

**UJI GOLONGAN SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE DPPH (*Diphenil-  
Pycrylhidrazil*)**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN**

**JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

Oleh :

**KIKY WAHYU FITRIYANDARI**

**NIM : 125080600111044**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

**UJI GOLONGAN SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE DPPH (*Diphenil-  
Pycrylhidrazil*)**

**LAPORAN SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN**

**JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana kelautan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

**Universitas Brawijaya**

**Oleh :**

**KIKY WAHYU FITRIYANDARI**

**NIM : 125080600111044**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

LEMBAR PENGESAHAN

UJI GOLONGAN SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE DPPH (*Diphenil-  
Pycrylhidrazil*)

Oleh :

KIKY WAHYU FITRIYANDARI

NIM. 125080600111044

Telah dipertahankan di depan penguji  
Pada tanggal 21 Juni 2016  
dan telah dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

M.A.Zainul Fuad, S.Kel.,M.Sc

NIP. 10710904 199903 1 001

Tanggal :

Feni Iranawati,S.Pi.,M.Si.,Ph.D

NIP. 19740812200312 2 001

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Mualiawati, S.Pi.,M.Si

NIK. 20130988 1005 2 001

Tanggal :

Rarasrum Dyah K, S.Kel.,M.Si.,M.Sc

NIK. 20130486 0915 2 001

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan

(Dr. Ir. DadukSetyohadi, MP.)

NIP. 196306081987031003

Tanggal : ii

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul **UJI GOLONGAN SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE DPPH (*Diphenil-Pyccrylhidrazil*)**. Dalam tulisan ini disajikan bab 1 yang berisi tentang latar belakang, tujuan, manfaat, waktu dan tempat, bab 2 berisi tinjauan pustaka, bab 3 berisi tentang metode pengambilan data, prosedur penelitian, bab 4 berisi hasil dan pembahasan, bab 5 berisi kesimpulan dan saran, kemudian terakhir berisi daftar pustaka dan lampiran.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan pengetahuan yang dimiliki penulis untuk penyajian laporan skripsi ini, namun saya telah berusaha dengan sebaik-baiknya. Oleh karena itu, saya mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Juni 2016

Penulis

**PERNYATAAN ORISINALITAS**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Kiky Wahyu Fitriyandari

NIM : 125080600111044

Program Studi : Ilmu Kelautan

Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan SKRIPSI yang berjudul **“UJI GOLONGAN SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE DPPH (*Diphenil-Pyccrylhidrazil*)”** adalah benar merupakan hasil tulisan dan hasil karya saya sendiri, yang dibantu oleh dosen pembimbing skripsi Feni Iranawati, S.Pi.,M.Si.,Ph.D. dan Rarasrum Dyah Kasitowati, S,Kel.,M.Si.,M.Sc. Adapun data dan informasi yang diperoleh berasal dari beberapa sumber tertulis dan sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah dituliskan atau dipublikasikan oleh orang lain selain yang tertulis dalam laporan ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa laporan Skripsi ini merupakan penjiplakan (plagiasi) maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatannya tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 21 Juni 2016

Mahasiswa,

Kiky Wahyu Fitriyandari

NIM. 125080600111044

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, berkaitan dengan terselesainya Laporan Skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu dalam pembuatan laporan ini sehingga laporan ini dapat terselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

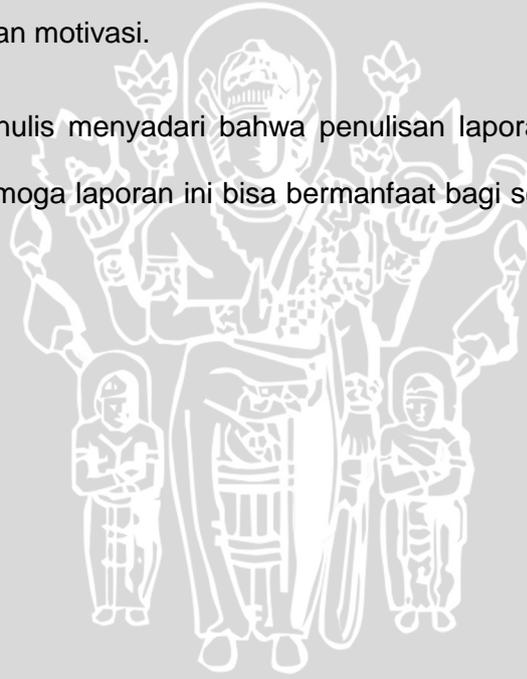
1. Allah SWT yang telah memberikan Kemudahan, Kelancaran dan Berkahnya sehingga penulis mampu menyelesaikan laporan skripsi dengan lancar.
2. Orang tua dan adik yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis selama proses penyusunan laporan.
3. Dr. Ir. Daduk Setyohadi, MP selaku ketua jurusan Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan dan Ilmu Kelautan.
4. Prof. Dr. Dra. Utami Sri Hastuti, M.Pd selaku pembimbing Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Malang.
5. Ketua Jurusan Fakultas Biologi Universitas Negeri Malang.
6. Agung Witjoro, S.Pd.,M.Kes selaku Ketua Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Negeri Malang.
7. Feni Iranawati S.Pi.,M.Si.,Ph.D Ibu tercinta selaku dosen pembimbing I sekaligus Ketua Program Studi Ilmu Kelautan yang telah banyak meluangkan waktu dalam memberikan pengarahan, bimbingan, serta ilmu selama penyusunan laporan skripsi.
8. Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel.,M.Si.,M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan banyak masukan, motivasi dan ilmu yang bermanfaat selama penyusunan laporan skripsi.
9. M.A.Zainul Fuad, S.Kel.,M.Sc dan Muliawati, S.Pi.,M.Si selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan kepada penulis.

10. Kakak Asisten tim mikrobiologi Universitas Negeri Malang Mbak Indri, Mbak Laili, Mbak Hasnah yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian.

11. Teman satu tim penelitian Agus Tri yang telah membantu penulis mengerjakan penelitian, Nur Farida sahabat yang banyak berkontribusi dalam penyelesaian penelitian, Latifah Fakhur, Vani Cynthia, Alfin, Tholiatul yang selalu memberikan masukan dan doanya.

12. Teman teman POSEIDON 2012 satu perjuangan dari awal masuk kuliah sampai akhir perkuliahan yang telah memberikan banyak masukan dan motivasi.

Akhir kata penulis menyadari bahwa penulisan laporan ini tidak luput dari kekurangan. Semoga laporan ini bisa bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.



## RINGKASAN

**KIKY WAHYU FITRIYANDARI.** Uji Golongan Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Siput Bakau (*Terebralia sulcata*) Dengan Metode DPPH (*Diphenil-Pyccrylhidrazil*). Dibawah Bimbingan **Feni Iranawati dan Rarasrum Dyah Kasitowati.**

---

Gastropoda merupakan salah satu contoh hewan yang berasal dari sumber daya laut yang kaya akan produk senyawa alami. Senyawa alami pada gastropoda memiliki fungsi terutama dalam bidang pengobatan sebagai obat anti radikal. Siput bakau adalah salah satu jenis gastropoda yang banyak hidup di daerah estuary atau hutan mangrove. Dalam hal pemanfaatan siput bakau masih sedikit dilakukan. Hanya sebagian kecil masyarakat yang memanfaatkannya sebagai bahan pangan penghasil protein hewani. Pemanfaatan produk sintetik lebih banyak apabila dibandingkan dengan produk obat dari bahan alami terutama yang berasal dari sumberhayati laut. Untuk mengurangi efek yang terjadi pada produk sintetik, maka pemanfaatan produk alami yang bahannya masih belimpah perlu ditingkatkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan pada siput bakau (*Terebralia sulcata*) dengan menggunakan metode DPPH. Pengujian yang digunakan meliputi uji kualitatif dan kuantitatif untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dan uji fitokimia untuk mengetahui jenis golongan senyawa bioaktif yang terdapat pada *T. sulcata*.

Siput bakau yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Pantai Clungup Malang Selatan. Hasil uji kualitatif dari aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar *T. sulcata* menunjukkan warna ungu dan tidak jauh berbeda jauh dengan larutan blanko, sedangkan pada uji kuantitatif dari nilai  $IC_{50}$  aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar *T. sulcata* menunjukkan aktivitas sangat lemah dengan nilai 770,57 ppm. Hal ini kemungkinan terjadi karena ekstrak daging siput yang digunakan bukan merupakan ekstrak murni. Adanya senyawa-senyawa yang tidak memiliki potensi antioksidan juga terlarut dalam ekstrak daging sehingga kemungkinan dapat mempengaruhi hasil pengujian antioksidan, sedangkan pada kontrol positif vitamin C nilai  $IC_{50}$  menunjukkan aktivitas sangat kuat dengan nilai 9,64 ppm dikarenakan vitamin C merupakan ekstrak murni dan sudah teruji secara farmakologi sebagai antioksidan. Pada ekstrak kasar *T. sulcata* golongan senyawa yang ditemukan meliputi Alkaloid, Flavonoid, Saponin, dan Fenol Hidrokuinon.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iv
RINGKASAN .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Manfaat .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Deskripsi dan Klasifikasi <i>Terebralia sulcata</i> .....	5
2.2 Senyawa Bioaktif .....	6
2.3 Antioksidan .....	7
2.4 Fungsi Antioksidan .....	8
2.5 Jenis Antioksidan .....	9
2.5.1 Antioksidan sintetik .....	9
2.5.2 Antioksidan alami .....	10
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan .....	10
2.7 Uji Fitokimia .....	12
2.7.1 Alkaloid .....	12
2.7.2 Steroid/Triterpenoid .....	13
2.7.3 Flavonoid .....	14
2.7.4 Saponin .....	15
2.7.5 Fenol Hidrokuinon .....	16
<b>BAB III. METODE .....</b>	<b>18</b>
3.1 Waktu dan tempat .....	18
3.1.1 Keadaan Umum Lokasi Pengambilan Sampel .....	18
3.2 Alat dan Bahan .....	19
3.3 Alur Penelitian .....	21
3.4 Prosedur Kerja .....	22



3.4.1 Pengambilan Sampel di Lapang .....	22
3.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan .....	24
3.4.3 Uji Fitokimia .....	30
3.5 Analisa Data .....	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	33
4.1 Karakteristik Bahan Baku ( <i>T. sulcata</i> ) .....	33
4.2 Hasil Ekstraksi Daging <i>Terebralia sulcata</i> .....	35
4.3 Hasil Uji Golongan Senyawa Bioaktif .....	36
4.3.1 Alkaloid .....	38
4.3.2 Flavonoid .....	39
4.3.3 Steroid .....	40
4.4.4 Saponin .....	41
4.4.5 Fenol Hidrokuinon .....	43
4.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan .....	44
BAB V. PENUTUP .....	51
5.1 Kesimpulan .....	51
5.2 Saran .....	51
DAFTAR PUSTAKA .....	52
LAMPIRAN .....	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi *Terebralia sulcata* ..... 6

Gambar 2. Struktur DPPH dan DPPH tereduksi ..... 11

Gambar 3. Struktur Alkaloid..... 13

Gambar 4. Struktur Steroid ..... 14

Gambar 5. Struktur umum saponin ..... 16

Gambar 6. Peta Lokasi Pengambilan Sampel ..... 18

Gambar 7. Alur Penelitian..... 21

Gambar 8. Proses Ekstraksi Sampel ..... 26

Gambar 9. Proses Uji Antioksidan dengan Metode DPPH..... 29

Gambar 10. Siput Bakau *Terebralia sulcata* dari Pantai Clungup ..... 33

Gambar 11. Hasil ekstraksi daging *Terebralia sulcata* ..... 36

Gambar 12. Hasil Uji Alkaloid ..... 38

Gambar 13. Hasil uji Flavonoid..... 39

Gambar 14. Hasil Uji Steroid ..... 41

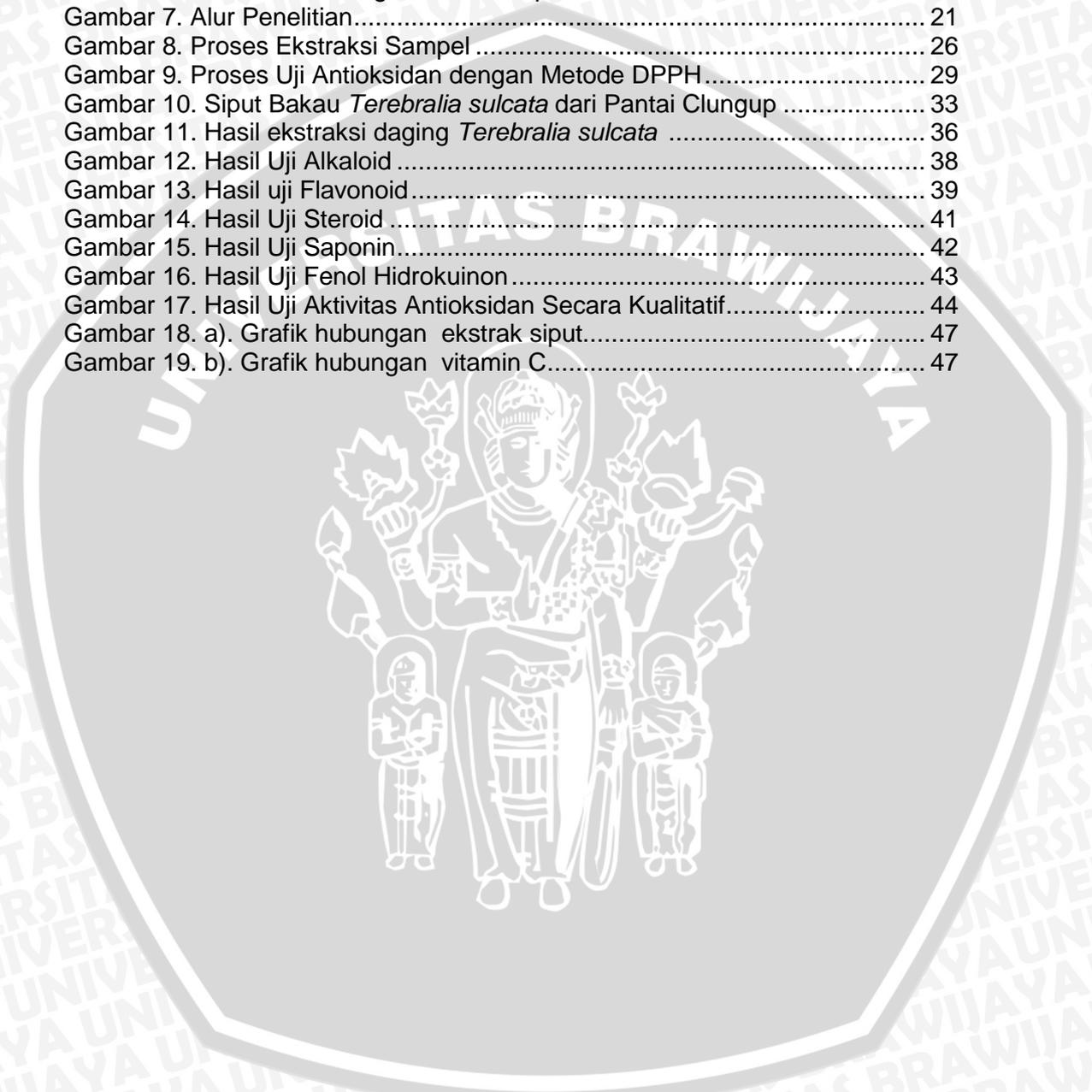
Gambar 15. Hasil Uji Saponin..... 42

Gambar 16. Hasil Uji Fenol Hidrokuinon..... 43

Gambar 17. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif..... 44

Gambar 18. a). Grafik hubungan ekstrak siput..... 47

Gambar 19. b). Grafik hubungan vitamin C..... 47



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian..... 19  
 Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian..... 20  
 Tabel 3. Klasifikasi nilai antioksidan..... 30  
 Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Parameter..... 34  
 Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia ekstrak siput bakau *Terebralia sulcata*..... 37  
 Tabel 6. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan IC<sub>50</sub> ekstrak *Terebralia sulcata* ... 45  
 Tabel 7. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan IC<sub>50</sub> kontrol positif Vitamin C..... 45  
 Tabel 8. Hasil klasifikasi antioksidan..... 46



## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Sumber radikal bebas bisa berasal dari polusi lingkungan seperti asap rokok, asap kendaraan dan paparan radiasi. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang senyawa apa saja yang rentan seperti lipid dan protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degenerative (Kusumowati *et al.*,2012) seperti penyakit jantung, aterosklerosis, kanker, serta gejala penuaan dini. Hal ini terjadi akibat kurangnya antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas dapat ditangkal atau diredam dengan pemberian atau mengkonsumsi antioksidan.

Antioksidan adalah substansi yang dapat menunda, mencegah, menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target, seperti lemak, protein, dan DNA (Purwaningsih, 2012). Antioksidan yang digunakan dalam sistem biologis biasanya berfungsi untuk mengatur kadar radikal bebas agar kerusakan dari tubuh tidak terjadi. Mekanisme antioksidan adalah melalui pemutusan rantai radikal bebas, detoksifikasi serta mengaktifkan enzim-enzim antioksidan (superoksid dismutase, katalase, glutathion peroksidase) termasuk kasar glutathion reduksi (GSH) (Harliansyah, 2005). Antioksidan terdapat dalam beberapa bentuk, di antaranya vitamin, mineral, dan fitokimia (Nurjanah, 2011). Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua yaitu sintetik dan dari bahan alami. Berbagai bahan alam banyak diuji dan digunakan untuk antioksidan contohnya tanaman dan buah. Selain dari pertanian sumber daya yang berasal dari laut juga mulai dicari.

Gastropoda merupakan sumber daya hayati laut yang kaya akan produk senyawa alami. Senyawa bioaktif merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan dalam bidang pengobatan (Putri *et al.*, 2012). Pada gastropoda komponen bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, contohnya adalah jenis alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon. Senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan biasanya berasal dari golongan fenolat, flavonoid dan alkaloid yang merupakan senyawa polar.

Siput bakau merupakan salah satu jenis gastropoda yang banyak hidup di daerah estuary atau hutan mangrove yang substratnya kasar dan memiliki densitas tinggi. Pemanfaatan siput bakau masih sedikit dilakukan, hanya sebagian kecil masyarakat yang memanfaatkannya sebagai bahan pangan penghasil protein hewani dikarenakan memiliki kandungan 9,91% air, 9,26% protein, 1,03% lemak dan 198 mg kalsium (Sumarto dan Sujoko, 2010). Menurut Sumarto (2011) *Terebralia sulcata* oleh sebagian masyarakat Riau dijadikan sebagai bahan pangan dan diolah untuk dikonsumsi. Siput bakau juga dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti TBC, luka hingga usus buntu.

Hampir 25 % kandungan senyawa aktif dihasilkan dari 675 spesies biota laut. Lebih dari 20 katagori fungsi senyawa aktif berbeda ditemukan seperti antivirus, antibiotik, antinflamasi, sitoksin, antikanker (Burrens, 1983). Metabolit sekunder merupakan suatu zat dibiosintesis terutama dari banyak metabolit-metabolit primer seperti asam amino, asetol koenzim-A, asam mevalonat. Senyawa metabolit sekunder diketahui dengan menggunakan uji fitokimia untuk mengisolasi senyawa-senyawa di dalamnya. Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, antikoagulan darah dan menghambat karsinogenik, selain itu metabolit sekunder juga dapat dimanfaatkan sebagai antigen (Samsudin, 2008). Menurut Rahmayani (2013),

komponen bioaktif adalah deteksi awal pengujian golongan senyawa dari suatu bahan, dimana senyawa bioaktif berpotensi sebagai bahan obat alami. Dilakukan analisis fitokimia untuk mengetahui ragam jenis senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh makhluk hidup.

Pemanfaatan produk sintetis lebih banyak apabila dibandingkan dengan produk obat dari bahan alami terutama yang berasal dari sumberhayati laut. Pemanfaatan produk alami yang bahannya masih berlimpah perlu ditingkatkan untuk mengurangi efek dari produk sintetis. Hal inilah yang mendasari penelitian tentang Uji golongan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan siput bakau (*Terebralia sulcata*) perlu dilakukan untuk meningkatkan produk antioksidan dari bahan alam terutama yang berasal dari sumberhayati laut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Siput bakau (*Terebralia sulcata*) merupakan biota yang memiliki populasi melimpah di habitat mangrove dan merupakan salah satu jenis sumberdaya laut yang pemanfaatannya masih sedikit. Sedikitnya informasi mengenai potensi dari siput bakau menyebabkan biota ini belum banyak diketahui fungsinya dibidang obat-obatan terutama sebagai antioksidan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi siput bakau (*Terebralia sulcata*) sebagai antioksidan. Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana potensi aktivitas antioksidan pada *T. sulcata* dengan menggunakan metode DPPH?
2. Apa saja golongan senyawa bioaktif yang terkandung pada *T. sulcata* dengan metode fitokimia?

### 1.3 Tujuan

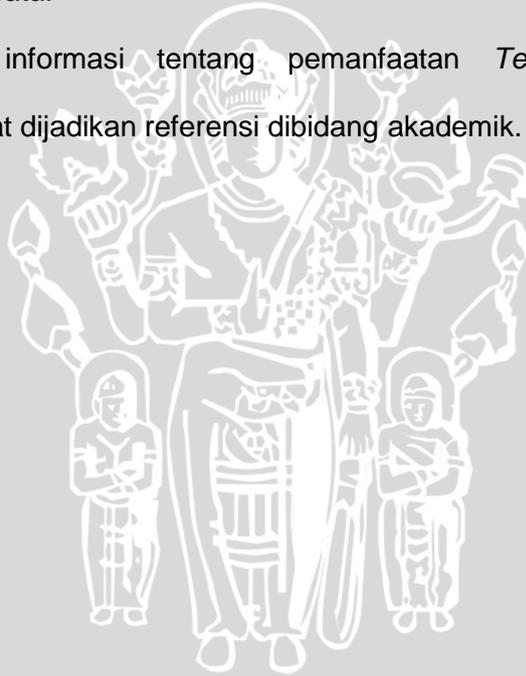
Tujuan dilakukan penelitian mengenai uji golongan bioaktif dan aktivitas antioksidan pada siput bakau (*T. sulcata*) adalah untuk mengetahui :

1. Aktivitas antioksidan pada *T. sulcata* dengan menggunakan metode DPPH
2. Jenis golongan senyawa yang terkandung pada *T. sulcata*.

### 1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian dan penyusunan skripsi adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui kemampuan antioksidan dan golongan senyawa pada *Terebralia sulcata*.
2. Memberikan informasi tentang pemanfaatan *Terebralia sulcata* sehingga dapat dijadikan referensi dibidang akademik.



## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi dan Klasifikasi *Terebralia sulcata*

Spesies siput bakau *T. sulcata* ditemukan hidup pada substrat daripada hidup menempel pada akar mangrove memiliki ciri-ciri yaitu memiliki cangkok yang berbentuk kerucut terpilin, bentuknya mengikuti pola cangkangnya, hidup di air laut dan berwarna coklat hitam. Siput bakau hidup pada daerah lumpur dan memakan sisa bahan organik berupa detritus. Menurut Saptarini (2010), family Potamididae spesies *T. sulcata* persebarannya melimpah dikarenakan spesies ini mampu beradaptasi dan cocok hidup pada lingkungan mangrove. *T. sulcata* memiliki pola pergerakan yang lambat dan termasuk hewan yang berpindah-pindah. Spesies ini terdistribusi didaerah sekitar Pasifik Barat dari Selatan Rykyus sampai Taiwan, Cina, Vietnam, dan sepanjang pesisir Filiphina. *T. sulcata* yang berukuran sedang, memiliki panjang sekitar 60 mm. Fungsi ekonomis spesies *T. sulcata* adalah sebagai sumber pangan dan diduga memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai sumber protein. Menurut Zipcodezoo (2015), klasifikasi taksonomi *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Gambar 1.

Kingdom : Animalia

Filum : Mollusca

Kelas : Gastropoda

Ordo : Caenogastropoda

Famili : Potamididae

Genus : *Terebralia*

Spesies : *Terebralia sulcata*



(Sumber : Zipcodezoo, 2015)

Gambar 1. Morfologi *Terebralia sulcata*

## 2.2 Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif adalah senyawa kimia aktif yang diproduksi oleh organisme melalui jalur biosintetik metabolit sekunder. Metabolit sekunder memiliki fungsi yaitu berperan dalam kelangsungan hidup suatu organisme dalam menghadapi predator dan lingkungan yang tidak mendukung. Menurut Muniarsih (2005), metabolit sekunder diproduksi oleh suatu organisme pada saat kebutuhan metabolisme primer sudah terpenuhi dan digunakan dalam mekanisme adaptasi lingkungan. Kompetisi ruang dan makanan yang kuat, mendorong organisme laut menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder dapat berubah dengan laju tertentu dan dapat mengalami metabolisme sempurna menjadi karbondioksida sehingga kadar metabolit sekunder dalam organ makhluk hidup belum diketahui apakah akan bertambah, tetap, berkurang seiring dengan perkembangan hidupnya (Istianti, 2010).

Produksi senyawa metabolit sekunder juga dipengaruhi oleh beberapa senyawa dari metabolit primer karena beberapa senyawa metabolit sekunder

merupakan hasil samping dari metabolisme primer contohnya asam amino. Tubuh organisme menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, fenol hidrokuinon. Dari hasil penelitian Sumarto (2011), *T. sulcata* memiliki senyawa bioaktif berupa alkaloid, flavonoid dan saponin.

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang memiliki kemampuan menunda, mencegah, menghilangkan kerusakan oksidatif yang terjadi di dalam tubuh, pada molekul target seperti lemak, protein, dan DNA. Hal ini menyebabkan fungsi molekul target tidak berfungsi dengan normal sehingga menimbulkan penyakit degenerative seperti jantung, stroke, kanker. Menurut Purwaningsih (2012), Antioksidan juga suatu inhibitor dari proses oksidasi pada konsentrasi yang relatif kecil, dan memiliki peran fisiologis yang beragam dalam tubuh. Antioksidan berfungsi untuk mengatur kadar radikal bebas agar kerusakan pada molekul penting di dalam tubuh tidak terjadi. Menurut Widowati (2005), sistem antioksidan tubuh berperan perlindungan terhadap serangan radikal bebas secara alami ada di dalam tubuh yang memiliki banyak komponen seperti superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), katalase (CAT), glutathion-S-transferase (GST) dan antioksidan ekstraselular yang berasal dari makanan seperti  $\alpha$ -toko-ferol,  $\beta$ -karoten, vitamin c, ubiquinol dan flavonoid.

Antioksidan sebagai senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan karsinogenik, kardiovaskuler dan penuaan. Antioksidan diperlukan karena tubuh manusia tidak memiliki sistem pertahanan antioksidan yang berlebihan, ketika terjadi paparan radikal berlebihan, maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar (eksogen). Menurut Rahmayani (2013), mekanisme antioksidan adalah melalui mekanisme

pemutusan rantai radikal bebas, detoksifikasi serta mengaktifkan enzim-enzim antioksidan contohnya superoksida dismutase, katalase, glutathione peroxidase). Antioksidan terdapat dalam beberapa bentuk diantaranya vitamin, mineral, dan fitokimia.

Antioksidan merupakan senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan menghambat adanya proses oksidasi dalam reaksi rantai oksidasi. Antioksidan juga dikelompokkan menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan vitamin lebih populer sebagai antioksidan dibandingkan dengan enzim. Antioksidan yang termasuk ke dalam vitamin dan fitokimia disebut flavonoid (Ingrid, 2014).

#### **2.4 Fungsi Antioksidan**

Fungsi antioksidan dapat digunakan sebagai meminimalisir terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, meminimalisir terjadinya suatu proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak dalam makanan (Dungir *et al.*, 2012). Fungsi antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya memiliki fungsi utama yaitu sebagai supply atom hydrogen dan sering disebut sebagai antioksidan primer. Selain itu antioksidan juga memiliki fungsi sekunder yaitu memperlambat laju auto oksidasi dengan berbagai macam mekanisme dengan mengubah radikal bebas ke dalam bentuk yang lebih stabil. Menurut Miryani (2011), antioksidan yang bereaksi dengan radikal bebas dengan cara mengurangi konsentrasi oksigen dan mencegah pembentukan singlet oksigen yang reaktif, mencegah inisiasi rantai pertama dengan menangkap radikal primer seperti radikal hidroksil, mengikat katalis ion logam, mendekomposisi produk primer radikal menjadi senyawa non radikal.

Manfaat antioksidan bagi kesehatan dan kecantikan untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan

lain-lain. Dalam produk pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik. Menurut Tamat (2007), antioksidan juga bermanfaat bagi kesehatan manusia dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Menurut (Sunarmi 2005), antioksidan melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan radikal bebas, menghambat terjadinya penyakit degenerative dan menghambat peroksidase lipid. Antioksidan juga menghambat pembentukan radikal bebas dengan bertindak sebagai donor H terhadap radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil.

## 2.5 Jenis Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua jenis, yaitu Antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan (antioksidan yang berasal dari bahan alami).

### 2.5.1 Antioksidan sintetik

Senyawa antioksidan sintetik memiliki fungsi sebagai penangkap radikal bebas dan mampu menghentikan reaksi berantai yang terjadi di dalam tubuh. Contoh dari antioksidan sintetik adalah *Butylated hydroxyl anisole* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG) dan *metal chelating agent* (EDTA), *Tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *Nordihydro guaretic acid* (NDGA).

Antioksidan jenis TBHQ atau yang dikenal sebagai antioksidan paling efektif untu lemak dan minyak, khususnya minyak tanaman karena memiliki kemampuan yang baik pada proses penggorengan namun rendah pada proses pembakaran. Antioksidan sintetik, BHT memiliki sifat serupa BHA, Antiosidan ini akan memberi efek sinergis yang baik jika digunakan bersama antioksidan BHA. Antioksidan BHT berbentuk kristal padat putih. Antioksidan sintetik lainnya

yaitu propil galat. Propil galat dapat membentuk kompleks warna dengan ion metal, sehingga kemampuan oksidasinya rendah (Buck, 1991).

### 2.5.2 Antioksidan alami

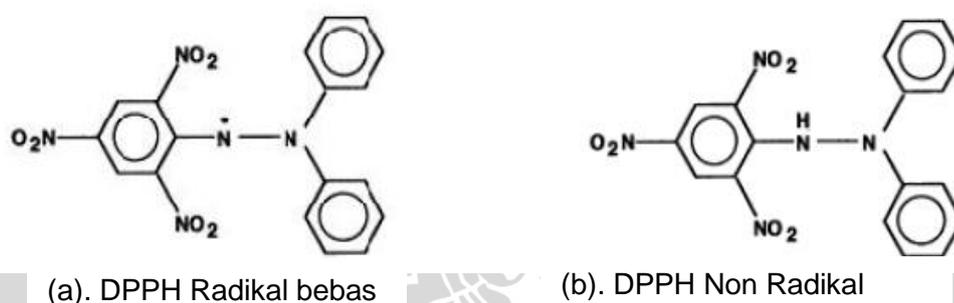
Antioksidan alami golongan polifenol adalah kelompok yang banyak terdapat dalam buah buahan, sayuran, tanaman polongan, biji bijian, rempah rempah dll. Salah satu contoh antioksidan alami adalah vitamin. Vitamin dibutuhkan untuk fungsi metabolisme tubuh. Selain vitamin, flavonoid merupakan jenis antioksidan yang penting dan memiliki 13 jenis dengan 400 lebih senyawa. Flavonoid diketahui memiliki fungsi sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik dan memiliki sifat antioksidan, anti alergi, dan menghambat oksidasi (Rahmat, 2009).

Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan suatu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman. Salah satu senyawa yang terdapat pada antioksidan alami adalah isoflavon yang berasal dari kedelai (Astuti, 2008). Hal yang sama juga dikatakan Pratt dan Hudson (1990), bahwa senyawa antioksidan alami biasanya jenis senyawa fenolik atau polifenolik yang berupa golongan turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional.

### 2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Pada prinsipnya, terdapat berbagai metode pengukuran antioksidan. Metode tersebut digunakan untuk mengetahui aktivitas hambat proses oksidasi oleh senyawa antioksidan. Menurut Molyneux (2004), salah satu metode yang umum digunakan adalah metode diphenilpicrylhydrazil (DPPH). Larutan DPPH sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan senyawa antioksidan, sehingga DPPH akan berubah menjadi non radikal yang tidak berbahaya. Hasil dari metode DPPH dibuat dalam bentuk  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration 50*) yang didefinisikan sebagai konsentrasi larutan substrata

atau sampel yang menyebabkan tereduksi DPPH sebesar 50%. Semakin besar aktivitas antioksidan maka nilai  $IC_{50}$  semakin kecil. Suatu senyawa antioksidan dinyatakan baik jika nilai  $IC_{50}$ -nya semakin kecil. Menurut Purwaningsih (2012), Metode DPPH memiliki kelebihan antara lain sederhana, cepat, mudah, cepat, peka, serta memerlukan sedikit sampel. Larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu setelah bereaksi dengan antioksidan alami akan berwarna kuning. Struktur DPPH dan DPPH tereduksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur DPPH dan DPPH tereduksi hasil reaksi dengan antioksidan

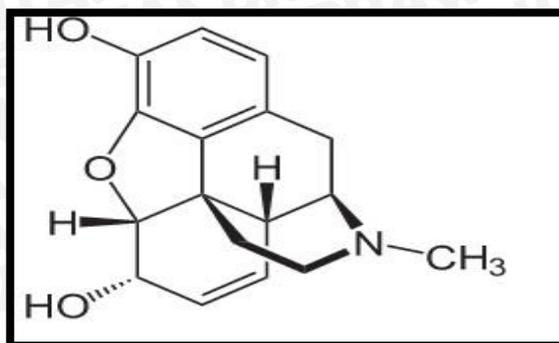
Berbagai macam metode digunakan dalam uji aktivitas antioksidan. Contohnya metode NBT (*Nitroblue Titrazolium*), ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), HOSC (*Hydroxyl Radical Scavenging Capacity*). Menurut Fitriana (2015), metode yang umum digunakan menguji aktivitas antioksidan adalah dengan metode radikal bebas DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazil*). DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan mendelokasi electron bebas yang lain. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. Suatu senyawa dikatakan memiliki antioksidan apabila senyawa tersebut dapat mendonorkan atom hydrogen untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi. Untuk meninterpretasikan hasil uji dengan metode DPPH adalah  $IC_{50}$ .

## 2.7 Uji Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu yang menguraikan aspek kimia suatu makhluk hidup. Kajian fitokimia meliputi aneka ragam senyawa organik yang dibentuk atau disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai macam jenis tumbuhan/organisme. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang bermanfaat bila diujikan dengan system biologi (Putranti, 2013). Menurut Putri *et al.*, (2012), senyawa metabolit sekunder dapat diketahui keberadaanya menggunakan metode skrining fitokimia. Uji fitokimia untuk mengisolasi senyawa-senyawa di dalamnya. Menurut Harbone (1987), analisis fitokimia yaitu analisis yang mencakup pada aneka ragam senyawa organik. Tujuan melakukan uji fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun yan ditunjukkan oleh ekstrak kasar apabila di uji.

### 2.7.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa kimia hasil metabolit sekunder yang terbentuk dari prinsip pembentukan campuran antara asam anorganik dan natrium karbonat untuk menghasilkan alkaloid murni. Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam bentuk gabungan dari sistem siklik (Adriyanti, 2009). Menurut sifatnya alkaloid umumnya berbentuk kristal padat dan sebagai kecil bersifat cair. Struktur Alkaloid dapat dilihat pada Gambar 3.



(Sumber :Harbourne, 1987)

Gambar 3. Struktur Alkaloid

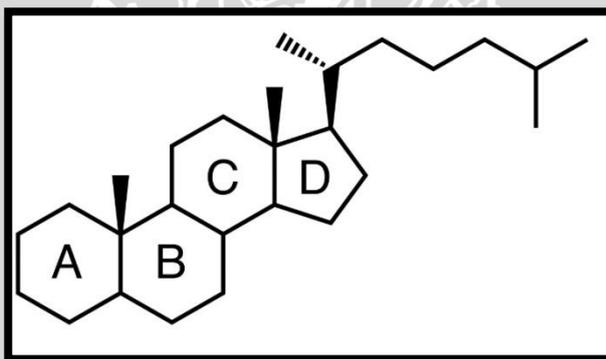
Kelompok senyawa alkaloid terdiri dari alkaloid sesungguhnya, protoalkaloid, dan pseudoalkaloid. Alkaloid yang sebenarnya adalah racun. Protoalkaloid merupakan amin yang sederhana sedangkan pseudoalkaloid bersifat basa (Sastrohamidjojo, 1996). Alkaloid juga terdiri racun nabati yang kuat dan obat penenang. Zat seperti kafein dan theobromine yang terkait erat dengan senyawa purin alami (zat yang dapat diubah menjadi asam urat dalam tubuh). Menurut Harborne (1987), alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol. Obat-obatan yang mengandung tingkat alkaloid yang signifikan memiliki dampak beracun langsung dan karenanya ketika orang menggunakan obat ini secara berlebihan dapat memicu gejala seperti muntah, diare atau mempengaruhi sistem saraf pusat. Apabila digunakan sebagai obat herbal alkaloid harus diukur dosisnya untuk menghindari efek samping yang berlebihan. Fungsi alkaloid dalam tubuh belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid dalam bidang pertanian berfungsi sebagai pengatur dan penarik serangga.

### 2.7.2 Steroid/Triterpenoid

Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk

Kristal, memiliki titik leleh yang tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan (Harborne, 1987).

Steroid merupakan molekul yang kompleks yang larut didalam lemak dengan 4 cincin yang menjadi satu. Steroid paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan (Putriantri, 2013). Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid. Senyawa ini dapat diklasifikasikan menjadi atom karbon tidak lebih dari 2,1 sehingga golongan senyawa ini cenderung tidak larut air (Wilson dan Gisvold, 1982). Komponen steroid dapat meningkatkan aktivitas hemolitik karena steroid memiliki afinitas lebih tinggi dari kolestrol pada membrane eritrosit. Struktur steroid dapat dilihat pada Gambar 4.



(Sumber :Harbourne, 1987)

Gambar 4. Struktur Steroid

Steroid juga diduga memiliki efek peningkatan stamina dan antiinflamasi. Steroid juga dimanfaatkan sebagai sumber antibakteri. Menurut Dia (2015), steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipit yang bersifat impermeable yang menyebabkan integritas membran menurun, morfologi berubah dan akhirnya lisis.

### 2.7.3 Flavonoid

Flavonoid memiliki kandungan system aromatik yang terkonjugasi, oleh sebab itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spectrum UV dan spectrum

tampak. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan, terikat gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Penggolongan flavonoid didasarkan pada sifat kelarutan dan reaksi warna. Terdapat sekitar sepuluh kelas flavonoid yaitu antosianin, proantosiadin, flavol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron dan isoflavon (Harbone, 1987).

Senyawa flavonoid dalam tumbuhan dapat ditemukan pada buah-buahan dan beberapa jenis kacang-kacangan seperti pada buah jeruk, buah anggur, sayur wortel, strawberry dan kacang-kacangan. Fungsi utama senyawa ini bagi tubuh adalah sebagai anti-penuaan (antioksidan), mencegah penyakit aterosklerosis, mencegah alergi, antidiare dan sebagai kekebalan tubuh.

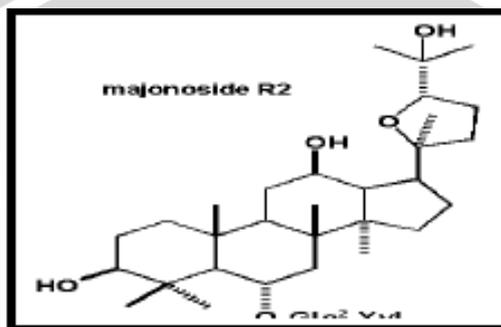
Flavonoid memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warna merah, ungu, atau biru yaitu semua warna yang terdapat dalam komposisi warna pelangi kecuali hijau (Sastrohamidjojo, 1996). Flavonoid berfungsi sebagai pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan virus (Robinson, 1995).

#### **2.7.4 Saponin**

Saponin adalah senyawa aktif permukaan kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Robison, 1995). Sifatnya sebagai senyawa aktif permukaan yang disebabkan adanya kombinasi antara aglikon lipofilik dengan gula yang bersifat hidrofilik (Houghton dan Raman, 1998). Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam dalam suku tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon). Glikon bersifat mudah larut dalam air dan glikosida-glikosida yang mempunyai tegangan permukaan yang kuat (Winarno, 1997).

Fungsi saponin adalah saponin dimanfaatkan sebagai pengangkat lendir (obat batuk), dibidang pertanian saponin digunakan sebagai pengusir hama,

dibidang industri digunakan sebagai bahan dalam pembuatan shampoo. Saponin menyebabkan stimulasi pada jaringan tertentu misalnya, pada epitel hidung, bronkus, ginjal. Stimulasi pada ginjal diperkirakan menimbulkan efek diuretika. Sifat menurunkan tegangan yang ditimbulkan oleh saponin. Saponin bisa juga precursor hormone steroid (Sirait, 2007). Struktur saponin secara umum dapat lihat pada Gambar 5.



(Sumber :Harbourne, 1987)

Gambar 5. Struktur umum saponin

### 2.7.5 Fenol Hidrokuinon

Fenol meliputi berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan dan mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil, sedangkan kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar, seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon. Kuinon untuk identifikasi dapat dipilah menjadi empat kelompok yaitu benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid (Harborne,1987).

Senyawa kuinon yang terdapat glikosida larut sedikit demi sedikit dalam air, tetapi umumnya kuinon lebih mudah larut dalam lemak dan akan terdeteksi dari tumbuhan bersama-sama dengan karotenoid dan klorofil. Reaksi yang khas adalah reduksi bolak-balik yang mengubah kuinon menjadi senyawa tanpa warna, kemudian warna kembali lagi bila terjadi oksidasi oleh udara.

Reduksi dapat dilakukan menggunakan natrium borohidrida dan oksidasi ulang dapat terjadi hanya dengan mengocok larutan tersebut diudara (Harborne, 1987).



## BAB III. METODE

### 3.1 Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Maret hingga April 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang. Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang, dan Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Pengambilan sampel dilakukan di Pantai Clungup Kabupaten Malang.

#### 3.1.1 Keadaan Umum Lokasi Pengambilan Sampel

Pantai Clungup terletak satu garis dengan Sendang Biru dan pantai Goa Cina. Pantai ini terletak di desa Tambak Rejo, Kecamatan Sumber Manjing Wetan. Pantai ini masih asri dan jauh dari pencemaran dan memiliki gugusan pulau kecil dan karang yang indah (Sumarna, 2015). Peta Lokasi Pantai Clungup dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

Pantai Clungup merupakan sebuah pantai tersembunyi yang menyimpan keindahan luar biasa dan tentunya eksotis. Lokasinya dekat

dengan Sendangbiru dan Pulau Sempu, dan dapat ditempuh melalui angkutan umum ataupun angkutan pribadi. Tapi hanya sampai pemukiman warga saja, selebihnya kita harus jalan kaki sejauh kurang lebih 1 km dengan medan yang sepi dan berbukit-bukit.

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	DO Meter	PDO-519 (0-20.0 mg/L)	Mengukur nilai kadar DO perairan
2	pH Meter	Kedid waterproof (0,00-14,00 ph)	Mengukur nilai kadar pH perairan
3	Thermometer	Thermometer Hg (0,50°C)	Mengukur nilai suhu perairan
4	Salinometer	PAL-06S Pucket Salinitas : 0,00-100 ppt Suhu : 10 – 40°C	Mengukur nilai salinitas perairan
5	GPS	GARMIN 78s RS.B : 9-12m Resolusi : 160x240 piksel	Menentukan titik koordinat pengambilan sampel
6	Kamera	Sony- 18 MP	Dokumentasi keadaan lokasi, spesies dan dokumentasi kegiatan
7	Cool box	Steroform	Tempat penyimpanan sampel
8	Pipet tetes	-	Memindahkan larutan dalam skala kecil
9	Tube	-	Tempat sampel sebelum di uji
10	Pipet volume	HBG 10 mL	Memindahkan larutan skala 1-10ml
11	Beaker glass	Pyrex 10-100 mL	Tempat larutan
12	Erlenmayer 250 ml	Pyrex 0-250 mL	Tempat pembuatan larutan
13	Timbangan digital	Scout Pro Ohaus ( 0-6000 gr)	Menimbang berat sampel secara mekanik
14	Tabung reaksi	Pyrex 0-10 mL	Tempat sampel pada uji fitokimia
15	Spektrofotometri	Shimadzu- UV VIS 1700 Pharma Spec 1nm (190 to 900 nm)	Mengukur nilai sampel berdasarkan panjang gelombang
16	Inkubator	Gollenthamp Cooled Inkubator (4-100°C)	Menginkubasi sampel pada suhu yang bisa ditentukan

Tabel 2. Lanjutan

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
17	Cuvet	-	Tempat larutan sebelum di ukur di spectofotometri
18	Lemari pendingin	-	Menyimpan sampel dengan suhu rendah
19	Vacum Rotary Evaporator	Volume bath : 1-2 liter Speed : 20-280 rpm	Alat untuk mengevaporasi sampel
20	Mortar alu	-	Menghaluskan sampel
23	Mikropipet	Soocorex (1-10mL)	Memindahkan larutan dalam skala micron
24	Gelas ukur	Pyrex (10-100mL)	Untuk mengukur volume larutan
25	Botol vial	0-10mL	Tempat sampel lendir
26	Pipet serologis	Pyrex (1-10mL)	Memindahkan larutan pada volume 0.1-1ml
28	Blander	-	Menghaluskan sampel
30	Nampan	-	Wadah alat dan bahan

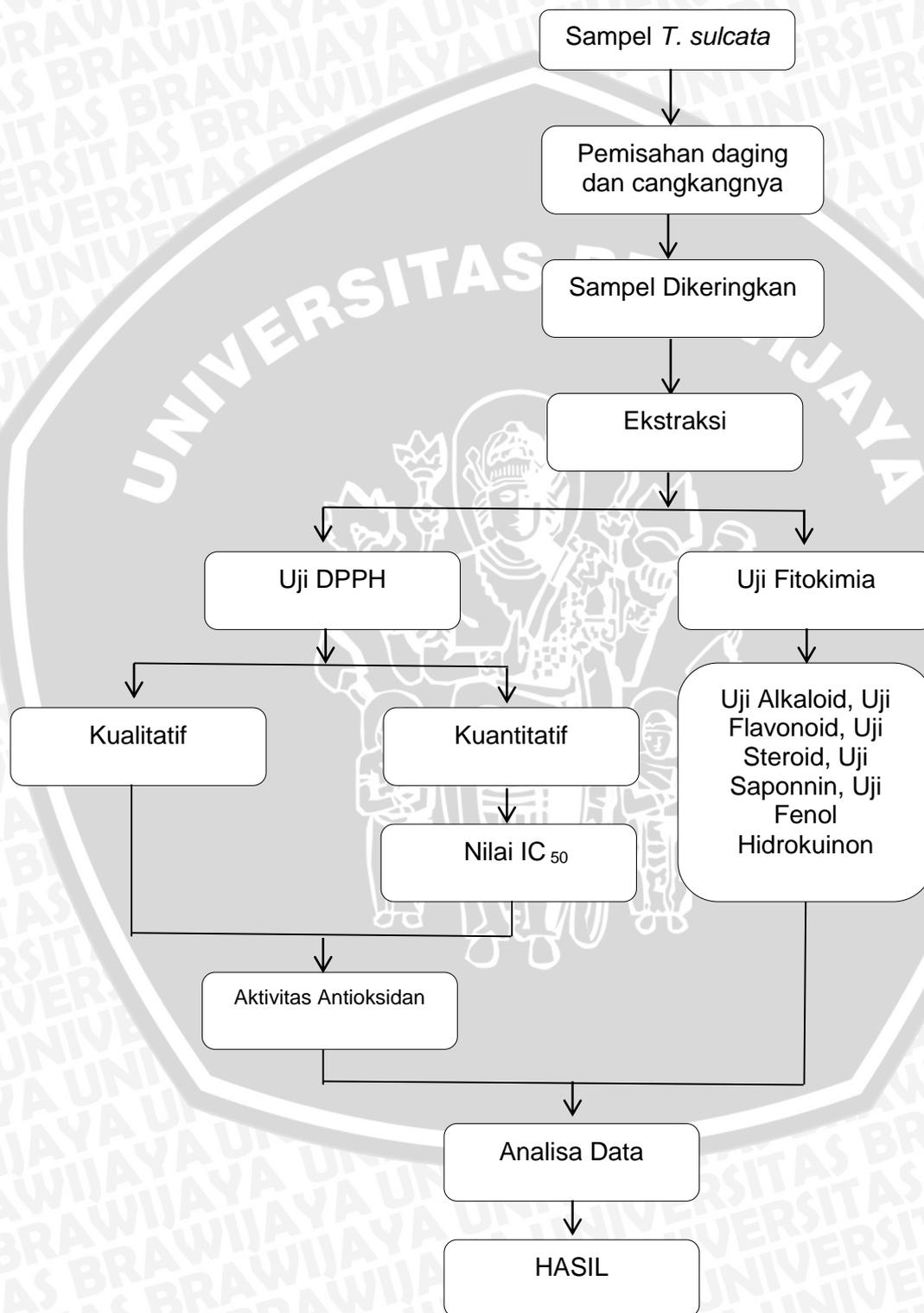
Bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Jumlah yang dibutuhkan	Fungsi
1	Daging <i>Terebralia sulcata</i>	250 gram	Bahan uji antioksidan dan bahan uji fitokimia
2	Larutan DPPH	5,9 mg 1 Mm	Larutan uji antioksidan
3	Metanol p.a	1,5 liter	Larutan universal campuran pembuatan sampel
4	Pereaksi Mayer	15 mL	Pereaksi uji alkaloid
5	Kloroform	5 mL	Pereaksi uji steroid
6	Anhidra asetat	15 mL	Pereaksi uji steroid
7	Asam sulfat pekat	15 mL	Pereaksi uji steroid
8	Air panas	1 liter	Campuran dalam uji saponin
9	Larutan HCl 2N	15 mL	Pereaksi uji saponin
10	Vitamin C	0,05 mg	Kontrol positif
11	FeCl <sub>3</sub> 5%	10 mL	Peraksi Fenol Hidrokuinon
12	Etanol 70%	20 mL	Pereaksi Fenol Hidrokuinon

### 3.3 Alur Penelitian

Alur penelitian Uji golongan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Alur Penelitian

### 3.4 Prosedur Kerja

Prosedur penelitian skripsi ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu pengambilan sampel *T. sulcata* di lapang, prosedur perlakuan sampel meliputi pemisahan cangkang dan penghalusan sampel, setelah itu proses ekstraksi dilakukan untuk dapatkan ekstrak daging, dan prosedur selanjutnya uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan terakhir uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat di dalam daging *Terebralia sulcata*.

#### 3.4.1 Pengambilan Sampel di Lapang

Pengambilan sampel *T. sulcata* dilakukan di pantai Clungup Malang Selatan. Pertama dilakukan penentuan titik koordinat lokasi menggunakan GPS untuk mengetahui lokasi pengambilan sampel berdasarkan titik koordinat dan disesuaikan dengan lokasi pengambilan sampel. Pengumpulan spesies *T. sulcata* didapatkan melalui proses sampling berdasarkan ukuran sampel. Metode sampling yang digunakan adalah purposive sampling. Menurut Nasution (2011), purposive sampling yaitu sample dipilih dengan cermat hingga relevan dengan design penelitian dan memiliki informasi yang diperlukan. Siput yang hidup menempel pada akar mangrove yang memiliki ukuran panjang kurang lebih 4 cm dan diameter 1,8 cm dikumpulkan dan dimasukkan di cool box agar terjaga kelangsungan hidup siput selama perjalanan. Setelah di dapatkan sampel *Terebralia sulcata*, sampel di timbang dan diukur panjang serta diameternya, untuk mengetahui kisaran besar siput yang hidup di habitat mangrove pantai Clungup Malang Selatan.

Pada dasarnya setiap spesies organisme memiliki kandungan senyawa yang berbeda. Hal ini dipengaruhi oleh kondisi habitat, faktor lingkungan dan faktor genetik. Pemakaian Siput bakau (*Terebralia sulcata*) sebagai bahan uji dalam penelitian ini juga dikarenakan siput ini tergolong hewan yang memiliki

atau penghasil senyawa aktif yang belum tentu dimiliki oleh hewan lain. Menurut Sumarto (2011), senyawa aktif yang dimiliki *Terebralia sulcata* berperan penting dalam metabolisme tubuh dan dalam aktivitas sehari-hari dan senyawa tersebut dapat dimanfaatkan dalam ilmu kedokteran farmasi dan sebagai bahan penunjang lainnya. Setelah dilakukan perhitungan panjang, lebar dan diameter siput, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak yang memiliki fungsi menentukan persen kandungan aktif yang terdapat pada suatu bahan dengan rumus sebagai berikut :

$$Pr = \frac{Be}{Bs} \times 100\%$$

Keterangan :

Pr = Persentase Rendemen

Be = Berat Ekstrak

Bs = Berat Sampel

Pengukuran parameter lingkungan meliputi pengukuran suhu, DO (*Dissolve Oxygen*), pH, dan Salinitas untuk mengetahui kualitas perairan yang digunakan sebagai habitat *Terebralia sulcata* hidup.

Pengukuran kadar pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman perairan habitat siput bakau dengan menggunakan pH meter. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi dengan aquades untuk menstandarkan nilai pada alat sebelum digunakan. Setelah itu, sensor pada pH meter dimasukkan ke dalam perairan dan ditunggu sekitar 2 menit atau sampai nilai angka pada layar stabil lalu ditekan tombol hold dan dicatat hasilnya. Pengukuran nilai pH dapat dilihat pada Lampiran 6.

Pengukuran salinitas dilakukan untuk mengetahui kadar garam pada perairan habitat siput bakau hidup dengan menggunakan salinometer. Seperti halnya pada pH meter, salinometer dikalibrasi terlebih dahulu dengan aquades

sebelum digunakan untuk menstandarkan nilai. Kemudian, ambil sampel air dengan menggunakan pipet tetes lalu diteteskan 3-4 tetes air sampel pada sensor salinometer hingga sensor terisi penuh, kemudian ditekan tombol start dan dicatat hasilnya. Pengukuran salinitas dengan menggunakan salinometer dapat dilihat pada Lampiran 6.

Terakhir dilakukan pengukuran DO untuk mengetahui nilai oksigen terlarut pada perairan habitat siput bakau (*Terebralia sulcata*). Kalibrasi sensor DO meter dengan aquades dilakukan sebelum alat digunakan berfungsi untuk menstandarkan nilai. Dichelupkan sensor DO meter ke dalam perairan lalu ditekan tombol ON dan ditunggu hingga nilai pada layar stabil dan dicatat hasilnya dan catat nilai suhu yang terdapat pada layar. Pengukuran DO dapat dilihat pada Lampiran 6.

### **3.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan**

Tahapan pada proses uji antioksidan dengan metode *Diphenil-Pyccrylhidrazil* (DPPH) meliputi perlakuan sampel, ekstraksi sampel dan uji antioksidan.

#### **3.4.2.1 Perlakuan sampel**

Sampel yang di dapatkan dari Pantai Clungup Malang Selatan, di pisahkan daging dan cangkangnya. Disiapkan sampel *Terebralia sulcata* kemudian dipecahkan cangkangnya dengan menggunakan palu hingga cangkang hancur. Setelah itu diambil dagingnya dan dipotong kecil – kecil untuk mempermudah proses pengeringan setelah itu sampel dikeringkan hingga kadar air pada daging berkurang kurang lebih sekitar 4-5 hari dibawah sinar matahari. Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air pada sampel. Karena menurut Winarno (2008), Kadar air yang rendah akan meminimalisir adanya proses pembusukan, hidrolisis komponen bioaktif dan oksidasi dalam proses maserasi. Pembebasan sampel dari kadar air akan

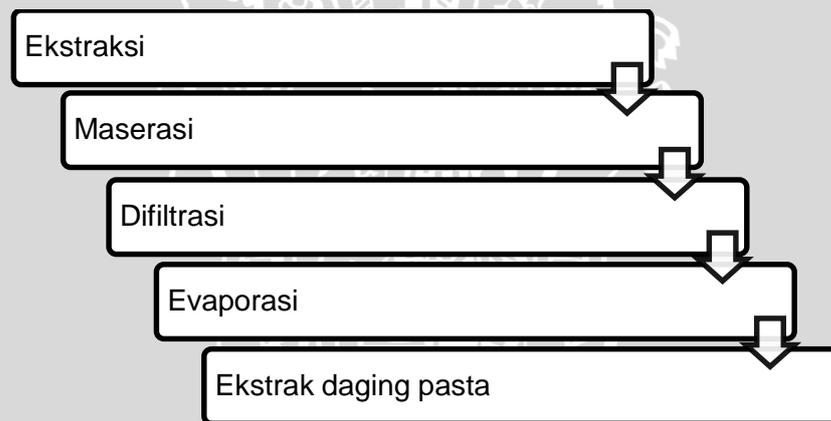
menurunkan sekitar 0,80 pertumbuhan mikroba dan terjadinya perusakan reaksi kimia.

Proses selanjutnya adalah daging yang sudah mengering ditimbang beratnya sebelum dilakukan penghalusan. Sampel setelah ditimbang kemudian di blander. Serbuk kasar yang didapatkan dari proses blander kemudian diayak untuk memisahkan serbuk kasar dan serbuk halus dari sampel *Tereralia sulcata*. Serbuk daging kemudian ditimbang beratnya, setelah itu disimpan di tempat yang kering dan dilakukan proses selanjutnya yaitu maserasi pada keesokan harinya. Proses perlakuan sampel dapat dilihat pada Lampiran 7.

#### 3.4.2.2 Ekstraksi Sampel

Proses selanjutnya adalah ekstraksi bahan aktif. Sampel daging yang sudah halus dan berbentuk serbuk kemudian dimaserasi. Maserasi pada proses ekstraksi sampel bertujuan untuk mendapatkan senyawa aktif atau senyawa aktif dapat larut dan di ikat oleh pelarut yang digunakan. Pada proses ekstraksi pelarut berfungsi memecahkan membran yang terdapat pada permukaan partikel jaringan. Selain itu menurut Salamah *et al.* (2011), besarnya rendemen ekstrak dari suatu pelarut dipengaruhi juga sifat kepolaran dari pelarut, suhu, waktu ekstraksi serta tingkat kepolaran dari jumlah bahan ekstrak yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Pada penelitian hanya menggunakan satu pelarut yaitu methanol dikarenakan banyak senyawa atau komponen bioaktif bersifat polar pada contoh sampel tumbuhan maupun organisme. Hal ini didukung oleh pernyataan dari Susanto (2010) yang menyatakan bahwa komponen bioaktif yang bersifat polar pada filum molusca umumnya lebih banyak daripada yang bersifat non polar dan semi polar. Pernyataan tersebut juga didukung oleh hasil penelitian Nurjanah (2009) pada lintah laut, Sumarto (2011) pada *Terebralia sulcata* dan Suptijah (2013) pada kerang siping. Menurut Diantika *et al.* 2014, dalam metode ekstraksi bahan

alam, dikenal suatu metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Pada proses ini, pelarut yang digunakan adalah pelarut polar yang juga dapat melarutkan komponen non polar dan semi polar di dalamnya yaitu methanol p.a. Sebanyak 250 gr sampel ditimbang dan dimaserasi dengan methanol p.a sebanyak 1000ml selama 3x24 jam kemudian disaring dengan menggunakan kain saring steril sehingga di dapatkan filtrat dan residu. Filtrat ekstrak metanol kemudian dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporation* pada suhu 50°C hingga di hasilkan pelarut dan ekstrak yang terpisah. Berikut proses ekstraksi sampel dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Proses Ekstraksi Sampel

### 3.4.2.3 Uji Antioksidan

Uji antioksidan dilakukan untuk mengetahui kemampuan daging *Terebralia sulcata* dalam menghambat radikal bebas. Langkah pertama yang dilakukan adalah ekstrak lendir *Terebralia sulcata* diuji antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2 diphenyl 1-picrylhydrazil) (Tamat, 2007).

Uji aktivitas antioksidan daging *Terebralia sulcata* menggunakan pelarut methanol p.a dan dilakukan dengan metode DPPH. Metode aktivitas radikal

bebas DPPH merupakan metode terpilih untuk menampis aktivitas antioksidan bahan alam (Umayah, 2007). DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 m dengan warna violet gelap. Metode DPPH digunakan karena substansi ini mampu menangkap radikal bebas menyebabkan elektron berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilang warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Radikal bebas yang digunakan adalah 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sunarni, 2005). Radikal bebas DPPH merupakan radikal sintetik yang stabil pada suhu kamar dan larut dalam pelarut polar yaitu etanol atau methanol. Penggunaan metode DPPH dalam uji aktivitas antioksidan dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat dan hanya memerlukan sedikit sampel. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol p.a. Penggunaan metanol p.a pada penelitian ini disebabkan metanol dapat melarutkan kristal DPPH selain itu, metanol pro analisis (p.a) adalah bahan kimia yang mempunyai kemurnian tinggi > 99,5% dan biasanya digunakan untuk keperluan laboratorium sebagai pelarut. Larutan DPPH yang digunakan, dibuat dengan melarutkan kristal DPPH sebanyak 5.9 mg dalam pelarut metanol p.a. dengan konsentrasi 1 mM. Proses pembuatan dilakukan dalam kondisi suhu rendah dan terlindungi dari sinar matahari.

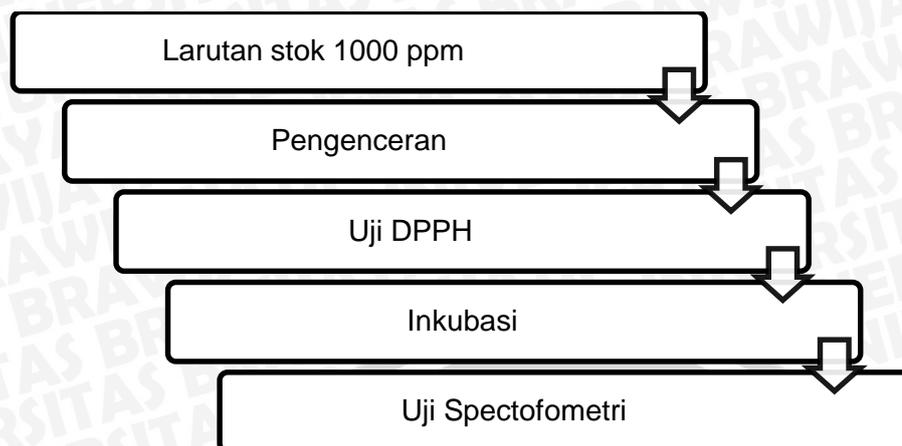
Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan dua pengujian yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Uji secara kualitatif dilihat berdasarkan perubahan warna yang terjadi sedangkan uji secara kuantitatif dilihat berdasarkan nilai persen dari inhibisi sehingga dapat disimpulkan daging *T. sulcata* mengandung aktivitas antioksidan. Konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan dalam uji dengan metode DPPH sebesar 200, 400, 600, dan 800 ppm. Konsentrasi diperoleh dari pengenceran larutan stok sebesar 1000 ppm, sedangkan untuk perbandingan atau kontrol positif menggunakan vitamin C. Larutan kontrol positif

dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 6, dan 8 ppm dari pengenceran larutan stock vitamin C 1000 ppm.

Ekstrak daging *Terebralia sulcata* hasil ekstraksi ditimbang sebanyak 0,05 gram kemudian di larutkan dengan metanol sebanyak 50 ml sebagai larutan stok induk 1000 ppm. Dari larutan stok 1000 ppm kemudian diencerkan pada tabung reaksi masing masing konsentrasi 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm dan 200 ppm. Perhitungan nilai konsentrasi dapat dilihat pada Lampiran 2. Dari masing-masing konsentrasi dicampurkan larutan DPPH 1mM sebanyak 1 ml dari konsentrasi 200 sampai 800 ppm dan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali kemudian sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit.

Sebagai pembanding, dibuat larutan dari vitamin c yang dilarutkan dengan pelarut metanol masing-masing konsentrasi 8 ppm, 6 ppm, 4 ppm, dan 2 ppm pada tabung reaksi. Vitamin C yang digunakan jenis "Holisti Care Super Ester C" dimana bioavailabilitas Ester C diatas vitamin C yang lain. Vitamin C dipercaya dapat berperan sebagai antioksidan. Bioavailabilitas adalah persentase dan kecepatan zat aktif dalam suatu produk obat yang tersedia dalam sirkulasi sistemik dalam bentuk aktif setelah pemberian produk obat. Menurut Hidayah *et al.* (2015), vitamin C merupakan antioksidan yang aktif dan sesuai dengan penelitian Hidayah *et al.* (2015) tentang Uji Antioksidan Umbi Bawak dimana vitamin C memiliki nilai  $IC_{50}$  7,10 ppm dan tergolong sangat kuat.

Setelah itu ukur absorpsinya dengan panjang gelombang 517 nm. Absorpsi dari nilai blanko juga diukur setelah itu melakukan perhitungan persen inhibisi. Larutan blanko dibuat dengan mereaksikan 4ml methanol p.a dengan 1ml larutan DPPH 1mM. Berikut diagram proses antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Proses Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengukuran kualitatif metode DPPH dapat dilihat berdasarkan perubahan warna yang terjadi, pengujian kualitatif dari metode DPPH yaitu dengan melihat warna larutan sampel ketika dicampurkan dengan DPPH (Romansyah, 2011). Adanya perubahan warna ungu pada DPPH menjadi ungu yang lebih muda atau adanya warna kuning ketika pencampuran dilakukan menandakan terdapatnya aktivitas antioksidan pada larutan sampel. Pengukuran kuantitatif selanjutnya dilakukan dengan perhitungan inhibisi dan perhitungan  $IC_{50}$ . Persen inhibisi adalah nilai penghambatan radikal bebas sedangkan  $IC_{50}$  atau *Inhibitor Concentration 50%* menyatakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidan pada suatu bahan. Menurut Rahmayani (2013), aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dan pembanding vitamin c dinyatakan dengan persen inhibisi, yang dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ sampel}) \times 100\%}{A \text{ blanko}}$$

Nilai konsentrasi sampel dari ekstrak siput maupun pembanding vitamin c dan persen inhibisinya masing-masing diplot pada sumbu x dan sumbu y pada persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier diperoleh dari formula  $y = a$

+ bx, dimana formula tersebut digunakan untuk mencari nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> merupakan pernyataan besar konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%. Menurut Rahmayani (2011), klasifikasi antioksidan dibagi 5 dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Klasifikasi nilai antioksidan

Nilai	Klasifikasi
< 50 ppm	Sangat Kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah
>200 ppm	Sangat Lemah

### 3.4.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat pada daging *Terebralia sulcata*. Dalam uji fitokimia dilakukan beberapa tahap uji yaitu uji Alkaloid, uji steroid atau terpenoid, uji Flavonoid, dan uji Saponin. Uji Fitokimia menggunakan metode didasarkan pada Harborne (1987).

#### 3.4.3.1 Uji Alkaloid

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dilarutkan pada beberapa 1ml asam sulfat 2N, Setelah itu sampel dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 10 menit. Setelah itu diambil 3 tetes sampel dan di tambahkan 3 tetes pereaksi mayer. Reaksi positif di tandai dengan endapat warna putih atau kuning (Harbourne,1987).

#### 3.4.3.2 Uji Steroid

Ekstrak daging *T. sulcata* ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 15 ml aquades. Sampel

selanjutnya dimasukan 0,5 ml ekstrak dan ditambahkan asam asetat anhidrat 2 ml Setelah itu ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 2 ml. Reaksi positif ditandai dengan warna violet ke hijau atau biru (Harboune, 1987).

#### 3.4.3.3 Uji Flavonoid

Ekstrak daging *T. sulcata* ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 15 ml methanol. Sampel selanjutnya dipanaskan dalam *watherbath* dengan suhu 50°C selama 5 menit. Ditambahkan 0,05 serbuk Mg dan 1 ml HCl. Reaksi positif ditandai dengan warna kuning (Harboune, 1987).

#### 3.4.3.4 Uji Saponin

Ekstrak daging *T. sulcata* ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 15 ml aquades. Sampel selanjutnya dipanaskan dalam *watherbath* dengan suhu 80°C selama 5 menit. setelah itu didinginkan dan dikocok 10 menit jika terdapat banyak busa menandakan adanya saponin pada sampel (Harboune, 1987).

#### 3.4.3.5 Fenol Hidrokuinon

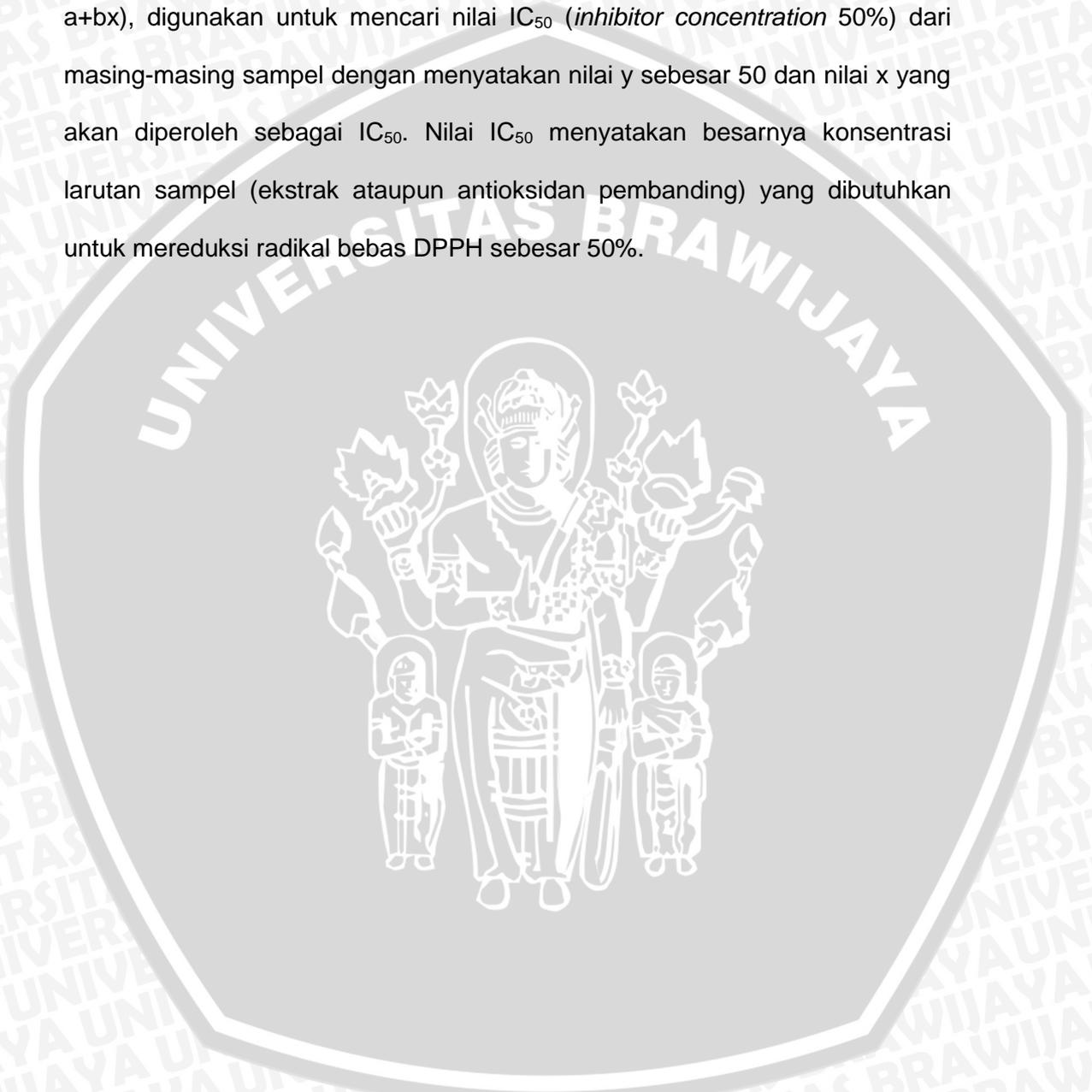
Sampel *T. sulcata* ditimbang sebanyak 1 gram kemudian diekstrak dengan 20 ml etanol 70 %. Diambil sekitar 1 ml dari campuran ekstrak dan etanol kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menunjukkan adanya senyawa fenol dalam bahan (Harboune, 1987)

### 3.5 .Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian skripsi adalah analisa regres linier sederhana. Menurut Filbert *et al* (2014), regresi linier menentukan hubungan fungsi antara dua variabel atau lebih. Variabel x dinyatakan sebagai variable bebas dan y merupakan variable tak bebas. Untuk mendapatkan

hubungan kedua variable bebas x sebagai nilai konsentrasi sampel dan tak bebas y sebagai nilai persen inhibisi, maka harus dinyatakan dalam nilai dengan skala interval. Persamaan matematika regresi linier adalah ( $y = a+bx$ ).

Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan ( $y = a+bx$ ), digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  (*inhibitor concentration 50%*) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel (ekstrak ataupun antioksidan pembanding) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%.



## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Karakteristik Bahan Baku (*T. sulcata*)

Sampel Siput *Terebralia sulcata* yang diambil dari Pantai Clungup Malang Selatan dipreparasi untuk dipisahkan antara cangkang dan daging dengan menghancurkan cangkang dengan martil. Daging siput ini padat dengan jeroan yang lembek dan mudah hancur apabila dilepaskan dari cangkangnya. Panjang cangkang *T. sulcata* yang ditemukan di Pantai Clungup sekitar 4,38 cm dengan diameter 1,88 cm, berwarna abu-abu gelap berbentuk seperti terompet dan terdapat lekukan di luar cangkang yang terlihat. Memiliki peristom (alat pelekat) yang halus dan lebar. Siput bakau *Terebralia sulcata* yang diambil dari Pantai Clungup Malang Selatan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Siput Bakau *Terebralia sulcata* dari Pantai Clungup

Populasi *Terebralia sulcata* di Pantai Clungup banyak ditemukan di substrat dan menempel pada akar mangrove. Jumlah spesies *Terebralia sulcata* yang digunakan pada penelitian ini kira – kira sekitar 1200 individu. Perhitungan perkiraan jumlah spesies dapat dilihat pada Lampiran 1. *Terebralia sulcata* merupakan spesies asli yang hidup di habitat mangrove dan tumbuh berasosiasi dengan spesies mangrove serta merupakan gastropoda

pemakan serasah yang dijumpai di bagian tengah dan belakang mangrove (Hasnidar, 2013).

*Terebralia sulcata* memiliki persebarannya melimpah dikarenakan spesies ini mampu beradaptasi dan cocok hidup pada lingkungan mangrove. Hal ini dikarenakan *Terebralia sulcata* memiliki adaptasi yang cukup luas terhadap faktor lingkungan dan mampu berkembang biak dengan baik. Faktor lingkungan yang mempengaruhi diantaranya keadaan substrat, suhu, pH, DO, salinitas, pasang surut, iklim dan lain-lain. Data hasil pengukuran parameter air habitat *Terebralia sulcata* dapat di lihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Parameter

No	Parameter	Nilai	Standar Deviasi	Baku Mutu (Kep Men LH no. 51 Tahun 2004 pada Biota)
1	Suhu (°C)	30°C	30±0.57	28-32
2	Salinitas (ppt)	34 ppt	0	<34
3	pH	7,9	7,9±0.057	7-8,5
4	DO (mg/l)	6,03 mg/l	6,03±0.15	>5

Hasil pengukuran parameter lingkungan menunjukkan nilai suhu, pH dan DO tidak melebihi baku mutu, namun nilai salinitas pada hasil pengukuran menunjukkan nilai diatas baku mutu yaitu 34 ppt. Faktor yang menyebabkan tingginya nilai salinitas dikarenakan habitat dari *Terebralia sulcata* yang jaraknya berada tidak jauh dari laut sehingga air yang mengalir dari laut akan masuk ke perairan habitat siput pada ekosistem mangrove melalui aliran dari estuary. Selain itu, pengukuran nilai salinitas dilakukan pada siang hari dimana salinitas tinggi ketika terjadi kenaikan suhu dan menyebabkan tingginya nilai salinitas. Gastropoda memiliki toleransi yang luas terhadap perubahan salinitas dan setiap gastropoda memiliki toleransi yang luas terhadap perubahan salinitas dan akan mempengaruhi kemampuan organisme dalam mengendalikan

tekanan osmotik (Hasnidar *et al.* 2013). Suatu biota dalam kondisi lingkungan yang tidak sesuai memerlukan suatu upaya untuk mempertahankan diri dari faktor biotik dan abiotik sehingga faktor lingkungan mempengaruhi pertumbuhan suatu biota dan produksi metabolit sekunder. Semakin tinggi tingkat pencemaran terhadap lingkungan perairan maka semakin tinggi produksi senyawa metabolit sekunder (Mardiyana, 2014).

#### 4.2 Hasil Ekstraksi Daging *Terebralia sulcata*

Proses Ekstraksi adalah proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan dengan menggunakan pelarut untuk melarutkan komponen yang diinginkan. Proses ekstraksi juga bertujuan untuk mendapatkan komponen bioaktif dalam suatu bahan alam yang memiliki kandungan senyawa bioaktif. Hasil ekstraksi yang dihasilkan berupa pasta basah melalui proses evaporasi dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Perendaman atau maserasi sampel daging 250 gram dengan 1000 ml methanol p.a yang dimaserasi selama 3x24 jam setelah disaring didapatkan larutan perendaman sekitar 750 ml. Pengurangan volume disebabkan adanya proses penguapan dan terserapnya pelarut pada bahan yang digunakan. Sampel kemudian di evaporasi dan didapatkan hasil ekstrak sekitar 22,2 gram ekstrak basah berwarna hijau tua. Hasil ekstraksi daging *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil ekstraksi daging *Terebralia sulcata* dengan metode maserasi

Hasil ekstraksi pada sampel dengan menggunakan pelarut akan menghasilkan rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak adalah perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan sampel awal yang diekstrak, untuk mengetahui nilai komponen bioaktif yang terkandung dalam bahan. Menurut Ali (2013) perhitungan rendemen ekstrak yaitu bobot ekstrak pekat dibagi bobot sampel yang diekstrak dikalikan seratus persen. Hasil ekstrak *Terebralia sulcata* diperoleh nilai rendemen sebesar 8,8%. Perhitungan nilai rendemen dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 4.3 Hasil Uji Golongan Senyawa Bioaktif

Komponen yang terdapat dalam ekstrak *T. sulcata* di uji dengan menggunakan tes warna dengan menggunakan pereaksi pada masing masing senyawa yang diuji. Metode fitokimia tak hanya digunakan untuk mendeteksi metabolit primer tetapi juga untuk mendeteksi metabolit sekunder. Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengujian pada metabolit sekunder yaitu uji alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan fenol hidrokuinon. Hasil uji fitokimia ekstrak daging siput bakau *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia ekstrak siput bakau *Terebralia sulcata*

No	Senyawa Bioaktif	Ada	Tidak	Karakteristik
1	Alkaloid	√		Terdapat endapan berwarna putih/kuning
2	Flavonoid	√		Terdapat warna kuning dan endapan
3	Steroid		√	Tidak terjadi perubahan warna violet ke biru atau hijau
4	Saponin	√		Terbentuknya busa sekitar 7 menit setelah dikocok
5	Fenol Hidrokuinon	√		Terbentuk warna hijau muda

Berdasarkan hasil pengujian fitokimia pada ekstrak *T. sulcata* terhadap pelarut metanol p.a menghasilkan 4 komponen bioaktif dimana merupakan senyawa-senyawa ini merupakan senyawa yang dapat terlarut oleh methanol p.a dan bersifat polar. Senyawa steroid tidak terlihat hasilnya disebabkan karena steroid akan larut pada senyawa non polar. Hal ini didukung oleh pernyataan Putriantri *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa pembentuk steroid adalah kolestrol yang bersifat non polar sehingga di duga steroid dapat larut pada pelarut organik (non polar). Hasil uji fitokimia pada penelitian ini didukung hasil penelitian Sumarto (2011) yang menyatakan bahwa siput bakau tergolong hewan metabolit sekunder, yang artinya memiliki senyawa aktif yang tidak dimiliki hewan lain. Di duga senyawa-senyawa metabolit sekunder ada pada siput bakau karena siput tersebut memakan serasah mangrove yang jatuh. Tumbuhan memiliki banyak senyawa bioaktif karena melakukan proses fotosintesis. Berikut adalah ulasan 4 golongan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak sipu bakau *T. sulcata*.

#### 4.3.1 Alkaloid

Hasil uji fitokimia ekstrak *Terebralia sulcata* menunjukkan hasil positif dengan menggunakan pereaksi Mayer yang ditandai dengan terdapat endapan berwarna putih atau kuning. Hasil uji fitokimia alkaloid dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 12. Hasil Uji Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa alami metabolit sekunder pada tanaman, hewan maupun jamur. Alkaloid merupakan golongan terbesar dari senyawa hasil dari metabolit sekunder yang pembentukannya berdasarkan prinsip campuran. Senyawa alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen pada struktur sikliknya (Nurjanah *et al.* 2011). Efek fisiologis yang kuat dan selektivitas dari senyawa alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat bermanfaat terutama di bidang pengobatan (Suptijah, 2013). Sebagian besar alkaloid yang ditemukan di alam memiliki keaktifan secara biologis, ada yang berguna bagi pengobatan namun ada juga yang bersifat racun. Senyawa alkaloid juga dapat menetralkan zat racun yang masuk ke dalam tubuh organisme. Senyawa alkaloid merupakan substansi organik yang tidak bersifat penting bagi organisme yang

menghasilkannya, tidak menutup kemungkinan bahwa komponen alkaloid pada *T. sulcata* berasal dari makanan yang dikonsumsi oleh *T. sulcata*. Alkaloid juga dapat bermanfaat sebagai antianalgesik atau penghilang rasa sakit (Sumarto, 2011).

Antioksidan juga mengandung senyawa alkaloid. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Suptijah (2013) bahwa senyawa yang mengandung antioksidan banyak terdapat pada alkaloid, steroid, flavonoid dan saponin. Menurut Porto *et al.* (2009) alkaloid yang memiliki potensi antioksidan dapat berperan sebagai pelindung dari sinar UV (UV-B dan UV-C). Untuk mengetahui lebih lanjut tentang jenis alkaloid yang terkandung pada methanol perlu dilakukan pengujian menggunakan kromatografi sehingga diketahui jumlahnya dan diketahui fungsi fisiologisnya dengan tepat.

#### 4.3.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif apabila terdapat warna kuning atau kuning cerah dan terdapat endapan di bawahnya. Menurut Putri (2012), uji positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga. Hasil uji flavonoid dengan metode fitokimia dapat dilihat pada Gambar 13



Gambar 13. Hasil uji Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok dari senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan karena mampu menghambat banyak reaksi oksidasi. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Sumarto (2011), flavonoid dapat bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan super peroksida. Senyawa flavonoid juga berfungsi melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Selain itu berfungsi sebagai antimikroba, flavonoid berfungsi antioksidan, antiinflamasi, antibiotik, mencegah tulang keropos dan pada kadar berlebihan dapat bersifat toksik dan biota laut seperti lamun *H. johsonni* memiliki senyawa aktif sitosolik flavonoida yang berfungsi sebagai antioksidan. Pada dosis rendah berguna sebagai stimulant pada jantung manusia.

Flavonoid berbentuk aglikon maupun terikat pada gula sebagai glikosida karena mempunyai sejumlah gugus gula. Flavonoid bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, air dan lain-lain (Andriyani, 2009). Penggunaan methanol sebagai pelarut untuk flavonoid juga di dukung dengan pernyataan Neldawati *et al.* (2013), bahwa spectrum flavonoid biasanya ditemukan dalam pelarut methanol dan etanol, spectrum dengan nilai maksimal 230-295 nm dan 300-560 nm. Menurut Neldawati *et al.* (2013), adanya flavonoid pada hewan berasal dari tumbuhan yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak di biosintesis dalam tubuh mereka.

#### 4.3.3 Steroid

Reaksi positif pada uji steroid ditandai dengan perubahan warna violet ke biru atau hijau. Namun pada hasil uji penelitian ini tidak terlihat adanya perubahan warna yang terjadi. Steroid tetap berwarna violet dan menunjukkan

hasil yang negatif dan disimpulkan bahwa di dalam daging *Terbralia sulcata* tidak terdeteksi. Hasil uji steroid dapat dilihat pada Gambar 23.

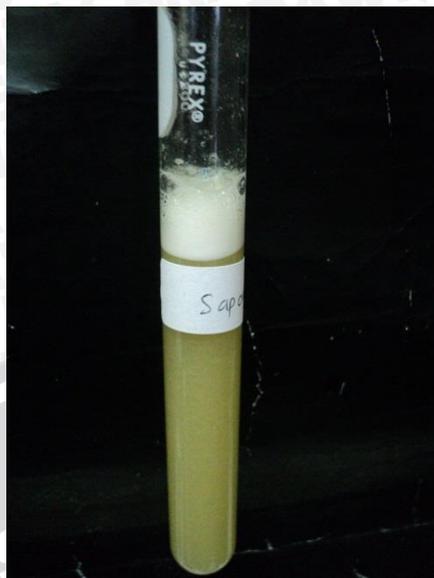


Gambar 14. Hasil Uji Steroid

Hasil uji yang menunjukkan tidak terjadi perubahan warna pada senyawa steroid diduga disebabkan karena methanol p.a yang digunakan sebagai pelarut tidak dapat melarutkan senyawa steroid. Hal ini didukung oleh penelitian Putri (2013), pada siput bakau *T. telescopium* steroid hanya muncul pada pelarut kloroform (non polar) dan etil asetat (semi polar).

#### 4.4.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun sehingga keberadaanya dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin tergolong dalam senyawa terpenoid (Suptijah, 2012). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setelah dikocok selama 7 menit, ekstrak siput *Terebralia sulcata* menghasilkan busa yang mengindikasikan positif mengandung saponin. Hasil uji saponin dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil Uji Saponin

Menurut Nafisah *et al.* (2014), timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida dalam ekstrak yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi gula dan senyawa lainya. Saponin juga merupakan jenis glikosida yang umumnya banyak ditemukan pada tumbuhan, karakteristiknya membentuk busa disebabkan karena saponin dapat larut dalam air tetapi tidak larut dalam ester.

Saponin memiliki rasa yang pahit dan dapat menyebabkan iritasi pada selaput lendir. Saponin banyak digunakan sebagai racun pada ikan dan musuh bagi organisme tersebut, selain itu juga bersifat keras dan beracun yang disebut dengan sapotoksin (Sumarto, 2011). Senyawa saponin juga berfungsi sebagai antibiotik dan penurun kolestrol (Farnsworth, 1996). Saponin juga berkontribusi sebagai anti jamur dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan membran sterol sehingga protein dan enzim dalam sel mikroba terlepas (Suptijah, 2013).

#### 4.4.5 Fenol Hidrokuinon

Senyawa kuinon terdapat sebagai glikosida dan dapat larut dalam lemak, sedikit larut dalam air dan sering terdeteksi di tumbuhan, sedangkan fenol memiliki sifat polar sehingga larut dalam pelarut polar, dan akan berkurang seiring dengan menurunnya tingkat kepolaran pelarut (Harborne, 1987). Fenol Hidrokuinon akan menunjukkan hasil positif ketika terjadi perubahan warna menjadi hijau atau hijau biru. Hasil uji fenol hidrokuinon dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Hasil Uji Fenol Hidrokuinon

Hasil uji fenol hidrokuinon menunjukkan nilai positif dengan perubahan warna menjadi hijau sedikit kuning dan diduga nilainya lemah. Terdeteksinya fenol hidrokuinon juga diduga karena penggunaan pelarut dalam ekstrak yaitu metanol yang memiliki sifat polar sehingga senyawa fenol hidrokuinon dapat larut dan terdeteksi. Antioksidan golongan fenol meliputi antioksidan yang dihasilkan oleh alam dalam jumlah kecil, serta banyak digunakan dalam bahan pangan (Harborne, 1987).

#### 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan molekul elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa merusak atau mengganggu kerja fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Miryanti, 2011). Fungsi lainnya adalah mencegah penuaan atau *antiaging*. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antioksidan pada daging *Terebralia sulcata*.

Reaksi positif dari aktivitas antioksidan adalah radikal bebas DPPH akan menjadi DPP Hidrazil yang stabil, dan apabila dilihat dengan mata akan menunjukkan warna kuning (Haryoto, 2004). Perubahan warna terjadi karena senyawa ekstrak memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga DPPH tereduksi menjadi DPPH yang lebih stabil. Hasil uji aktivitas antioksidan pada daging *T. sulcata* baik pada kontrol positif dan sampel ekstrak daging tidak menunjukkan warna kuning. Vitamin C yang menjadi kontrol positif juga tidak mengalami perubahan warna, hal ini diduga kecilnya konsentrasi uji yang digunakan Vitamin C untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif

Pengukuran absorpsi dengan menggunakan spektrofometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm untuk mengetahui nilai absorpsi dari warna yang terbentuk. Setelah itu dilakukan perhitungan nilai persen inhibisi dan nilai  $IC_{50}$  dari aktivitas antioksidan kontrol positif yaitu vitamin C maupun ekstrak daging *Terebralia sulcata*. Untuk dapat mengetahui nilai  $IC_{50}$  perlu dilakukan perhitungan inhibisi terlebih dahulu. Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan dalam menghambat aktivitas radikal bebas. Nilai ini berhubungan dengan konsentrasi bahan, sedangkan nilai  $IC_{50}$  adalah nilai untuk mengetahui apakah bahan uji dapat menunjukkan aktivitas antioksidan (menghambat radikal bebas) sebesar 50%. Hasil uji aktivitas antioksidan daging *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Tabel 6 dan hasil uji aktivitas antioksidan pada kontrol positif yaitu vitamin C dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 6. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan  $IC_{50}$  ekstrak *Terebralia sulcata*

No	Konsentrasi	Absorpsi	%Inhibis	$IC_{50}$ (ppm)
1	200	1.286	34.52138	770.57
2	400	1.16	40.93686	
3	600	1.058	46.13035	
4	800	0.978	50.20367	
	Blanko		1.964	

Tabel 7. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan  $IC_{50}$  kontrol positif Vitamin C

No	Konsentrasi	Absorpsi	%Inhibis	$IC_{50}$ (ppm)
1	2	1.583	19.39919	9.64
2	4	1.385	29.48065	
3	6	1.188	39.5112	
4	8	1.153	41.29328	
	Blanko		1.964	

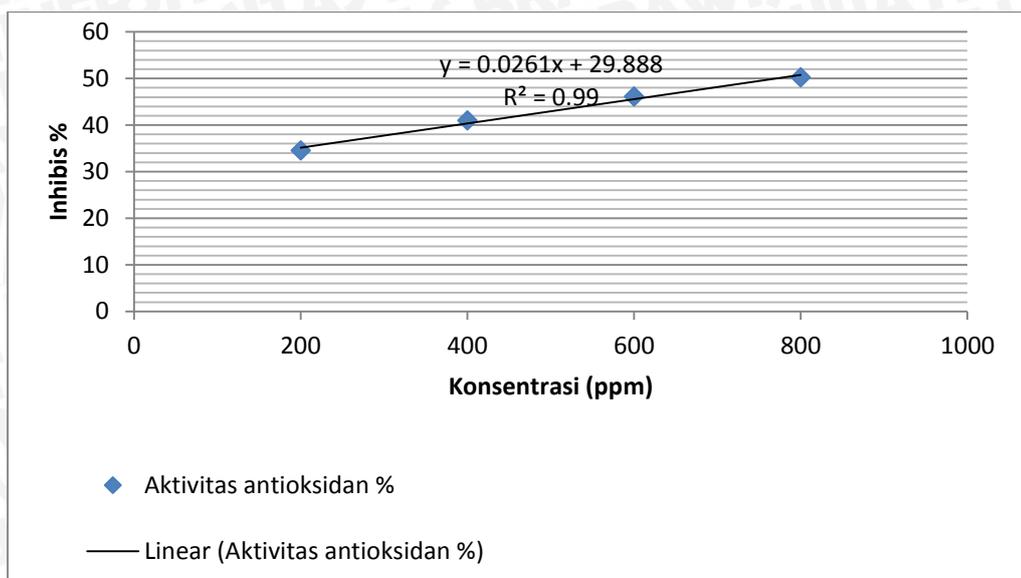
Menurut Rahmayani *et al.* (2013), nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi yang dapat menyebabkan berkurangnya 50% aktivitas DPPH, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  (<50 ppm) maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Perhitungan nilai inhibisi dapat dilihat pada Lampiran 2.

Hasil uji berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak daging siput bakau yaitu 770,57 dan sangat berbeda jauh dari nilai IC<sub>50</sub> untuk kontrol positif yaitu 9,64. Hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak daging *Terebralia sulcata* juga tidak jauh berbeda dari penelitian yang telah dilakukan oleh Rahmayani *et al.* (2013) pada siput bakau *Telescopium telescopium* yang memiliki nilai aktivitas antioksidan sangat lemah pada pelarut methanol yaitu 2329,81. Nilai IC<sub>50</sub> pada vitamin C yang tergolong sangat tinggi juga tidak jauh berbeda dari penelitian Hidayah *et al.* (2004), yang menunjukkan aktivitas antioksidasi pada Umbi Bawang Dayak, dimana nilai IC<sub>50</sub> vitamin C yaitu 7,10. Hasil klasifikasi antioksidan berdasarkan data yang ada dapat dilihat pada Tabel 8.

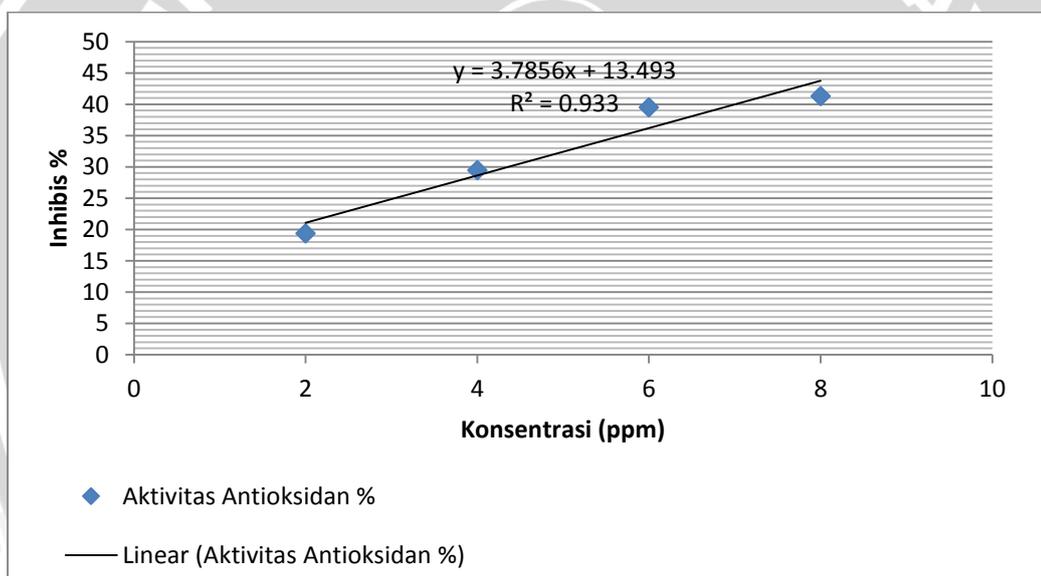
Tabel 8. Hasil klasifikasi antioksidan

No	Sampel	Nilai IC <sub>50</sub>	Nilai Standar (Rahmayani <i>et al.</i> , 2013)	Keterangan
1	Ekstrak siput bakau <i>Terebralia sulcata</i>	770,57	>200 ppm	Sangat Lemah
2	Vitamin C	9,64	<50 ppm	Sangat Kuat

Ekstrak daging siput bakau *Terebralia sulcata* memiliki aktivitas antioksidan sama halnya dengan vitamin C walaupun dengan klasifikasi yang berbeda. Pengujian antioksidan juga menghasilkan hubungan antara nilai inhibisi dengan konsentrasi. Hubungan konsentrasi dan inhibisi ekstrak *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Gambar 18 dan hubungan konsentrasi dengan inhibisi pada vitamin C dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 18. a). Grafik hubungan konsentrasi dan persen inhibisi ekstrak siput



Gambar 19. b). Grafik hubungan konsentrasi dan persen inhibisi vitamin C

Gambar 18 dan 19 menunjukkan adanya keterkaitan nilai inhibisi dengan konsentrasi. Persamaan regresi dari ekstrak daging *Terebralia sulcata* yaitu  $Y = 0,0621x + 2,988$  dan  $x = 770,57$  sedangkan pada Vitamin C persamaan  $Y = 3,7856x + 13.493$  dan  $x = 9,64$ . Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linier yaitu nilai x. Hasil dari perhitungan  $y = 50$  akan di dapatkan nilai x sebagai hasil  $IC_{50}$ . Nilai  $0,0621x$  pada persamaan *Terebralia sulcata* dan  $3,7856x$  pada persamaan Vitamin C disebut juga slope yang

menentukan arah regresi linier. Nilai slope yang positif menunjukkan hubungan yang positif, artinya makin tinggi nilai x maka makin besar nilai Y begitupun sebaliknya jika slope negatif. Hasil regresi pada penelitian ini menunjukkan slope positif hal ini dapat dikatakan bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi dan nilai inhibisi. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi nilai inhibisi. Menurut penelitian Rahmayani (2013) tentang antioksidan pada *Telescopium telecopium*, di dapatkan hasil persamaan regresi linier juga menunjukkan keeratan hubungan yang signifikan antara konsentrasi pelarut dan penghambat (Inhibisi).

Pada Grafik regresi linier *Terebralia sulcata* diketahui Koefisien Determinasi ( $R^2$ ) 0,99 sedangkan Koefisien Determinasi ( $R^2$ ) Vitamin C adalah 0,933. Dari 0,99 didapatkan pengakaran 0,994 sedangkan dari 0,933 pada vitamin c didapatkan pengakaran 0,96. Hasil pengakaran (0,994 dan 0,96) merupakan Koefisien Korelasinya. Dapat diartikan korelasi antara konsentrasi dan nilai inhibisi pada *Terebralia sulcata* adalah 0,994 dan dikategorikan sangat kuat sedangkan pada Vitamin C juga memiliki korelasi yang sangat kuat yaitu 0,96 sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai inhibisi *Terebralia sulcata* dipengaruhi oleh konsentrasi sebanyak 99% sedangkan sisanya sebesar 1% merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya, begitu juga pada Vitamin C yang nilainya dipengaruhi oleh konsentrasi sebanyak 96%, sedangkan sisanya sebesar 4% merupakan faktor lain diluar variabel bebasnya. Dapat disimpulkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak maka nilai inhibisi akan semakin meningkat. Hal ini di dukung oleh pernyataan dari Fitriana *et al.* (2015), bahwa presentase hambat inhibisi terhadap aktivitas antioksidan akan meningkat seiring meningkatnya ekstrak.

Data dari Tabel 8 menunjukkan bahwa aktivitas vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dari senyawa antioksidan yang

terdapat pada ekstrak *Terebralia sulcata*. Hal ini dibuktikan dari nilai  $IC_{50}$  yang menunjukkan nilai yang jauh berbeda. Hal ini kemungkinan terjadi karena ekstrak daging siput yang digunakan bukan merupakan ekstrak murni. Adanya senyawa-senyawa yang tidak memiliki potensi antioksidan juga terlarut dalam ekstrak daging sehingga kemungkinan dapat mempengaruhi hasil pengujian antioksidan, hal ini diperkuat dengan hasil penelitian beberapa jurnal yang menunjukkan bahwa pada ekstrak kasar yang terlarut beberapa senyawa selain senyawa antioksidan menyebabkan hasil uji lemah. Pada penelitian Rahmayani *et al.*,(2013) tentang uji antioksidan pada *T. telescopium* dengan menggunakan ekstrak kasar menunjukan aktivitas sangat lemah dengan nilai 2329,81 ppm pada pelarut methanol. Hasil yang sama juga ditunjukan pada penelitian Nurjanah *et al* (2011) tentang uji antioksidan pada kerang pisau (*Solen pp*) menunjukan aktivitas sangat lemah pada pelarut methanol yaitu 1391,08 ppm dengan ekstrak kasar. Terjadi hasil yang sangat berbeda ketika uji aktivitas antioksidan menggunakan bahan dari ekstrak yang lebih murni, hasil penelitian dari Filbert *et al.*,(2014), tentang aktivitas antioksidan pada fraksi metanol dan ekstrak metanol pada kulit kayu biji pinang menunjukan nilai aktivitas antioksidan yang kuat yaitu 8,3 ppm.

Lemahnya hasil aktivitas antioksidan pada penelitian ini diduga juga mendapat pengaruh dari kondisi lingkungan dari habitat sampel yang digunakan. Sampel *T. sulcata* diambil dari pantai Clungup Malang Selatan dimana perairan yang menjadi habitat *T. sulcata* tergolong perairan yang bersih dan tidak tercemar sehingga dalam menghasilkan senyawa bioaktifnya tidak begitu banyak apabila dibandingkan dengan sampel yang diambil dari perairan tercemar, dimana pada lingkungan tercemar biota akan melakukan mekanisme kimiawi di dalam tubuhnya untuk mempertahankan diri dari kondisi sekitarnya yang kurang menguntungkan. Menurut Samsudin (2008), senyawa

metabolit sekunder pada organisme laut digunakan untuk mempertahankan diri dari gangguan organisme lain dan gangguan lingkungan yang tidak menguntungkan atau lingkungan yang ekstrem.

Walaupun tergolong lemah tetapi ekstrak dari daging *Terebralia sulcata* memiliki potensi sebagai antioksidan karena di dalamnya terdapat beberapa senyawa-senyawa yang merupakan senyawa antioksidan. Pernyataan ini juga didukung oleh Sumarto (2011), bahwa senyawa flavonoid berfungsi sebagai antioksidan. Oleh karena itu untuk mendapatkan hasil pengujian antioksidan sebaiknya dilakukan pemurnian senyawa-senyawa antioksidan pada daging siput sehingga di dapatkan hasil yang lebih tinggi nilainya. Seperti halnya pada vitamin C yang telah diuji sesuai dengan prosedur laboratorium dan pemurnian yang terpercaya sehingga di dapatkan aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat.



## BAB V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, siput bakau (*Terebralia sulcata*) menunjukkan aktivitas antioksidan tergolong sangat lemah pada konsentrasi  $IC_{50}$  sebesar 770,57 ppm dibandingkan dengan kontrol positif yaitu vitamin C yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada konsentrasi  $IC_{50}$  sebesar 9,64 ppm.

Hasil pengujian golongan senyawa bioaktif di dapatkan kesimpulan bahwa pada siput bakau *Terebralia sulcata* mengandung senyawa – senyawa yaitu Alkaloid, Flavonoid, Saponin dan Fenol Hidrokuinon.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat di berikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan pemurnian senyawa bioaktif yang memiliki potensi antioksidan seperti flavonoid sehingga dapat di dapat ekstrak senyawa murni dan di uji aktivitas antioksidan secara murni. Selain itu perlu dilakukan uji kuantitatif senyawa bioaktif sehingga dapat diketahui nilai yang terkandung pada masing-masing senyawa.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, F. Ferawati, dan Arqomah R. 2013. Ekstraksi Zat Warna Dari Kelopak Bunga Rosela (Study Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat Dan Asam Sitrat). *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. 19 No.1.
- Andriyanti, R. 2009. Ekstraksi Senyawa Aktif Antioksidan dari Lintah Laut (*Discodoris sp*) Asal Perairan Belitung. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. Vol. 13. No.2.
- Buck DF. 1991. *Antioxidants*. Didalam: J. Smith, editor. *Food Additive User's Handbook*. UK: Blackie Academic & Profesional, Glasgow.
- Dia, S. P. S. Nurjanah, Jacob, A. M. 2015. Chemical Composition, Bioactive Component and Antioxidant Activities from Root Bark and Leaf Lindur. *Jurnal Pengelolaan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. 18 No.2.
- Diantika, F. Sutan S. M. Yulianingsih, R. 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (*Thebroma cacao L.*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 15 No.3 Hal 159-164.
- Dungir, G. S. Katja, G. D. Kamu, S. K. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE*. Vol.1 No.1 Hal 11-15.
- Farnsworth, N. R., (1996). Biological and Phytochemical Screening of Plants, of Pharm. Sci., Vol 5, No. 3
- Filbert., Kaleangan, H.J.S. Runtuwene, M. R. J. Kamu, V. S. 2014. Penentuan Antioksidan Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Metanol dan Fraksi Metanol Hasil Partisi Pada Kulit Pinang Yaki (*Arecavestiasi grece*). *Jurnal MIPA UNSRAT*. Vol 3. No. 2 Hal 149-154.
- Fitriana, W. D. Fatmawati, S. dan Ersan, T. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Prosiding Simposium asional Inovasi dan Pembelajaran Sains*. Bandung.
- Harbonne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Harliansyah. 2005. Mengunyah Halia Menyah Penyakit. *Paksi Jurnal Indonesian Student Association in Malaysia*. Selangor.
- Haryoto, Satoso, B. dan Nugroho, H. 2007. Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang *Shorea acuminatissima* dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol.8 No.2 Hal 158-164.
- Hasnidar, Y. Purnama, D. Bachtiar, D. 2013. Study Jenis Dan Kelimpahan Gastropoda di Ekosistem Padang Lamun Perairan Desa Kahyapu Enggano Kabupaten Bengkulu Utara. *Tesis*. Fakultas Pertanian. Bengkulu.

- Hidayah, A. S. Mulkiya, K. Purwanti L. 2015. Uji Antioksidan Umbi Bawang Dayak (*Eleutherinebulbosa Merr.*) *Prosiding Penelitian SpeSIA Unisha ISSN 2460-6472*. Prodi Farmasi FMIPA. Universitas Islam Bandung
- Houghton PJ, Raman A. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natutal Extracts*. London: Chapman and Hall.
- Inggrid, M. H. Santoso, H. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *LPPM No.3/10P*. Universitas Katolik Parahyangan.
- Jasamani, 2014. Struktur Gastropoda Pada Ekosistem Mangrove Desa Maranu, Kecamatan Lau Kabupaten Maros. *Skripsi*. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Kannan, A. Hettiarachchy, N. Naryan S. 2009. Colon and Breast Anti-cancer Effect of Peptide Hydrolysates Derived from Rice Bran. *The Open Bioactive Coumpounds Journal Vol.2 Hal 17-20*.
- Kepmen, 2004. Baku Mutu Air Laut Biota Laut Lampiran 3. Keputusan Menteri Lingkungan Hidup.
- Kusumowati, I. T. D. Sudjono, T. A. Suhendi, A. Da'l, M. Wirawati, R. 2012. Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Obat Indonesia (*Piper bettle, Sauropus androgynous, Averrhoa blimbi, dan Guazuma ulmifolia*). *Jurnal PHARMACON Vol.13 No.1*.
- Mardiyana, 2014. Faktor Lingkungan Perairan serta Aktivitas Antioksidan *Thalassia hemprichii* di Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu DKI Jakarta. *Thesis*. Institute Pertanian Bogor. Bogor
- Miryanti, A. Y. I.P. Sapei, L. Budiono, K. Indra, S. 2011. Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*). Lembaga *Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. Universitas Katolik Parahyangan.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical dyhenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journals science and technology*
- Murniasih, T. 2005. Substansi kimia untuk pertahanan diri dari hewan laut tak bertulang belakang. *Jurnal Oseana*. Vol. o230 N. Hal 19-27
- Nafisah, M. Suyanto, Tukiran dan Hidayati, N. 2014. Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Negeri Surabaya
- Nasution, S. 2001. Metode Reaserch (Penelitian Ilmiah). Jakarta: Bumi Aksara
- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorpsi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Jurnal Pillar of Physics*. Vol.2 Hal 76-83.

- Nurjanah, L. Hardjito, D. Monintja, M. Bintang, D. R. Agungpriyono. 2009. Aktivitas Antioksidan Lintah Laut (*Discodoris sp.*) Dari Perairan Pulau Buton Sulawesi Tenggara. *Prosiding Seminar Pengelolaan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurjanah, Izzati, L. Abdullah, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol.16 No.3 Hal 119-124.
- Pratt, D.E. dan B.J.F. Hudson. 1990. *Natural Antioxidants not Exploited Commercially*. Di dalam : B.J.F.Hudson, editor. *Food Antioxidants*. London: Elsevier Applied Science.
- Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Mata Merah (*Cerithidea obtuse*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol 17 No.1 Hal 39-48.
- Putri, M. K. D., Pringgenies, D., Radjasa, O. K. 2012. Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research*. Vol1. No.2 Hal 58-66.
- Putrianti, I. R. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornate dari Jepara. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Porto DD, Henriques AT, Fett-Neto AG. 2009. Bioactive alkaloids from South American Psychotria and related species. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2:29-36.
- Rahmayani, U. Pringgenies, Djunaedi A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopim telescopium*) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Metode DPPH. *Journal Of Marine Research Vol 2, No. 4, Hal 36-45*.
- Robinson T. 1995. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Edisi keenam. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The organic constituents of higher plants*.
- Romansyah, Y. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidan Karang Lunak *Sarcophyton sp.* Alami dan Transplantasi di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu. *Skripsi*. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Samsudin. 2008. Azadirachtin Metabolit Sekunder dari Tanaman Mimba sebagai Bahan Insektisida Botani. Lembaga Pertanian Sehat.
- Salamah, E. Purwaningsih S. Permatasari, E. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Pada Selada Air (*Nasturtium officinale L. R. Br*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia Vol.14 No.2 Hal 85-91*.
- Saptarini, D. Trisnawati, I. Hadiputra, M. A. 2010. Struktur Gastropoda (Moluska) Hutan Mangrove Sendang Biru Malang Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. Jurusan Biologi. Institut Sepuluh November. Surabaya.

- Sastrohamidjojo, H. 1996. Sintesis Bahan Alam. *University Press* xiv, 929 hlm. illus. 23 cm. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sirait M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: ITB.
- Sumarto, Sujoko. 2010. Karakteristisasi Penerimaan Konsumen dan Mutu Kerupuk Siput Bakau (*Terebralia sulcata*). *Jurnal Perikanan Kelautan*. Vol.15 No.01.
- Sunarni, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Famili Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol.2 No.2, Hal 53-61.
- Sumarto, Desmelati, Dahlia, Hasan, B. Azwar, M. 2011. Penentuan Senyawa Bioaktif Ekstrak Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata*) dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk* Vol 39 No.2 ISSN 0126-4265.
- Suptijah, P. Yanuarizki, O. dan Nurjanah. 2013. Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Kerang Simping (*Amusium pleuronectes*). *Jurnal Pengelolaan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol.16 No.3.
- Susanto, I.S. 2010. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada keong mas (*Pomacea canaliculata* Lamarck). *Skripsi*. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Tamat, S. R. Wikanta, T. Maulina L. S. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulate* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Hal 31-36 ISSN 1693-1831.
- Umayah, E. Amrun M. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus*). *Jurnal Ilmu Dasar Farmasi*. Vol.8 No.1 Hal 83-90.
- Utari, R. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik Lendir Siput Bakau (*Terbralia sulcata*) dengan Metode Sentrifugasi. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Widowati, I., A. B. Susanto, M. Puspita, V. Stiger-Pouvreau and Bourgougnon. 2013. *Potentiality of Using Spreading Sargassum Species from Jepara, Indonesia as an Interesting Source of Antibacterial and Antioxidant Compound : A Preliminary Study*. 21st International Seaweed Symposium. International Seaweed Association Council, Bali, pp. 118 (abstract).
- Wilson, Gisvold. 1982. Kimia farmasi dan medisinal organik. Fatah AM, penerjemah. Semarang: IKIP Press. Terjemahan dari: *Organic medicinal and pharmaceutical chemistry*.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: M-Brio Press.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisus

Zipcodezoo. 2015. Morfologi *Terebralia sulcata* melalui [www.zipcodezoo.com](http://www.zipcodezoo.com)  
diakses tanggal 25 Januari 2016 pukul 10.00 WIB.



## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Perhitungan Rendemen Ekstrak

No	Berat Total	Berat Kering	Berat Ekstrak	Rendemen <i>Terebralia sulcata</i> %	Rendemen Ekstrak %
1.	9780 gr	250 gr	22.22 gr	2,55 %	8,8%

Berat rata-rata *Terebralia sulcata* = 8,25 gr

Panjang rata-rata *Terebralia sulcata* = 4,04 cm

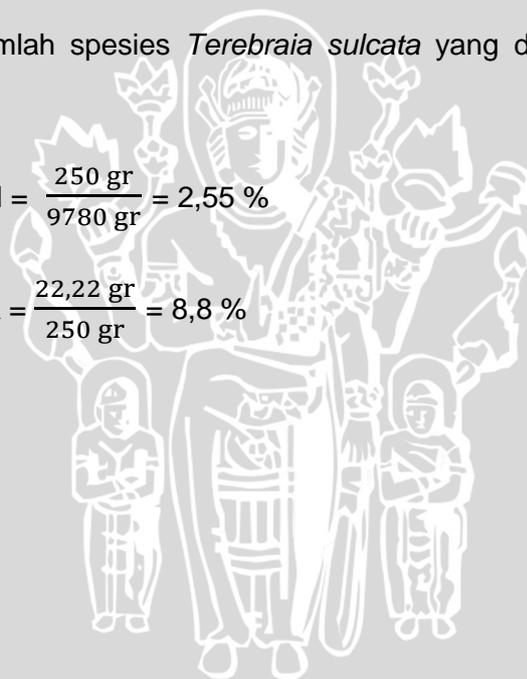
Diameter rata-rata *Terebralia sulcata* = 1,71 cm

Berat sampel yang digunakan =  $\frac{9780}{8,15} = 1.200$

Jadi, diperkirakan jumlah spesies *Terebraia sulcata* yang digunakan adalah 1.200 ekor

% Rendemen Sampel =  $\frac{250 \text{ gr}}{9780 \text{ gr}} = 2,55 \%$

% Rendemen Ekstrak =  $\frac{22,22 \text{ gr}}{250 \text{ gr}} = 8,8 \%$



## Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi dan DPPH

- a. DPPH 0,001 M sebanyak 15 ml ( $M_r = 394\text{g/mol}$ )

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Berat DPPH}}{M_r} \times \frac{1000}{\text{ml Volume}}$$

$$0,001 \text{ M} = \frac{\text{Berat DPPH}}{394} \times \frac{1000}{15}$$

$$\text{Berat DPPH} = \frac{0,001 \text{ M} \times 394 \times 15}{1000} = 0,00591 \text{ gr ( 5,9mg)}$$

- b. Larutan Standar Vitamin C 1000 ppm sebanyak 50 ml

- Larutan stok 1000 ppm  $= \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \times 50 \text{ ml}$   
 $= 50 \text{ mg} = 0,05 \text{ gr}$

Dalam 0,05 gram sampel dilarutkan 50 ml methanol p.a lalu diencerkan menjadi

- Ekstrak 2 ppm  $= V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm}}{1000} = 0,02 \text{ ml}$

0,02 ml vitamin c 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

- Ekstrak 4 ppm  $= V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 4 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 4 \text{ ppm}}{1000} = 0,04 \text{ ml}$

0,04 ml vitamin c 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

- Ekstrak 6 ppm  $= V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 6 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 6 \text{ ppm}}{1000} = 0,06 \text{ ml}$

0,06 ml vitamin c 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

- Ekstrak 8 ppm =  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 8 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 8 \text{ ppm}}{1000} = 0,08 \text{ ml}$

0,08 ml vitamin c 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

c. Larutan Standar Ekstrak 1000 ppm sebanyak 50 ml

- Larutan stok 1000 ppm =  $\frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \times 50 \text{ ml}$   
 $= 50 \text{ mg} = 0,05 \text{ gr}$

Dalam 0,05 gram sampel ekstrak dilarutkan 50 ml methanol p.a

- Ekstrak 200 ppm =  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 200 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 200 \text{ ppm}}{1000} = 2 \text{ ml}$

2 ml ekstrak 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

- Ekstrak 400 ppm =  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 400 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 400 \text{ ppm}}{1000} = 4 \text{ ml}$

4 ml ekstrak 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

- Ekstrak 600 ppm =  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 600 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 600 \text{ ppm}}{1000} = 6 \text{ ml}$

6 ml ekstrak 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

- Ekstrak 800 ppm =  $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$   
 $= 10 \text{ ml} \times 800 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$   
 $= \frac{10 \text{ ml} \times 800 \text{ ppm}}{1000} = 8 \text{ ml}$

8 ml ekstrak 1000 ppm ditambah methanol p.a hingga 10 ml

### Lampiran 3. Perhitungan Nilai Inhibisi

Perhitungan nilai inhibisi menggunakan rumus

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ sampel})}{A \text{ blanko}} \times 100$$

#### a) Persen Inhibisi Ekstrak *T.sulcata*

- %Konsentrasi 200 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,286)}{1,964} \times 100 = 34,52$
- %Konsentrasi 400 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,16)}{1,964} \times 100 = 40,93$
- %Konsentrasi 600 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,058)}{1,964} \times 100 = 46,13$
- %Konsentrasi 200 ppm =  $\frac{(1,964 - 0,798)}{1,964} \times 100 = 50,20$

#### b) Persen Inhibisi Vitamin C

- %Konsentrasi 2 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,583)}{1,964} \times 100 = 19,39$
- %Konsentrasi 4 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,064)}{1,964} \times 100 = 45,82$
- %Konsentrasi 6 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,188)}{1,964} \times 100 = 39,51$
- %Konsentrasi 8 ppm =  $\frac{(1,964 - 1,153)}{1,964} \times 100 = 41,29$

#### Lampiran 4. Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari nilai persamaan  $Y=ax+b$ , dimana nilai  $y$  diganti dengan 50.

c) IC<sub>50</sub> dari Ekstrak *T. sulcata*

- $Y = 0,0261x + 29,888$   
 $50 = 0,0261x + 29,888$   
 $50 - 29,888 = 0,0261x$   
 $20,112 = 0,0261x$   
 $770,57 = x$

d) IC<sub>50</sub> dari Vitamin C

- $Y = 3,785x + 13,493$   
 $50 = 3,785x + 13,493$   
 $50 - 13,493 = 3,785x$   
 $36,507 = 3,785x$   
 $9,64 = x$



Lampiran 5. Tabel ANOVA Persamaan Regresi Linier

a. Ekstrak *T. sulcata*

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>	<i>F tab 5%</i>	<i>F tab 1%</i>
Regression	1	136.4526	136.4526	198.91837	0.004989594	18.5128205	98.50251
Residual	2	1.371946	0.685973				
Total	3	137.8245					

b. Ekstrak Vitamin C

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>	<i>F tab 5%</i>	<i>F tab 1%</i>
Regression	1	286.6216	286.6216	27.85444	0.034076458	18.51282	98.50251
Residual	2	20.57996	10.28998				
Total	3	307.2016					



### Lampiran 6. Pengambilan Sampel di Lapangan



a). Habitat *T. sulcata* di Pantai Clungup



b). Pengambilan sampel *T. sulcata*



c). Pengukuran nilai salinitas



d). Pengukuran nilai pH



e). Pengukuran nilai D.O

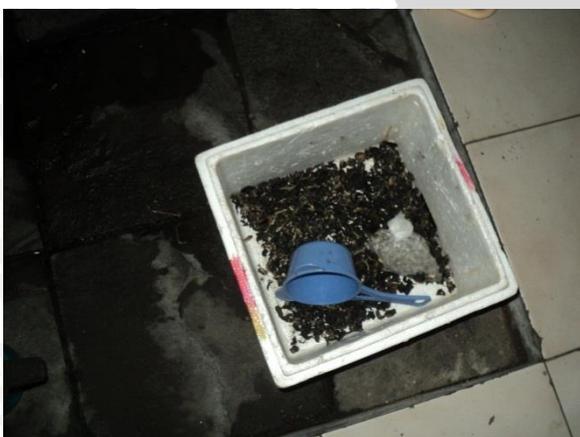
### Lampiran 7. Preparasi Sampel



a). Sampel *T. sulcata*



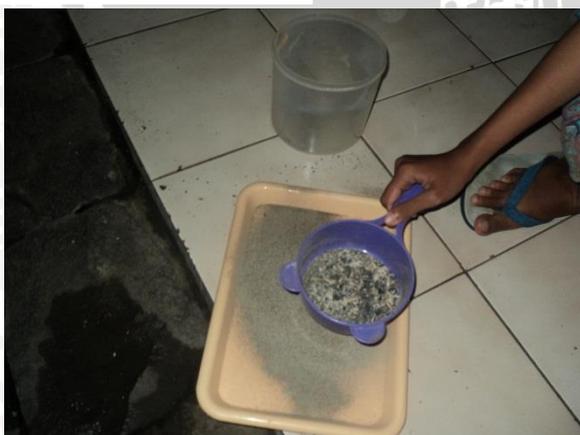
b). Pemisahan daging dan cangkangnya



c). Sampel Kering



d). Sampel dihaluskan dengan blander

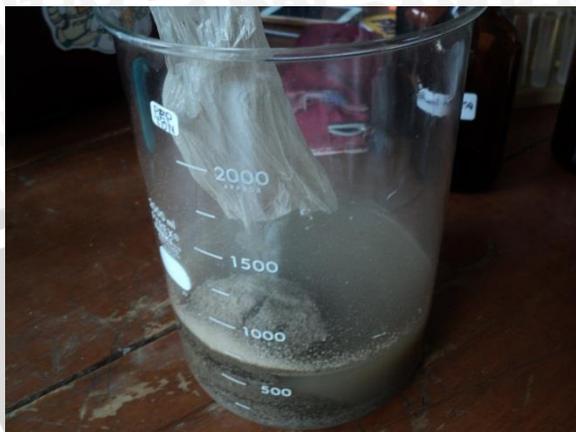


e). Sampel disaring untuk di dapatkan serbuk

Lampiran 8. Proses Ekstraksi dan Maserasi



a). Serbuk sampel ditimbang



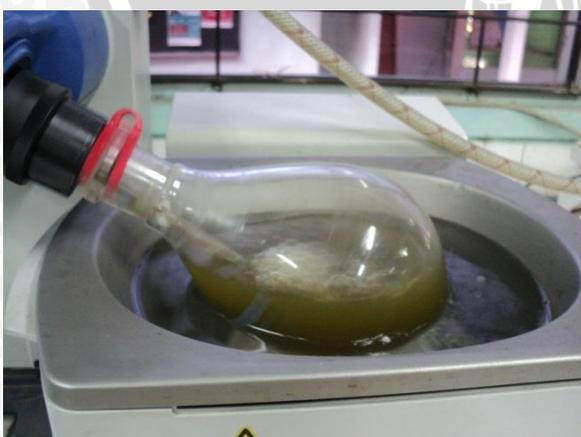
b). Pencampuran serbuk sampel dan methanol p.a



c). Serbuk sampel dimaserasi



d). Serbuk sampel disaring



e). Sampel dievaporasi



f). Ekstrak pasta dimasukan ke gelas kaca

Lampiran 9. Proses Uji Antioksidan



a). Ekstrak ditimbang



b). Pembuatan Larutan Stok



c). Pengenceran Konsentrasi



d). Sampel ditutup alfo setelah ditetesi DPPH



e). Hasil Uji Antioksidan



f). Sampel di Uji Nilai Absorbsinya

### Lampiran 10. Uji Fitokimia



a). Reagen Fitokimia



b). Hasil Uji Fitokimia