada $\alpha = 0,05$

. Menurut Hidayati (2002) menyatakan bahwa, iodium akan mengadisi ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh maupun dalam bentuk ester. Bilangan iodium tergantung pada jumlah asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Semakin banyak jumlah asam lemak tidak jenuh dalam minyak semakin tinggi pula bilangan iodium yang dikandung oleh minyak tersebut. Adanya ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh akan memudahkan terjadinya oksidasi di udara atau jika ada air dan dipanaskan. Dari grafik dibawah ini disimpulkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi pula bilangan iod.



Gambar 4. Grafik Bilangan iod

4.4 Hasil Uji Bilangan Peroksida

Peroksida merupakan suatu indikasi adanya pemecahan atau kerusakan pada minyak karena terjadi oksidasi (kontak dengan udara), yang menyebabkan bau/aroma tengik pada minyak. Ukuran dari ketengikan dapat diketahui dengan menentukan bilangan peroksida. Semakin tinggi bilangan peroksida maka semakin tinggi pula tingkat ketengikan dan kerusakan suatu minyak (Ahmadi,2010)

Pengukuran angka peroksida pada dasarnya adalah mengukur kadar peroksida dan hiperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Oksidasi lemak oleh oksigen terjadi secara spontan jika bahan dibiarkan kontak dengan udara, sedangkan kecepatan proses oksidasinya tergantung pada tipe lemak dan kondisi penyimpanannya (Aminah, 2010).

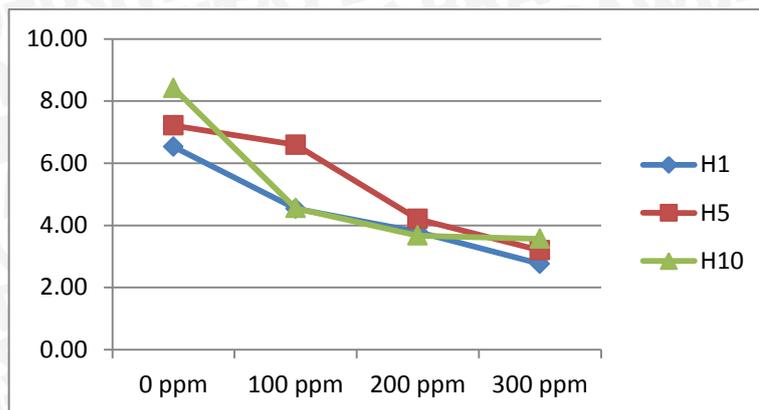
Hasil lengkap uji bilangan peroksida bisa langsung dilihat pada lampiran 2. Berikut **tabel 6** hasil Uji bilangan peroksida terhadap interaksi lama masa simpan dengan konsentrasi beserta notasi.

Kosentrasi (ppm)	Masa simpan (Hari)		
	1	5	10
0	6,53 ± 0,58 ^c	7,22 ± 0,98 ^c	8,42 ± 2,18 ^d
100	4,54 ± 0,02 ^b	6,59 ± 0,51 ^c	4,55 ± 0,59 ^b
200	3,80 ± 0,02 ^a	4,20 ± 0,55 ^b	3,67 ± 0,57 ^a
300	2,76 ± 0,28 ^b	3,20 ± 0,36 ^a	3,57 ± 0,59 ^a

Ket : angka yang didampingi dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada $\alpha = 0,05$

Untuk variable masa simpan, pada konsentrasi 0 ppm nilai tertinggi pada H10 dengan nilai 8,42 mg/Kg. Diduga dikarenakan semakin lama masa penyimpanan, semakin mudah laju oksidasi nya dan semakin kuat radikal bebasnya. Untuk konsentrasi 100 ppm nilai terkecil pada H1 dengan konsentrasi 4,54 mg/Kg hal ini diduga ekstrak senyawa aktif *sargassum cristaefolium* dapat mencegah atau menghambat laju oksidasi dan bertindak sebagai antioksidan. Pada konsentrasi 200 ppm nilai terkecil pada H10 dengan nilai 3,67 mg/Kg. Untuk konsentrasi 300 ppm nilai terkecil terdapat pada H1 yaitu sebesar 2,76 mg/kg. Isnaini, (2013) menambahkan uji bilangan peroksida digunakan untuk mengetahui tingkat kerusakan struktur suatu minyak (lemak). Asam lemak tak jenuh dalam minyak ikan dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya dan membentuk peroksida. Semakin kecil bilangan peroksida semakin baik kualitas minyak ikan.

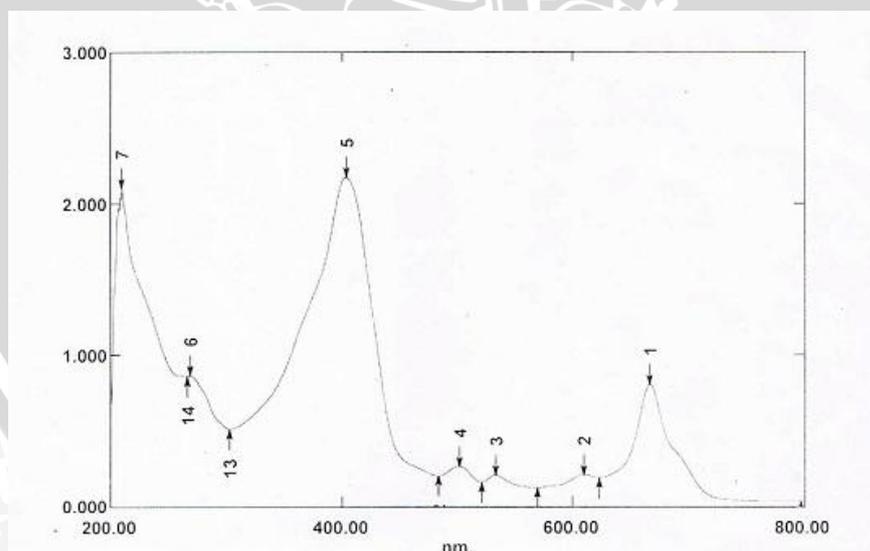
Tingginya rata-rata bilangan peroksida pada konsentrasi 0 ppm diduga pada sampel minyak ikan lemuru telah teroksidasi akibat paparan dengan oksigen dan suhu. Tanpa adanya senyawa aktif *Sargassum cristaefolium* menyebabkan minyak ikan lemuru mudah teroksidasi. Dari gambar di bawah ini terlihat semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin rendah bilangan peroksidanya.



Gambar 5. Grafik Bilangan Peroksida

4.5 Hasil Uji UV-Vis

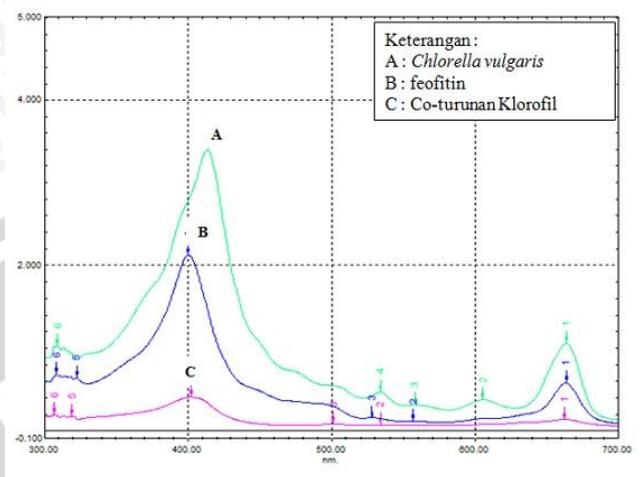
Hasil Spektrum UV Vis (**Gambar 6**) memperlihatkan ekstrak *S. cristaefolium* diketahui terdapat 7 puncak yang berada pada absis atau panjang gelombang 667nm, 610nm, 533nm, 502nm, 403.5nm, 268nm dan 210nm. Pada gambar 6 dan gambar 7 mempunyai kemiripan pola spectra. Sehingga diduga hasil uv vis ekstrak hijau *sargassum cristaefolium* teridentifikasi sebagai klorofil.



Gambar 6. Spectra UV-Vis isolat hijau

Abdilah (2014) menambahkan, berdasarkan spektrum UV/Vis ekstrak Co(II) turunan klorofil mengalami pergeseran dibandingkan serapan feotinin yaitu

dari 400nm menjadi 407nm dan puncak selanjutnya mengalami pergeseran dari 664nm menjadi 662 nm



Gambar 7. Spectra UV-Vis Co turunan klorofil (Abdillah,2014)

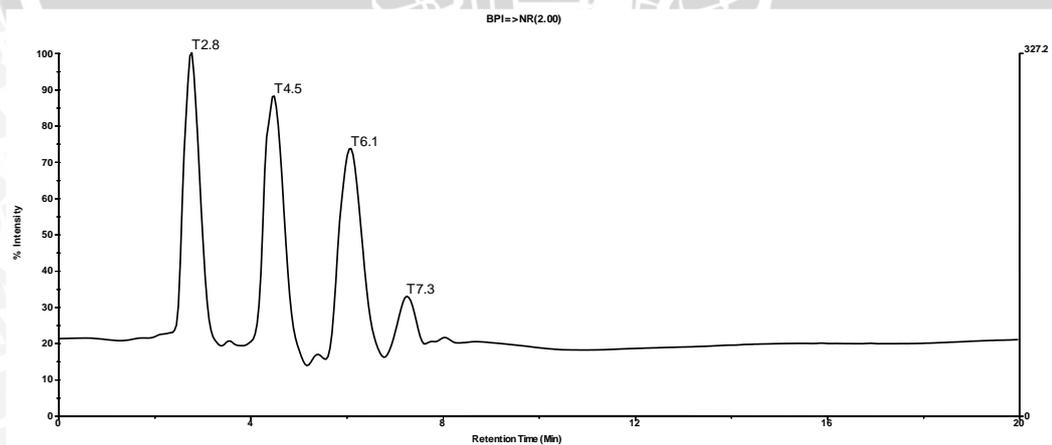
Pada gambar 8 memperlihatkan panjang gelombang dan absorbansi hasil UV-Vis ekstrak hijau *sargassum cristaefolium*. Menurut Reynold (1990) dalam Sunarto (2008) menyatakan bahwa absorpsi maksimal oleh klorofil a terjadi dalam dua berkas gelombang, yang puncaknya pada sekitar 430 dan 660 nm. Pada klorofil b mengalami puncak pada panjang gelombang 450-645nm.. Menurut Christina *et al*, (2008) dalam Khotimah (2013), panjang gelombang 450-500nm teridentifikasi sebagai serapan karotenoid. Sedangkan menurut reynold (1990) dalam Sunarto (2008) menyatakan bahwa pada panjang gelombang 610-630nm merupakan phycocyanins yang terdapat pada *Rhodophyta*, *Cryptomonads* dan pada *Cyanobacteria*. Karakteristik senyawa terpenoid adalah memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 206-242 nm dan panjang gelombang 282-320nm (Caunii *et al.*, 2012; Ismarti, 20011; Rita, 2010). Sementara senyawa flavonoid memiliki serapan pada panjang gelombang 230-290 nm dan panjang gelombang 330-550 nm (Saxena, 2012 ; Vicentini *et al.*, 2007)

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	↑	667.00	0.802	
2	↑	610.00	0.206	
3	↑	533.00	0.205	
4	↑	502.00	0.261	
5	↑	403.50	2.173	
6	↑	268.50	0.860	
7	↑	210.00	2.101	
8	⊙	797.00	0.030	
9	⊙	623.50	0.188	
10	⊙	569.50	0.121	
11	⊙	521.00	0.158	
12	⊙	483.50	0.198	
13	⊙	303.50	0.508	
14	⊙	266.50	0.858	

Gambar 8. nilai gelombang dan absorbansi UV-Vis ekstrak hijau *Sargassum cristaefolium*

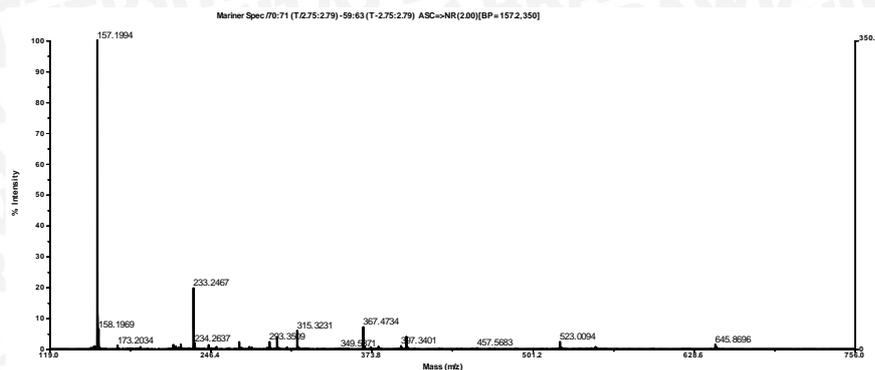
4.6 Hasil Uji LC-MS

Identifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum cristaefolium* dilakukan pada ekstrak warna hijau, hal ini dikarenakan warna hijau memberikan hasil yang terbaik dibanding warna kuning dan orange. Uji LC-MS dilakukan dengan dengan LC-MS dengan tipe Hitachi L6200. Berikut gambar di bawah ini memperlihatkan hasil kromatogram hasil dari ekstrak hijau *Sargassum cristaefolium*.



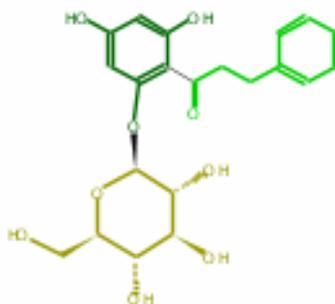
Gambar 9. Hasil uji LC MS Isolat Hijau *Sargassum cristaefolium*

Dari gambar di atas menunjukkan hasil LCMS isolat hijau didapatkan 4 puncak. Pada puncak pertama terdapat senyawa golongan alkaloid, steroid dan triterpen. Untuk senyawa golongan alkaloid adalah quinide dengan jumlah massa 324.41680 dan rumus molekul $C_{20}H_{24}N_2O_2$. Quinide merupakan Sebuah alkaloid kina terdiri dari sinkonin dengan hidrogen pada 6-posisi cincin quinoline diganti oleh metoksi. Sedangkan senyawa untuk golongan steroid adalah prednison dengan jumlah massa 358.17802 dan rumus molekul $C_{21}H_{26}O_5$. Prednison merupakan obat glukokortikoid sintetik yang sangat efektif sebagai immunosupresan, dan mempengaruhi hampir semua sistem kekebalan tubuh. Prednisone adalah sejenis obat yang dikonversi oleh hati menjadi prednisolon (kelompok β -hidroksi bukan kelompok okso pada posisi 11), yang merupakan obat aktif dan juga steroid. Digoxigenin dengan jumlah massa 390.51306 dan rumus molekul $C_{23}H_{34}O_5$, Digoxigenin merupakan sebuah steroid hidroksi yang terdiri dari 5β -cardanolide memiliki ikatan ganda pada 20 (22) -position serta gugus hidroksi pada 3β -, 12β - dan 14β -posisi. Digoxigin telah diisolasi dari spesies tanaman dari genus digitalis. Selanjutnya golongan senyawa steroid lainnya adalah Baclomethasone dipropionat dengan jumlah massa 520.22278 dan rumus molekul $C_{28}H_{37}ClO_7$. Baclomethasone dipropionat merupakan sebuah ester steroid yang terdiri dari beklometason memiliki kelompok propionil di 17- dan 21-posisi. Untuk kandungan senyawa triterpen antara lain adalah proscillaridin dengan jumlah massa 530.28797 dan rumus molekul $C_{30}H_{42}O_8$. Kemudian senyawa selanjutnya adalah α -santonin dengan jumlah massa 246.30162 dan rumus molekul $C_{15}H_{18}O_3$. Santonin adalah obat yang banyak digunakan di masa lalu sebagai anthelminthic, obat yang mengusir cacing parasit (cacing) dari tubuh, dengan membunuh atau mengeluarkannya. Pada gambar 10 merupakan puncak 1 hasil uji LCMS ekstrak hijau *Sargassum cristaefolium* dengan retensi waktu 2,79 menit.

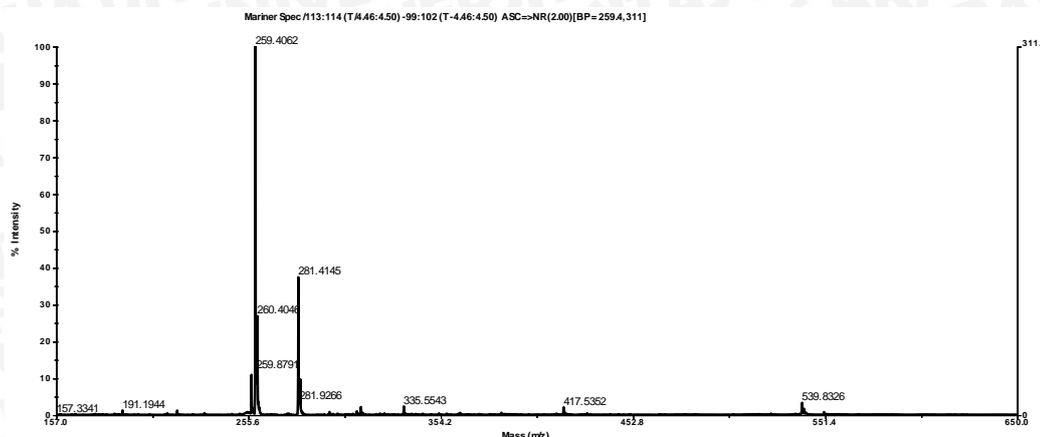


Gambar 10. puncak 1 isolat hijau uji LC-MS

Kemudian untuk puncak 2 ditemukan senyawa 4-Deoxyphloridzin yaitu senyawa golongan polifenol. 4-Deoxyphloridzin mempunyai jumlah massa 420.14230 dan rumus molekul $C_{21}H_{24}O_9$. Senyawa 4-Deoxyphloridzin termasuk dalam keluarga senyawa polifenol. Penelitian dari Majiatun *et al*, (2008) membuktikan bahwa rumput laut memiliki banyak kadar fenolik (total fenol) yang berbeda-beda tergantung jenis pelarutnya dan metode ekstraksi serta spesies rumput laut itu sendiri. *Sargassum cristaefolium* mengandung *fucoidan* dan komponen *fenolik*. Pada gambar 11 merupakan struktur kimia dari senyawa 4-Deoxyphloridzin yang dimana termasuk golongan polifenol. Dan untuk gambar 12 merupakan puncak 2 hasil uji LCMS pada ekstrak hijau *Sargassum cristaefolium* dengan retensi waktu 4,50 menit.



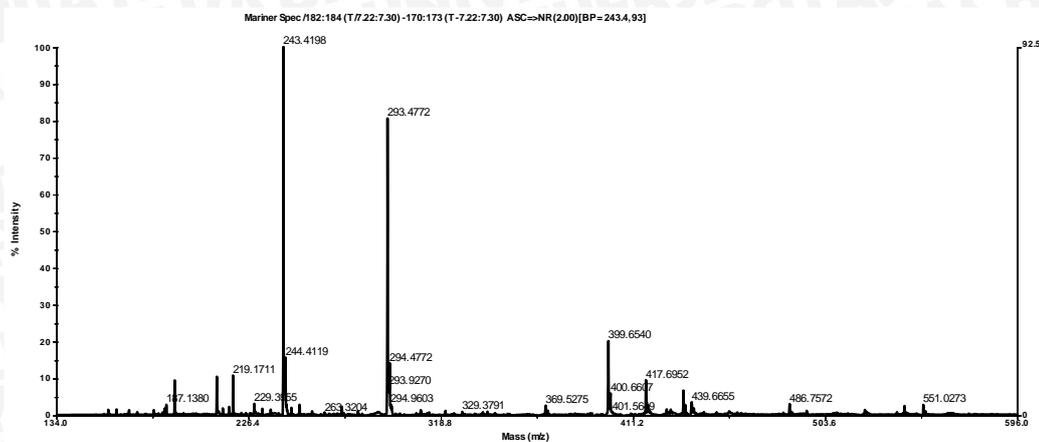
Gambar 11. Struktur senyawa 4-Deoxyphloridzin (polifenol)



Gambar 12. puncak 2 isolat hijau uji LC-MS

Kemudian untuk peak 4 ditemukan senyawa glycyrrhetic acid mempunyai jumlah massa dan neriifolin. Senyawa glycyrrhetic acid merupakan senyawa golongan dari triterpenoid pentasiklik yang-olean-12 ene digantikan oleh gugus hidroksi pada posisi 3, kelompok okso pada posisi 11 dan kelompok karboksi pada posisi 30. Asam glycyrrhetic atau asam glycyrrhetic adalah triterpenoid pentasiklik turunan dari jenis beta-Amirin diperoleh dari hidrolisis asam glycyrrhizic, yang diperoleh dari ramuan akar manis. Hal ini digunakan dalam bumbu, masker dan rasa pahit obat di lidah dan kina. Hal ini efektif dalam pengobatan ulkus peptikum dan juga memiliki ekspektoran (antitusif). Sedangkan sifatnya memiliki beberapa sifat farmakologi tambahan termasuk antivirus, antijamur, antiprotozoal, dan kegiatan antibakteri. Sedangkan senyawa neriifolin merupakan glikosida cardenolide yaitu digitoxigenin di mana group hidroksi pada posisi 3 telah dikonversi ke yang (6-deoksi-3-O-metil- α -L-glucopyranoside derivatif. Ditemukan dalam biji Cerbera odollamand di Thevetia ahouia dan Thevetia neriifolia. Senyawa ini dapat digunakan untuk pengobatan gangguan

neurodegeneratif.. Dan gambar 14 merupakan puncak ke 4 hasil LCMS ekstrak hijau *Sargassum cristaefolium* dengan retensi waktu 7,26 menit.



Gambar 13. puncak 4 isolat hijau



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai ekstrak senyawa aktif *Sargassum cristaefolium* sebagai antioksidan pada minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

- Ekstrak senyawa aktif *Sargassum cristaefolium* diperoleh aktivitas radikal bebas dengan nilai IC50 sebesar $108,828 \pm 21,11$ ppm. Penambahan senyawa aktif dari *Sargassum cristaefolium* dapat mencegah terjadinya kerusakan pada proses netralisasi minyak ikan lemuru dengan perlakuan terbaik atau konsentrasi optimum yaitu pada konsentrasi sebesar 300 ppm pada uji bilangan peroksida sebesar 3.57 mg/kg, sedangkan pada uji bilangan iod terbaik pada konsentrasi 300 ppm sebesar 10,82 g/100g.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung pada *Sargassum cristaefolium* dengan pengaplikasian yang berbeda namun isolasi dari *Sargassum cristaefolium* tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah. Fauzi, Indah Raya, Ahyar Ahmad. 2014. **Pengujian Daya Antioksidan dan Sifat Toksik Ekstrak Co(II) Turunan Klorofil**. Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Hasanudin. Makasar
- Ahmadi. 2010. **Pemurnian Minyak Ikan Hasil Samping Penepungan Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Menggunakan Zeolit Alam Teraktivasi**. Program Studi Teknologi Industri Pertanian. Universitas Tribhuwana Tunggaladewi. Malang.
- Aminah, S. 2010. **Bilangan Peroksida Minyak Goreng Curah dan Sifat Organoleptik Tempe Pada Pengulangan Penggorengan**. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 01 (01): 103-109.
- Boes, E., Styarini, D., Nuryatini dan Budiman, H. 2005. **Analisis Senjata Kimia Melalui Uji Profisiensi Organisation Prohibition Of Chemical Weapon (Opcw)**. Pusat Penelitian Kimia-LIPI. Serpong.
- Damongilala, L. J. 2008. **Kandungan Asam Lemak Tak Jenuh Minyak Hati Ikan Cucut Botol (*Centrophorus sp*) Yang Diekstraksi Dengan Cara Pemanasan**. *Jurnal Ilmiah Sains*, 8 (2): 80-87.
- Djarkasi, G. S. S., E. Nurali, M. Sumual. 2011. **Analysis Of Bioactive Compound in canarium Nut (*C. Anarium indicum L.*)** Universitas Sam ratulangi. Tropical Plant Curriculum Project
- Fateha, 2007. **Teknik Penanganan Pasca Panen Rumput Laut Coklat (*Sargassum filipendula*) sebagai bahan baku alginat**. Teknisi litkayasa Pada Balai besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. *Bul. Tek. Akuakultur* 6 (1): 96-112.
- Fatimah, S dan Yoskasih. 2006. **Analisis Kandungan Uranium dalam Limbah Cair dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis**. Bidang Pengembangan Radiometalurgi dan Bidang Operasi Sarana Penunjang, Pusat Teknologi
- Hernani, Raharjo M. 2005. **Tanaman Berkhasiat Antioksidan**. Penebar Swadya. Jakarta.
- Istini, S. A., Zalnika dan Suhaimi. 2009. **Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut**. Deputi Pengkajian Ilmu Dasar dan Terapan. BPP Teknologi. Jakarta.

- Irawan dan Agus, H. S. R. 1995. **Pengawetan Ikan dan Hasil Perikanan**. CV. Aneka. Solo.
- Irianto, H. E., Suparno., Murtini, J. T dan Sunarya. 1995. **Kandungan Asam Lemak Omega-3 Beberapa Jenis Ikan dan Produk Olahan Tradisional**. Prosiding Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional: 176-181.
- Indraswari, A. 2008. **Optimalisasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid**. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Kusumawati, Pipin. **Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan dari Makroalga dan Mikroalga**. Jurnal Oseana, 28 (3): 9-18.
- Khopkar, S. M. 2008. **Konsep Dasar Kimia Analitik**. Alih bahasa oleh **A.Saptorahardjo**. UI Press. Jakarta.
- Latipun. 2002. **Psikologi Eksperimen**. UMM Press. Malang.
- Indra T. Maulana, Sukraso, dan Sophi Damayanti. 2014. **Kandungan Asam Lemak dalam Minyak Ikan Indonesia**. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis, 6. (1): 121-130.
- Maulida, D dan Zulkarnaen, N. 2010. **Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Omat Dengan Menggunakan Solven Campuran N – Heksana, Aseton, Dan Etanol**. Universitas Diponegoro. Semarang
- Muawannah, Iriani Setyaningsih, Winarti Zahiruddin, dan Jana Anggadiredja. 1997. **Ekstraksi Antioksidan dari *Sargassum* sp. dan Efektifitasnya dalam Menghambat Kerusakan Awal Emulsi Minyak Ikan**. Buletin Teknologi Hasil Perikanan, 3 (1): 77-85.
- Prabowo Adityo, Siti Ari Budhiyanti, dan Amir Husni. 2012. **Ekstrak *Sargassum* sp. Sebagai Antioksidan dalam Sistem Emulsi Minyak Ikan Selama Penyimpananpada Suhu Kamar**. Jurusan Perikanan. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Pratama, M. P, Kiki Mulkiya Yuliawati, dan Reza Abdul Kodir. 2015. **Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J.G Agardh dari pantai Ujung Genteng**. Prodi Farmasi. Fakultas MIPA. Unisba. Bandung.

- Rachmat, R. 2009. **Kandungan Dan Karakteristik Fisiko Kimia Alginat dari *Sargassum* sp. Yang Dikumpulkan Dari Perairan Indonesia.** Laboratorium Produk Alam Laut. Puslitbang Oseanologi LIPI
- Rachmat, Rachmaniar dan Abdullah, R. 1991. **Aktivitas Anti Hiperkolesterolemia Alginat yang Diisolasi dari *Sargassum christaefolium*.** Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Serpong: 111 – 118.
- Rahayu, D. S., Dewi, K., Enny, F. 2012. **Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH).** Labortorium Kimia Organik, Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rasyid, A. 2009. **Isolasi Asam Lemak Tak Jenuh Majemuk Omega-3 dari Ikan Lemuru (*Sardinella* sp).** Pusat Penelitian Oseanografi LIPI-Jakarta.
- Rohman Abdul, A. N. I., Hertiani T.2008. **Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Bosenbargia pandurata* (Rroxb) Schlecth Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.**
- Rusmana., Dandy., Dulatif, N dan Hapali. 2008. **Pengaruh Pemberian Ransum Mengandung Minyak Ikan Lemuru dan Vitamin E terhadap Kadar Lemak dan Kolesterol Daging Ayam Broiler.** Jurnal Ilmu Ternak, JUNI 2008, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. 8, (1): 19 – 24.
- Satria, Muhammad Deky. 2015. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).** Progam Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Siew ,W. L, Tang T. S., 1995. **Methods of Test For palm Oil and Palm Oil Product, Volume 1 (2): 120-126.**
- Sulistyaningsih, D. R. 2010. **Analisis Varian Rancangan Faktorial Dua Faktoral Dengan Metode Ammi.** Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sumandiarsa, I Ketut. 2011. **Potensi dan Distribusi Ikan lemuru (*Sardinella lemuru*).** Kepala Pusat Penyuluhan Perikanan dan Kelautan. Jakarta.
- Sumardi, JA. 1998. **Kandungan Asam Lemak Omega-3 Beberapa Jenis Ikan Laut dan Ikan Air Tawar.** Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya : Malang.

Sunarni,T., (2005). **Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae**, *Jurnal Farmasi Indonesia* 2. 1 (2): 53-61.

Winarsi H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Yogyakarta: Kanisius..

Zuhra, C. F., J. Br. Tarigan, dan H. Sihotang. 2008. **Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.)** *Jurnal Biologi Sumatera*. 3 (1): 7-10.



Lampiran 1. Diagram alir tahapan penelitian
Ekstraksi sampel *Sargassum cristaefolium*

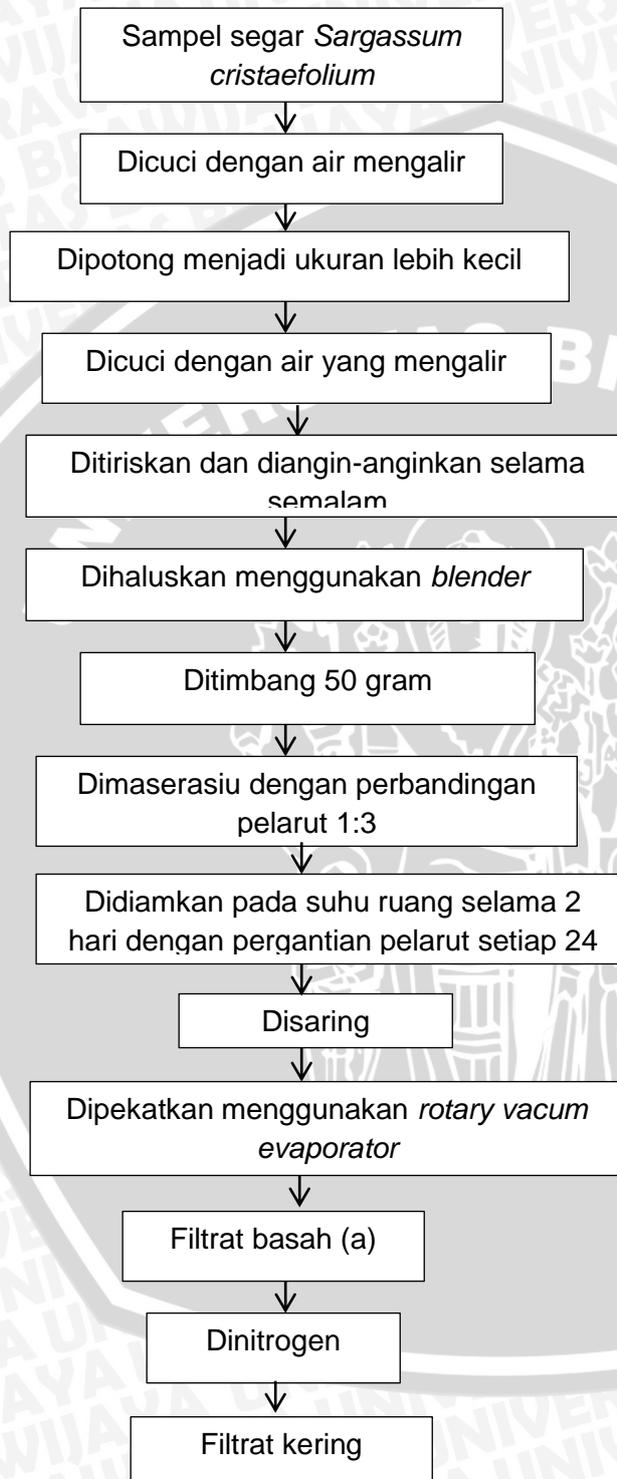
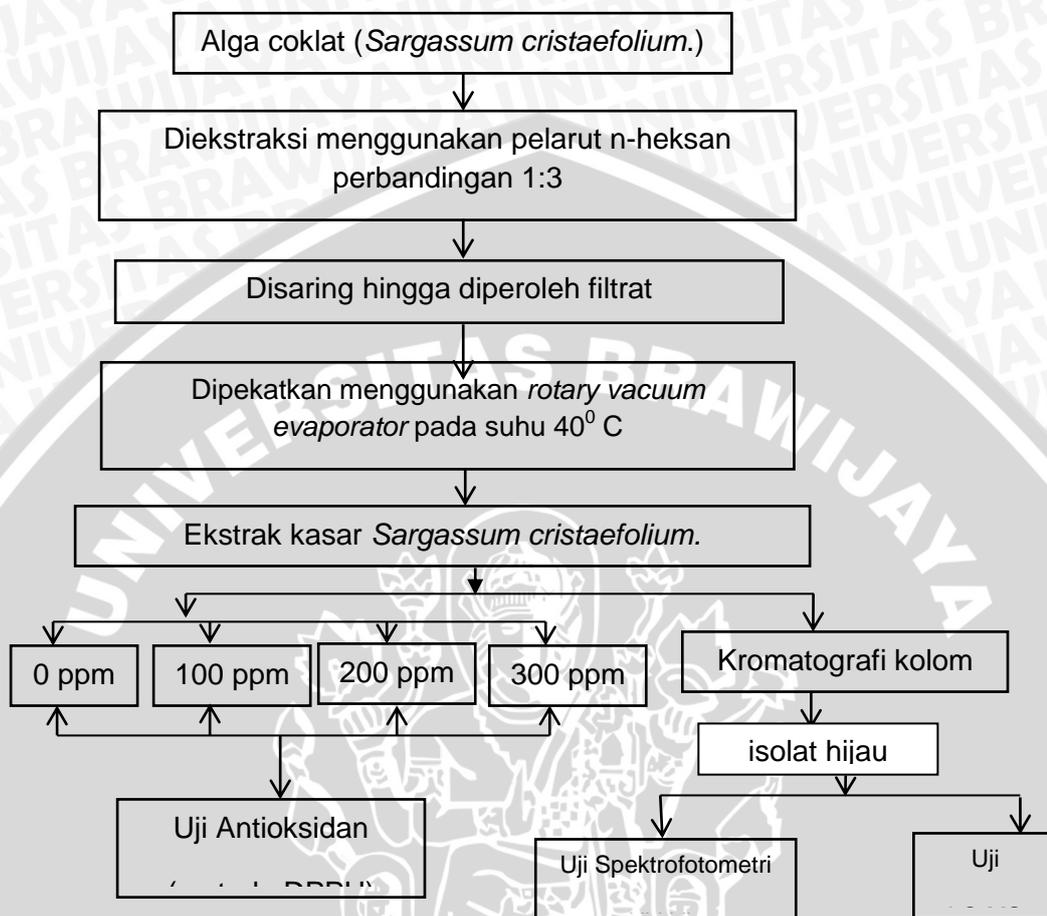


Diagram alir Uji DPPH, UV vis dan LC-MS *Sargassum cristaefolium*



Persiapan Uji bilangan peroksida minyak

1. Larutan KI jenuh

Melarutkan \pm 140g KI ke dalam 100mL

2. Membuat larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N

Melarutkan 24,82 gram $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dalam 300 ml aquades

Ditambah 0,1 g Na_2CO_3 atau 3 tetes kloroform

Dipindah kelabu ukur

Tambahkan aquades hingga 1000 ml

3 Membuat larutan pati 1%

Melarutkan 1 g amilum ke dalam ke dalam 100 mL aquades

Didihkan sampai bening

Dinginkan

Disaring dan langsung digunakan

Langkah – langkah penentuan bilangan peroksida adalah sebagai berikut :

- Sampel sebanyak 5 gr dimasukkan dalam erlenmeyer tertutup
- Ditambahkan 30 ml larutan asam asetat kloroform (3:2) dan segera ditutup
- Digoyang – goyangkan sampai bahan larut
- Ditambahkan 0,5 ml larutan KI jenuh didiamkan selama 1 menit sambil digoyang-goyangkan
- Ditambahkan dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N (sampai warna kuning hampir hilang)
- Ditambahkan 0,5 ml larutan pati 1 %
- Dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N (sampai warna biru hilang)
- Dihitung angka peroksida

$$\text{Angka peroksida} = \frac{v \text{ titrasi} \times \text{ml } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat sampel (gr)}}$$

Persiapan uji bilangan iod

1. Larutan Yodium-Bromida

- Yodium kristal sebanyak 13,2g ditambahkan 1000 ml asam asetat glacial, kemudian dipanaskan dan diaduk. Setelah didinginkan maka dipipet 25 ml larutan ini dan diencerkan sampai 200ml. Selanjutnya dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N.
- Bromin sebanyak 3 ml dipipet dan dimasukkan ke dalam 200 ml asam asetat glacial, dicampur dengan baik. Dipipet 5 ml kemudian diencerkan sampai 150 ml dengan air dan ditambah 10 ml KI 15% dan dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

2. Membuat larutan KI 15%

- 15 gram KI dilarutkan ke dalam 100 ml aquades.

3. Membuat larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N

- Melarutkan 24,82 gram $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dalam 300 ml aquades
- Ditambah 0,1 g Na_2CO_3 atau 3 tetes kloroform
- Dipindah kelabu ukur
- Tambahkan aquades hingga 1000 ml

Langkah – langkah penentuan bilangan iod adalah sebagai berikut :

- Dilarutkan minyak 0,5 gram dalam 10 ml kloroform atau karbon tetra klorida
- Ditambahkan 25 ml larutan iodine bromide dalam asetat glacial
- Dibiarkan selama 1 jam maka akan terjadi pengikatan iodine oleh minyak pada ikatan rangkapnya (dibiarkan ditempat gelap) dan kadang-kadang dkocok.
- Ditambah 15% KI 10 ml kemudian ditambah aquades 10-50 ml yang telah dididihkan.
- Dititrasi dengan natrium thiosulfat 0,1 N (warna kuning pucat) kemudian dilanjutkan menggunakan indikator amilum (hilangnya warna biru)
- Dibuat blanko dengan prosedur yang sama
- Di hitung angka iod

$$\text{Angka iod} = \frac{(\text{v titrasi blanko} - \text{titrasi sampel}) \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 12,691}{\text{Berat sampel (gr)}}$$

Berat sampel (gr)

Lampiran 2. Tabel hasil uji DPPH dan perhitungan IC50

Kosentrasi	Absorbansi			Ekstrak <i>sargassum</i> % inhibisi			Rata-rata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0 ppm	6,88	6,88	6,88	0	0	0		
100 ppm	2,623	2,628	2,615	61,875	61,802	61,991	61,890	0,10
200 ppm	0,189	0,117	0,103	97,253	98,299	98,503	98,018	0,67
300 ppm	0,095	0,073	0,064	98,619	98,939	99,070	98,876	0,23

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

Absorbansi blanko

$$\text{Persamaan regresi linier } y = 0,3328x + 14,782$$

$$50 = 0,3328x + 13,782$$

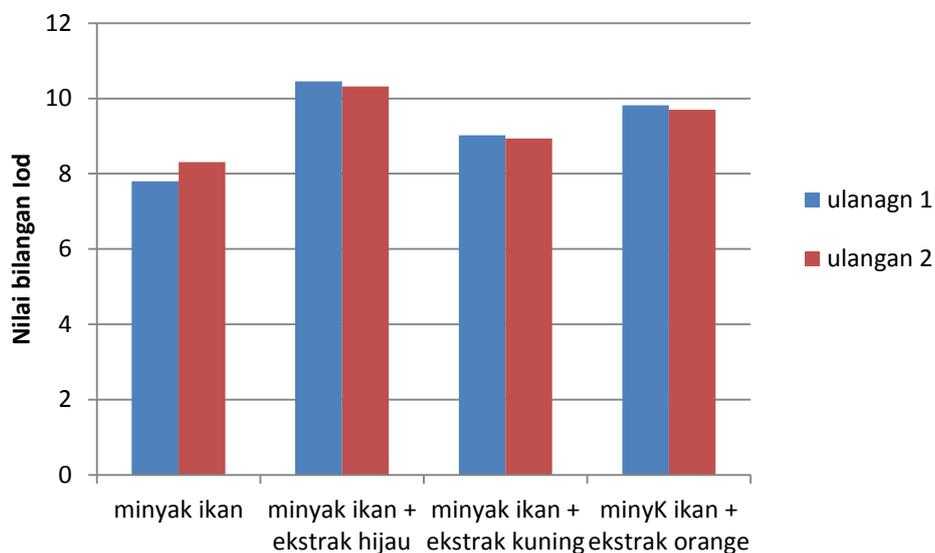
$$X = 108,828$$

Lampiran 3. Data analisa bilangan iod dan peroksida minyak ikan lemuru pada penelitian 1.

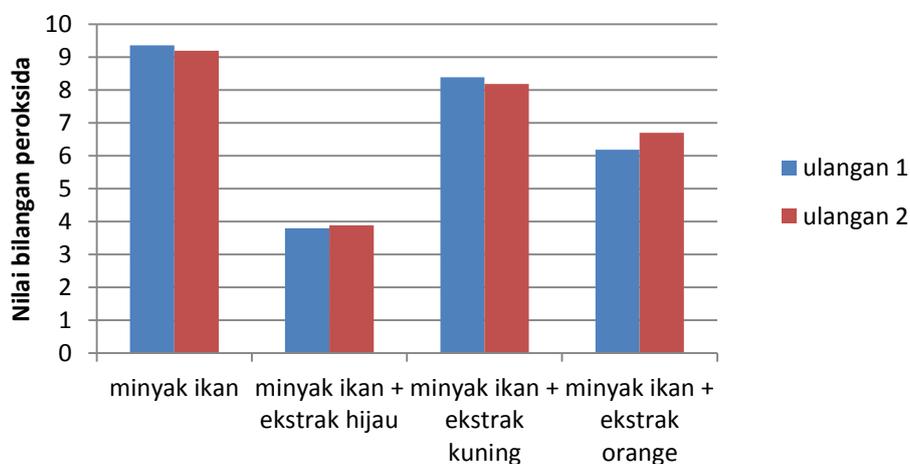
Isolat	Angka Iod (g/100g)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata – rata
Minyak ikan	7,80	8,31	8,06 ± 0,36
Minyak ikan + ekstrak Hijau	10,45	10,32	10,39 ± 0,09
Minyak ikan + ekstrak Kuning	9,02	8,94	8,98 ± 0,08
Minyak ikan + ekstrak Orange	9,82	9,70	9,76 ± 0,09

Isolat	Angka Peroksida (mg/kg)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata – rata
Minyak ikan	9,36	9,20	9,29 ± 0,14
Minyak ikan + ekstrak Hijau	3,80	3,89	3,84 ± 0,07
Minyak ikan + ekstrak Kuning	8,39	8,19	6,70 ± 0,14
Minyak ikan + ekstrak Orange	6,19	6,70	6,44 ± 0,36

Hasil Penelitian 1 Bil. Iod



Hasil Penelitian 1 Bil. Peroksida



Lampiran 4. Data analisa bilangan peroksida minyak ikan penelitian 2

Konsentrasi (ppm)	Masa Simpan (Hari)	Ulangan			Total	Rata – rata	STDEV
		1	2	3			
0	1	6,18	6,22	7,20	19,60	6,53	0,58
100		4,02	4,80	4,79	13,61	4,54	0,45
200		3,78	3,82	3,79	11,39	3,80	0,02
300		2,61	3,08	2,59	8,28	2,76	0,28
0	5	7,29	6,20	8,16	21,65	7,22	0,98
100		6,02	7,01	6,75	19,78	6,59	0,51
200		4,83	3,80	3,98	12,61	4,20	0,55
300		3,61	3,01	2,97	9,59	3,20	0,36
0	10	6,65	7,75	10,86	25,26	8,42	2,18
100		4,20	4,22	5,24	13,66	4,55	0,59
200		3,02	3,98	4,02	11,02	3,67	0,57
300		2,90	3,98	3,82	10,70	3,57	0,58
Total		55,11	57,87	64,17	177,15	59,05	

TABEL ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hitung	F 5%
Perlakuan	11	108,02	9,82	18,84*	2,20
Masa Simpan	2	5,13	2,57	4,92*	3,40
Konsentrasi Ekstrak	3	92,71	30,90	59,29*	3,01
Masa Simpan*Konsentrasi	6	10,17	1,70	3,25	2,51
Galat	24	12,51	0,521		
TOTAL	35	228,54			

Ket : * = berbeda signifikan pada tingkat kesalahan 5%

Analisis lanjut dengan Uji Benda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,005} &= T_{0,005} \times \frac{\sqrt{2KT \text{ Galat}}}{\text{Ulangan}} \\ &= 2,06 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,521}}{3} \\ &= 1,22 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata	KT Galat	BNT 5%
0 ppm (1 hari)	6,53±0,58 ^c	0,521	1,22
0 ppm (5 hari)	7,22± 0,98 ^c		
0 ppm (10 hari)	8,42± 2,18 ^d		
100 ppm (1 hari)	4,54± 0,02 ^b		
100 ppm (5 hari)	6,59± 0,51 ^c		
100 ppm (10 hari)	4,55± 0,59 ^b		
200 ppm (1 hari)	3,80±0,02 ^a		
200 ppm (5 hari)	4,20± 0,55 ^b		
200 ppm (10 hari)	3,67± 0,57 ^a		
300 ppm (1 hari)	2,76±0,28 ^b		
300 ppm (5 hari)	3,20±0,36 ^a		
300 ppm (10 hari)	3,57±0,58 ^a		

Kosentrasi (ppm)	Masa simpan (Hari)		
	1	5	10
0	6,53 ± 0,58 ^c	7,22 ± 0,98 ^c	8,42 ± 2,18 ^d
100	4,54 ± 0,02 ^b	6,59 ± 0,51 ^c	4,55 ± 0,59 ^b
200	3,80 ± 0,02 ^a	4,20 ± 0,55 ^b	3,67 ± 0,57 ^a
300	2,76 ± 0,28 ^b	3,20 ± 0,36 ^a	3,57 ± 0,59 ^a

Ket : angka yang didampingi dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada $\alpha = 0,05$

Lampiran 5. Data analisa bilangan iod minyak ikan lemuru penelitian 2.

Konsentrasi (ppm)	Masa Simpan (Hari)	Ulangan			Total	Rata – rata	STD EV
		1	2	3			
0	1	9,13	9,01	9,06	27,20	9,07	0,06
100		10,13	10,12	10,14	30,39	10,13	0,01
200		10,37	10,38	10,40	31,15	10,38	0,02
300		10,82	10,82	10,82	32,46	10,82	0,00
0	5	8,85	9,04	8,92	26,81	8,94	0,10
100		9,95	10,04	10,07	30,06	10,02	0,06
200		10,30	10,19	10,28	30,77	10,26	0,06
300		10,44	10,33	10,39	31,16	10,39	0,06
0	10	8,53	8,44	8,48	25,45	8,48	0,05
100		9,77	9,74	9,72	29,23	9,74	0,03
200		10,00	9,92	9,77	29,69	9,90	0,12
300		10,02	10,18	10,03	30,23	10,08	0,09
Total		118,31	118,21	118,08	354,60	118,200	

TABEL ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-Hitung	F 5%
Perlakuan	11	15,50	1,41	361,36*	2,20
Masa Simpan	2	1,86	0,93	238,50*	4,30
Konsentrasi Ekstrak	3	13,48	4,49	1152,33*	3,18
MS*Konsentrasi	6	0,16	0,03	6,83	2,45
Galat	24	0,09	0,004		
TOTAL	46	31,09			

Ket : angka yang didampingi dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada $\alpha = 0,05$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,005} &= T_{0,005} \times \frac{\sqrt{2KT \text{ Galat}}}{\text{Ulangan}} \\ &= 3,09 \times \frac{\sqrt{2 \times 0,004}}{3} \\ &= 0,16 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata	KT Galat	BNT 5%
0 ppm (1 hari)	9,07 ± 0,06 ^c	0,004	0,16
0 ppm (5 hari)	8,94 ± 0,10 ^b		
0 ppm (10 hari)	8,48 ± 0,05 ^a		
100 ppm (1 hari)	10,13 ± 0,01 ^e		
100 ppm (5 hari)	10,02 ± 0,06 ^d		
100 ppm (10 hari)	9,74 ± 0,03 ^d		
200 ppm (1 hari)	10,38 ± 0,02 ^f		
200 ppm (5 hari)	10,26 ± 0,06 ^f		
200 ppm (10 hari)	9,90 ± 0,12 ^e		
300 ppm (1 hari)	10,82 ± 0,00 ^h		
300 ppm (5 hari)	10,39 ± 0,06 ^g		
300 ppm (10 hari)	10,08 ± 0,09 ^g		

Kosentrasi (ppm)	Masa simpan (Hari)		
	1	5	10
0	9,07 ± 0,06 ^c	8,94 ± 0,10 ^b	8,48 ± 0,05 ^a
100	10,13 ± 0,01 ^e	10,02 ± 0,06 ^d	9,74 ± 0,03 ^d
200	10,38 ± 0,02 ^f	10,26 ± 0,06 ^f	9,90 ± 0,12 ^e
300	10,82 ± 0,00 ^h	10,39 ± 0,06 ^g	10,08 ± 0,09 ^g



Lampiran 6. Dokumentasi penelitian



1. Pencucian *Sargassum c.*



2. Penghalusan sampel



3. Proses maserasi



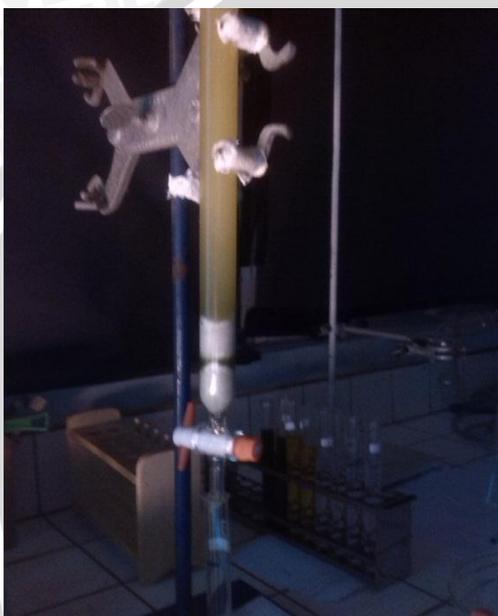
4. Proses penyaringan



5. Proses evaporasi



6. Proses pemekatan dengan nitrogen 7. pengujian DPPH



8. Pengujian kromatografi kolom

9. pengujian minyak lemuru



Sargassum Fonda

LC MS –ESI pos ion

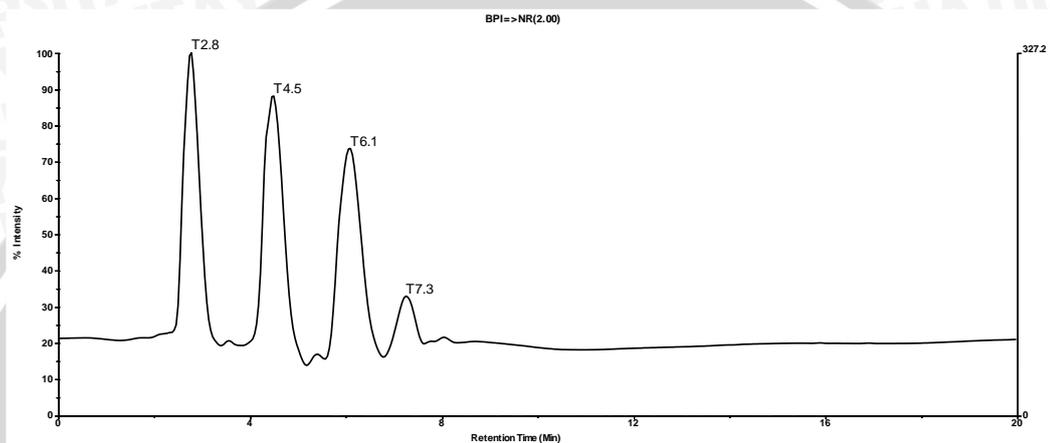
Vol injection 2 ul

Flow 0.05 ml/min

Column C-18 (15mm x 1 mm)

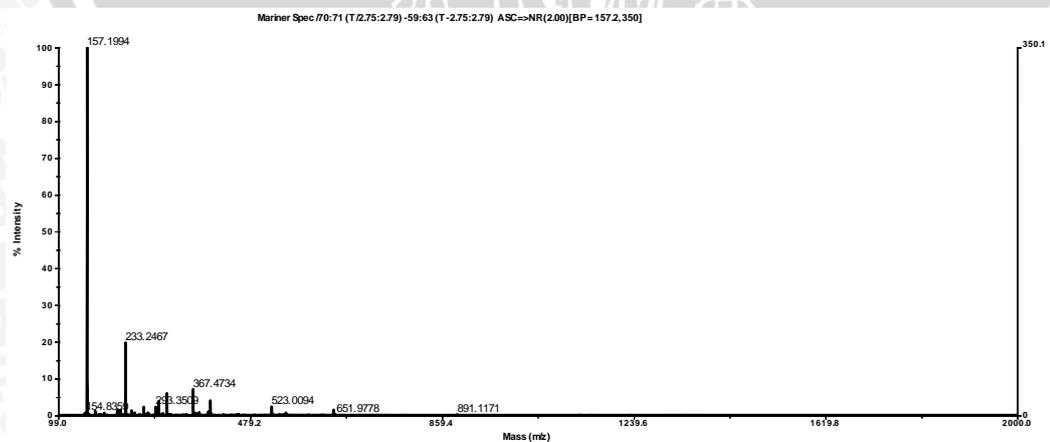
Eluent MeOH

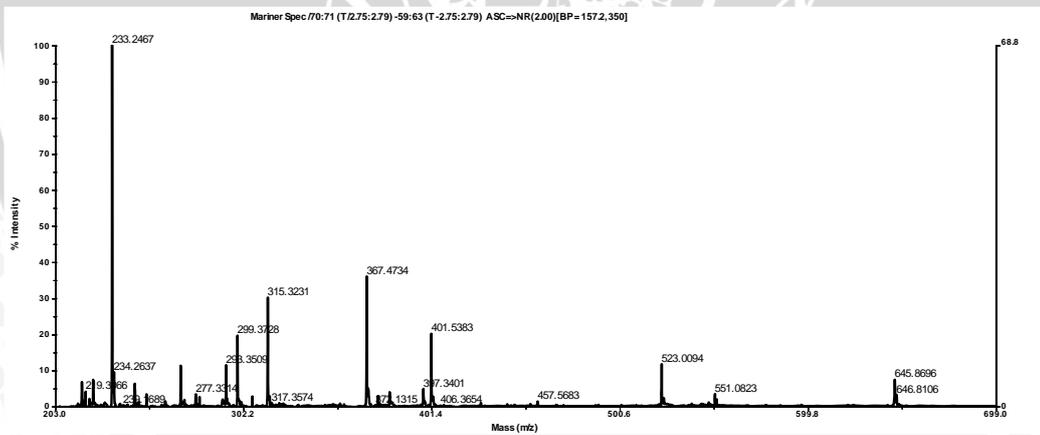
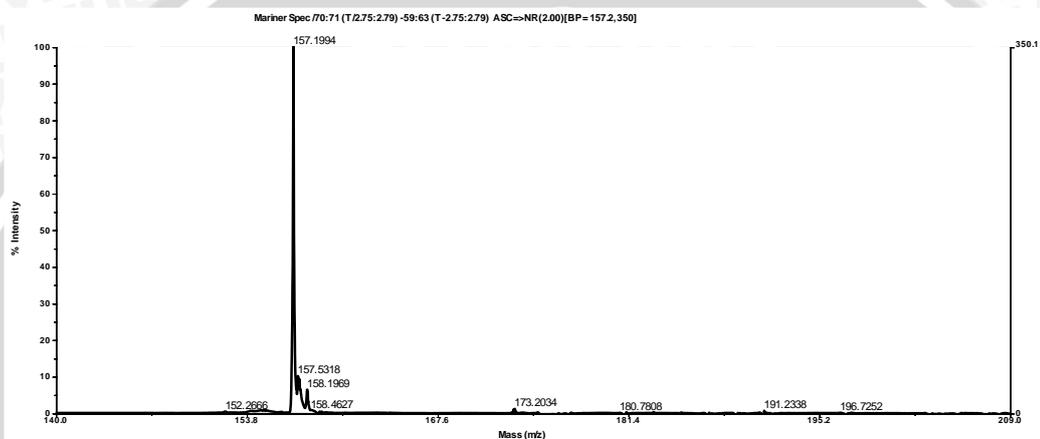
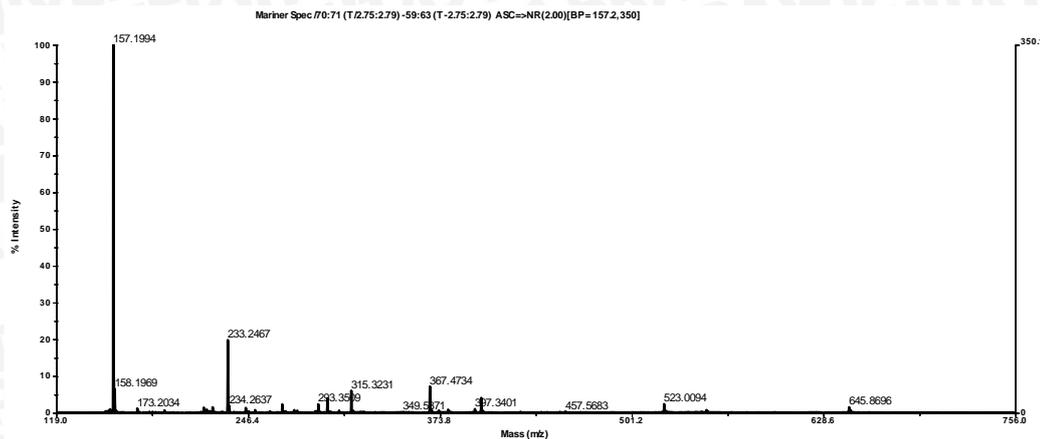
Operating by : Puspa D N Lotulung

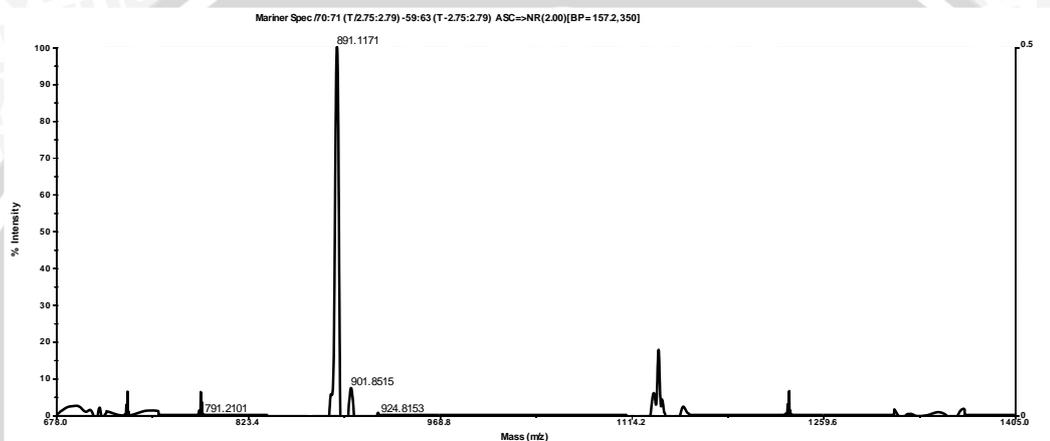
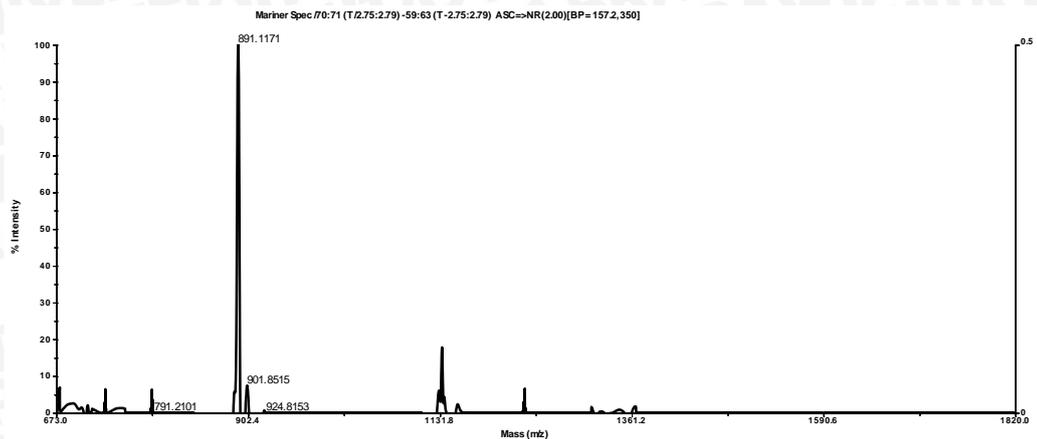


Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	2.788500	2.069800	3.347467	327	2659.57
2	4.504800	3.946333	5.144383	288	3062.22
3	6.103600	5.623917	6.742350	241	2525.15
4	7.261100	6.862033	7.581400	107	558.34

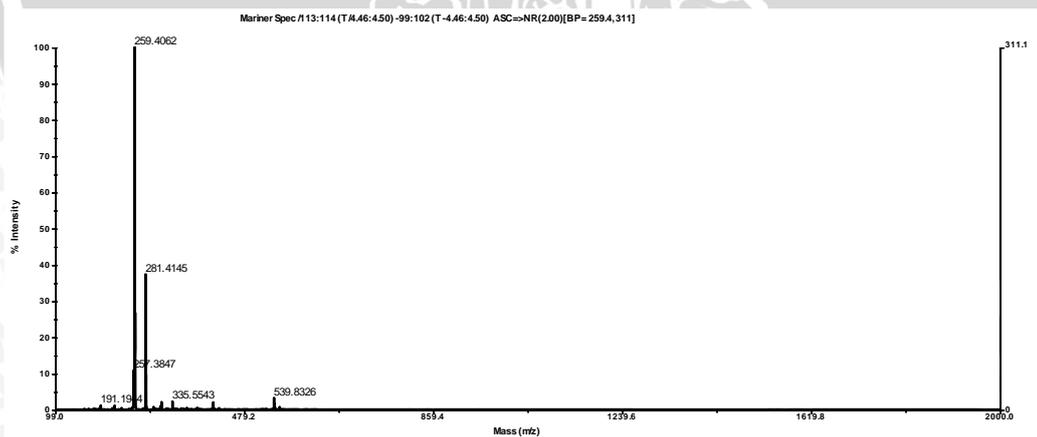
Rt 2.78

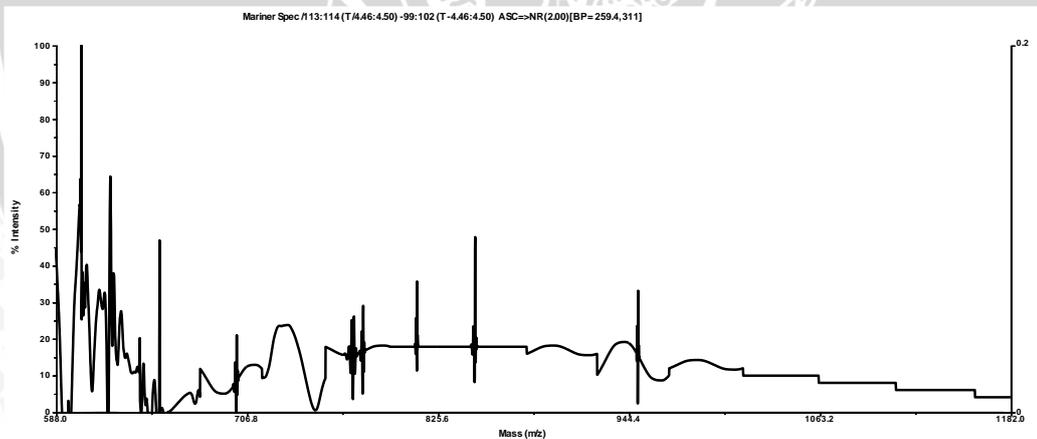
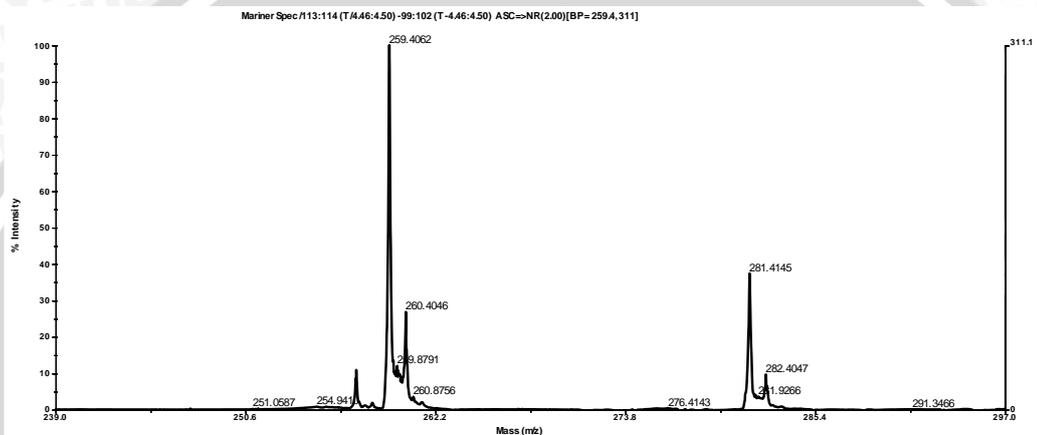
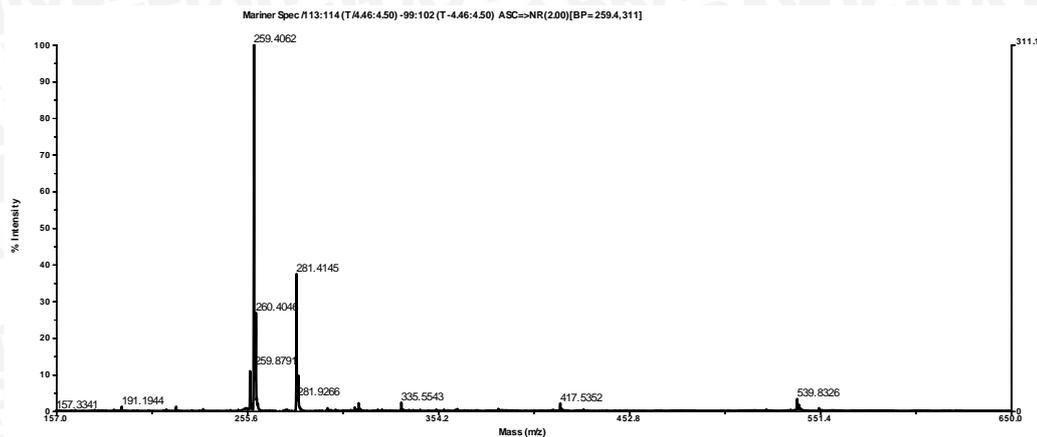




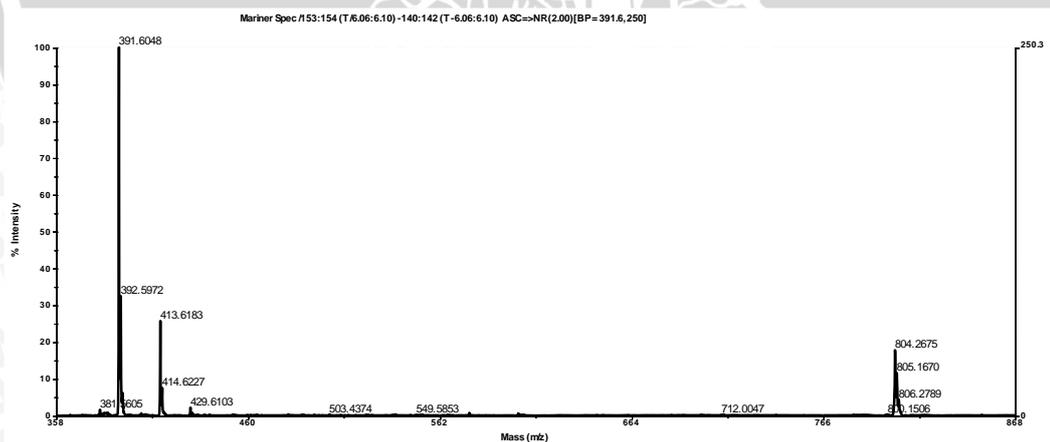
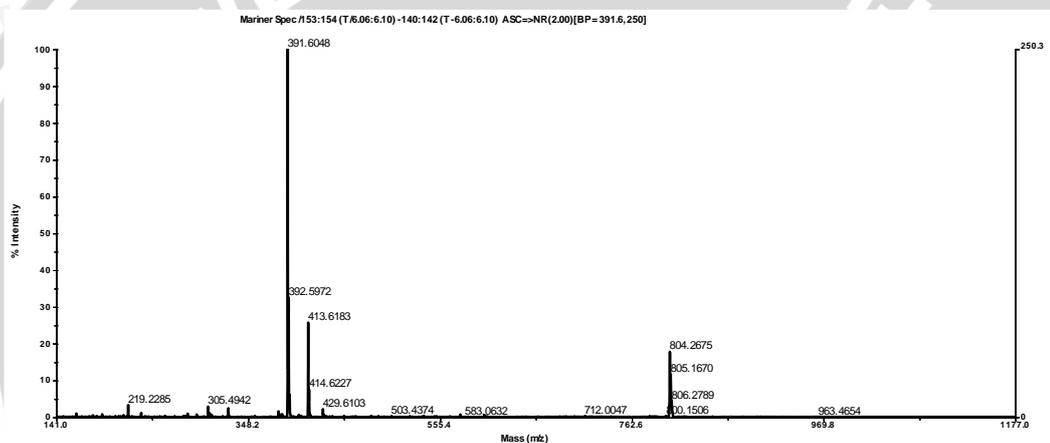
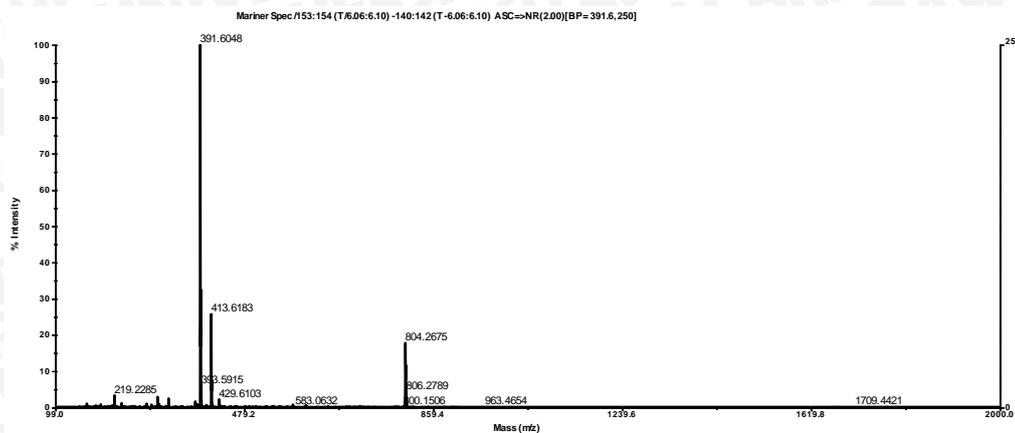


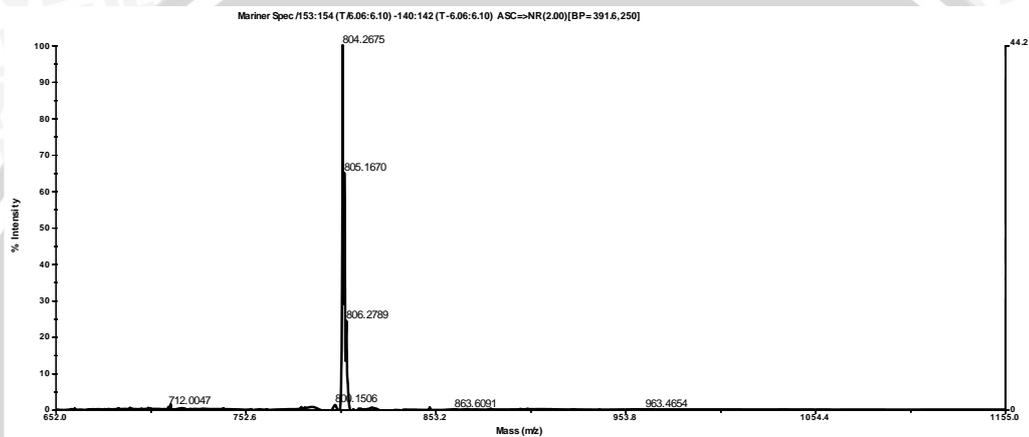
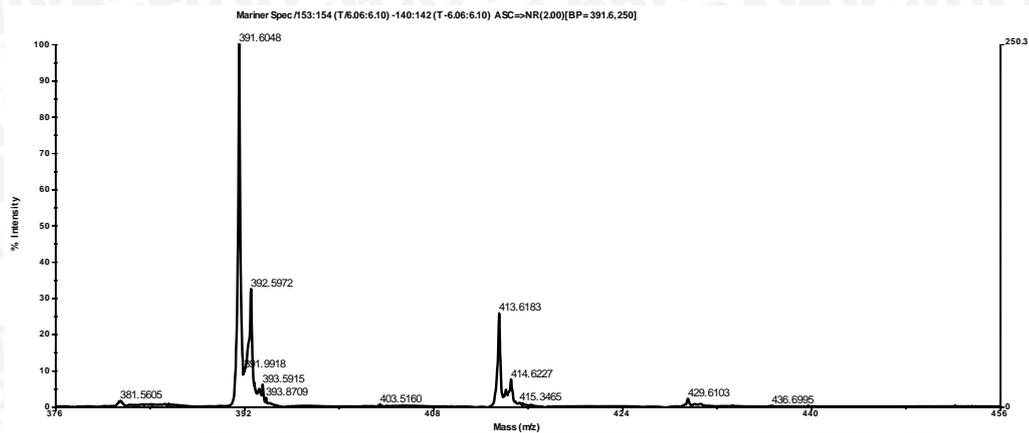
Rt 4.50



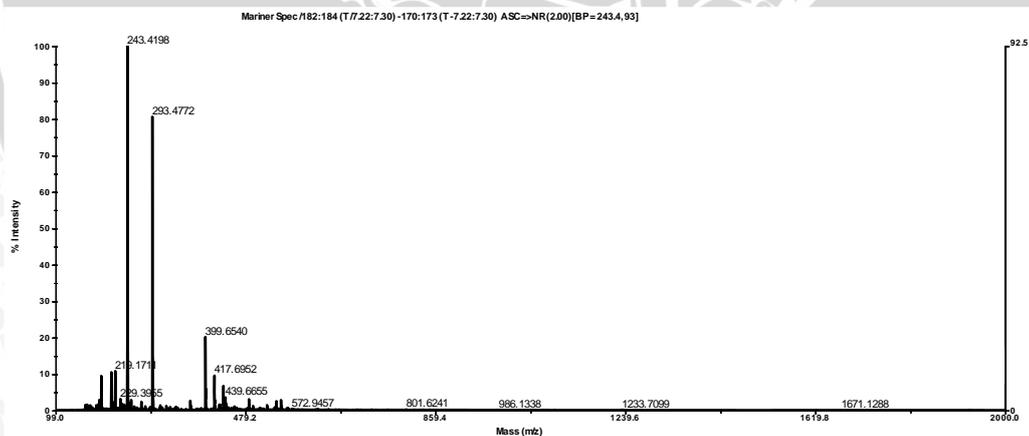


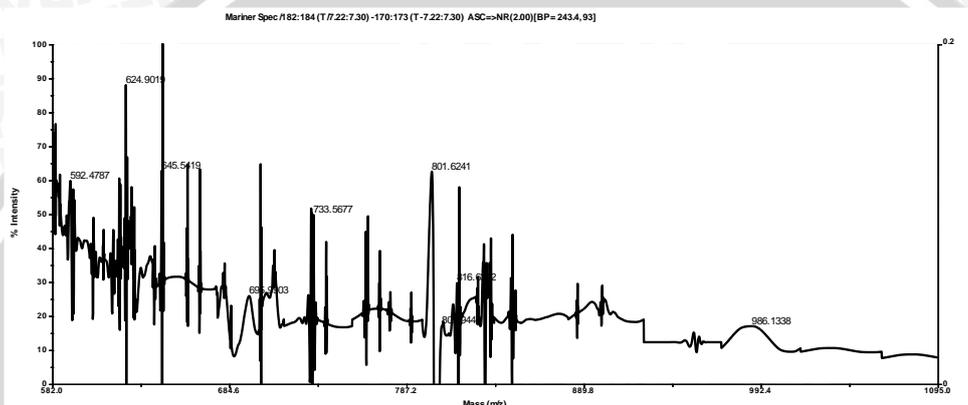
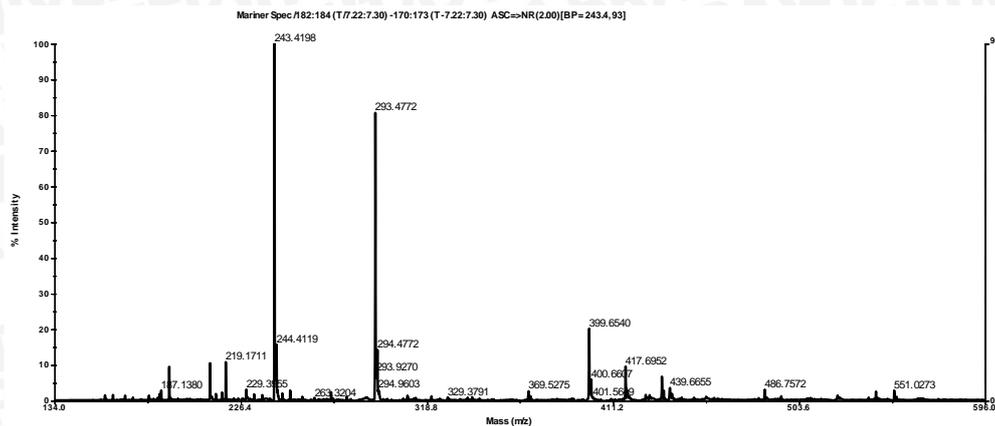
Rt 6.1 (Plastisizer ?)





Rt 7.26

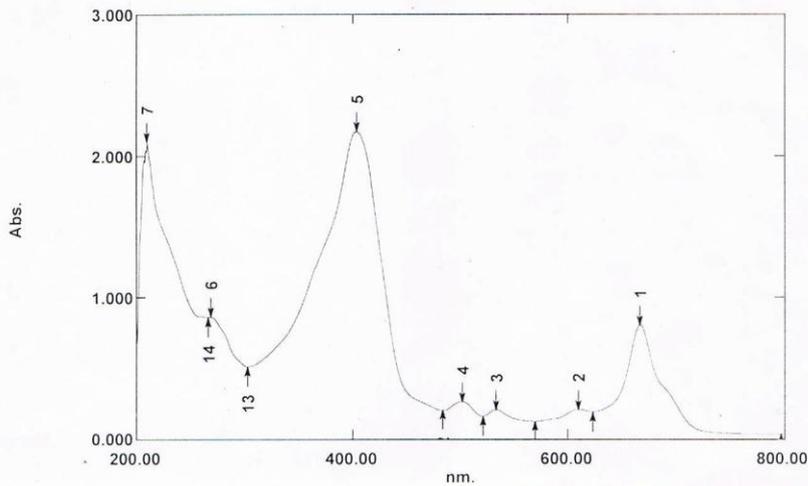




Spectrum Peak Pick Report

01/26/2015 09:08:54 PM

Data Set: SARGASSUM C. - RawData



Measurement Properties
 Wavelength Range (nm.): 200.00 to 800.00
 Scan Speed: Fast
 Sampling Interval: 0.5
 Auto Sampling Interval: Enabled
 Scan Mode: Single

Sample Preparation Properties
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

Instrument Properties
 Instrument Type: UV-1600 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 2.0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340.8 nm
 S/R Exchange: Normal

Attachment Properties
 Attachment: None

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	667.00	0.802	
2	⊕	610.00	0.206	
3	⊕	533.00	0.205	
4	⊕	502.00	0.261	
5	⊕	403.50	2.173	
6	⊕	268.50	0.860	
7	⊕	210.00	2.101	
8	⊕	797.00	0.030	
9	⊕	623.50	0.188	
10	⊕	569.50	0.121	
11	⊕	521.00	0.158	
12	⊕	483.50	0.198	
13	⊕	303.50	0.508	
14	⊕	266.50	0.858	