

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
EKSTRAK ALGA COKLAT *Padina australis***

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

Oleh:  
**AGUNG KURNIAWAN  
NIM. 115080301111017**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
EKSTRAK ALGA COKLAT *Padina australis***

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Oleh:  
**AGUNG KURNIAWAN  
NIM. 115080301111017**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
EKSTRAK ALGA COKLAT *Padina australis***

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

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

**Oleh:  
AGUNG KURNIAWAN  
NIM. 115080301111017**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

SKRIPSI

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
EKSTRAK ALGA COKLAT *Padina australis*

Oleh:

AGUNG KURNIAWAN

NIM. 115080301111017

telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 26 Januari 2016

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Hardoko, MS)  
NIP. 19620108 1998802 1 001  
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)  
NIP. 19600322 198601 1 001  
Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Bambang Budi S., MS)  
NIP. 19570119 198601 1 001  
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP)  
NIP. 19581231 198601 2 002  
Tanggal :

Mengetahui  
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal :

## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Januari 2016

Mahasiswa

(Agung Kurniawan)

NIM. 115080301111017



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT atas segala limpahan rahmat, rezeki, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan baik.
2. Ayah, Ibu, kakak tercinta atas segala bantuan, motivasi, bimbingan serta doa yang kuat sehingga penulis dapat melalui tahap terakhir ini dengan lancar.
3. Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku dosen pembimbing I serta Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP selaku dosen pembimbing II atas segala bantuan serta bimbingan yang diberikan kepada penulis.
4. Dr. Ir. Hardoko, MS selaku dosen penguji I serta Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen penguji II yang telah memberikan masukan dan perbaikan demi tersusunnya skripsi ini.
5. Tim Antidiabetik (Fati, Ely, Fauzi), Tim Antitumor (Ronald, Dzaki, Ani, Anis, Nadia), Tim Antibakteri (Ria, Dyah Ayu, Dewinta, Rani, Sigibertus) atas segala bantuan kalian selama skripsi mulai awal sampai akhir.
6. Teman-teman FISHTECH FPIK UB 2011 atas segala motivasi, doa dan bantuan kalian.

Malang, Januari 2016

Mahasiswa

(Agung Kurniawan)  
NIM. 11508030111017 .

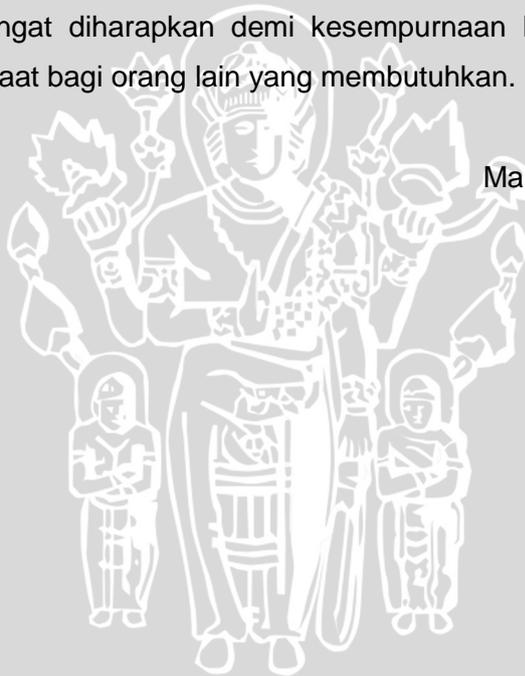
## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur pada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, rezeki serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Coklat *Padina australis*. Dalam penyusunan laporan ini, penulis menyampaikan pokok-pokok bahasan yang meliputi proses pembuatan serbuk alga coklat, jenis dan cara ekstraksi, metode serta cara dalam melakukan skrining fitokimia, dan juga cara dalam melakukan uji aktivitas antioksidan.

Penulis sadar bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna baik dalam pelaksanaan di laboratorium, perhitungan yang kurang teliti, penyusunan laporan dan lain sebagainya. Oleh karena itu, segala kritik, saran serta masukan yang membangun akan sangat diharapkan demi kesempurnaan laporan skripsi ini agar nantinya bermanfaat bagi orang lain yang membutuhkan.

Malang, Januari 2016

Penulis



## RINGKASAN

**AGUNG KURNIAWAN.** Skripsi tentang Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Coklat *Padina australis* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS** dan **Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**).

Antioksidan dapat mencegah ataupun menghambat terjadinya reaksi yang diakibatkan oleh radikal bebas. Banyak sumber alami maupun sintesis yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan salah satunya yaitu alga coklat *Padina australis*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi serta mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* serta untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  ekstrak sampel alga coklat *Padina australis*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai September 2015, bertempat di Laboratorium Perikanan Hasil Perikanan, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan Laboratorium Pusat Penelitian Kimia, LIPI (Lembaga Ilmu dan Pengkajian Ilmiah), Serpong.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksperimen dengan membuat variasi konsentrasi larutan ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* 0 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 200 ppm untuk semua variasi pelarut. Serta dibuat variasi konsentrasi larutan perbandingan (vitamin C) yaitu 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm dan 32 ppm. Metode pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan ialah metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Parameter yang diamati antara lain nilai absorbansi menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis dan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  selanjutnya dianalisa sidik ragam (ANOVA).

Hasil identifikasi senyawa bioaktif ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* menunjukkan bahwa ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* mengandung senyawa alkaloid (reagen wagner (E), reagen dragendorf (C) dan (E), reagen mayer (A) dan (C)), senyawa flavonoid (B) dan (C), senyawa tanin (E), dan senyawa steroid (B) dan (C). Sedangkan uji aktivitas antioksidan ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* yang dimaserasi secara bertingkat dari pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat) dan polar (etanol) didapat nilai  $IC_{50}$  rata-rata pelarut n-heksan  $203,86 \pm 1,16$  ppm, pelarut etil asetat  $188,52 \pm 1,16$  ppm dan pelarut etanol  $182,58 \pm 0,61$  ppm. Sedangkan nilai rata-rata  $IC_{50}$  ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* yang dimaserasi secara bertingkat dari pelarut polar (etanol), semi polar (etil asetat) dan non polar (n-heksan) didapatkan pada pelarut etanol  $182,76 \pm 2,56$  ppm, pelarut etil asetat  $190,77 \pm 1,21$  ppm dan pelarut n-heksan  $204,30 \pm 2,68$  ppm. Nilai  $IC_{50}$  kontrol perbandingan yaitu vitamin C sebesar 4,82 ppm. Dari hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dengan pelarut etanol (C) yang dimaserasi dari pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol memiliki nilai  $IC_{50}$  paling rendah dan termasuk dalam golongan antioksidan lemah.

Pada hasil uji LCMS, ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dengan pelarut etanol (C) terdeteksi memiliki 2 puncak. Senyawa yang terdeteksi pada puncak pertama diduga sebagai senyawa benzidine yang muncul pada *retention time* 2,74 dengan berat molekul 184,16 g/mol dan memiliki rumus molekul  $C_{12}H_{12}N_2$ . Sedangkan senyawa yang terdeteksi pada puncak kedua diduga sebagai senyawa digoxegenin yang muncul pada *retention time* 7,05 dengan berat molekul 391,54 g/mol dan memiliki rumus molekul  $C_{23}H_{34}O_5$ .

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iii
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>RINGKASAN</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan.....	5
1.6 Waktu dan Tempat.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Definisi Rumput Laut.....	6
2.2 Kandungan Kimia Rumput Laut.....	6
2.3 Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	7
2.4 Radikal Bebas.....	8
2.5 Aktivitas Antioksidan.....	9
2.6 <i>Liquid Chromatograph Mass Spectrometry</i> (LCMS).....	12
2.7 Fitokimia.....	13
2.7.1 Alkaloid.....	13
2.7.2 Flavonoid.....	14
2.7.3 Triterpenoid atau Steroid.....	15
2.7.4 Saponin.....	15
2.7.5 Tanin.....	16
2.7.6 Fenol.....	16
2.8 Ekstraksi.....	17
2.9 Pelarut.....	18
2.9.1 N-heksan.....	18
2.9.2 Etil Asetat.....	19
2.9.3 Etanol.....	19
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian.....	20
3.1.1 Alat Penelitian.....	20
3.1.2 Bahan Penelitian.....	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.2.1 Metode.....	21
3.2.2 Variabel.....	22
3.3 Rancangan Penelitian.....	22
3.4 Parameter Uji.....	23

3.5 Analisis Data.....	23
3.6 Prosedur Penelitian.....	23
3.6.1 Proses Ekstraksi Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	23
3.6.2 Skrining Fitokimia.....	25
a. Alkaloid.....	25
b. Flavonoid.....	25
c. Saponin.....	26
d. Tanin.....	26
e. Triterpenoid atau Steroid.....	26
f. Fenol.....	26
g. Asam Galat.....	27
3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan.....	27
3.6.4 <i>Liquid Chromatograph Mass Spectrometry</i> (LCMS).....	28
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Skrining Fitokimia.....	30
4.2 Skring Fitokimia Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	30
4.2.1 Alkaloid.....	31
4.2.2 Flavonoid.....	33
4.2.3 Saponin.....	34
4.2.4 Tanin.....	35
4.2.5 Triterpenoid atau Steroid.....	35
4.3 Uji Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	36
4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	41
4.5 Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan.....	47
4.6 Analisis <i>Liquid Chromatograph Mass Spectrometry</i> (LCMS).....	48
<b>5. PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran.....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	51
<b>LAMPIRAN</b> .....	56

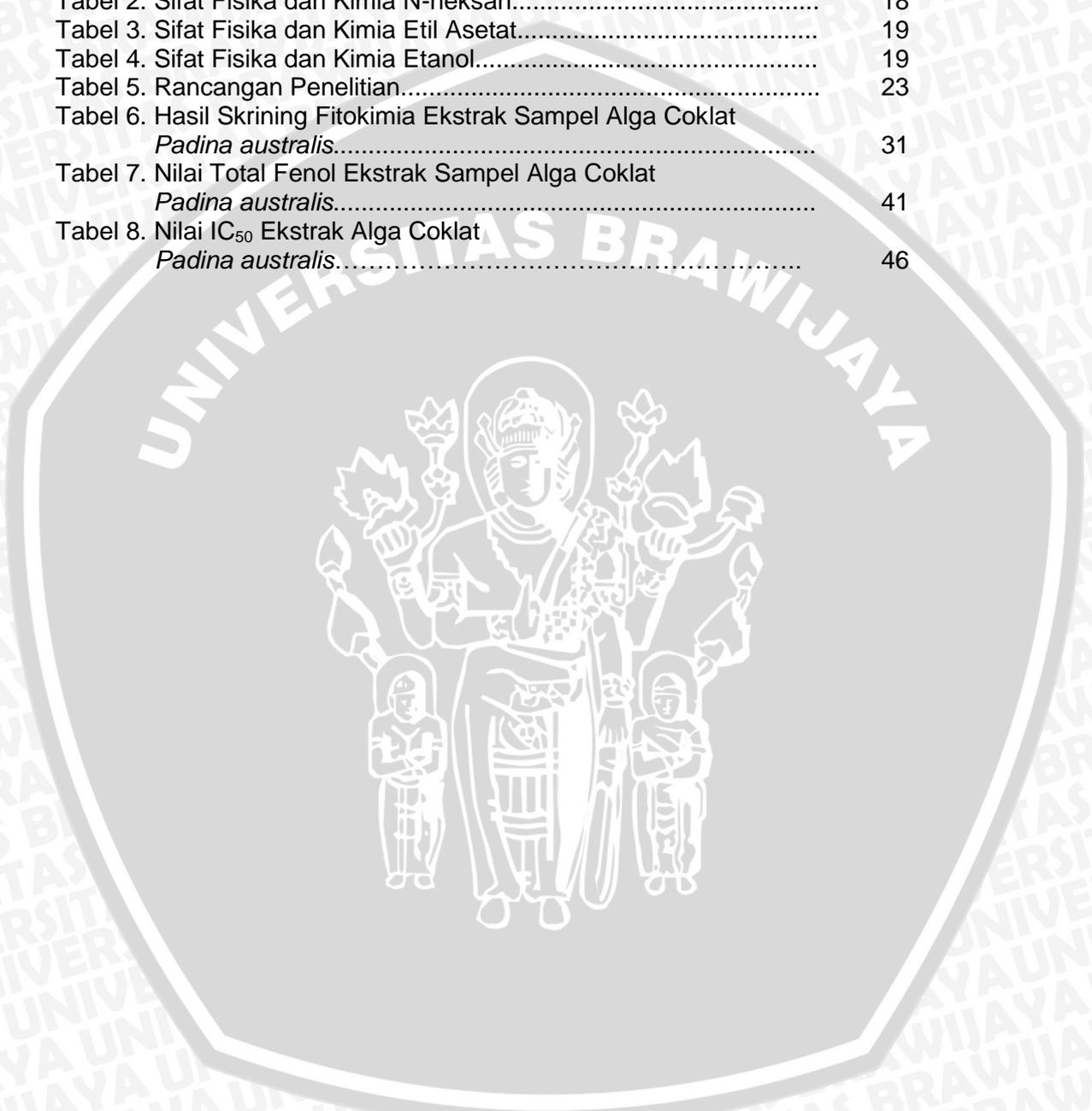
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	8
Gambar 2. Prinsip Reaksi Penangkapan Hidrogen oleh DPPH dari Senyawa Antioksidan.....	11
Gambar 3. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Wagner.....	32
Gambar 4. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorf.....	32
Gambar 5. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Mayer.....	33
Gambar 6. Grafik Rata-rata Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	38
Gambar 7. Prinsip Reaksi Penangkapan Hidrogen oleh DPPH dari Senyawa Antioksidan.....	42
Gambar 8. Rata-rata IC <sub>50</sub> Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	44
Gambar 9. Kromatogram LC Ekstrak Sampel <i>Padina australis</i> Perlakuan (C).....	48



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Metanol.....	11
Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia N-heksan.....	18
Tabel 3. Sifat Fisika dan Kimia Etil Asetat.....	19
Tabel 4. Sifat Fisika dan Kimia Etanol.....	19
Tabel 5. Rancangan Penelitian.....	23
Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	31
Tabel 7. Nilai Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	41
Tabel 8. Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	46



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja.....	56
Lampiran 2. Uji Larutan Standar Asam Galat.....	63
Lampiran 3. Hasil Uji Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	64
Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi dan Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	65
Lampiran 5. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> pada Uji Total Fenol.....	69
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian (Uji Fitokimia).....	71
Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	76
Lampiran 8. Perhitungan.....	79
Lampiran 9. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> pada Uji Aktivitas Antioksidan.....	101
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian (Uji Aktivitas Antioksidan).....	104
Lampiran 11. Hasil Uji Metode LCMS Ekstrak Sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	108



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut yang melimpah di Indonesia merupakan suatu kekayaan alam dimana keberadaannya sangat diharapkan dan harus dilindungi. Namun, saat ini rumput laut banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia, umumnya digunakan baik dalam bidang kesehatan, bidang pangan, bidang kosmetik dan sebagainya karena kualitas dari rumput laut yang diketahui sangat baik. Akan tetapi, dalam pemanfaatannya, tidak semua jenis rumput laut dapat dimanfaatkan karena selain memiliki kandungan bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan, rumput laut juga memiliki beberapa kandungan bioaktif yang dapat bersifat toksik atau racun.

Menurut Sahat (2013), dari beragam jenis rumput laut yang ada di Indonesia, yang sering dibudidayakan, dikembangkan dan diperdagangkan secara luas di Indonesia adalah jenis karaginofit (diantaranya *Euचेuma spinosium*, *Euचेuma edule*, *Euचेuma serra*, *Euचेuma cottonii*, dan *Euचेuma spp*), agarofit (*Gracilaria spp*, *Gelidium spp* dan *Gelidiella spp*), serta alginofit (*sargassum spp*, *laminaria spp*, *ascophyllum spp* dan *macrocystis spp*), yang merupakan bahan baku berbagai industri karena merupakan sumber karagenan (tepung rumput laut), agar-agar dan juga alginat.

Terdapat beberapa jenis rumput laut, salah satunya adalah jenis alga coklat. Adapun ciri-ciri umum alga coklat menurut Juneidi (2004), yaitu thallus berbentuk lembaran (*Padina australis*), bulatan (*Sargassum duplicatum*) atau batangan (*Dictyota bartayresiana*) yang bersifat lunak atau keras, kemudian berwarna pirang atau coklat, serta mengandung pigmen fotosintetik yaitu *carotene*, *fucoxantin*, klorofil a dan c.

*Padina australis* termasuk dalam jenis alga coklat dengan karakteristik morfologinya tipis seperti lembaran menyerupai kipas, seperti yang dijelaskan oleh Juneidi (2004), bahwa thallus *Padina australis* berbentuk seperti kipas, tumbuh menempel pada batu di daerah rataaan terumbu. Sedangkan menurut Palallo (2013), karakteristik morfologi *Padina australis* yaitu bentuk thallus seperti kipas, membentuk segment-segment lembaran tipis (lobus) dengan garis-garis berambut radial dan perkapuran di bagian permukaan thallus daun. Warna coklat kekuning-kuningan atau kadang-kadang berwarna putih karena terdapat perkapuran. Tumbuh menempel pada batu di daerah rataaan terumbu baik di tempat-tempat yang terkena hempasan ombak langsung maupun terlindung.

Telah dilakukan penelitian tentang pemeriksaan karakteristik kandungan logam yang terdapat dalam *Padina australis* yang bermanfaat dalam menjaga kesehatan tubuh. Menurut Fitriya (2010), hasil pemeriksaan kandungan logam pada thalus *Padina australis* yaitu Natrium 1,24 %; Kalium 0,97 %; Magnesium 0,89 %; Kalsium 6,15 % dan Besi 0,76 %. Sehingga pemanfaatan alga ini secara tradisional sebagai makanan oleh masyarakat di wilayah pesisir sangat bermanfaat memenuhi asupan mineral untuk memelihara kesehatan.

Untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam alga coklat *Padina australis* yaitu dengan melakukan skrining fitokimia. Ditambahkan oleh Putranti (2013), fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat.

Radikal bebas memiliki pengaruh negatif yang sangat besar bagi tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga memiliki sifat yang sangat reaktif serta mampu bereaksi dengan DNA, RNA, protein dan lipid. Reaksi antara radikal bebas dan molekul

tersebut berujung pada timbulnya suatu penyakit (Hanindita, 2011). Salah satu cara untuk mencegah masuknya radikal bebas ke dalam tubuh yaitu dengan antioksidan. Radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh akan mampu dicegah atau dihambat oleh antioksidan tersebut sehingga membantu tubuh terhindar dari kerusakan sel-sel yang sangat penting.

Antioksidan yang sangat diperlukan bagi tubuh manusia dapat diperoleh baik yang berasal dari alam maupun sintetis atau buatan. Menurut Hanindita, (2011), turunan fenol, kumarin, hidroksi, sinamat, tokoferol, katekin dan asam askorbat merupakan contoh antioksidan alami. Sedangkan antioksidan sintetis antara lain BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*), BHA (*Butylated Hydroxy Anilin*), PG (*Propil Galat*) dan etoksiquin.

Pemberian antioksidan dan komponen senyawa polifenol menunjukkan dapat menangkap radikal bebas, dapat mengurangi *stress* oksidatif, serta menurunkan ekspresi *Tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ). Senyawa fitokimia ternyata mampu memanipulasi dengan berbagai mekanisme sehingga dapat mengurangi komplikasi diabetes yaitu melalui pengurangan *stress* oksidatif, ROS dan TNF- $\alpha$  (Retnaningsih *et al.*, 2007). Alga coklat *Padina australis* memiliki kandungan bioaktif yang sangat bermanfaat sebagai antioksidan. Turunan senyawa fenol, flavonoid dapat bermanfaat sebagai antioksidan yang kemudian dapat menghambat ataupun mencegah timbulnya suatu penyakit.

Saat ini masih belum banyak penelitian yang membahas tentang kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak alga coklat *Padina australis* yang bermanfaat sebagai antioksidan alami. Selanjutnya, dari hasil penelitian tentang skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis*, diharapkan mampu memberikan informasi baru yang bermanfaat dalam bidang kesehatan bagi masyarakat.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian serta permasalahan-permasalahan diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini antara lain:

1. Senyawa bioaktif apa saja yang terkandung dalam ekstrak alga coklat *Padina australis* pada hasil ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda?
2. Bagaimana hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis*?

### 1.3 Tujuan

Berdasarkan penjelasan rumusan-rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui senyawa bioaktif apa saja yang terkandung dalam ekstrak alga coklat *Padina australis* pada hasil ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda.
2. Mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis*.

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini yaitu:

$H_0$  : Perbedaan jenis pelarut tidak berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif ekstrak alga coklat *Padina australis* serta tidak terdapat aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis*

$H_1$  : Perbedaan jenis pelarut berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif ekstrak alga coklat *Padina australis* serta terdapat aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis*

### 1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan wawasan dan pengetahuan mahasiswa tentang potensi rumput laut khususnya dari ekstrak alga coklat *Padina australis* sebagai antioksidan. Selain bermanfaat bagi mahasiswa, diharapkan penelitian ini juga bermanfaat bagi:

1. Lembaga akademis atau perguruan tinggi, untuk memberikan informasi keilmuan dan pedoman untuk mengadakan penelitian lebih lanjut.
2. Sebagai informasi kepada masyarakat tentang potensi rumput laut khususnya dari ekstrak alga coklat *Padina australis* sebagai antioksidan.

### 1.6 Waktu dan Tempat

Waktu pelaksanaan penelitian ini yaitu pada bulan Mei 2015 sampai bulan September 2015. Adapun tempat yang digunakan pada penelitian ini yaitu di Laboratorium Penanganan Hasil Perikanan dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang serta di Laboratorium Pusat Penelitian Kimia, LIPI (Lembaga Ilmu dan Pengkajian Ilmiah), Serpong.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Definisi Rumput Laut

Banyak sumber yang memberikan definisi tentang rumput laut, diantaranya menurut Sulaeman (2006), menjelaskan bahwa rumput laut (*seaweed*) secara biologi termasuk salah satu anggota alga yang merupakan tumbuhan berklorofil. Rumput laut terdiri dari satu atau banyak sel, berbentuk koloni, hidupnya bersifat bentik di daerah perairan yang dangkal, berpasir, berlumpur atau berpasir dan berlumpur, daerah pasang surut, jernih dan biasanya menempel pada karang mati, potongan kerang dan substrak yang keras lainnya, baik terbentuk secara alamiah atau buatan (*artificial*).

Sedangkan menurut Handayani *et al.* (2004), menjelaskan bahwa rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang penting serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia. Tumbuhan ini bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun bukan makanan (industri kosmetik, tekstil, dan farmasi), untuk memenuhi permintaan dalam negeri maupun luar negeri.

Rumput laut merupakan makro alga yang termasuk dalam divisi *Thallophyta*, yaitu tumbuhan yang mempunyai struktur kerangka tubuh yang terdiri dari batang/thalus dan tidak memiliki daun serta akar. Jenis rumput laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia adalah *Gracilaria*, *Gelidium*, *Eucheuma*, *Hypnea*, *Sargasum* dan *Tubrinaria* (Sahat, 2013).

### 2.2 Kandungan Kimia Rumput Laut

Rumput laut sangat baik dimanfaatkan sebagai bahan pangan, bahan kosmetik maupun sebagai obat-obatan, karena dalam rumput laut terdapat kandungan kimia seperti yang dijelaskan oleh Sudaryastuti (2011), bahwa

kandungan rumput laut umumnya adalah mineral esensial (besi, iodin, aluminium, mangan, calcium, nitrogen dapat larut, phosphor, sulfur, khlor, silicon, rubidium, strontium, barium, titanium, cobalt, boron, copper, kalium, dan unsur-unsur lainnya), asam nukleat, asam amino, protein, mineral, *trace elements*, tepung, gula dan vitamin A, B, C, D E, dan K. Kandungan kimia penting lainnya yaitu karbohidrat yang berupa polisakarida seperti agar-agar, karagenan dan alginat.

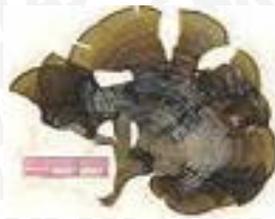
Rumput laut yang banyak dimanfaatkan adalah dari jenis ganggang merah karena mengandung agar-agar, karagenan dan alginat, juga mengandung porpirandan, furcellaran. Jenis ganggang coklat pun juga sangat potensial seperti *Sargassum* dan *Turbinaria* karena mengandung pigmen klorofil a dan c, beta karoten, filakoid, violasantin dan fukosantin, pirenoid dan cadangan makanan berupa laminaran, dinding sel yang terdapat pada selulosa dan algin (Sudaryastuti, 2011).

### 2.3 Alga Coklat *Padina australis*

Taksonomi alga coklat *Padina australis* menurut Zipcodezoo (2015), sebagai berikut:

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Heterokontophta
Class	: Phaeophyceae
Order	: Dictyotales
Family	: Dictyotaceae
Genus	: <i>Padina</i>
Species	: <i>Padina australis</i>

Sedangkan morfologi alga coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Alga Coklat *Padina australis*  
(Sumber: Juneidi, 2004)

*Phaeophyta* biasa disebut dengan nama alga coklat karena hampir semuanya berwarna coklat. Warna coklat ini disebabkan oleh adanya pigmen *Fucoxantin* yang menyebabkan warnanya cenderung coklat. Secara umum, alga coklat dibagi menjadi 9 ordo, namun hanya 2 ordo diantaranya yang dinilai penting dari segi ekonomi. Ordo pertama adalah ordo *Dictyotales* yang hanya memiliki 1 familia yaitu *Dictyotaceae*, yang terbagi dalam 20 genera. Salah satu jenis yang umum terdapat di Indonesia adalah genus/genera *Padina*, sedangkan jenisnya antara lain adalah *Padina japonica* dan *Padina australis*. Bentuk thallus bervariasi, namun kebanyakan menyerupai cakram, berwarna coklat, dan terdapat alur-alur konsentris pada permukaan thallusnya. *Padina* banyak tumbuh pada substrat pasir, sehingga apabila akan memeliharanya, maka di dalam akuarium harus diberi substrat pasir (Kuncoro, 2004).

#### 2.4 Radikal Bebas

Menurut Widyastuti (2010), Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang mempunyai 1 atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal ini dapat berasal dari atom hidrogen, molekul oksigen, atau ion logam transisi. Senyawa radikal bebas sangat reaktif dan selalu berusaha mencari pasangan elektron agar kondisinya stabil. Ditambahkan oleh Zuhra *et al.* (2008), radikal bebas dapat berasal dari polusi, debu maupun diproduksi secara kontinyu.

Radikal bebas memiliki pengaruh negatif yang sangat besar bagi tubuh. Menurut Hanindita (2011), radikal bebas merupakan molekul yang memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga memiliki sifat yang sangat reaktif serta mampu bereaksi dengan DNA, RNA, protein dan lipid. Reaksi antara radikal bebas dan molekul tersebut berujung pada timbulnya suatu penyakit.

Dampak dari masuknya radikal bebas ke dalam tubuh sangat membahayakan karena radikal bebas akan dapat merusak sel-sel serta jaringan yang mempunyai peran penting dalam tubuh. Seperti yang dijelaskan oleh Winarsi (2007), bahwa target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta DNA termasuk karbohidrat. Asam lemak tak jenuh adalah yang paling rentan jika dibandingkan dengan ketiga target utama diatas. Radikal bebas akan dapat merusak lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak pembuluh darah dan menimbulkan aterosklerosis. Radikal bebas juga merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetika dan membentuk sel kanker. Jaringan lipid juga akan dirusak oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degeneratif.

## **2.5 Aktivitas Antioksidan**

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu mencegah atau menghambat masuknya radikal bebas yang membawa efek negatif bagi tubuh. Menurut Widyastuti (2010), Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit. Antioksidan secara alami dapat diperoleh dari senyawa seperti fenol maupun flavonoid yang salah satunya berasal dari rumput laut.

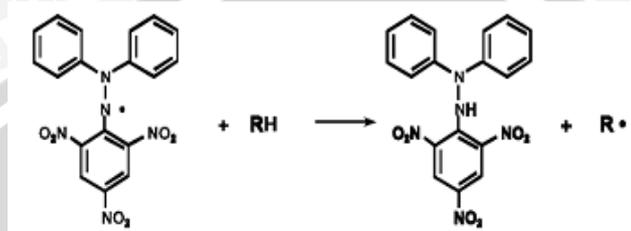
Menurut Prakash *et al.* (2001), karakter utama dari senyawa antioksidan adalah kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan fenol terutama polifenol, dan flavonoid dan juga diketahui berpotensi dapat mengurangi risiko penyakit degeneratif.

Antioksidan mempunyai banyak manfaat yang menguntungkan bagi tubuh seperti yang telah disebutkan oleh Kunchahyo dan Sunardi (2007), bahwa manfaat antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya.

Selain berasal dari rumput laut, antioksidan alami menurut Sarastani *et al.* (2002), juga dapat berasal dari bahan pangan lain seperti rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-biji sereal, sayur-sayuran, enzim dan protein. Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari.

DPPH merupakan radikal sintetik yang stabil yang ditandai oleh delokalisasi cadangan elektron disekeliling molekulnya secara keseluruhan dengan baik sehingga tidak akan membentuk dimer seperti yang terjadi pada kebanyakan radikal bebas lainnya (Molyneux, 2004). Senyawa ini larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 517 nm. Bahan atau senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi proton yang menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Syukur *et al.*, 2011).

Salah satu metode yang dapat digunakan sebagai uji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan metode DPPH. Menurut Widyastuti (2010), metode DPPH menggunakan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* sebagai sumber radikal bebas. Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Prinsip Reaksi Penangkapan Hidrogen oleh DPPH dari Senyawa Antioksidan (Sumber: Widyastuti, 2010)

Menurut Utomo (2011), metanol merupakan cairan polar yang dapat bercampur dengan air, alkohol lain, keton, ester dan sebagian besar pelarut organik. Metanol juga sedikit larut dalam lemak dan minyak. Secara fisika metanol mempunyai afinitas khusus terhadap karbondioksida dan hidrogen sulfida. Titik didih metanol yaitu pada 64,7°C. Sifat fisika dan kimia metanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Metanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	CH <sub>3</sub> OH
Keadaan fisik	Cair
Bau	Seperti alkohol
Berat molekul	32,04 g/mol
Warna	Tidak berwarna
Titik didih	64,5°C (148,1°F)
Titik leleh	-97,8°C (-144°F)
Kelarutan	Larut dalam air dingin dan panas

(Sumber: MSDS (Material Safety Data Sheet), 2013)

Vitamin C atau asam askorbat mempunyai berat molekul 178 dengan rumus molekul  $C_6H_8O_6$ . Vitamin C dalam bentuk kristal tidak berwarna, titik cair  $190^{\circ}C-192^{\circ}C$ , bersifat larut dalam air, sedikit larut dalam aseton atau alkohol yang mempunyai berat molekul rendah. Vitamin C sukar larut dalam kloroform, eter dan benzene (Sudarmadji *et al.*, 1989). Vitamin C dalam tubuh berfungsi sebagai antioksidan meskipun mekanisme yang tepat belum diketahui tetapi vitamin C berperan serta dalam proses metabolisme yang berlangsung dalam jaringan tubuh (Triwahyuni dan Yusrin, 2012).

Menurut Huda (2001), spektrofotometer UV-Visible merupakan alat yang umum digunakan dalam bidang penelitian laboratorium. Alat ini biasanya digunakan untuk analisa kimia kuantitatif, namun dapat juga digunakan untuk analisa kimia semi kuantitatif. Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Visible didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu di daerah ultra violet dan sinar tampak (*visible*).

## 2.6 **Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LCMS)**

*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LCMS) merupakan metode untuk memperoleh data dengan sensitifitas dan spesifitas yang tinggi. LCMS adalah satu-satunya teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Menurut Ginting (2012), metode analisa ini memiliki beberapa keunggulan diantaranya :

- Spesifitas. spektrometer massa sebagai detektor digunakan untuk memperoleh hasil analisis yang khas dan spesifik
- Aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis
- Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat
- Dapat memperoleh data dalam bentuk kuantitatif maupun kualitatif

Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LCMS) merupakan alat yang dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul dan struktur senyawa organik, serta menentukan komponen-komponen suatu senyawa (Maryam, 2007). Pada LCMS sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan ( $m/z$ ), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik. Ditambahkan oleh Azkiyah (2013), pada analisis kromatografi, teknik pemisahan suatu campuran berdasarkan perbedaan migrasi analit antara dua fase, yaitu fase diam dan fase geraknya, dimana fase diam merupakan zat padat sedangkan fase gerak merupakan zat cair atau gas.

## 2.7 Fitokimia

Analisis fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam suatu tanaman, rumput laut dan sebagainya. Menurut Putranti (2013), kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi.

### 2.7.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar serta banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, selain itu alkaloid juga mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu 1 atau 2 atom nitrogen. Alkaloid sering bersifat racun bagi manusia, mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan

untuk pengobatan. Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid. Alkaloid tidak mempunyai tata nama yang sistematis, oleh karena itu, suatu alkaloid dinyatakan dengan nama trivial yang berakhiran -in. Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid dapat berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalau serta sebagai pemikat atau daya tarik bagi serangga (Putranti, 2013).

Alkaloid merupakan suatu basa organik yang mengandung unsur nitrogen (N), pada umumnya yang berasal dari tanaman dan memiliki efek fisiologis kuat terhadap manusia. Fungsi dari senyawa alkaloid dalam bidang farmakologi adalah untuk memacu sistem syaraf dan menaikkan tekanan darah (Wulur, 2013).

### **2.7.2 Flavonoid**

Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid berwarna kuning. Flavonoid banyak ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid merupakan golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen ini merupakan antraktan bagi serangga dan merupakan agen polinasi. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan. Bagi manusia, flavonoid dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler, sebagai diuretik dan antioksidan pada lemak (Putranti, 2013). Ditambahkan oleh Redha (2010), flavonoid merupakan salah satu kelompok

fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dan dapat berperan sebagai antioksidan.

### 2.7.3 Triterpenoid atau Steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya. Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4 cincin yang saling bergabung. Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunan esternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar. Membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterol hanya dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan karbon 23 (Putranti, 2013).

### 2.7.4 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan ataupun memekatkan ekstrak (Putranti, 2013).

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak di temukan dalam tumbuhan. Senyawa ini memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak mudah larut dalam eter. Saponin diklarifikasikan menjadi 2 yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid (Ryzki, 2013).

### 2.7.5 Tanin

Tanin merupakan sekelompok zat yang mengandung senyawa fenol yang mempunyai sifat kimia dan fisika tertentu. Pada umumnya merupakan lingkaran aromatik yang mengandung satu atau lebih gugusan pengganti hidroksil, zat fenol cenderung larut dalam air, fenol sebagai glikosid sering dikombinasikan dengan sel vakuola (Wibowo, 2013).

Secara medis, tanin umum digunakan sebagai komponen antidiare, hemostatik, dan antihemorhoidal. Tanin juga bersifat toksik bagi mikroba dengan tiga mekanisme, yaitu penghambatan enzim dan penghambatan penggunaan substrat oleh mikroba, mengganggu industri, dan menghambat penggunaan ion logam oleh mikroba (Wibowo, 2013). Selain itu, kemampuan yang dimiliki oleh tanin adalah mampu berikatan dengan protein dan memberi rasa pahit dan mampu terkondensasi dengan menangkap gas formaldehid (Ide, 2008).

### 2.7.6 Fenol

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan 1 atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel. Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid. Beberapa senyawa fenol telah

diketahui fungsinya. Misalnya lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen. Namun beberapa lainnya hanya sebatas dugaan sementara. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana: orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Putranti, 2013).

## 2.8 Ekstraksi

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

Ekstraksi merupakan suatu tahap atau proses dengan tujuan untuk memisahkan antara filtrat dengan residu dari suatu bahan tertentu dan dengan menggunakan pelarut-pelarut tertentu. Menurut Septiana dan Asnani (2012), bahwa prinsip dari ekstraksi adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan mempertemukan bahan yang akan diekstraksi dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak.

Menurut Ruwaida (2010), penyarian atau ekstraksi merupakan peristiwa perpindahan masa zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Metode ekstraksi antara lain maserasi, perkolasi dan sokhletasi. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik.

## 2.9 Pelarut

### 2.9.1 N-heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Awalan *heks-* merujuk pada enam atom karbon yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan Handayani, 2010). Sedangkan menurut Novia *et al.* (2009), N-heksana ( $C_6H_{14}$ ) memiliki titik didih  $68.7^{\circ}C$  dengan berat jenis 0,659 g/ml, berwarna bening, berwujud cair dan berbau menyengat. Sifat fisika dan kimia pelarut n-heksana dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat Fisika dan Kimia N-heksana

Sifat	Nilai
Titik didih	$69^{\circ}C$ (342 K)
Indeks polaritas	0,0
Koefisien dielektrik	18,8
Tegangan permukaan ( $20^{\circ} C$ )	18,4 dyne/cm
Berat jenis	0,6548 g/ml
Viskositas	0,294 cP ( $25^{\circ}C$ )
Titik cair	$-95^{\circ}C$ (178 K)

(Sumber: Andaka, 2009)

### 2.9.2 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa yang dihasilkan dari pertukaran gugus hidroksil pada asam karboksilat dengan gugus hidrokarbon yang terdapat pada etanol. Etil asetat disintesis dengan menggunakan asam sulfat. Penggunaan katalisator asam sulfat dapat menghasilkan konversi yang cukup tinggi, yaitu mencapai 98% (Nuryoto, 2008). Sifat fisika dan kimia etil asetat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat Fisika dan Kimia Etil Asetat

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	$C_4H_8O_2$
Keadaan fisik	Cair
Berat molekul	88,11 g/mol
Warna	Tidak berwarna
Titik didih	77°C (170,6°F)
Titik leleh	-83°C (-117,4°F)
Kelarutan	Larut dalam air dingin, air panas, dietil eter, aseton, alkohol benzen

(Sumber: MSDS (Material Safety Data Sheet), 2013)

### 2.9.3 Etanol

Etanol atau disebut juga etil alkohol atau alkohol saja merupakan alkohol yang paling sederhana dan sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol memiliki sifat tidak beracun, bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan serta minuman. Etanol merupakan jenis pelarut polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Sifat fisika dan kimia dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

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

(Sumber: Munawaroh dan Handayani, 2010)

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Pada penelitian tentang Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Coklat *Padina australis* ini telah dilakukan beberapa tahap yaitu ekstraksi secara bertingkat dengan cara maserasi, skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan. Adapun alat-alat serta bahan-bahan yang digunakan pada masing-masing proses tersebut antara lain:

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Pada ekstraksi secara bertingkat dengan cara maserasi, alat yang digunakan antara lain timbangan digital, botol bensin, *beaker glass* 1000 ml, *erlenmeyer* 1000 ml, gelas ukur 100 ml, corong, spatula, *magnetic stirer*, *hot plate*, sendok bahan, nampan, kamera digital, tabung nitrogen serta *rotary vacuum evaporator*. Kemudian alat yang digunakan pada skrining fitokimia antara lain mikro pipet 10-100 $\mu$ l dan mikro pipet 100-1000 $\mu$ l, timbangan analitik, *spektrofotometer UV-Visible*, spatula, kamera digital, tabung reaksi, labu ukur 10 ml, labu ukur 100 ml, rak tabung reaksi, gelas ukur 100 ml, pipet volume 5 ml, pipet tetes, dan bola hisap. Dan alat yang digunakan pada uji aktivitas antioksidan antara lain timbangan analitik, spatula, sendok bahan, *beaker glass* 50 ml dan 100 ml, labu ukur 5 ml, gelas ukur 10 ml, kamera digital, botol vial, pipet volume 5 ml, pipet tetes, bola hisap, mikro pipet (ukuran 10-100  $\mu$ L dan 10-1000  $\mu$ L), serta *spektrofotometer UV-Visible*.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Pada penelitian ini, bahan utama yang digunakan yaitu alga coklat *Padina australis* yang diambil dari perairan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura. Bahan kimia (pelarut) yang digunakan untuk ekstraksi secara bertingkat yaitu

n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan etanol (polar). Kemudian bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia antara lain kloroform, amoniak, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 2 N, pereaksi (mayer, wagner, dragendorf), etanol 70%, etanol 96%, HCL pekat, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat, serbuk Mg,  $FeCl_3$  1%, dan natrium karbonat ( $Na_2CO_3$ ) 5%, reagen *Folin-Ciocalteau* 50% dan asam galat. Dan bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan antara lain metanol, pereaksi DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) serta bahan pembantu lain seperti air, aquades, tisu, kertas saring, aluminium foil, kertas label dan plastik wrap.

### 3.2 Metode Penelitian

#### 3.2.1 Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksperimen. Metode deskriptif bertujuan untuk mengidentifikasi suatu senyawa tertentu. Sedangkan metode eksperimen menurut Wibisono (2003), merupakan rangkaian aktivitas untuk memanipulasi variabel-variabel dalam sebuah penelitian dengan menjaga agar beberapa variabel yang lain tetap memiliki nilai konstan. Pada ekstraksi dengan cara maserasi, metode yang digunakan adalah ekstraksi secara bertingkat. Menurut Putranti (2013), menjelaskan bahwa ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut berbeda secara berurutan, dimulai dengan pelarut non polar (n-heksan) lalu dengan pelarut semipolar (etil asetat) kemudian dengan pelarut polar (etanol). Pada skrining fitokimia, metode yang digunakan adalah metode deskriptif dengan melakukan uji senyawa antara lain flavonoid, triterpenoid dan steroid, saponin, tanin, alkaloid, asam galat dan total fenol. Kemudian pada uji aktivitas antioksidan, metode yang digunakan adalah dengan metode eksperimen dengan menggunakan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

### 3.2.2 Variabel

Segala sesuatu yang menjadi objek pengamatan penelitian disebut variabel. Variabel dalam penelitian terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu jenis pelarut yang berbeda. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini yaitu nilai  $IC_{50}$ . Menurut Wibisono (2003), dalam sebuah eksperimen, variabel bebas dimanipulasi dan efeknya terhadap variabel lainnya (variabel tak bebas) diukur. Kegunaan dari perlakuan eksperimen adalah melakukan sesuatu terhadap objek dan mengobservasi reaksinya dalam kondisi dimana kinerja dapat diukur dengan menggunakan standar atau ukuran yang sudah dikenal.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 3 ulangan dan 6 perlakuan, sebab Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Sastrosupadi (2000), digunakan untuk suatu percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau *homogen*. Ekstrak *Padina australis* dimaserasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu mulai dari n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan etanol (polar) serta mulai dari etanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksan (non polar). Sedangkan untuk kontrol pembanding pada uji aktivitas antioksidan digunakan vitamin C. Adapun rancangan penelitian disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan Penelitian

Perlakuan Jenis Pelarut	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A					
B					
C					
D					
E					
F					

Keterangan :

A : Ekstrak pelarut n-heksan

B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan

C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat

D : Ekstrak pelarut etanol

E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol

F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

### 3.4 Parameter Uji

Parameter uji pada penelitian ini adalah parameter uji kuantitatif berdasarkan data yang diperoleh dari hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$ . Menurut Prabawati *et al.* (2012),  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50%*) merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi linear.

### 3.5 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan, dengan uji F pada taraf 5% dan jika didapatkan hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Proses Ekstraksi Alga Coklat *Padina australis*

Pada penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan cara maserasi. Proses awal yang dilakukan sebelum ekstraksi adalah membersihkan terlebih dahulu sampel *Padina australis* supaya kotoran yang

masih menempel dapat terbuang. Sampel yang sudah bersih kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama  $\pm$  6 hari tujuannya untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga memudahkan pelarut untuk melarutkan senyawa yang diinginkan. Selanjutnya sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan, tujuan dari perlakuan ini adalah untuk memperluas permukaan sampel sehingga zat aktif yang terkandung akan lebih mudah ditarik oleh pelarut tertentu.

Selanjutnya adalah melakukan proses ekstraksi secara bertingkat dengan cara maserasi. Pada ekstraksi pertama dimulai dari pelarut non polar, semi polar dan polar. Pertama, dilarutkan sebanyak 150 gram bubuk alga coklat *Padina australis* dalam 600 ml pelarut n-heksan (non polar) dengan perbandingan (1:4 b/v) kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Selanjutnya sampel disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan pada ekstraksi pertama kemudian ditambahkan dengan pelarut etil asetat (semi polar) sebanyak 600 ml dengan perbandingan (1:4 b/v) sebagai proses ekstraksi kedua dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Kemudian sampel disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan dari proses ekstraksi kedua kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol (polar) sebanyak 600 ml sebagai proses ekstraksi ketiga dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Selanjutnya sampel disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu.

Kemudian dilakukan ekstraksi kedua dengan tahap yang sama dimulai dari pelarut polar, semi polar dan non polar. Pertama, dilarutkan sebanyak 150 gram bubuk alga coklat *Padina australis* dalam 600 ml pelarut etanol (polar) dengan perbandingan (1:4 b/v) kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Selanjutnya sampel disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan pada ekstraksi pertama kemudian

ditambahkan dengan pelarut etil asetat (semi polar) sebanyak 600 ml dengan perbandingan (1:4 b/v) sebagai proses ekstraksi kedua dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Kemudian sampel disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu. Residu yang dihasilkan dari proses ekstraksi kedua kemudian ditambahkan dengan pelarut n-heksan (non polar) sebanyak 600 ml sebagai proses ekstraksi ketiga dan dihomogenkan dengan *magnetic stirer* selama 24 jam. Selanjutnya sampel disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat serta residu.

Skema kerja pada proses pembuatan bubuk Alga Coklat *Padina australis*, skema kerja pada proses ekstraksi bertingkat dari pelarut non polar ke polar, dan skema kerja pada proses ekstraksi bertingkat dari pelarut polar ke non polar dapat dilihat pada Lampiran 1.

### 3.6.2 Skrining Fitokimia

#### a. Alkaloid (Harborne, 1987 dan Nafisah *et al.*, 2014)

Ekstrak cair sampel *Padina australis* diambil sebanyak 1 ml, dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan 1 ml kloroform dan 5 tetes amoniak. Selanjutnya ditambahkan 5 tetes asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 2N dan dikocok kemudian didiamkan selama beberapa menit. Selanjutnya diuji dengan pereaksi mayer, wagner, dan dragendorf. Positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan putih untuk pereaksi mayer, endapan jingga untuk pereaksi dragendorf dan endapan coklat untuk pereaksi wagner. Skema kerja pada uji alkaloid dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### b. Flavonoid (Nafisah *et al.*, 2014 dan Sangi *et al.*, 2008)

Ekstrak cair sampel *Padina australis* diambil sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 0,2 gram serbuk Mg. Selanjutnya ditambahkan 5 tetes etanol dan ditambahkan juga 5 tetes HCl.

Warna merah, kuning atau orange yang terbentuk menunjukkan adanya alkaloid.

Skema kerja pada uji flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **c. Saponin (Harborne, 1987)**

Ekstrak cair sampel *Padina australis* diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya dikocok selama 10 detik secara vertikal. Kemudian didiamkan beberapa saat dan ditambahkan HCl sebanyak 1 tetes. Terbentuknya busa yang stabil (tahan lama) dalam tabung reaksi menunjukkan adanya saponin. Skema kerja uji saponin dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **d. Tanin (Harborne, 1987)**

Ekstrak cair sampel *Padina australis* diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin. Skema kerja pada uji tanin dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **e. Triterpenoid atau Steroid (Nafisah et al., 2014 dan Santi et al., 2008)**

Ekstrak cair sampel *Padina australis* diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan 3 tetes asam sulfat pekat dan 3 tetes asam asetat anhidrat. Perubahan warna menjadi biru atau hijau menunjukkan adanya steroid dan perubahan warna menjadi merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid. Skema kerja pada uji triterpenoid atau steroid dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **f. Fenol (Ratnayani et al., 2012)**

Ekstrak cair sampel *Padina australis* diambil sebanyak 0,1 ml, dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 0,8 ml reagen Follin Ciocalteau (50% v/v). Kemudian ditambahkan larutan natrium karbonat (5% v/v) sampai tanda batas. Dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1

jam dalam kondisi gelap. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 760 nm. Cara pembuatan larutan natrium karbonat yaitu ditimbang serbuk natrium karbonat sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas 100 ml. Skema kerja pada uji fenol dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **g. Asam Galat (Ratnayani *et al.*, 2012)**

Pembuatan larutan asam galat yaitu diambil serbuk asam galat sebanyak 0,01 g kemudian ditambahkan aquades sampai batas labu ukur 100 ml maka diperoleh larutan induk asam galat 100 ppm. Kemudian diambil sebanyak (0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 dan 3,2 ml) larutan induk asam galat, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan dengan reagen Follin Ciocalteau sebanyak 0,8 ml dan ditambahkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5% sampai tanda batas labu ukur 10 ml dan didapatkan konsentrasi 0; 2; 4; 8; 16 dan 32 ppm. Kemudian didiamkan selama 60 menit. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm. Skema kerja pada uji asam galat dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan (Modifikasi Rohimat *et al.*, 2014 dan Wikanta *et al.*, 2010)**

Proses uji aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis* diawali dengan pembuatan larutan DPPH konsentrasi 0,1 mM dengan melarutkan DPPH murni 4 mg (0,004 gram) kedalam 100 ml metanol P.A (Pro Analisis). Kemudian dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 5 mg ekstrak pekat *Padina australis* dan dilarutkan dalam 5 ml metanol P.A. Larutan induk dipipet sebanyak 0,0625 ml; 0,125 ml; 0,25 ml; 0,5 ml dan 1 ml. Kemudian dimasukkan ke dalam botol vial yang telah dibungkus dengan aluminium foil untuk mendapatkan konsentrasi 12,5 ppm; 25 ppm; 50 ppm; 100 ppm dan 200

ppm. Kemudian dibuat kontrol negatif tanpa penambahan sampel (0 ppm) dan dibuat juga kontrol positif dengan menggunakan vitamin C dengan konsentrasi dosis 2 ppm; 4 ppm; 8 ppm; 16 ppm dan 32 ppm. Selanjutnya masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 ml DPPH 0,1 mM dan dimasukkan kedalam botol vial yang telah dibungkus dengan alumunium foil dan ditambahkan metanol sampai volumenya 5 ml. Selanjutnya campuran sampel antioksidan dan DPPH dihomegenkan dengan cara dikocok dan diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap. kemudian sampel diukur absorbansinya dengan menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* pada panjang gelombang 517 nm. Hasil dari absorbansi dilakukan perhitungan aktivitas antioksidan dan perhitungan nilai  $IC_{50}$ . Skema kerja proses uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **3.6.4 Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LCMS)**

*Mass spectrometry* (MS) adalah suatu alat yang dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul serta struktur senyawa organik. Selain itu, alat ini juga dapat mengidentifikasi dan menentukan komponen-komponen suatu senyawa. Perpaduan MS dengan HPLC yaitu LC-MS (Maryam, 2007). Spektrometer massa bekerja dalam molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi. Dua komponen utama dalam proses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menyeleksi ion. Sistem LC-MS/MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa (Ginting, 2012).

Spesifikasi alat dan bahan yang digunakan pada pengujian ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dengan metode LC-MS di LIPI, Serpong yaitu:

- Sampel
  - Volume injeksi 2  $\mu$ L
  - Rata-rata kecepatan aliran 0,05 ml/min
  - Menggunakan pelarut metanol
  - Eluen MeOH
- LC-MS: Mariner Biospectrometry
  - LC: Hitachi L 6200
- Metode ionisasi dengan menggunakan ESI (*Electrospray Ionisation*)
- Positive ion mode
  - Kolom C18 (RP 18) Phenomenex (150 mm x 1 mm )
  - Ukuran partikel 5  $\mu$ m
  - Temperatur kolom = temperatur ruangan

Analisis pada ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dengan metode LC-MS di LIPI, Serpong ini dilakukan dengan menggunakan *Biospectrometry Mariner* yang dilengkapi dengan pompa biner. HPLC dihubungkan dengan spektrometer massa Q-tof yang dilengkapi dengan sumber ESI. Mode scan penuh dari m/z 100 sampai 1200 dilakukan pada sumber suhu 140°C. Untuk analisa pada sampel digunakan kolom HPLC (*Phenomenex* 5  $\mu$ ) C18 dengan ukuran 150 mm x 1 mm. Pelarut yang digunakan adalah metanol dengan campuran 0,3% asam asetat. Pelarut mengalir pada tingkat total aliran 0,05 mL/min.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan langkah awal yang harus dilakukan dalam penelitian apabila ingin mengetahui kandungan bioaktif pada tumbuhan, mangrove ataupun pada rumput laut. Pada identifikasi senyawa, salah satu cara menganalisa yang sering digunakan yaitu analisa kualitatif dengan mengidentifikasi adanya senyawa-senyawa tertentu seperti yang dijelaskan oleh Lestari (2011), bahwa pendekatan skrining fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan kimia terutama kandungan metabolit sekunder yang bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid atau steroid, tanin dan sebagainya.

### 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Alga Coklat *Padina australis*

Tujuan dilakukannya skrining fitokimia pada ekstrak alga coklat *Padina australis* pada penelitian ini adalah untuk mengetahui serta mengidentifikasi senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam alga coklat *Padina australis*. Beberapa senyawa yang dianalisa secara kualitatif antara lain saponin, steroid atau triterpenoid, tanin, flavonoid, alkaloid (reagen wagner, reagen mayer dan reagen dragendorf). Sedangkan senyawa yang dianalisa secara kuantitatif yaitu total fenol. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak alga coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Alga Coklat *Padina australis*

Jenis Uji	Pelarut						Keterangan
	A	B	C	D	E	F	
Alkaloid							
- Reagen Wagner	-	-	-	-	+	-	Terbentuk warna coklat
- Reagen Dragendorf	-	-	+	-	+	-	Terbentuk warna jingga
- Reagen Mayer	+	-	+	-	-	-	Terbentuk warna putih
Flavonoid	-	+	+	-	-	-	Terbentuk warna kuning (B) dan jingga (C)
Saponin	-	-	-	-	-	-	Tidak terbentuk busa
Tanin	-	-	-	-	+	-	Terbentuk warna hijau kehitaman
Triterpenoid atau Steroid	-/-	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	Terbentuk warna hijau kehitaman (B) dan hijau (C)

Keterangan:

A : Ekstrak pelarut n-heksan

B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan

C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat

D : Ekstrak pelarut etanol

E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol

F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

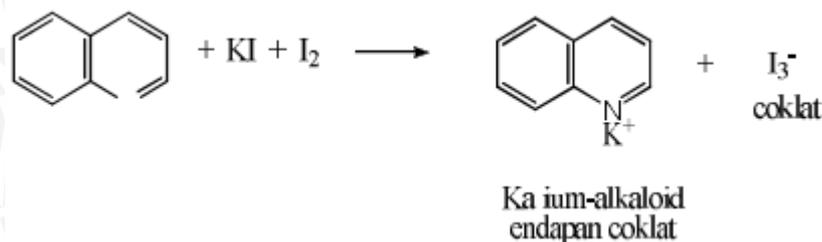
+ = Mengandung golongan senyawa

- = Tidak mengandung golongan senyawa

#### 4.2.1 Alkaloid

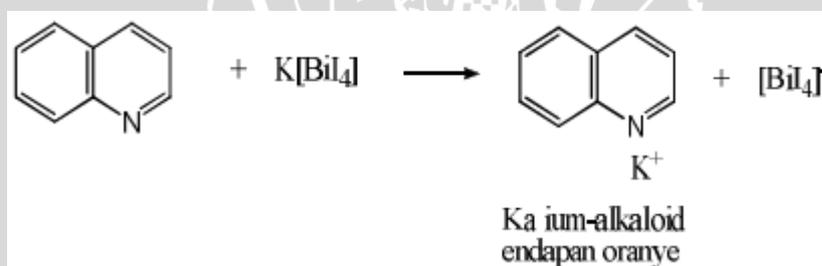
Senyawa alkaloid menurut Tukiran *et al.* (2014), merupakan suatu senyawa organik bahan alam yang terbesar jumlahnya baik dari segi jumlah maupun sebarannya. Selain itu, alkaloid dapat didefinisikan sebagai kelompok senyawa yang bersifat basa (alkalis), karena mengandung atom nitrogen yang berasal dari tumbuhan maupun hewan. Pada hasil penelitian uji fitokimia ekstrak alga coklat *Padina australis*, diketahui bahwa pada alga coklat ini positif mengandung senyawa alkaloid. Pada uji alkaloid dengan reagen wagner, ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol (E) positif mengandung alkaloid dengan indikator warna yang terbentuk adalah warna coklat karena menurut Nafisah *et al.* (2014), menjelaskan bahwa ion logam K<sup>+</sup> membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan nitrogen pada senyawa alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid

yang mengendap. Adapun persamaan reaksinya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Wagner  
(Sumber : Nafisah *et al.*, 2014)

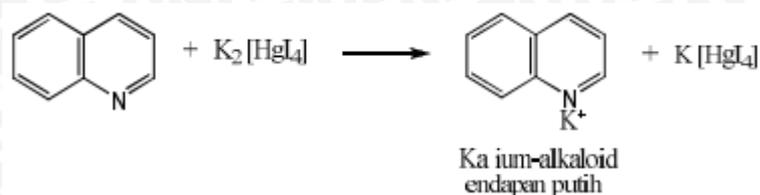
Kemudian pada uji alkaloid dengan reagen dragendorf, ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) dan ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol (E) positif mengandung alkaloid dengan indikator warna yang terbentuk adalah warna jingga karena menurut Nafisah *et al.* (2014), menjelaskan bahwa ion logam  $K^+$  membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan nitrogen pada senyawa alkaloid yang membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorf  
(Sumber : Nafisah *et al.*, 2014)

Dan untuk uji alkaloid dengan reagen mayer, ekstrak pelarut n-heksan (A) dan ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) positif mengandung alkaloid dengan indikator warna yang terbentuk yaitu warna putih karena menurut Nafisah *et al.* (2014), menjelaskan bahwa nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam  $K^+$  dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks

kalium-alkaloid yang mengendap. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Persamaan Reaksi Uji Alkaloid dengan Pereaksi Mayer (Sumber : Nafisah *et al.*, 2014)

Seperti yang dilakukan oleh Nafisah *et al.* (2014), pada penelitian tersebut, dilakukan Identifikasi senyawa bioaktif pada ekstrak heksana, kloroform dan metanol dari tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*) dimana hasil identifikasi senyawa tersebut positif mengandung senyawa alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih, coklat dan jingga. Pada pelarut metanol, timbul warna hijau kecoklatan serta adanya endapan pada reagen dragendorf, sedangkan pada pelarut metanol timbul warna coklat serta adanya endapan pada reagen wagner.

#### 4.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa penting yang terdapat dalam tanaman ataupun juga dalam rumput laut karena flavonoid menurut Silaban (2009), merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$  yaitu dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Selain itu, flavonoid bersifat polar dikarenakan mengandung sejumlah hidroksil atau suatu gula. Pada uji flavonoid ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan (B) positif mengandung flavonoid dengan indikator warna yang terbentuk adalah warna kuning. Serta uji flavonoid ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) positif mengandung flavonoid dengan

indikator warna yang terbentuk yaitu warna jingga. Menurut Sangi (2008), adanya senyawa flavonoid diakibatkan oleh reduksi dari asam klorida pekat dengan magnesium.

Seperti yang dilakukan oleh Nafisah *et al.* (2014), pada penelitian tersebut, dilakukan identifikasi senyawa bioaktif pada ekstrak heksana, kloroform dan metanol dari tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*) dimana hasil identifikasi senyawa tersebut positif mengandung senyawa flavonoid hanya pada ekstrak heksana dengan dengan indikator warna yang terbentuk adalah kuning, dan negatif pada ekstrak kloroform dan metanol dengan indikator warna yang terbentuk adalah hijau.

#### 4.2.3 Saponin

Pada uji saponin ekstrak alga coklat *Padina australis* dari semua pelarut yaitu ekstrak pelarut n-heksan (A), ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan (B), ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C), ekstrak pelarut etanol (D), ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol (E) serta ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) memiliki hasil negatif atau tidak mengandung saponin karena tidak adanya busa yang terbentuk secara stabil. Menurut Prima (2012), saponin merupakan senyawa aktif yang kuat serta menimbulkan busa apabila dikocok dalam air sehingga bersifat seperti sabun serta memiliki kemampuan antibakterial. Selain itu, penelitian yang telah dilakukan oleh Nafisah *et al.* (2014), pada ekstrak heksana, kloroform dan metanol dari tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*) menunjukkan hasil bahwa tidak ditemukan senyawa saponin pada ketiga ekstrak tersebut.

#### 4.2.4 Tanin

Senyawa tanin menurut Tukiran *et al.* (2014), merupakan senyawa yang tersebar luas pada berbagai jenis tumbuhan, memiliki peran proteksi terhadap predator (sebagai pestisida) serta mengatur pertumbuhan suatu tanaman. Tanin merupakan gambaran umum untuk senyawa golongan polimer fenolik (polifenol). Pada uji tanin ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol (E) positif mengandung tanin dengan indikator warna yang terbentuk yaitu warna hijau kehitaman. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sangi *et al.* (2008), tentang analisa fitokimia pada tumbuhan obat, diperoleh hasil yaitu sampel daun delima (*Punica granatum*) yang diindikasikan mengandung tanin hidrolisi, yaitu golongan tanin yang akan menghasilkan warna biru kehitaman. Pada saat penambahan  $\text{FeCl}_3$ , diperkirakan larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin sehingga terjadi perubahan warna.

#### 4.2.5 Triterpenoid atau Steroid

Menurut Marlinda *et al.* (2012), menjelaskan bahwa kandungan senyawa steroid atau triterpenoid pada tumbuhan dapat diuji dengan menggunakan metode Liebermann-Buchard yang akhirnya akan memberikan warna jingga atau ungu untuk terpenoid serta warna biru untuk steroid. Uji ini didasarkan atas kemampuan senyawa steroid dan triterpenoid dalam membentuk warna oleh asam sulfat pekat pada pelarut asam asetat glasial yang membentuk warna jingga. Pada uji triterpenoid atau steroid pada ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan (B) positif mengandung steroid dengan indikator warna yang terbentuk adalah warna hijau kehitaman, serta ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) positif mengandung steroid dengan indikator warna yang terbentuk adalah warna hijau. Menurut Marlinda *et al.* (2012), senyawa triterpenoid dan

steroid mampu membentuk warna oleh  $H_2SO_4$  pekat pada pelarut asam asetat glasial.

Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Nafisah *et al.* (2014), pada ekstrak heksana, kloroform dan metanol dari tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*) menunjukkan hasil bahwa pada pelarut metanol, kloroform serta heksana positif mengandung senyawa steroid dengan indikator warna yang terbentuk adalah warna hijau untuk ketiga pelarut tersebut.

#### 4.3 Hasil Uji Total Fenol Ekstrak Alga Coklat *Padina australis* (Ratnayani *et al.*, 2012)

Senyawa fenol atau senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang termasuk dalam senyawa bioaktif. Senyawa fenol banyak terdapat dalam tumbuhan, juga pada rumput laut. Senyawa fenol, senyawa alkaloid, senyawa flavonoid merupakan senyawa yang dapat bersifat antioksidan. Menurut Septiana dan asnani (2012), menjelaskan bahwa senyawa fenolik atau senyawa polifenolik golongan flavonoid, turunan asam sinamat, tokoferol, kumarin, dan asam polifungsional dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan. Komponen fenolik mampu menghambat oksidasi lemak dengan menyumbang atom hidrogen pada radikal bebas.

Pada penelitian ini, sebelum dilakukan pengujian total fenol ekstrak sampel alga coklat *Padina australis*, terlebih dahulu melakukan uji larutan standar asam galat. Konsentrasi larutan standar asam galat yang digunakan yaitu 0, 2, 4, 8, 16, dan 32 ppm yang kemudian larutan asam galat ini diukur serapannya pada spektrofotometer *UV-Visible* dengan panjang gelombang 760 nm. Pengujian larutan standar asam galat ini berguna untuk membantu dalam menentukan konsentrasi serta kadar total fenol pada ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* melalui persamaan regresi dari kurva standar asam galat.

Dari hasil pengujian larutan standar asam galat maka diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi  $y = 0,0596x + 0,0965$ , serta nilai koefisien korelasi ( $R^2$ ) = 0,9928. Menurut Julyasih *et al.* (2009), nilai  $R^2$  yang mendekati angka 1 membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut merupakan persamaan linear. Hasil uji larutan standar asam galat serta kurva kalibrasi asam galat dapat dilihat pada Lampiran 2.

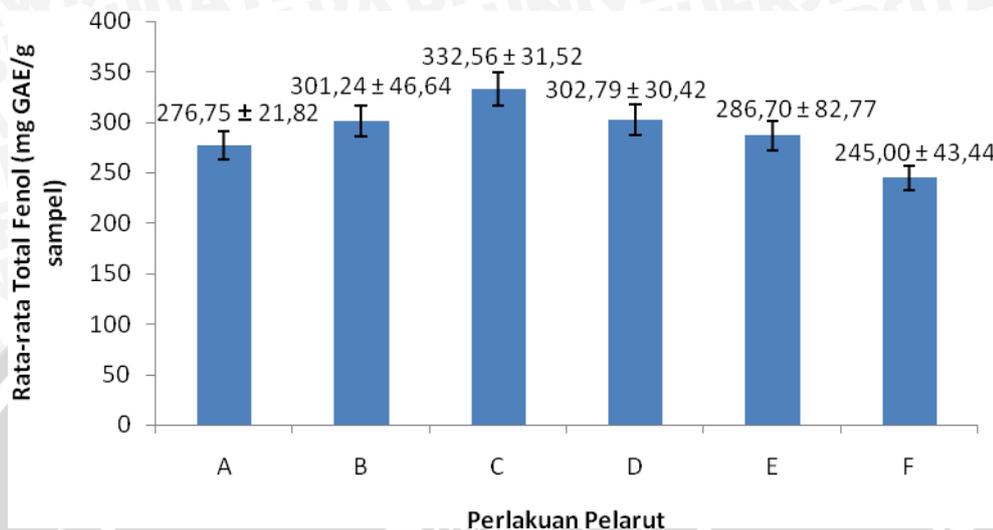
Setelah diperoleh nilai absorbansi larutan standar asam galat, kurva kalibrasi asam galat serta persamaan regresi asam galat, kemudian dilakukan perhitungan nilai konsentrasi serta nilai total fenol dari ekstrak sampel alga coklat *Padina australis*. Menurut Julyasih *et al.* (2009), Konsentrasi larutan sampel dapat ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi dengan cara mengukur nilai absorbansi sampel menggunakan persamaan regresi linear. Kemudian kadar total fenol pada ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Total Fenol} = \frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}}$$

Perhitungan nilai konsentrasi serta perhitungan nilai total fenol ekstrak sampel Alga Coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Lampiran 4.

Setelah dilakukan perhitungan nilai konsentrasi serta nilai total fenol ekstrak sampel Alga Coklat *Padina australis*, maka diperoleh rata-rata total fenol dari masing-masing pelarut pada ekstrak sampel alga coklat *Padina australis*. Hasil uji total fenol ekstrak sampel Alga Coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Lampiran 3. Nilai total fenol dinyatakan dengan satuan mg GAE/g sampel. Menurut Samin (2013), kandungan total fenol pada ekstrak sampel dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). GAE merupakan acuan umum yang digunakan untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan.

Setelah diperoleh nilai rata-rata total fenol pada masing-masing pelarut, kemudian dibuat suatu grafik untuk mengetahui hasil tertinggi dan hasil terendah dari nilai total fenol tersebut yang dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Rata-rata Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Keterangan:

- A : Ekstrak pelarut n-heksan
- B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan
- C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat
- D : Ekstrak pelarut etanol
- E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol
- F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

Berdasarkan nilai rata-rata total fenol yang diperoleh pada masing-masing pelarut, didapatkan hasil bahwa kandungan total fenol yang tertinggi adalah pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) sebesar 332,56 mg GAE/g sampel, sedangkan kandungan total fenol yang terendah adalah pada ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) sebesar 245,00 mg GAE/g sampel. Tinggi atau rendahnya nilai total fenol suatu bahan dipengaruhi oleh pelarut. Kandungan senyawa fenol pada suatu bahan atau sampel tinggi dikarenakan sebagian besar senyawa fenol bersifat polar sehingga akan mudah larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol dan sebagainya. Sedangkan rendahnya

kandungan senyawa fenol pada bahan atau sampel dikarenakan pelarut yang digunakan dalam pengujian total fenol adalah pelarut non polar atau semi polar seperti N-heksan, kloroform, etil asetat dan sebagainya.

Tingginya nilai total fenol pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) disebabkan pada saat dilakukan proses ekstraksi pertama yaitu dari pelarut n-heksan (A), senyawa-senyawa yang ditarik keluar dari ekstrak sampel yaitu senyawa yang bersifat non polar saja karena pada dasarnya n-heksan adalah larutan yang bersifat non polar sehingga hanya mampu mengikat senyawa golongan non polar. Kemudian residu dari ekstrak pelarut n-heksan diekstraksi menggunakan pelarut semi polar yaitu etil asetat (B) sehingga senyawa-senyawa yang dapat diikat oleh etil asetat hanya senyawa semi polar saja. Kemudian residu dari ekstrak pelarut etil asetat diekstraksi menggunakan pelarut polar yaitu etanol (C). Pada saat ekstraksi ini, senyawa yang tersisa hanya senyawa-senyawa polar saja sehingga apabila diekstraksi menggunakan pelarut polar seperti etanol maka senyawa polar tersebut akan dapat terikat oleh etanol.

Pada ekstrak pelarut etanol (D), ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol (E) dan ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) juga mengalami proses ekstraksi yang sama dengan sebelumnya. Namun pada proses ini, ekstraksi pertama yaitu menggunakan pelarut polar yaitu etanol (D) sehingga semua senyawa polar akan diikat langsung oleh etanol. Kemudian residu dari ekstrak pelarut etanol diekstraksi menggunakan etil asetat sehingga senyawa semi polar akan dapat diikat oleh etil asetat yang bersifat semi polar. Terakhir adalah ekstraksi dari pelarut n-heksan. Karena pada proses ekstraksi sebelumnya, semua senyawa telah diikat oleh pelarut polar dan semi polar, maka tersisa senyawa non polar yang kemudian diikat oleh pelarut N-heksan.

Selain itu, tingginya total fenol pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) dapat disebabkan oleh adanya senyawa fenol yang bersifat polar, sehingga jika dilakukan ekstraksi menggunakan etanol yang juga bersifat polar maka senyawa fenol tersebut akan ikut terikat.

Menurut Sundari (2010), dalam penelitiannya tentang identifikasi senyawa dalam ekstrak etanol biji buah merah, menjelaskan bahwa pada hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji buah merah mengandung golongan tanin, katekin, glikosida antrakuinon, glikosida asam lemak dan glikosida senyawa fenolik. Ditambahkan oleh Sa'adah (2010), yang menyatakan bahwa semakin banyak gugus hidroksil suatu senyawa fenol, maka akan memiliki tingkat kelarutan dalam air dan pelarut polar semakin besar. Selain itu, hal ini sejalan dengan Lestari (2011), bahwa proses ekstraksi biasanya menggunakan pelarut organik dengan kepolaran bertingkat. Pelarut seperti heksana, eter, petroleum eter serta kloroform digunakan untuk mengambil senyawa yang bersifat rendah tingkat kepolarannya. Sedangkan pelarut yang lebih polar seperti alkohol atau etil asetat digunakan untuk mengambil senyawa yang bersifat tinggi tingkat kepolarannya. Selain itu, pemilihan pelarut juga didasarkan pada kaidah "*like dissolve like*", artinya suatu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, serta senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar.

Berdasarkan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf kepercayaan 5% ( $P_{0,05}$ ) didapatkan hasil  $f_{hitung} < f_{tabel}$ , artinya perlakuan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata dan tidak dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil ANOVA (*Analysis of Variance*) dari nilai total fenol ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Tabel 7 dan perhitungan *Analysis of Variance* (ANOVA) dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 7. Nilai Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis* (mg GAE/g sampel)

Perlakuan	Rata-rata
A	276,75 ± 21,82
B	301,24 ± 46,64
C	332,56 ± 31,52
D	302,79 ± 30,42
E	286,70 ± 82,77
F	245,00 ± 43,44

Keterangan:

A : Ekstrak pelarut n-heksan

B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan

C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat

D : Ekstrak pelarut etanol

E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol

F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

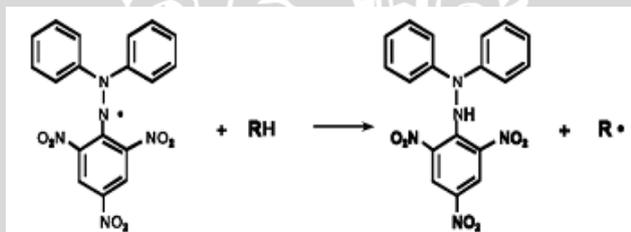
#### 4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat terjadinya oksidasi yang diakibatkan oleh adanya senyawa yang bersifat radikal. Sumber-sumber adanya senyawa antioksidan menurut Julyasih *et al.* (2009), dikelompokkan menjadi dua yaitu antioksidan sentetik (antioksidan yang didapat dari hasil sintesis reaksi kimia) serta antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

Senyawa antioksidan memiliki manfaat yang sangat besar bagi tubuh karena senyawa antioksidan mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini adalah menggunakan metode DPPH. Pemilihan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH karena metode ini sangat mudah diterapkan serta tidak membutuhkan waktu lama dan biayanya yang relatif lebih murah. Menurut Sekarsari dan Taufikurrohman (2012), salah satu uji dalam menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan metode panangkapan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sebagai sumber radikal

bebas. Metode penangkal radikal bebas DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil yang dapat memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. DPPH ini larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 518 nm (Molyneux, 2004).

Adapun mekanisme dalam proses penghambatan aktivitas radikal bebas oleh DPPH yaitu terjadinya perubahan warna pada DPPH dimana DPPH yang pada awalnya berwarna ungu kemudian berubah warna menjadi warna kuning hingga kuning keunguan. Semakin besar konsentrasi sampel dalam uji aktivitas antioksidan yang digunakan, maka proses perubahan warna yang terjadi juga akan sangat terlihat jelas yang ditandai dengan munculnya warna kuning. Ditambahkan oleh Syukur *et al.* (2011), bahan atau senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi proton yang menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Prinsip Reaksi Penangkapan Hidrogen oleh DPPH dari Senyawa Antioksidan  
(Sumber: Widyastuti, 2010)

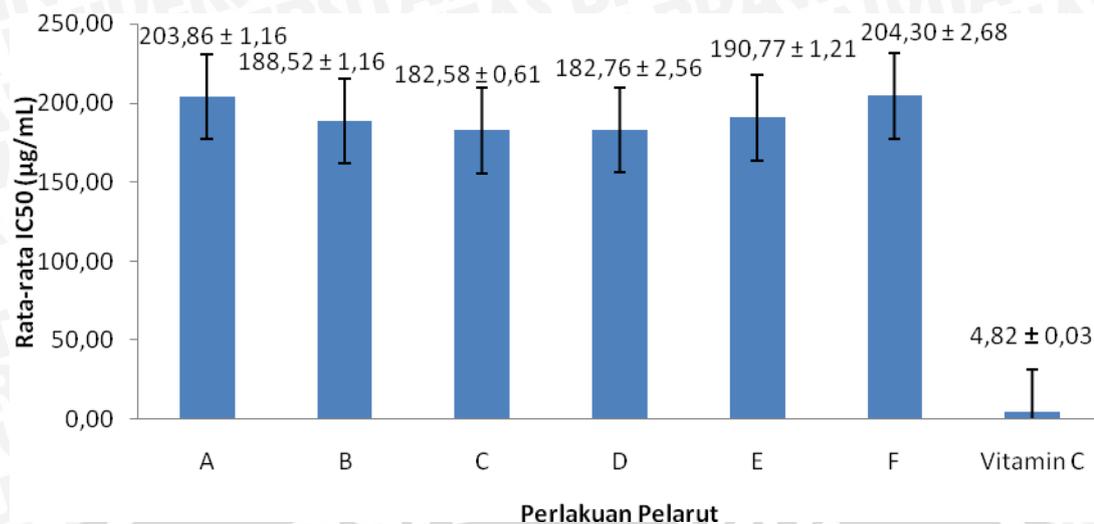
Pada Gambar 7 menjelaskan bahwa atom hidrogen yang ada pada senyawa yang bersifat radikal bebas akan ditangkap dan berikatan dengan nitrogen dari senyawa antiradikal (DPPH).

Adapun parameter yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* adalah *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ), dimana semakin rendah nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh maka semakin kuat sampel atau bahan tersebut sebagai antioksidan, sebaliknya apabila semakin tinggi nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh maka semakin lemah sampel atau bahan tersebut sebagai antioksidan. Sebelum menentukan nilai  $IC_{50}$  suatu sampel atau bahan, maka terlebih dahulu menghitung persen inhibisi atau persen aktivitas antiradikal. Perhitungan persen inhibisi dapat dilihat pada Lampiran 8. Persen inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100 \%$$

Setelah dihitung nilai persen inhibisi maka dapat dihitung pula nilai  $IC_{50}$ . Menurut Agustini (2002), Nilai *Inhibition Concentration* ( $IC_{50}$ ) adalah konsentrasi antioksidan ( $\mu\text{g/mL}$ ) yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% dibandingkan dengan kontrol melalui suatu persamaan garis linear. Nilai  $IC_{50}$  didapat dari perpotongan garis antara daya hambat dengan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan dalam suatu persamaan linear  $y = a + bx$  dimana  $y = 50$  sedangkan  $x$  menunjukkan nilai  $IC_{50}$ . Perhitungan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada Lampiran 8.

Setelah melakukan penghitungan nilai persen inhibisi, serta nilai  $IC_{50}$ , maka diperoleh nilai rata-rata  $IC_{50}$  ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* yang dapat dilihat pada Gambar 8. Adapun hasil uji aktivitas antioksidan dilihat dari nilai  $IC_{50}$  ekstrak sampel Alga Coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Lampiran 7.



Gambar 8. Rata-rata IC<sub>50</sub> Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Dapat dilihat pada grafik bahwa nilai IC<sub>50</sub> terendah dihasilkan oleh ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) sebesar 182,58 µg/mL sedangkan nilai IC<sub>50</sub> tertinggi dihasilkan oleh ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) sebesar 204,30 µg/mL. Sehingga, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 182,58 µg/mL menandakan bahwa ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Maksudnya adalah, bahwa nilai IC<sub>50</sub> berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Berlaku sebaliknya, jika semakin tinggi nilai IC<sub>50</sub> maka akan semakin rendah aktivitas antioksidannya.

Pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) mempunyai aktivitas antioksidan, namun berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) bersifat antioksidan lemah, Pramesti (2013), menjelaskan secara spesifik suatu senyawa dikatakan antioksidan kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> sebesar 51-100 µg/mL, sedangkan antioksidan sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> sebesar 101-150 µg/mL, dan antioksidan lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> sebesar 151-200 µg/mL.

Selain melakukan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak alga coklat *Padina australis*, pada penelitian ini juga dilakukan uji aktivitas antioksidan pada sampel vitamin C yang merupakan jenis antioksidan yang kita konsumsi sehari-hari. Tujuan dari pengujian aktivitas antioksidan pada vitamin C ini adalah sebagai pembanding dari nilai aktivitas antioksidan pada vitamin C dan pada nilai aktivitas antioksidan ekstrak sampel alga coklat *Padina australis*.

Pada penelitian ini, konsentrasi yang digunakan pada uji aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C yaitu konsentrasi 2, 4, 8, 16, dan 32 ppm. Dari penentuan konsentrasi tersebut, selanjutnya diperoleh hasil  $IC_{50}$  vitamin C dalam penelitian ini yaitu sebesar 4,82  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil ini sejalan dengan penelitian Agustini (2002), tentang aktivitas antioksidan dan uji toksisitas hayati pigmen fikobiliprotein dari ekstrak *Spirulina platensis*, dimana peneliti menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 5,43  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 182,58  $\mu\text{g/mL}$  apabila dibandingkan dengan sampel vitamin C dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 4,82  $\mu\text{g/mL}$  jelas memiliki nilai  $IC_{50}$  yang berbeda. Hal ini menandakan bahwa pada vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena nilai  $IC_{50}$  yang sangat rendah yaitu dibawah 50  $\mu\text{g/mL}$ . Sedangkan ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) memiliki aktivitas antioksidan yang lemah karena nilai  $IC_{50}$  yang sangat tinggi yaitu 182,58  $\mu\text{g/mL}$  dan berada pada kisaran nilai aktivitas antioksidan lemah dengan kisaran nilai  $IC_{50}$  sebesar 151-200  $\mu\text{g/mL}$ .

Berdasarkan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf kepercayaan 5% ( $P_{0,05}$ ) didapatkan hasil  $f_{hitung} > f_{tabel}$ , artinya perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pada setiap perlakuan. Pada uji aktivitas antioksidan ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $182,58 \pm 0,61^a$  tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap

ekstrak pelarut etanol (D) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $182,76 \pm 2,56^a$ , namun memberikan perbedaan yang sangat nyata dengan ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan (B) dan ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol (E) serta ekstrak pelarut n-heksan (A) dan ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar  $188,52 \pm 1,16^b$ ,  $190,77 \pm 1,21^c$ ,  $203,86 \pm 1,16^d$ ,  $204,30 \pm 2,68^d$ . Namun pada ekstrak pelarut n-heksan (A) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $203,86 \pm 1,16^d$  tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $204,30 \pm 2,68^d$ .

Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dari aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* dapat dilihat pada Tabel 8 dan perhitungan *Analysis of Variance* (ANOVA) dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 8. Nilai  $IC_{50}$  Ekstrak Alga Coklat *Padina australis* ( $\mu\text{g/mL}$ )

Perlakuan	Rata-rata
A	$203,86 \pm 1,16^d$
B	$188,52 \pm 1,16^b$
C	$182,58 \pm 0,61^a$
D	$182,76 \pm 2,56^a$
E	$190,77 \pm 1,21^c$
F	$204,30 \pm 2,68^d$

Keterangan:

A : Ekstrak pelarut n-heksan

B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan

C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat

D : Ekstrak pelarut etanol

E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol

F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata

#### 4.5 Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini, kandungan total fenol ekstrak alga coklat *Padina australis* tertinggi diperoleh pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) yaitu sebesar 332,56 mg GAE/g sampel, sedangkan kandungan total fenol ekstrak alga coklat *Padina australis* terendah diperoleh pada ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) yaitu sebesar 245,00 mg GAE/g sampel. Berdasarkan data tersebut maka diketahui bahwa kandungan total fenol yang lebih tinggi adalah pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) jika dibandingkan dengan pelarut lainnya.

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini, aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis* terendah diperoleh pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu sebesar 182,58  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat *Padina australis* tertinggi diperoleh pada ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat (F) dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu sebesar 204,30  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan data tersebut maka diketahui bahwa aktivitas antioksidan yang terbaik adalah pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) jika dibandingkan dengan pelarut lainnya.

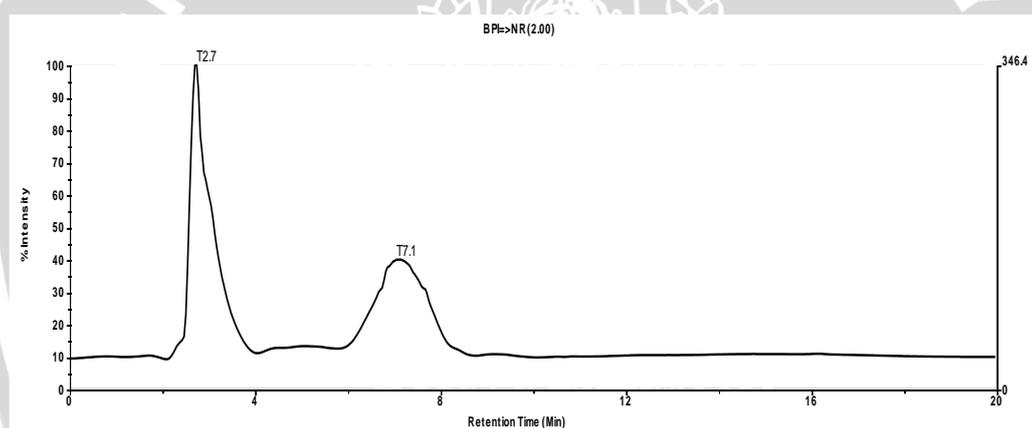
Berdasarkan penjelasan di atas maka dapat diperoleh suatu hubungan antara total fenol dengan aktivitas antioksidan bahwa adanya hubungan yang bersifat terbalik antara total fenol dengan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai total fenol yang diperoleh maka akan semakin rendah nilai  $IC_{50}$  yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan semakin tinggi.

Penjelasan di atas sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jaya *et al.* (2012), bahwa pada ekstrak produk gambir memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH lebih besar dan berpotensi sebagai antioksidan jika dibandingkan dengan ekstrak produk teh hitam. Hasil tersebut sesuai dengan hasil uji kandungan total fenol dimana ekstrak produk gambir mengandung senyawa

fenolik lebih banyak jika dibandingkan dengan ekstrak produk teh hitam. Sehingga, semakin banyak kandungan senyawa fenolik pada suatu bahan, maka aktivitas penangkapan radikal bebasnya juga akan semakin meningkat dan juga semakin berpotensi sebagai senyawa antioksidan.

#### 4.6 Analisa *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LC-MS)

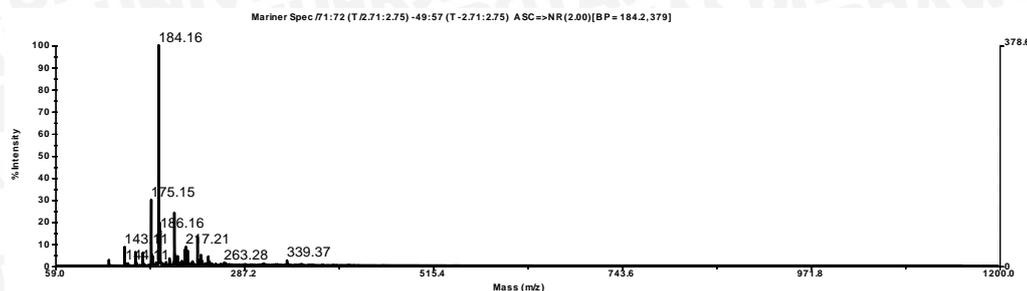
Identifikasi senyawa antioksidan pada ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat (C) dilakukan dengan menggunakan metode LC-MS. Analisis senyawa antioksidan yang teridentifikasi pada ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* berupa kromatogram. Hasil identifikasi pada kromatogram dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram LC Ekstrak Alga Coklat *Padina australis* Perlakuan C

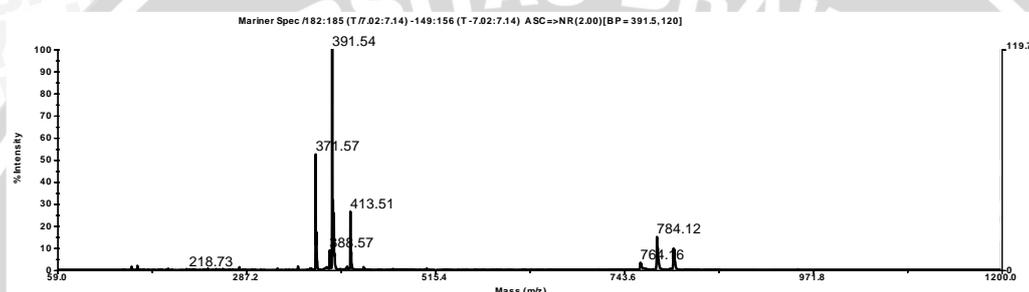
Berdasarkan kromatogram diatas, ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* terdeteksi memiliki 2 puncak. Puncak-puncak yang dihasilkan dari dua waktu retensi dengan uji MS dapat dilihat pada Gambar 9 dan Gambar 10.

- Rt 2,74



Gambar 9. Spektrum Massa untuk Waktu Retensi ke-1

- Rt 7,05



Gambar 10. Spektrum Massa untuk Waktu Retensi ke-2

Senyawa yang terdeteksi pada puncak pertama diduga sebagai senyawa benzidine yang muncul pada *retention time* 2,74 dengan berat molekul 184,16 g/mol dan memiliki rumus molekul  $C_{12}H_{12}N_2$ . Sedangkan senyawa yang terdeteksi pada puncak kedua diduga sebagai senyawa digoxegenin yang muncul pada *retention time* 7,05 dengan berat molekul 391,54 g/mol dan memiliki rumus molekul  $C_{23}H_{34}O_5$ .

Salah satu senyawa yang terdeteksi adalah senyawa benzidine dimana senyawa benzidine merupakan senyawa turunan dari benzena. Senyawa benzena dan sejumlah turunannya digolongkan senyawa aromatik. Menurut Robinson (1995), senyawa aromatik sebagai senyawa yang rumus strukturnya sekurang-kurangnya mengandung satu cincin benzena. Senyawa bahan alam aromatik sering disebut sebagai senyawa-senyawa fenol.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dengan judul Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Coklat *Padina australis*, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

- Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* antara lain: Perlakuan (A) positif alkaloid (reagen wagner). Perlakuan (B) positif flavonoid dan steroid. Perlakuan (C) positif alkaloid (reagen dragendorf dan reagen mayer), flavonoid, dan steroid. Perlakuan (D) tidak mengandung senyawa bioaktif. Perlakuan (E) positif alkaloid (reagen wagner dan reagen dragendorf) dan tanin. Perlakuan (F) tidak mengandung senyawa bioaktif.
- Ekstrak sampel alga coklat *Padina australis* memberikan hasil yang berbeda nyata pada uji aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan paling kuat yaitu pada kontrol menggunakan vitamin C. Sedangkan aktivitas antioksidan terbaik yaitu pada perlakuan C dari ekstraksi bertingkat yang dimulai dari pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), dan polar (etanol).

### 5.2 Saran

Pada proses ekstraksi sampel alga coklat *Padina australis* perlu dilakukan pemurnian ekstrak sampel, sehingga senyawa antioksidan yang dihasilkan murni dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dalam menangkap radikal bebas akan lebih optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. W. S. 2002. Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Hayati Pigmen Fikobiliprotein dari Ekstrak *Spirulina platensis*. *Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. 535-543 Halaman.
- Andaka, G. 2009. Optimasi Proses Ekstraksi Minyak Kacang Tanah dengan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknologi* 2 (1): 80-82 Halaman.
- Azkiyah, S. Z. 2013. Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan dari Fraksi n-Heksana Tumbuhan Paku *Nephrolepis falcata* (cav.) C. Chr. Skripsi. 48 Halaman.
- Baihakki, Feliatra, dan T. Wikanta. 2015. Extraction of polyphenol from *Sargassum* sp. and Its Entrapment In the Nanochitosan. 46 Halaman.
- Fitrya. 2010. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Alga *Padina australis* Hauck (Dictyotaceae). *Jurnal Penelitian Sains* 13 (3): 46-49 Halaman.
- Ginting, M. K. 2012. Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa Asam Trans-Mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-Metil Hippurat, Asam 3-Metil Hippurat, Asam 4-Metil Hippurat Dalam Urin Sebagai Abiomarker Paparan Benzene Toluena, Dan Xilena. Skripsi. 62 Halaman.
- Handayani, T., Sutarno., dan A. D. Setyawan. 2004. Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh. *Biofarmasi* 2 (2): 45-52 Halaman.
- Hanindita, H. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Fenolik dari Daun Lobak (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Back.) Terhadap DPPH ((1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)). Skripsi. 67 Halaman.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro.
- Huda, N. 2001. Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-VIS. GBC 911A Menggunakan Pewarna Tartrazine CL 19140. *Sigma Epsilon*. 15-20 Halaman.
- Ide, P. 2008. *Dark Chocolate Healing*. Gramedia. Jakarta.
- Jannah, M., A. Hanapi dan A.G. Fasya. 2014. Uji Toksisitas Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform dan N-Heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Jurnal ALCHEMY* 3 (2): 194-203 Halaman.
- Jaya, I. G. N. I. P., N. P. E. Leliqia., I. N. K. Widjaja. 2012. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Produk Teh Hitam (*Camelia sinensis* (L.) O. K.) dan Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) Serta Profil KLT-Densitometrinya. 86-101 Halaman.

- Julyasih, K. S. M., I. G. P. Wirawan, W. S. Harijani, dan W. Widajati. 2009. Aktivitas Antioksidan Beberapa Jenis Rumput Laut (*Sea Weeds*) Komersial di Bali. *Seminar Nasional 'Akselerasi Pengembangan Teknologi Pertanian dalam Mendukung Revitalisasi Pertanian'*. 8 Halaman.
- Juneidi, A. W. 2004. *Rumput Laut, Jenis dan Morfologinya*. Departemen Pendidikan Nasional. 50 Halaman..
- Kuncahyo, I dan Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007)*. 1-9 Halaman.
- Kuncoro, E. B. 2004. *Akuarium Laut*. Kanisius. Yogyakarta.
- Lestari, P. 2011. Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Etanol Buah Merah (*pandanus conoideus* Lam.). Skripsi. 42 Halaman.
- Marlinda, M., M. S. Sangi, dan A. D. Wuntu. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE 1* (1): 24-28 Halaman.
- Maryam, R. 2007. Metode Deteksi Mikotoksin. *J. Mikol Ked Indon 7* (1-2): 12-24 Halaman.
- Maulida, D. dan N. Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran N-Heksana, Aseton, dan Etanol. Skripsi. 32 Halaman.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical DiPhenylPicrylHydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol. 26* (2): 211-219 Halaman.
- MSDS. 2013. Material Safety Data Sheet. <http://www.scincelab.com/msds.php?msdsid=9927165>. Diakses pada tanggal 14 April 2015.
- Munawaroh, S. dan P. A. Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Dauk Jeruk Purut dengan Pelarut Etanol dan N-heksan. *Jurnal Kompetensi Teknik 2* (1). 73-78 Halaman.
- Nafisah, M., Tukiran., Suyatno., dan N. Hidayati. 2014. Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. 279-286 Halaman.
- Novia., H. Yuliyati, dan R. Yuliandhika. 2009. Pemanfaatan Biji Karet sebagai Semi Drying Oil dengan Metode Ekstraksi Menggunakan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknik Kimia 16* (4): 1-10 Halaman.
- Nuryoto. 2008. Studi Kinerja Katalisator Lewatit Monoplus s-100 pada Reaksi Esterifikasi antara Etanol dan Asam Asetat. *Jurnal Rekayasa Proses 2* (1): 24-27 Halaman.

- Palallo, A. 2013. Distribusi Makroalga pada Ekosistem Lamun dan Terumbu Karang di Pulau Bonebatang, Kecamatan Ujung Tanah, Kelurahan Barrang Lompo, Makassar. Skripsi. 46 Halaman.
- Prabawati, S. Y., A. F. Setiawan dan A. F. Agustina. 2012. Sintesis Senyawa 1,4 Bis [(2-Hidroksi-3-Metoksi-5-Formaldehid-Fenil)-Metil] Piperazin dari Bahan Dasar Vanilin dan Uji Aktivitasnya sebagai Zat Antioksidan. *Jurnal Kaunia VIII* (1): 30-43 Halaman.
- Prakash, A., F. Rigelhof and E. Miller. 2001. *Antioxidant Activity. Medallion Laboratories Analytical Progress*. Minnesota.
- Pramesti, R. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpun Laut *Caulerpa serrulata* dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil). *Buletin Oseanografi Marina 2*: 7-15 Halaman.
- Prima, M. I. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Gram Positif dan Gram Negatif. Skripsi. 50 Halaman.
- Putranti, R. I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpun Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. Tesis. 130 Halaman.
- Ratnayani, K., A. A. I. A. M. Laksmiwati dan N. P. I. Septian P. 2012. Kadar Total Senyawa Fenolat pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas dengan Metode DPPH (Difenilpikril Hidrazil). *Jurnal Kimia 6* (2): 163-168 Halaman.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Abstrak. *Jurnal Belian 9* (2): 196-202 Halaman.
- Retnaningsih, C., W. Widowati, dan Lindayani. 2007. Isolasi Senyawa Antioksidan dan Antidiabetes dari Biji Kacang Koro (*Mucuna pruriens*). Program Intensif Riset Dasar. 93 Halaman.
- Robinson, T. 1991. The Organic Constituents of Higher Plants, 6 Th Edition. Terjemahan oleh Kokasih Padmawinata. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.
- Rohimat., I. Widowati dan A. Trianto. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumpun Laut Coklat (*Turbinaria conoides* dan *Sargassum cristafolium*) yang Dikoleksi dari Pantai Rancabuaya Garut Jawa Barat. *Journal of Marine Research 3* (3): 304-313 Halaman.
- Ruwaida, D. G. 2010. Uji Toksisitas Senyawa Hasil Isolasi Rumpun Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bst). Skripsi. 75 Halaman.
- Ryzki, A. 2013. *Dasar-dasar Farmakognosi Edisi V*. Kanisius. Yogyakarta.
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.). Skripsi. 79 Halaman.

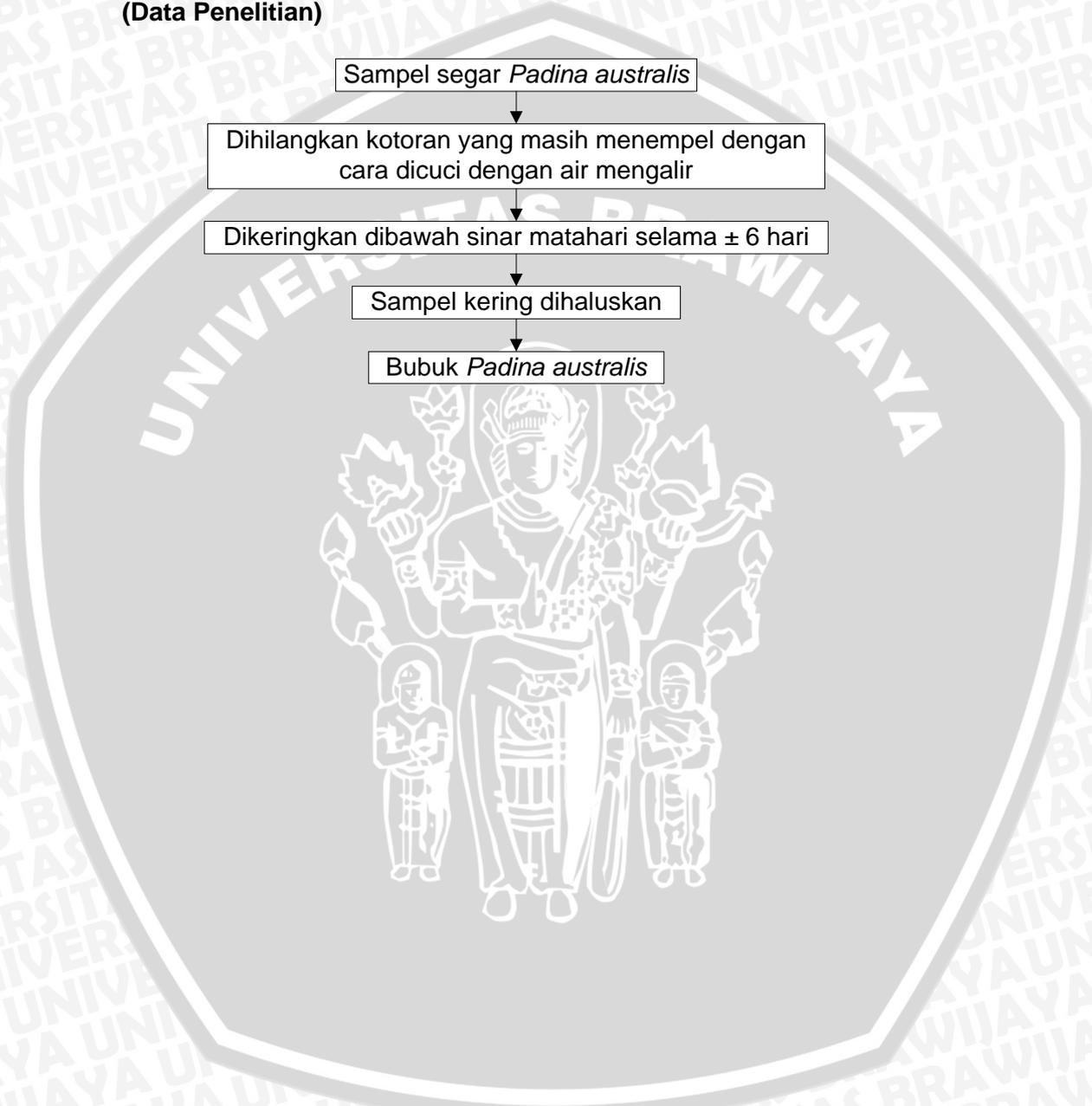
- Sahat, H. J. 2013. *Rumput Laut Indonesia*. Kementerian Perdagangan. 1-20 Halaman.
- Samin, A. A., N. Bialangi, Y. K. Salimi. 2013. Penentuan Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan dari Rambut Jagung (*Zea mays* L.) yang Tumbuh di Daerah Gorontalo. 213-225 Halaman.
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene, H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Chem. Prog.* I (1): 47-53 Halaman.
- Sarastani, D., S. T. Soekarto, T. R. Muchtadi, D. Fardiaz dan A. Apriyantono. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XIII (2): 149-156 Halaman.
- Sastrosupadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Kanisius. Jakarta.
- Sekarsari, R. A., dan T. Taufikurrohmah. 2012. Sintesis dan Karakterisasi Nanogold dengan Variasi Konsentrasi  $\text{HauCl}_4$  Sebagai Material Antiaging Dalam Kosmetik. Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa 2012. 189-197 Halaman.
- Septiana, A. T. dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal Agrotek* 6 (1): 22-28 Halaman.
- Septiana, A. T. dan A. Asnani. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian* 14 (2): 79-86 Halaman.
- Silaban, L. W. 2009. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Kulit Buah Sentul (*Sandoricum koetjape* (Burm. F.) Merr) Terhadap Beberapa Bakteri Secara *In Vitro*. Skripsi. 50 Halaman.
- Siregar, A. F., A. Sabdono, D. Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research* 1 (2): 152-160.
- Sudariastuty, E. 2011. *Pengolahan Rumput Laut*. Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan. 57 Halaman.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty Yogyakarta. Yogyakarta.
- Sulaeman, S. 2006. Pengembangan Agribisnis Komoditi Rumput Laut Melalui Model Klaster Bisnis. *Jurnal Infokop* XXII (28): 71-78 Halaman.
- Sundari, I. 2010. Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). Skripsi. 53 Halaman.

- Syukur, R., G. Alam, Mufidah, A. Rahim, R. Tayeb. 2011. Aktivitas Antiradikal Bebas Beberapa Ekstrak Tanaman Familia Fabaceae. *JST Kesehatan* 1 (1): 61-67.
- Triwahyuni, M. E. dan Yusrin. 2012. Penggunaan Metode Kompleksometri pada Penetapan Kadar Seng Sulfat dalam Campuran Seng Sulfat dengan Vitamin C. <http://jurnal.unimus.ac.id>. 335-345 Halaman.
- Tukiran., Suyatno., dan N. Hidayati. 2014. Skrining Fitokimia pada Beberapa Ekstrak dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff.). Prosiding Seminar Nasional Kimia.235-244 Halaman.
- Utomo, D. P. 2011. Analisis Matematis dan Ekonomis Penggunaan Metanol dan Etanol pada Kompor "HD". *Jurnal Teknik Industri* 11 (1): 50-55 Halaman.
- Wibisono, D. 2003. *Riset Bisnis Panduan Bagi Praktisi dan Akademisi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wibowo, P. D. K. 2013. Variasi Karaginan (*Eucheuma cottonii* Doty) pada Proses Pembuatan Bakso Daging Sapi dengan Bahan Pengawet Tanin dari Pisang Kluthuk. Skripsi. 57 Halaman.
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. Skripsi. 23 Halaman.
- Wikanta, T., A. Prabukusuma, D. Ratih dan H. I. Januar. 2010. Bioaktivitas Ekstrak Kasar Aseton, Fraksi, dan Subfraksinya dari *Ulva fasciata* Terhadap Sel Lastari Tumor Hela. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 5 (1): 1-10 Halaman.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Wultur, C. A dan J. Schaduw. 2013. Identifikasi Alkaloid pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). Jurusan Farmasi. 54 Halaman
- Yudihapsari, E. 2009. Kajian Kadar Protein, pH, Viskositas dan Rendemen Kecap Whey dari Berbagai Tingkat Penggunaan Tepung Kedelai. Skripsi. 63 Halaman.
- Zipcodezoo. 2015. [Zipcodezoo.com/index.php/Padina](http://zipcodezoo.com/index.php/Padina). Diakses tanggal 11 April 2015.
- Zuhra, C. F., J. B. Tarigan dan H. Sihotang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera* 3 (1): 7-10 Halaman.

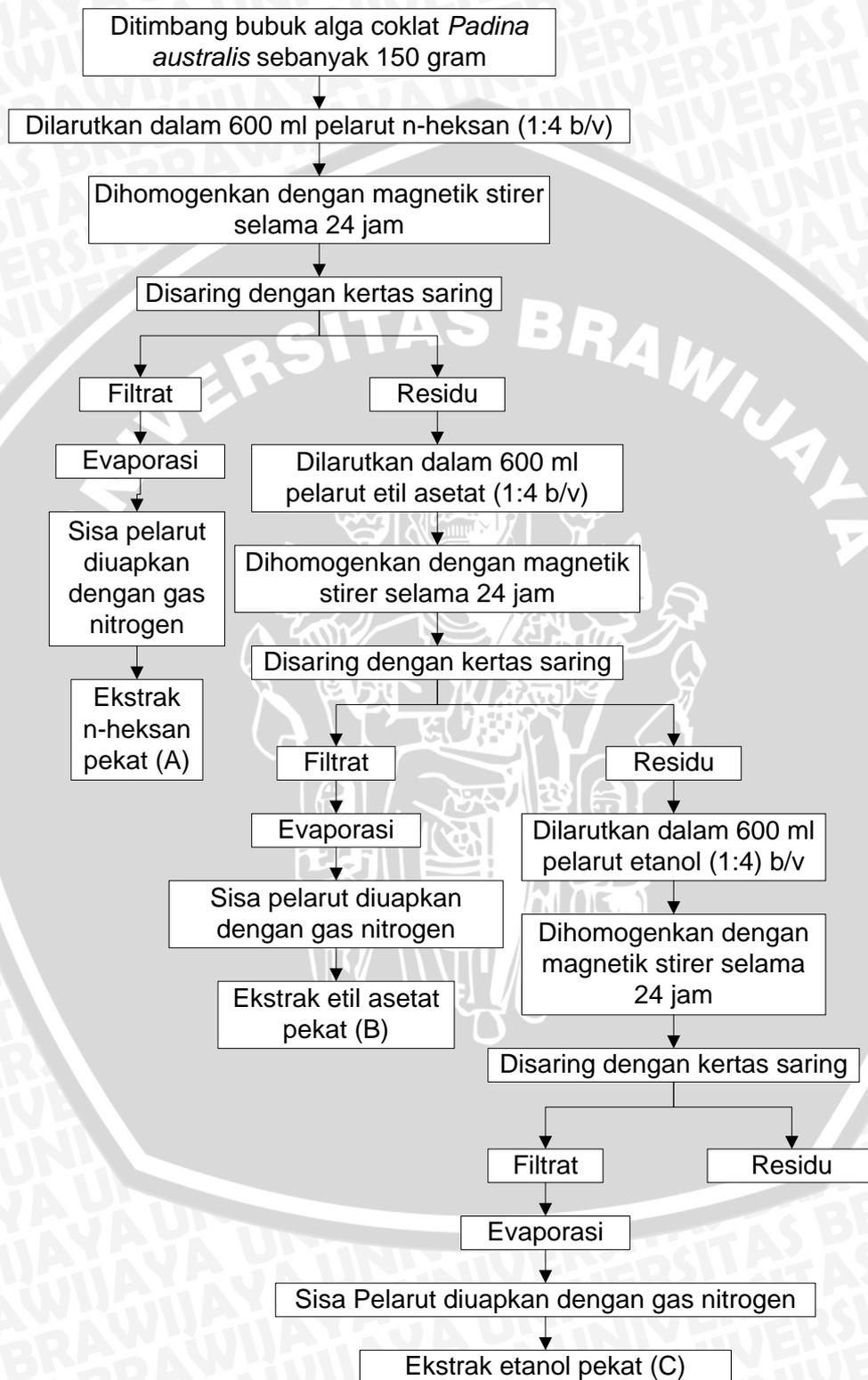
## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Skema Kerja

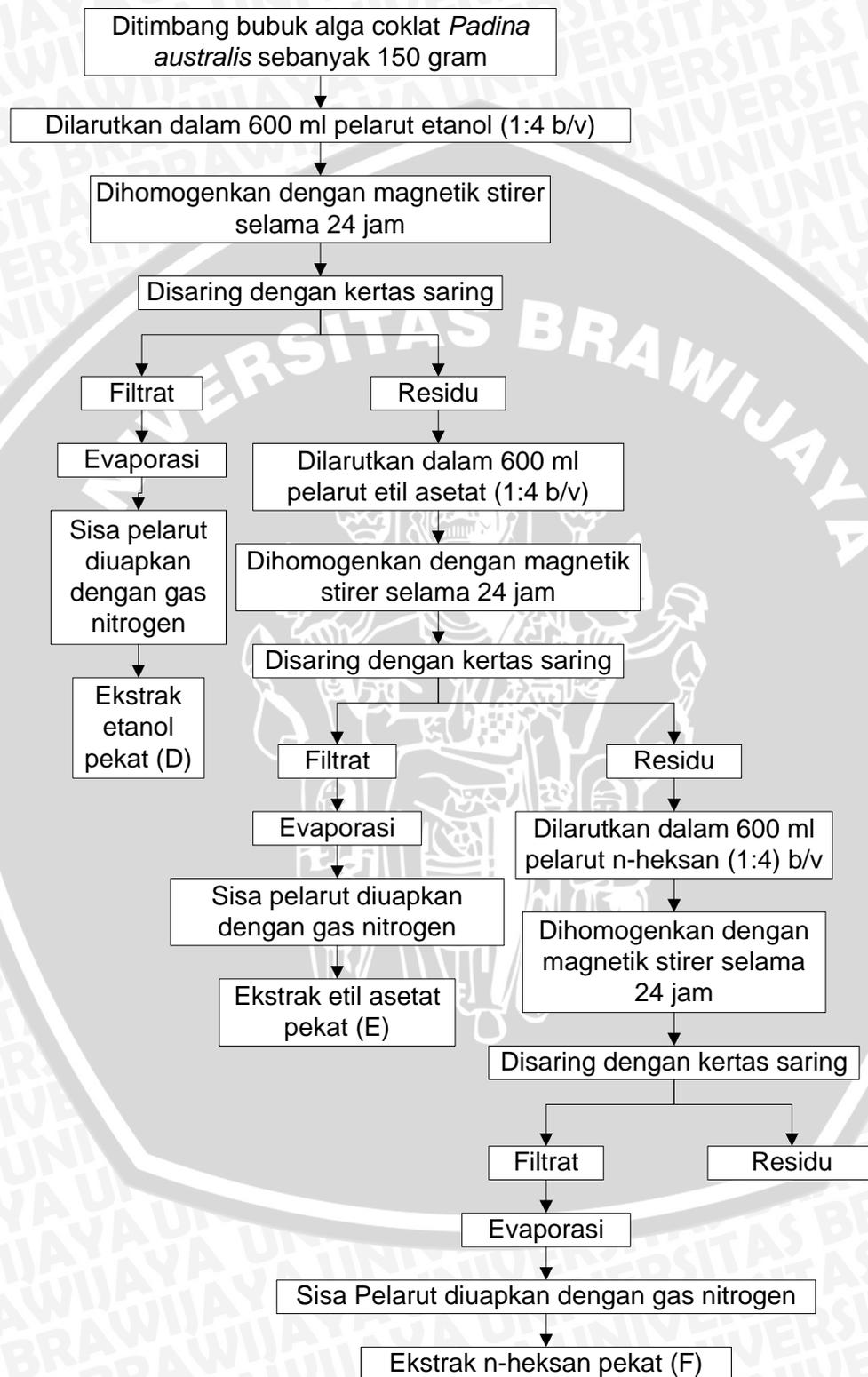
- Skema Kerja Proses Pembuatan Bubuk Alga Coklat *Padina australis* (Data Penelitian)



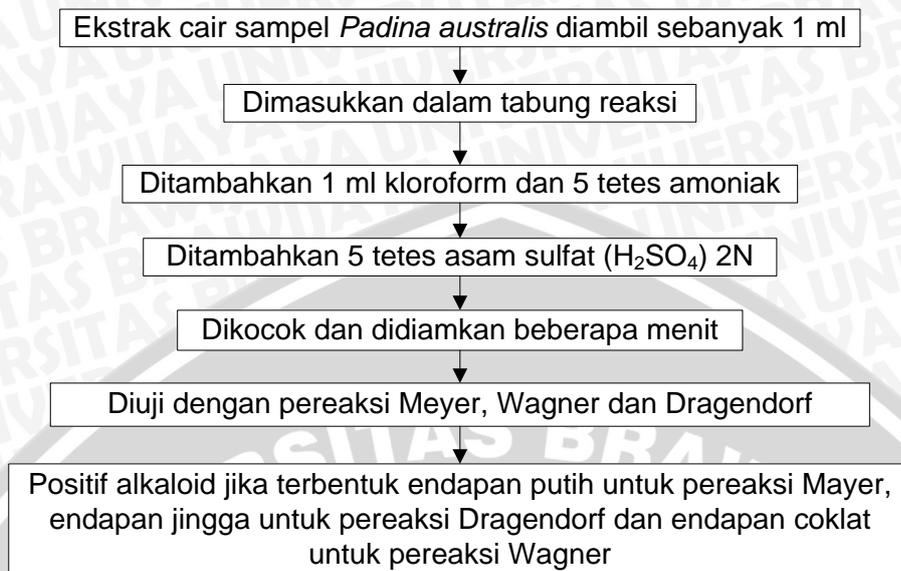
- Skema Kerja Proses Ekstraksi Bertingkat dari Pelarut Non Polar ke Polar (Modifikasi Septiana dan Asnani, 2012 dengan Baihakki *et al.*, 2015)



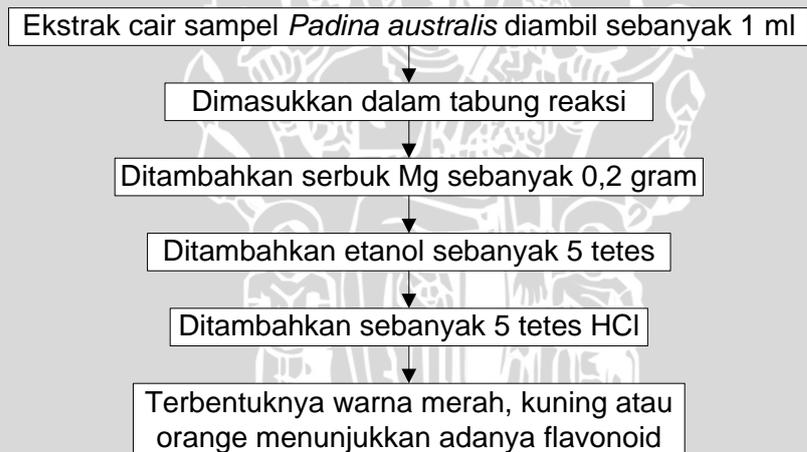
- Skema Kerja Proses Ekstraksi Bertingkat dari Pelarut Polar ke Non Polar (Modifikasi Septiana dan Asnani, 2012 dengan Baihakki *et al.*, 2015)



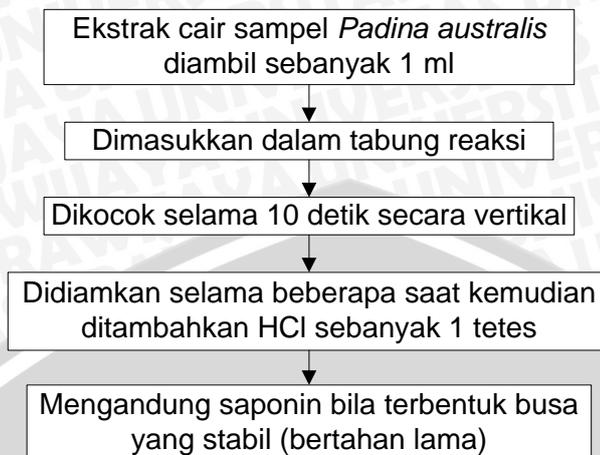
- **Skema Kerja Uji Alkaloid (Harborne, 1987 dan Nafisah et al., 2014)**



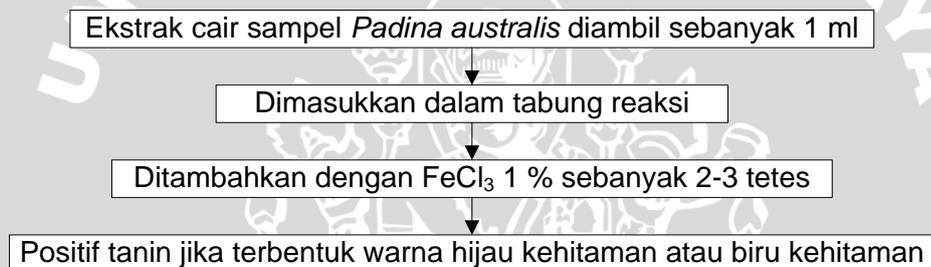
- **Skema Kerja Uji Flavonoid (Nafisah, 2014 dan Sangi et al., 2008)**



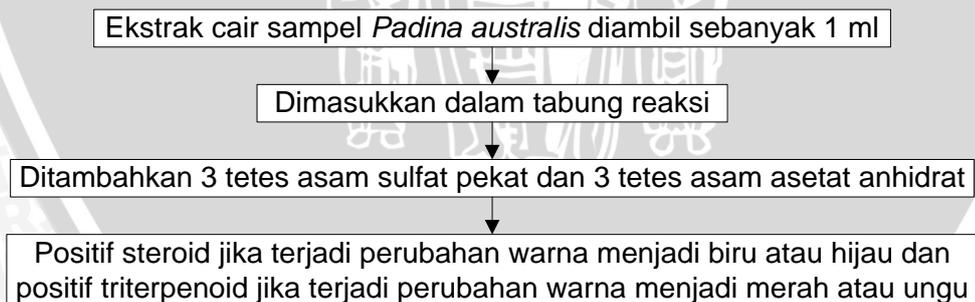
- **Skema Kerja Uji Saponin (Harborne, 1987)**



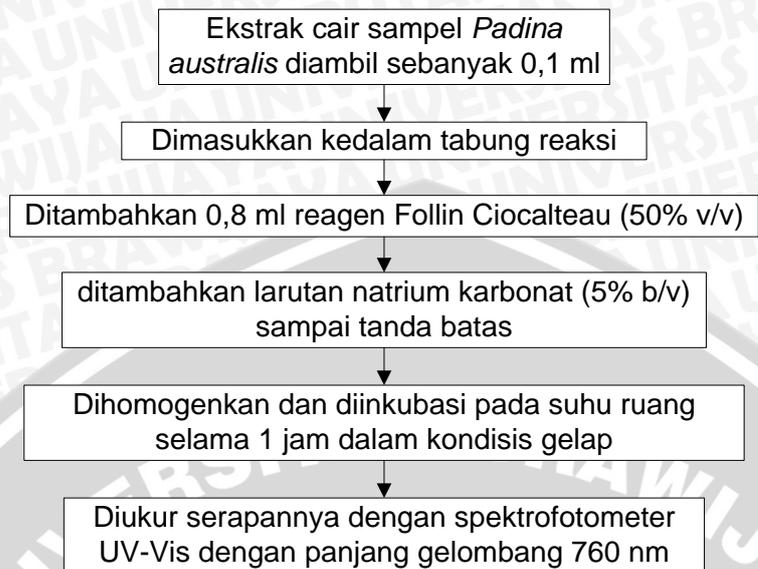
- **Skema Kerja Uji Tanin (Harborne, 1987)**



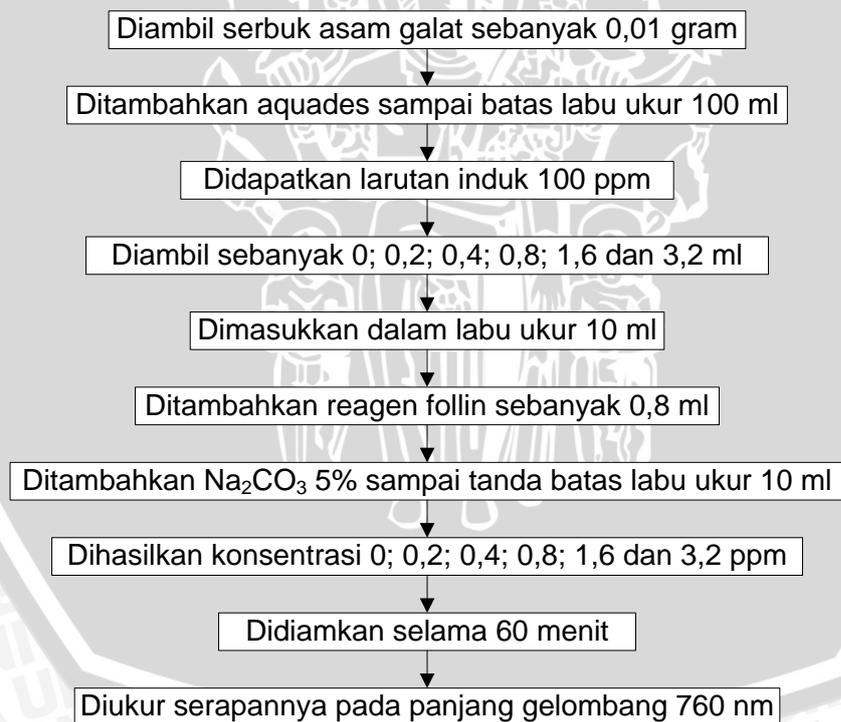
- **Skema Kerja Uji Triterpenoid atau Steroid (Nafisah, 2014 dan Sangi, 2008)**



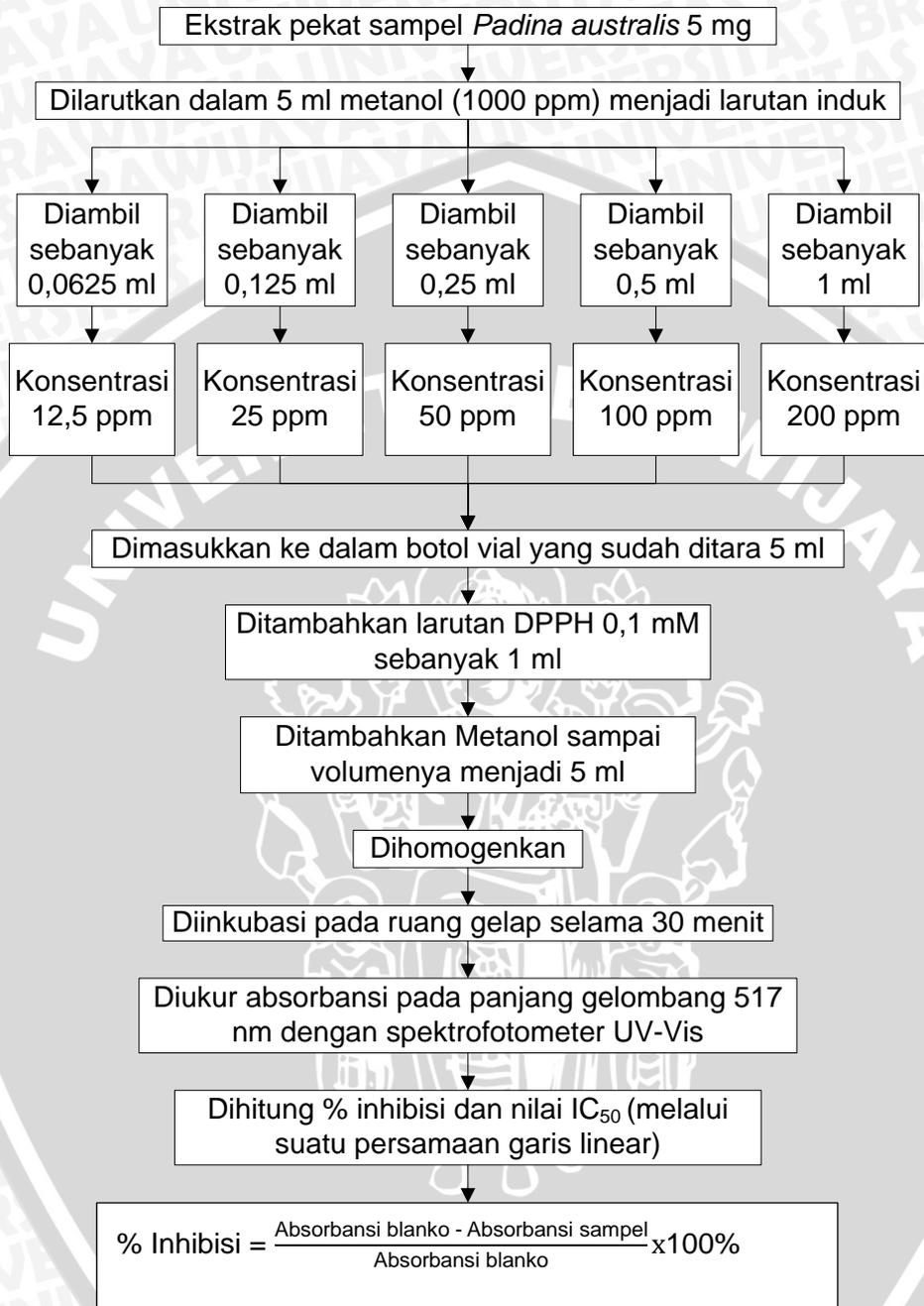
- **Skema Kerja Uji Fenol (Ratnayani et al., 2012)**



- **Skema Kerja Uji Asam Galat (Ratnayani et al., 2012)**



- Skema Kerja Proses Uji Aktivitas Antioksidan (Modifikasi Rohimat *et al.*, 2014 dan Wikanta *et al.*, 2010)

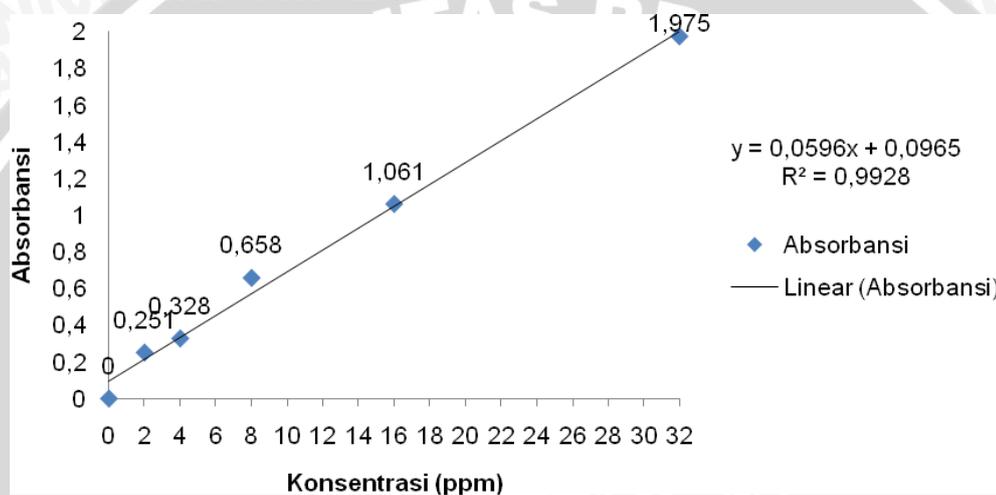


Lampiran 2. Uji Larutan Standar Asam Galat

- Hasil Uji Larutan Standar Asam Galat

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

- Kurva Kalibrasi Asam Galat



Lampiran 3. Hasil Uji Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Pelarut	Ulangan	Bobot Sampel (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)	Total Fenol Sampel (mg)		Rata-rata Total Fenol (mg GAE/g)
					GAE/g		
A	1	0,09	1,614	25,46	282,90		276,75
	2	0,09	1,451	22,73	252,52		
	3	0,09	1,678	26,54	294,84		
B	1	0,09	1,627	25,68	285,33		301,24
	2	0,09	1,516	23,82	264,63		
	3	0,09	1,994	31,84	353,75		
C	1	0,09	1,887	30,04	333,80		332,56
	2	0,09	1,708	27,04	300,43		
	3	0,09	2,046	32,71	363,44		
D	1	0,09	1,631	25,75	286,07		302,79
	2	0,09	1,622	25,60	284,40		
	3	0,09	1,909	30,41	337,90		
E	1	0,09	1,171	18,03	200,32		286,70
	2	0,09	1,676	26,50	294,46		
	3	0,09	2,056	32,88	365,31		
F	1	0,09	1,177	18,13	201,44		245,00
	2	0,09	1,412	22,07	245,25		
	3	0,09	1,643	25,95	288,31		

Keterangan:

A : Ekstrak pelarut n-heksan

B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan

C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat

D : Ekstrak pelarut etanol

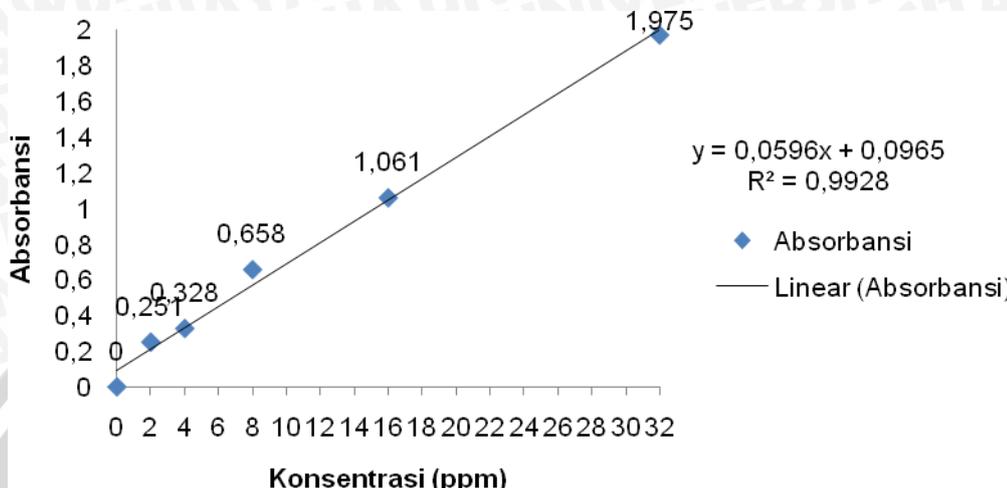
E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol

F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat

Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi dan Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

• Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Diketahui :



Ditanya : Konsentrasi sampel?

Jawab :

- *P. australis* Pelarut N-heksan (A)
- *P. australis* Pelarut Etil Asetat (B)

➤ Ulangan 1

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

$$1,614 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,614 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 25,46 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 2

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

$$1,451 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,451 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 22,73 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 3

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

$$1,678 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,678 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 26,54 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 1

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

$$1,627 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,627 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 25,68 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 2

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

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

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

$$x = 23,82 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 3

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

$$1,994 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,994 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 31,84 \text{ ppm}$$



• *P. australis* Pelarut Etanol (C)

➤ Ulangan 1

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

$$1,887 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,887 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 30,04 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 2

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

$$1,708 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,708 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 27,04 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 3

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

$$2,046 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{2,046 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 32,71 \text{ ppm}$$

• *P. australis* Pelarut Etanol (D)

➤ Ulangan 1

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

$$1,631 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,631 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 25,75 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 2

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

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

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

$$x = 25,60 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 3

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

$$1,909 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,909 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 30,41 \text{ ppm}$$

• *P. australis* Pelarut Etil Asetat (E)

➤ Ulangan 1

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

$$1,171 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,171 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 18,03 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 2

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

$$1,676 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,676 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 26,50 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 3

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

$$2,506 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{2,506 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 32,88 \text{ ppm}$$

• *P. australis* Pelarut N-heksan (F)

➤ Ulangan 1

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

$$1,177 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,177 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 18,13 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 2

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

$$1,412 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,412 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 22,07 \text{ ppm}$$

➤ Ulangan 3

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

$$1,643 = 0,0596x + 0,0965$$

$$x = \frac{1,643 - 0,0965}{0,0596}$$

$$x = 25,95 \text{ ppm}$$

• **Perhitungan Total Fenol Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis***

Diketahui : Total Fenol =  $\frac{\text{Konsentrasi sampel (mg/L)} \times \text{fp} \times 10^{-3} \text{ (L/ml)}}{\text{Bobot Sampel (mg)} \times 10^{-3} \text{ (g/mg)}}$

Ditanya : Total Fenol = ... mg GAE/g sampel?

Jawab :

• *P. australis* Pelarut N-heksan (A)

➤ Ulangan 3

➤ Ulangan 1

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,46 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,46}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 282,90 \text{ mg GAE/g}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{31,84 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{31,84}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 353,75 \text{ mg GAE/g}$$

➤ Ulangan 2

$$\text{Total Fenol} = \frac{22,73 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{22,73}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 252,52 \text{ mg GAE/g}$$

➤ Ulangan 1

$$\text{Total Fenol} = \frac{30,04 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{30,04}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 333,80 \text{ mg GAE/g}$$

➤ Ulangan 3

$$\text{Total Fenol} = \frac{26,54 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{26,54}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 294,84 \text{ mg GAE/g}$$

➤ Ulangan 2

$$\text{Total Fenol} = \frac{27,04 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{27,04}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 300,43 \text{ mg GAE/g}$$

• *P. australis* Pelarut Etil Asetat (B)

➤ Ulangan 3

➤ Ulangan 1

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,68 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,68}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 285,33 \text{ mg GAE/g}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{32,71 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{32,71}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 363,44 \text{ mg GAE/g}$$

➤ Ulangan 2

$$\text{Total Fenol} = \frac{23,82 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{23,82}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 264,63 \text{ mg GAE/g}$$

➤ Ulangan 1

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,75 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,75}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 286,07 \text{ mg GAE/g}$$

• *P. australis* Pelarut Etanol (D)

➤ Ulangan 1



## ➤ Ulangan 2

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,60 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,60}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 284,40 \text{ mg GAE/g}$$

## ➤ Ulangan 2

$$\text{Total Fenol} = \frac{22,07 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{22,07}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 245,25 \text{ mg GAE/g}$$

## ➤ Ulangan 3

$$\text{Total Fenol} = \frac{30,41 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{30,41}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 337,90 \text{ mg GAE/g}$$

## ➤ Ulangan 3

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,95 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{25,95}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 288,31 \text{ mg GAE/g}$$

- *P. australis* Pelarut Etil Asetat (E)

## ➤ Ulangan 1

$$\text{Total Fenol} = \frac{18,03 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{18,03}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 200,32 \text{ mg GAE/g}$$

## ➤ Ulangan 2

$$\text{Total Fenol} = \frac{26,50 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{26,50}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 294,46 \text{ mg GAE/g}$$

## ➤ Ulangan 3

$$\text{Total Fenol} = \frac{32,88 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{32,88}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 365,31 \text{ mg GAE/g}$$

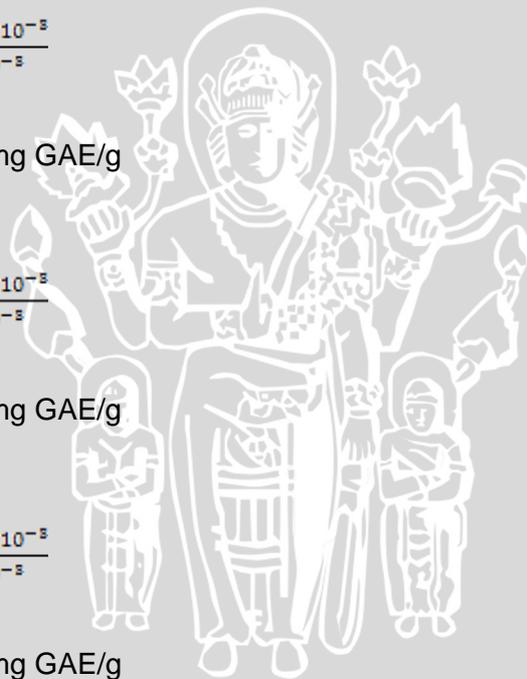
- *P. australis* Pelarut N-heksan (F)

## ➤ Ulangan 1

$$\text{Total Fenol} = \frac{18,13 \times 1 \times 10^{-3}}{0,09 \times 10^{-3}}$$

$$\text{Total Fenol} = \frac{18,13}{0,09}$$

$$\text{Total Fenol} = 201,44 \text{ mg GAE/g}$$



Lampiran 5. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Ekstrak Sampel Alga Coklat Padina australis pada Uji Total Fenol

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	X <sup>2</sup>			Total <sup>2</sup>	Simpangan Baku
	U1	U2	U3			U1	U2	U3		
A	282,90	252,52	294,84	830,26	276,75	80032,41	63766,35	86930,63	689331,67	21,81930
B	285,33	264,63	353,75	903,71	301,24	81413,21	70029,04	125139,06	816691,76	46,64076
C	333,80	300,43	363,44	997,67	332,56	111422,44	90258,18	132088,63	995345,43	31,52340
D	286,07	284,40	337,90	908,37	302,79	81836,04	80883,36	114176,41	825136,06	30,41761
E	200,32	294,46	365,31	860,09	286,70	40128,10	86706,69	133451,40	739754,81	82,76851
F	201,44	245,25	288,31	735,00	245,00	40578,07	60147,56	83122,66	540225,00	43,43554
<b>Total</b>	<b>1589,86</b>	<b>1641,69</b>	<b>2003,55</b>	<b>5235,10</b>					<b>4606484,73</b>	

<b>FK</b>	<b>1522570,66722</b>
<b>JKTotal</b>	<b>39539,58278</b>
<b>JKP</b>	<b>12924,24131</b>
<b>JKG</b>	<b>26615,34147</b>

SK	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
<b>Perlakuan</b>	5	12924,24131	2584,84826	1,16542	3,110	5,060
<b>Galat</b>	12	26615,34147	2217,94512			
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>39539,58278</b>				

Kesimpulan:

$F_{hitung} < f_{0,05(n-1)} =$  terima  $H_0$  : tidak ada perbedaan sepasang  $T_i$  (tidak berbeda nyata)

- **Analisis Sidik Ragam (ANOVA)**

- **Hipotesis**

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = 0$$

$H_1$  = paling tidak ada sepasang  $T_i$  yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0.05(n-1)}$  = terima  $H_0$ : tidak ada perbedaan sepasang  $T_i$  (tidak berbeda nyata)

$f_{0.05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0.01(n-1)}$  = terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$ : perbedaan sepasang  $T_i$  (nyata)

$f_{hitung} > f_{0.01(n-1)}$  = terima  $H_1$ : perbedaan sepasang  $T_i$  (sangat nyata)

- **Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)**

- ❖ **Faktor Koreksi**

$$FK = \frac{\sigma^2}{r \times n} = \frac{5235,10^2}{3 \times 6} = \frac{27406272,01}{18} = 1522570,66722$$

- ❖ **Jumlah Kuadrat Total (JK Total)**

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= 282,90^2 + 252,52^2 + 294,84^2 + \dots + 288,31^2 - FK \\ &= 1562110,25 - 1522570,66722 \\ &= 39539,58278 \end{aligned}$$

- ❖ **Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)**

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(830,26^2 + 903,71^2 + 997,67^2 + \dots + 735,00^2)}{3} - FK \\ &= \frac{4606484,73}{3} - 1522570,66722 \\ &= 12924,24131 \end{aligned}$$

- ❖ **Jumlah Kudrat Galat**

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 39539,58278 - 12924,24131 \\ &= 26615,34147 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian (Uji Fitokimia)

- Preparasi Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Gambar	Keterangan
	<p>Sampel segar Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Pencucian sampel segar Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Penjemuran sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Penghalusan sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Penimbangan serbuk sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>



Serbuk sampel Alga Coklat *Padina australis* 150 gram

- Ekstraksi Sampel

Gambar	Keterangan
	<p>Serbuk sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> 150 gram</p>
	<p>Penambahan pelarut (N-heksan, Etil Asetat, Etanol)</p>
	<p>Pelarut dan serbuk sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> kemudian dihomogenkan</p>

	<p>Proses penyaringan untuk memisahkan antara filtrat dan residu</p>
	<p>Filtrat sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> dievaporasi</p>

• Uji Fitokimia

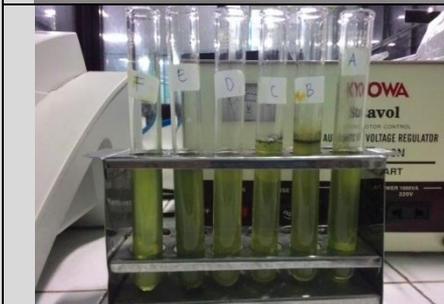
Gambar	Keterangan
	<p>Uji Senyawa Saponin</p>
	<p>Uji Senyawa Triterpenoid dan Steroid</p>



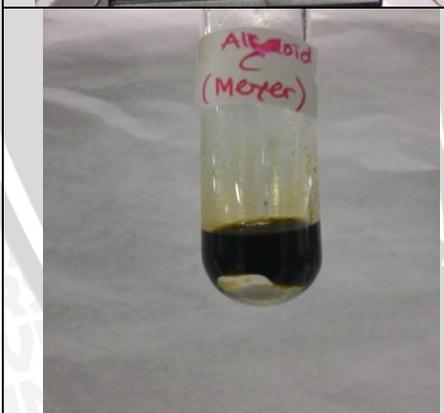
Uji Senyawa Tanin



Uji Senyawa Flavonoid



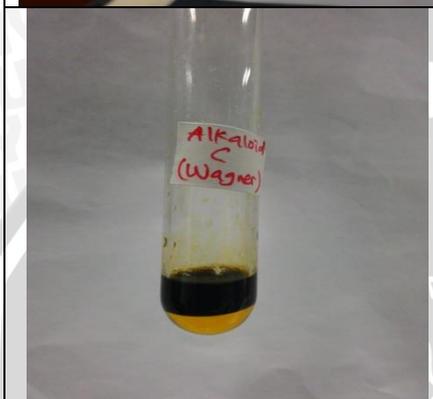
Uji Senyawa Fenol



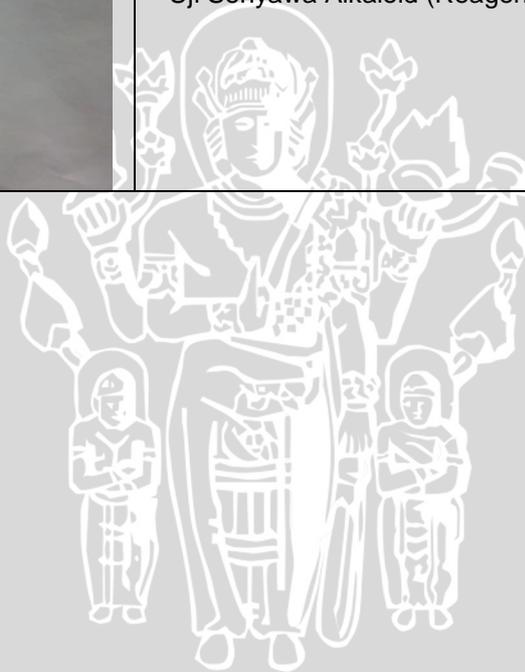
Uji Senyawa Alkaloid (Reagen Meyer)



Uji Senyawa Alkaloid (Reagen Dragendorf)



Uji Senyawa Alkaloid (Reagen Wagner)



Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

No	Pelarut	Kons. (ppm)	Abs. U1	Abs. U2	Abs. U3	Inh. U1 (%)	Inh. U2 (%)	Inh. U3 (%)	Rerata Inh. (%)	IC50 U1 (ppm)	IC50 U2 (ppm)	IC50 U3 (ppm)	Rata-rata IC50
1	A	0	0,229	0,228	0,228	0	0	0	0	204,68	204,37	202,54	203,86
		12,5	0,21	0,208	0,212	8,30	8,77	7,02	8,03				
		25	0,197	0,2	0,2	13,97	12,28	12,28	12,85				
		50	0,179	0,18	0,181	21,83	21,05	20,61	21,17				
		100	0,16	0,162	0,16	30,13	28,95	29,82	29,63				
		200	0,123	0,121	0,121	46,29	46,93	46,93	46,72				
2	B	0	0,228	0,228	0,229	0	0	0	0	189,86	187,86	187,83	188,52
		12,5	0,203	0,201	0,202	10,96	11,84	11,79	11,53				
		25	0,192	0,19	0,189	15,79	16,67	17,47	16,64				
		50	0,172	0,171	0,17	24,56	25,00	25,76	25,11				
		100	0,153	0,152	0,152	32,89	33,33	33,62	33,28				
		200	0,116	0,115	0,116	49,12	49,56	49,34	49,34				
3	C	0	0,231	0,23	0,228	0	0	0	0	183,13	181,93	182,68	182,58
		12,5	0,202	0,201	0,201	12,55	12,61	11,84	12,33				
		25	0,19	0,189	0,189	17,75	17,83	17,11	17,56				
		50	0,173	0,171	0,17	25,11	25,65	25,44	25,40				
		100	0,152	0,151	0,151	34,20	34,35	33,77	34,11				
		200	0,114	0,113	0,112	50,65	50,87	50,88	50,80				

		0	0,229	0,23	0,228	0	0	0	0				
		12,5	0,202	0,2	0,201	11,79	13,04	11,84	12,23				
4	D	25	0,192	0,193	0,191	16,16	16,09	16,23	16,16	185,66	180,83	181,80	182,77
		50	0,167	0,168	0,166	27,07	26,96	27,19	27,07				
		100	0,152	0,15	0,151	33,62	34,78	33,77	34,06				
		200	0,115	0,113	0,112	49,78	50,87	50,88	50,51				
		0	0,228	0,228	0,229	0	0	0	0				
		12,5	0,204	0,202	0,203	10,53	11,40	11,35	11,09				
5	E	25	0,193	0,191	0,19	15,35	16,23	17,03	16,20	192,17	190,08	190,07	190,77
		50	0,173	0,172	0,171	24,12	24,56	25,33	24,67				
		100	0,154	0,153	0,153	32,46	32,89	33,19	32,85				
		200	0,117	0,116	0,117	48,68	49,12	48,91	48,91				
		0	0,23	0,229	0,229	0	0	0	0				
		12,5	0,208	0,209	0,212	9,57	8,73	7,42	8,57				
6	F	25	0,198	0,196	0,2	13,91	14,41	12,66	13,66	206,68	201,39	204,82	204,30
		50	0,18	0,18	0,181	21,74	21,40	20,96	21,37				
		100	0,159	0,157	0,158	30,87	31,44	31,00	31,10				
		200	0,125	0,122	0,124	45,65	46,72	45,85	46,08				
		0	0,235	0,236	0,236	0	0	0	0				
		2	0,115	0,116	0,114	51,06	50,85	51,69	51,20				
7	Kontrol	4	0,095	0,094	0,096	59,57	60,17	59,32	59,69	4,85	4,82	4,79	4,82
		8	0,051	0,052	0,05	78,30	77,97	78,81	78,36				
		16	0,03	0,029	0,031	87,23	87,71	86,86	87,27				
		32	0,002	0,003	0,002	99,15	98,73	99,15	99,01				

Keterangan:

A : Ekstrak pelarut n-heksan

B : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu n-heksan

C : Ekstrak pelarut etanol dari residu etil asetat

D : Ekstrak pelarut etanol

E : Ekstrak pelarut etil asetat dari residu etanol

F : Ekstrak pelarut n-heksan dari residu etil asetat



### Lampiran 8. Perhitungan

#### • Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM dalam 100 ml Metanol

Diketahui : Konsentrasi = 0,1 mM  
 Volume = 100 ml = 0,1 L  
 Mr DPPH ( $C_{15}H_{12}N_5O_6$ ) = 394,3 gram/mol

Ditanya : gram DPPH yang dibutuhkan?

Jawab :

$$M = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{Vol}}$$

$$0,1 \times 10^{-3} = \frac{\text{gram}}{394,3} \times \frac{1000}{100}$$

$$0,03943 = 10 \text{ gram}$$

$$\frac{0,03943}{10} = \text{gram}$$

$$0,003943 = \text{gram}$$

$$0,003943 \times 1000 = \text{mg}$$

$$3,94 = \text{mg}$$

$$4 = \text{mg}$$

#### • Perhitungan Pembuatan Larutan Induk

Diketahui : Sampel = 5 mg

Volume metanol = 5 ml

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ ml}}$$

$$\text{Volume} = 5 \text{ ml} \rightarrow 1 \text{ ppm} = \frac{0.005 \text{ g}}{5 \text{ ml}}$$

Konsentrasi larutan induk

$$\frac{1 \text{ ppm}}{x} = \frac{0.005/5 \text{ ml}}{5 \text{ mg}/5 \text{ ml}}$$

$$\frac{1 \text{ ppm}}{x} = \frac{0.005}{5} \times \frac{5}{5}$$

$$\frac{1 \text{ ppm}}{x} = \frac{0.025}{25}$$

$$0.025 \times 25 = 25$$

$$x = \frac{25}{0.025} = 1000 \text{ ppm}$$

- **Perhitungan Konsentrasi (12,5; 25; 50; 100 dan 200 ppm)**

Diketahui : Konsentrasi larutan induk = 1000 ppm

Volume = 5 ml

- **Konsentrasi 12,5 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 12.5$$

$$V_1 \times 1000 = 62.5$$

$$V_1 = \frac{62.5}{1000}$$

$$= 0.0625 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 6.25 \text{ } \mu\text{L}$$

- **Konsentrasi 100 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 100$$

$$V_1 \times 1000 = 500$$

$$V_1 = \frac{500}{1000}$$

$$= 0.5 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 500 \text{ } \mu\text{L}$$

- **Konsentrasi 25 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 25$$

$$V_1 \times 1000 = 125$$

$$V_1 = \frac{125}{1000}$$

$$= 0.125 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 125 \text{ } \mu\text{L}$$

- **Konsentrasi 200 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 200$$

$$V_1 \times 1000 = 1000$$

$$V_1 = \frac{1000}{1000}$$

$$= 1 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 1000 \text{ } \mu\text{L}$$

- **Konsentrasi 50 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

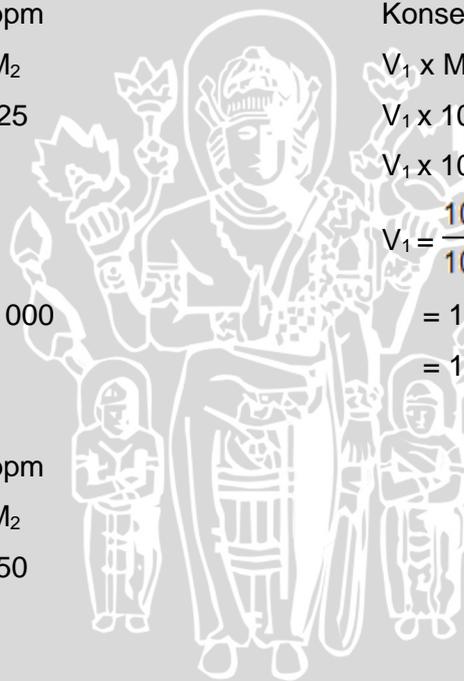
$$V_1 \times 1000 = 5 \times 50$$

$$V_1 \times 1000 = 250$$

$$V_1 = \frac{250}{1000}$$

$$= 0.25 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 250 \text{ } \mu\text{L}$$



- **Perhitungan Konsentrasi Vitamin C (2, 4, 8, 16 dan 32 ppm)**

Diketahui : Konsentrasi larutan induk = 1000 ppm  
Volume = 5 ml

- **Konsentrasi 2 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 2$$

$$V_1 \times 1000 = 10$$

$$V_1 = \frac{10}{1000}$$

$$= 0.01 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 10 \text{ } \mu\text{L}$$

- Konsentrasi 16 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 16$$

$$V_1 \times 1000 = 80$$

$$V_1 = \frac{80}{1000}$$

$$= 0.08 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 80 \text{ } \mu\text{L}$$

- **Konsentrasi 4 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 4$$

$$V_1 \times 1000 = 20$$

$$V_1 = \frac{20}{1000}$$

$$= 0.02 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 20 \text{ } \mu\text{L}$$

- Konsentrasi 32 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 = 5 \times 32$$

$$V_1 \times 1000 = 160$$

$$V_1 = \frac{160}{1000}$$

$$= 0.16 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 160 \text{ } \mu\text{L}$$

- **Konsentrasi 8 ppm**

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

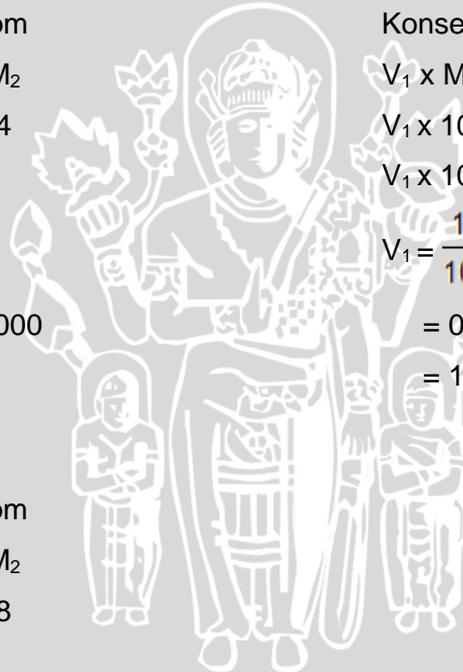
$$V_1 \times 1000 = 5 \times 8$$

$$V_1 \times 1000 = 40$$

$$V_1 = \frac{40}{1000}$$

$$= 0.04 \text{ ml} \times 1000$$

$$= 40 \text{ } \mu\text{L}$$



• **Perhitungan %Inhibisi (%Aktivitas Antiradikal) Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis***

Diketahui : %Inhibisi =  $\frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100 \%$

Ditanya : %Inhibisi ?

Jawab :

• *P. australis* Pelarut N-heksan (A)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,210}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,019}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 8,30 \%$$

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,197}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,032}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 13,97 \%$$

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,179}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,05}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 21,83 \%$$

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,160}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,069}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 30,13 \%$$

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,123}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,106}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 46,29 \%$$

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,208}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,02}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 8,77 \%$$

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,200}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,028}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 12,28 \%$$

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,180}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,048}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 21,05 \%$$

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,162}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,066}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 28,95 \%$$

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,121}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,107}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 46,93 \%$$

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,212}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,016}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 7,02 \%$$

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,200}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,028}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 12,28 \%$$

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,181}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,047}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 20,61 %

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,160}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,068}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 29,82 %

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,121}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,107}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 46,93 %

• *P. australis* Pelarut Etil Asetat (B)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,203}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,025}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 10,96 %

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,192}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,036}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 15,79 %

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,172}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,056}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 24,56 %

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,153}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,075}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 32,89 %

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,116}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,112}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 49,12 %

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,201}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,027}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 11,84 %

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,190}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,038}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 16,67 %

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,171}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,057}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 25,00 %

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,152}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,076}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 33,33 %

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,115}{0,228} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,113}{0,228} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 49,56 %

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,202}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,027}{0,229} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 11,79 %

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,189}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,04}{0,229} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 17,47 %

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,170}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,059}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 25,76 \%$  Konsentrasi 100 ppm

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,152}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,077}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 33,62 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,116}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,113}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 49,34 \%$

• *P. australis* Pelarut Etanol (C)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,231 - 0,202}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,029}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 12,55 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,231 - 0,190}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,041}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 17,75 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,231 - 0,173}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,058}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 25,11 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,231 - 0,152}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,079}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 34,20 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,231 - 0,114}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,117}{0,231} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 50,65 \%$

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,201}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,029}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 12,61 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,189}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,041}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 17,83 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,171}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,059}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 25,65 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,151}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,079}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 34,35 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,113}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,117}{0,230} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 50,87 \%$

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,201}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,027}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 11,84 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,189}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,039}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 17,11 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,170}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,058}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 25,44 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,151}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,077}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 33,77 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,112}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,116}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 50,88 \%$

• *P. australis* Pelarut Etanol (D)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,202}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,027}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 11,79 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,192}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,037}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 16,16 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,167}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,062}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 27,07 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,152}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,077}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 33,62 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,115}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,114}{0,229} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 49,78 \%$

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,200}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,03}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 13,04 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,193}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,037}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 16,09 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,168}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,062}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 26,96 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,150}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,08}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 34,78 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230 - 0,113}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,117}{0,230} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 50,87 \%$

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,201}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,027}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 11,84 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,191}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,037}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 16,23 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,166}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,062}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 27,19 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,151}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,077}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 33,77 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,112}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,116}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 50,88 \%$

• *P. australis* Pelarut Etil Asetat (E)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,204}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,024}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 10,53 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,193}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,035}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 15,35 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,173}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,055}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 24,12 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,154}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,074}{0,228} \times 100 \%$   
 $\% \text{ Inhibisi} = 32,46 \%$

– Konsentrasi 200 ppm

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,117}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,111}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 48,68 \%$

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,202}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,026}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 11,40 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,191}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,037}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 16,23 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,172}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,056}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 24,56 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,153}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,075}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 32,89 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,228 - 0,116}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,112}{0,228} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 49,12 \%$

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 12,5 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,203}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,026}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 11,35 \%$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,190}{0,229} \times 100 \%$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,039}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 17,03 \%$$

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,171}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,058}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 25,33 \%$$

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,153}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,076}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 33,19 \%$$

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,117}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,112}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 48,91 \%$$

• *P. australis* Pelarut N-heksan (F)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230-0,208}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,022}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 9,57 \%$$

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230-0,198}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,032}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 13,91 \%$$

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230-0,180}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,05}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 21,774 \%$$

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230-0,159}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,071}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 30,87 \%$$

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,230-0,125}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,105}{0,230} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 45,65 \%$$

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,209}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,02}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 8,73 \%$$

– Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,196}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,033}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 14,41 \%$$

– Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,180}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,049}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 21,40 \%$$

– Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,157}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,072}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 31,44 \%$$

– Konsentrasi 200 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,122}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,107}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 46,72 \%$$

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 12,5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229-0,212}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,017}{0,229} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 7,42 \%$$

– Konsentrasi 25 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,200}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,029}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 12,66 \%$

– Konsentrasi 50 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,181}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,048}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 20,96 \%$

– Konsentrasi 100 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,158}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,071}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 31,00 \%$

– Konsentrasi 200 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,229 - 0,124}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,105}{0,229} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 45,85 \%$

• Kontrol (Vitamin C)

➤ Ulangan 1

– Konsentrasi 2 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,235 - 0,115}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,12}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 51,06 \%$

– Konsentrasi 4 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,235 - 0,095}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,14}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 59,57 \%$

– Konsentrasi 8 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,235 - 0,051}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,184}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 78,30 \%$

– Konsentrasi 16 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,235 - 0,030}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,205}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 87,23 \%$

– Konsentrasi 32 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,235 - 0,002}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,233}{0,235} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 99,15 \%$

➤ Ulangan 2

– Konsentrasi 2 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,116}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,12}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 50,85 \%$

– Konsentrasi 4 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,094}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 60,17 \%$

– Konsentrasi 8 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,052}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,184}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 77,97 \%$

– Konsentrasi 16 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,029}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,207}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 87,71 \%$

– Konsentrasi 32 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,003}{0,236} \times 100 \%$

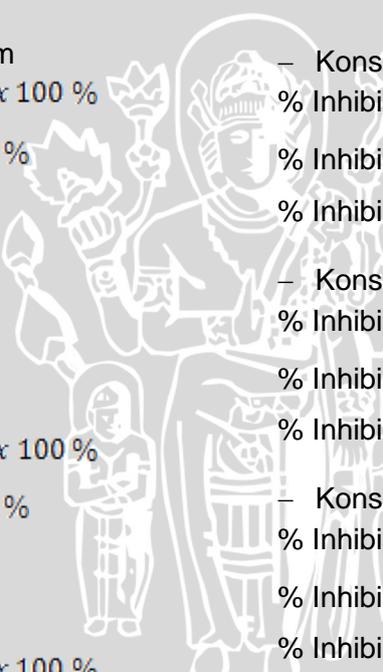
$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,233}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = 98,73 \%$

➤ Ulangan 3

– Konsentrasi 2 ppm  
 $\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,114}{0,236} \times 100 \%$

$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,122}{0,236} \times 100 \%$



% Inhibisi = 51,69 %

– Konsentrasi 4 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,096}{0,236} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,14}{0,236} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 59,32 %

– Konsentrasi 8 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,050}{0,236} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,186}{0,236} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 78,81 %

– Konsentrasi 16 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,031}{0,236} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,205}{0,236} \times 100 \%$$

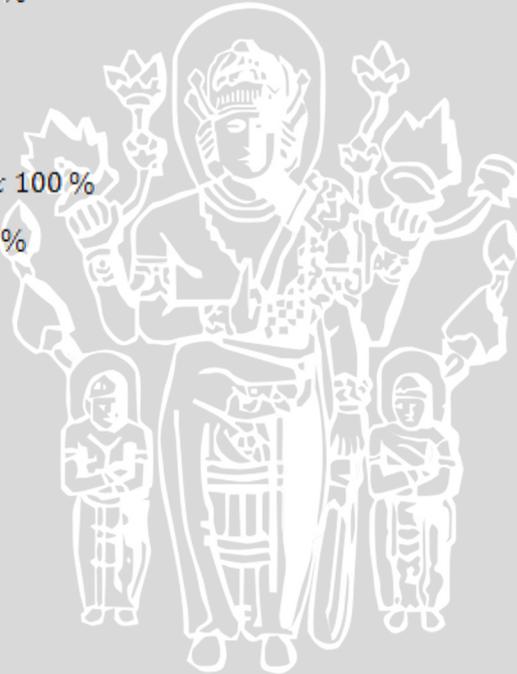
% Inhibisi = 86,86%

– Konsentrasi 32 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,236 - 0,002}{0,236} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,234}{0,236} \times 100 \%$$

% Inhibisi = 99,15 %



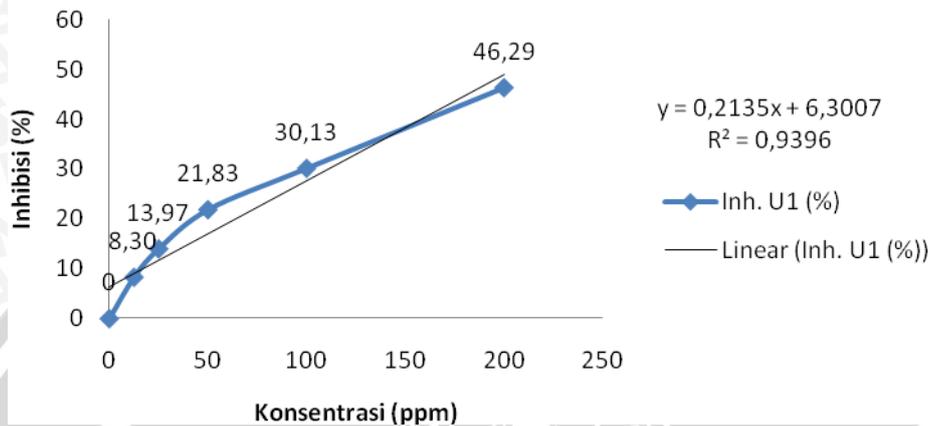
- Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis*

- *P. australis* Pelarut N-heksan (A)

- ❖ Ulangan 1

Diketahui :

### A1



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2135x + 6,3007$$

$$50 = 0,2135x + 6,3007$$

$$x = \frac{50 - 6,3007}{0,2135}$$

$$x = \frac{43,6993}{0,2135}$$

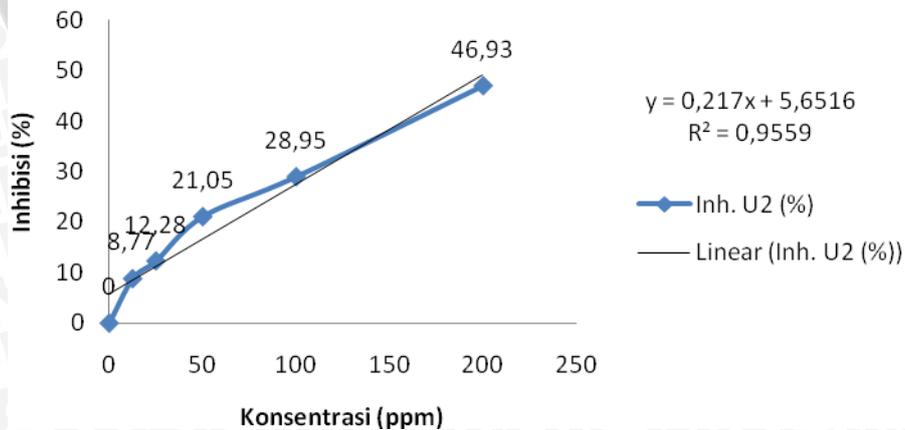
$$x = 204,68 \text{ ppm}$$

$$x = 204,68 \text{ ppm}$$

- ❖ Ulangan 2

Diketahui :

### A2



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,217x + 5,6516$$

$$50 = 0,217x + 5,6516$$

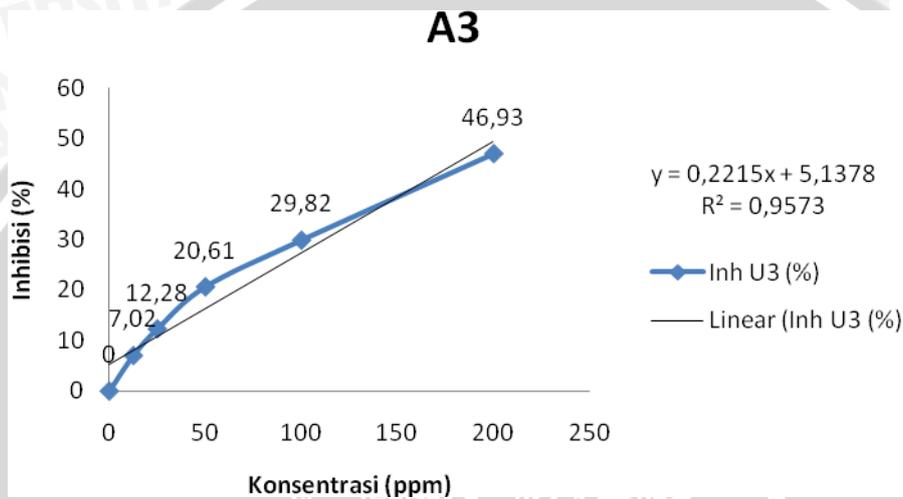
$$x = \frac{50 - 5,6516}{0,217}$$

$$x = \frac{44,3484}{0,217}$$

$$x = 204,37 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2215x + 5,1378$$

$$50 = 0,2215x + 5,1378$$

$$x = \frac{50 - 5,1378}{0,2215}$$

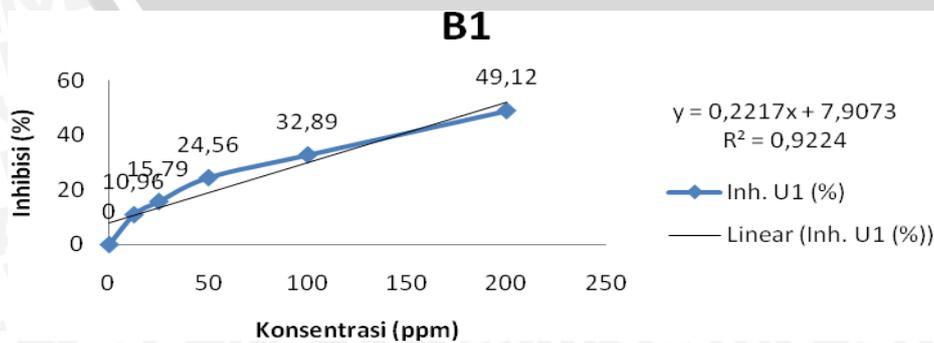
$$x = \frac{44,8622}{0,2215}$$

$$x = 202,54 \text{ ppm}$$

➤ *P. australis* Pelarut Etil Asetat (B)

❖ Ulangan 1

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2217x + 7,9073$$

$$50 = 0,2217x + 7,9073$$

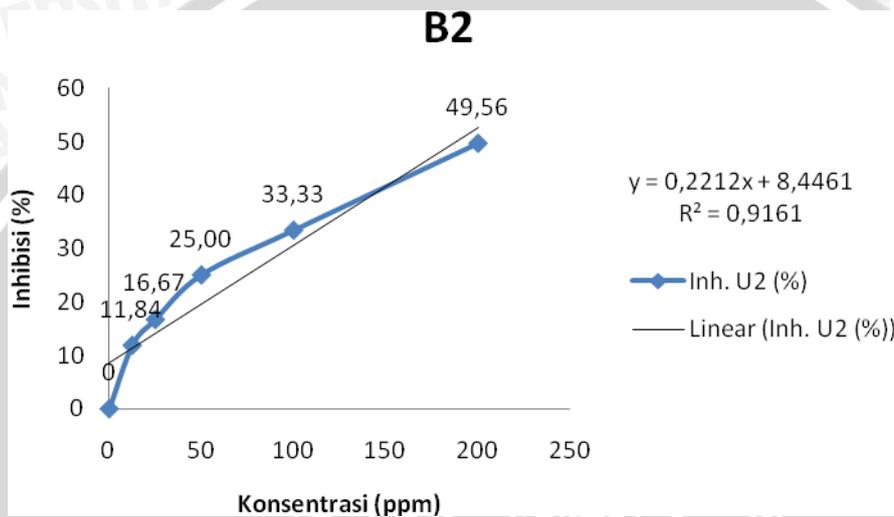
$$x = \frac{50 - 7,9073}{0,2217}$$

$$x = \frac{42,0927}{0,2217}$$

$$x = 189,86 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 2

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2212x + 8,4461$$

$$50 = 0,2212x + 8,4461$$

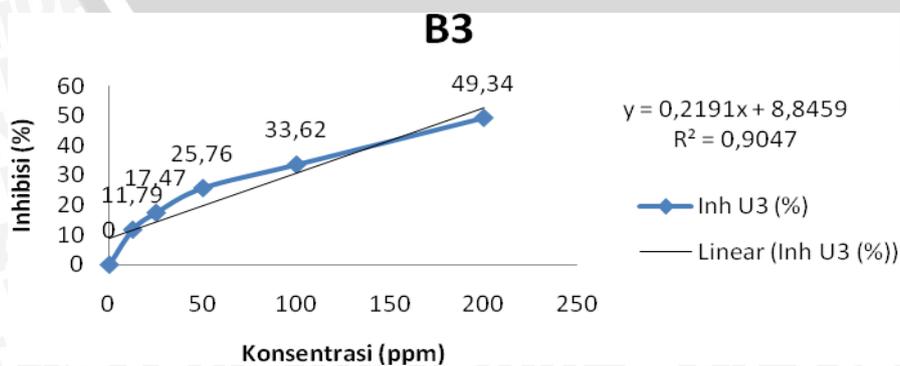
$$x = \frac{50 - 8,4461}{0,2212}$$

$$x = \frac{41,5539}{0,2212}$$

$$x = 187,86 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2191x + 8,8459$$

$$50 = 0,2191x + 8,8459$$

$$x = \frac{50 - 8,8459}{0,2191}$$

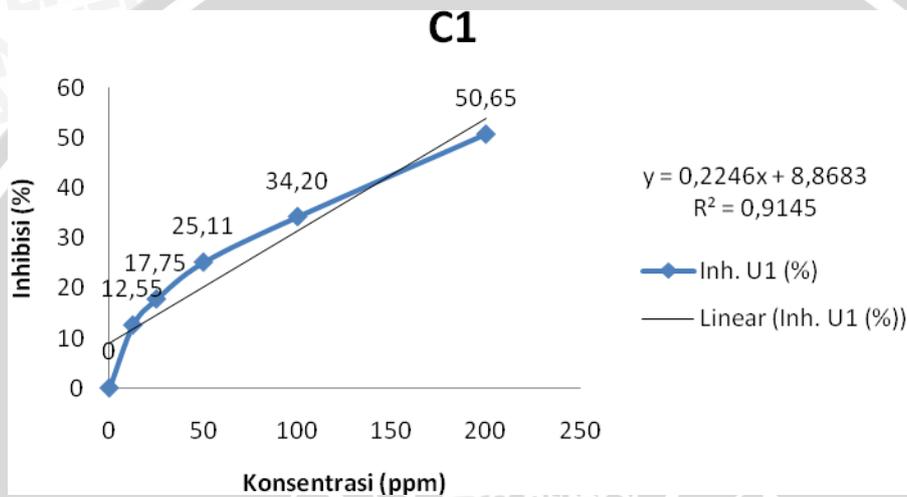
$$x = \frac{41,1541}{0,2191}$$

$$x = 187,83 \text{ ppm}$$

➤ *P. australis* Pelarut Etanol (C)

❖ Ulangan 1

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2246x + 8,8683$$

$$50 = 0,2246x + 8,8683$$

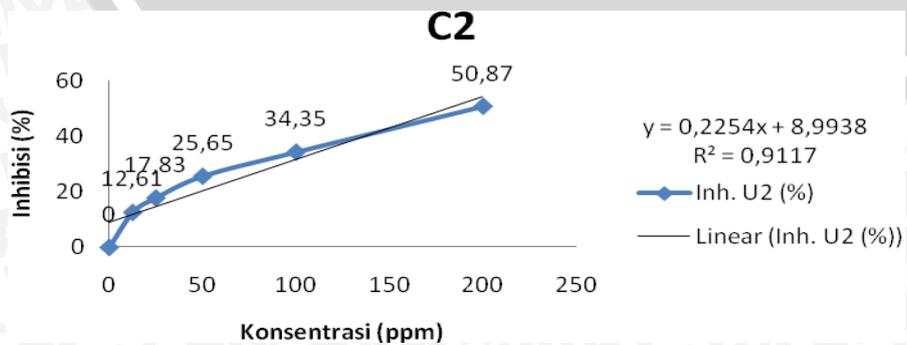
$$x = \frac{50 - 8,8683}{0,2246}$$

$$x = \frac{41,1317}{0,2246}$$

$$x = 183,13 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 2

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2254x + 8,9938$$

$$50 = 0,2254x + 8,9938$$

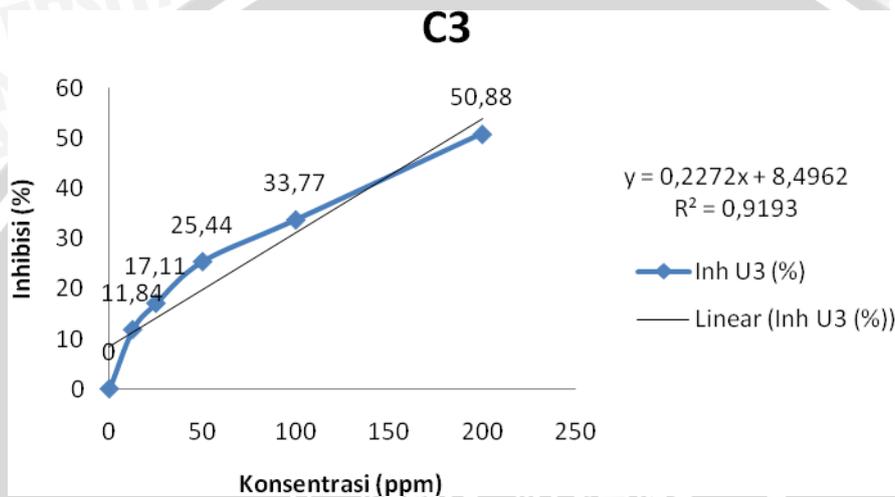
$$x = \frac{50 - 8,9938}{0,2254}$$

$$x = \frac{41,0062}{0,2254}$$

$$x = 181,93 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2272x + 8,4962$$

$$50 = 0,2272x + 8,4962$$

$$x = \frac{50 - 8,4962}{0,2272}$$

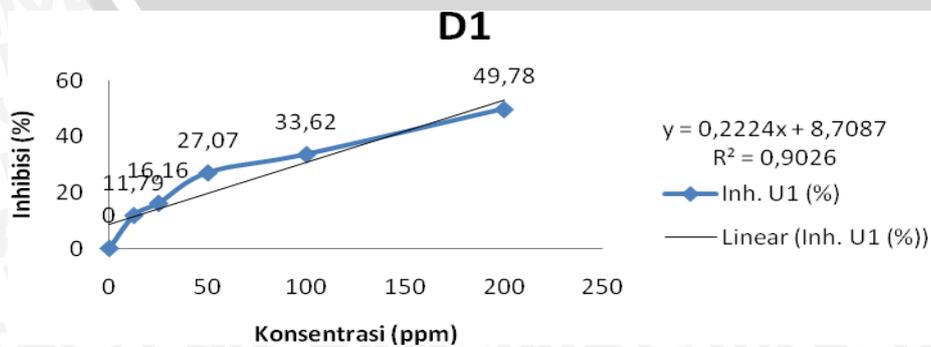
$$x = \frac{41,5038}{0,2272}$$

$$x = 182,68 \text{ ppm}$$

➤ *P. australis* Pelarut Etanol (D)

❖ Ulangan 1

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2224x + 8,7087$$

$$50 = 0,2224x + 8,7087$$

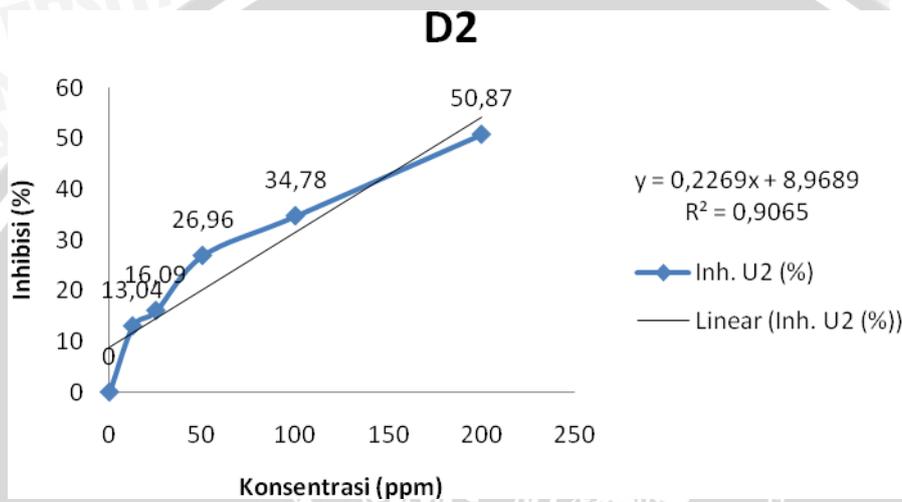
$$x = \frac{50 - 8,7087}{0,2224}$$

$$x = \frac{41,2913}{0,2224}$$

$$x = 185,66 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 2

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2269x + 8,9689$$

$$50 = 0,2269x + 8,9689$$

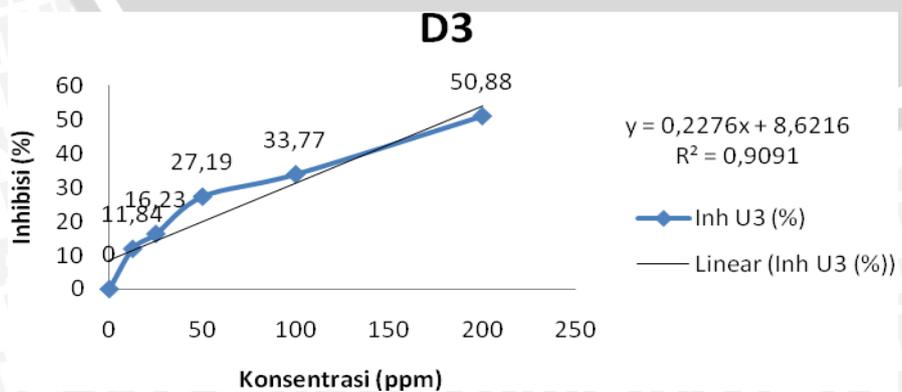
$$x = \frac{50 - 8,9689}{0,2269}$$

$$x = \frac{41,0311}{0,2269}$$

$$x = 180,83 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2276x + 8,6216$$

$$50 = 0,2276x + 8,6216$$

$$x = \frac{50 - 8,6216}{0,2276}$$

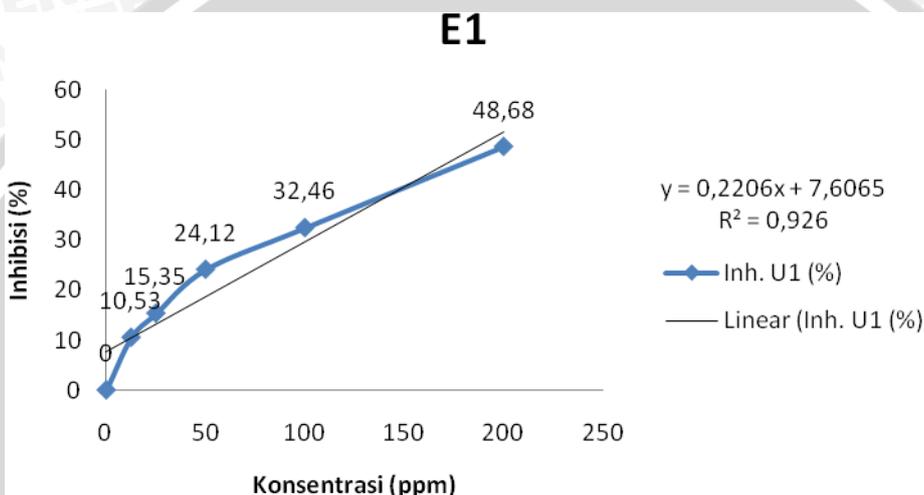
$$x = \frac{41,3784}{0,2276}$$

$$x = 181,80 \text{ ppm}$$

➤ *P. australis* Pelarut Etil Asetat (E)

❖ Ulangan 1

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2206x + 7,6065$$

$$50 = 0,2206x + 7,6065$$

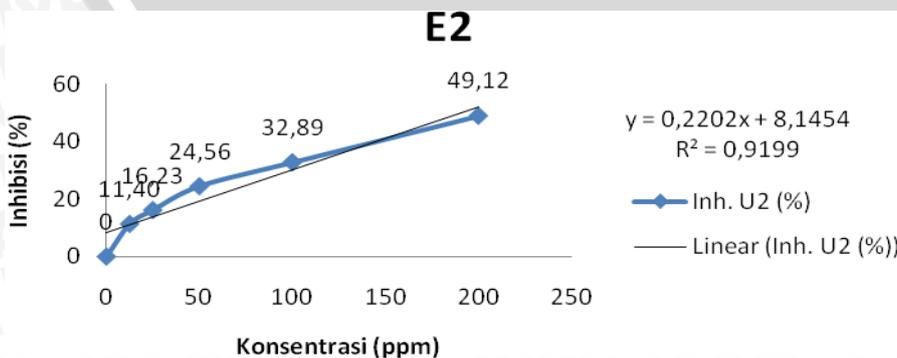
$$x = \frac{50 - 7,6065}{0,2206}$$

$$x = \frac{42,3935}{0,2206}$$

$$x = 192,17 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 2

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2202x + 8,1454$$

$$50 = 0,2202x + 8,1454$$

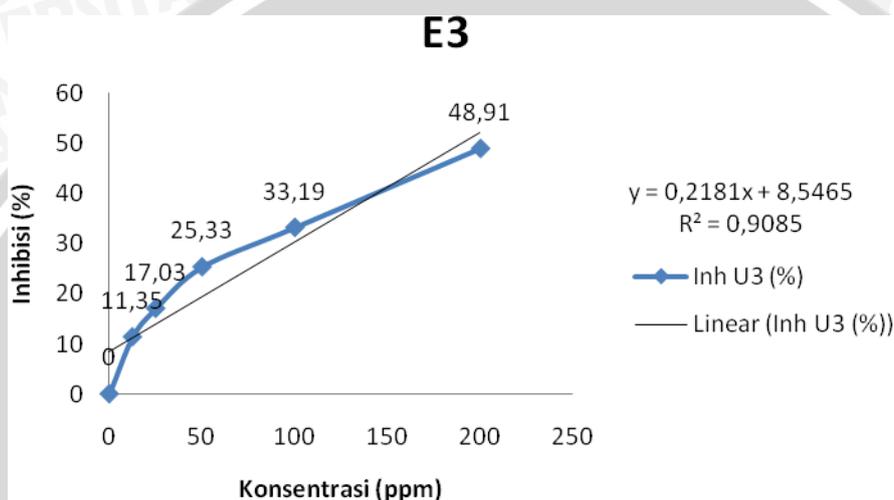
$$x = \frac{50 - 8,1454}{0,2202}$$

$$x = \frac{41,8546}{0,2202}$$

$$x = 190,08 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2181x + 8,4565$$

$$50 = 0,2181x + 8,4565$$

$$x = \frac{50 - 8,4565}{0,2181}$$

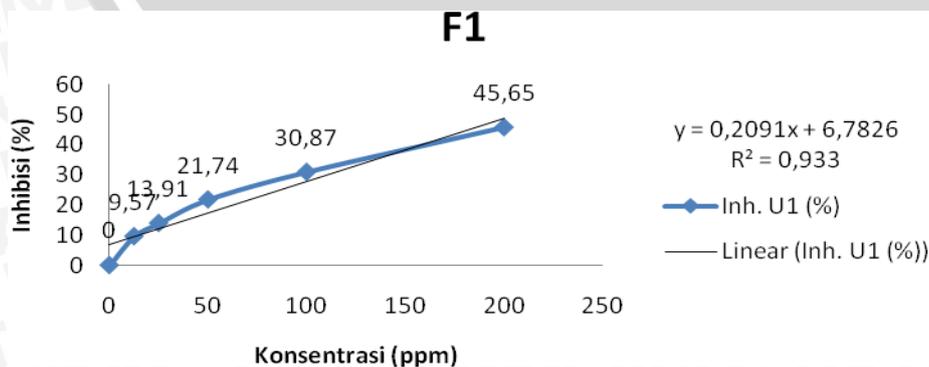
$$x = \frac{41,5435}{0,2181}$$

$$x = 190,07 \text{ ppm}$$

➤ *P. australis* Pelarut N-heksan (F)

❖ Ulangan 1

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2091x + 6,7826$$

$$50 = 0,2091x + 6,7826$$

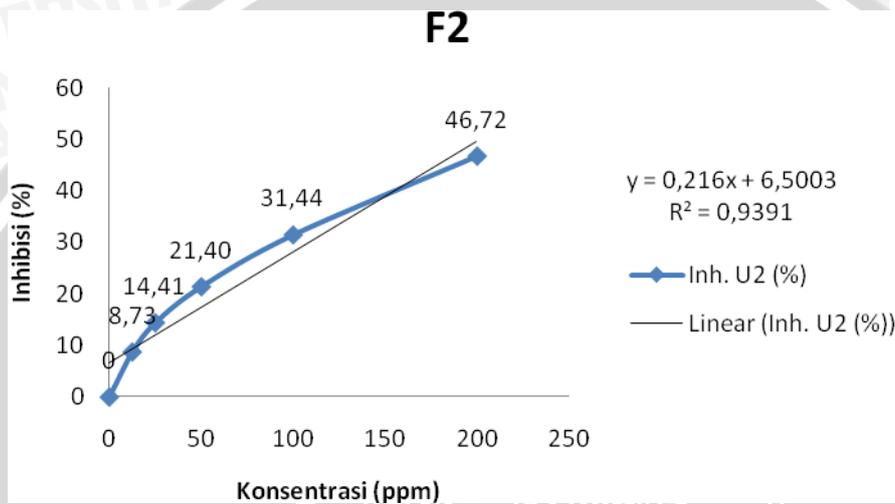
$$x = \frac{50 - 6,7826}{0,2091}$$

$$x = \frac{43,2174}{0,2091}$$

$$x = 206,68 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 2

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,216x + 6,5003$$

$$50 = 0,216x + 6,5003$$

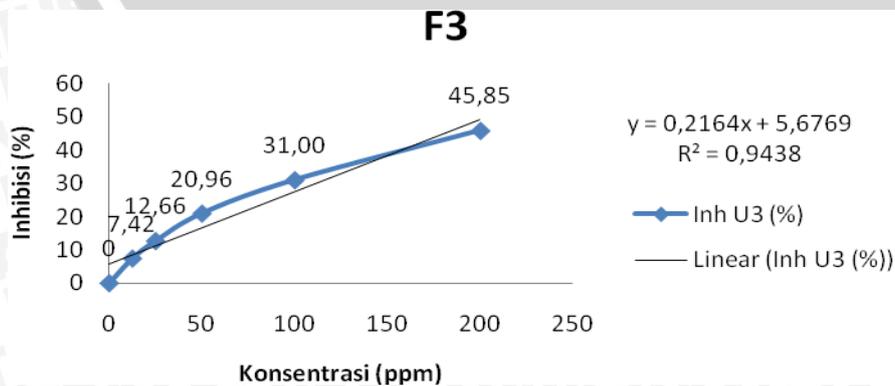
$$x = \frac{50 - 6,5003}{0,216}$$

$$x = \frac{43,4997}{0,216}$$

$$x = 201,39 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 0,2164x + 5,6769$$

$$50 = 0,2164x + 5,6769$$

$$x = \frac{50 - 5,6769}{0,2164}$$

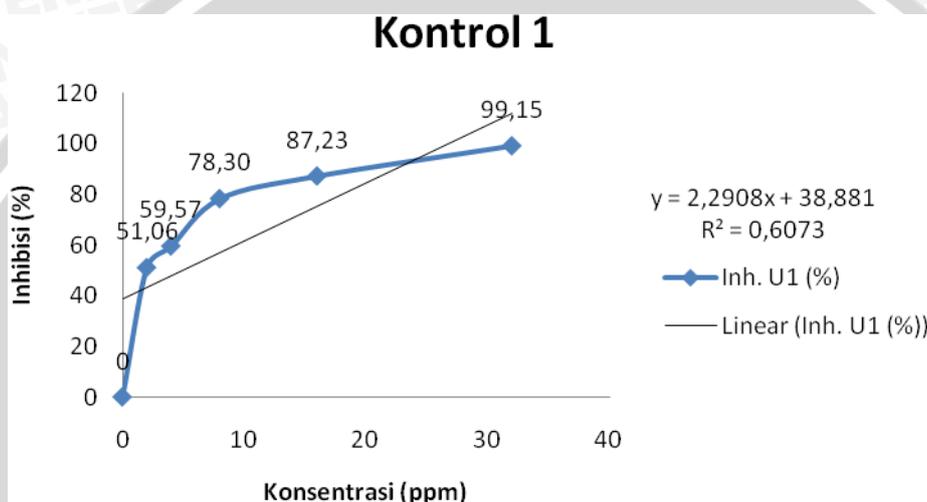
$$x = \frac{44,3231}{0,2164}$$

$$x = 204,82 \text{ ppm}$$

➤ Kontrol (Vitamin C)

❖ Ulangan 1

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 2,2908x + 38,881$$

$$50 = 2,2908x + 38,881$$

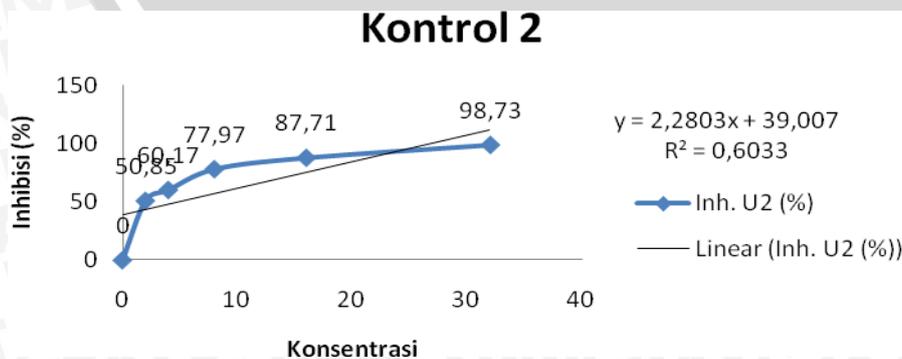
$$x = \frac{50 - 38,881}{2,2908}$$

$$x = \frac{11,119}{2,2908}$$

$$x = 4,85 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 2

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 2,2803x + 39,007$$

$$50 = 2,2803x + 39,007$$

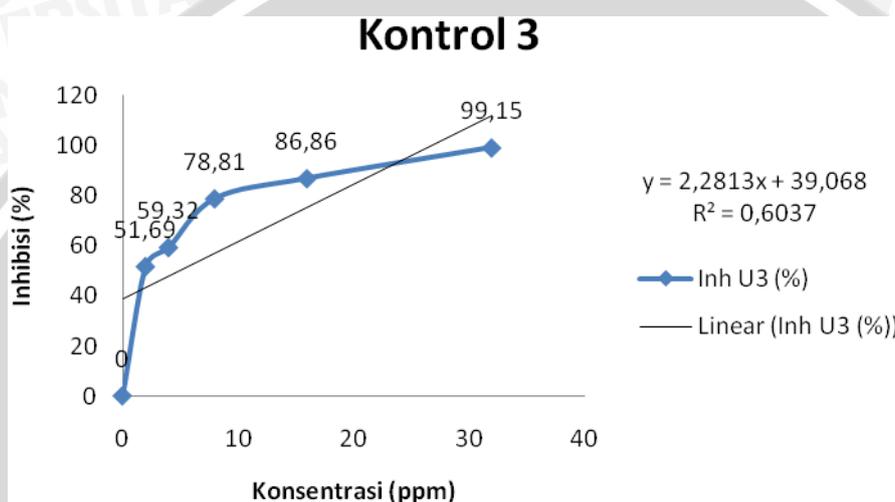
$$x = \frac{50 - 39,007}{2,2803}$$

$$x = \frac{10,993}{2,2803}$$

$$x = 4,82 \text{ ppm}$$

❖ Ulangan 3

Diketahui :



Ditanya : Nilai IC<sub>50</sub>?

Jawab :

$$y = 2,2813x + 39,068$$

$$50 = 2,2813x + 39,068$$

$$x = \frac{50 - 39,068}{2,2813}$$

$$x = \frac{10,932}{2,2813}$$

$$x = 4,79 \text{ ppm}$$

Lampiran 9. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Ekstrak Sampel Alga Coklat *Padina australis* pada Uji Aktivitas Antioksidan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	x <sup>2</sup>			Total <sup>2</sup>	Simpangan Baku
	U1	U2	U3			U1	U2	U3		
A	204,68	204,37	202,54	611,59	203,86	41893,90	41767,10	41022,45	374042,33	1,15647
B	189,86	187,86	187,83	565,55	188,52	36046,82	35291,38	35280,11	319846,80	1,16346
C	183,13	181,93	182,68	547,74	182,58	33536,60	33098,52	33371,98	300019,11	0,60622
D	185,66	180,83	181,80	548,29	182,76	34469,64	32699,49	33051,24	300621,92	2,55504
E	192,17	190,08	190,07	572,32	190,77	36929,31	36130,41	36126,60	327550,18	1,20956
F	206,68	201,39	204,82	612,89	204,30	42716,62	40557,93	41951,23	375634,15	2,68355
<b>Total</b>	<b>1162,18</b>	<b>1146,46</b>	<b>1149,74</b>	<b>3458,38</b>					<b>1997714,50</b>	

FK  
JKTotal  
JKP  
JKG

664466,23469  
1475,10011  
1438,59758  
36,50253

SK	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	1438,59758	287,71952	94,58615	3,110	5,060
Galat	12	36,50253	3,04188			
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>1475,10011</b>				

Kesimpulan :

$f_{hitung} > f_{0,05(n-1)}$  = terima  $H_1$  : perbedaan sepasang  $T_i$  (sangat nyata)

RUMUS	BNT 5%
MSE=	3,04188
t (α, dfe)	2,179
α=	0,05
dfe=	12
r=	3
Nilai BNT	3,10

Perlakuan	Rata-rata	C	D	B	E	A	F	Notasi
C	182,58	0,00						a
D	182,76	0,18	0,00					a
B	188,52	5,94	5,76	0,00				b
E	190,77	8,19	8,01	2,25	0,00			c
A	203,86	21,28	21,10	15,34	13,09	0,00		d
F	204,30	21,72	21,54	15,78	13,53	0,44	0,00	d

• Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

➤ Hipotesis

$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = 0$

$H_1 =$  paling tidak ada sepasang  $T_i$  yang tidak sama

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

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

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

➤ Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

❖ Faktor Koreksi

$$FK = \frac{\sigma^2}{r \times n} = \frac{3458,38^2}{3 \times 6} = \frac{9220459,783}{18} = 664466,23469$$

❖ Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (204,68^2 + 204,37^2 + 202,54^2 + \dots + 204,82^2) - FK \\ &= 665941,33 - 664466,23469 \\ &= 1475,10011 \end{aligned}$$



❖ Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(611,59^2 + 565,55^2 + 547,74^2 + \dots + 612,89^2)}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{1997714,50}{3} - 664466,23469 \\ &= 1438,59758 \end{aligned}$$

❖ Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1475,10011 - 1438,59758 \\ &= 36,50253 \end{aligned}$$

➤ Uji BNT 5%

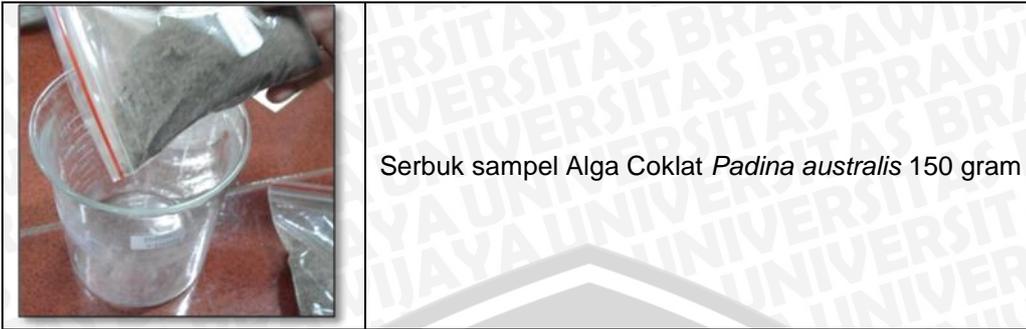
❖ Perhitungan BNT 5%

$$\begin{aligned} \text{BNT}_a &= t_{\alpha}(\text{db galat}) \times \sqrt{\frac{2KT \text{ galat}}{\text{ulangan}}} \\ &= t_{0,05(12)} \times \sqrt{\frac{2 \times 3,04188}{3}} \\ &= 2,179 \times \sqrt{\frac{6,08376}{3}} \\ &= 2,179 \times \sqrt{2,02792} \\ &= 2,179 \times 1,424050561 \\ &= 3,110 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian (Uji Aktivitas Antioksidan)

- Preparasi Sampel Alga Coklat *Padina australis*

Gambar	Keterangan
	<p>Sampel segar Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Pencucian sampel segar Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Penjemuran sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Penghalusan sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>
	<p>Penimbangan serbuk sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>



- Ekstraksi Sampel

Gambar	Keterangan
	<p>Serbuk sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> 150 gram</p>
	<p>Penambahan pelarut (N-heksan, Etil Asetat, Etanol)</p>
	<p>Pelarut dan serbuk sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> kemudian dihomogenkan</p>

	<p>Proses penyaringan untuk memisahkan antara filtrat dan residu</p>
	<p>Filtrat sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> dievaporasi</p>
	<p>Proses nitrogen dari filtrat sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i> yang telah dievaporasi</p>

- Uji Aktivitas Antioksidan

Gambar	Keterangan
	<p>Penimbangan ekstrak pekat sampel Alga Coklat <i>Padina australis</i></p>



Penimbangan vitamin C



Penimbangan DPPH



Proses uji aktivitas antioksidan



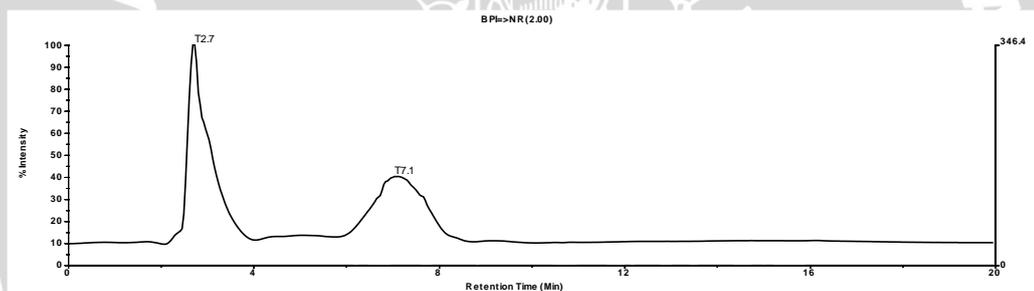
Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm



Pengamatan pada hasil uji aktivitas antioksidan

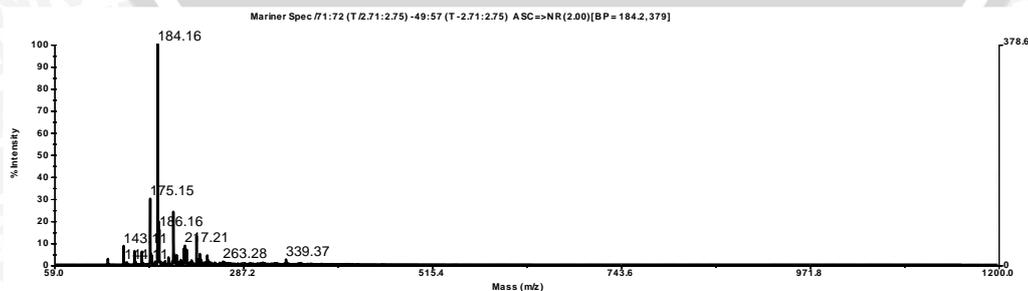
**Lampiran 11. Hasil Uji Metode LCMS Ekstrak Sampel Alga Coklat  
*Padina australis***

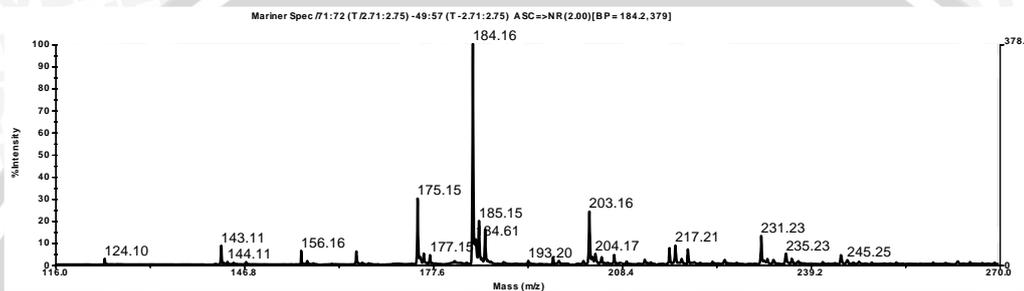
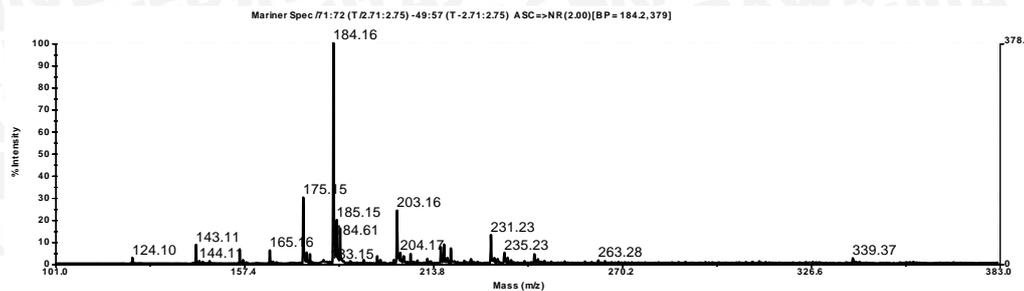
Sample
Vol injection 2 ul
Flow rate 0.05 ml/min
Eluent Methanol
<b>LC-MS : Mariner Biospectrometry</b>
LC: Hitachi L 6200
<b>System ESI (Electrospray Ionisation)</b>
<b>Positive ion mode</b>
Kolom C18 (RP 18) Phenomenex
Column length : 150 mm
ID : 1 mm
Particle size : 5 µm
Analysis by : Puspa .D. Lotulung, Pusat Penelitian Kimia – LIPI



Index	Time	L	ower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	2.745950		2.124717	4.030633	346	4524.81
2	7.058317		5.855250	8.726883	138	3537.17

Rt 2.74





Rt 7.05 (plasticizer ?)

