



**POTENSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIOKSIDAN DAN KOMPOSISI KIMIA
RUMPUT LAUT HIJAU *Caulerpa racemosa* SEGAR, SEMI-KERING, DAN
KERING**

**LAPORAN DISERTASI
Untuk Memenuhi Syarat**

Memperoleh Gelar Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan



Oleh:

YUSHINTA ARISTINA SANJAYA

NIM. 127080100111010

**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN DAN KELAUTAN
MINAT TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

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

2017



DISERTASI

**POTENSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIOKSIDAN DAN KOMPOSISI KIMIA
RUMPUT LAUT HIJAU *Caulerpa racemosa* SEGAR, SEMI-KERING, DAN
KERING**

Oleh:

Yushinta Aristina Sanjaya

NIM. 127080100111010

Telah dipertahankan di depan tim penguji

Pada tanggal 30 November 2017

Dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Prof.Ir. Simon B. Widjanarko, M.App.Sc. PhD.

Promotor

Dr.Ir. Dwi Setijawati, M.Kes.

Ko-Promotor

Masruri, S.Si, M.Si, PhD.

Ko-Promotor

Mengetahui,

Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Brawijaya

Dr.Ir. Happy Nursyam, MS

NIP. 19603221986011001

**Judul Laporan Disertasi:****POTENSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIOKSIDAN DAN KOMPOSISI KIMIA RUMPUT LAUT HIJAU *Caulerpa racemosa* SEGAR, SEMI-KERING, DAN KERING**

Nama Mahasiswa : Yushinta Aristina Sanjaya

NIM : 127080100111010

Program Studi : Program Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan

Minat : Teknologi Hasil Perikanan

TIM PEMBIMBING

Promotor : Prof.Ir. Simon B. Widjanarko, M.App.Sc., PhD

Co-promotor : Dr. Ir. Dwi Setijawati M.Kes.

Co-promotor : Masruri, Ssi., MSi., PhD.

TIM PENGUJI

Penguji 1 : Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

Penguji 2 : Dr.Ir. Muhammad Firdaus, MP

Penguji 3 : Dr. Dikdik Kumia, MSc.

Penguji Tamu : Dr. Pratiwi Pudjiastuti, MSi

Tanggal Ujian : 30 November 2017



PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia disertasi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 20 Desember 2017

Mahasiswa,

Yushinta Aristina Sanjaya

NIM. 127080100111010



RIWAYAT HIDUP

Yushinta Aristina Sanjaya anak dari Bapak Harianto dan Ibu Sri Sundari. Pendidikan dasar di SDN Pepelegi I, pendidikan menengah di SMPN 3 Sidoarjo dan SMUN 14 Surabaya lulus pada tahun 2000. Pendidikan S1 di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Program Studi Teknologi Hasil Perikanan lulus pada tahun 2005. Pendidikan S2 di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Jurusan Teknologi Hasil Pertanian lulus pada tahun 2011. Pendidikan S3 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Minat Teknologi Hasil Perikanan lulus pada tahun 2017.

Malang, Desember 2017

Penulis



UCAPAN TERIMA KASIH

1. Syukur Alhamdulillah karena hanya karena Rahmat-Nya saya bisa sampai pada titik ini. Atas ijin-Nya juga saya bisa menjalani semua proses selama kuliah S3 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
2. Bapak Ibu dan saudara-saudara saya. Terima kasih atas doa yang telah diberikan untuk kelancaran & kemudahan disertasi saya
3. Bapak Ibu Mertua saya, yang telah mendorong saya untuk melanjutkan kuliah S3. Terima kasih juga untuk doa-doanya yang telah diberikan untuk kelancaran disertasi saya
4. Prof. Simon B. Widjanarko sebagai promotor utama, Dr. Dwi Setijawati sebagai Co-promotor saya.
5. Bapak Masruri S,Si,PhD sebagai Co-promotor saya dari bidang kimia organik.
6. Bapak Dikdik Kurnia, selaku penguji dari Kimia Organik Universitas Padjajaran. Banyak membantu saya terutama pada saat isolasi senyawa. Terima kasih telah diterima dengan baik selama saya isolasi di Bandung.
7. Bapak Happy Nursyam sebagai penguji
8. Bapak Muhammad Firdaus sebagai penguji.
9. Ibu Pratiwi Pudjiastuti dari Kimia Organik Universitas Airlangga
10. Rektor Universitas PGRI Banyuwangi atas rekomendasinya untuk kuliah S3.
11. Ketua Program Studi Program Doktor Ilmu Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya.
12. Rekan, saudara, dan keluarga yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
13. Ucapan terima kasih secara khusus untuk suami & anak-anak saya yang tercinta. Terima kasih atas dukungan, doa, waktu, perhatian & pengertiannya sehingga saya sampai mencapai titik ini.



Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Potensi Senyawa Antioksidan dan Komposisi Kimia Rumput Laut Hijau *Caulerpa racemosa* Segar, Semi-Kering dan Kering. Promotor: Prof.Ir. Simon B. Widjanarko, M.App.Sc.,PhD, Ko-Promotor 1: Dr.Ir. Dwi Setijawati, M.Kes., Ko-Promotor 2: Masruri, Ssi., MSi., PhD.

RINGKASAN

Rumput laut kaya akan kandungan gizi dan serat sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat maupun pangan. Rumput laut juga memiliki sifat bioaktif salah satunya sebagai antioksidan. Salah satu rumput laut yang memiliki kandungan gizi yang baik dan belum banyak dieksplorasi adalah *Caulerpa racemosa*. *C. racemosa* berpotensi sebagai antioksidan, antikanker dan antiinflamasi.

Penelitian ini dilakukan 4 tahap menggunakan rumput laut hijau *C. racemosa* dengan beberapa perlakuan awal, yaitu kering, semi kering dan segar. Tahap 1 untuk mengetahui perubahan kandungan nilai nutrisi pada saat rumput laut kering, semi kering dan segar. Penelitian tahap 2 dilakukan untuk mengetahui ekstrak yang memiliki aktivitas paling baik dari rumput laut kering, semi kering dan segar. Penelitian tahap 3 dilakukan untuk mengetahui fraksi yang paling aktif. Penelitian tahap 4 dilakukan untuk mengisolasi senyawa murni. Metode penelitian yang akan digunakan adalah metode Rancangan Acak Lengkap untuk tahap 1 dan 2. Tahap 3 dan 4 menggunakan metode Deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, perbedaan perlakuan segar, semi kering, dan kering pada rumput laut hijau *C. racemosa* tidak mempengaruhi kandungan gizi diantaranya karbohidrat, lemak, protein, abu, dan juga serat. Kandungan mineral paling banyak adalah kalium. Asam lemak pada *C. racemosa* didominasi oleh asam palmitat, asam linoleat, asam α -linoleat, asam arakhidonat dan asam oleat. Kandungan asam amino tertinggi adalah asam glutamat. Hasil aktivitas antioksidan dan total fenol ekstrak *C. racemosa* tertinggi diperoleh dari sampel kering, sedangkan kandungan flavonoid tertinggi pada ekstrak *C. racemosa* semi kering. Fraksinasi dari sampel ekstrak *C. racemosa* kering mendapatkan tiga fraksi, yaitu fraksi n-heksan, etil asetat, dan metanol/air. Fraksi etil asetat merupakan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan dan daya reduksi tertinggi. Kandungan total fenol dan total flavonoid juga lebih tinggi dari fraksi yang lain. Isolasi senyawa dilakukan dari fraksi etil asetat sehingga diperoleh isolate F 10-9-1. Hasi analisa LC-MS menunjukkan senyawa utama pada isolat F 10-9-1 memiliki persen relatif sebesar 87,83% dan puncak utama m/z 197,52. Hasil analisa FTIR menunjukkan bahwa gugus utama yang terdapat pada islat F 10-9-1 adalah OH terikat, C=O, C=C, dan CH. Hasil analisa UV-Vis menunjukkan bahwa terdapat tiga puncak yang terdeteksi dengan puncak tertinggi pada 274 nm. Hasil pembacaan dari analisa NMR isolate F 10-9-1 diduga merupakan senyawa golongan poliketida dengan nama (*E*)-5-(hidroksymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione dan rumus formula $C_{10}H_{14}O_4$.



Yushinta Aristina Sanjaya, Doctoral Program Faculty of Fisheries and Marine Science University of Brawijaya. Potential of Antioxidant Bioactive Compound of Fresh, Semi-Dried, Dried Green Seaweed *Caulerpa racemosa*. Promotor: Prof.Ir. Simon B. Widjanarko, M.App.Sc.,PhD, Co-Promotor 1: Dr.Ir. Dwi Setijawati, M.Kes., Co-Promotor 2: Masruri, Ssi., MSi., PhD.

SUMMARY

Seaweed has rich in nutrients and fiber which used as medicine and food ingredients. Seaweed also has bioactive properties as an antioxidant. *Caulerpa racemosa* is one of the seaweed which has not been explored yet. *C. racemosa* possess a good nutritional content and potent as antioxidant, anticancer and anti-inflammatory.

This study was conducted in 4 stages using green seaweed of *C. racemosa* with some treatments of drying (fresh, semi-dried and dried). First stage was to find out changes in nutritional content due to drying treatment. Second stage was conducted to find out the extract which has the best activity among of treated seaweed. Third stage was conducted to find out the most active fraction and the last stage was undertaken to isolate pure compounds. Completely Randomized Design was used for first and second stage, while descriptive method was used for third and fourth stage.

The results showed that the difference treatments of *Caulerparacemosa* -fresh, semi-dried and dried - did not affect the nutrient content such as carbohydrate, fat, protein, ash, and fiber. The most mineral content was potassium, while the highest amino acid content was glutamic acid. The fatty acids of *C. racemosa* were dominated by palmitic acid, linoleic acid, α -linoleic acid, arachidonic acid and oleic acid. The highest antioxidant activity and total phenol were obtained from extract of dried sample, while the highest flavonoid was extract of semi-dried sample. The fractionation of extract from dried *C. racemosa* obtained three fractions (n-hexane, ethyl acetate, and methanol/water fractions). Ethyl acetate fraction has the highest antioxidant activity and reduction power. Its total of phenol and flavonoid were also higher than the other fraction. The isolation of the compound was carried out from the fraction of ethyl acetate to obtain F 10-9-1 isolate. The LC-MS analysis showed that the main compound of F 10-9-1 had a relative percentage of 87.83% and base peak were m/z 197,52. FTIR analysis displayed that the main groups contained in F 10-9-1 are OH bound, C=O, C=C, and CH. The UV-Vis analysis showed that there were three peaks detected with the highest peak at 274 nm. The results of the NMR of F 10-9-1 were suspected to be a polyketide group compound with the name of (E) -5-(hydroxymethyl) non-5-ene-2,4,8-trione and formula of $C_{10}H_{14}O_4$.

DAFTAR ISI

Halaman

Ringkasan	i
Summary	ii
Daftar Isi	iii
Daftar Gambar	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Lampiran	viii
Kata Pengantar	ix
1. Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat.....	3
2. Tinjauan Pustaka	4
2.1 Rumput Laut Hijau (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	4
2.2 Sifat Antioksidan pada Rumput Laut.....	8
2.3 Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Aktif dari Rumput laut <i>C. racemosa</i> ..	10
2.4 Fitokimia pada Rumput Laut.....	12
2.4.1 Fenol.....	12
2.4.2 Alkaloid.....	13
2.4.3 Terpenoid.....	16
2.4.4 Flavonoid.....	16
2.5 Jalur Biosintesa Senyawa Metabolit Sekunder pada Tanaman.....	17
2.6 Analisa Antioksidan.....	18
2.6.1 DPPH.....	18
2.6.2 <i>Reducing Power</i> (daya reduksi).....	19
2.7 Identifikasi Senyawa.....	20
2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	20
2.7.2 Spektrofotometri Uv-Vis.....	21
2.7.3 Spektroskopi Massa.....	22
2.7.4 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR).....	23
2.7.5 <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR).....	24
3. Kerangka Konsep Penelitian	26
3.1 Landasan Teori.....	26
3.2 Kerangka Operasional dan Variabel Pengukuran.....	28
3.3 Hipotesis.....	30
4. Metodologi Penelitian	32
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
4.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	32
4.3 Metode Penelitian.....	33
4.3.1 Penelitian Tahap 1.....	33
4.3.1.1 Pelaksanaan Penelitian tahap 1.....	33
4.3.1.2 Rancangan Percobaan dan Analisa Statistik.....	34
4.3.2 Penelitian Tahap 2.....	34
4.3.2.1 Pelaksanaan Penelitian Tahap 2.....	34
4.3.2.2 Rancangan Percobaan dan Analisa Data.....	35
4.3.3 Penelitian Tahap 3.....	36
4.3.4 Penelitian Tahap 4.....	37
5. Hasil dan Pembahasan	39
5.1 Tahap I.....	39



5.1.1 Analisa Proksimat dan Serat	39
5.1.2 Analisa Mineral	40
5.1.3 Analisa Asam Lemak menggunakan GC-MS	42
5.1.4 Analisa Asam Amino menggunakan HPLC	45
5.1.5 Kesimpulan Penelitian Tahap I	47
5.2 Tahap II	47
5.2.1 Analisa Fitokimia	47
5.2.2 Analisa Total Fenol dan Flavonoid	40
5.2.3 Analisa Antioksidan DPPH dan Nilai IC ₅₀	50
5.2.4 Analisa Daya Reduksi	52
5.2.5 Kesimpulan Penelitian Tahap II	53
5.3 Tahap III	53
5.3.1 Analisa Total Fenol	54
5.3.2 Analisa Total Flavonoid	55
5.3.3 Aktivitas Antioskidan DPPH dan Nilai IC ₅₀	56
5.3.4 Analisa Daya Reduksi	58
5.3.5 Kromatografi Lapis Tipis Masing-Masing Fraksi	59
5.3.6 Kesimpulan Penelitian Tahap III	60
5.4 Tahap IV	61
5.4.1 Isolasi Senyawa Antioksidan Aktif Fraksi Etil Asetat Menggunakan Kromatografi Kolom (KK) dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ..	61
5.4.2 Inteprestasi Spektrum NMR (<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)	64
5.4.3 Identifikasi Gugus Fungsional F 10-9-1 dengan Spektroskopi Inframerah (IR)	71
5.4.4 Identifikasi F 10-9-1 dengan Spektroskopi Ultraviolet (UV)	74
5.4.5 Identifikasi F 10-9-1 dengan Kromatografi Cair Spektrum Massa (LC-MS)	62
5.4.6 Usulan Dugaan Senyawa Hasil Isolasi Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i> kering Fraksi F 10-9-1	76
5.4.7 Kesimpulan Penelitian Tahap IV	80
5.5 Keterbaruan Penelitian	80
6. Kesimpulan dan Saran	82
6.1 Kesimpulan	82
6.2 Saran	82
Daftar Pustaka	84
Lampiran	96

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
2.1	Rumput Laut Hijau <i>Caulerpa racemosa</i>	5
2.2	Struktur Caulerprenilol A dan B.....	7
2.3	Struktur Racemosin A dan B.....	7
2.4	Struktur <i>1,5-diphenilnpetadiene derivative, transcinnamyl-1-phenyl-2-propenyl ethyl, dicinnamyl ether; cinnamyl-3-phenyl-1-propenyl ether, cinnamyl dihydrocinnamate, dan Caulerpin</i>	8
2.5	Struktur Fenol pada Rumput Laut.....	12
2.6	Struktur Caulerpin.....	15
2.7	Jalur Umum Biosintesa Metabolit Sekunder Melalui Asetil KoA, Asam Shikimat, dan Asam Mevalonat.....	18
2.8	Korelasi COSY dan HMBC Asam Lemak Poliasetilenik.....	25
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	28
3.2	Kerangka Operasional dan Variabel Pengukuran.....	31
4.1	Diagram Alir Penelitian Tahap 1.....	34
4.2	Diagram Alir Penelitian Tahap 2.....	35
4.3	Diagram Alir Penelitian Tahap 3.....	36
4.4	Diagram alir Penelitian Tahap 4.....	38
5.1	Kromatogram GC-MS Analisa Asam Lemak <i>C. racemosa</i>	43
5.2	Grafik Analisa Total Fenol <i>C. racemosa</i> kering.....	54
5.3	Grafik Analisa Total Flavonoid <i>C. racemosa</i> kering.....	55
5.4	Grafik Nilai Aktivitas Penghambatan <i>C. racemosa</i> kering.....	57
5.5	Grafik Aktivitas Daya Reduksi <i>C. racemosa</i> kering.....	58
5.6	Hasil KLT fraksi N-heksan, Etil Asetat, dan Metanol menggunakan fase gerak heksan:etil asetat (7:3) dengan perlakuan tanpa DPPH dan dicelup DPPH.....	60
5.7	Bagan Alur Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antioksidan.....	62
5.8	Pola noda fraksi F7-F11 pada KLT dengan eluen heksan:etil asetat (7:3).....	63
5.9	Pola noda fraksi F10 (1-11) pada KLT dengan eluen heksan:etil asetat (7:3).....	63
5.10	Pola noda fraksi F10-9 (1-7) pada KLT dengan eluen heksan:etil asetat (1:1).....	64
5.11	Spektrum ¹³ C-NMR isolate F 10-9-1 dalam Metanol-D4.....	65
5.12	Hasil Pembacaan Spektrum ¹ H-NMR Isolat F 10-9-1 pada 500 MHz dalam Metanol D-4.....	66
5.13	Struktur a Spektrum COSY Isolat F 10-9-1 dalam Metanol-D4.....	67
5.14	Spektrum HMQC Isolat F 10-9-1 (125 Mhz dalam Metanol-D4).....	68
5.15	Spektrum HMQC Isolat F 10-9-1 (125 Mhz dalam Metanol-D4).....	69
5.16	Spektrum HMBC Beberapa Struktur Isolat F 10-9-1 dalam Metanol-D4).....	70
5.17	Fragmen Senyawa Isolat F 10-9-1 spektrum HMBC dan HMQC.....	71
5.18	Spektrum Infra Merah Fraksi F 10-9-1 Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i> kering.....	72
5.19	Hasil Pembacaan spektrum Ultraviolet Fraksi F 10-9-1 <i>C. racemosa</i> dalam Etil Asetat.....	74
5.20	Kromatogram LC-MS <i>C. racemosa</i> Kering Fraksi F 10-9-1.....	75
5.21	Spektrum Massa LC-ESI untuk F 10-9-1 dengan waktu retensi 4,2 menit.....	76
5.22	Struktur Senyawa (<i>E</i>)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-	77



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
2.1	Kandungan Gizi <i>C. racemosa</i> segar dari beberapa daerah	5
2.2	Kandungan Asam Lemak <i>C. racemosa</i> menurut Nagappan dan Vairapan (2013)	6
5.1	Hasil Analisa Proksimat pada Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i>	39
5.2	Analisa Mineral pada Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i>	41
5.3	Hasil Identifikasi Asam Lemak yang Dominan pada Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i> Berdasarkan Kromatogram GC-MS	44
5.4	Hasil Identifikasi Asam Amino dari Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i> (mg/g protein)	46
5.5	Analisa Fitokimia Ekstrak Kasar Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i>	47
5.6	Hasil Analisa Total Fenol dan Total Flavonoid pada rumput laut <i>C. racemosa</i>	49
5.7	Tingkat Penghambatan Radikal DPPH oleh Ekstrak <i>C. racemosa</i> Segar, Semi-kering, dan Kering	51
5.8	Absorbansi Daya Reduksi Rumput Laut Hijau <i>C. Racemosa</i>	52
5.9	Pergeseran kimia NMR Karbon dan Proton	67
5.10	Analisa gugus fungsi Fraksi F 10-9-1 rumput laut hijau <i>C. racemosa</i> kering	73
5.11	Luas Area dan Persen Relatif dari LC-MS isolat F10-9-1	75



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Prosedur Analisa Antioksidan menggunakan DPPH.....	97
2	Prosedur Analisa <i>Reducing Power</i>	97
3	Analisa Total Fenol.....	98
4	Analisa Total Flavonoid.....	98
5	Analisa Asam amino	98
6	Prosedur Analisa Asam Lemak menggunakan GC-MS.....	99
7	Prosedur Analisa Asam Amino Menggunakan HPLC.....	100
8	Prosedur Kromatografi Lapis Tipis	100
9	Prosedur Analisa Menggunakan LC-MS	101
10	Prosedur FTIR	102
11	Prosedur Analisa Menggunakan NMR.....	102
12	Data Pengamatan Suhu Peningkatan Rumput Laut	103
13	Hasil Analisa Proksimat dan Serat	103
14	Hasil Analisa Mineral	106
15	GC-MS Asam Lemak <i>C. racemosa</i> Segar	109
16	GC-MS Asam Lemak <i>C. racemosa</i> Semi Kering	111
17	GC-MS Asam Lemak <i>C. racemosa</i> Kering	113
18	Kromatogram HPLC Asam Amino <i>C. racemosa</i> Segar	114
18	Kromatogram HPLC Asam Amino <i>C. racemosa</i> Semi Kering	116
20	Kromatogram HPLC Asam Amino <i>C. racemosa</i> Kering	118
21	Hasil Analisa Total Fenol Ekstrak Metanol <i>C. racemosa</i>	120
22	Hasil Analisa Total Flavonoid Ekstrak Metanol <i>C. racemosa</i>	121
23	Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan DPPH Ekstrak Metanol <i>C. racemose</i>	122
24	Nilai Absorbansi Analisa <i>Reducing Power</i> Ekstrak Metanol <i>C. racemose</i>	123
25	Hasil Analisa Total Fenol <i>C. racemosa</i> kering	124
26	Hasil Analisa Total Flavonoid <i>C. racemosa</i> kering	124
27	Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan <i>C. racemosa</i> kering	125
28	Hasil Analisa <i>Reducing Power</i> <i>C. racemosa</i> kering	125
29	Data Kromatografi Kolom	126
30	Data LC-MS Fraksi Etil Asetat F 10-9-1 <i>C. racemosa</i> kering	128
31	Hasil Penelusuran Senyawa yang Telah Diisolasi dari <i>C. racemose</i>	130
32	Hasil Identifikasi Rumput Laut Hijau <i>C. racemosa</i>	134
33	Surat Keterangan Bebas Plagiasi	135



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puja dan puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu penulis dapat menyajikan laporan disertasi yang berjudul 'Karakterisasi Sifat Kimia Rumput Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) Segar, Semi-Kering, dan Kering serta Identifikasi Senyawa Bioaktif Antioksidannya'

Dalam tulisan ini disajikan hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan untuk analisa kandungan gizi serta senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Harapan penulis adalah rencana penelitian ini dapat memberikan informasi tentang senyawa yang aktif sebagai antioksidan pada *C. racemosa*, sehingga dapat dimanfaatkan untuk alternatif senyawa bioaktif alami serta dapat meningkatkan nilai rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* sebagai makanan fungsional.

Malang,

Penulis

1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Caulerpa racemosa merupakan salah satu rumput laut yang memiliki kandungan fitokimia yang bagus tetapi belum banyak dieksplorasi. Komposisi kimia *C. racemosa* di antaranya adalah protein, lemak, karbohidrat (Murugaiyan, *et al.*, 2012), asam amino esensial dan non esensial (Rameshkumar *et al.*, 2013), asam lemak jenuh dan tak jenuh (Kumari, *et al.*, 2010), dan mineral (Murugaiyan and Narasimman, 2013). Komposisi fitokimia *C. racemosa* adalah alkaloid, terpenoid, steroid, tannin, saponin, flavonoid, dan fenol (Shibu dan Dhanam, 2015).

Keunggulan kandungan nutrisi dan fitokimia pada *C. racemosa* ini yang menyebabkan banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Negara-negara Asia (Nagappan dan Vairappan, 2013), tetapi *C. racemosa* merupakan *perishable food*. Hal ini dapat diamati dari beberapa kasus yang terjadi seperti dilaporkan oleh Chamberlain dan Pickering (1997) melaporkan penanganan pascapanen *C. racemosa* di Fiji. Pengiriman sebelumnya ke Jepang dengan penerbangan menyebabkan penolakan 100%. Morris, *et al.* (2014) melaporkan rantai distribusi dan pemasaran *C. racemosa* di Fiji, Samoa and Tonga. Terbatasnya rantai distribusi disebabkan pendeknya daya simpan yang dikarenakan kerusakan selama pemanenan dan sedikitnya informasi tentang penanganan *C. racemosa*.

Rumput laut secara umum dikonsumsi dalam bentuk segar, kering, asin, atau sebagai bahan siap olah, namun konsumsi yang umum dilakukan pada *C. racemosa* adalah dalam bentuk segar sebagai salad atau sayuran (Nagappan dan Vairappan, 2013). Kondisi dan proses pengolahan terhadap rumput laut dapat berpengaruh terhadap kandungan bioaktif yang berhubungan dengan aktivitas biologis rumput laut. Kadar air bahan dan cara pengeringan



berpengaruh pada kandungan bioaktif pada rumput laut. Menurut Rajauria *et al.* (2010), pemanasan berpengaruh terhadap total fenol, tannin, flavonoid dan gula. Proses pengeringan dan rehidrasi pada rumput laut dapat mempengaruhi kandungan fitokimia (Cox, *et al.*, 2012).

Rumput laut hijau *C. racemosa* kaya akan kandungan metabolit sekunder yang aktif. Senyawa fenolik dari *C. racemosa* berpotensi sebagai antioksidan (Djapiala dkk., 2013). Kandungan senyawa bioaktif rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* juga memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamasi (Nagappan dan Vairappan, 2013). Rumput laut hijau *C. racemosa* memiliki senyawa aktif. Kandungan metabolit sekunder utama dari *C. racemosa* adalah caulerpenin (Meyer and Paul, 1992) dan caulerpin yang bersifat sebagai antiinflamasi (de Souza, *et al.*, 2009). Kandungan metabolit sekunder dari *C. racemosa* juga memiliki aktivitas antibakteri (Viswanathan and Nallamuthu, 2013; Singkoh, 2011). Caulerpenin dari *C. racemosa* juga memiliki aktivitas fitotoksik (Raniello *et al.*, 2007). Senyawa-senyawa bioaktif ini terbentuk melalui beberapa jalur biosintesa dengan perubahan dari metabolit primer menjadi metabolit intermediet, kemudian menjadi metabolit sekunder (Anulika, *et al.* 2016), sehingga keberadaan metabolit sekunder pada tanaman, khususnya rumput laut hijau *C. racemosa* tidak bisa lepas dari keberadaan metabolit primer terutama karbohidrat, protein dan lemak.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan hal tersebut dapat disusun rumusan masalah penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah karakteristik komposisi kimia rumput laut hijau *C. racemosa* jika dilakukan proses pengeringan?



2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan *C. racemosa* setelah dilakukan pengeringan?

3. Pada pelarut apakah antioksidan *C. racemosa* lebih tinggi dihasilkan?

4. Bagaimanakah model struktur molekul senyawa bioaktif dari *C. racemosa* yang aktif sebagai antioksidan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan karakter komposisi kimia rumput laut *C. racemosa* pada perlakuan awal yang berbeda.

2. Mendapatkan perlakuan yang menghasilkan aktivitas antioksidan paling tinggi.

3. Mendapatkan jenis pelarut yang sesuai untuk menghasilkan aktifitas antioksidan paling tinggi.

4. Menemukan, mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa hasil pemurnian yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi sehingga didapatkan model struktur senyawa bioaktif *C. racemosa* yang aktif sebagai antioksidan.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberikan rekomendasi penanganan *C. racemosa* untuk mendapatkan nilai komposisi kimia yang baik.

2. Mengetahui aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh rumput laut *C. racemosa*

3. Memberikan informasi kandungan senyawa aktif dari rumput laut hijau *C. racemosa*.



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*)

Caulerpa racemosa merupakan jenis rumput laut yang tumbuh di berbagai substrat dengan sebaran yang luas. Ciri-cirinya adalah talus ramping, panjang stolon 20-100 (<200) cm dan tebal 1-2 mm. Stolon melekat pada substrat tipis, rizoid pucat dan memiliki cabang pada ujungnya dengan panjang 10-20 mm dengan diameter 0,5 (<1) mm (Gartner, 2005). Bagian basal dari sumbu tegak tepat di atas lampiran stolon (Verlaque, et al., 2003). Rumput laut *Caulerpa racemosa* dapat dilihat pada Gambar 2.1.

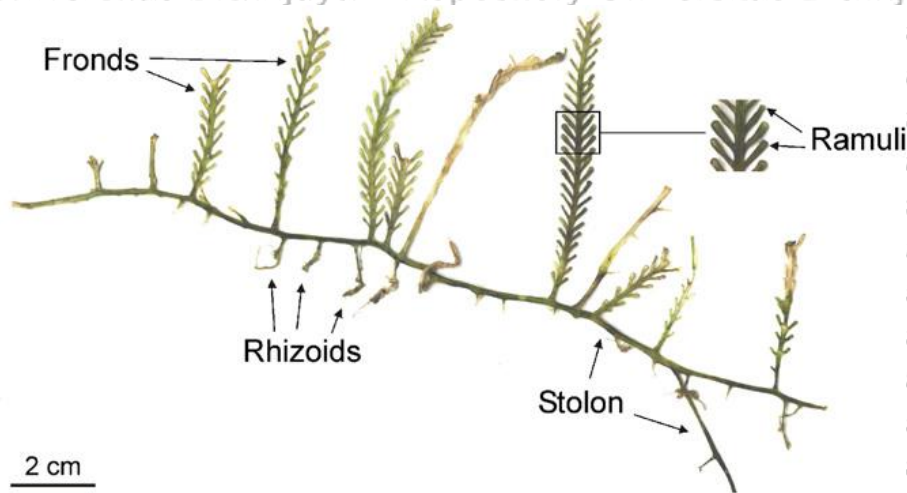
Klasifikasi dari *Caulerpa racemosa* menurut Guiry d Guiry (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae – plants*
 Subkingdom : *Viridaeplantae*
 Phylum : *Chlorophyta*
 Class : *Bryopsidophyceae*
 Order : *Bryopsidales*
 Family : *Caulerpaceae*
 Genus : *Caulerpa*
 Species : *Caulerpa racemosa*

Spesies *Caulerpa* memiliki *uni axial talus* yang biasanya dibagi menjadi *creeping axis* (stolon) dengan rhizoid dan *erect shoot (fronds)* salah satunya seperti *nude*, seperti daun atau anggur, atau ramuli menyerupai bulu ayam.

Caulerpa racemosa memiliki *trabeculate* yang tumbuh di luar dinding sel berfungsi sebagai *buttresses*. Ramuli pada *caulerpa racemosa* memiliki *erect shoot* sampai 11 cm yang bisa diatur secara radial atau *distichously*. *Fronds*

menempel sedikit di atas stolon yang berhubungan dengan substrat melalui rhizoid yang pendek (Klein dan Verlaque, 2008).



Gambar 2.1. Rumput Laut Hijau *Caulerpa racemosa* (Klein dan Verlaque, 2008)

Kandungan gizi pada *C. racemosa* adalah bervariasi sesuai tempat hidupnya. Kandungan gizi *C. racemosa* dari beberapa daerah dapat dilihat pada Tabel 2.1 dan kandungan Asam Lemak *C. racemosa* dari beberapa varian disajikan pada Tabel 2.2. Menurut Rameshkumar *et al.* (2013), kandungan protein *C. racemosa* sebesar 18,3% berat kering. Kandungan asam-asam amino diantaranya adalah asam aspartat, alanin, arginin, asam glutamat, glisin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, serin, prolin, treonin, tirosin, dan valin.

Tabel 2.1. Kandungan Gizi *C. racemosa* segar (%) dari Beberapa Tempat

Daerah asal	Air	Karbohidrat	Lemak	Protein	Abu	Referensi
Sabah, Malaysia	91,36 ^a	52,81 ^a	2,21 ^a	17,36 ^a	23,81 ^a	Nagappan dan Vairappan (2013)
	93,20 ^b	50,19 ^b	2,11 ^b	7,28 ^b	26,74 ^b	Ahmad, <i>et al.</i> , (2012)
	92,00	67,40	0,15	10,52	10,64	
Gujarat, India		9,4	4,4	24,8		Chakraborty dan Bhattacharya (2012)

Keterangan: a. *C. racemosa* var. *microphysa*; b. *C. racemosa* var. *laetevirens*



Tabel 2.2 Kandungan Asam Lemak *C. racemosa* menurut Nagappan dan Vairappan (2013)

Parameter	Var. <i>Microphysa</i>	Var. <i>Laeteviren</i>
Kandungan Lemak Jenuh (%)	66,31	57,83
MUFA (%)	12,90	12,25
PUFA (%)	30,27	29,68
ω -3 (%)	6,22	6,78
ω -6 (%)	17,10	19,67
ω -9 (%)	2,46	2,07

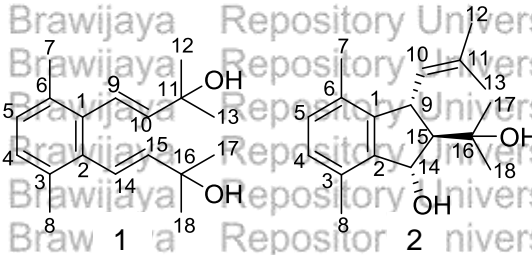
Variasi *C. racemosa* berdasarkan talus bergantung pada jenis substrat, kedalaman, cahaya, tingkat nutrisi dan ekspose gelombang. *C. racemosa* ditemukan di sepanjang laut merah sampai ke pantai Moni, Cyprus pada tahun 1992-1997. Hal ini dikarenakan naiknya suhu yang berhubungan dengan pemanasan global (Shafik dan Manawy, 2008).

Rumput laut hijau *C. racemosa* memiliki kandungan fitokimia. Kandungan fitokimia utama pada *C. racemosa* adalah caulerpenin yang diperoleh dengan mengekstraksi menggunakan pelarut organik. Metabolit sekunder ini yang mungkin berhubungan dengan pertahanan terhadap herbivor dan kompetisi dengan spesies yang lain. Caulerpenin yang dihasilkan dari ekstrak *C. racemosa* bervariasi bergantung musim dan bagian talus. Kandungan caulerpenin *C. racemosa* sebesar 3 mg/g berat basah (Klein dan Verlaque, 2008). Menurut Box, *et al.* (2010), kandungan caulerpenin *C. racemosa* lebih banyak pada bagian frond daripada stolon. Caulerpenin relatif konstan sepanjang tahun pada bagian frond sedangkan pada bagian stolon dipengaruhi oleh musim. Caulerpenin pada stolon meningkat pada musim semi dan mencapai maksimal pada akhir musim panas dan menurun selama musim dingin.

Caulerprenylols A dan B merupakan *prenylated* paraxylenes yang dihasilkan *C. racemosa* memiliki sifat anti fungi pada *Candida glabrata*, *Trichophyton rubrum*, dan *Cryptococcus neoformans* dengan nilai MIC₈₀ 4-64 μ g/mL. Kedua struktur tersebut merupakan *prenylated para-xylane* yang pertama

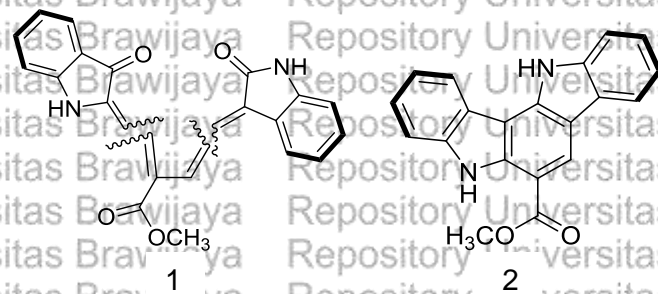


kali ditemukan pada alga dan organisme laut (Liu, et al., 2013^a). Struktur *caulerprenylol* a dan b disajikan pada Gambar 2.2.



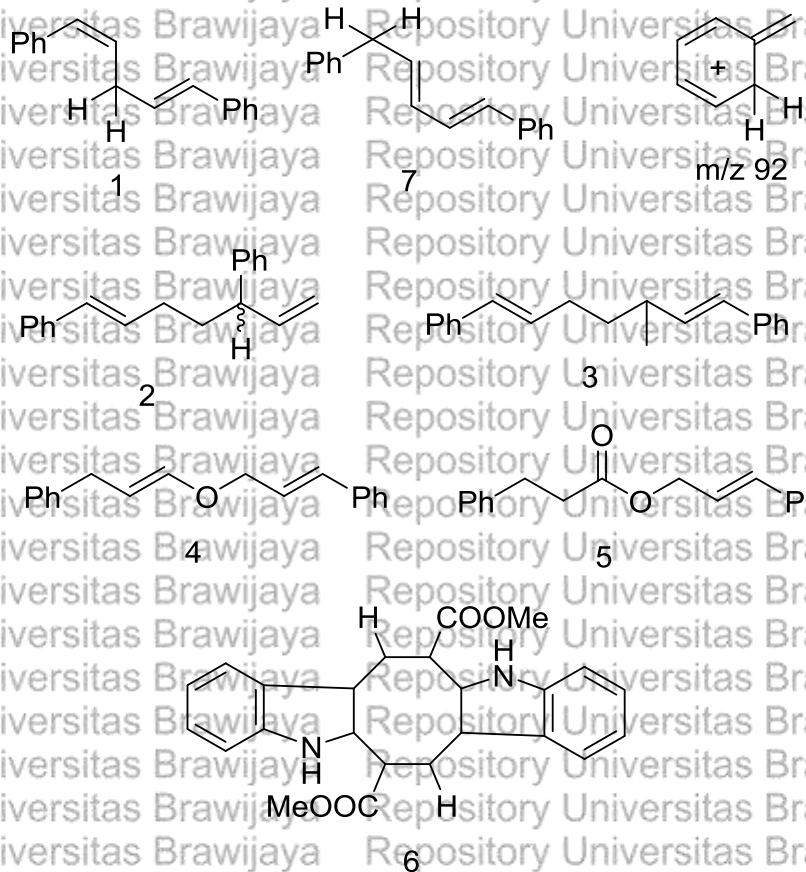
Gambar 2.2. Struktur Caulerprenylol a (1) dan b (2)

Liu et al. (2013^b) juga telah mengidentifikasi bisindole alkaloid baru dari *C. racemosa*, yaitu *Racemosin A* dan B. Hasil uji neuroprotektif menunjukkan bahwa senyawa *Racemosin A* secara signifikan melemahkan $A\beta_{25-35}$ yang menginduksi kerusakan sel SH-SY5Y dengan peningkatan viabilitas sel sebesar 14,6% pada 10 μM . Struktur *Racemosin A* dan B disajikan pada pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Struktur Racemosin A (1) dan B (2)

Beberapa senyawa aromatis dari *C. racemosa* juga telah ditemukan oleh Anjaneyulu et al. (1992) yang diperoleh dari ekstrak methanol fraksi klorofom. Senyawa tersebut diantaranya adalah *1,5-diphenyl-1,4-pentadiene*; *trans-cinnamyl-1-phenyl-2-propenyl eter*; *dicinnamyl eter*; *cinnamyl-3-phenyl-1-propenyl eter*, dan *cinnamyl dihydrocinnamate*. Struktur senyawa-senyawa tersebut disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur 1,5-diphenyl pentadiene derivative (1), trans-cinnamyl-1-phenyl-2-propenyl ether (2), dicinnamyl ether (3), cinnamyl-3-phenyl-1-propenyl ether (4), cinnamyl dihydrocinnamate (5), dan Caulerpin (6).

2.2 Sifat Antioksidan pada Rumput Laut

Lingkungan tempat rumput laut tumbuh terekspos cahaya dan oksigen dengan konsentrasi tinggi. Kedua faktor tersebut dapat menimbulkan pembentukan radikal bebas dan agen oksidasi lainnya, tetapi rumput laut memperbaiki kerusakan *photodynamic* selama metabolisme. Hal ini menunjukkan bahwa sel rumput laut memiliki mekanisme dan bahan untuk melindungi diri (Cox *et al.*, 2010).

Rumput laut merupakan tanaman fotosintetik yang terpapar oleh cahaya dan oksigen yang dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas dan oksidator kuat lainnya. Radikal bebas dan oksidator kuat menyebabkan kerusakan pada



kloroplast (Shanab, 2007). Tidak adanya kerusakan pada rumput laut diyakini karena sel rumput laut mempunyai mekanisme antioksidatif dan senyawa antioksidan. Kemampuan antioksidan pada rumput laut tersembunyi karena rumput laut merupakan organisme intertidal, membutuhkan perlindungan dari sinar UV dan pengaruh dari fluktuasi pasang surut setiap hari (Yuan dan Walsh, 2006).

Keberadaan bahan antioksidatif dalam rumput laut dikarenakan adanya mekanisme pertahanan endogenus sebagai perlindungan melawan tekanan oksidatif yang diakibatkan oleh kondisi lingkungan yang ekstrim (Sachindra *et al.*, 2010).

Dummermuth *et al.* (2003) melakukan penelitian tentang respon beberapa rumput laut pada *hydrogen-peroxide stress* menyatakan bahwa kapasitas fotosintetik di bawah stress peroksida mengindikasikan bahwa rumput laut berpotensi memiliki sifat antioksidatif. Spesies yang berpotensi memiliki sifat antioksidatif diantaranya adalah *Chaetomorpha melagonium* (rumput laut hijau) karena memiliki enzim SOD (*superoxide dismutase*) dan CAT (*catalase*); *Fucus distichus* (rumput laut coklat) memiliki mekanisme enzimatik, yaitu SOD dan non-enzimatik yaitu asam askorbat; dan *Polysiphonia arctica* (Rumput laut merah) menunjukkan aktivitas APX (*Ascorbat peroxidase*) yang tinggi dan kandungan fenol yang tinggi yang dapat beraktivitas sebagai antioksidan. Perbedaan spesies menunjukkan respon yang berbeda terhadap peroksida stress bergantung pada waktu ekspose dan pemberian dosis. Hal yang utama adalah metabolisme oksigen reaktif dapat diimbangi antara produksi dan perlindungan tiap individu.

Pertahanan *C. racemosa* terhadap stress lingkungan dilakukan dengan menghasilkan enzim *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase (CAT). SOD dan CAT merubah radikal bebas ke air dan oksigen molekuler. Kandungan SOD dan



CAT berbeda sesuai musim, tetapi tidak ada korelasi dengan suhu dan radiasi matahari (Klein dan Verlaque, 2008).

2.3 Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Aktif dari Rumput laut *C. racemosa*

Ekstraksi senyawa aktif dari rumput laut dapat menggunakan berbagai pelarut organik. de Souza, *et al.* (2009) melakukan ekstraksi dari rumput laut hijau *Caulerpa racemosa*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa fraksi butanol, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan ekstrak kasar metanol memiliki aktivitas *antinociceptive*. Semua ekstrak yang diberikan secara *oral* dengan dosis 100 mg/kg berat badan menurunkan *noniception* dari asam laktat sebesar 47,39% (fraksi butanol), 70,51% (fraksi kloroform), 76,61 (fraksi etil asetat), dan 72,24% (ekstrak kasar metanol).

Ekstrak metanol *C. racemosa* yang dipartisi *liquid-liquid* didapatkan dua fraksi, dimana fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi melalui uji DPPH dan *reducing power*. Fraksi etil asetat yang dimurnikan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom menggunakan fase gerak kloroform, kloroform:metanol (9:1 v/v), kloroform:metanol (1:1 v/v) dan metanol menghasilkan empat fraksi yang aktif (AEF1-AEF4). Aktivitas antioksidan semua fraksi adalah EAF1>EAF2>EAF4>EAF3. Hasil analisis IR dan HPLC pada fraksi etil asetat menunjukkan keberadaan senyawa fenol, dimana senyawa fenol dengan polaritas sedang yang paling aktif aktivitas antioksidannya (Li, *et al.*, 2012).

Ekstraksi asam lemak *polyacetylenic* dan metabolit sekunder dari *C. racemosa* menggunakan etanol 95% selama tiga kali 24 jam pada suhu ruang.

Ekstrak etanol dipartisi lebih lanjut menggunakan eter, atanol asetat dan n-butanol. Fraksi etanol asetat kemudian dimurnikan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel menghasilkan lima fraksi (Fraksi



A-E). Fraksi B yang dielusi secara bertingkat menggunakan eter/aseton (9,5:0,5) menghasilkan *trans-phytyl acetate*. Fraksi C dielusi dengan petroleum eter/aseton (8:2), dielusi kembali dengan sephadex LH-20 (petroleum eter/kloroform/metanol 2:1:1) dan dielusi kembali dengan tingkatan gradien (petroleum eter/aseton, 8,5:1,5 – 7,5:2,5) menghasilkan *fucosterol*, *clionasterol* dan *cholesterol*. Fraksi D dielusi dengan petroleum eter/aseton (7:3), kemudian petroleum eter/aseton (7,0:3,0) dan dielusi kembali dengan sephadex LH-20 menghasilkan senyawa diterpen linear yang biasa ditemukan pada beberapa alga. Fraksi E dielusi pada kolom silika gel dua kali dan sephadex LH-20 menghasilkan senyawa baru asam lemak minor *polyacetylenic* yang mengindikasikan kemiripan jalur metabolit *C. racemosa* dengan *haplosclerid sponges* (Mao *et al.*, 2011).

Senyawa *Racemosin* A dan B diekstrak dari *C. racemosa* menggunakan etanol 95% dan dipartisi dengan eter, etanol asetat dan butanol dan dikromatografi menggunakan kolom silika gel sampai didapat 5 fraksi (Fraksi A-E). Fraksi B dielusi dengan petroleum eter/aseton (8,5:1,5), kemudian dielusi kembali menggunakan kolom sephadex LH-20 untuk mendapat 7 fraksi (Fraksi B1-B7). Fraksi B7 dimurnikan dengan semi preparatif C_{18} HPLC, dielusi dengan metanol 88% dalam H_2O untuk mendapatkan *Racemosin* A (waktu retensi 9,8 menit) dan *Racemosin* B (waktu retensi 11,2 menit) (Liu *et al.*, 2013).

Raniello *et al.* (2007) mengisolasi *Caulerpin* dan *Caulerpicin* dari *C. racemosa* segar menggunakan pelarut aseton dengan pengadukan dan sonikasi selama 3 menit. Ekstrak aseton dipekatkan dan diekstrak lagi menggunakan dietil eter. Ekstrak dietil eter dimurnikan menggunakan silika gel kolom kromatografi dengan pengelusi gradien petroleum eter/dietil eter menghasilkan empat fraksi. Fraksi 1 dan fraksi 3 dimurnikan menggunakan TLC *caulerpinine* dan *caulerpine*



murni. Fraksi 4 dimunikan menggunakan kromatografi silika gel dengan pengelusi gradien kloroform/metanol menghasilkan campuran caulerpicin.

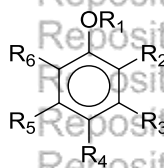
2.4 Fitokimia pada Rumput Laut

2.4.1 Fenolik

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa berasal dari tumbuhan yang mempunyai ciri sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya mereka seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Ditambahkan oleh Castro *et al.* (2006), polifenol banyak digunakan dalam industri makanan sebagai pewarna, bahan tambahan fungsional pada minuman, *dairy product*, permen, roti dan sereal.

Rumput laut dan inveterbrata laut menghasilkan sejumlah besar fenol terhalogenasi. *Bromine-containing phenol* pertama kali ditemukan di rumput laut merah. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa banyak spesies rumput laut merah menghasilkan fenol seperti bromokatekol. Lanosol merupakan bahan yang toksik dihasilkan oleh rumput laut merah dan coklat sedangkan *lanosol methylated* ditemukan pada rumput laut merah. Rumput laut hijau *Ulva lactuca* menghasilkan 2-bromo-, 4-bromo-, 2,4-dibromo dan 2,4,6-tribromofenol. Kandungan bromofenol bervariasi tergantung dari musim, hanya konsentrasi 2,4,6-tribromofenol yang tinggi sepanjang tahun (Dembitsky dan Tolstikov, 2003).

Struktur dasar fenol pada rumput laut dapat dilihat pada Gambar 2.5



Gambar 2.5. Struktur Fenol pada Rumput Laut (Dembitsky dan Tolstikov, 2003)



Hasil penelitian Devi *et al.* (2008) menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara kandungan fenol dengan aktivitas antioksidan dari rumput laut. Fenol pada tanaman umumnya efektif sebagai antioksidan dan *scavenger* radikal bebas. Kandungan fenol yang banyak ditemukan pada rumput laut coklat, merah, dan hijau yang memiliki kapasitas antioksidatif memiliki korelasi dengan kandungan fenolik. Sifat antioksidatif dihasilkan dari kemampuan fenol bertindak sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, *quencher* radikal bebas, dan fenol juga dapat bertindak sebagai pengkelat logam sehingga mencegah fungsi katalitis logam dalam awal proses pembentukan radikal bebas.

Polifenol pada alga disebut juga *phlorotannins* yang berbeda dengan polifenol pada tanaman darat. Polifenol dari tanaman darat diturunkan dari asam galat dan *ellagic acid* tetapi polifenol alga diturunkan dari unit *phloroglucinol* (1,3,5-trihydroxybenzine). *Phlorotannins* terdiri dari molekul yang sangat heterogen (derajat heterogenitas struktur dan polimerisasi) sehingga memiliki aktivitas biologis yang luas. Kandungan *phlorotannins* banyak ditemukan pada rumput laut coklat, yaitu berkisar antara 5 – 15% dari berat kering (Burtin, 2003).

Ekstrak rumput laut *Palmaria palmata* efektif menghambat produksi TBARS (2-thiobarbituric acid reactive substances). Polifenol terdiri dari beberapa kelas, yaitu: flavonoid (flavones, flavonol, flavonoes, flavononols, chalcones, dan flavan-3-ols), lignin, lignin, tannin tokoferol dan asam fenolat. Aktivitas antioksidan polifenol yang didapat dari tanaman memiliki beberapa mekanisme, termasuk *scavenging* spesies oksigen reaktif, penghambatan peroksidasi lemak seperti pengkelat ion logam (Yuan, *et al.*, 2005).

2.4.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok senyawa yang mengandung struktur cincin dan atom nitrogen. Sebagian besar atom nitrogen terdapat di dalam struktur



cincin heterosiklik. Perbedaan kelas alkaloid berdasarkan jalur biosintesisnya.

Alkaloid terdistribusi pada sebagian besar tanaman, khususnya tanaman tingkat tinggi. Alkaloid merupakan bahan aktif penting dari herbal alami dan beberapa senyawanya telah berhasil dikembangkan sebagai obat kemoterapi seperti camptotecin (CPT), suatu inhibitor topoisomerase dan vinblastin yang berinteraksi dengan tubulin (Lu, *et al.*, 2012).

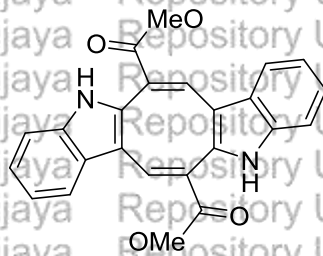
Beberapa alkaloid dari laut memiliki aktivitas. Senyawa alkaloid *pinnaotoxin* dan *pinnamine* dari bivalva *Pinna muricata* sebagai terapi pada penyakit pembuluh darah koroner, angina dan pembengkakan *nonkardiovaskular*. *Norzoanthamine hydrocoride* dari *Zoanthus sp.*, menekan penurunan berat dan kekuatan tulang pada tikus yang osteoporosis sehingga dapat dijadikan kandidat obat osteoporosis. *Aburatubolactam* yang diisolasi dari *Streptomyces sp.*, menghambat pembentukan anion superoksida (Kuramoto, *et al.*, 2004).

Alkaloid pada tanaman laut dibedakan menjadi 3 kelas, yaitu: (1) *phenylethylamine alkaloid*; (2) indol dan halogenasi indol alkaloid; dan (3) alkaloid lain. Alkaloid dari alga laut berhubungan dengan kontaminan. Hordenine merupakan alkaloid pertama yang diisolasi dari laga laut pada tahun 1969 dan sekitar dua ribu alkaloid telah ditemukan saat ini (Guvén, *et al.*, 2010). Alghazeer *et al.* (2013) menyatakan bahwa alkaloid dari beberapa rumput laut hijau, merah, dan coklat dari perairan barat India menunjukkan aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri paling tinggi didapatkan dari rumput laut coklat *Cystoseira barbata* dan *Dictyopteris membranacea*.

Rumput laut hijau memiliki kandungan metabolit sekunder pigmen merah yaitu caulerpin. Caulerpin berperan penting sebagai promotor pertumbuhan. Keberadaan caulerpin dalam bentuk dimer asam indole-3-acylic ditemukan bersifat seperti indole auxin dalam kesehatan pertumbuhan spesies *Caulerpa*. (Nagappan dan Vairappan, 2013). Caulerpin merupakan bisindole



alkaloid yang diisolasi dari rumput laut genus *Caulerpa*. Indole alkaloid memiliki cincin indole dalam strukturnya yang merupakan kelompok besar alkaloid. Hasil uji metode *hot plate* secara *in vitro* pada caulerpin dari genus *Caulerpa* menunjukkan adanya pengurangan rasa sakit dengan dosis 100 $\mu\text{mol/kg}$. Caulerpin juga menunjukkan aktivitas *anti-inflammatory* yang tinggi (de Souza, *et al.*, 2009), sebagai regulator pertumbuhan tanaman (Raub *et al.*, 1987). Gambar struktur Caulerpin dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Struktur Caulerpin, Sumber de Souza *et al.* (2009)

Hasil penelitian Vidal *et al.* (1984) menunjukkan bahwa konsumsi Caulerpin yang diisolasi dari *C. racemosa* dengan dosis 2 g/kg berat badan pada tikus tidak menunjukkan adanya kematian. Berdasarkan riset tersebut, caulerpin dapat digolongkan sebagai obat dengan toksisitas rendah.

Lui, *et al.* (2013) menemukan bisindole alkaloid dari *C. racemosa*. Bisindole alkaloid tersebut adalah *Racemosin A* dan *Racemosin B*. *Racemosin A* merupakan bisindole alkaloid yang unik dengan kerangka utama *seco-indolo(3,2-a)carbazole* dengan dua unit indolenone yang keduanya berkonjugasi dengan metil propinoate. Senyawa ini secara signifikan melemahkan A β 2(5-25) yang menginduksi kerusakan sel SH-SY2/5Y dengan peningkatan 14,6% viabilitas sel pada konsentrasi 10 μM . *Racemosin B* diisolasi bersama dengan Caulerpin. Yang, *et al.* (2014) juga mengidentifikasi *Racemosin C*, suatu bisindole alkaloid yang memiliki aktivitas penghambatan pada PTP1B dari rumput laut hijau *C. racemosa*.



2.4.3 Terpenoid

Terpenoid atau yang biasa disebut isoprenoid merupakan kelompok besar bahan organik alami yang mirip dengan terpen. Terpenoid diturunkan dari lima karbon unit isoprena yang dimodifikasi dalam berbagai jalur. Sebagian besar merupakan struktur multisiklik yang berbeda satu dengan yang lainnya tidak hanya dari gugus fungsionalnya tetapi juga rantai karbon dasarnya. Lipid ini dapat ditemukan dalam semua kelas makhluk hidup dan merupakan kelompok senyawa alami terbesar. Terpen merupakan hidrokarbon yang dihasilkan dari kombinasi beberapa unit isoprena (Yermakov, *et al.*, 2010). Terpenoid dibagi menjadi beberapa kelas, yaitu monoterpen (*carvone*, *geraniol*, *d-limonene*, dan *perillyl alcohol*), diterpen (*retinol*, dan *trans-retnolic acid*), triterpen (*betulinic acid* (BA), *lupeole elinic acid*, dan *ursolic acid* (UA)), dan tetraterpen (α -*carotene*, β -*carotene*, lutein dan likopen) (Thoppil dan Bhisaye, 2011).

Hasil penelitian de Oliveira *et al.* (2012) menemukan 34 profil *transcriptomic* rumput laut merah *Laurencia dendroidea* menunjukkan urutan ekspresi gen yang berhubungan dengan biosintesa *backbone* terpenoid. Biosintesis *backbone* terpenoid merupakan prekursor untuk sintesis berbagai komponen yang berperan terhadap fisiologi tanaman dan alga.

2.4.4 Flavonoid

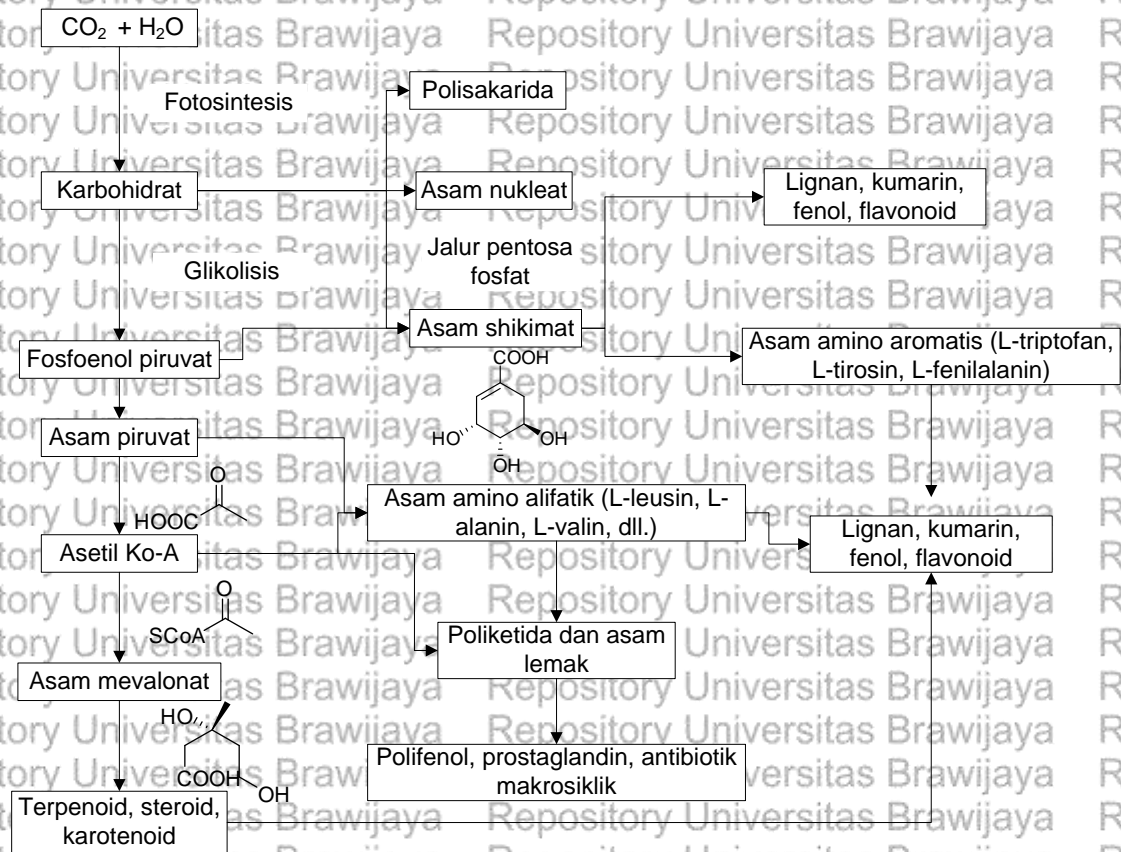
Flavonoid merupakan kelompok senyawa alami yang banyak ditemukan pada tanaman dengan berbagai struktur fenol. Flavonoid alami diketahui memiliki manfaat kesehatan (Noori, *et al.*, 2009). Flavonoid dibentuk dari rangkaian kondensasi asam *hydroxynaminic* (*B-ring* dan atom karbon 2,3 dan 4 dari *C-ring*) dan residu malonil (*A-ring*) sehingga membentuk stuktur dasar C₆ – C₃ – C₆ (Cuyckens dan Claeys, 2004).



Menurut Sarojini, *et al.* (2012), kandungan flavonoid yang diperoleh dari pantai India untuk *Chlorophyceae* berkisar antara 19-24 mg/g, *Phaeophyceae* 26,80 mg/g; *Rhodophyceae* dan 12,12 mg/g. Hasil penelitian Meenakshi, *et al.* (2009) menunjukkan bahwa kandungan flavonoid dari ekstrak methanol *Sargassum wightii* 2,02 mg/g dan *Ulva lactuca* 1,35 mg/g.

2.5. Jalur Biosintesa Senyawa Metabolit Sekunder pada Tanaman

Biosintesa metabolit sekunder pada tanaman diturunkan dari jalur biosintesa metabolit primer. Diantaranya adalah siklus TCA (*Tricarboxylic Acid Cycle*), jalur MEP (*Methylerythrol Phosphate*), jalur shikimat dan mevalonat (Anulika, *et al.*, 2016). Senyawa-senyawa terpenoid disintesa melalui jalur mevalonat dari prosesor asetil KoA. Senyawa fenol dan aromatis dibentuk melalui jalur asam shikimat atau jalur mevalonat. Senyawa metabolit sekunder yang mengandung nitrogen seperti alkaloid disintesa utamanya dari asam amino alifatik yang diturunkan dari jalur siklus TCA atau asam amino aromatis dari jalur shikimat (Parsaeimehr, *et al.*, 2011). Biosintesa metabolit sekunder secara umum pada tanaman digambarkan seperti pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7. Jalur Umum Biosintesa Metabolit Sekunder Melalui Asetil KoA, Asam shikimat dan Asam Mevalonat (Tolonen, 2003).

2.6 Analisis Antioksidan

2.6.1 DPPH

Radikal stabil 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) berwarna ungu sekarang digunakan sebagai standar dan reagen berwarna untuk proses redoks.

Reaksi DPPH dengan spesies oksigen aktif (hidrogen peroksida, tert-butyl peroksida tert-butilhidroksiperoksida, sodium peroksida, potasium superoksida, hidroksil radikal, tempo free radical, galvinoxyl free radical, Fremy's salt, asam m-klorobenzoat, potasium hidroksida dan sodium peroksinitrit menunjukkan bahwa semua reaksi berhubungan dengan hydrazine DPPH-H sebagai produk utama (Ionita, 2005).



Menurut Abderrahim, *et al.* (2013) pengujian menggunakan DPPH telah banyak dilakukan menggunakan pelarut organik. Reaksi dapat juga terjadi dengan cepat pada medium *semi-aqueous*, pada pH fisiologis sehingga dapat diperkirakan sifat antioksidan secara *in vivo*. Pengujian beberapa senyawa murni dan bahan pangan pada medium buffer menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dibandingkan dengan pengujian DPPH klasik. Pengujian aktivitas antioksidan *Sargassum* sp. dari perairan India menggunakan DPPH menghasilkan rata-rata 17,067% pada konsentrasi 20-800 µg/ml (Patra, *et al.*, 200).

Ekstrak kasar etanol *Caulerpa racemosa* yang dimurnikan lebih lanjut menggunakan etil asetat dan menghasilkan dua fraksi yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan DPPH. Ekstrak kasar etanol dan fraksinya menunjukkan aktivitas pengambatan terhadap radikal DPPH. Aktivitas antioksidan ekstrak kasar etanol dan fraksinya menunjukkan aktivitas yang lebih rendah daripada asam askorbat pada konsentrasi 0-229 µg/mL (Li, *et al.*, 2012).

2.6.2 Reducing Power (Daya Reduksi)

Nilai FRAP diperoleh dengan membandingkan perubahan absorbansi pada 593 nm pada campuran senyawa yang mengandung ion Ferro pada konsentrasi yang telah diketahui. Perubahan absoransi yang linear pada rentang konsentrasi campuran antioksidan yang luas, termasuk plasma, dan dengan larutan yang mengandung antioksidan murni (Benzie dan Strain, 1996).

Beberapa spesies rumput laut memiliki kemampuan mereduksi ion ferro. *C. racemosa* memiliki reducing power sebesar 0,737 mg GAE/g, *Kappaphycus alvarezzi* 0,561 mgGAE/g, dan *Padina antillarum* 15,7 mg GAE/g. (Chew *et al.*, 2008). Nilai daya reduksi pada *Ascophyllum nodosum* sebesar 81,4 µM asam askorbat, *Laminaria hyperborica* sebesar 25,6 µM asam askorbat, *Laminaria*



digitata sebesar 60,5 μM asam askorbat, *Himantalia elongata* 46,7 μM asam askorbat, *Pelvetia canaliculata* 57,7 μM asam askorbat, *Fucus vesiculosus* sebesar 110 μM asam askorbat, *Shaccarina latissima* sebesar 17,2 μM asam askorbat, dan *Fucus serratus* sebesar 113 μM asam askorbat (Sullivan, *et al.*, 2009).

Hasil penelitian Li, *et al.* (2012) menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol rumput laut hijau *C. racemosa* menunjukkan aktivitas *reducing power* yang bergantung pada konsentrasi masing-masing. Nilai *reducing power* rumput laut hijau tersebut masih lebih rendah dibandingkan asam askorbat.

Penelitian Rajauria *et al.* (2012) menunjukkan aktivitas *reducing power* rumput laut coklat *Himantalia Elongata* yang hasilnya diekspresikan sebagai mgTE (*Trolox equivalent*)/g ekstrak kering. *Reducing power* bekisar antara 4,7-11,7 mg TE/g yang didapat dari berbagai konsentrasi metanol dalam air. Aktivitas penghambatan paling tinggi didapatkan pada konsentrasi metanol 60% dan paling rendah pada konsentrasi metanol 100%.

2.7 Identifikasi Senyawa

2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan yang banyak digunakan untuk pemisahan senyawa yang larut dalam lipid, yaitu lipid, steroid, karotenoid, kuinon sederhana dan klorofil. KLT banyak digunakan karena sangat serbaguna. Fase diam yang berbeda-beda dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga lain dan digunakan untuk kromatografi (Harborne, 1987).

Kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan satu set alat gelas, plastik atau aluminium foil yang dilapisi dengan lapisan tipis bahan penjerap. Lapisan yang digunakan biasanya silika gel, aluminium oksida atau selulosa (*blotter paper*). Lapisan ini disebut fase diam. Pelarut atau campuran pelarut (disebut



fase gerak) akan naik pada pelat melalui pergerakan kapiler. Pemisahan didapatkan karena bahan yang dipisahkan naik pada pelat KLT dengan jarak yang berbeda. KLT dapat digunakan untuk mengetahui reaksi yang terjadi, mengidentifikasi senyawa pada bahan, menentukan kemurnian bahan. Pemisahan terjadi disebabkan perbedaan bahan terlarut dan fase gerak untuk bereaksi dengan fase diam. Silika gel yang merupakan bahan polar digunakan sebagai fase diam pada fase normal. Bahan yang lebih polar lebih kuat berikatan dengan silika, sehingga lebih mudah melepaskan fase gerak (Belle dan Khale, 2011).

Hasil analisis TLC pada rumput laut hijau *Ulva lactuca* dari senyawa yang memiliki r_f 0,57 dan 0,68 memiliki aktivitas penghambatan terhadap *E. coli*. (Alghzeer, *et al.*, 2013).

2.7.2 Spektrofotometri UV-Vis

Serapan spektrum tumbuhan dapat dianalisis dalam larutan yang sangat encer dengan pembandingan blanko pelarut menggunakan spektrofotometer. Senyawa yang tidak berwarna diukur pada 200-400 nm, senyawa yang berwarna pada 200-700 nm. Setiap senyawa memiliki serapan (kerapatan optik) maksimum dan minimum yang khas dan mempunyai absorptivitas molar (ϵ) (Harborne, 1987).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan teknik yang banyak digunakan pada analisis bahan obat. Teknik ini melibatkan pengukuran jumlah radiasi ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap oleh bahan dalam suatu larutan. Analisis kualitatif senyawa organik dapat dilakukan dengan spektrofotometer dan analisis kuantitatif digunakan untuk jumlah molekul tertentu yang menyerap radiasi. Hukum dasar perhitungan kuantitatif analisis spektrofotometer adalah hukum Lambert-Beer (Behera *et al.*, 2012).



Serapan spektrum UV mengkarakterisasi beberapa gugus atau kromatofor tertentu. Spektrum UV Caulerprenylol a menunjukkan absorpsi maksimum yang mengkarakter adanya cincin benzen dengan peningkatan konjugasi pada 216, 289, 332 nm. Spektrum UV Caulerprenylol b menunjukkan serapan pada 202, 236, dan 299 yang mengkarakterisasi multisubstitusi sebagian benzene (Liu, *et al.* 2013^b). *Racemosin A* menunjukkan spektrum UV maksimum pada 225, 273, dan 342 nm yang menunjukkan suatu kromofor aromatis yang luas. *Racemosin B* menunjukkan serapan spektrum UV yang hampir sama dengan *Racemosin A*, yaitu pada 217, 238, 284 dan 355 nm (Liu *et al.*, 2013^a).

2.7.3 Spektroskopi Massa

Spektroskopi massa digunakan untuk mengukur rasio massa dan muatan (m/z) dan kelimpahan ion yang bergerak pada kecepatan tinggi dalam keadaan vakum. Penelitian terakhir dalam spektroskopi massa menunjukkan kemampuan bahwa analisis spektrum massa merupakan analisis struktur dan komposisi bahan yang paling canggih (Guilhaus, 1995).

Hasil analisis spektroskopi massa beberapa ekstrak rumput laut hijau (*Caulerpa racemosa*, *Caulerpa scalpelliformis*, dan *Caulerpa taxifolia*) menunjukkan bahwa rumput laut hijau memiliki kandungan asam lemak jenuh dan tidak jenuh. Asam lemak utama pada beberapa spesies *Caulerpa* adalah asam palmitat. Rumput laut hijau umumnya rendah kandungan asam lemak dengan rantai karbon lebih dari 18. Asam lemak jenuh *Caulerpa* memiliki berat molekul yang rendah dibanding tanaman darat (Shameel dan Khan, 1989).

Hasil analisis spektroskopi massa Izreen dan Ratnam (2011) pada senyawa volatil rumput laut hijau *Caulerpa lentifera* menunjukkan terdapat beberapa jenis golongan senyawa. Hidrokarbon merupakan golongan senyawa



paling banyak (55%), aldehid (11%), keton (6%), ester (8%), alkohol (1%), asam organik (8%), aromatik (2%), halogen (2%), dan senyawa lainnya (7%).

2.7.4 *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Harbourne (1973) menjelaskan bahwa, spektrum inframerah senyawa tumbuhan dapat diukur dengan spektrofotometri inframerah yang merekam secara otomatis dalam bentuk larutan, bentuk gerusan minyak nujol, atau bentuk padat yang dicampur dengan kalium bromida. Kenyataan bahwa banyak gugus fungsi dapat diidentifikasi dengan menggunakan frekwensi getaran khususnya menyebabkan spektrofotometri inframerah merupakan cara paling sederhana dan paling terandalkan dalam menentukan golongan senyawa.

Hasil penelitian Meenakshi *et al.* (2009) menunjukkan spektrum asam galat sebagai standar fenol terdapat 13 puncak utama yaitu pada bilangan gelombang 3407,05; 2960,40; 2931,51; 2865,75; 1639,70; 1509,58; 1420,99; 1153,78; 1097,08; 777,58; 663,54; 601,28; dan 462,89 cm^{-1} .

Spektrum inframerah *Caulerpa sertuloroides* berada pada daerah 400 – 4000 cm^{-1} yang aktif sebagai antibakteri. Hasil spektrum FTIR menunjukkan keberadaan C=N *stretch*, C-H *stretch* dan ikatan hidrogen, C-O dan N-O yang menggambarkan keberadaan *nitril*, aldehid dan fenol atau gugus alkohol pada ekstrak kasar (Maheswaran, *et al.*, 2013).

Beberapa senyawa baru menunjukkan keberadaan gugus aktif yang diketahui dari spektrum inframerahnya. Spektrum infra merah *Caulerprenylol* menunjukkan pita absorpsi untuk gugus hidroksil (3385 cm^{-1}) dan cincin benzene (1601, 1487, dan 1310 cm^{-1}). Spektrum inframerah *Caulerprenylol* B menunjukkan pita absorpsi untuk gugus hidroksi (3350 cm^{-1}) dan cincin aromatis (1598, 1483 dan 1305 cm^{-1}) (Liu, *et al.* 2013^b). *Racemosin A* menunjukkan pita spektrum inframerah pada 3394, 1697, 1665, dan 1620 cm^{-1} yang masing-masing menunjukkan keberadaan gugus fungsi NH, dan tiga karbonil

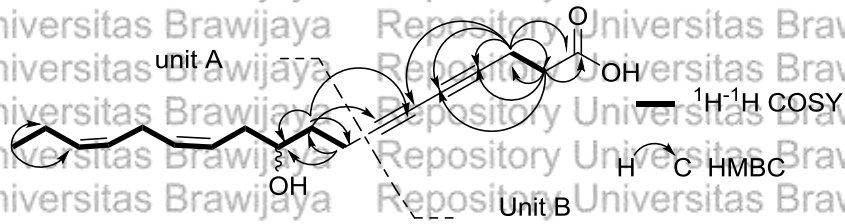


terkonjugasi (ester, keton, laktam). Spektrum inframerah *Racemosin B* menunjukkan hanya ada satu ester karbonil (1696 cm^{-1}) dan NH (3409 cm^{-1}) (Liu *et al.*, 2013^a).

2.7.5 Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

NMR ditemukan oleh Felix Bloch dan Edward Purcell tahun 1946. Inti magnet tertentu dalam medan magnet seperti ^1H , ^{13}C dan ^{15}N , dapat meniru putaran inti dari energi yang berbeda, dan dapat diinduksi untuk bergerak berlawanan arah diantara inti-inti tersebut menggunakan medan magnet yang dikenai. Lingkungan kimia masing-masing inti magnetik dalam molekul menentukan sifat NMR, seperti perbedaan orientasi energi sehingga frekwensi inti menyerap energi (frekwensi resonansinya). Inti magnet masing-masing medan yang diaplikasikan melalui ikatan kimia (*spin-spin coupling*) dan melewati jarak pendek melalui *dipole-dipole coupling* yang dapat dimanfaatkan untuk memberikan sinyal resonansi pada inti tertentu dalam suatu struktur dan menghasilkan jarak pemisahannya (Pellecchia, *et al.*, 2002). Resonansi magnetik inti (NMR) dalam cairan dan padatan merupakan deteksi penting dengan cara merekam jaringan medan magnet dipolar di luar putaran polaritas sampel, tetapi rekaman sebagian besar medan magnet itu sendiri hanya memberikan sedikit informasi tentang sampel (Savukov, *et al.*, 2006).

Asam lemak *polyacetylenic* baru yang ditemukan oleh Mao *et al.* (2011) yaitu (8E,12Z,15Z)-10-hydroxy-8,12,15-octadecatrien-4,6-dienoic acid dideteksi menggunakan spektroskopi NMR. Asam lemak *Polyacetylenic* dari *C. racemosa* lengkap dengan struktur hasil identifikasi dengan NMR diperlihatkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.8. Korelasi COSY dan HMBC Asam Lemak Poliasetilenik (Sumber: Mao et al., 2011)

Struktur baru *prenylated para-xylene* dari *C. racemosa* diidentifikasi menggunakan NMR oleh Liu et al. (2013)^b. Struktur tersebut adalah *Caulerprenyol A* dan *B*. *Caulerprenyol A* memiliki rumus molekul $C_{18}H_{26}O_2$ yang diidentifikasi dengan HREIMS kombinasi dengan ^{13}C NMR (DEPT).

Caulerprenyol B memiliki rumus formula yang sama dengan *Caulerprenyol A*.

Bisindole alkaloid baru dari *C. racemosa* yang ditemukan oleh Liu et al. (2013)^b yaitu *Racemosin A* ($C_{20}H_{14}N_2O_4$) dan *Racemosin B* ($C_{20}H_{14}N_2O_2$) yang diidentifikasi dengan HRESIMS. Spektrum ^{13}C NMR *Racemosin A* menunjukkan terdapat 20 sinyal berdasarkan analisis DEPT. Hasil penelusuran senyawa dari

C. racemosa disajikan pada Lampiran 30.



3 KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Landasan Teori

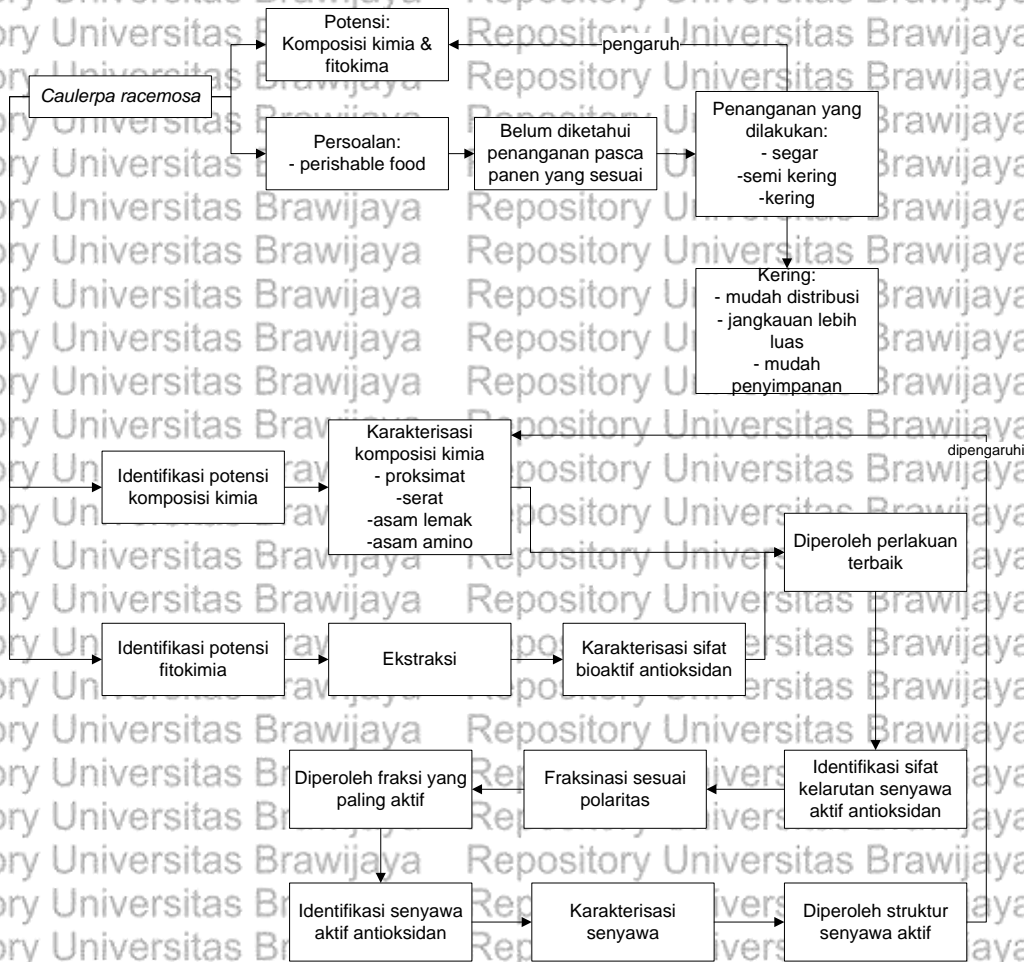
Caulerpa racemosa, umumnya disebut anggur laut, *sea grapes*, atau *sensu lato* merupakan rumput laut yang banyak dijumpai pada perairan tropis hingga sub tropis (Verlaque, *et al.* 2003) dan banyak dikonsumsi oleh penduduk negara-negara Asia Tenggara dan Jepang. Konsumsi *C. racemosa* dalam bentuk segar sebagai salad dan sayuran banyak disukai karena kelezatan rasanya, warnanya yang cerah, dan teksturnya yang lembut mirip anggur (Nagappan dan Vairappan, 2013). Akan tetapi, konsumsi dalam bentuk segar membuat distribusi *C. racemosa* yang tidak dapat didistribusikan lebih jauh. Menurut Morris, *et al.* (2014) kerusakan selama pemanenan membuat *C. racemosa* tidak dapat bertahan lebih dari 3 hari dan harus segera didistribusikan.

Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penanganan awal pada rumput laut *C. racemosa* dengan cara pengeringan untuk mengurangi kadar air. Pengeringan pada rumput laut dapat mengurangi biaya transportasi dan memperpanjang umur simpan (Djaeni dan Sari, 2015). Pengurangan kadar air juga berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif. Hasil penelitian Gupta *et al.* (2011) menunjukkan bahwa suhu pengeringan berpengaruh terhadap kandungan fitokimia rumput laut. Pengeringan pada 25°C menyebabkan penurunan kadar fenol dan flavonoid sebesar 49 – 51%, tetapi seiring dengan naiknya suhu pengeringan, penurunan kadar fenol dan flavonoid menurun. Kandungan fitokimia meningkat pada suhu 30 dan 40°C ketika kandungan air berkurang 50% yang mengindikasikan bahwa perlakuan semi kering lebih banyak mengandung nutrisi dari pada segar sehingga dapat dijadikan perlakuan awal untuk pengolahan rumput laut. Menurut Rajauria *et al.* (2010) pemanasan pada suhu 95°C meningkatkan total fenol 1,6-1,9 kali dan total tannin 1,3-2,6 kali. Total



flavonoid meningkat 1,6-3,3 kali dan total gula meningkat 1,9-4,3 kali pada suhu 85°C.

Penelitian sumber senyawa antioksidan alami saat ini banyak dikembangkan. Hal ini dikarenakan banyak penelitian yang mengungkapkan efek merugikan dari antioksidan sintetis seperti toksisitas dan karsinogenisitas, sehingga diperlukan pencarian sumber antioksidan baru dari bahan alam (Li, *et al.* 2012). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut, khususnya *C. racemosa* merupakan sumber antioksidan alami (Chew, *et al.*, 2008; Matanjun, *et al.*, 2009). *C. racemosa* juga merupakan sumber zat bioaktif yang kaya struktur baru dan aktivitas yang signifikan. Beberapa senyawa murni dari *C. racemosa* telah diidentifikasi. Caulerprenylol A dan B menunjukkan aktivitas sebagai antifungi (Liu *et al.*, 2013^b). Asam lemak *polyactilenic* dan beberapa metabolit sekunder dari golongan diterpen dan sterol telah diidentifikasi oleh (Mao *et al.*, 2011). Dua bisindole alkaloid, Racemosin A dan B juga telah diidentifikasi oleh (Liu *et al.*, 2013^a). Keberadaan metabolit sekunder pada *C. racemosa* ini tidak dapat terlepas dari keberadaan metabolit primer, khususnya asam amino pembentuk protein, asam lemak, dan glukosa dari karbohidrat. Berdasarkan uraian di atas, maka *C. racemosa* dapat dikembangkan sebagai sumber bioaktif antioksidan pangan dari laut, sehingga diperlukan kajian lebih dalam pada aktivitas antioksidan dan model struktur senyawa yang berperan terhadap aktivitas antioksidan *C. racemosa*. Kerangka Konsep Penelitian ini disajikan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Kerangka Operasional dan Variabel Pengukuran

Rumput laut *C. racemosa* diambil dari perairan di Kepulauan Talango, Sumenep, Madura. Rumput laut diambil pada kedalaman 5 meter saat surut terendah. Rumput laut dibersihkan dari pasir dan *epiphyte* menggunakan air kran. Rumput laut dibagi menjadi tiga bagian, yaitu rumput laut segar (kadar air 90%), rumput laut semi kering yang dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 2 hari (kadar air 53,38%) dan rumput laut kering yang dikeringkan menggunakan pengering kabinet selama 24 jam pada suhu 60°C (kadar air 11,44%). Masing-masing bagian rumput laut tersebut dilakukan analisis kandungan gizi, serat, asam lemak dan asam amino.



Rumput laut dieskrak menggunakan metode maserasi karena masih belum diketahui karakteristik senyawa dalam rumput laut. Ekstraksi dengan pelarut methanol dilakukan beberapa kali sampai mendapat ekstrak yang bening sehingga diharapkan ekstraksi dilakukan secara optimal. Masing-masing ekstrak dari perlakuan awal yang berbeda akan dipartisi menggunakan beberapa pelarut. Ekstrak dipartisi menggunakan pelarut heksana untuk mendapatkan fraksi non-polar. Fraksi yang lebih polar kemudian dipartisi lagi dengan klorofom untuk mendapat fraksi klorofom. Fraksi yang lebih polar selanjutnya difraksinasi kembali menggunakan etil asetat sehingga didapatkan fraksi etil asetat. Fraksi yang lebih polar kemudian difraksinasi dengan metanol. Penggunaan beberapa pelarut yang berbeda untuk partisi tersebut dilakukan untuk mengekstrak senyawa dengan polaritas yang berbeda. Prinsip partisi adalah untuk mendapatkan senyawa yang memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut dengan kaidah *like dissolve like*. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa ekstraksi dengan polaritas pelarut berbeda menghasilkan ekstrak yang positif golongan senyawa yang berbeda.

Hasil masing-masing ekstrak selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator dengan suhu 40°C. Penggunaan suhu 40°C untuk menghindari rusaknya senyawa pada ekstrak rumput laut akibat pengaruh suhu.

Pemekatan menggunakan pompa vakum untuk menghindari rusaknya ekstrak akibat pengaruh udara serta untuk mempercepat proses pemekatan karena tekanan yang lebih rendah.

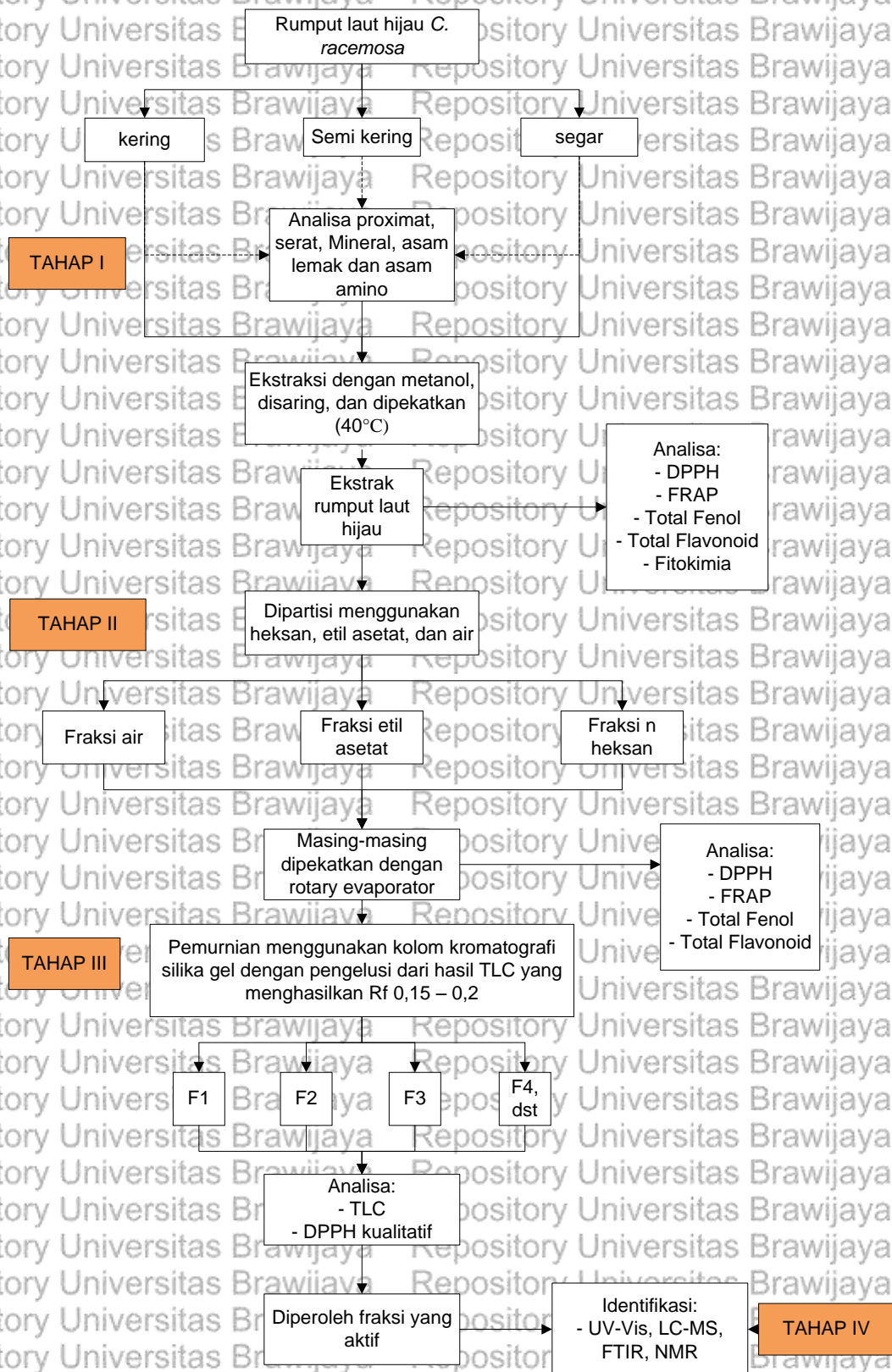
Fraksi yang paling aktif akan dimurnikan lebih lanjut menggunakan KLT dan kolom kromatografi. Masing-masing fraksi yang ditampung dianalisis aktivitas antioksidannya. Fraksi yang paling aktif diidentifikasi lebih lanjut menggunakan UV-Vis, FTIR, LC-MS, dan NMR. Kerangka Operasional dan Variabel Pengukuran dapat dilihat pada Gambar 3.2.



3.3 Hipotesis

Hipotesa dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diduga proses pengeringan pada rumput laut berpengaruh terhadap kandungan komposisi kimia rumput laut hijau *C. racemosa*.
2. Diduga proses pengeringan pada rumput laut hijau *C. racemosa* berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan rumput laut hijau *C. racemosa*.
3. Diduga perbedaan polaritas pelarut menghasilkan aktifitas antioksidan yang berbeda.
4. Diduga struktur isolat yang aktif memiliki gugus aktif antioksidan.



Gambar 3.2. Kerangka Operasional dan Variabel Pengukuran



4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2014 – April 2017. Ekstraksi dan analisis fitokimia rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* dilakukan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Isolasi dilakukan di Laboratorium Pascasarjana Kimia Organik Universitas Padjadjaran. Identifikasi LC-MS dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong. Identifikasi FTIR dilakukan di laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Identifikasi Spektroskopi UV di Unit Pelayanan Uji Universitas Airlangga dan identifikasi NMR dilakukan di Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* yang diperoleh dari kepulauan Talango, Sumenep, Madura. Jawa Timur dengan posisi kordinat $07^{\circ} 05' 21,5''$ LS dan $113^{\circ} 56' 307''$ BT. Rumput laut ini diambil pada bulan Desember 2014 dengan kedalaman 5 meter saat surut terendah. Bahan kimia yang digunakan adalah etil asetat, metanol, heksana, DPPH, aquades, asam galat, reagen Folin-Ciocalteu, aseton, *Potassium hexacyanoferrate*.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *rotary vacuum evaporator* (Buchi Switzerland, R 200), timbangan digital (denver M-310), spektrofotometer UV, vortex (Hettich EBA-8), *cabinet dryer*, blender (Miyako BL-101 PL), *hot plate stirrer* (Labinco L-32), *sentrifuge*, kromatografi cair kinerja tinggi spektroskopi massa, alat FTIR (FTIR-84005 shimadzu), LC-MS (Mariner Biospectrometry), LC (Hitachi L 6200), bola hisap, *homogenizer*, dan peralatan gelas.



4.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan 4 Tahap. Penelitian Tahap 1 dilakukan untuk mengetahui kandungan nilai nutrisi dari beberapa perlakuan, yaitu segar, semi kering dan kering. Tahap 2 dilakukan untuk mengetahui kandungan fitokimia bahan dan aktivitas antioksidan pada beberapa kondisi ekstraksi, yaitu segar, semi-kering, dan kering. Metode penelitian tahap 1 dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Penelitian tahap 3 yang akan dilakukan untuk pemisahan masing-masing ekstrak sesuai yang polaritas masing-masing. Metode yang digunakan pada penelitian tahap 3 menggunakan metode deskriptif. Penelitian tahap 4 dilakukan untuk isolasi senyawa aktif dari rumput laut *C. racemosa*.

4.3.1 Penelitian Tahap 1

Penelitian tahap 1 dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan nilai nutrisi dari rumput laut segar, semi kering dan kering. Rumput laut dianalisis protein, lemak, karbohidrat, mineral. Analisis juga dilakukan untuk kandungan serat, asam amino dan asam lemak.

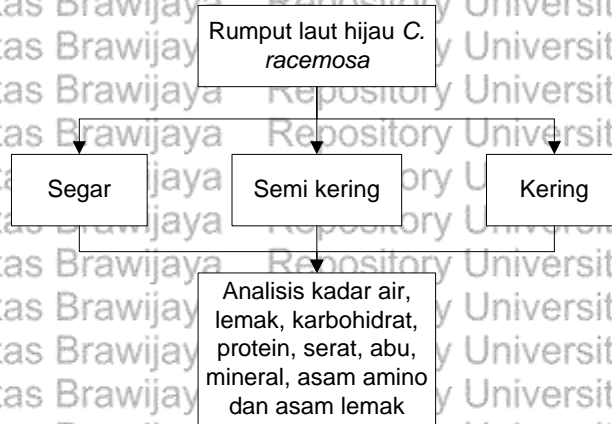
4.3.1.1 Pelaksanaan Penelitian Tahap 1

Rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* segar dicuci sampai bersih dan dibersihkan dari *epifit* dan rumput laut lain yang menempel. Rumput laut dipisahkan menjadi 3 bagian. Bagian pertama adalah rumput laut segar (de Souza, *et al.*, 2009), bagian kedua rumput laut dikeringkan di pengering cabinet suhu 50°C selama 6 jam dan bagian ketiga dikeringkan dalam *cabinet dryer* selama ± 24 jam pada suhu $\pm 50^\circ\text{C}$ (Hammed, *et al.*, 2013). Masing-masing rumput laut dianalisis kandungan kadar air, protein, lemak, karbohidrat, vitamin, mineral, serat, asam amino dan asam lemak. Diagram alir Penelitian Tahap 1 dapat dilihat pada Gambar 4.1



4.3.1.2. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga kali ulangan. Data kadar air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dari masing-masing perlakuan rumput laut dilakukan uji BNT menggunakan software *Minitab 16*. $P < 0,05$ digunakan sebagai uji korelasi diantara rata-rata yang signifikan. Metode untuk analisis asam lemak dan asam amino dilakukan secara deskriptif



Gambar 4.1. Diagram Alir Penelitian Tahap 1

4.3.2 Penelitian Tahap 2

Penelitian tahap 1 dilakukan untuk menentukan perlakuan rumput laut (kering, semi-kering, segar). Hasil ekstrak kemudian dianalisis aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, *reducing power*, total fenol, dan total flavonoid.

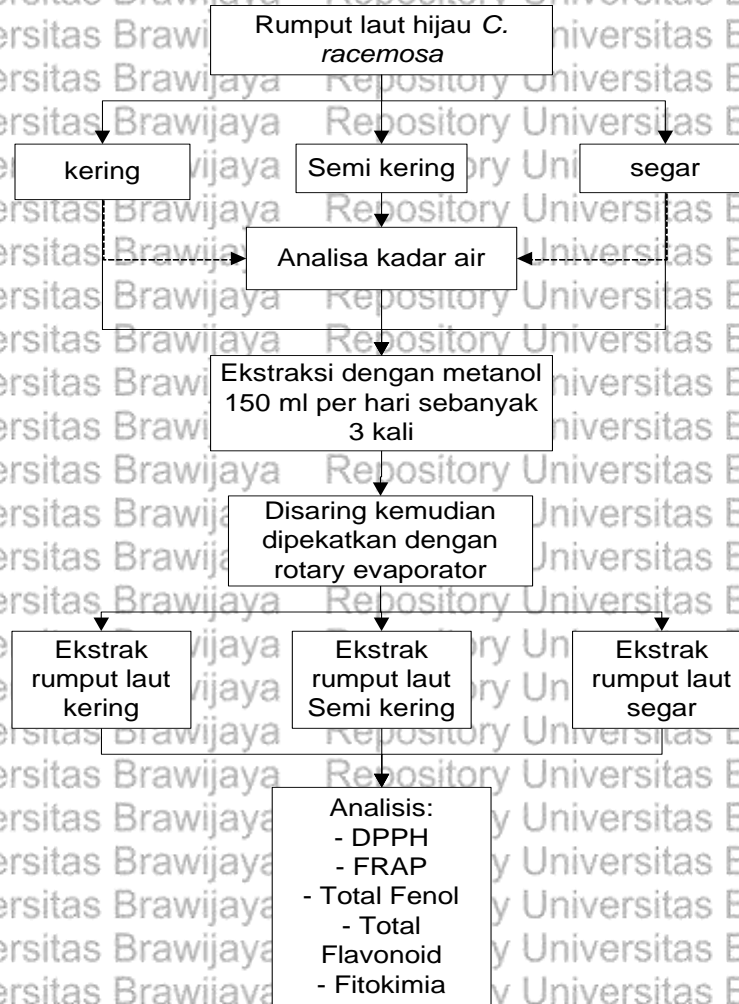
4.3.2.1 Pelaksanaan Penelitian Tahap 2

Rumput laut diambil sesuai kadar air masing-masing rumput laut (kering, semi-kering, dan segar). Masing-masing diambil 15 gram rumput laut kering, 70 gram rumput laut semi kering, dan 133 gram rumput laut segar. Ekstraksi menggunakan pelarut metanol 150 mL. Hasil ekstraksi menggunakan metanol dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil ekstraksi dianalisis aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, *reducing power*, total fenol,

total, flavonoid, dan fitokimia. Prosedur penelitian tahap 2 dapat dilihat pada Gambar 4.2.

4.3.2.2 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga kali ulangan. Data dari hasil ekstrak metanol masing-masing perlakuan rumput laut dilakukan uji BNT menggunakan software *Minitab 16*. $P < 0,05$ digunakan sebagai uji korelasi diantara rata-rata yang signifikan. Gambar 4.2. menunjukkan bagan diagram alir penelitian Tahap 2.

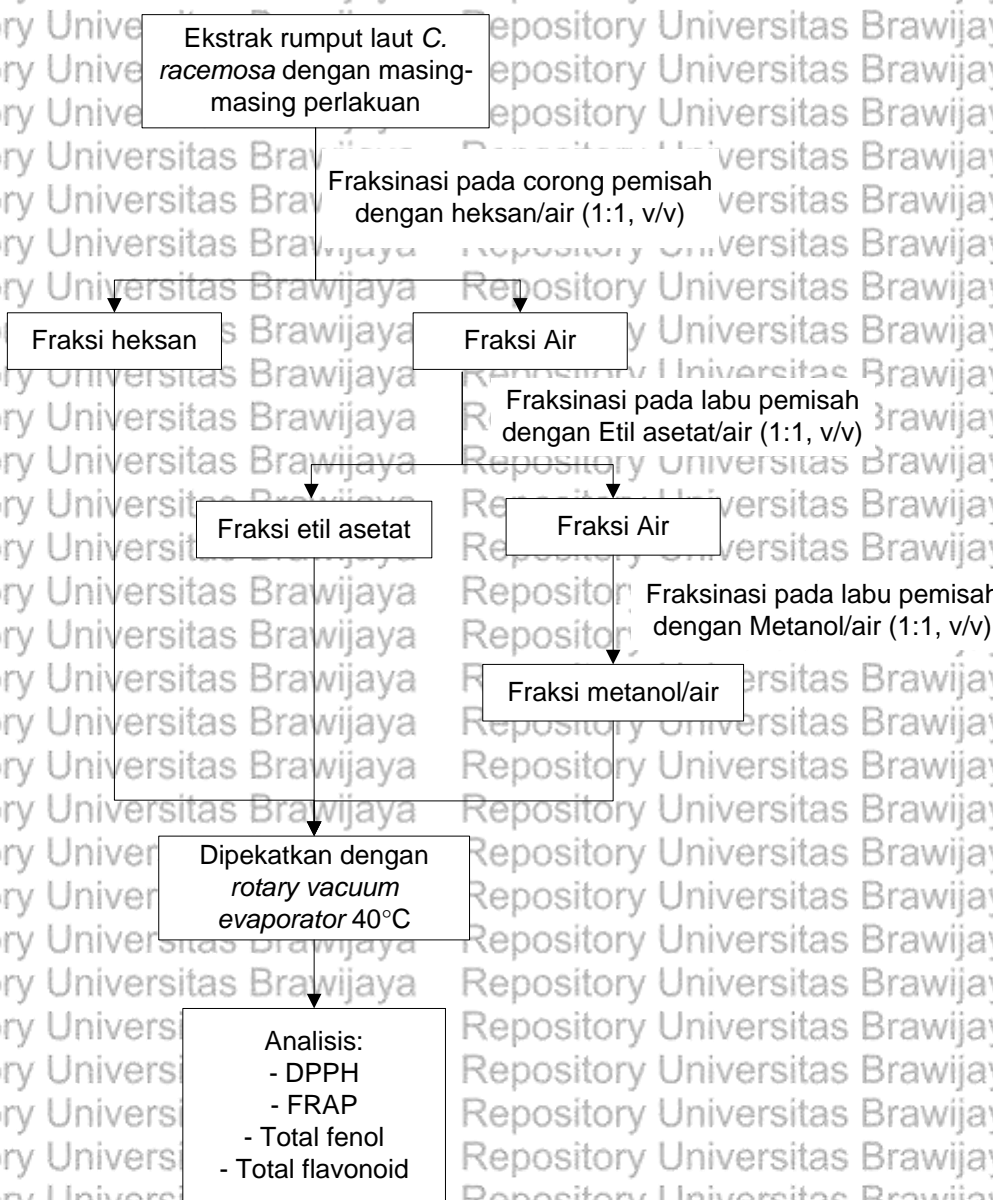


Gambar 4.2. Diagram Alir Penelitian Tahap 2



4.3.3 Penelitian Tahap 3

Penelitian tahap 3 dilakukan untuk mengetahui fraksi yang paling aktif. Ekstrak *C. racemosa* kering digunakan untuk difraksinasi lebih lanjut. Hasil fraksinasi dari fraksi air, etil asetat, dan heksana dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, *Reducing Power*, total fenol, total flavonoid dan TLC.



Gambar 4.3. Diagram Alir Penelitian Tahap 3



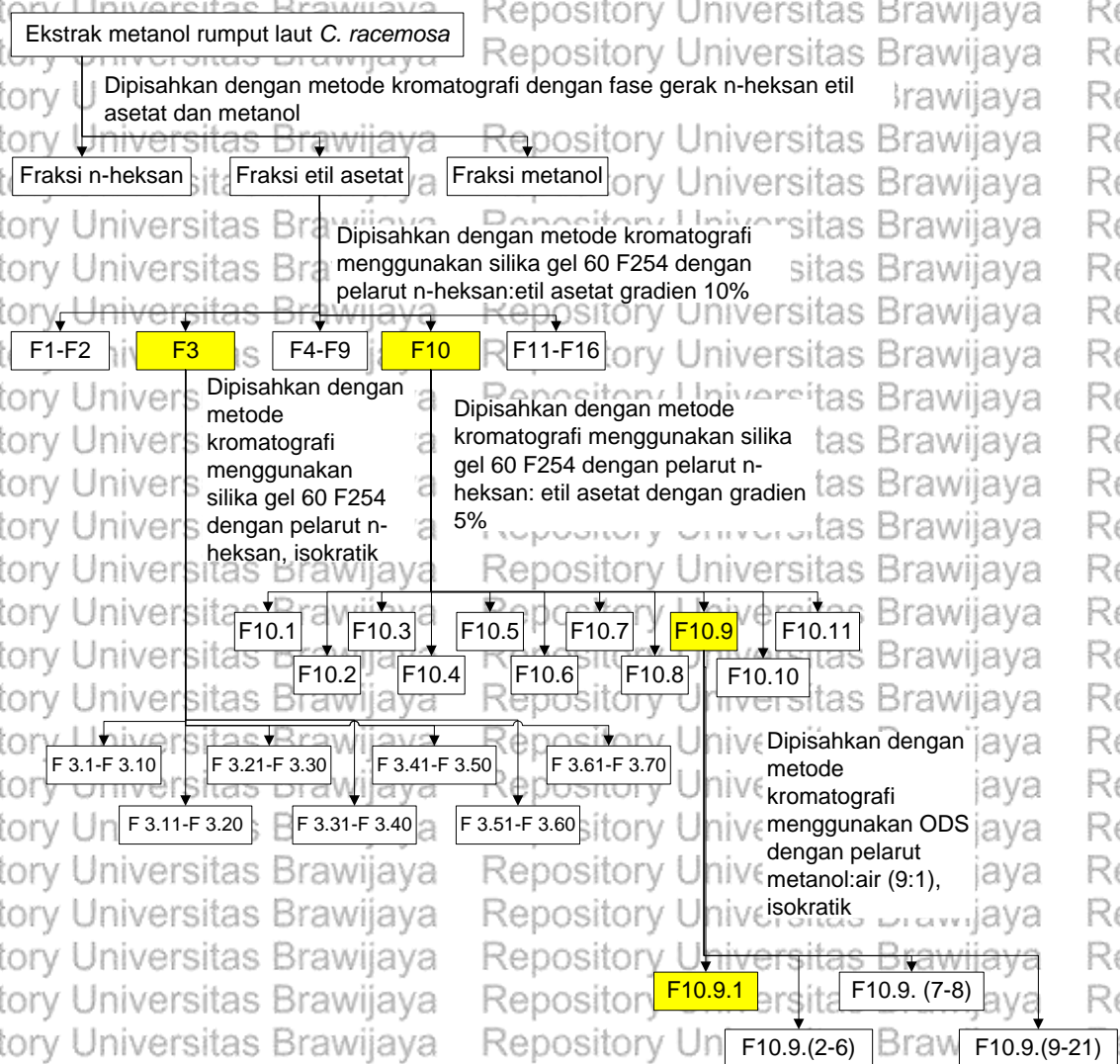
Ekstrak kemudian dipartisi dengan heksana air (1:1v/v), etil asetat:air (1:1v/v), dan metanol: air (Li *et al.*, 2012 dan de Souza, *et al.*, 2009) menggunakan corong pemisah, sehingga didapatkan fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi methanol/air. Masing-masing fraksi dipekatkan dalam *rotary vacuum evaporator* suhu 40°C. Ekstrak kering masing-masing dihitung aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, *Reducing Power* Total fenol, total, flavonoid.

Diagram alir penelitian tahap 3 dapat dilihat pada Gambar 4.3.

4.3.4 Penelitian Tahap 4

Penelitian tahap 4 dilakukan untuk memurnikan senyawa menggunakan kromatografi kolom. Fraksi etil asetat digunakan pada tahap ini. Fraksi Etil Asetat sebanyak 17 gram dilakukan kromatografi kolom menggunakan silika gel. Massa silika 170 gram. Pelarut yang digunakan adalah heksana etil asetat masing-masing 400 ml dengan gradient 5%. Masing-masing eluen dikumpulkan dan dikeringkan pada suhu ruang. Masing-masing fraksi dilakukan analisis KLT serta dilakukan analisis DPPH kualitatif menggunakan metode Wang, *et al.* (2012). Fraksi yang dihasilkan dari kolom pertama ini adalah 16 fraksi. Tiap fraksi dianalisis secara kuantitatif menggunakan DPPH dengan cara dicelup pada larutan DPPH 0,00025 M. Fraksi 3 dan 10 aktif dan memiliki massa yang cukup untuk dikolom lebih lanjut. Fraksi 10 dimurnikan lebih lanjut menggunakan kolom silika gel 60 F₂₅₄ dengan gradient 5% menggunakan heksana dan etil asetat (60 mL). Pemurnian ini menghasilkan 11 fraksi dan fraksi aktif dengan massa yang cukup diperoleh pada F-10-9. F-10-9 dimurnikan lebih lanjut menggunakan ODS dengan pelarut metanol:air (9:1) yang mengasilkan 21 fraksi. F-10-9-1 merupakan fraksi aktif dan memiliki massa yang cukup untuk dilakukan identifikasi senyawa. Senyawa semi murni yang dihasilkan dilakukan analisis

jenis senyawa yang meliputi spektrum UV, FTIR, LCMS dan NMR. Diagram alir pemurnian fraksi etil asetat disajikan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Diagram Alir Pemurnian Fraksi Etil Asetat



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Tahap I. Kandungan Nilai Gizi Rumput Laut Hijau *C. racemosa* pada beberapa perlakuan

5.1.1. Analisis Proksimat dan Serat

Rumput laut *C. racemosa* dengan perlakuan kering, semi-kering dan segar dilakukan analisis kadar air, lemak, protein, karbohidrat dan serat. Hasil analisis disajikan pada Tabel 5.1, sedangkan ringkasan dan analisis data disajikan pada Lampiran 12.

Tabel 5.1. Hasil Analisis Proksimat pada Rumput Laut Hijau *C. racemosa*

Parameter (%)	<i>C. racemosa</i>		
	Segar	Semi-kering	Kering
Kadar air (wb)	90,00 ± 0,76 ^a	53,38 ± 1,02 ^b	11,40 ± 1,51 ^c
Kadar abu (db)	42,78 ± 1,96 ^a	42,31 ± 2,29 ^a	42,29 ± 0,91 ^a
Protein (db)	14,55 ± 0,29 ^a	14,03 ± 1,70 ^a	16,24 ± 0,09 ^a
Lemak (db)	1,13 ± 0,14 ^a	1,47 ± 0,99 ^a	2,32 ± 0,25 ^a
Karbohidrat (db)	41,54 ± 2,09 ^a	42,29 ± 0,58 ^a	39,16 ± 0,59 ^a
Serat (db)	21,74 ± 1,82 ^a	21,17 ± 1,20 ^a	18,78 ± 0,66 ^a

(a-c) Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengeringan berpengaruh nyata ($p < 0.05$) pada kandungan air *C. racemosa*. Kandungan air *C. racemosa* kering 11,40 %, semi kering 53,38% dan segar 90,00%. Hasil penelitian Nagappan & Vairappan (2013) menunjukkan bahwa kadar air beberapa species *Caulerpa* segar berkisar antara 91,36-93,20%. Kadar lemak *C. racemosa* pada beberapa perlakuan berkisar antara 1,13-2,32 % (db). Kandungan protein *C. racemosa* berkisar antara 14,55-16,24. Nagappan dan Vairappan (2013) mengungkapkan bahwa kandungan protein *Caulerpa* berkisar antara 17,28-19,38 % (db), sedangkan menurut



Murugaiyan, *et al.* (2012) adalah 15%. Kandungan lemak berkisar antara 1,13-2,32% (db). Hasil penelitian Nagappan dan Vairappan menunjukkan bahwa kandungan lemak beberapa spesies *Caulerpa* berkisar antara 2,11-2,87 % (db). Kandungan mineral *C. racemosa* yaitu sekitar 42,29-42,78% (db). Kandungan mineral *C. racemosa* yang cukup tinggi ditunjukkan dengan kadar abunya, yaitu antara 42,29-42,78% (db). Karbohidrat dari *C. racemosa* juga cukup tinggi, yaitu antara 39,16-41,54% (db), sedangkan kadar seratnya antara 18,78-21,74% (db). Karbohidrat yang merupakan komposisi utama dari *C. racemosa* umumnya berbentuk polisakarida sulfat. Polisakarida sulfat ini merupakan makromolekul bentuk kompleks dan heterogen yang terbentuk dari unit-unit gula dan bermuatan negatif yang terdiri dari matrik ekstraselular (Rodrigues, *et al.* 2012).

Hasil tersebut (Tabel 5.1) menunjukkan bahwa pengeringan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) pada kadar protein, kadar lemak, kadar abu, karbohidrat dan serat. Hasil analisis yang cenderung naik pada bahan yang dikeringkan disebabkan adanya modifikasi/degradasi komponen sel akibat pemanasan. Menurut Rajauria, *et al.* (2010), pemaasan dapat menyebabkan degradasi/modifikasi selular. Proses yang menggunakan suhu menyebabkan perubahan sehingga memudahkan bahan untuk terekstrak karena gangguan pada dinding dan membrane sel, sehingga ikatan gula, dan bahan lain lebih mudah dilepaskan dibandingkan dengan bahan segarnya. Metode analisis *by difference* (Bhuiyan, *et al.*, 2016) digunakan untuk analisis karbohidrat, sehingga peningkatan bahan yang lain, seperti lemak, dan protein menyebabkan turunnya kadar karbohidrat total. Kandungan komposisi kimia yang lebih tinggi pada *C. racemosa* yang dikeringkan dapat juga disebabkan pengeringan memperlambat proses pembusukan bahan yang disebabkan oleh mikroba. Menurut Cox, *et al.* (2012),



pengeringan dapat memperlambat pertumbuhan mikroba. Ditambahkan oleh Sagar dan Kumar (2010) bahwa produk pangan kering dianggap lebih aman dari bahaya mikroba. Hal ini dikarenakan nilai kritis aktivitas air (a_w) yang dibawah toleransi tumbuh mikroba. Penurunan aktivitas air menghambat pertumbuhan mikroba, meski tidak menghasilkan produk yang steril.

5.1.2 Analisis Mineral

Beberapa mineral, diantaranya Na, Ca, K, Mg, Fe, dan Zn dianalisis menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Hasil analisis mineral dari *C. racemosa* segar, semi-kering, dan kering disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Analisis Mineral pada Rumput Laut *C. racemosa*

Mineral (mg/100g)	Segar	Semi kering	Kering
Na	13,05 ± 0,08 ^a	13,85 ± 0,32 ^b	14,00 ± 0,08 ^b
K	77,59 ± 0,74 ^a	86,77 ± 2,58 ^b	92,50 ± 1,73 ^c
Ca	149,66 ± 6,61 ^a	163,99 ± 1,73 ^b	168,64 ± 2,12 ^b
Mg	2,21 ± 0,02 ^a	2,56 ± 0,07 ^b	2,90 ± 0,06 ^c
Fe	9,52 ± 0,30 ^a	9,95 ± 0,06 ^a	10,13 ± 0,07 ^a
Zn	-	-	-

(a-b) Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hasil analisis kadar mineral menunjukkan bahwa kandungan mineral tertinggi adalah kalsium. Menurut Khairy dan El-Sheikh (2015), natrium, kalium, dan kalsium merupakan mineral yang banyak ditemukan pada rumput laut. Kadar mineral natrium, kalsium, kalium dan magnesium menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) dan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) pada besi. Kadar mineral tertinggi adalah kalsium yaitu berkisar antara 149,66-168,64 mg/100g dan kadar mineral terendah adalah magnesium (2,21-2,90 mg/100g), sedangkan seng tidak terdeteksi pada analisis mineral *C. racemosa*. Hasil analisis menunjukkan bahwa kandungan mineral mengalami peningkatan dengan semakin menurunnya kadar air. Menurut Ogoreyo, *et al.* (2011) mineral tidak dapat dirusak dengan perlakuan panas, dan memiliki



volatilitas yang sangat rendah. Peningkatan kadar mineral hanya disebabkan oleh penurunan kadar air bahan.

Analisis kadar abu pada *C. racemosa* berkisar antara 42,29-42,78 %.

Tingginya kadar mineral *C. racemosa* menunjukkan bahwa masih banyak mineral lain yang belum teridentifikasi. Mineral tertinggi pada kadar abu tersebut adalah kalsium. Kalsium tersebut ternyata memiliki peran penting pada pembentukan senyawa metabolit sekunder tanaman. Menurut Tuteja dan Sopory (2008), kalsium merupakan elemen makro yang sangat penting bagi tanaman dan berperan sebagai pembawa pesan kedua dalam jalur penyampaian pesan dan biasanya konsentrasinya meningkat seiring dengan adanya sinyal stress. Kalsium merupakan salah satu sinyal kimia di bawah kondisi stress abiotik pada tanaman. Ditambahkan oleh Tuteja dan Mahajan (2007), banyak rangsangan fisiologis yang merangsang peningkatan konsentrasi ion Ca^{2+} seperti cahaya, sentuhan atau gesekan, patogenik elisitor, hormon tanaman dan stress abiotik termasuk salinitas tinggi, suhu dingin dan kekeringan.

5.1.3 Analisis Asam Lemak menggunakan GC-MS

Kandungan asam lemak pada rumput laut *C. racemosa* segar, semi kering, dan kering dianalisis menggunakan GC-MS. Kromatogram hasil GC-MS dari rumput laut segar disajikan pada Gambar 5.1(a) dan Lampiran 14. Kromatogram rumput laut semi kering disajikan pada Gambar 5.1 (b) dan Lampiran 15, sedangkan kromatogram rumput laut kering disajikan pada Gambar 5.1 (c) dan Lampiran 16.

Hasil analisis asam lemak menggunakan GC-MS pada rumput laut segar teridentifikasi 18 jenis asam lemak. Asam lemak paling dominan adalah asam palmitat (15,79%). Beberapa asam lemak yang dominan lainnya diantaranya adalah



asam α -linoleat (9,74%), asam linoleat (8,42%), dan asam arakhidonat (7,13%).

Hasil analisis pada rumput laut semi-kering terdeteksi 19 asam lemak. Asam lemak paling dominan adalah asam α -linoleat (12,24%).

Beberapa asam lemak yang dominan lainnya dari rumput laut semi-kering adalah asam palmitat (11,53), asam arakhidonat (10,69%), dan asam linoleat (8,64%). Hasil analisis jenis asam lemak paling sedikit didapatkan dari sampel kering, yang hanya teridentifikasi 9 jenis asam lemak. Asam lemak paling dominan dari rumput laut kering adalah asam palmitat (38,41%). Beberapa asam lemak dominan yang lain dari rumput laut kering adalah asam α -linoleat (16,76%), asam linoleat (12,39%), dan asam oleat (7,58%). Hasil analisis asam lemak rumput laut *C. racemosa* segar, semi-kering dan kering dirangkum pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Hasil Identifikasi Asam Lemak yang Dominan pada Rumput Laut Hijau *C. racemosa* Berdasarkan Kromatogram GC-MS

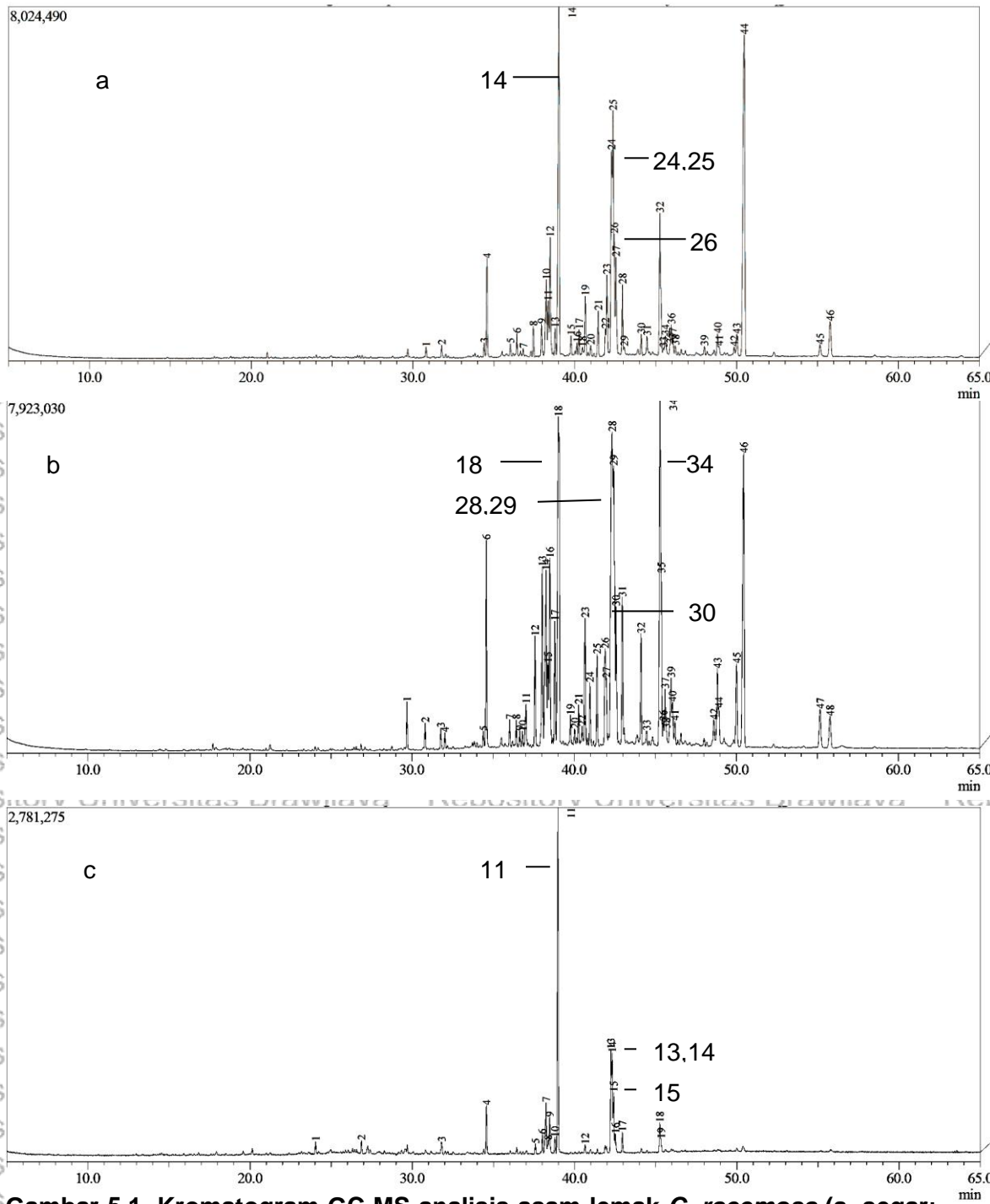
No. Puncak Kromatogram GC-MS <i>C. racemosa</i>	Nama Senyawa			Rumus Formula	Berat Molekul	% Relatif Kromatogram <i>C. racemosa</i>		
	Semi Segar	Semi Kering	Kering			Semi Segar	Semi Kering	Kering
14	18	11	Asam palmitat	$C_{16}H_{32}O_2$	256	15,79	11,53	38,41
24, 29*	28	13	Asam linoleat	$C_{18}H_{32}O_2$	294	8,42	12,24	12,39
22*, 25, 34*, 37*	29, 37*, 40*	14	Asam α -linoleat	$C_{18}H_{30}O_2$	278	9,74	8,64	16,76
32, 40*	34, 43*	18	Asam arakhidonat	$C_{20}H_{32}O_2$	318	7,13	10,69	3,31
26	30	15	Asam oleat	$C_{18}H_{34}O_2$	282	3,10	2,40	7,58

*) dapat dilihat pada Lampiran 14-16

Tabel 5.3 menunjukkan adanya beberapa asam lemak jenuh (SFA). Hasil analisis menunjukkan 5 asam lemak jenuh dari sampel segar, 6 asam lemak jenuh dari sampel semi-kering dan 3 asam lemak jenuh dari sampel kering. Asam lemak jenuh paling tinggi dari ketiga sampel rumput laut adalah asam palmitat (C:16).



Menurut Shamel dan Khan (1989), asam lemak jenuh paling dominan pada *C. racemosa* adalah asam palmitat.



Gambar 5.1. Kromatogram GC-MS analisis asam lemak *C. racemosa* (a. segar; b. semi kering; c. kering)



Asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) dari *C. racemosa* segar teridentifikasi sebanyak 6 jenis dari sampel segar, 5 jenis dari sampel semi kering, dan 2 jenis dari sampel kering. MUFA tertinggi dari sampel segar dan semi kering adalah asam palmitoleat, masing-masing (4,00%) dan (5,54%). MUFA tertinggi dari sampel kering adalah asam oleat (7,58%). Menurut Blazina, *et al.* (2009), MUFA yang paling dominan pada *C. racemosa* adalah asam palmitoleat.

Hasil analisis sampel segar menunjukkan 7 asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), 8 asam lemak dari sampel semi kering dan 4 asam lemak dari sampel kering. PUFA dominan dari sampel segar dan kering adalah asam α -linoleat, masing-masing sebesar 9,74% dan 16,76% sedangkan dari sampel semi kering adalah asam arakhidonat (10,69%). Hasil penelitian Blazina *et al.* (2009), asam lemak tak jenuh yang paling dominan pada *C. racemosa* adalah asam α -linoleat.

Kadar lemak *C. racemosa* sangat rendah yaitu sekitar 1,13-2,32% db, tetapi kandungan asam lemak tersebut berpotensi terhadap kandungan asam lemak tak jenuh yang esensial bagi tubuh. Menurut Yuan (2008), secara umum rumput laut memiliki kadar lemak yang sangat rendah, tetapi kaya akan asam lemak tak jenuh rantai panjang. Pada golongan rumput laut hijau (*Chlorophyceae*) asam lemak tak jenuh yang utama adalah C20:5 ω 3 dan asam lemak jenuh yang utama adalah C16:0. Hasil pada tabel 5.3 menunjukkan bahwa secara umum terdapat peningkatan persen relative asam lemak utama pada rumput laut kering. Hal ini dapat disebabkan banyaknya asam lemak pengotor dari rumput laut yang masih segar dan semi kering.



5.1.4 Analisis Asam Amino menggunakan HPLC

Analisis asam amino dilakukan menggunakan HPLC menggunakan 16 jenis standar asam amino. Terdapat 15 jenis asam amino yang terdeteksi di rumput laut hijau *C. racemosa* dari 16 asam amino yang diidentifikasi. Hasil identifikasi asam amino disajikan pada Tabel 5.4 dan Lampiran 17-19.

Hasil identifikasi asam amino menunjukkan bahwa terdapat 8 jenis asam amino esensial dan 6 jenis asam amino non esensial. Semua asam amino esensial teridentifikasi dari *C. racemosa*, tetapi kadar asam amino non esensial lebih tinggi daripada asam amino esensial. Prosentase kadar asam amino esensial berkisar antara 35,54-37,63% dari asam amino non esensial (Lampiran 17-19).

Tabel 5.4. Hasil Identifikasi Asam Amino dari Rumput Laut Hijau *C. racemosa* (mg/g protein)

Asam amino	Segar	Semi kering	Kering
Asam aspartat	28,99 ± 5,68	28,71 ± 4,27	73,11 ± 0,02
Asam glutamat	32,53 ± 6,14	31,46 ± 4,67	78,75 ± 0,06
Asparagin	-	-	-
Serin	13,73 ± 2,67	13,83 ± 1,50	32,79 ± 0,02
Histidin*	1,10 ± 0,64	1,21 ± 0,03	5,91 ± 0,23
Glisin	13,60 ± 3,26	8,51 ± 0,05	27,74 ± 0,00
Threonin*	13,12 ± 3,00	12,42 ± 1,44	31,61 ± 0,00
Arginin	13,59 ± 2,82	12,21 ± 2,07	33,57 ± 0,00
Alanin	18,73 ± 3,82	19,82 ± 2,23	45,03 ± 0,08
Tyrosin	18,25 ± 3,22	15,89 ± 2,54	40,85 ± 0,00
Methionin*	2,52 ± 0,71	2,25 ± 0,40	10,38 ± 0,00
Valin*	13,22 ± 3,01	12,01 ± 1,24	31,18 ± 0,00
Fenilalanin*	13,80 ± 2,99	13,06 ± 2,32	33,97 ± 0,46
Ileusin*	9,78 ± 2,50	8,83 ± 1,16	22,69 ± 0,00
Leusin*	19,90 ± 3,73	19,09 ± 3,21	49,57 ± 0,00
Lisin*	8,33 ± 1,55	2,89 ± 0,00	9,67 ± 0,00

*) asam amino esensial

Asam amino dominan pada *C. racemosa* adalah Asam glutamat dan asam aspartat. Beberapa penelitian sebelumnya dari Lewis (1965); Santoso (2004); dan Komalavalli dan Lalitha (2015)) menyatakan bahwa asam amino dominan dari *C.*



racemosa adalah asam glutamat dan asam aspartat. Menurut Lewis (1965) jenis asam amino *C. racemosa* relatif sama dari berbagai daerah meskipun jumlahnya yang berbeda beda. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan variasi ekologis, spesimen yang dipelajari, umur panen, dan beberapa hal lain.

Kandungan protein *C. racemosa* berkisar antara 14,05-16,24% db (Tabel 5.1). Kandungan protein ini didominasi oleh asam glutamat dan asam aspartat. Asam glutamat dan asam aspartat merupakan asam amino yang banyak berperan pada rasa suatu makanan sehingga memiliki dampak rasa yang kuat (Gunlu & Gunlu, 2014). Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Lewis (1965) dan

Santoso (2004) yang mendapatkan kandungan asam amino dominan dari *C. racemosa* dan hidrolisatnya adalah asam glutamat dan asam aspartat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan asam amino *C. racemosa* yang dikeringkan lebih tinggi, meskipun data pada *C. racemosa* segar dan semi kering diperoleh beberapa hasil yang belum stabil yang dimungkinkan adanya kadar air bahan yang masih tinggi (53-90% bb).

5.1.5 Kesimpulan Penelitian Tahap I

Kesimpulan hasil penelitian tahap 1 adalah sebagai berikut:

1. Perlakuan berbeda pada rumput laut hijau *C. racemosa* tidak banyak berpengaruh pada kandungan proksimat selain kadar air.
2. Kandungan mineral *C. racemosa* tertinggi adalah kalsium sedangkan mineral seng tidak terdeteksi pada sampel.
3. Asam lemak dominan pada *C. racemosa* adalah asam palmitat dan asam linoleat.



4. Asam amino dominan pada *C. racemosa* adalah asam glutamat dan asam aspartat.

5.2 Tahap II. Ekstraksi Senyawa Antioksidan Rumput Laut Hijau *C. racemosa* pada beberapa perlakuan preparasi sampel menggunakan teknik maserasi

5.2.1 Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan sebagai petunjuk awal kandungan beberapa senyawa yang ada pada ekstrak rumput laut hijau *C. racemosa*. Senyawa fitokimia yang dianalisis adalah alkaloid, fenolik, terpenoid, flavonoid, karbohidrat, protein, glikosida, saponin, dan steroid. Hasil analisis fitokimia disajikan pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Analisis Fitokimia Ekstrak Kasar Rumput Laut Hijau *C. racemosa*

Analisis	Segar	Semi kering	Kering
Alkaloid	+++	+++	+++
Fenolik	+	+	+
Terpenoid	+++	-	-
Flavonoid	+	+	+
Karbohidrat	+++	++	++
Glikosida	+++	++	++
Saponin	++	+	+
Steroid	+++	-	-

Hasil analisis menunjukkan bahwa dari rumput laut segar dideteksi senyawa alkaloid, fenolik, terpenoid, flavonoid, karbohidrat, glikosida, saponin dan steroid.

Rumput laut semi kering terdeteksi adanya alkaloid, fenolik, flavonoid, karbohidrat, glikosida, dan saponin. Rumput laut kering menunjukkan adanya senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, karbohidrat, glikosida, dan saponin. Hasil penelitian Karthick, *et al.*

(2014) menunjukkan ekstrak metanol pada *C. scalpelliformis* positif mengandung steroid, tannin, flavonoid, saponin dan terpenoid.



Beberapa perlakuan yang berbeda menunjukkan perbedaan kandungan fitokimia yang terdeteksi. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pengeringan dapat berpengaruh terhadap kandungan fitokimianya. Menurut Gupta, *et al.* (2011) menyatakan bahwa pengeringan pada beberapa suhu menyebabkan perubahan kandungan fitokimia yang dapat berpengaruh juga pada aktivitas yang dimiliki oleh rumput laut.

Alkaloid, steroid, dan terpenoid merupakan golongan senyawa yang esensial dari *C. racemosa* (Ornano, *et al.*, 2014). Alkaloid merupakan senyawa organik yang memiliki gugus amin dan nitrogen dalam cicin siklisnya (Kuramoto *et al.*, 2004; Guven, *et al.*, 2010). Beberapa senyawa alkaloid telah ditemukan dari *C. racemosa*, beberapa diantaranya adalah caulerpin, racemosin A dan B. Caulerpin yang merupakan senyawa bisindol alkaloid telah digunakan sebagai antiinflamasi dan *antinociceptive* (de Souza, *et al.*, 2009). Racemosin A dan B juga merupakan senyawa bisindol alkaloid (Liu, *et al.*, 2013).

Terpenoid atau isoprenoid merupakan golongan utama beberapa senyawa alami yang mirip dengan terpen, berasal dari unit isoprena lima karbon dan berbagai modifikasinya (Yermakov, *et al.*, 2010). *Caulerpenyne* merupakan sequisterpenoid yang pertama kali diidentifikasi oleh Amico, *et al.* (1978). *Caulerpenyne* dari *C. racemosa* memiliki aktivitas fitotoksik (Raniello, *et al.*, 2007).

Steroid merupakan senyawa organik yang berasal dari tanaman dan hewan. Struktur dasar steroid adalah empat cincin karbon (Patel dan Savjani, 2015). 28-*oxostigmastane* steroid merupakan steroid yang telah diidentifikasi dari *C. racemosa* (Yang, *et al.*, 2015).



5.2.2 Analisis Total Fenol dan Flavonoid

Kandungan total fenol dianalisis menggunakan metode spektrofotometri dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Asam galat digunakan sebagai standar total fenol.

Analisis total fenol pada beberapa perlakuan rumput laut *C. racemosa* dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan terhadap kandungan fenolnya

(Tabel 5.6).

Tabel 5.6. Hasil Analisis Total Fenol dan Total Flavonoid pada rumput laut *C. racemosa*

Parameter	Segar	Semi-kering	Kering
Total fenol (mgGAE/g)	1,00 ± 0,29 ^a	1,11 ± 0,37 ^a	1,13 ± 0,51 ^a
Total flavonoid (mgQE/g)	16,66 ± 0,20 ^a	24,07 ± 1,02 ^c	20,96 ± 0,66 ^b

(a-c) Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Hasil analisis total fenol pada beberapa perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada perlakuan rumput laut segar, semi kering dan kering. Kandungan fenol tertinggi didapatkan dari ekstrak rumput laut kering (1,13 mgGAE/g), sedangkan kandungan fenol terendah dari rumput laut segar (1,00 mgGAE/g). Sedikit peningkatan kandungan fenol pada rumput laut kering ini dapat terkait dengan perkembangan respon terhadap perubahan dan respon luka, seperti pengeringan (Gupta, *et al.*, 2011).

Analisis kandungan flavonoid dilakukan untuk mengetahui apakah perlakuan pengeringan rumput laut *C. racemosa* berpengaruh terhadap kandungan flavonoidnya. Analisis flavonoid dilakukan menggunakan metode spektrofotometri dengan standar quercetin. Hasil analisis kandungan flavonoid ekstrak metanol rumput laut hijau *C. racemosa* seperti disajikan pada Tabel 5.3.

Hasil analisis kandungan flavonoid menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil analisis flavonoid tertinggi didapatkan pada rumput laut semi kering



(24,07 mgQE/g) dan kandungan flavonoid terendah pada rumput laut segar (16,66 mgQE/g). Kandungan flavonoid mengalami kenaikan dari rumput segar dibanding rumput laut semi kering, kemudian mengalami penurunan lagi pada rumput laut kering. Menurut Alonzo-Macias, *et al.* (2013), menyatakan bahwa proses pemanasan & pengeringan memiliki pengaruh yang besar terhadap kandungan flavonoid.

Penurunan kadungan flavonoid pada rumput laut kering dapat juga disebabkan Karena adanya aktivitas enzim polifenol oksidase. Enzim ini dapat mengubah flavonoid menjadi bentuk metabolit sekunder yang lain (Sukrasno, *et al.*, 2011). Suhu optimum enzim polifenol oksidase adalah pada 50°C dan masih dapat beraktivitas sampai 60°C (Prabha dan Patwardhan, 1982).

5.2.3. Aktivitas Antioksidan DPPH dan Nilai IC₅₀

Hasil analisis aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dihitung pada beberapa konsentrasi. Nilai aktivitas antioksidan menggunakan DPPH kemudian dihitung nilai IC₅₀ menggunakan regresi. Hasil analisis antioksidan rumput laut *C. racemosa* segar, semi-kering, dan kering disajikan pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7. Tingkat Penghambatan Radikal DPPH oleh Ekstrak *C. racemosa* Segar, Semi-kering, dan Kering

Konsentrasi ekstrak (ppm)	<i>C. racemose</i>		
	Segar (%)	Semi-kering (%)	Kering (%)
125	9,00 ± 1,80 ^a	11,42 ± 1,80 ^a	19,09 ± 1,45 ^b
250	11,42 ± 0,75 ^a	15,21 ± 0,85 ^b	30,61 ± 3,04 ^c
375	24,61 ± 0,22 ^a	34,08 ± 0,85 ^b	49,60 ± 2,90 ^c
500	26,55 ± 1,92 ^a	42,71 ± 0,42 ^b	60,60 ± 0,62 ^c
Nilai IC ₅₀ <i>C. racemosa</i> dan BHT			
BHT (ppm)	Segar (ppm)	Semi-kering (ppm)	Kering (ppm)
	32,74 ± 0,85	893,78 ± 54,26 ^a	581,96 ± 5,57 ^b
			400,01 ± 5,30 ^b

(a-c) Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (p<0.05)



Tabel 5.7 menunjukkan bahwa hasil aktivitas antioksidan tertinggi dari beberapa konsentrasi ekstrak didapatkan pada sampel kering. Konsentrasi yang efektif untuk menghambat 50% aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yang paling rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik. Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel *C. racemosa* kering secara signifikan ($p < 0,05$) memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi.

Hasil penelitian ini sedikit lebih tinggi dari penelitian Djapala (2013), mendapatkan aktivitas antioksidan sebesar 31,33% pada konsentrasi 4 mg/ml dari *C. racemosa* di perairan teluk Manado, Indonesia. Hasil analisis aktivitas antioksidan dpph menunjukkan aktivitas paling tinggi pada rumput laut kering. Hal ini dapat disebabkan kandungan air yang rendah menyebabkan aktivitas kandungan fitokimia pada ekstrak.

Hasil analisis antioksidan tertinggi didapatkan dari *C. racemosa* kering, yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} paling rendah (400 ppm), sedangkan aktivitas antioksidan paing rendah diperoleh dari *C. racemosa* segar dengan nilai IC_{50} sebesar 893,78 ppm. Hal ini dapat disebabkan karena pengaruh enzim oksidatif endogen yang bertanggungjawab pada rusaknya senyawa antioksidan. Menurut Rajauria, *et al.*, (2010), perlakuan panas dapat menyebabkan rusaknya enzim oksidatif endogen. Peningkatan aktivitas antioksidan dapat disebabkan karena rusaknya enzim ini, sehingga tidak terjadi penguraian senyawa antioksidan.

5.2.4. Analisis Daya Reduksi

Nilai daya reduksi diperoleh dari perubahan senyawa Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi sampel setelah direaksikan dengan larutan $FeCl_3$. Semakin tinggi nilai absorbansi pada 700 nm menunjukkan semakin



tinggi aktivitas pereduksi sampel (Seladji, *et al.*, 2014). Nilai absorbansi aktivitas reducing power disajikan pada Tabel 5.8

Tabel 5.8. Nilai Absorbansi Daya Reduksi Rumput Laut Hijau *C. racemosa*

Konsentrasi (ppm)	<i>C. racemosa</i>			Vitamin C (nm)
	Segar (nm)	Semi-kering (nm)	Kering(nm)	
500	0,14 ± 0,02 ^a	0,18 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,02 ^a	0,59 ± 0,01
750	0,28 ± 0,02 ^a	0,34 ± 0,03 ^a	0,34 ± 0,04 ^a	0,84 ± 0,00
1000	0,42 ± 0,03 ^a	0,52 ± 0,06 ^a	0,56 ± 0,02 ^a	1,09 ± 0,01
1250	0,47 ± 0,06 ^a	0,60 ± 0,05 ^a	0,63 ± 0,08 ^a	1,34 ± 0,00

Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Hasil analisis daya reduksi menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada aktivitas daya reduksi ($p > 0,05$) berdasarkan nilai absorbansi sampel pada 700 nm.

Aktivitas daya reduksi tertinggi diperoleh dari rumput laut kering dan aktivitas terendah diperoleh dari rumput laut segar. Hasil penelitian Li, *et al.* (2012) pada fraksi semi murni *C. racemosa* menunjukkan absorbansi sebesar 0,05-0,15 nm pada konsentrasi 1-50 µg/mL.

Kemampuan daya reduksi ini hanya melihat senyawa antioksidan yang mampu mereduksi ion Fe (III), yaitu senyawa yang mampu memberikan donor elektron dan memiliki potensial reduksi yang lebih rendah dari Fe (II) (Fidrianny, *et al.*, 2014). Analisis daya reduksi ini digunakan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan untuk mendonorkan elektron (Kumar dan Jain 2015). Semua sampel menunjukkan aktivitas daya reduksi sesuai konsentrasi masing-masing dan berpotensi sebagai penyumbang elektron pada senyawa radikal, yang mengubahnya menjadi lebih stabil dan menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas.



5.2.5 Kesimpulan Penelitian Tahap II

Kesimpulan hasil penelitian tahap 1 adalah sebagai berikut:

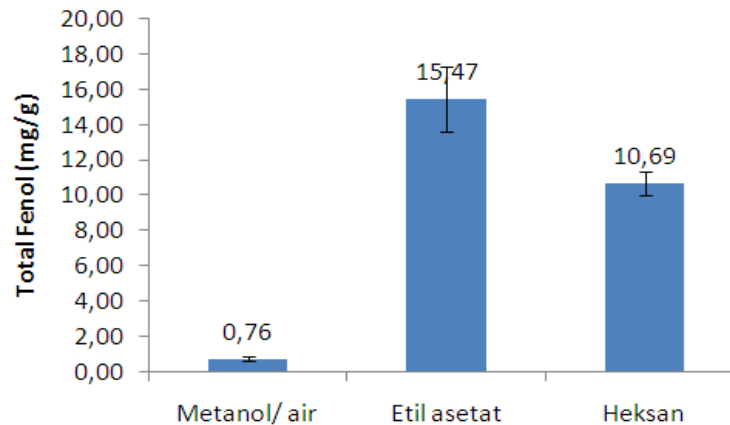
1. Perlakuan rumput laut *C. racemosa* yang berbeda menunjukkan kandungan fitokimia yang berbeda pula
2. Nilai kandungan total fenol tertinggi diperoleh dari *C. racemosa* kering, sedangkan total flavonoid tertinggi diperoleh dari *C. racemosa* semi kering.
3. Aktivitas antioksidan DPPH dan daya reduksi tertinggi diperoleh dari *C. racemosa* kering

5.3 Tahap III. Fraksinasi dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Hijau *C. racemosa*

Hasil penelitian Tahap II menunjukkan bahwa rumput laut *C. racemosa* kering memiliki aktivitas antioksidan terbaik. Rumput laut kering selanjutnya difraksinasi menggunakan pelarut heksan, etil asetat, dan air. Tiap fraksinya dianalisis kandungan total fenol, flavonoid, antioksidan DPPH dan daya reduksi.

5.3.1 Analisis Total Fenol

Masing-masing fraksi (heksan, etil asetat dan metanol/air) dianalisis kandungan total fenolnya. Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran total fenol. Histogram hasil analisis total fenol disajikan pada Gambar 5.2.



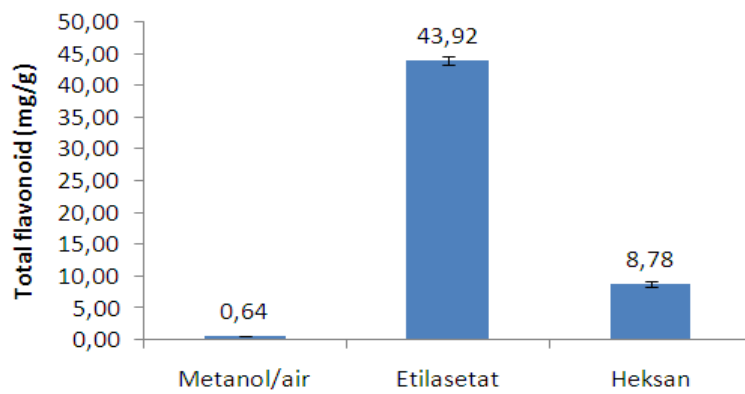
Gambar 5.2. Grafik Analisis Total Fenol *C. racemosa* Kering

Hasil analisis total fenol menunjukkan bahwa kandungan senyawa fenolik tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat, yaitu sebesar 15,47 mgGAE/g, sedangkan kandungan fenol terendah diperoleh dari fraksi metanol/air, yaitu sebesar 0,75 mgGAE/g. Perbedaan jenis pelarut menyebabkan perbedaan kandungan fenol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi senyawa fenolik banyak dipengaruhi oleh polaritas larutan dimana kelompok fenol dari *C. racemosa* lebih banyak yang terlarut pada pelarut semi polar. Hasil penelitian Li, *et al.* (2012) menunjukkan bahwa kandungan fenol fraksi etil asetat *C. racemosa* lebih tinggi dari fraksi air dan ekstrak etanol. Penggunaan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat merupakan metode yang sesuai untuk partisi senyawa fenol dari *C. racemosa*. Kemampuan pelarut mengekstrak senyawa fenol dari sampel, berhubungan dengan kemampuan system pelarut berdasarkan prinsip *'like-dissolve-like'* (Chan, *et al.*, 2014). Hal ini ditunjukkan dengan senyawa fenol pada *C. racemosa* yang lebih banyak diperoleh dari fraksi etil asetat, yang mengindikasikan bahwa senyawa fenol pada *C. racemosa* lebih banyak pada kepolaran yang sedang.



5.3.2 Analisis Total Flavonoid

Flavonoid merupakan sub kelas utama dari polifenol dan antioksidan pada tanaman. Umumnya terbentuk sebagai glikosida yang mengandung beberapa kelompok hidroksil fenolik pada cincinnya (Chia, *et al.*, 2015). Kandungan flavonoid pada masing-masing fraksi (metanol/air; etil asetat; heksan) dianalisis menggunakan standar quercetin. Hasil analisis total flavonoid dapat dilihat pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Grafik Analisis Total Flavonoid *C. racemosa* Kering

Hasil analisis total flavonoid menunjukkan bahwa kandungan flavonoid tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat, yaitu sebesar 43,92 mgQE/g, sedangkan kandungan flavonoid terendah diperoleh dari fraksi metanol/air, yaitu sebesar 0,15 mgQE/g. Hasil penelitian Chia *et al.* (2015) terhadap *C. racemosa* yang diperoleh dari daerah pesisir Port Dickson, Malaysia, menunjukkan bahwa total flavonoid dari ekstrak etil asetat sebesar 16,0 mgQE/g.

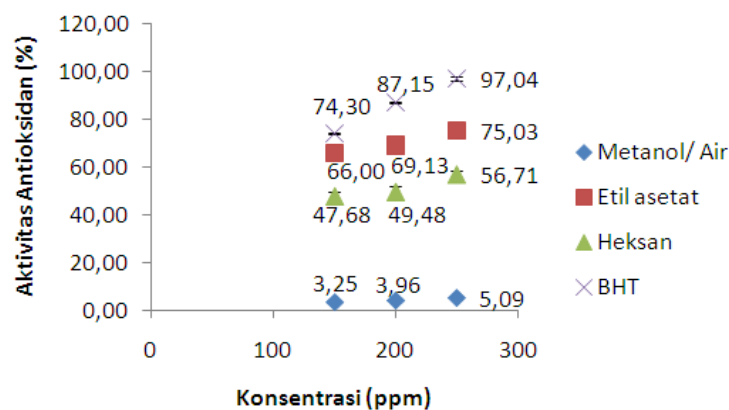
Flavonoid merupakan kelompok terbesar senyawa fenolik yang memiliki struktur *benzo-γ-pyrone* yang banyak terdapat pada tanaman (Kumar dan Pandey, 2013). Kandungan flavonoid memiliki peran terhadap beberapa aktivitas biologis. Beberapa diantaranya adalah sebagai antioksidan (Brunetti, *et al.*, 2013), antikanker (Murugan dan Iyer, 2013). Kandungan total flavonoid yang lebih tinggi pada pelarut



etil asetat menunjukkan bahwa flavonoid dari *C. racemosa* lebih banyak pada polaritas sedang dimana kandungan flavonoid tersebut positif menunjukkan aktivitas antioksidan. Menurut Chan, et al. (2014), beberapa komponen flavonoid polar seperti isoflavan, flavon, metil flavn, dan flavonol larut pada pelarut dengan polaritas sedang seperti klorofom, diklorometan, dan etil asetat. Kelarutan senyawa tersebut dapat dipengaruhi oleh indeks polaritas pelarut, dimana indeks polaritas pelarut etil asetat adalah 4,4; methanol 5,1 dan heksana adalah 0,1.

5.3.3 Aktivitas Antioksidan DPPH dan Nilai IC₅₀

Fraksi metanol/air, etil asetat dan heksan dari rumput laut *C. racemosa* kering dianalisis aktivitas antioksidannya menggunakan pereaksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dengan metode spektroskopi. DPPH telah digunakan secara luas sebagai radikal bebas untuk mengevaluasi senyawa pereduksi dan merupakan reagen yang digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif untuk men-scavenge radikal bebas (Li, et al., 2012). Hasil aktivitas antioksidan (%) digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ masing-masing fraksi, dimana aktivitas antioksidan yang lebih tinggi menunjukkan nilai IC₅₀ yang lebih rendah. Histogram aktivitas antioksidan masing-masing fraksi ditunjukkan pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4. Grafik Nilai Aktivitas Penghambatan *C. racemosa* kering



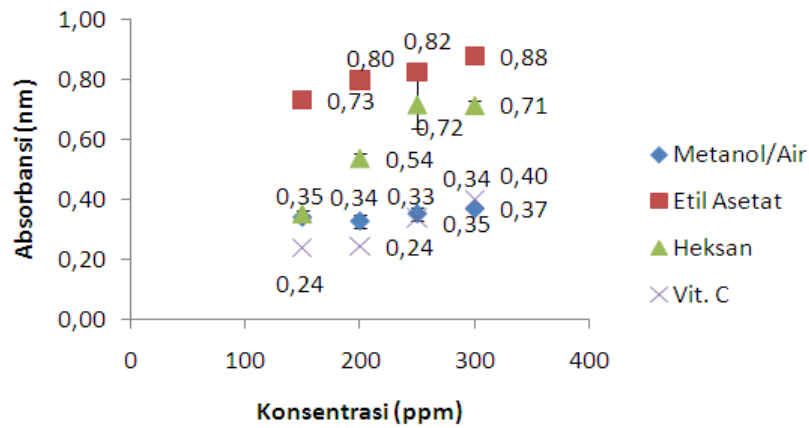
Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat (Gambar 5.5) dengan nilai IC_{50} sebesar 78,48 ppm, sedangkan aktivitas antioksidan terendah diperoleh dari fraksi metanol/air dengan nilai IC_{50} sebesar 3005 ppm. Hasil aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tersebut masih lebih rendah daripada standar BHT, dimana nilai IC_{50} sebesar 32,74 ppm (Lampiran 6). Hasil analisis IC_{50} pada *C. racemosa* fraksi heksan sebesar 0,09 mg/ml (Chia, *et al.*, 2015). Nilai IC_{50} pada ekstrak metanol 4,91 mg/ml (Sarini, *et al.*, 2014).

Aktivitas antioksidan berhubungan dengan keberadaan senyawa bioaktif seperti polifenol dan flavonoid. Polifenol men-scavenge DPPH dengan memberikan atom hidrogennya, sehingga mereduksi senyawa DPPH (DPPH-H) (Chia, *et al.*, 2015). Kandungan senyawa fenol dan flavonoid dari fraksi etil asetat pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan fraksi heksan dan metanol/air. Hal ini dapat menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat. Hal ini juga menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dari *C. racemosa* lebih banyak berada pada polaritas sedang. Menurut Chan, *et al.* (2014), senyawa polar flavonoid seperti isoflavon, flavon, metil flavon dan flavonol dapat diekstrak menggunakan kloroform, diklorometan, dietil eter, atau stil asetat. Jenis pelarut dan polaritasnya dapat berpengaruh terhadap transfer electron tunggal dan transfer atom hidrogen, dimana hal tersebut adalah kunci utama aktivitas antioksidan.

5.3.4 Analisis Daya Reduksi

Analisis aktivitas daya reduksi dikerjakan dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi

Fe²⁺ dalam suatu reaksi redoks (Chew, *et al.*, 2008). Grafik hasil analisis daya reduksi disajikan pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5. Grafik Aktivitas Daya Reduksi *C. racemosa* Kering

Hasil analisis daya reduksi menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat, sedangkan aktivitas daya reduksi terendah diperoleh dari fraksi metanol/air (Gambar 5.6). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas daya reduksi banyak berada pada kepolaran sedang (semi-polar). Hal ini senada dengan penelitian Li *et al.* (2012) pada rumput laut hijau *C. racemosa* dan Chan, *et al.* (2014) pada rumput laut merah *Glacilaria Changii*, dimana fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas daya reduksi yang paling baik dibandingkan pelarut yang lain. Penggunaan vitamin C sebagai standar adalah karena sifat pereduksi yang dimiliki vitamin C dan fungsinya sebagai pangan fungsional. Menurut Borsook, *et al.* (1936), sifat kimia yang luar biasa dari vitamin C adalah sebagai agen pereduksi. Ditambahkan oleh Chambial, *et al.* (2013), vitamin C merupakan nutrisi esensial yang dibutuhkan untuk berbagai proses fisiologis dalam tubuh dan tidak dapat disintesis dalam tubuh sehingga suplementasi dalam diet sangat penting.



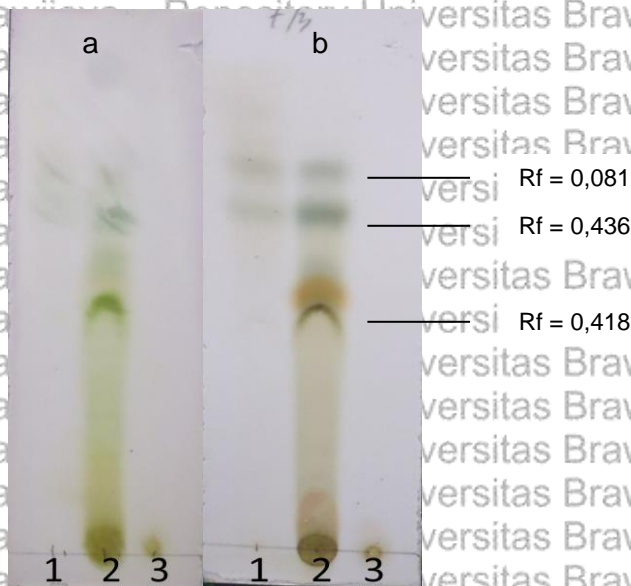
Hasil menelitian menunjukkan bahwa penggunaan beberapa pelarut pada fraksinasi menyebabkan aktivitas daya reduksi yang berbeda. Fraksinasi menggunakan beberapa pelarut memiliki beberapa pengaruh pada sifat kimia senyawa antioksidan yang dihasilkan (Chan, *et al.*, 2014). Hasil analisis tiap fraksi menunjukkan kecenderungan yang sama, dimana aktivitas daya reduksi meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi yang diberikan. Aktifitas daya reduksi yang tinggi menunjukkan banyaknya reduktan yang terkandung di dalam fraksi etil asetat.

Keberadaan reduktan ini menyebabkan terputusnya reaksi berantai radikal bebas (Chandini, *et al.*, 2008; Li, *et al.*, 2012) dengan cara memberikan atom hidrogen (Ganesan, *et al.* 2011). Kemampuan reduktan untuk memberikan elektron serta mengurangi oksidasi lanjut pada proses peroksidasi lemak, dapat disimpulkan bahwa reduktan dapat bersifat sebagai antioksidan primer dan sekunder (Matanjun, *et al.*, 2008). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan daya reduksi paling baik diperoleh dari fraksi etil asetat dan menunjukkan berkorelasi positif dengan aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan DPPH. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dari *C. racemosa* dapat berperan sebagai *scavengeing* radikal bebas dan pereduksi ion Ferri.

5.3.5 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Masing-Masing Fraksi

Masing-masing fraksi (heksan, etil asetat, metanol/air) dilakukan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui pola pemisahan dan aktivitas antioksidan secara kualitatif. Hasil KLT masing-masing fraksi disajikan pada Gambar

5.6.



Gambar 5.6. Hasil KLT fraksi 1. N-heksan, 2. Etil asetat, dan 3. Metanol, menggunakan fase gerak heksan etilasetat (7:3) dengan perlakuan a. tanpa DPPH dan b. dicelup DPPH

Identifikasi menggunakan KLT dilakukan menggunakan fase gerak heksan etil asetat (7:3) dengan dipandu DPPH 0,00025M untuk analisis kualitatif antioksidan.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang ditandai dengan spot kekuningan pada pelat KLT. Menurut Wang, *et al.* (2012), sampel yang menunjukkan spot kekuningan dianggap sebagai senyawa antioksidan. Penggunaan uji TLC-DPPH ini secara umum digunakan pada golongan senyawa polifenol, dimana golongan polifenol dari tumbuhan (polifenol dan flavonoid) banyak dilaporkan sebagai antioksidan dan radikal scavenger (Ciesla, *et al.*, 2012).

5.3.6 Kesimpulan Penelitian Tahap III

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian tahap 3 ini adalah sebagai berikut:



1. Hasil analisis total fenol, total flavonoid, aktivitas antioksidan dan daya reduksi paling tinggi diperoleh dari fraksi etil asetat.
2. Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung fraksi aktif senyawa antioksidan.

5.4. Tahap IV. Isolasi dan Penentuan Dugaan Senyawa dari Fraksi Aktif Rumput Laut *C. racemosa* Kering Fraksi Etil Asetat

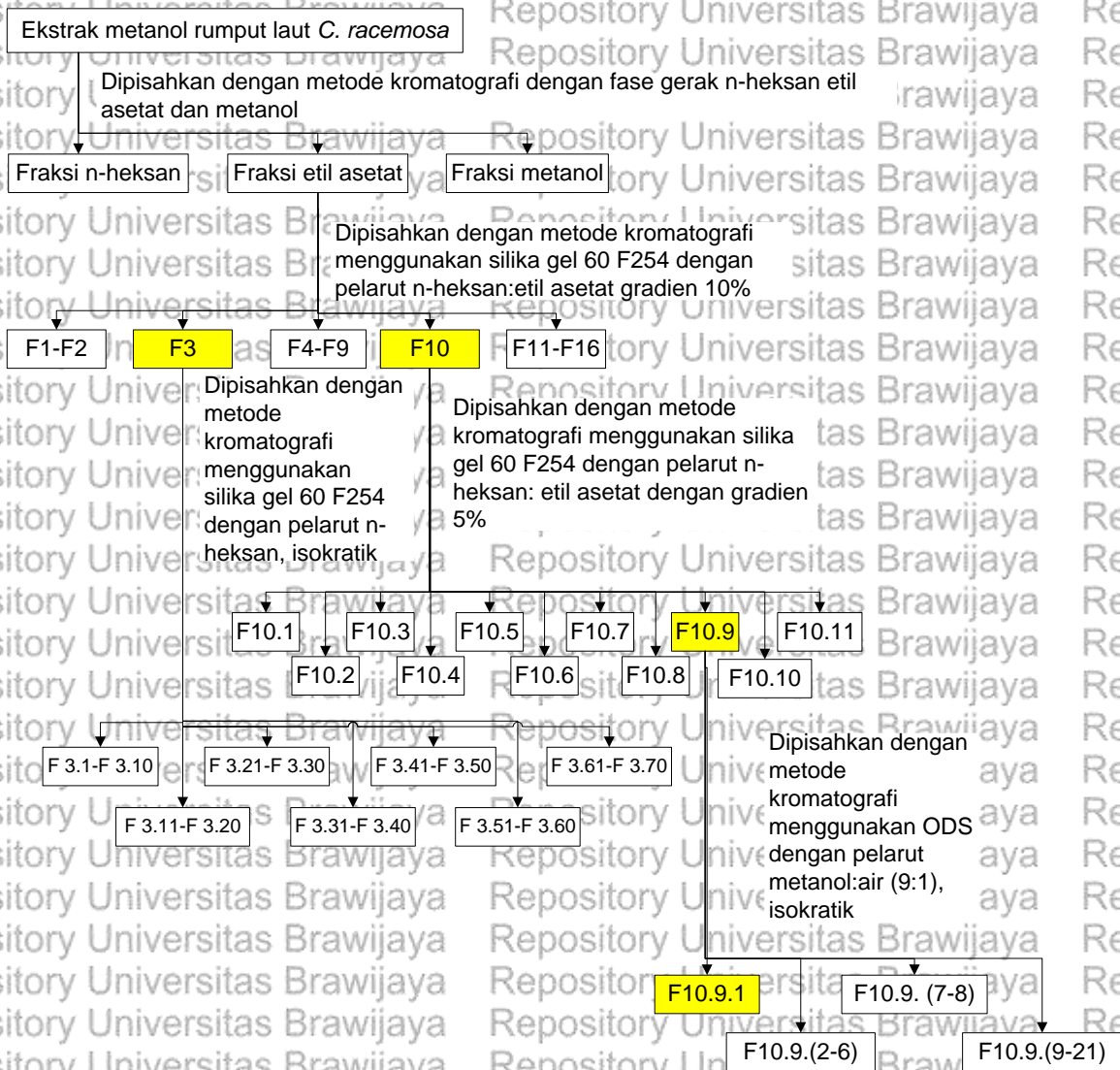
5.4.1 Isolasi Senyawa Antioksidan Aktif Fraksi Etil Asetat Menggunakan Kromatografi Kolom (KK) dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

450 gram rumput laut *C. racemosa* kering diekstraksi dengan methanol sebanyak 4,5 L selama 3x24 jam. Cairan ekstrak methanol selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evapoortor in vacuo* pada suhu 40°C yang menghasilkan residu ekstrak methanol sebanyak 240 ml. Ekstrak methanol selanjutnya difraksinasi dengan metode kromatografi kolom pada fase diam silika gel dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan methanol yang menghasilkan fraksi *n*-heksan 17,1354 g; fraksi etil asetat 17,2128 g; dan fraksi methanol 30, 9813 g. Untuk identifikasi aktifitas antioksidan, semua fraksi dilakukan analisis dengan metode kromatografi lapis tipis yang dilanjutkan dengan reaksi penampak noda DPPH DPPH 0,00025M. Hasil analisis menunjukkan bahwa fraksi etil asetat paling aktif antioksidan.

Kromatogram KLT masing-masing fraksi dipandu DPPH disajikan pada gambar 5.6.

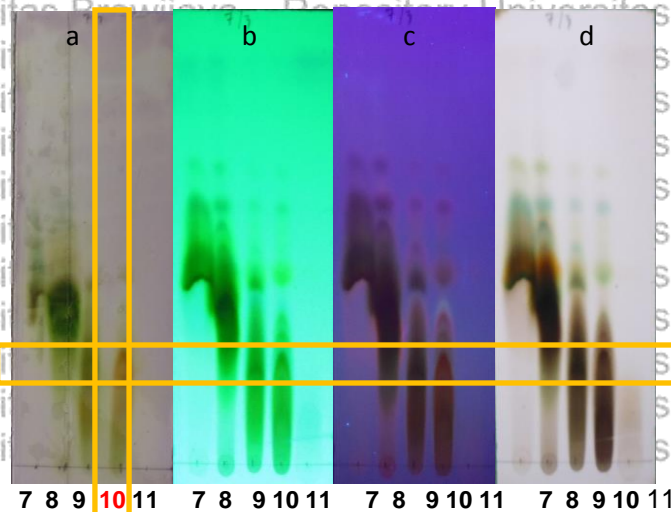
Fraksi etil asetat diisolasi lebih lanjut untuk mendapatkan isolasi senyawa murni dari *C. racemosa*. Isolasi senyawa selalu dipandu dengan DPPH untuk mendapatkan senyawa aktif. Partisi dan pola noda diidentifikasi menggunakan KLT.

Adapun bagan alur isolasi senyawa disajikan pada Gambar 5.7.



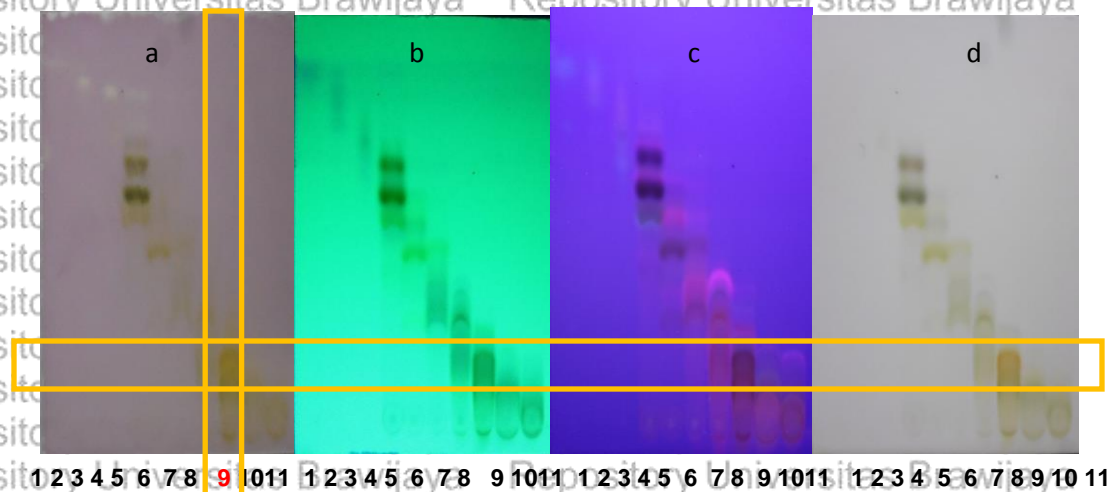
Gambar 5.7. Bagan Alur Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antioksidan

Fraksi etil asetat selanjutnya dipisahkan menggunakan kolom kromatografi menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak n-heksan dan etil asetat dengan kenaikan kepolaran secara bertahap 5% dan 10%. Gambar 5.2 (elusidasi kolom 1 gradien 5 dan 10% n-heksan-etilasetat) menunjukkan bahwa pemisahan pada fraksi etil asetat diperoleh 16 fraksi. Fraksi 10 dipilih karena menunjukkan pola noda yang lebih mudah dipisahkan dan aktif dengan penyemprotan radikal DPPH (Gambar 5.8).



Gambar 5.8. Pola noda fraksi F7-F11 pada KLT dengan eluen heksan : etil asetat (7:3) (a) dicelup DPPH; (b) di bawah lampu UV 254; (c) di bawah lampu UV 356; (d) setelah disemprot H_2SO_4 0,1N

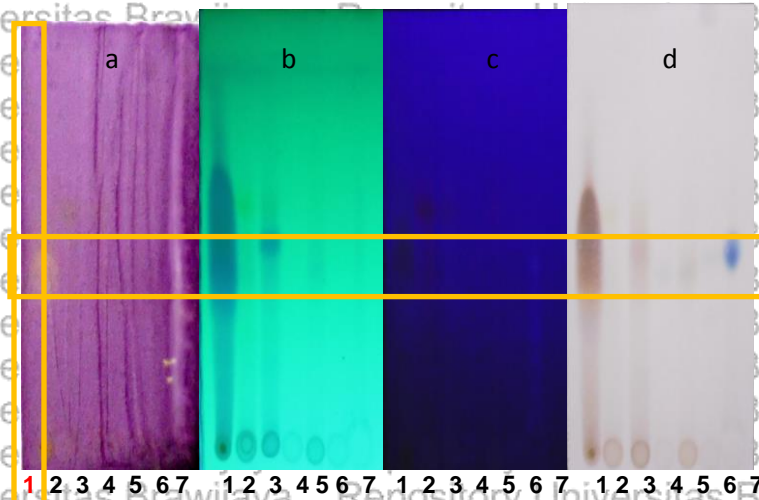
Elusidasi F-EA-10 kemudian dilakukan menggunakan kolom silika dengan pelarut heksan dan etilasetat menggunakan gradien 5%. Elusidasi ini menghasilkan 11 fraksi. Fraksi 9 dipilih karena menunjukkan positif menunjukkan aktivitas antioksidan pada KLT dan memiliki massa yang cukup (114 mg) untuk dipisahkan lebih lanjut. Gambar 5.9 menunjukkan pola noda pemisahan fraksi F 10-9.



Gambar 5.9. Pola noda fraksi F10-(1-11) pada KLT dengan eluen heksan : etil asetat (7:3) (a) dicelup DPPH; (b) di bawah lampu UV 254; (c) di bawah lampu UV 356; (d) setelah disemprot H_2SO_4 0,1 N



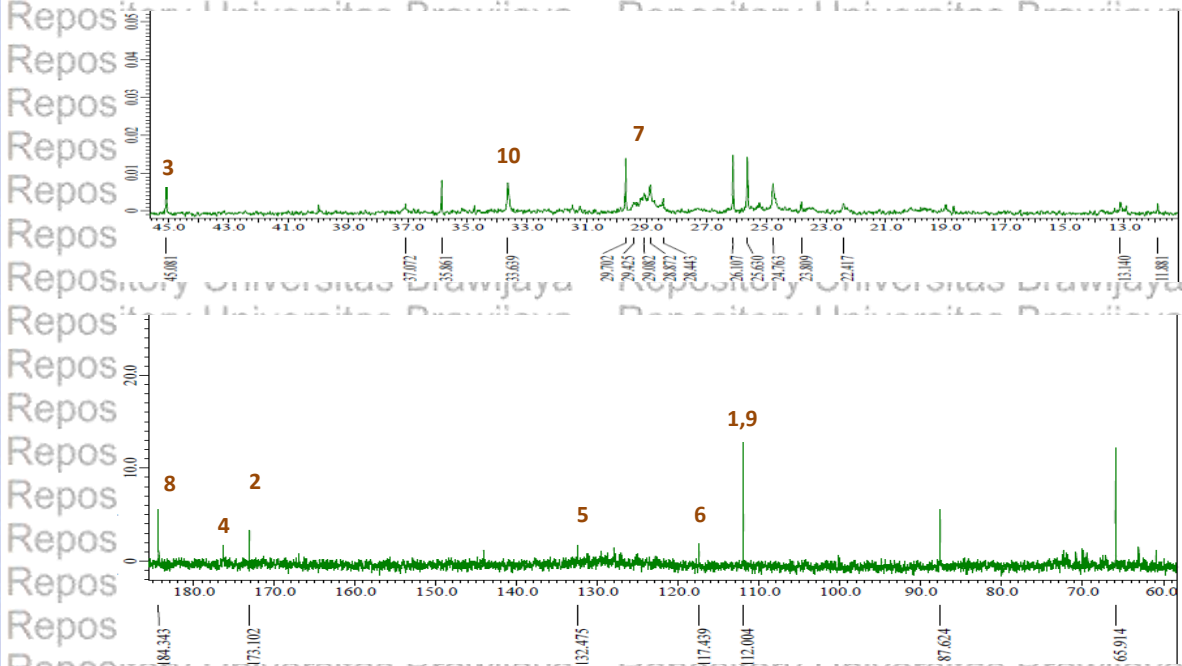
Pemisahan F 10-9 dilakukan menggunakan kolom fasa terbalik menggunakan ODS dengan pelarut metanol:air (9:1) secara isokratik. Pemisahan ini menghasilkan 21 fraksi. Fraksi aktif antioksidan diperoleh pada F10-9-1. Fraksi 10-9-1 dilanjutkan untuk diidentifikasi karena memiliki massa yang cukup untuk identifikasi (45,5 mg). Gambar 5.10. menunjukkan hasil KLT fraksi F10-9-1 yang masih belum murni..



Gambar 5.10. Pola noda fraksi F10-9-(1-7) pada KLT dengan eluen heksan : etil asetat (1:1) (a) dicelup DPPH; (b) di bawah lampu UV 254; (c) di bawah lampu UV 356; (d) setelah disemprot H_2SO_4 0,1 N

5.4.2 Inteprestasi Spektrum NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*)

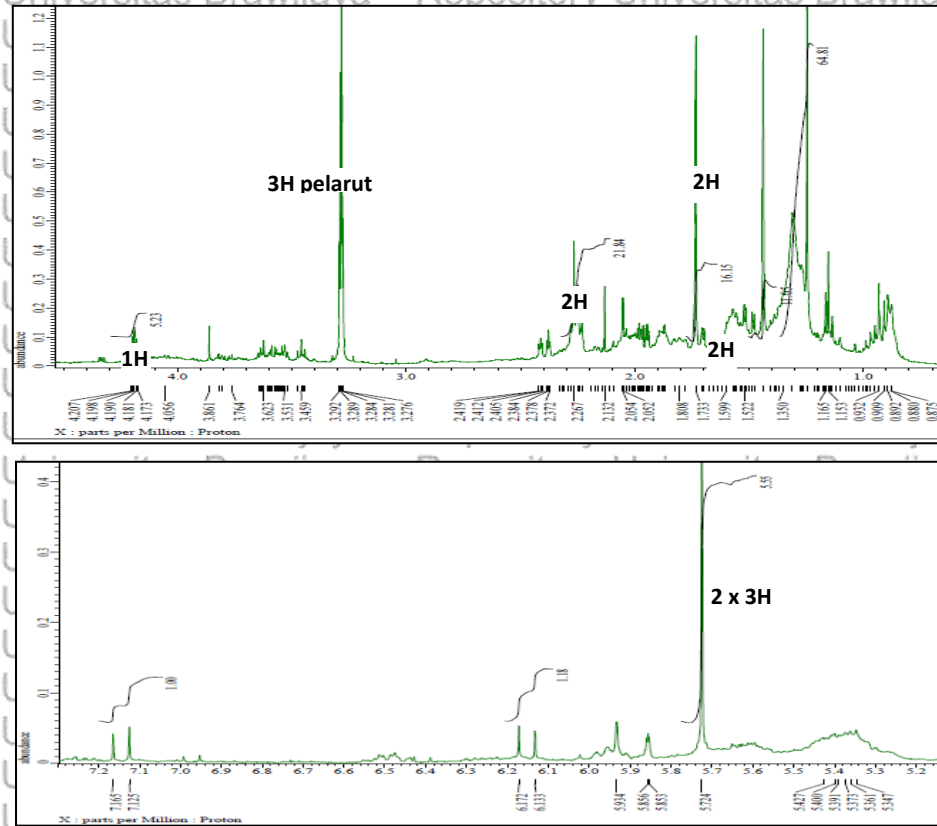
Isolat F-10-9-1 berupa cairan pekat yang berwarna kuning oranye yang larut dalam metanol. Isolat ini masih merupakan campuran beberapa molekul senyawa dengan satu senyawa dominan. Isolat kemudian dianalisis menggunakan NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) untuk mengetahui jumlah, jenis lingkungan proton, serta untuk mengetahui jumlah, jenis dan pemecahan sinyal karbon yang tergantung dari jumlah proton yang terikat (Janie, *et al.*, 2006).



Gambar 5.11. Spektrum ^{13}C -NMR isolat F-10-9-1 dalam metanol- D_4

Data spektrum ^{13}C -NMR pada Gambar 5.11 menunjukkan adanya 10 sinyal karbon dari senyawa dominan yang terdiri dari empat karbon ikatan rangkap ($\text{C } sp^2$) dengan nilai perseseran kimia di atas 100 ppm dan enam karbon ikatan tunggal ($\text{C } sp^3$) dengan nilai pergeseran kimia di bawah 100 ppm. Hasil pembacaan spektrum ^{13}C -NMR disajikan pada Gambar 5.12.

Data spektrum ^{13}C -NMR menunjukkan terdapat dua sinyal karbon R-CH_3 pada nilai pergeseran kimia (δ_c) 112,004 ppm (C1 dan C9). Keberadaan sinyal karbon untuk CH_2 diperoleh pada pergeseran kimia (δ_c) 45,081 (C3) dan 29,702 (C7). Sinyal karbon yang menunjukkan keberadaan C=O ditunjukkan pada pergeseran kimia δ_c 173,102 (C2), 176,5 (C4), dan 184,343 ppm (C8). Karbon C5 dan C6 merupakan karbon rangkap 2 karena pergeseran kimia δ_c berada di atas 100 ppm, yaitu 117,439 (C6) dan 132,475 (C5) ppm. (Gambar 5.11).



Gambar 5.12. Hasil Pembacaan Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Isolat F-10-9-1 pada 500 MHz dalam Metanol- D_4

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ menginformasikan jumlah, jenis, dan lingkungan dari setiap proton pada suatu senyawa. Spektrum isolat F-10-9-1 menunjukkan bahwa terdapat pergeseran kimia δ_{H} antara 0 – 7,2 ppm (Gambar 5.12). Spektrum $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan bahwa terdapat beberapa gugus yang memiliki 3 buah H pada δ_{H} 5,74 ppm yang merupakan puncak *singlet*. Gugus yang mengandung 2 buah H terdeteksi pada δ_{H} 1,697-1,707 ppm (*doublet*), 1,733 ppm (*singlet*), dan 2,266 ppm (*singlet*).

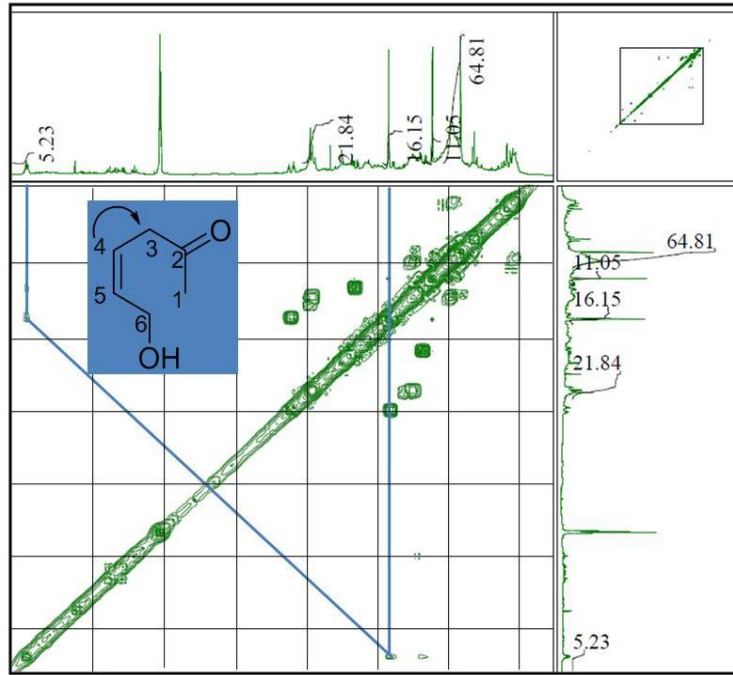
Gugus yang hanya memiliki satu buah atom H terdeteksi pada pergeseran kimia δ_{H} 6,133-6,172 ppm (*triplet*). Tabel pergeseran kimia disajikan pada Tabel 5.9.



Tabel 5.9. Pergeseran kimia NMR Karbon dan Proton

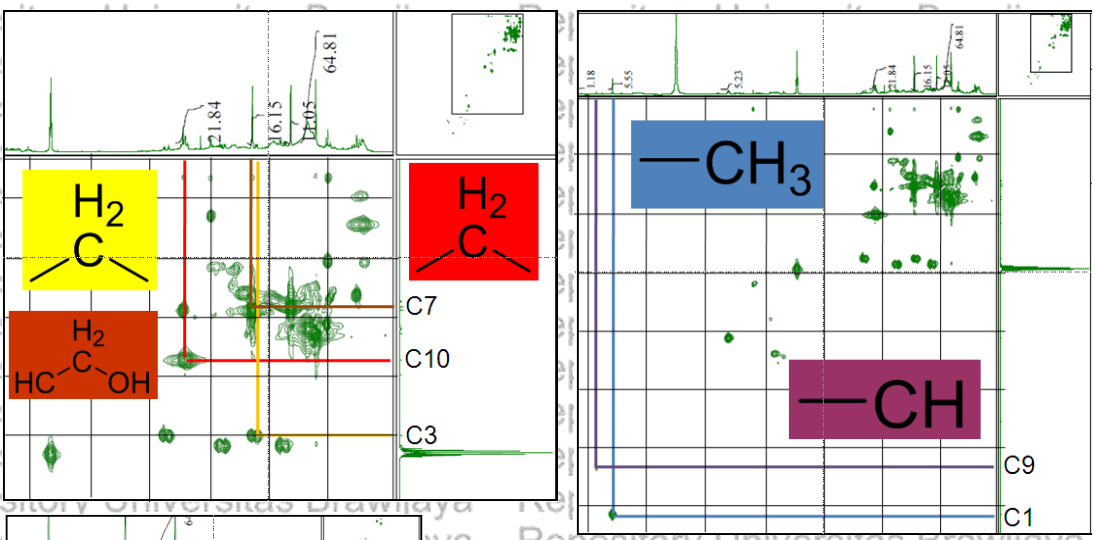
Posisi	Pergeseran / δ_C (ppm)	Pergeseran / δ_H (ppm)	Integrasi	KonstantaKopling / J (Hz)
1	112,004	5,724 (s)	3H	-
2	173,102	-	-	-
3	45,081	2,372 – 2,384 (t)	1H	5,2
4	176,5	-	-	-
5	132,475	-	-	-
6	25,630	1,47 – 1,49 (d)	1H	3,6
7	26,107	1,53 – 1,54 (d)	1H	3,6
8	184,343	-	-	-
9	112,004	5,724 (s)	3H	-
10	29,702	1,733 (d)	2H	2,1

Spektrum *Homonuclear Correlation Spectroscopy* (^1H - ^1H COSY) digunakan untuk menentukan korelasi H dengan H tetangga melalui kontur yang muncul pada spektrum. Spektrum ini menunjukkan proton yang berdekatan pada suatu senyawa (Supratman, 2010). Data spektrum ^1H - ^1H COSY senyawa hasil pemurnian menunjukkan terdapat korelasi antara proton pada gugus C=C dengan CH di posisi C3 dan C4.

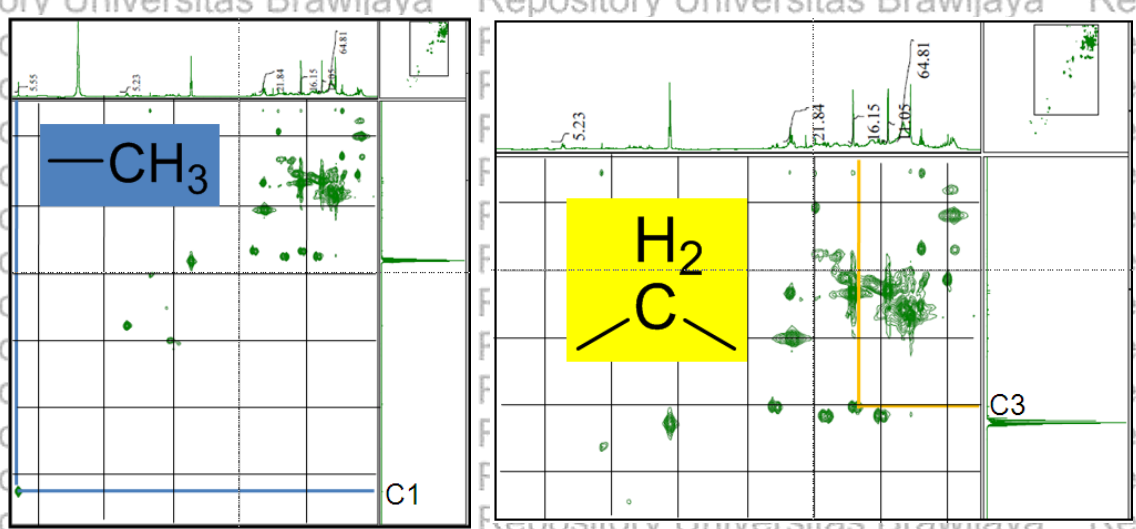
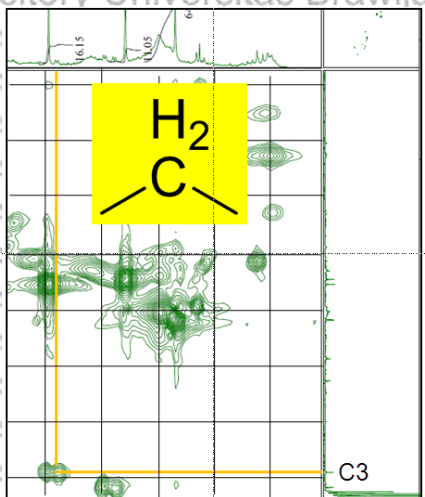


Gambar 5.13. Struktur a Spektrum COSY Isolat F 10-9-1 dalam Metanol-D4

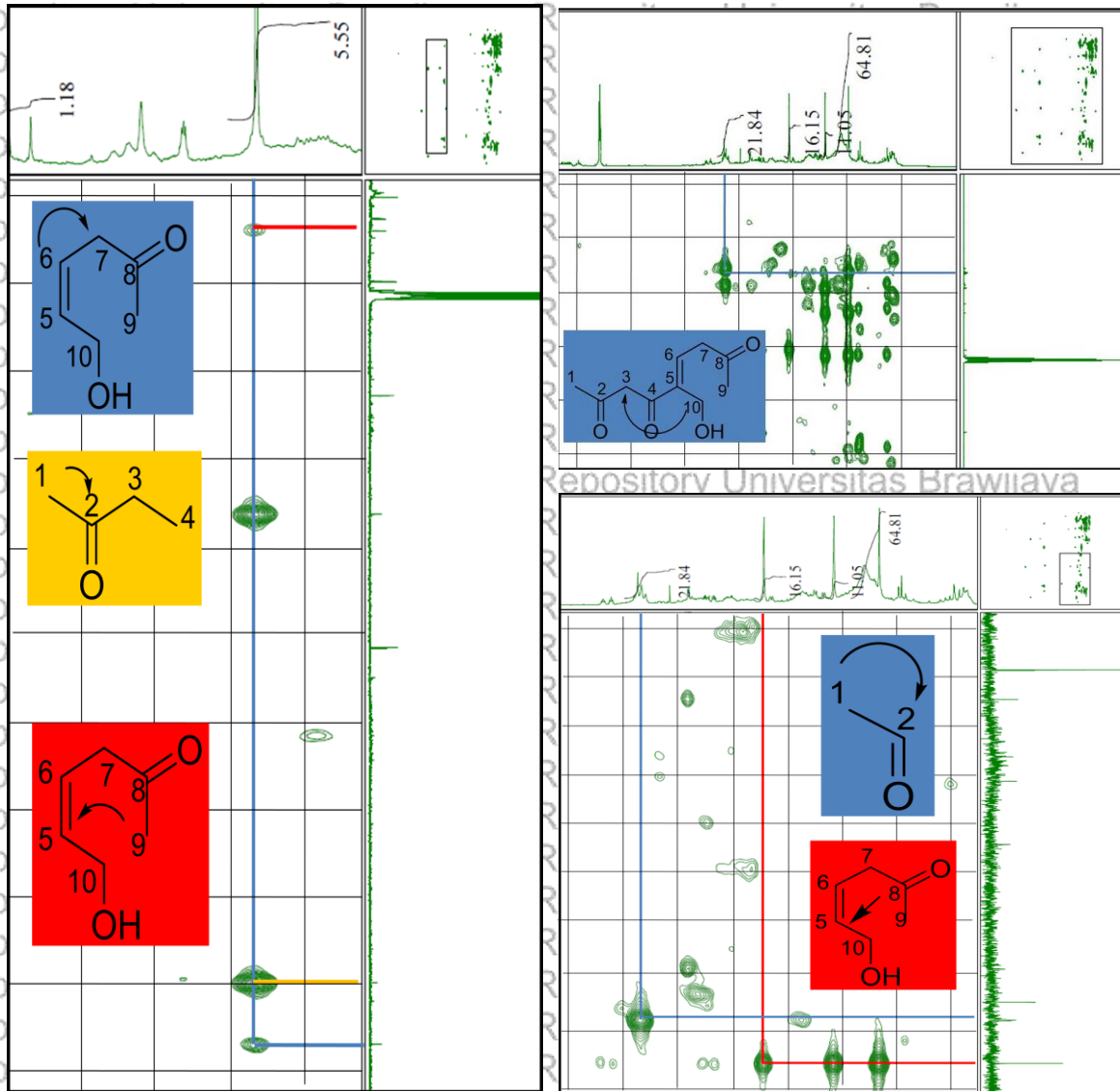
Informasi tentang pemecahan sinyal dari setiap karbon, dapat diketahui dengan melakukan pengukuran ^{13}C -NMR dengan teknik dua dimensi *Heteronuclear Multiple Quantum Coherence* (HMQC) (Pavia, *et al.*, 2009). Spektrum data HMQC menunjukkan adanya korelasi atau hubungan antara proton dan karbon sebanyak 1 ikatan, sehingga dapat mengetahui dugaan suatu karbon tertentu yang terikat dengan proton dan jumlah proton yang terikat dengan karbon tersebut (Janie, 2006). Nilai pergeseran kima karbon yang memiliki proton juga dapat ditentukan dari spektrum HMQC (Mitchell dan Costisella, 2007).



Gambar 5.14. Spektrum HMQC isolat F 10-9-1 (125 MHz dalam Metanol-D)



Gambar 5.15. Spektrum HMQC isolat F 10-9-1 (125 MHz dalam Metanol-D)



Gambar 5.16. Spektrum HMBC Beberapa Struktur dari Isolat F 10-9-1 dalam Metanol-D₄

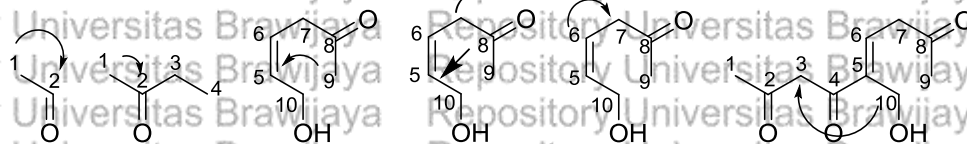
Data spektrum HMQC menunjukkan terdapat hubungan atom hidrogen di daerah 5,724 ppm dengan atom karbon di daerah 112,004 ppm (C1 dan C10) yang membentuk gugus metil (CH₃). Sinyal karbon pada daerah 45,081 ppm (C3) berhubungan dengan dua hidrogen pada 1,697-1,707 ppm membentuk gugus metin. Sinyal karbon pada pergeseran kimia 117,493 ppm (C4) berhubungan dengan satu atom hidrogen pada daerah 6,133-7,172 ppm. Dua atom hidrogen pada daerah pergeseran kimia 1,733 ppm berhubungan dengan atom karbon pada daerah 29,702 ppm (C6). Dua atom hidrogen pada daerah pergeseran kimia 2,226 ppm



berhubungan dengan atom karbon pada pergeseran kimia 33,639 ppm (C8). Hasil pembacaan spektrum HMQC disajikan pada Gambar 5.14 dan 5.15.

Pengukuran spektrum *Heteronuclear Multiple Bond Connectivity* (HMBC) digunakan untuk menentukan posisi gugus fungsi suatu senyawa dengan korelasi antara proton dan karbon yang jaraknya 2-3 ikatan (2J dan 3J), bahkan terkadang sampai 4 ikatan (4J) (Supratman, 2010). Spektrum hasil pemurnian isolat F 10-9-1 menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara gugus metil (C1) dengan gugus keton (C2). Korelasi juga ditunjukkan oleh gugus metil dari C10 dengan gugus keton C9. Gugus metil dari C1 juga menunjukkan terdapat hubungan dengan ikatan angkap pada C5. Gugus metin (CH_2) pada C6 menunjukkan hubungan dengan gugus metin yang lain pada C8. Gugus keton pada C2 menunjukkan hubungan dengan gugus $\text{C}=\text{C}$ pada C5 (Gambar 5.16).

Berdasarkan pembacaan spektrum seperti yang diuraikan di atas, maka didapatkan fragmen (Gambar 5.21) dan nilai pergeseran kimia ^1H , ^{13}C , dan 2D-NMR isolat F 10-9-1 sebagai berikut:



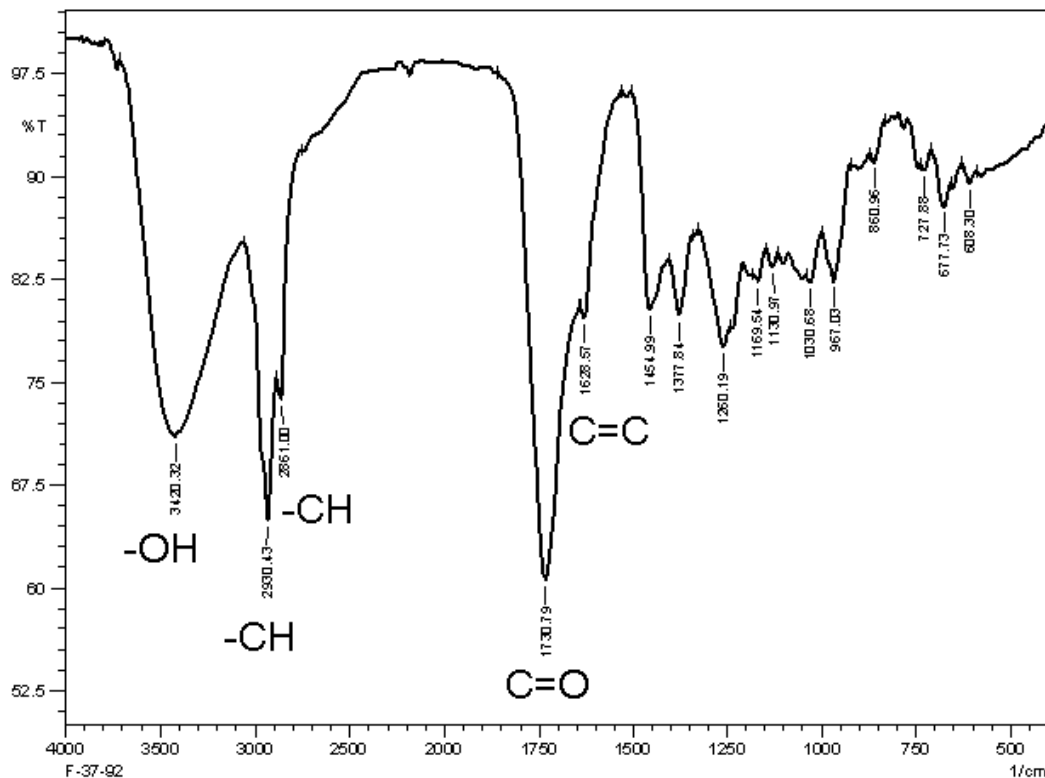
Gambar 5.17. Fragmen Senyawa Isolat F 10-9-1 spektrum HMBC & HMQC

5.4.3 Identifikasi gugus fungsional F 10-9-1 dengan Spektroskopi Inframerah (IR)

Identifikasi gugus fungsi dilakukan menggunakan spektroskopi infra merah (IR). Spektrum infra merah memberikan banyak informasi serapan yang menunjukkan sistem vibrasi interaksi secara kompleks dalam suatu molekul. Pola vibrasi masing-masing molekul memberikan karakteristik pola serapan dalam



spektrum (William, 1991). Setiap spektra pada IR merupakan karakteristik suatu gugus fungsi yang spesifik. Serapan untuk gugus fungsi utama berada pada daerah sekitar $4000-1500\text{ cm}^{-1}$, sedangkan serapan daerah sidik jari dari molekul yang serapannya sangat kompleks berada pada kisaran $1200-500\text{ cm}^{-1}$ (Sitorus, 2013). Spektrum infra merah F 10-9-1 disajikan pada Gambar 5.18.



Gambar 5.18. Spektrum infra merah fraksi F 10-9-1 rumput laut hijau *C. racemosa* kering

Hasil identifikasi spektrum inframerah menunjukkan terdapat 16 puncak untuk fraksi F 10-9-1. Angka di bawah puncak merupakan frekwensi yang menunjukkan keberadaan suatu gugus fungsi. Daerah serapan gugus fungsi utama menunjukkan bahwa terdapat gugus OH yang berikatan pada puncak $3420,32\text{ cm}^{-1}$. Gugus CH simetris dan asimetris teridentifikasi pada bilangan gelombang $2930,43$ dan $2661,00\text{ cm}^{-1}$. Keberadaan keton ($\text{C}=\text{O}$) ulur teridentifikasi pada $1730,79\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada daerah sidik jari juga mengidentifikasi $\text{C}=\text{O}$ berikatan CH_2 pada $1260,19$ dan



1169,54 cm^{-1} . Gugus untuk C-O ulur teridentifikasi pada bilangan gelombang 1130,97 dan 1030,68 cm^{-1} (Tabel 5.10)

Tabel 5.10. Analisis gugus fungsi Fraksi F 10-9-1 rumput laut hijau C. *racemosa* kering

No.	Puncak (cm^{-1})	Intensitas	Gugus Fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1}) dan gugus fungsi	
				Pavia et al., 1996.	Sahoo, et al. 2012
1.	3420,32	m	OH ulur	OH berikatan (3400-3200)	OH berikatan (3550; 3500)
2.	2930,43	s	C-H ulur simetris, asimetris	C-H alkana (3000-2850) simetris, asimetris	OH ulur, berikatan di dalam molekul (3000-2950)
3.	2661,00	m	C-H ulur simetris, asimetris	C-H ulur, simetris, asimetris (2865-2845)	CH_2 (2750-2700)
4.	1730,79	s	C=O	C=O ketone (1725-1705)	C=O (1750-1700)
5.	1628,57	m	C=C berkonjugasi dengan C=O	C=C alkana (1680-1600); C=C berkonjugasi dengan C=O (1660-1580)	
6.	1454,99	m	C-H ₃ , tekuk	C-H ₂ CH_3 , CH_2 tekuk (1450; 1375; 1465)	C-O (1450-1400)
7.	1377,84	m	CH_2 kibasan	CH_2 kibasan (1400-1200)	
8.	1260,19	m	$\text{CH}_2\text{-CO-CH}_2$	$\text{CH}_2\text{-CO-CH}_2$ (1230-1100)	OH tekuk (1300-1250)
9.	1169,54	m	$\text{CH}_2\text{-CO-CH}_2$	$\text{CH}_2\text{-CO-CH}_2$ (1230-1100)	
10.	1130,97	m	C-O	C-O ulur (1260-1000)	
11.	1030,68	m	C-O	C-O ulur (1260-1000)	
12.	967,03	m	C-H di luar bidang	C-H di luar bidang (1000-650)	
13.	860,96	m	C-H di luar bidang	C-H di luar bidang (1000-650)	=C-H (850;800) di luar bidang
14.	727,88	m	CH_2 tekuk	CH_2 tekuk, lekukan (1430-715)	
15.	677,73	m			
16.	608,30	m			

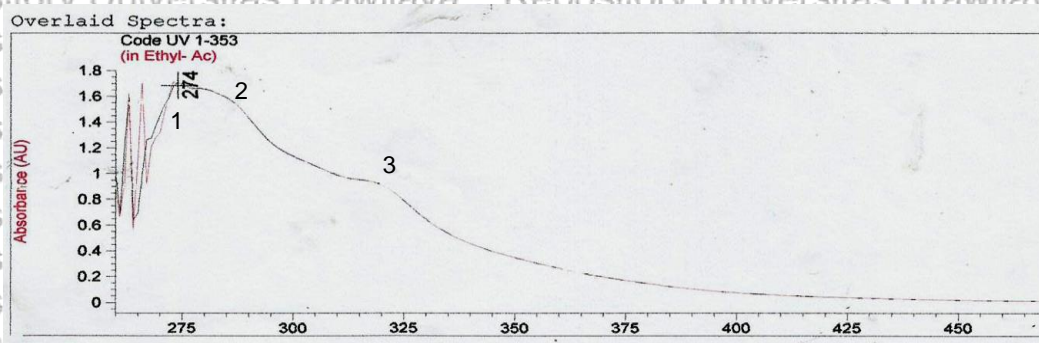
Keberadaan gugus C-H di luar bidang ditunjukkan dengan adanya pita serapan pada 967,03 dan 860,96 cm^{-1} , sedangkan untuk getaran CH_2 tekuk ditunjukkan dengan adanya pita serapan pada 727,88. Menurut Pavia et al. (1996) dan Sahoo, et al. (2012) OH berikatan berada pada bilangan gelombang 3200-2500 cm^{-1} , keton (C=O) pada daerah 1700-1750 cm^{-1} , dan CH di luar bidang pada bilangan gelombang 1000-650 cm^{-1} . Menurut Socrates (2001), C-O ulur berada pada pita



serapan $1200-1000\text{ cm}^{-1}$, CH_2 tekuk pada $1430-715\text{ cm}^{-1}$. Ditambahkan oleh Heredia-Guerrero, *et al.* (2014), OH ulur teridentifikasi pada 3347 cm^{-1} , CH_2 ulur pada 2927 cm^{-1} , C-O ulur pada 1707 cm^{-1} , CH_2 guntingan pada 1463 cm^{-1} , CH_2 tekuk pada 1344 cm^{-1} dan CH_2 di luar bidang pada 723 cm^{-1} .

5.4.4 Identifikasi F 10-9-1 dengan Spektrofotometri Ultraviolet (UV)

Spektroskopi ultraviolet (UV) dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang serapan maksimum senyawa F 10-9-1. Pengamatan spektroskopi ini dilakukan untuk mengetahui jenis transisi elektronik dari isolat tersebut. Tidak semua ikatan dapat diamati pada spektroskopi UV-Vis. Spektroskopi UV-Vis hanya mengamati ikatan yang memenuhi harga λ_{maks} antara 200-800 (Sitorus, 2009).



Gambar 5.19. Hasil Pembacaan Spektrum Ultraviolet fraksi F 10-9-1 C. *racemosa* dalam etil asetat

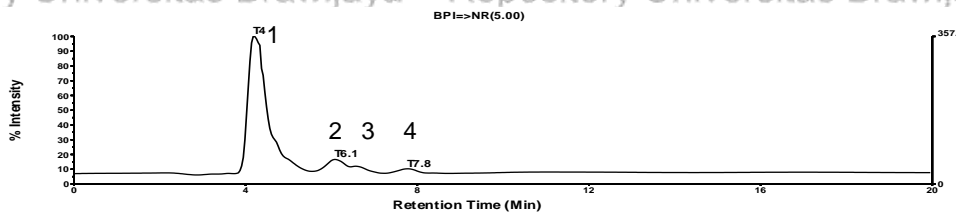
Hasil analisis spektrum menunjukkan terdapat tiga puncak teridentifikasi.

Puncak tertinggi pada panjang gelombang pada 274 nm. Puncak kedua pada 285 nm. Puncak yang ketiga terdapat pada 325 nm. Puncak pada 274 dan 285 nm diduga mengalami transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ untuk alkena. Puncak pada 325 nm menunjukkan transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ yang diduga menunjukkan keberadaan ikatan rangkap pada keton. Menurut Pavia, *et al.* (1996) alkena dan alkuna pada molekul tak jenuh dapat mengalami transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Molekul tak jenuh yang mengandung satu gugus oksigen mengalami transisi $n \rightarrow \pi^*$.



5.4.5 Identifikasi F 10-9-1 dengan kromatografi cair dan spectrum massa (LC-MS)

Hasil analisis dengan LC-MS juga menunjukkan adanya 4 puncak teridentifikasi. Keempat puncak tersebut menunjukkan waktu retensi yang berbeda. Keberadaan puncak-puncak tersebut menunjukkan terdapat satu puncak dominan dari isolat F 10-9-1. Kromatogram puncak hasil LC-MS disajikan pada Gambar 5.21.



Gambar 5.20. Kromatogram LC-MS *C. racemosa* kering fraksi F 10-9-1.

Hasil isolasi pada F 10-9-1 diidentifikasi lebih lanjut menggunakan LC-MS. Gambar 5.20 menunjukkan bahwa terdapat puncak dominan pada waktu retensi 4,18 menit. Puncak yang lain terdeteksi pada 6,01; 6,57; dan 6,76 menit. Keberadaan senyawa dominan diketahui dari luas area puncak yang terdeteksi. Luas area puncak yang terdeteksi disajikan pada Tabel 5.9.

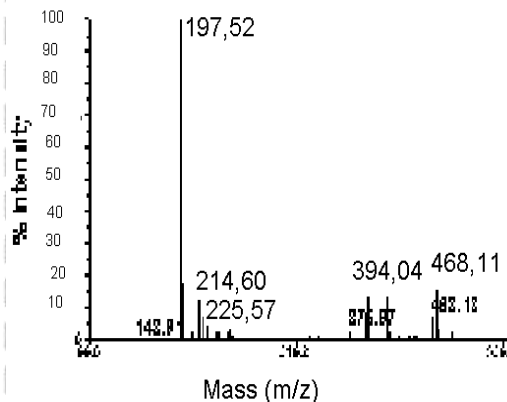
Tabel 5.11. Luas Area dan Persen Relatif dari LC-MS isolat F 10-9-1

No. puncak	waktu retensi (menit)	Area	% relatif
1.	4,18	4696,05	87,83
2.	6,01	348,94	6,53
3.	6,57	165,28	3,09
4.	7,76	136,57	2,55
Total		5346,84	100

Tabel 5.11 menunjukkan persen relatif untuk senyawa dominan isolat F 10-9-1 sebesar 87,82 % yang teridentifikasi pada waktu retensi 4,18 menit. Puncak pada waktu retensi 6,01 menit memiliki kelimpahan sebesar 6,53%, pada 6,57 menit memiliki kelimpahan sebesar 3,09%, dan pada 7,76 menit memiliki kelimpahan sebesar 2,55%. Puncak utama akan diidentifikasi lebih lanjut untuk identifikasi jenis



senyawa. Pola spektrum massa puncak utama isolat F-10-9-1 disajikan pada Gambar 5.21.



Gambar 5.21. Spektrum Massa LC-ESI untuk F 10-9-1 dengan waktu retensi 4,2 menit.

Hasil LC-ESI untuk waktu retensi 4,2 menit menunjukkan spektrum massa dengan puncak utama (base peak) terdapat pada m/z 197,52. Puncak massa tertinggi diduga merupakan berat molekul senyawa penyusun pada isolat F 10-9-1.

Nilai m/z puncak utama dari isolate F 10-9-1 lebih rendah daripada beberapa senyawa yang telah ditemukan sebelumnya. Caulerpin memiliki nilai m/z 398 (Chay, et al., 2014), Racemosin A nilai m/z 369 dan Racemosin B memiliki nilai m/z 337 (Liu, et al., 2013).

5.4.6 Usulan Dugaan Senyawa Hasil Isolasi Rumput Laut Hijau *C. racemosa* Kering Fraksi F 10-9-1.

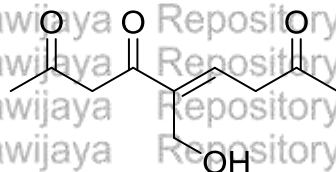
Berdasarkan data spektrum NMR proton, karbon, COSY, HMQC, dan HMBC, maka dugaan struktur senyawa bioaktif antioksidan pada isolat F 10-9-1 adalah (E)-(E)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione dengan rumus formula $C_{10}H_{14}O_4$.

Dugaan rumus molekul tersebut digunakan untuk memperoleh dugaan nilai atau harga *Double Bond Equivalent* (DBE) dengan rumus seperti berikut:

$$\text{Nilai DBE} = \sum \text{atom C} - \frac{\sum \text{atom O}}{2} - \frac{\sum \text{Halogen}}{2} - \frac{\sum \text{atom N}}{2} + 1$$



Berdasarkan perhitungan dari rumus tersebut, diperoleh harga DBE isolat F 10-9-1 adalah sebesar 4, yang artinya memiliki 4 buah ikatan rangkap. Struktur dugaan senyawa tersebut seperti pada Gambar 5.22.



Gambar 5.22. Struktur Senyawa (*E*)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione

(*E*)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione merupakan golongan poliketida.

Poliketida merupakan kelompok senyawa alami yang dihasilkan oleh jamur, bakteri, dan tanaman (Zhu, *et al.* 2008). Golongan senyawa ini banyak ditemukan pada biota laut (Nicoletti dan Trincone, 2016; Afiyatullof, *et al.*, 2017). Poliketida aktif sebagai antioksidan (Samanthi, *et al.*, 2015). Poliketida merupakan metabolit alami yang struktur dasarnya aktif sebagai anti-kanker, anti-jamur, antibiotic, pembasmi parasit, dan immunomodulator (Staunton dan Weissman, 2001).

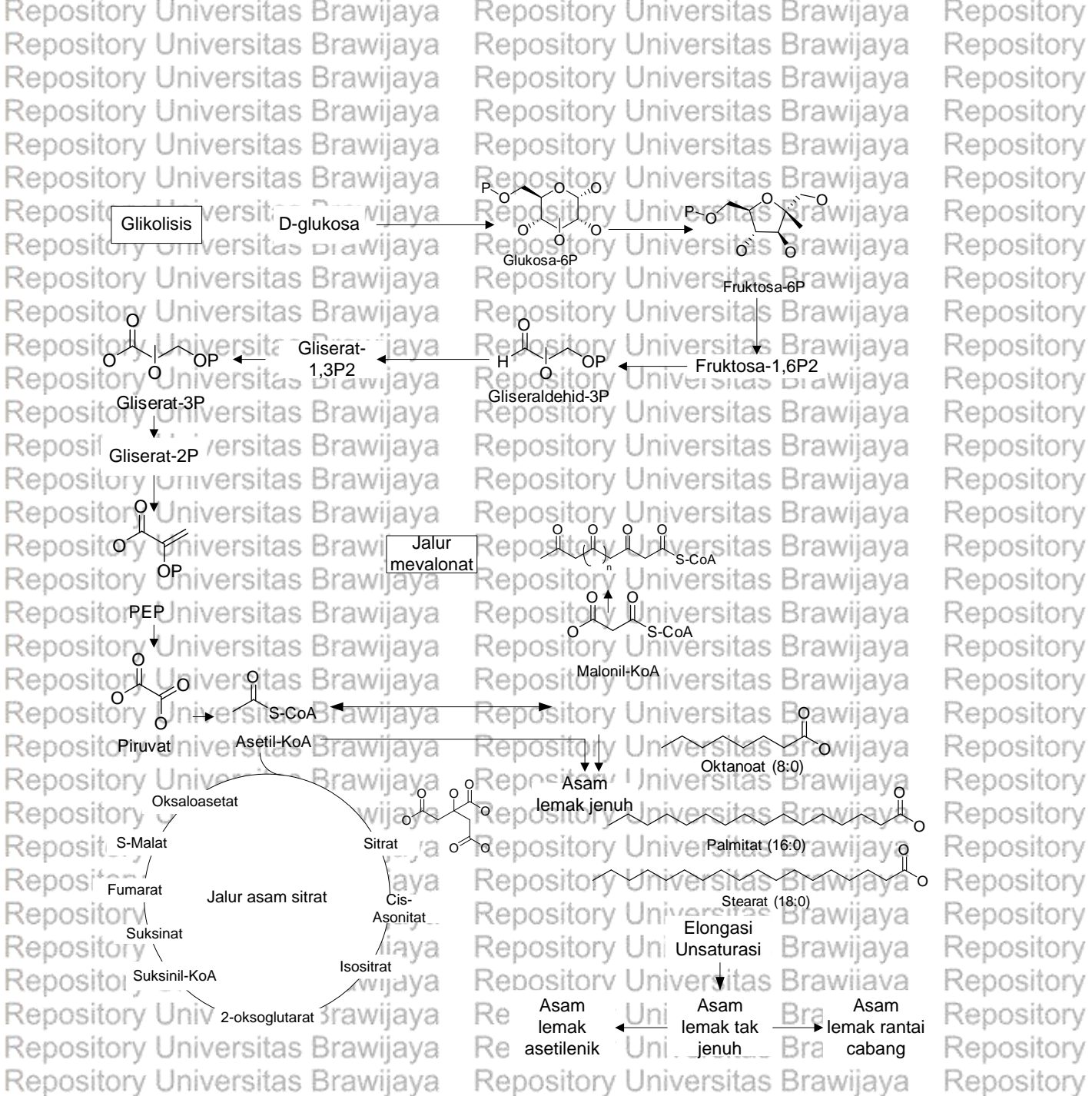
Sifat antioksidan senyawa (*E*)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione diperoleh dari gugus OH dan ikatan rangkap. Menurut Leopoldini, *et al.* (2004), ikatan hidrogen pada gugus OH berperan sebagai donor H-bond meskipun stabilitas conformer tergantung pada ikatan-ikatan intramolekuler dalam rantai samping. Ikatan rangkap merupakan ikatan yang mudah teroksidasi. Menurut Huang dan Wang (2004), hal ini dikarenakan kemampuan ikatan rangkap mendonorkan elektron yang merupakan peranan antioksidan preventif.

Jalur biosintesa poliketida pada tanaman berasal dari jalur glukosa, dimana golongan poliketida merupakan metabolit pertengahan sebelum terbentuk metabolit sekunder. Jalur pembentukan poliketida mirip dengan pembentukan asam lemak,



yaitu berasal dari Asetil KoA (Anulika, etal. 2016). Biosintesa poliketida dikatalisasi oleh suatu enzim yang kompleks, disebut poliketida sintetase (PKS) yang mirip dengan *Fatty Acid Synthetase* (FAS). Poliketida terbentuk dari unit kecil *acyl*, seperti asetat, propionat, malonat atau metilmalonat (Zhu, et al., 2008).

Jalur biosintesa poliketida berdasarkan KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) map01060 menunjukkan bahwa poliketida secara umum disintesa dari glukosa melalui jalur glikolisis hingga asetil-KoA yang kemudian menjadi malonil melalui jalur mevalonat sehingga dihasilkan poliketida. Pembentukan rantai poliketida kemudian masuk pada jalur biosintesa poliketida.

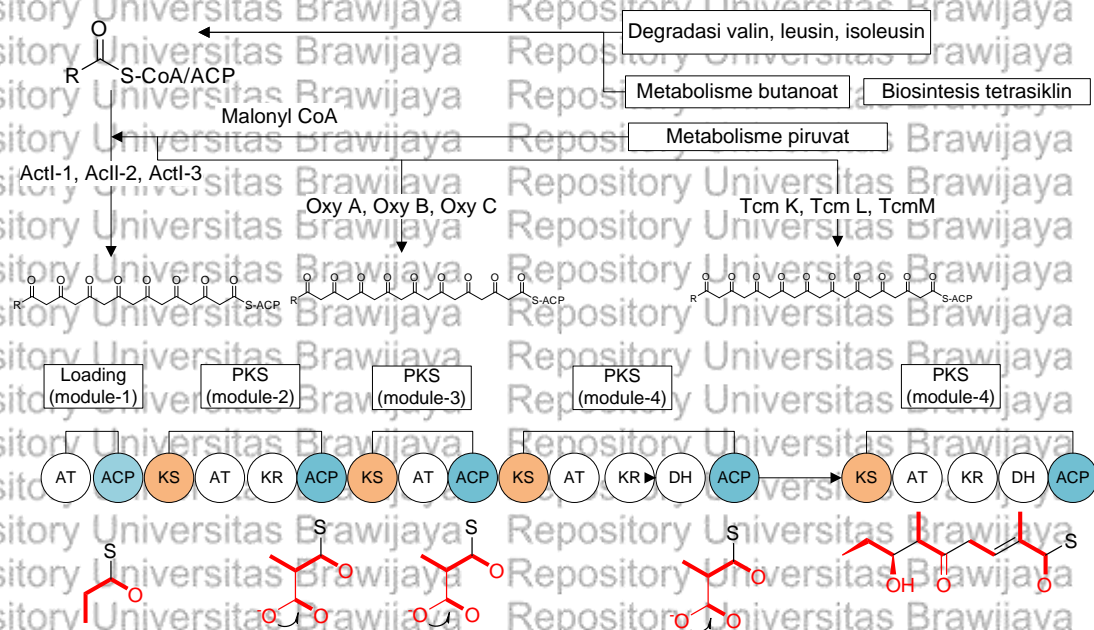


Gambar 5.23. Jalur Biosintesa Poliketida Melalui Jalur Glikolisis dan Mevalonat (Sumber: KEGG map01060)

Jalur biosintesa melalui glikolisis dapat diperoleh karena kandungan karbohidrat *C. racemosa* yang cukup tinggi. Pembentukan rantai poliketida pada jalur biosintesa poliketida Tipe II ini melalui jalur asetil-KoA yang diperoleh dari degradasi asam amino valin, leusin dan isoleusin dan metabolisme butanoat. Asam amino valin, leusin, dan isoleusi ini terdeteksi pada identifikasi asam amino



C. racemosa segar, semi kering, maupun kering. Jalur biosintesa poliketida dari glikolisis ditunjukkan pada Gambar 5.23.



Gambar 5.24. Jalur Biosintesa Poliketida Tipe I Melalui Jalur Asetil-KoA
(Sumber: KEGG ko01056 dan Shen, 2003)

Senyawa (*E*)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione ini diduga disintesa melalui jalur biosintesa poliketida tipe I. Biosintesa poliketida tipe I melibatkan enzim poliketida sintase tipe I. Enzim poliketida sintase tipe I merupakan enzim multifungsi yang diorganisasikan ke dalam modu yang masing-masing memiliki seperangkat aktivitas non-iteratif yang berbeda. Enzim poliketida sintase tipe I ini bertanggung jawab untuk katalisis perpanjangan rantai poliketida satu siklus (Shen, 2003). Enzim poliketida tipe I memiliki tiga domain, yaitu satu asiltransferase (AT), satu protein pembawa asil (ACP), dan satu β ketoasil sintetase (KS), dimana ketiganya bertugas semilih, mengaktifasi dan mengkatalisis suatu dekarboksilatif kondensasi dekarboksilasi claisen antara unit ekstender dan rantai poliketida yang terbangun (Cheng, *et al.* 2009) (Gambar 5.24).



5.4.7 Kesimpulan Penelitian Tahap IV

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian tahap 3 ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil isolasi dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom diperoleh isolat berupa cairan pekat berwarna oranye yang larut dalam metanol. Penampakan noda pada KLT ODS setelah disemprot dengan H₂SO₃ 10% menghasilkan noda berwarna kecoklatan.
2. Isolat F 10-9-1 diperoleh dari kromatografi kolom menggunakan fase diam ODS dan fase gerak metanol:air (9:1).
3. Hasil LC-MS isolat F 10-9-1 menunjukkan keberadaan senyawa dominan dengan persen relative 87% dan memiliki massa m/z sebesar 197,52.
4. Dugaan struktur senyawa dominan pada isolat F 10-9-1 adalah (*E*)-5-(*hydroxymethyl*)non-5-ene-2,4,8-trione yang merupakan golongan poliketida.

5.5 Keterbaruan Penelitian

Kebaruan penelitian ini adalah pada konsep pengeringan pada rumput laut hijau *C. racemosa*, dimana selama ini *C. racemosa* atau yang biasa disebut anggur laut lebih banyak dikonsumsi/ didistribusikan dalam bentuk segar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses pengeringan terhadap *C. racemosa* tidak banyak berpengaruh terhadap komposisi kimia. Konsep pengeringan ini termasuk baru karena belum ada laporan perlakuan pengeringan terhadap *C. racemosa*.

Proses pengeringan juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya serta masih mendapatkan senyawa bioaktif berupa poliketida, dimana poliketida ini adalah senyawa antara yang menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Sampai saat ini belum ada dilaporkan



senyawa dengan struktur (*E*)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione, baik dari golongan rumput laut hijau *C. racemosa* maupun dari tanaman yang lain.



BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlakuan kering, semi-kering, dan segar pada rumput laut hijau *C. racemosa* tidak mengakibatkan perbedaan komposisi kimia protein, lemak, karbohidrat, dan serat.
2. Aktivitas antioksidan dan daya reduksi, dan kandungan total fenol paling tinggi diperoleh dari perlakuan kering. Hasil skrining fitokimia ekstrak kasar *C. racemosa* menunjukkan keberadaan golongan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, karbohidrat, glikosida, saponin dan steroid.
3. Fraksi etil asetat menunjukkan kandungan total fenol, total flavonoid aktivitas antioksidan dan daya reduksi paling tinggi dibandingkan dari fraksi heksan dan methanol:air. Nilai EC_{50} pada fraksi etil asetat 0,08 mg/ml.
4. Senyawa utama pada isolat F 10-9-1 adalah (*E*)-5-(*hydroxymethyl*)non-5-ene-2,4,8-trione yang merupakan golongan poliketida.

6.2 Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rumput laut hijau *C. racemosa* memiliki kandungan gizi yang baik dan memiliki aktivitas antioksidan yang relatif tinggi. Oleh karena itu, untuk meningkatkan pemanfaatan *C. racemosa* sebagai sumber gizi maupun bioaktif perlu penelitian lebih lanjut tentang:

1. Pemurnian lebih lanjut pada isolat F 10-9-1 menggunakan kolom preparatif sehingga bisa diperoleh isolat senyawa murni



2. Analisis fraksi etil asetat rumput laut Hijau *C. racemosa* sebagai senyawa bioaktif sebagai antioksidan secara *in vitro* untuk aplikasi pangan.
3. Perlu penelitian lebih lanjut tentang keberadaan enzim asiltransferase, protein, pembawa asil, dan β ketoasil sintase untuk membuktikan jalur biosintesa tipe I.
4. Perlu penelitian lebih lanjut tentang senyawa murni dari fraksi yang lain untuk mendapatkan struktur yang lain.



DAFTAR PUSTAKA

Abderrahim, F., S.M Arribas, M.C.Gonzalez, dan L. Condezo-Hoyos. 2013. Rapid High-Throughput Assay to Asses Scavengeing Capacity Index Using DPPH. *Food Chemistry*, 141: 788-794.

Abirami, R.G and Kowsalya, S. 2012. Anticancer Activity of Methanolic and Aqueous Extract of *Ulva Vasciata* in Albino Mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4 (2): 681-684.

Afiyatullof, S.S., E.V. Leshchenko, D.V. Berdyshev, M.P. Sobolevskaya, A.S. Antonov, V.A. Denisenko, R.S. Popov, M.V. Pivkin, A.A. Udovenko, E.A. Pisyagin, G.V. Amsberg, dan S.A. Dyshlovoy. 2017. Zosteropenillines: Polyketides from the Marin-Derived Fungus *Penicillium thommi*. *Marine Drugs*, 15 (46): DOI: 10.3390/md15020046.

Ahmad, F., M.R. Sulaiman, W. Saimon, C.F. Yee, dan P. Matanjun. 2012. Proximate Compisition and Total Phenolic Contents of Selected Edible Seaweed from Semporna, Sabah, Malaysia. *Borneo Science*, 31.

Alamsjah, M.A., S. Hirao, F. Ishibashi, and Y. Fujita. 2005. Isolation and Structure Determination of Algicidal Compounds from *Ulva fasciata*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 69 (11): 2186-2192.

Alghazeer, R., F. Whida, E. Abduelrhman, F. Gammoudi and M. Naili. 2013. *In Vitro* Antibacterial Activity of Alkaloid Extracts from Green, Red, and Brown Macroalgae from Western Coast of Libya. *African Journal of Biotechnology*, 12 (51): 7086-7091.

Alonzo-Marcias, M., A. Cardador-Martinez, S. Mounir, G. Montejano-Gaitan, K. Alif. 2013. Comparative Study of the Effects of Drying Methods on Antioxidant Activity of Drying Strawberry (*Fragaria* Var. Camarosa). *Jornal of Food Research*, 2 (2): 92-107.

Amico, V., G. Oriente, M. Piattelli, C. Tringali. 1978. Caulerpenyne, An Unusual Sequiterpenoid, from the Green Alga, *Caulerpa prolifera*. *Tetrahedron Letters*, 38: 3693-3596.

Anguilar-Santos, G. 1970. Caulerpin, a New Red Pigment from Green Algae of the Genus *Caulerpa*. *Journal of Chemistry, Society*. 842-843.

Anjaneyulu, A.S.R., C.V.S. Prakash, K.V.S. Raju, dan U.V. Mallavadhani. 1992. Isolation of New Aromatic Derivatives from Marine Algal Species *Caulerpa racemosa*. *Journal of Natural Products*, 55 (4): 496-499.



Anulika, N.P., E.O. Ignatius, E.S. Raymond, O.I. Osasere, dan A.H. Abiola. 2016. The Chemistry of Natural Product: Plant Secondary Metabolites. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering*, 4 (8): 1-8.

Behera, S., S. Ghanty, F. Ahmad, S. Santra, dan S. Banerje. 2012. Uv-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation Assay of Paracetamol Tablet Formulation.

Bele, A.A. and A. Khale. 2011. An Overview on Thin Layer Chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2 (2): 256-267.

Benzie, I.F.F. dan J.J. Strain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The Frap Assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (0292): 70-76.

Bhuiyan, M.K.A., S. Qureshi, A.H.M. Kamal, S.A. Uddin, dan M.A.M. Shidique. 2016. Proximate Chemical Composition of Sea Grapes *Caulerpa racemosa* (J Agardh, 1873) Collected fro a Sub Tropical Coast. *Virology and Mycology*, 5 (2): 1-6. DOI: 10.4172/2161-0517.1000158.

Blazina, M., L. Ivesa, M. Najdek. 2009. *Caulerpa racemosa*: adaptive Varieties Studied by Fatty Acid Composition (Northern Adriatic Sea, Vrsar, Croatia). *European Journal of Phycology*, 44 (2): 183-189.

Borsook, H., H.W. Davenport, C.E.P. Jeffrey, dan R.C. Warner. 1936. The Oxidation of Ascorbic Acid and Its Reduction *in Vitro* and *in Vivo*. Laboratories of Biological Science, California Institute of Technology, Pasadena.

Box, A. A. Sureda, P. Tauler, J. Terrados, N. Marba, A. Pons and S. Deudero. 2010. Seasonality of Caulerpenyne Content in Native *Caulerpa prolifera* and Invasive *C. taxifolia* and *C. racemosa* var. *cylindracea* in Western Mediteran Sea. *Botanica Marina*, 53: 367-375.

Brunetti, C., M.D. Ferdinando, A. Finni, S. Pollastri, M. Tattini. 2013. Flavonoid as Antioxidant and Development Regulators: Relative Significance in Plant and Human. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 3540-3555.

Burtin, P. 2003. Nutritional Value of Seaweed. *Electron. Journal of Environment Agriculture Food Chem.*, 2 (4): 489-503.

Castro, X.U., M.M. Rubio, H.A. Baquero, and G.G. Martinez. 2006. Ultrasound-assisted Extraction of Polyphenol from Red Grapes (*Vitis vinifera*) Residues. IUFoST:20060638. 1315-1324. <http://dx.doi.org/10.1051/IUFoST:20060638>. Diakses tanggal 21 September 2009.

Cavalcanti, D.N., M.A.V. Gomes, A.C. Pinto, C.M. de Renze, R.C. Pereira, and V.L. Teixeira. 2008. Effect of Storage and Solvent Type in a Lipophylic Chemical



Profile of the Seaweed *Dyctyota menstrualis*. *Brazilian Journal of Oceanography*, 56 (1): 51-57.

Chamberlain, A. dan T. Pickering. 1997. Post Harvest of *Caulerpa racemosa* for Artisanal and Export Fisheries in Fiji. Fisheries and Marine Resource. Symposium VIIIth Pacific Sciences Inter-Congress The University of the South Pacific Fiji.

Chambial, S., S. Dwivedi, K.K. Shukla, P.J. John, dan P. Sharma. 2013. Vitamin C in Disease Prevention and Cure: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 28 (4): 314-328.

Chan, P.T., P. Matanjun, S.M. Yasir, T.S. Tan. 2014. Antioxidant Activities and Polyphenolic of Various Solvent Extracts of Red Seaweed, *Glacilaria changii*. *Journal of Applied Phycology*, DOI: 10.1007/s10811-014-0493-1.

Chandini, S.K., P. Ganesan, N. Bhaskar. 2008. *In vitro* Antioxidant Activities of Three Selected Brown Seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107: 707-713.

Cheng, Y.Q., J.M. Coughlin, S.K. Lim. Dan B. Shen. 2009. Type I Polyketide Synthases That Require Discrete Acyltransferases. *Methods Enzymol*, 459: 165-186. doi:10.1016/S0076-6879(09)04608-4.

Chew, Y.L., Y.Y. Lim, M. Omar and K.S. Khoo. 2008. Antioxidant Activity of Three Edible Seaweed from Two Areas in South Asia. *Food Science and Technology*, (41) 6: 1067-1072.

Chia, Y.Y., M.S. Kanthimathi, K.S. Khoo, J. Rajarajeswaran, H.M. Cheng, W.S. Yap. 2015. Antioxidant and Cytotoxic Activities of Three Species of Tropical Seaweeds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, DOI: 10.1186/s12906-015-0867-1.

Cho, S., H. Yang, Y.J. Jeon, C.J. Lee, Y.H. Jin, N.I. Baek, D. Kim, S.M. Kang, M. Yoon, H. Yong, M. Shimizu, D. Han. 2012. Phlorotannins of The Edible Brown Seaweed *Ecklonia cava* Kjellman Induce Sleep via Positive Allosteric Modulation of Gamma-Aminobutyric Acid Type A-benzodiazepine Receptor: A Novel Neurological Activity of Seaweed Polyphenol. *Food Chemistry*, 132: 1133-1142.

Ciesla, L., J. Kryszewski, A. Stochmal, W. Oleszek, M. Waksmundzka-Hajnos. 2012. Approach to Develop a Standardized TLC-DPPH• Test for Assessing Free Radical Scavenging Properties of Selected Phenolic Compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 70: 126-135.

Cox, S., N. Abu-Ghannam, and S. Gupta. 2010. An Assessment of the Antioxidant and Antimicrobial Activity of Six Species of Edible Irish Seaweeds. *International Food Research Journal*, 17: 205-220.



Cox, S., S. Gupta, dan N. Abu-Ghannam. 2012. Effect of Different Rehydration Temperatures on the Moisture and Phytochemical Constituents of Dried Edible Irish Brown Seaweed. *Food Sciences and Technology*, 47: 300-307.

Cuyckens, F and M. Claeys. 2004. Mass Spectrometry in Structure Analysis of Flavonoids. *Journal of Mass Spectrometry*, 39: 1-15.

de Oliveira, L.S, G.B. Gregoracci, G.G.Z. Silva, L.T. Salgado, G.A. Filho, M. Alves-Ferreira, R.C. Pereira and F.L. Thompson. 2012. Transcriptomic Analysis of the Red Seaweed *Laurencia dendroidea* (Florideophyceae, Rhodophyta) and Its Microbiome.

de Souza, E.T., D.P. de Lira, A.C. de Queiroz, D.J.C. da Silva, A.B. de Aquino, E.A.C. Mella, V.P. Lorenzo, G.E.C. de Miranda, J.X. de Araujo-Junior, M.C. de Oliveira Chaves, J.M. Barbosa-Filho, P.F. de Athaide-Filho, B.V. de Oliveira Santos, M.S. Alexander Moreira. 2009. The Antinociceptis and Anti-Inflammatory Activities of Caulerpin, a Bisindole Alkaloid Isolated from Seaweeds of the Genus *Caulerpa*. *Marine Drugs*, 7: 689-704.

Dembitsky, V.M and G.A. Tolstikov. 2003. Natural Halogenated Mononuclear Phenol Compounds and Their Derivates. *Chemistry for Sustainable Development*, 11: 567-575.

Devi, G.K., K. Manivannan, G. Thirumaran, F.A.A. Rajathi, P. Anantharaman. 2011. *In Vitro* Antioxidant Activities of selected Seaweed from Shoutheast Coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 205-211.

Devi, K.P., N. Suganthy, P. Kesika and S.K. Pandian. 2008. Bioprotective Properties of Seaweed: *In Vitro* Evaluation of Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity Against Food Borne Bacteria in Relation to Polyphenolic Content. *BMC Complementary and Alternative Medicine.*, 8 (38).

Djaeni, M., dan D.A. Sari. 2014. Low Temperature Seaweed Drying Using Dehumidified Air. International Conference on Tropical and Coastal Region Eco-Development 2014 (ICTCRED 2014). *Procedia Enviromental Science*, 23: 2-10.

Djapiala, F.Y., L.A.D.Y. Motolalu, F. Mentang. 2013. Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut *Caulerpa racemosa* yang berpotensi sebagai Antioksidan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(1).

Dummermuth, A.L., U. Karsten, K.M. Fisch, G.M. Konig, and C. Wiencke. 2003. Responses of Marine Macroalgae to Hydrogen-Peroxide Stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289: 103-121.

Farasat, M., R.A. Khavari-Nejad, S.M.B. Nabavi, F. Namjooyan. 2013. Antioxidant Properties of Two Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8 (1): 47-52.



Fidrianny, I., N. Puspitasari, W.M. Singgih. 2014. Antioxidant Activities, Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid of Various Shells Extract from Four Species of Legumes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7 (4): 42-46.

Ganesan, K., K.S. Kumar, P.V.S. Rao. 2011. Comparative Assesment of Antioxidant Activity in Three Edible Species of Green Seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest Coast of India. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12: 73-78.

Gartner, G. 2005. The Invasive Green Alga *Caulerpa racemosa* (Caulerpales: Ulvophyceae) on the Coast of Kalimnos (Southern Sporades, Greece) with Comment on Taxonomy and Distribution in the Mediterranean. *Naturwiss.-med. Ver. Innsbruck*.

Guilhaus M. 1995. Principle and Instrumentation in Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 30: 1519-1532.

Guiry, M.D. and G.M. Guiry. 2008. Systema Nature 2000/ Clasification. *Caulerpa racemosa*. <http://sn2000.taxonomy.nl/main/clasification/3576.htm>.

Gunlu, A. Gunlu N. 2014. Taste Activity Value, Free Amino Acid Content and Proximate Composition of Montain Trout (*Salmo trutta macrostigma* Dumeril, 1858) Muscles. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13 (1):58-72.

Gupta, S. and N. Abu-Ghannam. 2011. Bioactive Potential and Possible Health Effects of Edible Brown Seaweeds. *Trends in Food Science and Technology*, 20: 1-12.

Gupta, S., S. Cox dan N. Abu-Ghannam. 2011. Effect of Different Drying Temperature on the Mositure and Phytochemical Constituent of Edible Irish Brown Seaweed. *LWT-Food Science and Technlogy*, 30: 1-7.

Guyen, K.C., A. Percot, E. Sezik. 2010. Alkaloid in Marine Algae. *Marine Drugs*, 8: 269-284.

Hammed, A.M., T.P. Asiyandi-Hammed, I. Jaswir, A. Amid, dan M.Z. Alam. 2013. Effect of Drying Method on Nitric Oxide Inhibition Potential of Water Soluble Extracts of *Turbinaria turbinata*: A Brown Seaweed Species on Malaysian Origin. *American Journal of Drug Discovery and Development*. DOI: 10.3923/ajdd.2013.

Harbourne, J.B. 1973. *Phytochemical methods*. First edition Chapman and Hall Ltd. London. Kosasih P., Iwang S (penterjemah) 2006. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan ke4. ITB. Bandung.

Heredia-Guerrero, J.A., J.J. Benitez, E. Dominguez, I.S. Bayer, R. Cingolani, A. Athanassiou, dan a. Heredia. 2014. Infra Red and Raman Spectroscopic Features of Plant Cuticles: A Review. *Plant Science*. DOI: 10.3399/fpls.2014.00305.



Holdt, S.L., and Kraan, S. 2011. Bioactive Compounds in Seaweed: Functional Food Applications and Legislation. *Journal Applycation Phycology*, 23: 543-597.

Huang, H.C. dan B.G. Wang. 2004. Antioxidant Capacity and Lipophilic Content of Seaweed Collected from The Qiangdao Coastline. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 4993-4997.

Hui, W., Engchoon, V.O., and Put, O.A. Antiviral Activities of Extracts from Hong Kong Seaweed. *Journal of Zhejiang University Science*, 9 (12): 969-976.

Ionita, P. 2005. Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species. *Chem. Pap.*, 59 (1): 11-16.

Janie, UA., L.B.S. Kardiono, M. Hanafi, R.J. Rumampuk, dan A. Darmawan. 2006. Modern Techniques of NMR Spectroscopy. Theory and Application in Structure Elucidation of Organic Molecules and Biomolecules. Indonesian Institute of Sciences. Jakarta.

Karthick, N., M.A. Fathimal, K. Ramesh, H. Sridhar, M. Natrajam, V.V. Divya, M. Umavanitha, S. Umamaheswari. 2014. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2 (2): 107-111.

Karthikaidevi, G., K. Manivannan, G. Thirumaran, P. Anantharaman, T. Balasubaramanian. 2009. Antibacterial Properties of Selected Green Seaweeds from Vedalai Coastal Waters; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (2): 107-112.

KEGG. map01060. www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?map01060.

KEGG. ko01056. www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?ko01056.

Khairy, H.M. M.A. El-Sheikh. 2015. Antioxidant Activity and Mineral Composition of Three Mediterranean Common Seaweeds from Abu-Qir Bay, Egypt. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22: 623-630.

Kim, M.S., J.Y. Kim, W.H. Choi, and S.S. Lee. 2008. Effect of Seaweed Supplementation on Blood Glucose Concentration, Lipid Profile, and Antioxidant Enzyme Activities in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutrition Research and Practice*, 2 (2): 62-67.

Klein, J. and M. Verlaque. 2008. The *Caulerpa racemosa* Invasion: A Critical Review. *Marine Pollution Bulletin*, 56: 205-225.

Komalavilli, N. Lalitha N. 2015. Proximat Composition and Amino Acid Profile of Five Green Algal Seaweeds from Mandapam Coastal Regions, Tamil Nadu, India. *International Journal of Advances in Interdisciplinary Research*, 2 (2): 37-40.



Kumar, S A.K. Pandey. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, DOI: 10.1155/2013/162750.

Kumar, T. V. Jain. 2015. Appraisal of Total Phenol, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Folkloric *Lannea coromandelica* Using *In Vitro* and *In Vivo* Assays. *Scientifica*, DOI: 10.1155/2015/203679.

Kumari, P., M. Kumar, V. Gupta, Reddy, C.R.K. and B. Jha. 2010. Tropical Marine Macroalgae as Potential Source of Nutritionally Important PUFAs. *Food Chemistry*, 120: 749-757.

Kuramoto, M., H. Arimoto, and D. Uemura. 2004. Bioactive Alkaloids from the Sea: A Review. *Marine Drugs*, 2: 39-54.

Leopoldini, M., T. Marino, N. Russo, dan M. Toscano. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds: H-Atom versus Electron Transfer Mechanism. *Journal of Physical Chemistry A*, 108 (22): 4916-4922.

Lewis, 1965. The Free and Combined Amino Acid Contents in Species of *Caulerpa racemosa* from Southeast Coast of India. *Fishery Technology*, 2(2): 197-182.

Li, Z., B. Wang, Q. Zhang, Y. Qu, H. Xu, and G. Li. 2012. Preparation and Antioxidant Property of Extract and Semipurified Fraction of *Caulerpa racemosa*. *Journal Applied Phycology*, 24: 1527-1536.

Lipinski, B. 2011. Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. doi:10.1155/2011/809696.

Liu, A.H., D.Q. Liu, T.J. Liang, X.Q. Yu, M.T. Feng, L.G. Yao, Y. Fang, B. Wang, L.H. Feng, M.X. Zhang, S.C. Mao. 2013^b. Caulerprenylol A and B, Two Rare Antifungal Prenylated Para-Xylane from the Green Alga *Caulerpa racemosa*. *Bioorganic Medical Chemistry Letters*, 23 (9): 2491-2494.

Liu, D.Q., S.C. Mao, H.Y. Zhang, X.Q. Yu, M.T. Feng, B. Wang, L.H. Feng, Y.W. Guo. 2013^a. Racemosin A and B, Two Novel Bisindole Alkaloid from the Green Alga *Caulerpa racemosa*. *Fitoterapia*, 91: 15-20.

Liu, D.Q., S.C. Mao, X.Q. Yu, L.H. Feng, and X.P. Lai. 2012. *Heterocycles*, 85, (3).

Lu, J.J., B.L. Bao, X.P. Chen, M. Huang, Y.T. Wang. 2012. Alkaloid Isolated from Natural Herbs as Anticancer Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*: 1-12.

Maheswaran, M.L. S. Padmavathy, and B. Gunalan. 2013. Screening and Characterization of Marine Seaweed and Its Antimicrobial Potential Against Fish Patogen. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1 (1): 1-13.

Mao, S.C., D.Q. Liu, X.Q. Yu, X.P. Lai. 2011. A New Polyacetylenic Fatty Acid and Other Secondary Metabolites from Green Alga *Caulerpa racemosa* and Their



Chemotaxonomic Significance. *Biochemical Systematic and Ecology*, 39: 253-257.

Matanjun, P., S. Mohammed, N.M. Mustapha, K. Muhammad, C.H. Ming. 2008. Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweed from North Borneo. *Journal Applied Phycology*, 20: 367-373.

Medeiros, V.P., K.C.S. Queiroz, M.L. Cardoso, G.R.G. Monteiro, F.W. Oliveira, S.F. Chavente, L.A. Guimaraes, H.A.O. Rocha, and E. Leite. 2008. Sulfated Galactofucan from *Lobophora variegata*: Anticoagulant and Anti-inflammatory Properties. *Biochemistry (Moscow)*, 73 (9): 1018-1024.

Meenakshi, S., D.M. Gnanambigai, S.T. Mozhi, M. Arumugam and T. Balasubramanian. 2009. Total Flavonoid and *in vitro* Antioxidant Activity of Two Seaweed of Rameshwaram Coast. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (2): 59-62.

Meyer, K.D and V.J Paul. 1992. Intraplant Variation on Secondary Metabolite Concentration in Three Species of *Caulerpa* (Chlorophyta: Caulerpales) and Its Effect on Herbivores Effect. *Marine Ecology Progress Series*, 82: 249-257.

Mitchell, T.N. dan B. Costisella. 2007. NMR from Spectra to Structures, an Experimental Approach. 2nd edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.

Mohamed, S., S.N. Hashim. H.A. Rahman. 2012. Seaweed: A Sustainable Functional Food for Complementary and Alternative Therapy. *Trend in Food Science and Technology*, 23 (2): 83-96.

Morris, C., s. Bala, G.R. South, J. Lako, M. Lober, dan T. Simos. 2014. Supply Chain and Marketing of Sea Grapes, *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh (Chlorophyta: Caulerpacaeae) in Fiji, Samoa and Tonga. *Journal of Applied Phycology*, 26: 783-789.

Murugaiyan K. dan S. Narasimman. 2013. Biochemical and Mineral Contents of Selected Green Seaweed from Gulf of Mannar Coastal Region, Tamil Nadu, India. *International Journal of Research in Plant Science*, 3(4): 96-100.

Murugaiyan, K., S. Narasimman and P. Anatharaman. 2012. Proximate Composition of Marine Macroalgae from Seeniappa Dharka, Gulf of Mannar Region, Tamil Nadu. *International Journal of Research in Marine Science*, 1 (1): 1-3.

Murugan, K. V.V. Iyer. 2013. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Extracts of Selected Red and Brown Seaweeds from Mandapam Coast of Tamil Nadu. *Journal of Food Biochemistry*, 38: 92-101.

Nagappan, T and C.S. Vairappan. 2013. Nutritional and Bioactive Properties of Three Edible Species of Green Algae, Genus *Caulerpa* (Caulerpacaeae). *Journal Applied Phycology*. DOI-10.1007/s10811-013-0147-8.



Nicoletti, R. dan A. Trincone. 2016. Bioactive Compounds Produced by Strain of *Penicillium* and *Talaromyces* of Marine Origin. *Marine Drugs*, 14 (37): DOI: 10.3390/md14020037.

Noori, M., A. Chenreghani, and M. Kaveh. 2009. Flavonoid of 17 Species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Iran. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 91 (4): 631-641.

Ogoreyo, B.O., O. Akpiroroh, O.A. Orukpe, O.R. Osaweren, C.N. Owabor. 2011. The Effects of Voarious Drying Method on The Nutritional Composition of *Musa paradisiacal*, *Dioscorea rotundata* and *Colocasia esculenta*. *Asian Journal of Biochemistry*, DOI: 10.3923/ajb2011.

Ornano, L., Y. Donno, C. Sanna, M. Ballero, M. Serafini, A. Bianco. 2014. Phytochemical Study of *Caulerpa racemosa* (Forsk.) J. Agarth, an Invading Alga in the Habitat of La Maddalena Archipelago. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letter*, DOI: 10.1080/1486419.2014.945928.

Parsaeimehr, A., E. Sargsyan, dan A. Vardanyan. 2011. Expression of Secondary Metabolites in Plants and Their Useful Perpective in Animal Health. *Animal Biology and animal Husbandry International Journal of The Bioflux Society*, 3 (2): 115-124.

Patel, S.S. J.K. Savjani. 2015. Systematic Review of Plant Steroids as Potential Anti-Inflmmatory Agents: Curent Status and Future Perspectives. *The Journal of Phytopharmacology*, 4 (2): 121-125.

Patra, J.K., S.K. Rath, and K. Jeena. 2008. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. *Turki Journal of Biology*, 32: 119-125.

Pavia, D.L., G.M. Lampman, G.S. Kriz, dan J.R. Vyvyan. 2009. Introduction to Spectroscopy. Sauders Collage. Philadelphia.

Pavia, D.L., G.M. Lampman, G.S. Kriz. 1996. Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry. Second Edition. Harcourt Brace College Publisher. New York.

Pellecchia, M., D.S. Sem, K. Wuthrich. 2002. NMR in Drug Discovery. *Nature Reviews*, 1: 211-219.

Prabha, T.N. M.V. Patwardhan. 1982. Purification and Properties of Polyphenoloxidase of Mango Peel (*Mangifera indica*). *Journal Bioscience*, 4 (1): 69-78.



Rajauria, G., A.K. Jaiswal, N. Abu-Ghannam and S. Gupta. 2012. Antimicrobial, Antioxidant and Free Radical scavenging Capacity of Brown Seaweed *Himanthlia Elongata* from Western Coast of Ireland. *Journal of Food Biochemistry*. DOI:10.1111/j.1745-4514.2012.00663.x

Rajauria, G., A.K. Jaiswal, N. Abu-Ghannam and S. Gupta. 2010. Effect Hydrothermal Processing on Colour, Antioxidant and Free Radical Scavegeing Capacities of Edible Irish Brown Seaweeds. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 2485-2493.

Rameshkumar, S., C.M.Ramakritinan, dan M. Yokeshbabu 2013. Proximate Composition of Some Selection Seaweeds from Palk Bay and Gulf of Mannar, Tamilnadu, India. *Asian Journal of Biomedical & Pharmaceutical Sciences*, 3 (16): 1-5.

Raniello, R., E. Mollo, M. Lorenti, M. Gavagnin, and M.C. Buia. 2007. Phytotoxic Activity of Caulerpenyne from the Mediterranean Invasive Variety of *Caulerpa racemosa*: a Potential Allochemical. *Biology Invasion*, 9: 361-368.

Raub, M.F., J.H. Cardellina, and J.G. Schwede. 1987. The Green Alga Pigment Caulerpin as a Plant Growth Regulator. *Phytochemistry*, 26 (3): 619-620.

Rodrigues, J.A.G., A.L.G. Quindere, I.N.L. de Queiros, C.O. Coura, dan N.M.B. Benevides. 2012. Comparative Study of Sulfated Polysaccharides from *Caulerpa* spp. (Chlorophyceae). Biotechnological Tool for Species Identification? *Maringa*, 34 (4): 381-389.

Sachindra, N.M., Airanthi, M.K.W.A., Hosokawa, M., and Miyashita, K. 2010. Radical Scavengeing and Singlet Oxygen Quenching Activity of Extracts from Indian Seaweeds. *Journal Food Science Technology*. 47 (1): 94-99.

Sagar, V.R. dan Kumar S.P. Recent Advances in Drying and Dehydration of Fruits and Vegetables: A Review. *Journal of Food Science and Technology*, 47 (1): 15-26.

Sahoo, S., C.K. Chakraborti, P.K. Behera, dan S.C. Mishra. 2012. FTIR and Raman Spectroscopic Investigations of A Norfloxacin/Carbopol934 Polymeric Suspension. *Journal of Young Pharmacist*, 4(3): 138-145.

Samanthi, K.A.U., S. Wickramaarachchi, E.M.K. Wijeratne, dan P.A. Paranagama. Two New Antioxidant Active Plyketides from *Penicillium cetrinum*, an Endolichenic Fungus Isolated from *Parmotrema* Species in Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 43 (2): 119-126.

Santoso, J. 2004. Free Amino Acids, Catechins and Flavonoids Contents in Some Indonesian Seaweeds. *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 2 (2): 9-21.



Sarini, A.W., H.N. Aishah, dan N.M. Zaini. 2014. Determination of Antioxidant Activity for Seven Types of Macroalgae. *5th International Conference on Food Engineering and Biotechnology*, 65: DOI: 10.7763/IPCBE.2014.V65.11.

Sarojini, Y., K. Lakshminarayana, and P.S. Rao. 2012. Variations in Distribution of Flavonoids in Some Seaweed of Visakhapatnam Coast of India. *Der Pharma Chemica*, 4 (4): 1481-1484.

Savukov, I.M., S.-K. Lee, Mv. Romalis. 2006. Optical Detection of Liquid-State NMR. *Nature*, 442: 1021-1024.

Seladji, M., C. Bekhechi, F. Beddou, H. Dib, dan N. Bendimerad. 2014. Antioxidant Activity and Phytochemical Screening of *Nepeta Nepetella* Aqueous and Methanolic Extracts from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(2): 012-016.

Sentra Informasi IPTEK. 2009. Rumput Laut/ Alga. http://www.iptek.net.id/ind/pd_alga/index.php?

Shafik, M.A. and I.M. Manawy. 2008. Physiological and Structural Characteristics of Three Varieties of *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh. From the Mediterranean Sea. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 3 (1): 97-110.

Shameel, M. And R. Khan. 1989. Phytochemical Studies on Fatty Acid Composition in *Caulerpa* (Bryopsidophyceae). *Pakistan Journal of Botani*, 21 (2): 343-346.

Shanab, S. M.M. 2007. Antioxidant and Antibiotic Activities of Some Seaweed (Egyptian Isolates). *International Journal of Agriculture & Biology*, 9 (2): 220-225.

Shen, B. 2003. Polyketide Biosynthesis Beyond the Type I, II and III Polyketide Synthase Paradigms. *Current Opinion in Chemical Biology*, 7: 285-295.

Shibu, A. dan S. Dhanam. 2015. Phytochemical Screening of *Caulerpa racemosa* Collected from Gulf of Mannar, Tamil Nadu. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 5 (3): 40-45.

Singkoh, M.F.O. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut *Caulerpa racemosa* dari Perairan Pulau Nain. *Jurnal Perikanan Kelautan Tropis*, 7 (3): 123-127.

Sitorus, A. 2009. Elusidasi Struktur Molekul Organik. Graha Ilmu, Yogyakarta.

Sitorus, M. 2013. Spektroskopi: Elusidasi Struktur Molekul Organik. Graha Ilmu. Yogyakarta.

Socrates, G 2001. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies. Third Edition. John Wiley & Sons, New York.



Socrates, G. 2001. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies. 3rd edition. John Wiley & Sons, LTD. Chichester.

Souza, B.W.S., M.A. Cerquiera, J.T.Martins, M.A.C. Quintas, A.C.S. Ferreira, J.A. Teixeira, dan A.A. Vicente. 2011. Antioxidant Potential of Two Red Seaweeds from the Brazillian Coasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 5589-5584.

Souza, E.T., A.C. de Queiroz, G.E.C. de Miranda, V.P. Lorenzo, E.F. da Silva, T.L.M. Freire-Dias, Y.K. Cupertino-Silva, G.M.A. Melo, B.V.O. Santos, M.C.O. Chaves, dan M.S. Alexander-Moreira. 2009. Antinociceptive Activites of Crude Methanolic Extract and phase n-butanolic, chloroformic, and ethyl acetate from *Caulerpa racemosa* (Caulerpacae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19 (1A): 115-120.

Staunton, J., dan K.J. Weissman. 2001. Polyketides Biosynthesis: A Millennium Review. *Natural Product Rep.*, 18: 380-416.

Sukrasno, I. Fidriany, K. Anggadiredja, W.A. Handayani, K. Anam. 2011. Influence of Drying Method on Flavonoid Content of *Cosmos Caudatus* (Kunth) Leaves. *Research Journal of Medical Plant*, 5 (2): 189-195.

Supratman, U. 2010. Elusidasi Struktur Senyawa Organik: Metode Spektroskopi untuk Penentuan Senyawa Organik. Widya Padjajaran. Bandung.

Thoppil, R.J. and A. Bhisaye. 2011. Terpenoid as Potential Chemopreventive and Therapeutic Agents in Liver Cancer. *World Journal of Hepatology*, 3 (9): 228-249.

Tolonen, A. 2003. Analysis of Secondary Metabolites in Plant and Cell Culture Tissue of *Hypericum perforatum* L. and *Rhodiolarosea* L. An Academic Dissertation from Acta Universitatis Ouluensis Scientiae Rerum Naturalium. <http://herkule.oulu.fi/issn03553191/>.

Tuteja, N. dan S. Mahajan. 2007. Calcium Signaling Network in Plant. *Palnt Signaling and Behavior*, 2 (2): 79-85.

Tuteja, N. dan S.K. Sopory. 2008. Chemical Signaling Under Abiotic Stress Environment in Plants. *Plant Signaling and Behavior*, 3 (8): 525-536.

Verlaque, M., C. Durant, J.M. Huisman, C.F. Boudouresque, Y. Le Parco. 2003. On the Identity and Origin of the Mediterranean Invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). *Eurpean Journal of Phycology*, 38: 325-339.

Vidal, J.P., D.D. Laurent, S.A. Kabore, E. Recheneq, M. Boucard, J.P. Girard, R. Escale, dan J.C. Rossi. 1984. Caulerpin, Caulerpicin, Caulerpa scalpelliformis: Comparative Acute toxicity Study. *Botanica Marina*, XXVII:533-537



Viswanathan and Nallamuthu. 2013. Screening and Phytochemical and Antibacterial Activity of Three Different Seaweeds from Gulf of Mannar, Tamilnadu. *Phycological Society*, 43 (1): 32-38.

Wang, J., Y.D. Yue, F. Tang and J. Sun. 2012. TLC Screening for Antioxidant Activity of Extract from Fifteen Bamboo Species and Identification of Antioxidant Flavone Glycosides from Leaves of *Bambusa textilis* McClure. *Molecules*, 17: 12297-12311.

Wang, R., V.J. Paul and H. Luesch. 2013. Seaweed Extract and Unsaturated Fatty Acid Constituents from Green Alga *Ulva Lactuca* as Activator of the Cytoprotective Nrf2-ARE Pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 57: 141-153.

Wang, H. Y.L. Li, W.Z Shen, W. Rui, X.J. Ma, daY.Z. Cen. 2007. Antiviral Activity of Sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG) Compound Isolated from the Green Alga *Caulerpa racemosa*. *Botanica Marina*, 50: 185-190.

William, K. 1991. Organic Spectroscopy. Third Edition. ELBS & Macmillan. Hampshire.

Xianli, W., G.R. Beecher, J.M. Holden, D.B. Haytowitz, S.E. Gebhardt, and R. L. Prior. 2004. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4026-4037.

Yang, H., D.Q. Liu, T.J. Liang, J. Li, A.H. Liu, P. Yang, K. Lin, X.Y. Yu, Y.W. Guo, S.C. Mao. 2014. Racemosin C, a Novel Minor Bisindole Alkaloid with Protein Tyrosine Phosphatase-1B Inhibitory Activity from the Green Alga *Caulerpa Racemosa*. *Journal of Asian Natural Product Research*. DOI: 10.1080/10286020.2014.965162.

Yang, P., D.Q. Liu, T.J. Liang, J. Li, H.Y. Zhang, A.H. Liu, Y.W. Guo, S.C. Mao. 2015. Bioactive Constituents from the Green Alga *Caulerpa racemosa*. *Bioorganic Medical Chemistry*, 23: 38-45.

Yermakov, A.I., A.L. Khlaifat, H. Qutob R.A. Abramovich, and Y.Y. Khomyakov. 2010. Characteristic of the GC-MS Mass Spectra of Terpenoids (C₁₀H₁₆). *Chemical Sciences Journal*, 2010: 1-10.

Yoo, H.D., S.O. Ketchum, D. France, K Bair, and W.H. Gerwick. 2002. Vidalenolone, a Novel Phenolic Metabolite from the Tropical Red Alga *Vidalia* sp. *American Chemical Society and American Society and Pharmacognosy*.

Yuan, Y.V. and N.A. Walsh. 2006. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Extract from a variety of Edible Seaweed. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1144-1150.



Yuan, Y.V., M.F. Carrington, N.A. Walsh. 2005. Extracts from Dulse (*Palmaria palmata*) are Effective Antioxidants and Inhibitors of Cell Proliferation *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology*, 43: 1073-1081.

Zhu, Xiang-Cheng, H. Justin, G. Ryan, L. Li-Li, X. Yun-Xuan, L. Ting, J. Joel, M. Andrew, V. Chad, W. Qiao-Mei, S. Yue-Mao, dan D. Liang-Cheng. 2008. Biosynthesis and Genetic Engineering of Polyketides. *Acta Botanica Yunnanica*. DOI: 10.3724 SP.J.1143.2008.08053.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisis Antioksidan menggunakan DPPH (Li, et al., 2012)

1. Dibuat konsentrasi ekstrak (500-3000 µg/ml) menggunakan akuades
2. 2 ml ekstrak ditambah dengan 500 µL DPPH 0,02% dalam etanol dan 1 ml etanol
3. Diinkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap suhu ruang
4. Diamati absorbansinya pada 517 nm
5. Dibuat larutan control mengandung DPPH tanpa sampel
6. Dibuat larutan blanko dimana DPPH diganti dengan etanol
7. Perhitungan:

$$\text{Scavenging activity \%} = \frac{A_0 + (A' - A)}{A_0} \times 100\%$$

Dimana A_0 = Absorbansi control

A' = Absorbansi blanko

A = Absorbansi sampel

Lampiran 2. Prosedur Analisis *Reducing Power* (Li, et al., 2012)

1. Dibuat larutan sampel dengan berbagai konsentrasi
2. Diambil 2 ml larutan sampel dan ditambahkan 2,5 ml larutan potassium hexacyanofearat (1%).
3. Diinkubasi selama 30 menit suhu 50°C
4. Ditambahkan 1,5 ml larutan tricloroacetic acid (TCA) (10%)
5. Lapisan atas diambil 2 ml dan ditambahkan 2 ml aquades dan 0,5 ml FeCl_3 (0,1%)
6. Absorbansi diukur pada 700 nm
7. Peningkatan nilai absorbansi menunjukkan peningkatan *reducing power*

**Lampiran 3. Prosedur Analisis Total Fenol (Ciz, et al., 2010)**

1. 1 ml ekstrak atau standar asam galat ditambah dengan 10 ml air deionisasi dan 1 ml reagen Folin-Ciocalteu
2. Bibiarkan selama 5 menit
3. Ditambah 2 ml larutan sodium karbonat 20%
4. Dibiarkan selama 1 jam dalam ruang gelap
5. Diukur absorbansinya pada 750 nm
6. Total fenol dihitung ekuivalen asam galat (kurva asam galat dibuat dengan konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 30 mg/L)

Lampiran 4. Prosedur Analisis Total Flavonoid (Cox, et al., 2010)

1. 250 μ l sampel dicampur dengan 1,25 akuabides dan 5% larutan NaNO_2
2. Dibiarkan selama 6 menit
3. Ditambahkan 150 μ l $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 10%
4. Setelah 5 menit, ditambahkan 0,5 ml NaOH 1M
5. Ditambahkan akuabides sampai 2,5 ml
6. Total fenol dihitung ekuivalen mg/g quercetin (kurva standar dibuat dengan konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 30 mg/L)

Lampiran 5. Prosedur Analisis Asam Amino menggunakan HPLC

1. 60 mg sampel ditambah 4 ml HCl 6N dipanaskan selama 24 jam pada suhu 110°C , kemudian didinginkan sampai pada suhu kamar.
2. Dinetralkan (pH 7) menggunakan NaOH 6N.
3. Sampel ditambah aquabides sampai volume 10 ml, dan disaring dengan kertas saring whatmann 0,2 μm .
4. Sampel diambil 50 μ l ditambah larutan OPA (Orthophalaldehid) sebanyak 300 μ l, dan diaduk selama 5 menit



5. Sebanyak 20 µl diinjeksikan ke dalam HPLC

6. Kondisi HPLC yang digunakan:

Kolom : Licrospher ® 100 RP 18 (5µm)
Panjang Kolom 125 ml x 4 mm

Mobile phase : A = CH₃OH ; 50mM natrium Asetat ; THF (2:96:2) pH 6,8
B = 65% CH₃OH

Flow rate : 1,5ml/menit

Gradien Eluen:	Time	Pump (A) %	Pump (B) %
	2	100	0
	35	0	100
	40	Stop	

Detektor : Flourecen WATERS 470

Lampiran 6. Prosedur Analisis Asam Lemak menggunakan GC-MS

Prinsip Kerja

Ekstrak dilarutkan dalam methanol, lalu dianalisis dengan alat kromatografi gas dengan detector spectrum massa. Kromatogram yang diperoleh dibandingkan dengan pustaka spectrum massa yang ada pada alat.

Cara Kerja

1. Sampel ditambah 2 mL methanol pro LC
2. Diultrasonikasi selama 5 menit
3. Disaring dengan membrane nylon 0,2 mikron
4. Dianalisis menggunakan alat kromatografi gas

Kondisi Alat Kromatografi Gas

Instrumen : Agilent 6980N Network GC System dengan autosampler

Detektor : Agilent 5973 inert MSD

Kolom : J&W Scientific, HP-5 5% fenilmetilsloksan 30 m, 0,32 m, 0,25 µm

Inlet : Split 1:10, 280°C



Oven : Terprogram, 50°C (1 menit) → 2°C/menit → 100°C → 20°C/menit → 290 (15 menit)

Flow dalam kolom : 1,3 mL/menit (konstan)

Aux : 280°C

MS Quad : 150°C

MS Source : 230°C

Scan Mode : 15 – 700 amu

Solvent delay : 0 menit

Pustaka : Wiley versi 8.0

Lampiran 7. Prosedur Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis untuk identifikasi fenol (Vijayabhaskar and Shiyamala, 2012)

1. Disiapkan pelat silika untuk kromatografi lapis tipis
2. Sejumlah larutan sampel diteteskan pada pelat silika.
3. Fase gerak digunakan kloroform:methanol (10:1 v/v)
4. Dibiarkan dalam TLC *chamber*
5. Pelat disemprot menggunakan 1% potassium ferisianat dalam air dan 1% feriklorida dalam air
6. Visualisasi dilakukan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 365 nm

Kromatografi lapis tipis untuk identifikasi senyawa antioksidan (Wang, *et al.*, 2012)

1. Disiapkan pelat silika gel 60 F254 sebagai fase diam
2. Fase gerak etil asetat: asam formiat: air (82:9:9, v/v/v)
3. 8 µl sampel (sama dengan 400 µg sampel kering)
4. Pelat dikembangkan pada TLC chamber 80 mm.
5. Pelat hasil pengembangan kemudian direndam selama 1 detik dalam 0,00025 M DPPH dalam methanol

Lampiran 8. Prosedur Analisis Menggunakan LC-MS

Analisis LC-MS dilakukan menggunakan Mariner Biospectrometry yang dilengkapi pompa biner. HPLC dihubungkan dengan Q-tof mass spectrometer dengan sumber ion ESI. Mode scan penuh dari 100-1200 *m/z* dilakukan pada suhu 140°C. Analisis ini menggunakan kolom HPLC (Phenomenex 5 µm C8, 150 × 2 mm i.d.), pelarut



Metanol dengan 0.3% asam formic, dan aliran pelarut total sebesar 0.1 mL/min dengan metode isokratik.

Sample	
Vol injection	5 ul
Flow rate	0.1 ml/min
Eluent	Methanol
LC-MS : Mariner Biospectrometry	
LC:	Hitachi L 6200
System ESI (Electrospray Ionisation)	
Positive ion mode	
Kolom	C8 Phenomenex
Column length	: 150 mm
ID	: 2 mm
Particle size	: 5 µm

Lampiran 9. Prosedur Analisis Menggunakan FTIR

Spesifikasi Alat

Merk : FTIR-84005 Shimadzu

Lama Pengepresan : 1-3 menit

1. Persiapan Sampel
 - a. Menimbang sampel 1 mg
 - b. NaCl windows disiapkan.
 - c. Alat FTIR dikalibrasi menggunakan NaCl windows
 - d. Sampel diletakkan di atas NaCl windows, dan diukur menggunakan FTIR.

Lampiran 10. Prosedur Analisis Menggunakan NMR

1. Sampel dibebaskan dari pelarut organik (sampel dapat berupa padatan, Kristal, atau cairan)
2. Sampel dipreparasi atau dilarutkan dalam pelarut deuterium yang sesuai
3. Larutan deuterium sampel dimasukkan ke dalam tabung sampel (t=4 cm, min 3 cm)
4. Tabung sampel dimasukkan ke dalam *sample holder* dan ditera dengan *sample gauge* untuk memastikan posisi sampel dalam medan magnet
5. Sampel (dalam *sample holder*) dimasukkan ke bagian SCM port.



6. Setelah proses loading sampel di bagian SCM (Super Conducting Magnet), kemudian dilakukan proses conditioning sample (locking, shimming, dan tuning) secara komputerisasi menggunakan program instrument yang telah disediakan.
7. Locking (penguncian NMR) adalah metode menstabilkan medan magnet menggunakan NMR.
8. Shimming adalah proses untuk mendapatkan keseragaman medan magnet seperti yang diperlukan.
9. Tuning adalah dioptimasi frekuensi (tune) yang akan digunakan sesuai dengan tujuan analisis.
10. Setelah conditioning instrument selesai, dilakukan analisis: H-H COSY, HMQC, HMBC.

Lampiran 11. Data Pengamatan Suhu Pengeringan Rumput laut

Jam ke-	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Suhu (°C)	25	38	44	50	55	55	55	54	55	55	53	54	55

Jam ke-	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Suhu (°C)	55	55	54	54	55	55	55	54	54	55	55	55



Lampiran 12. Hasil Analisis Proksimat dan Serat

Perlakuan	Kadar Air	Kadar Protein	Kadar Lemak	Kadar Abu	Karbohidrat	Serat
SEGAR						
Ulangan 1	90,81	14,76	1,15	44,71	39,38	20,11
Ulangan 2	89,90	14,68	0,98	40,79	43,55	23,70
Ulangan 3	89,29	14,22	1,26	42,84	41,68	21,40
Rerata	90,00	14,55	1,13	42,78	41,54	21,74
St. Dev.	0,76	0,29	0,14	1,96	2,09	1,82
SEMI KERING						
Ulangan 1	52,20	12,24	0,37	44,57	42,82	20,05
Ulangan 2	53,90	15,63	2,30	40,00	42,07	22,43
Ulangan 3	54,04	14,23	1,73	42,35	41,69	21,04
Rerata	53,38	14,03	1,47	42,31	42,19	21,17
St. Dev.	1,02	1,70	0,99	2,29	0,58	1,20
KERING						
Ulangan 1	10,56	16,13	2,06	43,33	38,48	19,50
Ulangan 2	10,50	16,28	2,55	41,64	39,53	18,20
Ulangan 3	13,14	16,30	2,35	41,89	39,46	18,65
Rerata	11,40	16,24	2,32	42,29	39,16	18,78
St. Dev.	1,51	0,09	0,25	0,91	0,59	0,66

One-way ANOVA: Kadar Air (%) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Kode	2	9281,30	4640,65	3564,34	0,000
Error	6	7,81	1,30		
Total	8	9289,12			

S = 1,141 R-Sq = 99,92% R-Sq(adj) = 99,89%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
Kering	3	11,400	1,507 (*)
Segar	3	90,000	0,765 (*)
Semi Kering	3	53,380	1,024 (*)

Pooled StDev = 1,141

One-way ANOVA: Protein (%) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Kode	2	7,959	3,979	3,99	0,079



Error 6 5,991 0,999
 Total 8 13,950

S = 0,9993 R-Sq = 57,05% R-Sq (adj) = 42,74%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----
Kering	3	16,237	0,093	(-----*-----)
Segar	3	14,553	0,291	(-----*-----)
Semi Kering	3	14,033	1,704	(-----*-----)

Pooled StDev = 0,999

One-way ANOVA: Lemak (%) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Kode	2	2,258	1,129	3,18	0,114
Error	6	2,128	0,355		
Total	8	4,385			

S = 0,5955 R-Sq = 51,48% R-Sq (adj) = 35,31%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----
Kering	3	2,3200	0,2464	(-----*-----)
Segar	3	1,1300	0,1411	(-----*-----)
Semi Kering	3	1,4667	0,9916	(-----*-----)

Pooled StDev = 0,5955

One-way ANOVA: Serat (%) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Kode	2	14,75	7,38	4,28	0,070
Error	6	10,34	1,72		
Total	8	25,10			

S = 1,313 R-Sq = 58,78% R-Sq (adj) = 45,04%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----
Kering	3	18,783	0,660	(-----*-----)
Segar	3	21,737	1,819	(-----*-----)
Semi Kering	3	21,173	1,196	(-----*-----)

Pooled StDev = 1,313

One-way ANOVA: Abu (%) versus Perlakuan

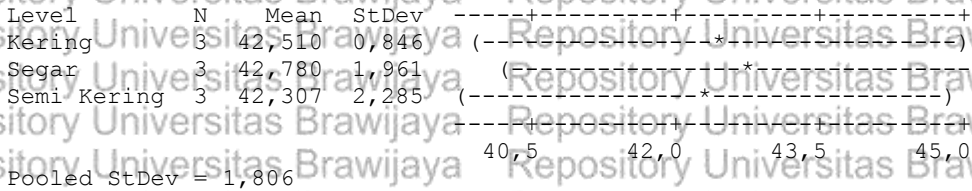
Source	DF	SS	MS	F	P
Kode	2	0,34	0,17	0,05	0,950



Error 6 19,57 3,26
Total 8 19,90

S = 1,806 R-Sq = 1,70% R-Sq(adj) = 0,00%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

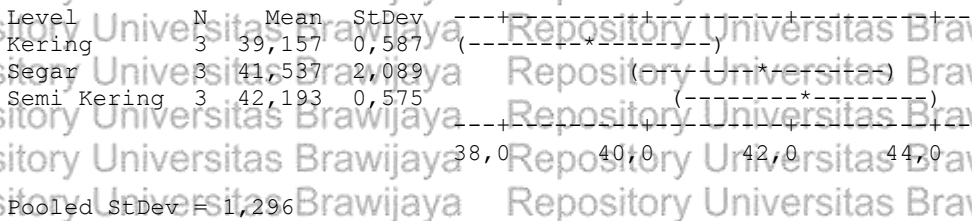


One-way ANOVA: Karbohidrat (%) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Kode	2	15,32	7,66	4,56	0,062
Error	6	10,08	1,68		
Total	8	25,39			

S = 1,296 R-Sq = 60,32% R-Sq(adj) = 47,09%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev





Lampiran 13. Hasil Analisis Mineral

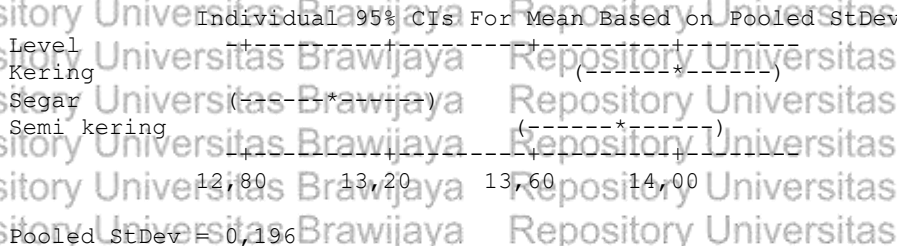
Perlakuan	Na	K	Ca	Mg	Fe	Zn
SEGAR						
Ulangan 1	12,98	78,07	142,95	2,19	9,22	0,00
Ulangan 2	13,13	77,95	156,17	2,23	9,82	0,00
Ulangan 3	13,05	76,74	149,86	2,21	9,52	0,00
Rerata	13,05	77,59	149,66	2,21	9,52	0,00
St. Deviasi	0,08	0,74	6,61	0,02	0,30	0,00
SEMI KERING						
Ulangan 1	13,53	88,78	165,69	2,62	9,88	0,00
Ulangan 2	14,17	87,66	162,22	2,49	10,00	0,00
Ulangan 3	13,85	83,86	164,05	2,56	9,97	0,00
Rerata	13,85	86,77	163,99	2,56	9,95	0,00
St. Deviasi	0,32	2,58	1,73	0,07	0,06	0,00
KERING						
Ulangan 1	14,08	90,77	166,31	2,96	10,21	0,00
Ulangan 2	13,92	94,23	169,15	2,84	10,11	0,00
Ulangan 3	14,00	92,50	170,46	2,90	10,07	0,00
Rerata	14,00	92,50	168,64	2,90	10,13	0,00
St. Deviasi	0,08	1,73	2,12	0,06	0,07	0,00

One-way ANOVA: Na (mg/100g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	1,5533	0,7766	20,28	0,002
Error	6	0,2298	0,0383		
Total	8	1,7831			

S = 0,1957 R-Sq = 87,11% R-Sq(adj) = 82,81%

Level	N	Mean	StDev
Kering	3	14,000	0,084
Segar	3	13,052	0,076
Semi kering	3	13,846	0,320





One-way ANOVA: K (mg/100g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	339,32	169,66	50,00	0,000
Error	6	20,36	3,39		
Total	8	359,68			

S = 1,842 R-Sq = 94,34% R-Sq(adj) = 92,45%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----	
Kering	3	92,495	1,730	(---*---)	
Segar	3	77,587	0,736	(---*---)	
Semi kering	3	86,766	2,578	(---*---)	

Pooled StDev = 1,842

One-way ANOVA: Ca (mg/100g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	587,2	293,6	17,20	0,003
Error	6	102,4	17,1		
Total	8	689,6			

S = 4,132 R-Sq = 85,15% R-Sq(adj) = 80,20%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----	
Kering	3	168,64	2,12	(---*---)	
Segar	3	149,66	6,61	(---*---)	
Semi kering	3	163,99	1,73	(---*---)	

Pooled StDev = 4,13

One-way ANOVA: Mg (mg/100g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	0,70865	0,35433	118,79	0,000
Error	6	0,01790	0,00298		
Total	8	0,72655			

S = 0,05461 R-Sq = 97,54% R-Sq(adj) = 96,72%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----	
Kering	3	2,8983	0,0635	(---*---)	
Segar	3	2,2110	0,0221	(---*---)	
Semi kering	3	2,5570	0,0666	(---*---)	

Pooled StDev = 0,0546



One-way ANOVA: Fe (mg/100g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	0,5889	0,2945	9,11	0,015
Error	6	0,1939	0,0323		
Total	8	0,7828			

S = 0,1797 R-Sq = 75,23% R-Sq(adj) = 66,98%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	Lower CI	Upper CI
Kering	3	10,130	0,074	9,30	10,20
Segar	3	9,519	0,296	8,90	9,90
Semi kering	3	9,947	0,065	9,30	10,20

Pooled StDev = 0,180

Lampiran 14. GC-MS Asam Lemak *C. racemosa* segar

No. Peak	Waktu Retensi	Nama IUPAC	Rumus Formula	Berat Molekul	Golongan Senyawa	Luas Area	% Relatif
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	30.809	2-hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	837939	0,27
4	34.570	Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	242	Lemak jenuh	8800874	2,82
5	36.017	Pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	Lemak jenuh	1039088	0,33
7	36.812	Pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	Lemak jenuh	715363	0,23
10	38.238	7,10,13-Hexadecatrienoic acid	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	250	Lemak tak jenuh	10035553	3,21
12	38.478	9-hexadecenoic acid, asam palmitoleinat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	11570401	3,70
14	39.017	Hexadecanoic acid, asam palmitat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	270	Lemak jenuh	49357523	15,79
15	39.769	Hexanoic acid, asam kaprat	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	Lemak jenuh	1660336	0,53
18	40.476	9-hexadecenoic acid, asam palmitoleat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	944434	0,30
20	40.983	Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	298	Lemak jenuh	1142412	0,37
22	41.893	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	Lemak tak jenuh	2353960	0,75
24	42.274	9,12-octadecadienoic acid, asam linoleat	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	294	Lemak tak jenuh	25594169	8,19
25	42.363	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	Lemak tak jenuh	23818557	7,62
26	42.437	9-octadecanoic acid, asam oleat	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	296	Lemak tak jenuh	9686341	3,10
27	42.540	11-octadecenoic acid,	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	Lemak tak jenuh	10074813	3,22
28	42.952	Octadecanoic acid, asam stearat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	298	Lemak jenuh	6273237	2,01

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
29	43.060	9,12-Octadecadienoic acid, Asam Linoleat	$C_{18}H_{32}O_2$	294	Lemak tak jenuh	726365	0,23
32	45.262	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Arakhidonat	$C_{20}H_{32}O_2$	318	Lemak tak jenuh	19869116	6,36
33	45.475	6,9,12,15-docosatetraenoic acid,	$C_{23}H_{38}O_2$	236	Lemak tak jenuh	840776	0,27
34	45.592	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	$C_{18}H_{30}O_2$	278	Lemak tak jenuh	2497475	0,80
36	45.963	11,13-eicosadienoic acid	$C_{21}H_{38}O_2$	322	Lemak tak jenuh	3026902	0,97
37	46.048	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	$C_{18}H_{30}O_2$	278	Lemak tak jenuh	1765912	0,56
38	46.209	11-eicosenoic acid, asam eikosenoat	$C_{20}H_{38}O_2$	310	Lemak tak jenuh	990902	0,32
40	48.832	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Arakhidonat	$C_{20}H_{32}O_2$	318	Lemak tak jenuh	2422005	0,77
41	48.933	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate (EPA methyl ester)	$C_{20}H_{32}O_2$	316	Lemak tak jenuh	633604	0,20
42	49.851	13-docosenoic acid, asam erukat	$C_{22}H_{42}O_2$	338	Lemak tak jenuh	688394	0,22
43	50.010	13-docosenoic acid, asam erukat	$C_{22}H_{42}O_2$	338	Lemak tak jenuh	2683322	0,86
45	55.152	13-docosenoic acid, asam erukat	$C_{22}H_{42}O_2$	338	Lemak tak jenuh	1561713	0,50
46	55.781	Tetracosanoic acid, asam lignoserat	$C_{24}H_{48}O_2$	368	Lemak jenuh	6052135	1,94

Lampiran 15. GC-MS Asam Lemak *C. racemosa* semi-kering

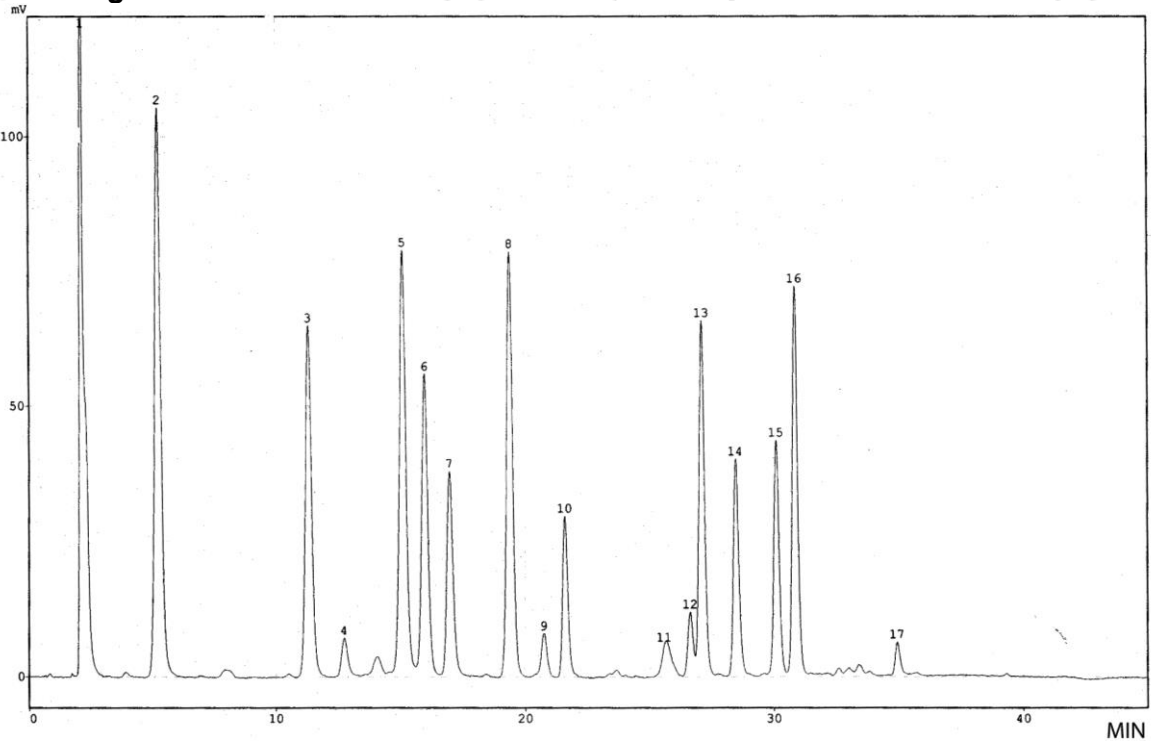
No. Peak	Waktu Retensi	Nama IUPAC	Rumus Formula	Berat Molekul	Golongan Senyawa	Luas Area	% Relatif
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	29.689	Dodecanoic acid, asam laurat	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	Lemak jenuh	3481946	0,65
2	30.808	2-hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	1944800	0,36
6	34.583	Tetradecanoic acid, asam miristat	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	242	Lemak jenuh	18739920	3,48
7	36.023	Pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	Lemak jenuh	2096639	0,39
10	36.812	Pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	Lemak jenuh	1132095	0,21
14	38.266	7,10,13-Hexadecatrienoic acid, asam heksadekanoat (HTA)	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	250	Lemak tak jenuh	23432065	4,35
15	38.380	9-hexadecenoic acid, asam palmitoleinat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	8716257	1,62
16	38.501	9-hexadecenoic acid, asam palmitoleinat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	19117231	3,55
18	39.026	Hexadecanoic acid, asam palmitat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	270	Lemak jenuh	60083838	11,15
19	39.775	Hexanoic acid,	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	Lemak jenuh	2091681	0,39
22	40.487	9-hexadecenoic acid, asam palmitoleinat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	2019190	0,37
26	41.909	6,9,12-Octadecatrienoic acid, asam-γ-linoleat	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	Lemak tak jenuh	10032812	1,86
28	42.340	9,12-Octadecadienoic acid, Asam Linoleat	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	294	Lemak tak jenuh	65962313	12,24
29	42.442	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam-α-linoleat	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	Lemak tak jenuh	36617773	6,79
30	42.584	10-Octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	Lemak tak jenuh	12920249	2,40
31	42.971	Octadecanoic acid, asam stearat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	298	Lemak jenuh	12839679	2,38
34	45.300	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Arakhidonat	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	318	Lemak tak jenuh	49234956	9,13

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
35	45.375	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate, EPA	$C_{21}H_{32}O_2$	316	Lemak tak jenuh	8254829	1,53
36	45.495	Methyl-5,11,14,17-eicosatetraenoate	$C_{21}H_{34}O_2$	318	Lemak tak jenuh	2225501	0,41
37	45.604	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	$C_{18}H_{30}O_2$	278	Lemak tak jenuh	5637754	1,05
38	45.692	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate, EPA	$C_{21}H_{32}O_2$	316	Lemak tak jenuh	1095424	0,20
39	45.974	11,13-Eicosadienoic acid	$C_{21}H_{38}O_2$	322	Lemak tak jenuh	9548599	1,77
40	46.064	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	$C_{18}H_{30}O_2$	278	Lemak tak jenuh	4319930	0,80
41	46.213	11-eicosenoic acid, asam eikosenat	$C_{20}H_{38}O_2$	310	Lemak tak jenuh	2306751	0,43
42	48.618	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate, EPA	$C_{21}H_{32}O_2$	316	Lemak tak jenuh	1935080	0,36
43	48.835	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Arakhidonat	$C_{20}H_{32}O_2$	318	Lemak tak jenuh	8404397	1,56
44	48.933	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate, EPA	$C_{21}H_{32}O_2$	316	Lemak tak jenuh	2754859	0,51
45	50.017	13-docosenoic acid, asam erukat	$C_{22}H_{42}O_2$	338	Lemak tak jenuh	9759864	1,81
47	55.171	13-docosenoic acid, asam erukat	$C_{22}H_{42}O_2$	338	Lemak tak jenuh	5276080	0,98
48	55.778	Tetracosanoic acid, asam lignoserat	$C_{24}H_{48}O_2$	368	Lemak jenuh	3232495	0,60

Lampiran 16. GC-MS Asam Lemak *C. racemosa* kering

No. Peak	Waktu Retensi	Nama IUPAC	Rumus Formula	Berat Molekul	Golongan Senyawa	Luas Area	% Relatif
4	34.566	Tetradecanoic acid, asam miristat	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	242	Lemak jenuh	1388323	4,93
7	38.239	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	Lemak tak jenuh	1930138	6,86
8	38.358	9-Octadecenoic acid, asam oleat	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	Lemak tak jenuh	415442	1,48
9	38.463	9-hexadecenoic acid, asam palmitoleinat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	268	Lemak tak jenuh	977036	3,47
11	38.968	Hexadecanoic acid, asam palmitat	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	270	Lemak jenuh	10807194	38,41
13	42.242	9,12-Octadecadienoic acid, Asam linoleat	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	294	Lemak tak jenuh	3486869	12,39
14	42.316	9,12,15-octadecatrienoic acid, asam- α -linoleat	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	Lemak tak jenuh	2786091	9,90
15	42.407	9-Octadecenoic acid, asam oleat	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	Lemak tak jenuh	1716778	6,10
16	42.511	11-Octadecenoic acid,	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	Lemak tak jenuh	458619	1,63
17	42.942	Octadecanoic acid, asam stearat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	298	Lemak jenuh	566973	2,01
18	42.250	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Arakhidonat	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	318	Lemak jenuh	930777	3,31
19	45.325	Methyl eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoate, EPA	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316	Lemak jenuh	263020	0,93

Lampiran 17. Kromatogram HPLC Asam Amino *C. racemosa* segar
Kromatogram 1

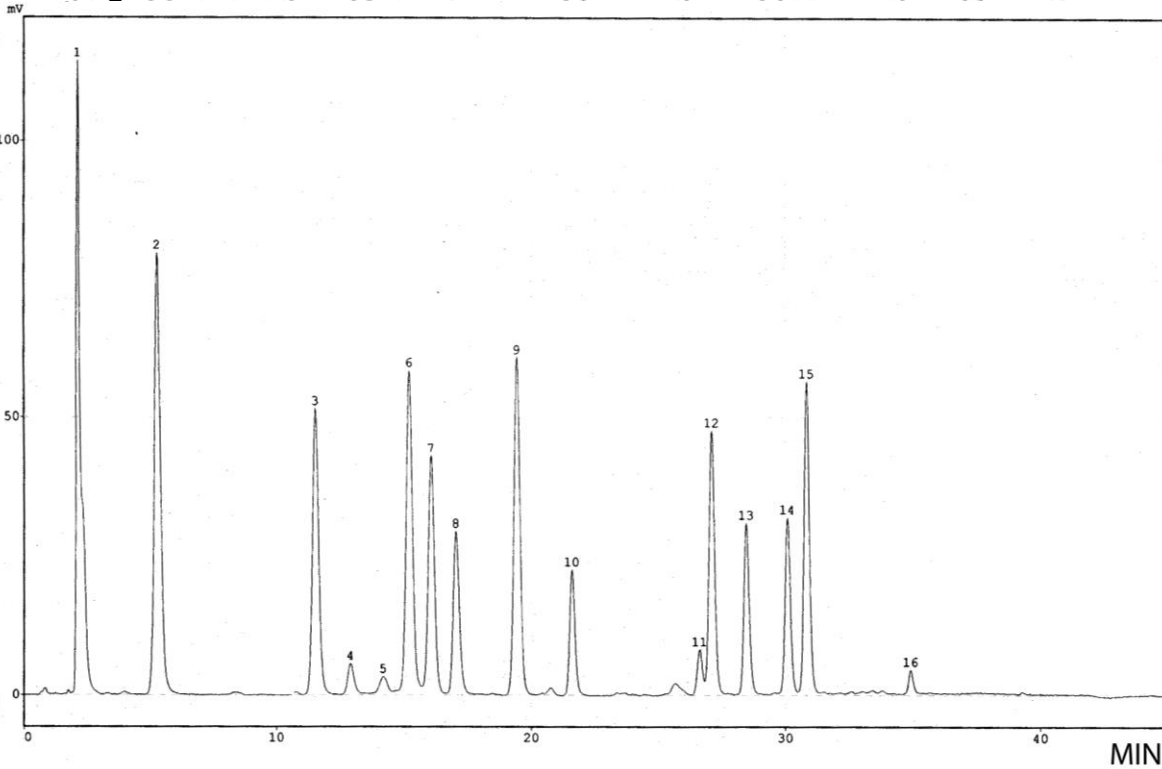


Keterangan puncak

No Puncak	Waktu retensi (min)	Luas Area	Nama Asam amino
1.	2,112	1854261	Asam aspartat
2.	5,234	1820409	Asam glutamat
3.	11,302	1118534	Serin
4.	12,724	115834	Histidin
5.	15,078	1387002	Glisin
6.	15,955	948309	Treonin
7.	16,955	637721	Arginin
8.	19,374	1349206	Alanin
9.	20,747	0,122043	
10.	21,599	428186	Tirosin
11.	25,600	0,130057	
12.	26,643	161185	Metionin
13.	27,109	991997	Valin
14.	28,476	600731	Fenilalanin
15.	30,100	633801	Isoleusin
16.	30,843	1030342	Leusin
17.	34,917	79808	Lisin



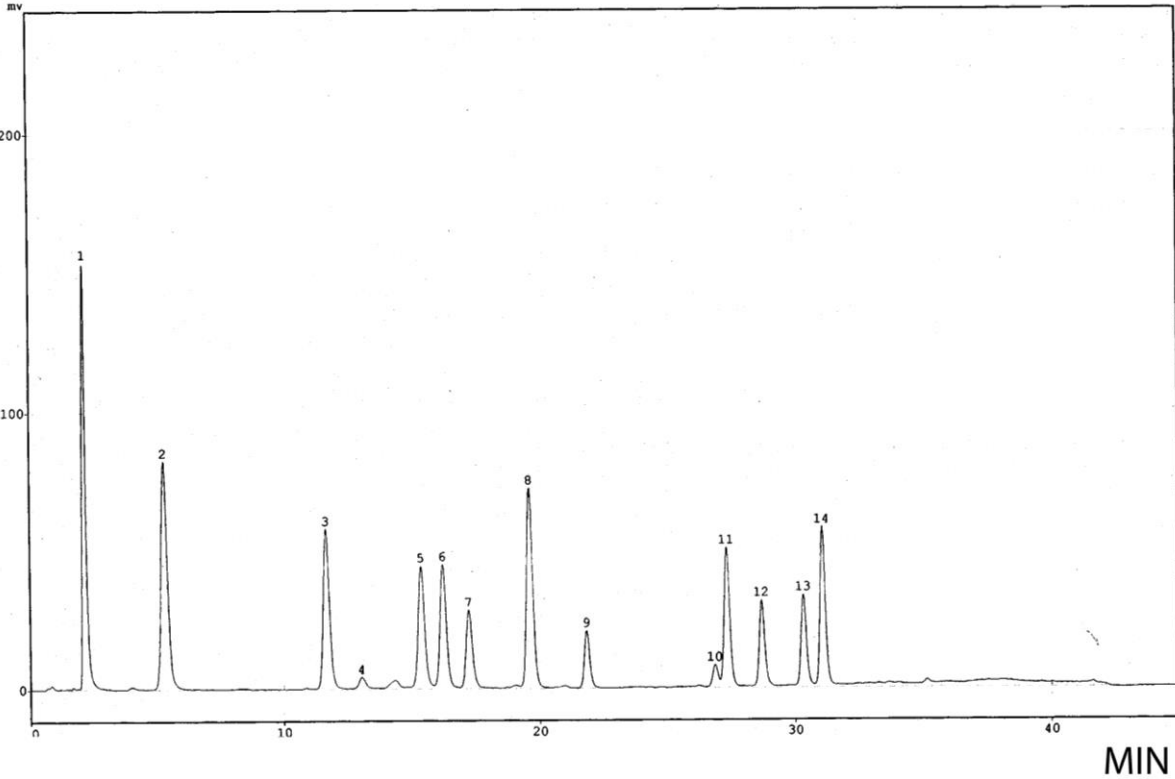
Kromatogram 2



Keterangan puncak

No Puncak	Waktu retensi (min)	Luas Area	Nama Asam amino
1.	2,126	1414084	Asam aspartat
2.	5,292	1396327	Asam glutamat
3.	11,524	861783	Serin
4.	12,896	92392	Histidin
5.	14,166	0,053727	
6.	15,197	969175	Glisin
7.	16,057	693800	Treonin
8.	17,030	486414	Arginin
9.	19,422	1028902	Alanin
10.	21,606	328216	Tirosin
11.	26,635	116561	Metionin
12.	27,103	727394	Valin
13.	28,461	446760	Fenilalanin
14.	30,082	450757	Isoleusin
15.	30,823	793126	Leusin
16.	34,885	52673	Lisin

Lampiran 18. Kromatogram HPLC Asam Amino *C. racemosa* semi kering
Kromatogram 1

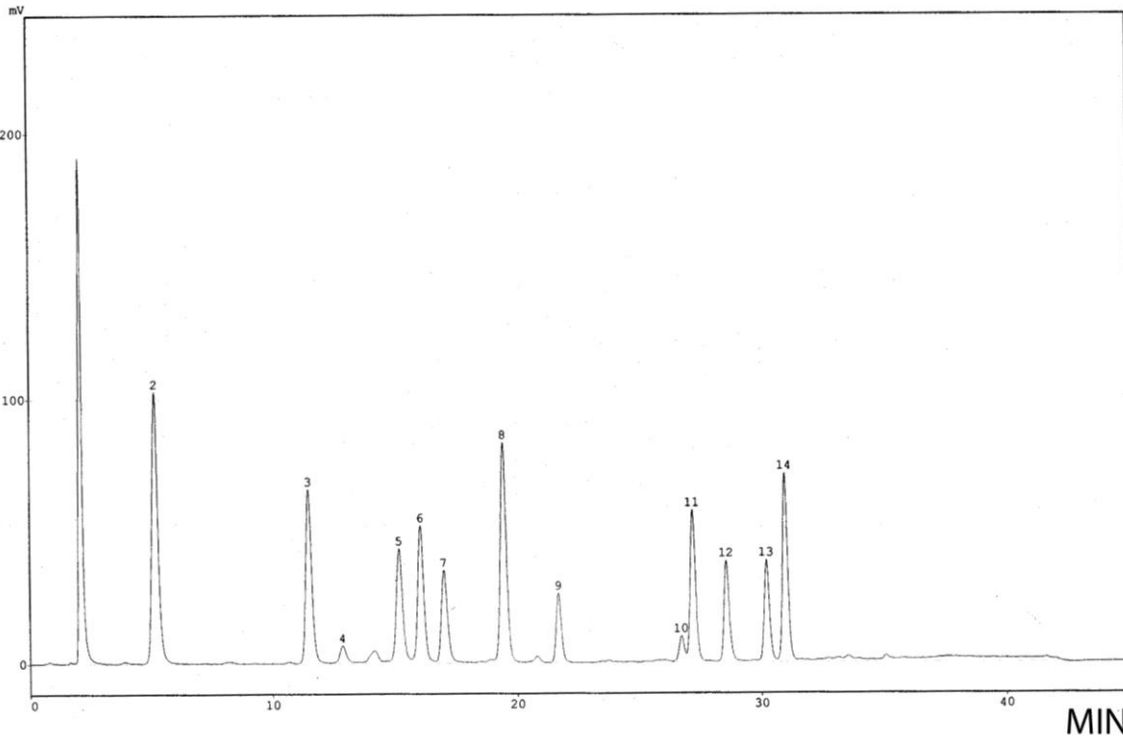


Keterangan puncak

No Puncak	Waktu retensi (min)	Luas Area	Nama Asam amino
1.	2,13	1505758	Asam aspartat
2.	5,30	1446127	Asam glutamat
3.	11,65	956642	-
4.	13,02	67373	-
5.	15,35	748042	Glisin
6.	16,20	743270	Treonin
7.	17,21	469140	Arginin
8.	19,60	1199679	Alanin
9.	21,83	298404	Tirosin
10.	26,86	117567	Metionin
11.	27,32	756100	Valin
12.	28,68	452523	Fenilalanin
13.	30,31	465622	Isoleusin
14.	31,05	801114	Leusin



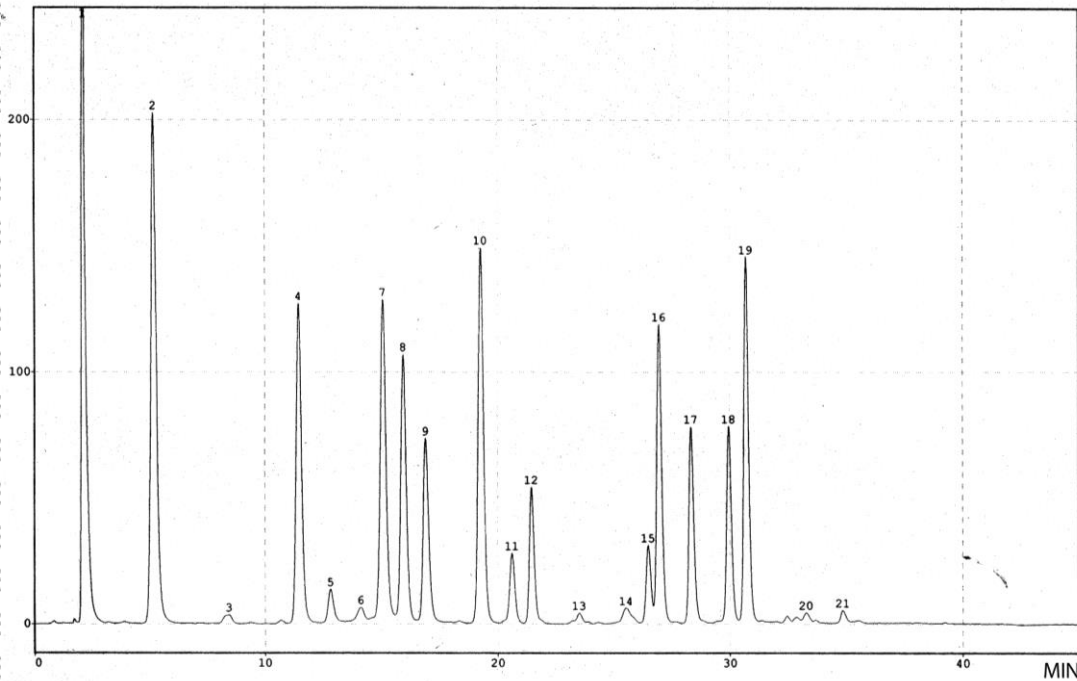
Kromatogram 2



Keterangan puncak

No Puncak	Waktu retensi (min)	Luas Area	Nama Asam amino
1.	2,074	1848695	Asam aspartat
2.	5,170	1780532	Asam glutamat
3.	11,467	1105939	Serin
4.	12,838	107613	Histidin
5.	15,156	741664	Glisin
6.	16,027	870326	Treonin
7.	16,985	584148	Arginin
8.	19,424	1394183	Alanin
9.	21,670	380124	Tirosin
10.	26,711	143429	Metionin
11.	27,179	868732	Valin
12.	28,551	576300	Fenilalanin
13.	30,191	553508	Isoleusin
14.	30,944	1012824	Leusin

Lampiran 19. Kromatogram HPLC Asam Amino *C. racemosa* kering
Kromatogram 1

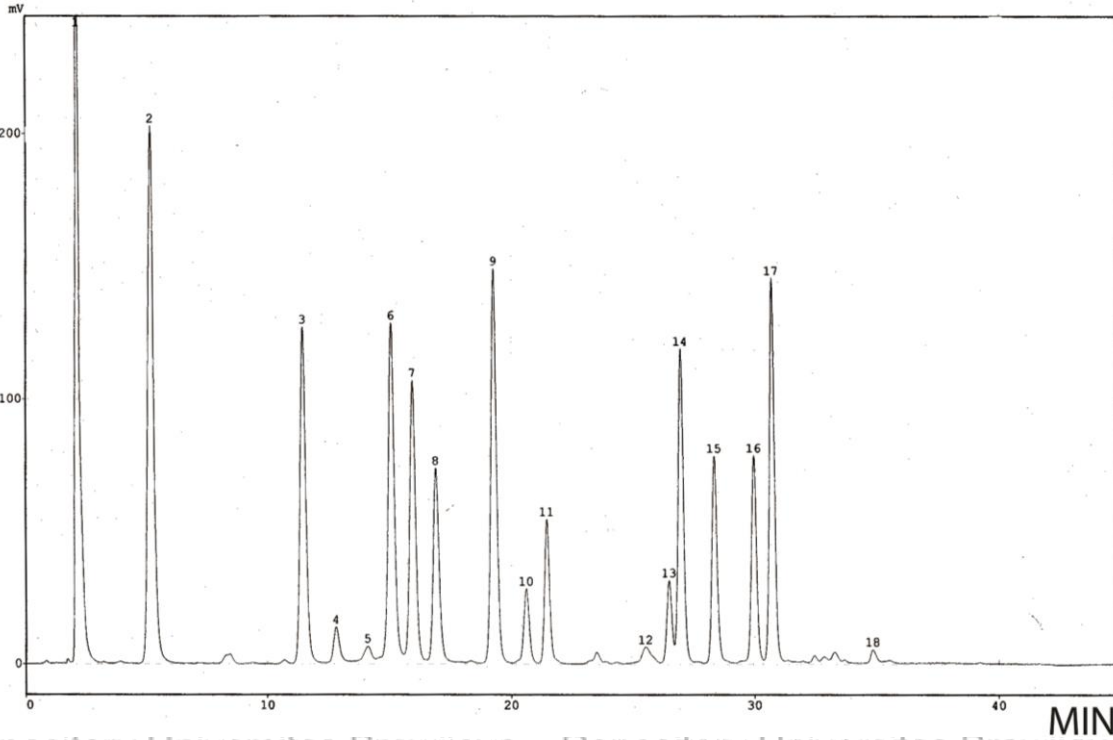


Keterangan puncak

No Puncak	Waktu retensi (min)	Luas Area	Nama Asam amino
1.	2,103	3633967	Asam aspartat
2.	5,176	3465871	Asam glutamat
3.	8,443	85219	
4.	11,441	2051201	Serin
5.	12,799	215840	Histidin
6.	14,090	103555	
7.	15,058	2198734	Glisin
8.	15,927	1733158	Threonin
9.	16,884	1187024	Arginin
10.	19,259	2474661	Alanin
11.	20,606	428355	
12.	21,449	781499	Tyrosin
13.	23,504	41589	
14.	25,530	144089	
15.	26,484	438896	Methionin
16.	26,957	1773454	Valin
17.	28,329	1140592	Fenilalanin
18.	29,953	1089032	Ileusin
19.	30,690	2013347	Leusin
20.	33,247	43162	
21.	34,814	70331	Lisin



Kromatogram 2



Keterangan puncak

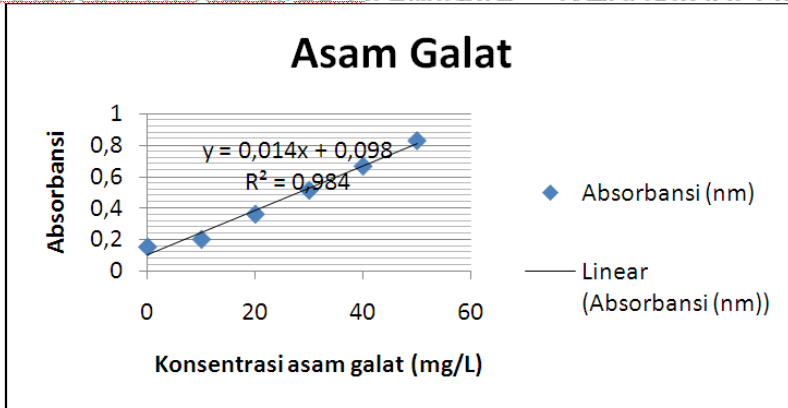
No Puncak	Waktu retensi (min)	Luas Area	Nama Asam amino
1.	2,103	3632455	Asam aspartat
2.	5,176	3462432	Asam glutamat
3.	11,441	2053065	Serin
4.	12,799	208471	Histidin
5.	14,090	1003555	
6.	15,058	2198734	Glisin
7.	15,927	1733158	Threonin
8.	16,884	1187024	Arginin
9.	19,259	2468913	Alanin
10.	20,606	421568	
11.	21,449	781499	Tyrosin
12.	25,530	142184	
13.	26,484	438896	Methionin
14.	26,957	1773454	Valin
15.	28,329	1119263	Fenilalanin
16.	29,953	1089032	Ileusin
17.	30,690	2013347	Leusin
18.	34,814	70331	Lisin



Lampiran 20. Hasil Analisis Total Fenol Ekstrak Methanol *C. racemosa*

Perlakuan	Segar	Semi kering	Kering
Ulangan 1	0,89	1,53	0,54
Ulangan 2	1,33	0,88	1,49
Ulangan 3	0,78	0,91	1,35
Rerata	1,00	1,11	1,13
St. Dev	0,29	0,37	0,51

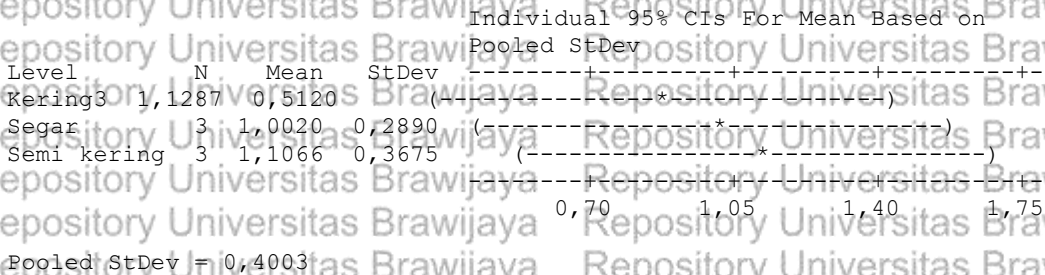
Kurva Standart Asam Galat



One-way ANOVA: Total fenol (mg/g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	0,027	0,014	0,09	0,919
Error	6	0,961	0,160		
Total	8	1,089			

S = 0,4003 R-Sq = 2,78% R-Sq(adj) = 0,00%

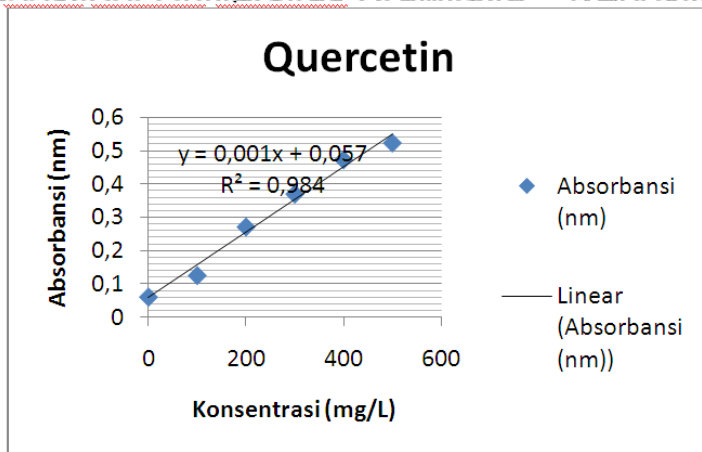




Lampiran 21. Analisis Total Flavonoid Ekstrak Metanol *C. racemosa*

Perlakuan	Segar	Semi Kering	Kering
Ulangan 1	16,53	25,24	20,36
Ulangan 2	16,89	23,44	21,67
Ulangan 3	16,57	23,53	20,87
Rerata	16,66	24,07	20,96
St. Dev	0,20	1,02	0,66

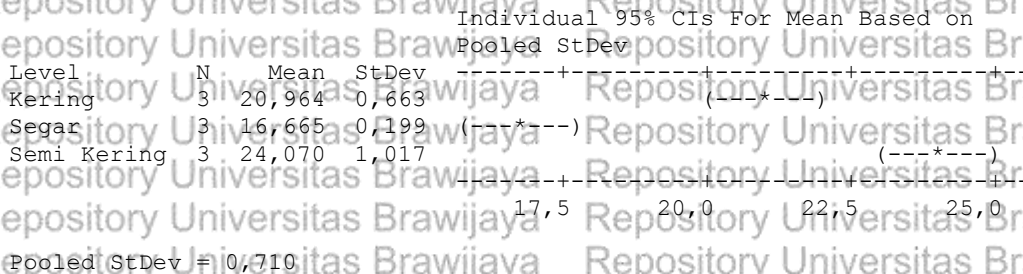
Kurva Quercetin



One-way ANOVA: Total Flavonoid (mg/g) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	82,968	41,484	82,30	0,000
Error	6	3,024	0,504		
Total	8	85,993			

S = 0,7100 R-Sq = 96,48% R-Sq(adj) = 95,31%





Lampiran 22. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan (DPPH) Ekstrak Methanol C. racemosa

Perlakuan	500 ppm	375 ppm	250 ppm	125 ppm
Segar (%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Ulangan 1	26,19	24,86	10,76	7,14
Ulangan 2	24,83	24,50	11,27	9,11
Ulangan 3	28,62	24,46	12,24	10,74
Rerata	26,55	24,61	11,42	9,00
St. Deviasi	1,92	0,22	0,75	1,80
Semi kering (%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Ulangan 1	42,59	33,11	15,56	11,78
Ulangan 2	42,36	34,72	15,83	10,39
Ulangan 3	43,18	34,42	14,24	12,09
Rerata	42,71	34,08	15,21	11,42
St. Deviasi	0,42	0,85	0,85	0,90
Kering (%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Ulangan 1	60,26	50,46	30,87	17,41
Ulangan 2	61,31	51,98	27,44	19,78
Ulangan 3	60,23	46,37	33,51	20,07
Rerata	60,60	49,60	30,61	19,09
St. Deviasi	0,62	2,90	3,04	1,45

One-way ANOVA: IC 50 (ppm) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	0.43679	0.21839	32.64	0.001
Error	6	0.04014	0.00669		
Total	8	0.47693			

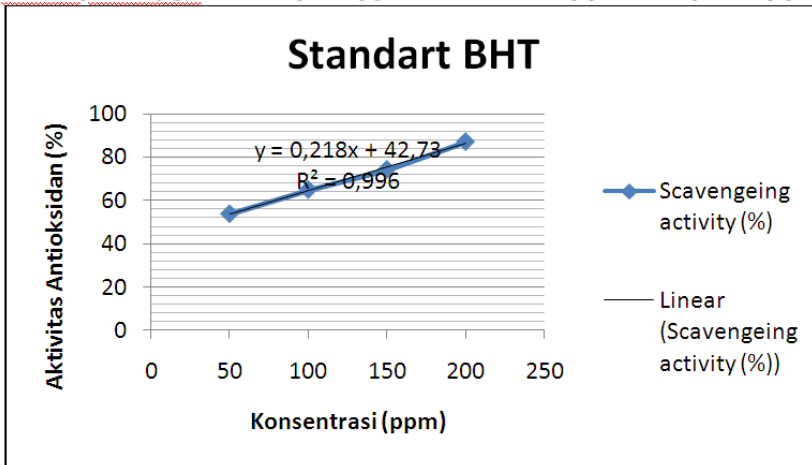
S = 0.08179 R-Sq = 91.58% R-Sq(adj) = 88.78%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
Kering	3	0.3965	0.0017
Segar	3	0.9294	0.1266
Semi kering	3	0.5892	0.0636

Pooled StDev = 0.0818

Kurva Standart BHT



Lampiran 23. Nilai Absorbansi Analisis Reducing Power Ekstrak Metanol *C. racemosa*

Perlakuan	500 ppm	750 ppm	1000 ppm	1250 ppm
Segar				
Ulangan 1	0,16	0,26	0,40	0,46
Ulangan 2	0,12	0,28	0,41	0,42
Ulangan 3	0,15	0,30	0,46	0,53
Rerata	0,14	0,28	0,42	0,47
St. Dev.	0,02	0,02	0,03	0,06
Semi kering				
Ulangan 1	0,16	0,30	0,46	0,54
Ulangan 2	0,19	0,35	0,53	0,63
Ulangan 3	0,20	0,36	0,58	0,62
Rerata	0,18	0,34	0,52	0,60
St. Dev.	0,02	0,03	0,06	0,05
Kering				
Ulangan 1	0,19	0,29	0,55	0,55
Ulangan 2	0,23	0,35	0,56	0,65
Ulangan 3	0,24	0,38	0,58	0,70
Rerata	0,22	0,34	0,56	0,63
St. Dev.	0,02	0,04	0,02	0,08



One-way ANOVA: Absorbansi (700 nm) versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	2	0,0674	0,0337	1,25	0,299
Error	33	0,8889	0,269		
Total	35	0,9563			

S = 0,1641 R-Sq = 7,05% R-Sq(adj) = 1,42%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev
Kering	12	0,4304	0,1743
Segar	12	0,3287	0,1341
Semi kering	12	0,4057	0,1802

0,240 0,320 0,400 0,480

Pooled StDev = 0,1641

Lampiran 24. Hasil Analisis Total Fenol *C. racemosa* kering

Perlakuan	Metanol/air (mg/g)	Etil aasetat (mg/g)	Heksan (mg/g)
Ulangan 1	0,776	17,399	11,223
Ulangan 2	0,857	13,736	10,887
Ulangan 3	0,643	15,263	9,972
Rerata	0,759	15,466	10,694
St.dev	0,108	1,840	0,648

Lampiran 25. Hasil Analisis Total Flavonoid *C. racemosa* kering

Perlakuan	Metanol/air (mg/g)	Etil aasetat (mg/g)	Heksan (mg/g)
Ulangan 1	0,57	44,02	8,40
Ulangan 2	0,71	43,30	9,26
Ulangan 3	0,64	44,44	8,69
Rerata	0,64	43,92	8,78
St.dev	0,07	0,58	0,44



Lampiran 26. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan *C. racemosa* kering

Perlakuan	300 ppm	250 ppm	200 ppm	150 ppm
Metanol/ air				
Ulangan 1	10,97	8,84	4,77	4,46
Ulangan 2	9,42	7,68	4,19	4,19
Ulangan 3	11,55	9,03	5,55	3,23
Rerata	10,65	8,52	4,84	3,96
St. Dev.	1,10	0,73	0,68	0,65
Etil asetat				
Ulangan 1	92,65	81,81	76,39	65,16
Ulangan 2	93,23	82,97	76,39	66,52
Ulangan 3	94,58	89,35	73,68	66,32
Rerata	93,48	84,71	75,48	66,00
St. Dev.	0,99	4,06	1,56	0,73
Heksan				
Ulangan 1	72,90	54,71	49,48	42,71
Ulangan 2	68,84	58,00	47,94	41,55
Ulangan 3	79,68	57,42	45,61	38,26
Rerata	73,81	56,71	47,68	40,84
St. Dev.	5,48	1,76	1,95	2,31

Lampiran 27. Hasil Analisis *Reducing Power C. racemosa* kering

Konsentrasi	300 ppm	250 ppm	200 ppm	150 ppm
Metanol/air				
Ulangan 1	0,37	0,33	0,30	0,33
Ulangan 2	0,36	0,36	0,33	0,34
Ulangan 3	0,37	0,37	0,35	0,35
Rerata	0,37	0,35	0,33	0,34
St. Dev	0,01	0,02	0,02	0,01
Etil asetat				
Ulangan 1	0,88	0,83	0,79	0,72
Ulangan 2	0,87	0,82	0,80	0,72
Ulangan 3	0,87	0,83	0,81	0,76
Rerata	0,88	0,82	0,80	0,73
St. Dev	0,01	0,01	0,01	0,02
Heksan				
Ulangan 1	0,73	0,80	0,56	0,35
Ulangan 2	0,72	0,64	0,54	0,34
Ulangan 3	0,70	0,72	0,52	0,37
Rerata	0,71	0,72	0,54	0,35
St. Dev	0,01	0,08	0,02	0,01



Lampiran 28. Data Kromatografi Kolom

Kromatografi Kolom untuk Fraksi Etil Asetat

F-Etil asetat	Volume pelarut (ml)		Masa (mg)
	n-heksan	Etil asetat	
1	400	0	0
2	380	20	24
3	360	40	121,4
4	340	60	117
5	320	80	1662,2
6	300	100	1724,5
7	280	120	621,8
8	260	140	714,4
9	240	160	948,3
10	200	180	695,6
11	220	200	70,1
12	160	140	318,9
13	120	180	417,5
14	80	320	412,6
15	40	360	442,8
16	0	400	0

Kolom fraksi etil asetat

Massa sampel : 17 g

Massa silika : 170 g

Volume pelarut: n-heksan/etil asetat, 400 mL

Gradien : 5 % (10:0-5:5); 10 % (5:5-0:10)



Kromatografi Kolom F-10

Massa sampel : 0,7 gram

Massa silika : 20 x massa sampel

Volume pelarut : 60 mL

Diameter kolom : 2 cm

Tinggi kolom : 40 cm

Fraksi-10	Volume pelarut (ml)		Masa (mg)
	n-heksan	Etil Asetat	
1	60	0	5,1
2	57	3	7,2
3	54	6	4,3
4	51	9	7,2
5	48	12	12,5
6	45	15	48,2
7	42	18	81,0
8	39	21	114,7
9	36	24	114,8
10	33	27	51,0
11	30	30	83,9





Kromatografi Kolom F-10-9

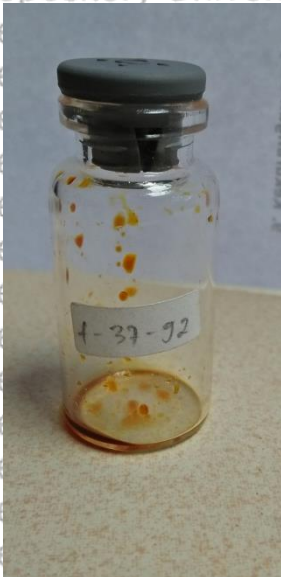
Fraksi 10-9	Massa (mg)
1	45,5
2	-
3	10,0
4	2,4
5	4,1
6	2,0
7	2,4
8	1,5
9	46,9
10	1,4

Fraksi 10-9	Massa (mg)
11	1,3
12	1,4
13	1,1
14	0,9
15	0,8
16	0,7
17	1,3
18	1,7
19	0,6
20	0,8
21	0,8

Massa sampel : 114,8 mg

Massa ODS : 40 x massa sampel

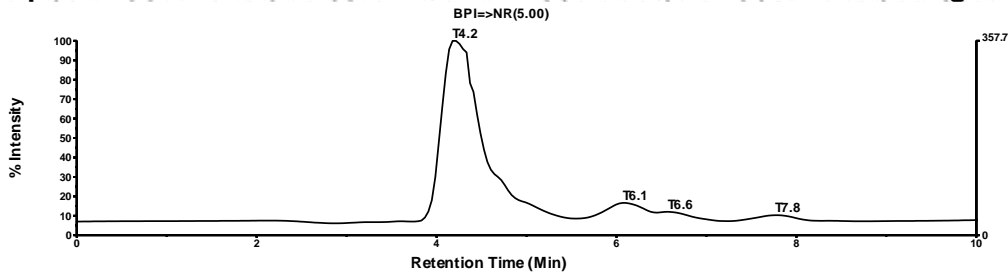
Volume pelarut : 2 mL



Isolat F 10-9-1, massa 45 mg



Lampiran 29. Data LC-MS Fraksi Etil Asetat F-10-9-1 *C. racemosa* kering



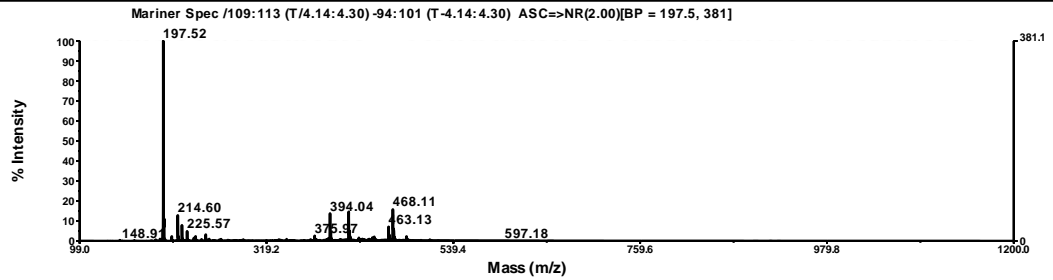
Persen Retatif F-10-9-1

No. puncak	waktu retensi (menit)	Area	% relatif
1.	4,179	4696,05	87,82851
2.	6,069	348,94	6,526098
3.	6,569	165,28	3,091172
4.	7,763	136,57	2,554219
Total		5346,84	100

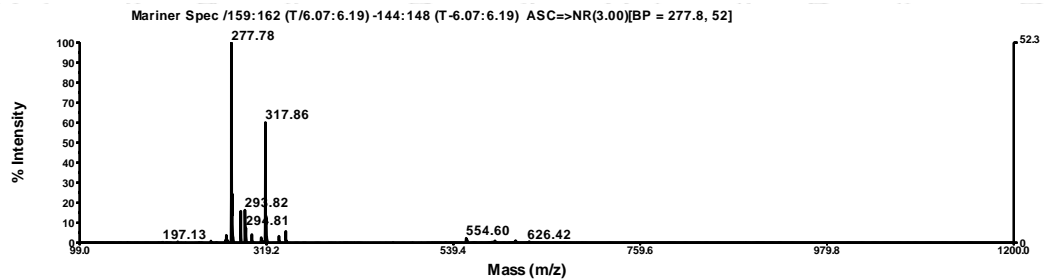
Waktu retensi (menit)

Spektrum Massa

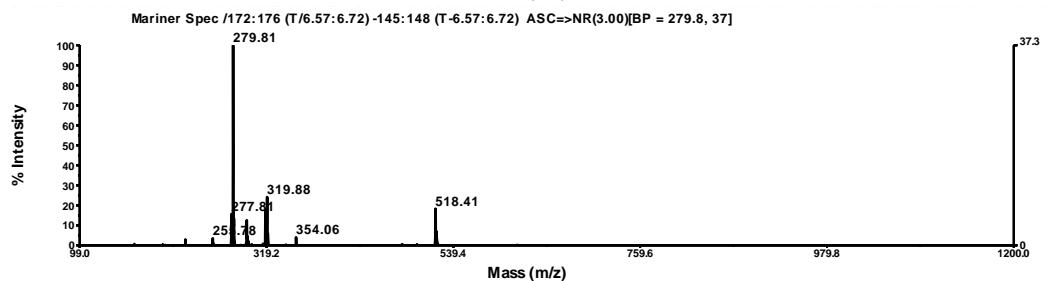
4,179



6,069

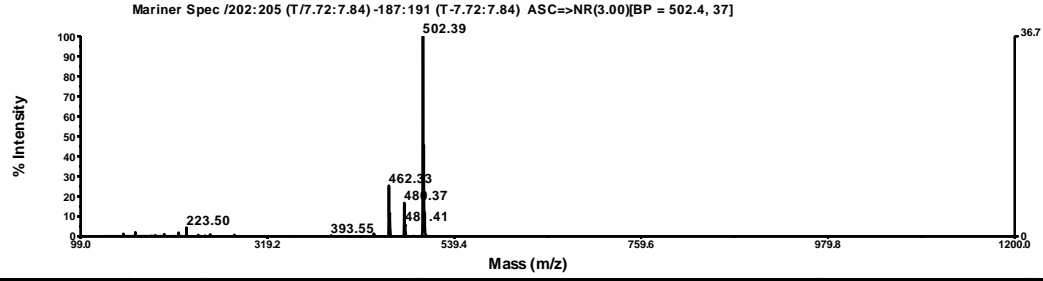


6,569



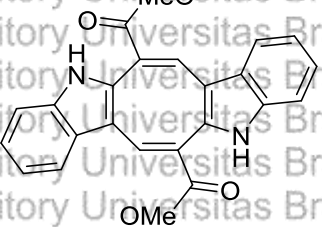
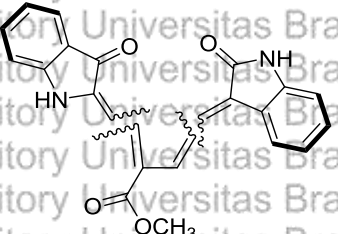
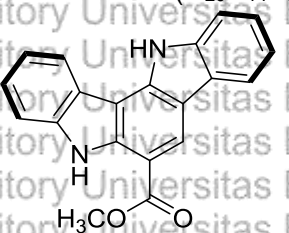
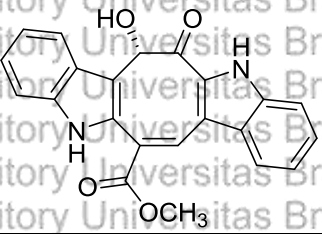
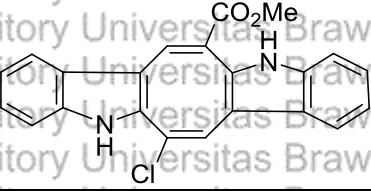
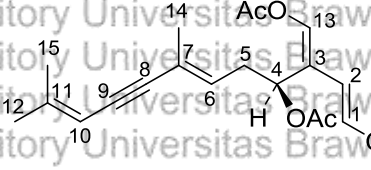


7,763

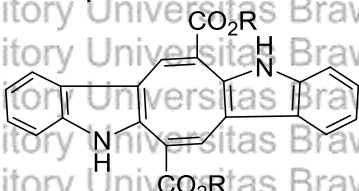
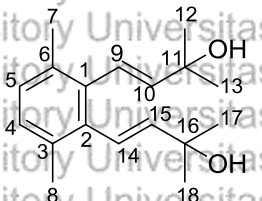
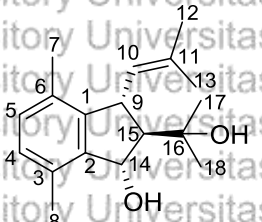
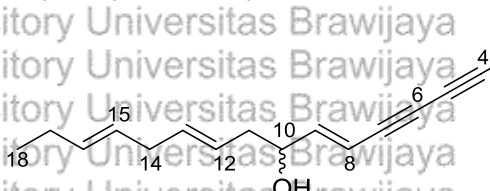
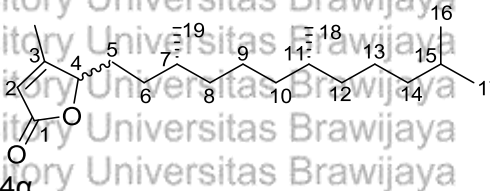
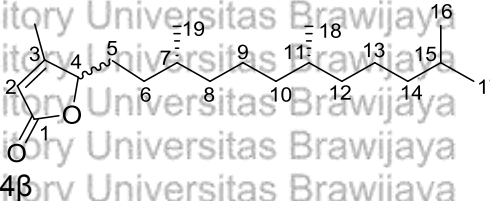




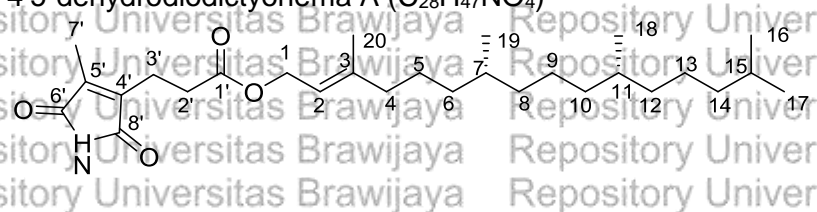
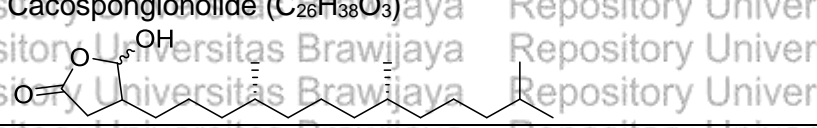
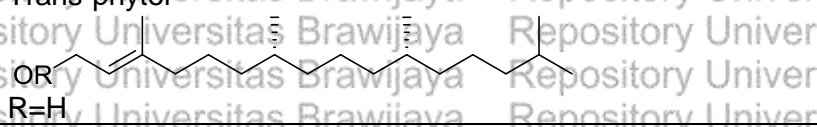
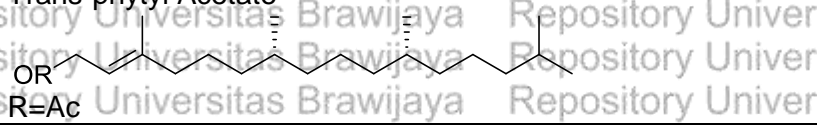
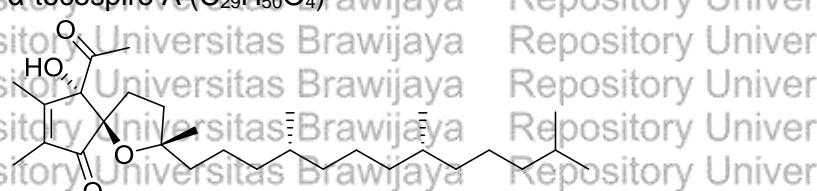
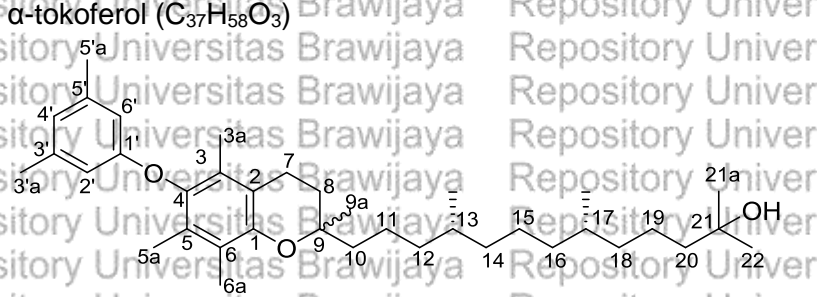
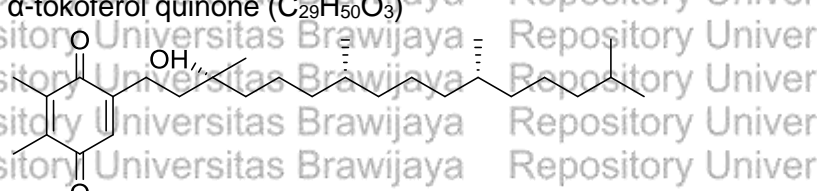
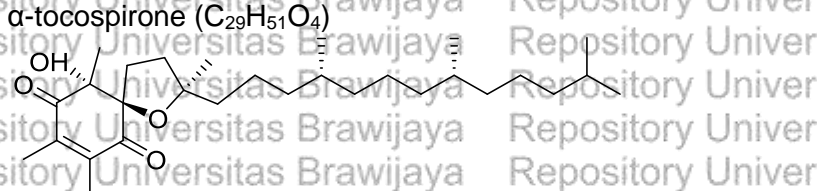
Lampiran 30. Hasil Penelusuran Senyawa yang Telah Diisolasi dari *Caulerpa racemosa*

No.	Nama Senyawa	Golongan senyawa	Referensi
1.	Caulerpin ($C_{24}H_{18}N_2O_4$) 	Bis indole alkaloid	Anguilar-Santos (1970)
2.	Racemosin a ($C_{20}H_{14}N_2O_4Na$) 	Bis indole alkaloid	Liu, <i>et al.</i> (2013)
3.	Racemosin b ($C_{20}H_{14}N_2O_2Na$) 	Bis indole alkaloid	Liu, <i>et al.</i> (2013)
4.	Racemosin C ($C_{22}H_{16}N_2O_4$) 	Bis indole alkaloid	Yang, <i>et al.</i> (2014)
5.	Caulerchlorin 	Bis indole alkaloid	Liu, <i>et al.</i> (2015)
6.	Caulerpenyne ($C_{21}H_{26}O_6$) 	Sesquiterpene	Amico, <i>et al.</i> (1978).

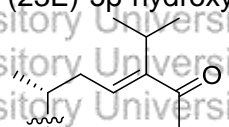
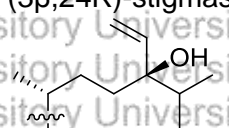
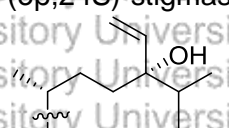
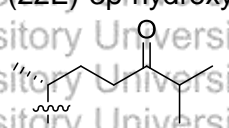
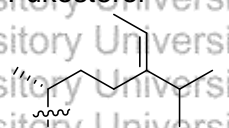
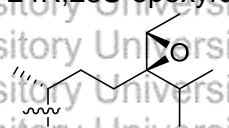
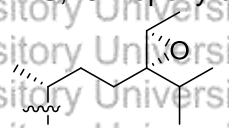
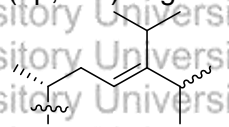
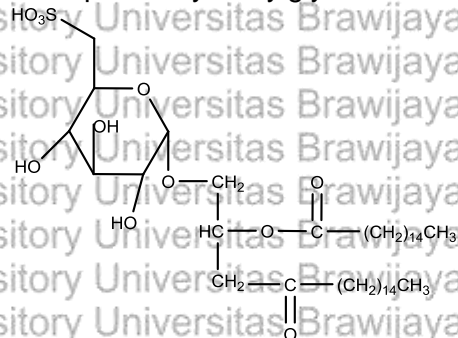


7.	<p>Caulerpicin</p> 		Nielsen, <i>et al.</i> (1982) & Mahendran, <i>et al.</i> (1979)
8.	<p>Caulerprenylol A (C₁₈H₂₆O₂)</p> 	Prenylated para-xylane	Liu, <i>et al.</i> (2013)
9.	<p>Caulerprenylol B (C₁₈H₂₆O₂)</p> 	Prenylated para-xylane	Liu, <i>et al.</i> (2013)
10.	<p>Polyacetylenic Fatty Acid</p> 	Fatty acid	Mao, <i>et al.</i> , 2011
11.	<p>Racemobutinolid A (C₂₀H₃₆O₂)</p> 	Diterpenoid	Yang, <i>et al.</i> (2015)
12.	<p>Racemobutinolid B (C₂₀H₃₆O₂)</p> 	Diterpenoid	Yang, <i>et al.</i> (2015)



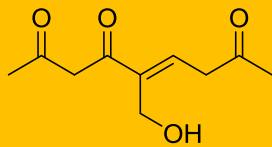
13.	4'5-dehydrodiiodictyonema A (C ₂₈ H ₄₇ NO ₄) 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
14.	Cacospongionolide (C ₂₆ H ₃₈ O ₃) 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
15.	Trans-phytol OR R=H 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
16.	Trans-phytyl Acetate OR R=Ac 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
17.	α-tocospiro A (C ₂₉ H ₅₀ O ₄) 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
18.	α-tokoferol (C ₃₇ H ₅₈ O ₃) 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
19.	α-tokoferol quinone (C ₂₉ H ₅₀ O ₃) 	Yang, <i>et al.</i> (2015)
20.	α-tocospiroone (C ₂₉ H ₅₁ O ₄) 	Yang, <i>et al.</i> (2015)



21.	(23E)-3 β -hydroxy-stigmasta-5,23-dien-28-one 		Yang, et al. (2015)
22.	(3 β ,24R)-stigmasta-5,28-diene-3,24-diol 	Sterol	Yang, et al. (2015)
23.	(3 β ,24S)-stigmasta-5,28-diene-3,24-diol 	Sterol	Yang, et al. (2015)
24.	(22E)-3 β -hydroxy-cholesta-5,22-dien-24-one 	Sterol	Yang, et al. (2015)
25.	Fukosterol 	Sterol	Yang, et al. (2015)
26.	24R,28S-epoxyfucosterol 	Sterol	Yang, et al. (2015)
27.	24S,28R-epoxyfucosterol 	Sterol	Yang, et al. (2015)
28.	(3 β ,23E)-stigmasta-5,23-dien-3,28-diol 	Sterol	Yang, et al. (2015)
29.	Sulfoquinovosyldiacylglycerol 		Wang, et al. (2007)



30. (E)-5-(hydroxymethyl)non-5-ene-2,4,8-trione



Poliketida

Sanjaya,
Y.A (2017)

Lampiran 31. Hasil Identifikasi Rumput Laut Hijau *C. Racemosa*LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES
PUSAT PENELITIAN OSEANOGRAFI
RESEARCH CENTRE FOR OCEANOGRAPHY

Jl. Pasir Putih I, Ancol Timur, Jakarta 14430, PO. Box : 4801/JKTF Jakarta 11048

Telepon : (021) 64713850, Fax. : (021) 64711948

Homepage : <http://www.oseanografi.lipi.go.id>, E-mail : humas@oseanografi.lipi.go.id**SURAT KETERANGAN**

Nomor : B-302/IPK.2/LT.02/I/2015

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: Dr. Dirhamsyah, MA.
NIP	: 196112211981031001
Jabatan	: Plh. Kepala Pusat Penelitian Oseanografi LIPI
Alamat	: Jl. Pasir Putih I, Ancol Timur, Jakarta Utara

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama	: Yushinta Aristina Sanjaya
NIM	: 127080100111010
Fakultas	: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas	: Universitas Brawijaya

Telah selesai melakukan kegiatan determinasi/identifikasi sampel Rumput Laut dibantu oleh staf Peneliti kami Sdr. Tri Handayani, S.Si., M.Si. di Pusat Penelitian Oseanografi LIPI, dengan hasil sebagai berikut :

Filum/Devisio	: Chlororophyta
Kelas/Class	: Chlorophyceae
Bangsa/order	: Bryopsidales
Suku/Famili	: Caulerpaceae
Marga/Genus	: Caulerpa
Jenis/Spesies	: <i>Caulerpa racemosa</i>

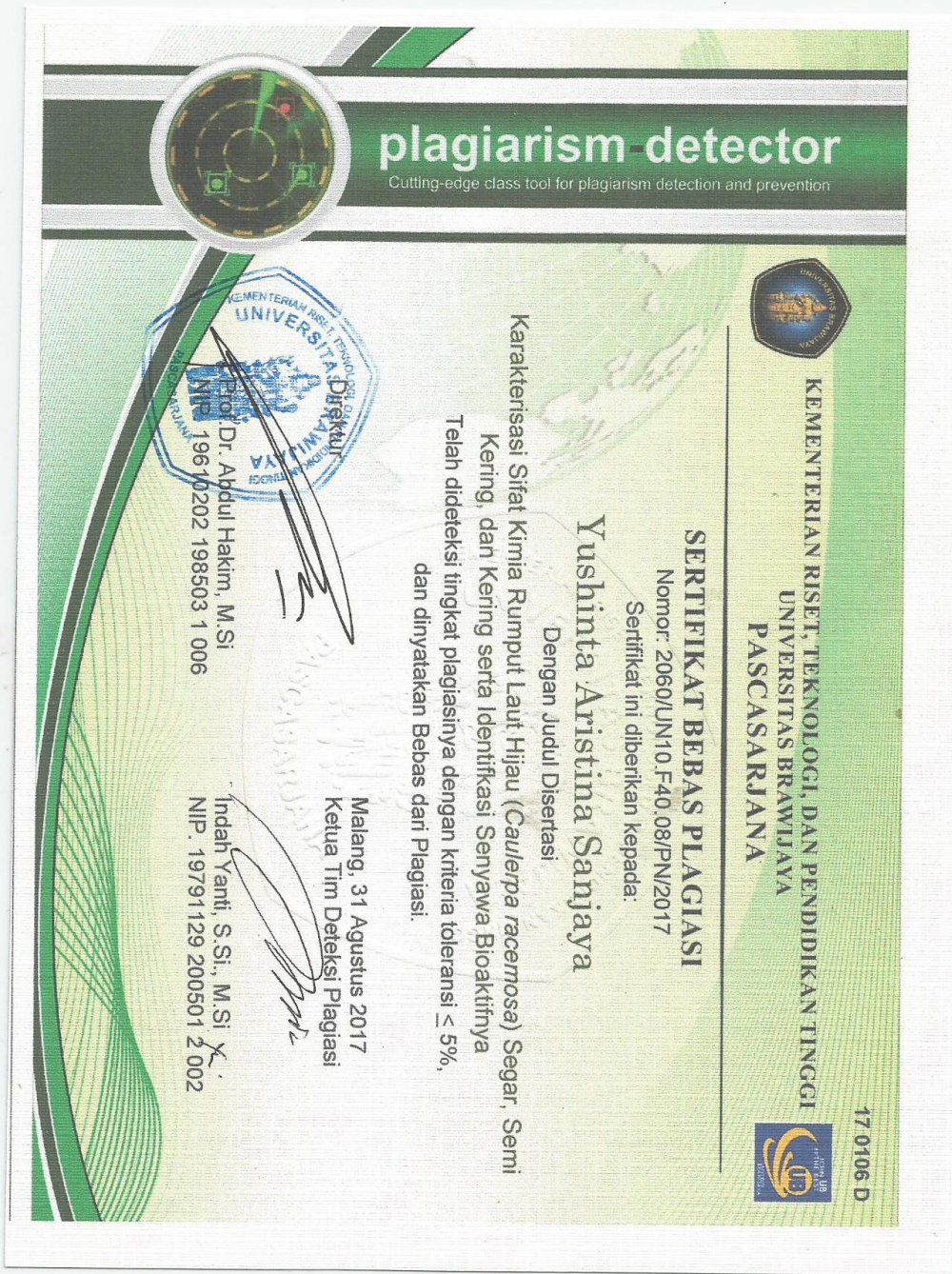
Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya, atas perhatian dan kerjasama Saudara kami ucapkan terima kasih.

Jakarta, 22 Januari 2015

Plh. Kepala
Pusat Penelitian Oseanografi LIPI

Dirhamsyah

Lampiran 32. Surat Keterangan Bebas Plagiasi



plagiarism-detector

Cutting-edge class tool for plagiarism detection and prevention



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
PASCASARJANA

17 0106 D

SERTIFIKAT BEBAS PLAGIASI

Nomor: 2060/UN10.F40.08/PN/2017

Sertifikat ini diberikan kepada:

Yushinta Aristina Sanjaya

Dengan Judul Disertasi:

Karakterisasi Sifat Kimia Rumput Laut Hijau (*Caulerpa racemosa*) Segar, Semi

Kering, dan Kering serta Identifikasi Senyawa Bioaktifnya

Telah dideteksi tingkat plagiasinya dengan kriteria toleransi $\leq 5\%$,

dan dinyatakan Bebas dari Plagiasi.

Malang, 31 Agustus 2017
Ketua Tim Deteksi Plagiasi

Indah Yanti, S.Si., M.Si.
NIP. 19791129 200501 2 002

Dr. Abdul Hakim, M.Si.
NIP. 19610202 198503 1 006

