

ARTIKEL SKRIPSI
UJI TOKSISITAS KLOOROFIL B DARI ALGA COKLAT *Sargassum filipendula* DENGAN
METODE *Brine Shrimp Lethality Test*

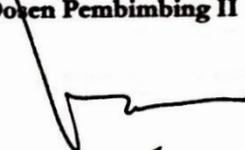
Oleh:
NAJMAH AROFAH
NIM. 125080300111069

Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Kartini Zaenah, MS
NIP. 19550503 198503 2 001
Tanggal: 18 OCT 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 19640726 198903 2 004
Tanggal: 18 OCT 2016



Mengetahui
Ketua Jurusan MSP,

Dr. Ir. Arning Wiljieng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 18 OCT 2016

UJI TOKSISITAS KLOROFIL B DARI ALGA COKLAT *Sargassum filipendula* DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test*

Najmah Arofah¹, Kartini Zaelani², Hartati Kartikaningsih²

Teknologi Hasil Perikanan Universitas Brawijaya Malang

Jenis ganggang coklat seperti jenis *sargassum* sangat potensial karena ganggang coklat ini mengandung pigmen klorofil a, b, dan c, beta *carotene*, *filakoid*, *violasantin*, *piroid* dan *fukosantin*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari pigmen klorofil b alga coklat *Sargassum filipendula* secara BSLT. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif eksploratif (tanpa hipotesis). Penelitian ini dilakukan dengan ekstraksi maserasi dilanjutkan dengan isolasi klorofil b dengan kromatografi kolom. Identifikasi klorofil b dilakukan dengan metode KLT menggunakan fase gerak n-heksan : aseton (7:3 v/v) dan fase diam silica gel f-254, identifikasi pola spektra dan panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis, identifikasi gugus fungsi menggunakan FT-IR (*Fourier Transform Infrared*). Uji toksisitas klorofil b menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan konsentrasi 0 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, 250 µg/ml dan tiga kali ulangan. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa klorofil b memiliki nilai Rf 0,49. Hasil analisis KLT didukung oleh adanya serapan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) yaitu 401,9 nm dan 645 nm serta hasil FT-IR yang menunjukkan gugus fungsi C-H, -CHO, C=O dan -O-CO-. Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa sampel merupakan klorofil b. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa klorofil b memiliki toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 847,03 µg/ml sehingga tergolong tidak toksik.

Kata kunci: *Sargassum filipendula*, *Artemia salina*, LC₅₀

Toxicity Test Of Chlorophyll B From Brown Algae *Sargassum filipendula* Using *Brine Shrimp Lethality Test* Method

Najmah Arofah¹, Kartini Zaelani², Hartati Kartikaningsih²

Technology of Fishery Brawijaya University

Species of brown algae is a kind of potential *Sargassum* species because this brown algae contains of pigment chlorophyll a, b, and c, beta carotene, filakoid, violasantin, piroid and fukosantin. This research aimed to determine the toxicity activities of chlorophyll b pigment of brown algae *Sargassum filipendula* by using BSLT basis. The method used was descriptive explorative method (without hypotheses). This research was conducted by using maceration extraction followed by isolation of chlorophyll b with chromatography column. Identification of chlorophyll b was conducted by using TLC method of the mobile phase n-hexane : acetone (7: 3 v/v) and the stationary phase silica gel F-254, the identification of spectra patterns and wavelength used UV-Vis spectrophotometer, the identification of functional groups used FT-IR (*Fourier Transform Infrared*) method. Chlorophyll b toxicity tests used BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method with concentrations of 0 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, 200 µg/ml, and 250 µg/ml and three replications. The TLC test showed that chlorophyll b had a Rf value of 0.49. UV-Vis spectrophotometer absorption at a wavelength (λ) was 401.9 nm and 645 nm then the FT-IR results showed the functional groups C-H, -CHO, C=O and -O-CO-. This identification indicated that the sample was chlorophyll b. The research showed that chlorophyll b LC₅₀ using BSLT method was 847.03 µg/ml it should not be classified as toxic substance.

Keywords: *Sargassum filipendula*, *Artemia salina*, LC₅₀

- 1) Student at Faculty of Fisheries and Marine Sciences
- 2) Lecture at Faculty of Fisheries and Marine Sciences

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Rumput laut merupakan salah satu sumber daya alam yang berasal dari laut dan memiliki kelimpahan tumbuh di Indonesia khususnya perairan Madura. Menurut Dinas Kelautan dan Perikanan Pemerintah Kabupaten Sumenep (2015), capaian produksi rumput laut di daerah Kabupaten Sumenep dari tahun 2011 hingga 2015 mengalami rata-rata kenaikan produksi sebesar 3,30% pertahun. Pada tahun 2011 produksi rumput laut basah sebesar 533706,37 ton, lalu pada tahun 2012 sebesar 549717,52 ton, pada tahun 2013 sebesar 569651,41 ton, kemudian pada tahun 2014 sebesar 583691,05 ton dan semakin meningkat pada tahun 2015 yaitu sebesar 599353,77 ton. Sedangkan jumlah produksi rumput laut kering pada tahun 2015 sebesar 85622 ton. Data produksi budidaya rumput laut ini diperoleh dari Kecamatan Bluto, Saronggi, Gligenting, Ambunten, Dungkek, Gapura, Talango, Ra'as, Arjasa dan Sapeken, dengan jumlah petani sebanyak 7100 orang pada lahan seluas 143048 Ha.

Kandungan rumput laut umumnya adalah mineral esensial (besi, iodin, aluminium, mangan, kalsium, nitrogen dapat larut, *phosphor, sulfur, chlor, 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, D, C, D E, dan K (Yunizal, 2004).

Menurut Atmadja *et al.*, (1996) pada awal 1980 perkembangan permintaan rumput laut di dunia meningkat seiring dengan peningkatan pemakaian rumput laut untuk berbagai keperluan antara lain di bidang

industri, makanan, tekstil, kertas, cat, kosmetika, dan farmasi (obat-obatan). Di Indonesia, pemanfaatan rumput laut untuk industri dimulai untuk industri agar-agar (*Gelidium* dan *Gracilaria*) kemudian untuk industri kerajinan (*Euचेuma*) serta untuk industri alginat (*Sargassum*).

Jenis ganggang cokelat sangat potensial, seperti jenis *Sargassum* dan *Turbinaria*. Hal ini karena ganggang cokelat ini mengandung pigmen klorofil a, b dan c, *beta carotene, filakoid, violasantin* dan *fukosantin, pirenoid*, dan cadangan makanan berupa laminarin, dinding sel yang terdapat pada selulosa dan algin (Uji, 2014).

Klorofil atau pigmen utama tumbuhan banyak dimanfaatkan sebagai *food suplement* yang dimanfaatkan untuk membantu mengoptimalkan fungsi metabolik, sistem imunitas, detoksifikasi, meredakan radang (inflamatorik) dan menyeimbangkan sistem hormonal (Limantara, 2007). Klorofil juga merangsang pembentukan darah karena menyediakan bahan dasar dari pembentuk haemoglobin. Peran ini disebabkan karena struktur klorofil yang menyerupai hemoglobin darah dengan perbedaan pada atom penyusun inti dari cincin porfirinnya.

Terdapat penelitian terdahulu yang ada kaitannya dengan uji toksisitas dengan mengambil senyawa bioaktifnya seperti ekstrak dari *Euचेuma alvarezii* yang diujikan terhadap *Artemia salina* sebagai studi pendahuluan antikanker (Nurhayati, 2011). Salah satu perspektif ke depan klorofil b dalam *Sargassum filipendula* sampai saat ini sepanjang yang diketahui belum mendapatkan perhatian, sementara beberapa penelitian menggunakan bahan uji lain, oleh karena itu

akan dilakukan penelitian tentang uji toksisitas klorofil b dengan menggunakan nauplii *Artemia sp.* umur 24 jam pada instar III.

Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana aktivitas toksisitas dari klorofil b alga coklat *Sargassum filipendula* secara BSLT?

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas toksisitas dari klorofil b alga coklat *Sargassum filipendula* secara BSLT

Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, dan institusi lain mengenai aktivitas toksisitas dari klorofil b alga coklat *Sargassum filipendula*

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Malang, Laboratorium Mineral dan Material Maju Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Adapun penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Mei 2016.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah rumput laut coklat *Sargassum filipendula* yang diperoleh dari perairan desa Cabiye, pulau Talango, Kabupaten Sumenep, Madura. Adapun bahan kimia yang digunakan yaitu *Aluminium foil*,

plastik wrap, CaCO_3 , Aseton, Methanol, Garam grosok, N-heksan, Kertas label, *Aquadest*, *Artemia salina*, kapas, kertas saring kasar dan halus, Vaseline, Dietil Eter, Etil Asetat, silica gel F-254 (60 mesh), Gas Nitrogen (N_2), kertas *whatman* No.42, *tissue*, Kain Blancu, *sea sand* (pasir laut), Air, Plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), Air Laut, DMSO dan Kertas Koran.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari peralatan untuk ekstraksi, isolasi dan peralatan analisa. Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi dan isolasi adalah Gunting, *Beaker glass* (ukuran 1000 ml, 500 ml, 250 ml), Gelas ukur (ukuran 1000 ml, 100 ml), Timbangan digital, Corong kaca, Erlenmeyer 250 ml, *Rotary Vacuum Evaporator*, Labu Evaporator, Mortar dan Alu, Pipet Tetes, Pipet Volume, Bola Hisap, *Hot Plate*, *Magnetic Stirrer*, Corong Pisah, Statif, Pipet Serologis, *Freezer*, Spatula, Kolom Kromatografi, Selang Nitrogen dan Botol vial 10 ml. Adapun alat yang digunakan pada proses analisa yaitu Penggaris, *Cutter/gunting*, Pensil, Pipa Kapiler, *Beaker glass* 50 ml, Cawan Petri, Selang, Aerator, Toples, Botol vial 10 ml, Pinset, Pipet Tetes, Gelas ukur 100 ml, Pipet Volume, FT-IR Shimadzu dan Spektrofotometer UV-Vis merk Shimadzu 1601.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif eksploratif untuk mengetahui aktivitas toksisitas klorofil b pada bagian *thallus* alga coklat (*Sargassum filipendula*) terhadap *Artemia salina*. Penelitian eksploratif memiliki tujuan untuk mengetahui hal yang baru berupa pengelompokan suatu gejala atau fakta tertentu. Penelitian deskriptif eksploratif

bertujuan untuk menggambarkan suatu variabel, gejala, dan keadaan atau fenomena apa adanya tanpa menguji suatu hipotesis tertentu (Arikunto, 2002).

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Rumput laut yang baru diambil segera dicuci dengan air laut, dimasukkan dalam *cool box* berisi es kemudian diikat dan dimasukkan ke dalam karung plastik. Setelah sampai di Laboratorium, rumput laut *Sargassum filipendula* dibawa ke dalam ruang gelap, lalu dilakukan sortir dan diambil bagian thallus (menyerupai daun). Kemudian sampel dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di atas kertas koran.

Ekstraksi Pigmen

Sampel rumput laut dihaluskan menggunakan mortal dan alu. Selama proses penghalusan sampel ditambahkan CaCO_3 sebanyak 0,5 gram. Sampel yang telah halus direndam dengan pelarut metanol (CH_3OH) : aseton (CH_3COCH_3) (7:3 v/v) selama 24 jam di dalam ruang gelap. Setelah 24 jam, sampel di saring menggunakan kertas whatmen no. 42. Filtrat hasil ekstraksi kemudian di fraksinasi dengan dietil eter : saturasi garam : dan aquadest. Dihasilkan fase atas dan fase bawah. Fase atas dipisahkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan diperoleh *crude*.

Isolasi Pigmen

Metode isolasi pigmen menggunakan kromatografi kolom digunakan metode pangestuti, et. al., (2007) yang telah di modifikasi oleh wijayanti (2010). Ekstrak kasar pigmen dilarutkan dengan fase gerak (n-heksan : etil asetat), lalu dimasukkan ke dalam kolom. Fase gerak kemudian ditambahkan secara berkesinambungan dengan

perbandingan (8:2 v/v), (7:3 v/v), (6:4 v/v), (5:5 v/v), (4:6 v/v) hingga muncul pita warna. Fraksi warna yang keluar ditampung dalam botol vial.

Identifikasi Klorofil B

Identifikasi *retardation factor* klorofil b dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam berupa *silica gel* F-254 dan fase gerak berupa N-heksan : Aseton. jarak tempuh dari pigmen kemudian dihitung untuk mengetahui R_f nya. Nilai R_f didefinisikan sebagai berikut:

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh pelarut (fase gerak)}} = \frac{Y}{X}$$

Isolat yang diyakini klorofil b hasil isolasi kemudian dilarutkan pada aseton dan dianalisa pola spektranya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300-800 nm. Kemudian diidentifikasi gugus fungsi yang terdapat pada klorofil b menggunakan Spektrofotometer FT-IR.

Pengukuran Rendemen

Perhitungan rendemen bertujuan untuk mengetahui kandungan dari jenis pigmen. Pigmen yang sudah diketahui nilai absorbansi dikonversi menggunakan hukum dari "Lambert-Beer" menurut Markham (1988) adalah:

$$A = \epsilon bc$$

dimana A = Absorbansi, ϵ = Absorbansifitas molar (Molar extinction coefficient), b = lebar bagian kuvet dalam, c = Konsentrasi (molar). Selanjutnya dihitung nilai rendemen dengan rumus menurut khotimah (2013), yaitu:

$$\frac{\text{nilai kadar yang diperoleh}}{\text{jumlah awal sampel yang dipakai}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Klorofil B dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisa dilanjutkan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengidentifikasi kandungan klorofil b berdasarkan bercak warna yang muncul dan nilai Rf. Hasil identifikasi komponen molekul pigmen klorofil b alga coklat *Sargassum filipendula* dengan KLT dapat dilihat pada Gambar 1.

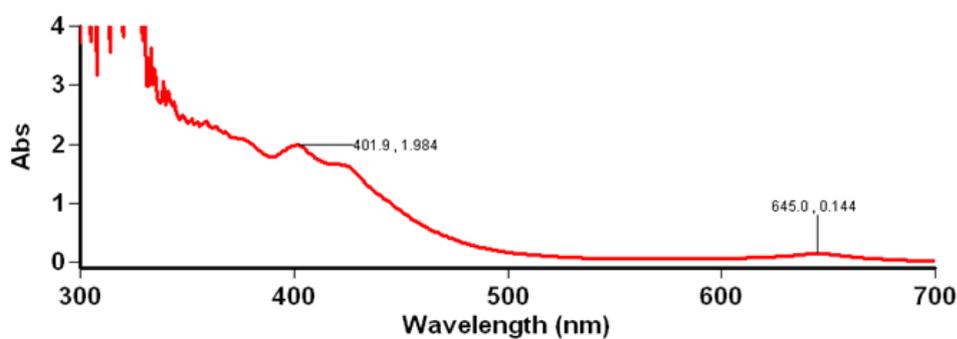


Gambar 1. Hasil Identifikasi komponen pigmen klorofil b alga coklat *Sargassum filipendula* dengan KLT.

Isolat warna pada botol vial ke 13-15 diduga sebagai klorofil b dengan ulangan 1-3 diperoleh rata-rata nilai Rf sebesar 0,49 dengan warna hijau kekuningan. Hasil ini memiliki kecenderungan yang sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Heriyanto dan Leenawaty (2006), kisaran nilai Rf klorofil b (hijau kuning) 0,48-0,56. Dari hasil identifikasi isolat berwarna kuning kehijauan menggunakan KLT, didapatkan bahwa isolat tersebut masuk dalam kisaran nilai Rf dari klorofil b.

Identifikasi Klorofil B dengan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel pigmen klorofil b dari alga coklat *Sargassum filipendula* dilarutkan dengan aseton diuji pada panjang gelombang 300-800 nm. Hal ini didasarkan pada hasil uji panjang gelombang absorbansi maksimum Jeffrey (1997). Pola spektra dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola Spektra Klorofil B Hasil Isolasi *Sargassum filipendula* dalam Pelarut Aseton

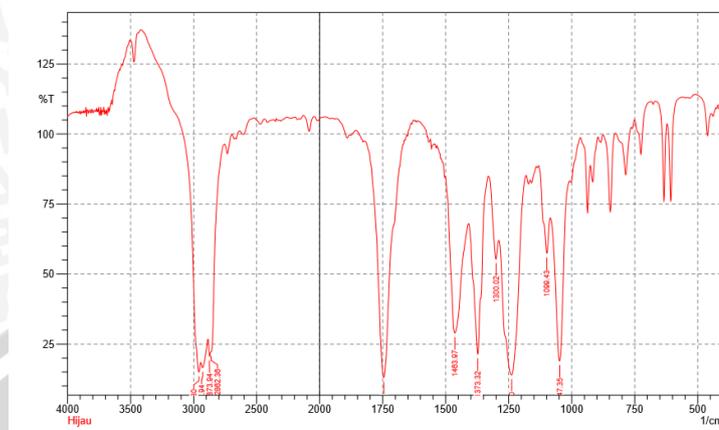
Gambar 2 menunjukkan bahwa spektra komponen pigmen klorofil b yang di isolasi dari alga coklat *Sargassum filipendula* diperoleh dua puncak gelombang, yaitu pada panjang gelombang 401 nm dan 645 nm dalam pelarut aseton. Hasil ini memiliki persamaan terhadap hasil pengujian Jeffrey (1997) yang memiliki panjang gelombang maksimum pada 645,5 nm. Dari serapan maksimum dapat

disimpulkan bahwa isolat klorofil b dari alga coklat *Sargassum filipendula* tersebut teridentifikasi.

Identifikasi Klorofil B dengan FT-IR

Hasil uji FT-IR menunjukkan gugus-gugus fungsional senyawa bioaktif yang diduga terdapat pada klorofil b yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum filipendula* dengan pelarut

aseton dapat dilihat pada Gambar 3. dan Tabel 1.



Gambar 3. Hasil Uji FT-IR klorofil b yang diisolasi dari *Sagassum filipendula* dalam pelarut aseton

Tabel 1. Gugus fungsional pita serapan FT-IR

Gugus	Hasil serapan (cm ⁻¹)	Standart serapan (cm ⁻¹)	Holt dan Jacobs (1995)
Alkana C-H <ul style="list-style-type: none">ur	2958,8 & 2927,94 1463,97	2960-2850 1470-1430	2920 -
Aldehid -CHO <ul style="list-style-type: none">ur	2873,94 & 2862,36 1745,58	2900-2700 1740-1720	2720 1655
Ester -CO-O <ul style="list-style-type: none">ur	- 1300,02 & 1238,3	1730-1715 1300-1050	1728 -
Keton C=O <ul style="list-style-type: none">ur	- 1047,35 & 1099,43	1700-1680 1300-1050	1688 -
Alkenes C=C	-	1680-1620	1610

Dari Tabel 1. di atas diperoleh informasi bahwa pada pita serapan 2958,8 dan 2927,94 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus alkana. Gugus alkana ini merupakan regang C-H yang membentuk pita dengan intensitas sedang, dan diperkuat dengan munculnya serapan pada 1463,97 cm⁻¹. Pada bilangan gelombang 2873,94 dan 2862,36 cm⁻¹ menunjukkan regang -CHO menunjukkan adanya gugus aldehid yang merupakan gugus penting pada klorofil b, diperkuat dengan munculnya ulur -CHO pada bilangan gelombang 1745,58 cm⁻¹. Adanya ulur -CO-O ditunjukkan pada bilangan gelombang 1300,02 & 1238,3 cm⁻¹ yang membentuk ikatan ester. Pada pita serapan 1047,35 dan 1099,43

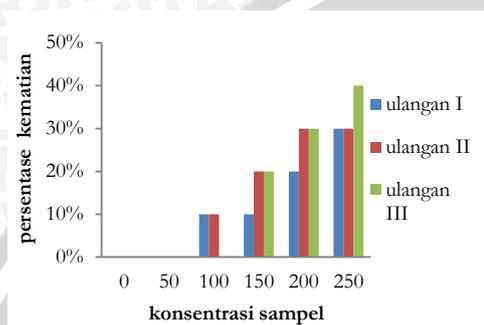
menunjukkan adanya ulur dari senyawa keton C=O. Daerah-daerah serapan dan gugus dugaan tersebut terdapat sedikit perbedaan dari daerah-daerah serapan dan gugus hasil uji Holt dan Jacobs pada Tabel 12, yaitu pita serapan pada bilangan gelombang 1680-1620 tidak ditemukan gugus alkenes. Hasil FT-IR ini telah membuktikan bahwa sampel merupakan senyawa klorofil b.

Rendemen Klorofil B

Dari perhitungan rendemen pigmen, dilakukan dengan tujuan mengetahui besarnya ke efektivitasan penelitian yang dilakukan. Nilai rendemen yang diperoleh sebesar 0,0112%.

Identifikasi Toksisitas Klorofil B dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Hasil uji BSLT Jumlah kematian larva *Artemia Salina Leach* pada setiap botol vial dalam berbagai konsentrasi perlakuan klorofil b dari ekstrak alga coklat *Sargassum filipendula* pada percobaan ini memperlihatkan pengaruh yang berbeda. Grafik kematian artemia dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik persentase kematian artemia

Persentase kematian *Artemia* diperoleh dengan membagi total kematian larva dengan jumlah artemia uji di kali 100%. Kemudian dihitung regresi persen probit kematian dengan log konsentrasi pada tiap ulangan, sehingga diperoleh anti log.

Hasil uji BSLT menunjukkan pada konsentrasi 0 µg/ml (kontrol) dari ulangan 1 hingga ulangan 3 tidak ada larva *Artemia* yang mati sehingga diperoleh %kematian sebesar 0%. Pada konsentrasi 50 µg/ml dari ulangan 1 hingga ulangan 3 tidak ada larva *Artemia* yang mati, sehingga %kematian yang diperoleh juga sebesar 0%. Pada konsentrasi 100 µg/ml dari ulangan 1 dan 2 sebanyak 1 larva *Artemia* yang mati, dan pada ulangan 3 tidak ada larva yang mati, sehingga diperoleh %kematian sebesar 6,7%. Pada konsentrasi 150 µg/ml dari ulangan 1 sebanyak 1 larva *Artemia* yang mati, sedangkan pada ulangan 2 dan 3 sebanyak 2 larva yang mati, sehingga diperoleh

%kematian sebesar 17%. Pada konsentrasi 200 µg/ml dari ulangan 1 sebanyak 2 larva *Artemia* yang mati, sedangkan pada ulangan 2 dan 3 sebanyak 3 larva yang mati, sehingga diperoleh %kematian sebesar 26,7%. Pada konsentrasi 250 µg/ml dari ulangan 1 dan 2 sebanyak 3 larva *Artemia* yang mati, pada ulangan 3 larva yang mati sebanyak 4, sehingga diperoleh %kematian sebesar 33,3%.

Dari hasil percobaan dengan tiga kali ulangan tersebut diperoleh %probit pada konsentrasi 0 dan 50 µg/ml adalah 0%, pada konsentrasi 100 µg/ml % probitnya adalah 3,52%, pada konsentrasi 150 µg/ml diperoleh % probit 4,05%, pada konsentrasi 200 µg/ml %probitnya adalah 4,39%, dan pada konsentrasi 250 µg/ml diperoleh %probit 4,56%. Sehingga didapatkan nilai antilog/LC₅₀ sebesar 847,03 µg/ml yang berarti pigmen klorofil b tidak bersifat toksik, sesuai dengan pernyataan Anderson (1991), tingkat toksisitas suatu senyawa dapat dilihat dari nilai LC₅₀ nya, yaitu 0-250 µg.ml⁻¹ sangat toksik, 250-500 µg.ml⁻¹ toksik, 500-750 µg.ml⁻¹ sedang dan 750-1000 µg.ml⁻¹ tidak toksik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji toksisitas klorofil b dari alga coklat *Sargassum filipendula* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*, diambil kesimpulan bahwa klorofil b tidak bersifat toksik dan memiliki nilai LC₅₀ sebesar 847,03 µg/ml.

Saran

Dari hasil penelitian dapat disarankan, masih perlu adanya variasi hewan uji berbeda seperti tikus atau mencit menggunakan metode LD₅₀ dengan cara klorofil b disuntikkan atau di campurkan dalam makanan hewan uji. Dan pada penentuan konsentrasi uji sebaiknya digunakan perbandingan dengan skala aritmatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E., C.M. Goetz., and J.L. Mc Laughlin. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochemical Analysis*. **2** (3): 107-111.
- Arikunto, S.M. 2002. *Prosedur Penelitian*. Rineka Cipta. Jakarta. 342 hlm.
- Atmadja, W.S., A. Kadi, Sulistijo., dan Radiamanias. 1996. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut di Indonesia*. Puslitbang Oseanografi. LIPI. Jakarta. 191 hlm.
- Dinas Kelautan dan Perikanan Pemerintah Kabupaten Sumenep. 2015. *Produksi Budidaya Rumput Laut Kabupaten Sumenep Tahun 2015*. Sumenep. Madura. n.p.
- Heriyanto., dan L. Limantara. 2006. Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan Taliputri *Cuscuta australis* R.Br. dan *Cassytha filiformis* L. *Makara, sains*. **10** (2): 69-75.
- Jeffrey, S.W. 1997. Chlorophyll b, *in*: Jeffrey, S.W., R.F.C. Mantoura and S.W. Wright: *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods.*, Bremerhaven, Pangaea. p. 37.
- Khotimah, K., Darius., dan B.B. Sasmito. 2013. Uji Aktivitas Senyawa Aktif Alga coklat (*Sargassum filipendula*) Sebagai Antioksidan pada Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). *THPi Student Journal*. **1** (1): 10-20
- Limantara, L. 2007. Mengapa Kita Butuh Makanan Tambahan / Food Suplemen?. <http://pengobatan.wordpress.com/2007/04/14/mengapa-kita-butuh-makanan-tambahan-food-suplemen/>. diakses 30 Agustus 2016.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Identifikasi Flavonoid*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 117 hlm.
- Nurhayati, A.P.D., N. Abdulgani., dan R. Febrianto. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* terhadap *Artemia Salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Jurnal Akta Kimindo*. **2** (1): 41-46.
- Pangestuti, R., L. Limantara., dan A. Susanto. 2007. Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Fukosantid *Sargassum polycystrum* C.A. Agardh. *Prosiding Seminar Nasional Pigmen, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga*. p. 220-228.
- Uji, M.A. 2014. *Mengambil Manfaat dari Hewan dan Tumbuhan Laut*. Mitra Edukasi Indonesia. Bandung. 58 hlm.
- Wijayanti, L. 2010. *Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin pada Alga Coklat (Sargassum duplicatum, Sargassum polycystrum, Sargassum filipendula, Padina australis, dan Turbinaria conoides)*. Universitas Brawijaya. Malang. [Skripsi]
- Yunizal. 2004. *Teknologi Pengolahan Alginat*. Pusat Riset Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan Perikanan. Jakarta. 61 hlm.