

**SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
RUMPUT LAUT *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* DARI  
JEPARA**

**TESIS**

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan  
Guna Mencapai Derajat Magister (S-2)

**Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai**



Oleh :

**RISTYANA IKA PUTRANTI**

**26010111400037**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

**2013**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
RUMPUT LAUT *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata*  
DARI JEPARA**

**NAMA PENULIS : RISTYANA IKA PUTRANTI**  
**NIM : 26010111400037**

Tesis telah disetujui  
Tanggal : Oktober 2013

Pembimbing I,



Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M.Sc.  
NIP. 196104131988031002

Pembimbing II,



Dr. Ir. Ita Widowati, DEA.  
NIP. 196204211987032001

Ketua Program Studi



Prof. Dr. Ir. Agus Hartoko, M.Sc.  
NIP. 195708161984031002

**LEMBAR PENGESAHAN**

**SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
RUMPUT LAUT *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata*  
DARI JEPARA**

**Dipersiapkan dan disusun oleh  
RISTYANA IKA PUTRANTI  
26010111400037**

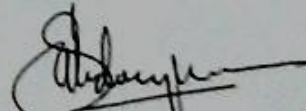
Tesis telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Tanggal : 4 Oktober 2013

Ketua Tim Penguji,



Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M.Sc.  
NIP. 196104131988031002

Anggota Tim Penguji I,



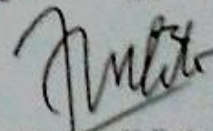
Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc.  
NIP. 195806151985031001

Sekretaris Tim Penguji,



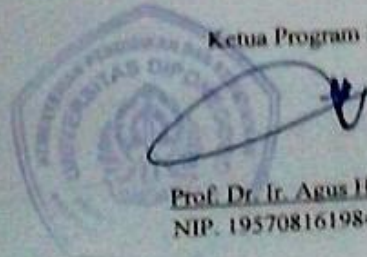
Dr. Ir. Ita Widowati, DEA.  
NIP. 196204211987032001

Anggota Tim Penguji II,



Dr. Ir. Bambang Yulianto, DEA.  
NIP. 196107221987031002

Ketua Program Studi,



Prof. Dr. Ir. Agus Hartoko, M.Sc.  
NIP. 195708161984031002

## **PERNYATAAN KEASLIAN DAN BEBAS PLAGIASI**

Dengan ini saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tesis yang saya buat sebagai syarat untuk memperoleh gelar Magister dari Program Magister Sains Manajemen Sumberdaya Pantai, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNDIP, seluruhnya merupakan karya sendiri.

Adapun bagian-bagian tertentu dalam tulisan tesis yang saya kutip dari hasil karya orang lain, telah dituliskan sumbernya secara jelas dan memadai sesuai norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Apabila di kemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian tesis ini bukan karya saya sendiri, atau adanya plagiasi dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik (M.Si) yang saya sandang dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundangan yang berlaku.

Semarang, 10 Oktober 2013

Ristyana Ika Putranti

NIM. 26010111400037

## RINGKASAN

Ristyana Ika Putranti. 26010111400037. **Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara.** (Ambariyanto dan Ita Widowati).

Rumput laut merupakan sumber antioksidan alami. Penelitian ini menggunakan *S. duplicatum* dan *T. ornata* yang diekstrak dengan berbagai pelarut (n-heksan, etil asetat dan etanol) untuk mengkaji komponen bioaktif, total fenol dan flavonoid, aktivitas antioksidan dan toksisitasnya serta korelasi antara total fenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Skrining fitokimia dilakukan berdasarkan metode dari Harborne. Total fenol diukur berdasarkan metode spektrofotometer menggunakan reagen Follin-Ciocalteu. Total flavonoid diukur berdasarkan metode kolorimetri menggunakan reagen aluminium klorida. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil*). Toksisitas diukur berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Ekstrak *S. duplicatum* mengandung alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon. Ekstrak *T. ornata* mengandung alkaloid, triterpenoid, steroid, fenol, flavonoid dan kuinon. Ekstrak etil asetat menunjukkan kandungan total fenol dan flavonoid tertinggi. Kandungan total fenol ekstrak etil asetat *S. duplicatum* dan *T. ornata* adalah 127,5 mg GAE/g ekstrak dan 155,91 mg GAE/g ekstrak, sedangkan kandungan total flavonoidnya adalah 107,66 mg QE/g ekstrak and 163 mg QE/g ekstrak. Ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, dengan  $IC_{50}$  29,84 ppm untuk *S. duplicatum* dan 45,4 ppm untuk *T. ornata*. Kandungan total fenol dan flavonoid tidak menunjukkan korelasi positif dengan aktivitas antioksidan. Semua ekstrak menunjukkan keaktifan dalam uji BSLT, ditandai dengan nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Ekstrak etanol *T. ornata* adalah yang teraktif dengan  $LC_{50}$  58,31 ppm. Perbedaan jenis pelarut berpengaruh terhadap komponen bioaktif, kandungan total fenol dan flavonoid serta aktivitas antioksidan ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata*.

Kata kunci : *Sargassum duplicatum*, *Turbinaria ornata*, fitokimia, antioksidan dan BSLT.

## SUMMARY

Ristyana Ika Putranti. 26010111400037. **Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Algae Extract *Sargassum duplicatum* and *Turbinaria ornata* from Jepara.** (Ambariyanto dan Ita Widowati).

Algae have antioxidant activities. This study used *S. duplicatum* and *T. ornata* were extracted with various solvents (n-hexane, ethyl acetate and ethanol) to determine phytochemical screening, the total phenolic and flavonoid contents, antioxidant activities, cytotoxic activities and correlation between the total phenolic and flavonoid contents with their antioxidant activities. Phytochemical screening was carried out by Harborne methods. The total phenolic contents were analyzed by spectrophotometer method using Follin-Ciocalteu reagent, while the total flavonoid contents were conducted by colorimetric method using aluminum chloride. The antioxidant activities were measured using DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) method and the cytotoxic activities were evaluated using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

The extract of *S. duplicatum* showed the presence of alkaloids, triterpenoids, steroids, saponins, phenolics, flavonoids and quinons. The extract of *T. ornata* showed the presence of alkaloids, triterpenoids, steroids, phenolics, flavonoids and quinons. Ethyl acetat extract showed the highest total phenolic and flavonoid contents for those species. The total phenolic contents of *S. duplicatum* and *T. ornata* ethyl acetat extract were 127,5 mg GAE/g extract and 155,91 mg GAE/g extract, while the total flavonoid contents were 107,66 mg QE/g extract and 163 mg QE/g extract. Ethanol extract showed the highest antioxidant activities with  $IC_{50}$  value is 29,84 ppm for *S. duplicatum* and 45,4 ppm for *T. ornata*. The total phenolic and flavonoid contents did not show a positive correlation with antioxidant activities. All of the extract from those species are active in BSLT, indicated by  $LC_{50}$  values was less than 1000 ppm. The extract of *T. ornata* that dissolved in ethanol is the most active extract and more potent than the others extracts with  $LC_{50}$  values was 58,31 ppm. The bioactive compounds, the total phenolic and flavonoid contents and their antioxidant activities of *S. duplicatum* and *T. ornata* were influenced by the different solvent.

Keywords : *Sargassum duplicatum*, *Turbinaria ornata*, phytochemical, antioxidant and BSLT.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah atas segala nikmat Allah SWT, atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis yang berjudul **Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara**. Penyusunan tesis ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai derajat Magister Sains (M. Si) pada Magister Manajemen Sumber Daya Pantai, FPIK, UNDIP. Penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Program Beasiswa Unggulan BPKLN (Biro Perencanaan Kerjasama Luar Negeri), Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan beasiswa studi S2 kepada penulis.
2. Program Beasiswa Tesis LPDP (Lembaga Pengelola Dana Pendidikan), Kementerian Keuangan yang telah memberikan beasiswa tesis kepada penulis.
3. Prof. Dr. Ir. Muhammad Zainuri, DEA selaku dekan FPIK, UNDIP.
4. Prof. Dr. Ir. Agus Hartoko, M. Sc. dan Dr. Ir Max Rudolf Muskanafola, M. Sc., selaku ketua dan wakil program Magister Manajemen Sumberdaya Pantai, UNDIP.
5. Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M. Sc. dan Dr. Ir. Ita Widowati, DEA., selaku pembimbing yang dengan sabar membimbing, memberikan pengarahan, motivasi, ilmu dan semangat yang tiada henti kepada penulis.

6. Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M. Sc. dan Dr. Ir. Bambang Yulianto, DEA., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan ilmu kepada penulis.
7. Pengelola beserta seluruh staf pengajar Magister Manajemen Sumberdaya Pantai, UNDIP yang telah memberikan ilmu kepada penulis.
8. Rekan-rekan Magister Manajemen Sumberdaya Pantai tahun 2011.
9. Keluarga terkasih (ayah dan ibu) yang senantiasa memberikan cinta kasih, dukungan moril dan materi serta doa dan semangat yang tiada henti selama ini.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam perkuliahan, penelitian serta penyusunan tesis.

“Tiada gading yang tak retak”, begitu pula dengan penyusunan tesis ini. Sehingga saran dan kritik diharapkan dari semua pihak untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga tesis ini bermanfaat bagi semua pihak.

Semarang, 10 Oktober 2013

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DAN BEBAS PLAGIASI .....	iii
RINGKASAN .....	iv
SUMMARY .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I : PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
1.4.1 Manfaat Akademis .....	7
1.4.2 Manfaat Praktis .....	7
1.5 Alur Penelitian .....	8
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Klasifikasi dan Deskripsi <i>Sargassum duplicatum</i> .....	9
2.2 Klasifikasi dan Deskripsi <i>Turbinaria ornata</i> .....	11
2.3 Metabolit Rumput Laut .....	12
2.4 Ekstraksi Komponen Bioaktif Rumput Laut .....	14
2.5 Fitokimia .....	15
2.5.1 Alkaloid .....	16
2.5.2 Triterpenoid dan Steroid .....	16
2.5.3 Saponin .....	17
2.5.4 Fenol .....	18
2.5.5 Flavonoid .....	18
2.5.6 Kuinon .....	19
2.6 Radikal Bebas .....	20
2.7 Antioksidan .....	22
2.7.1 Manfaat Antioksidan .....	23
2.7.2 Sumber Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya .....	24
2.8 Uji Aktivitas Antioksidan .....	25
2.9 Uji Toksisitas .....	27
2.10 <i>Natural Product and Bioprospecting</i> .....	28
BAB III : METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.2 Ruang Lingkup Penelitian .....	32

3.3	Instrumen Penelitian .....	32
3.4	Prosedur Penelitian .....	35
3.4.1	Pengambilan, Identifikasi dan Preparasi <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	35
3.4.2	Proses Pembuatan Ekstrak .....	37
3.4.3	Analisis Fitokimia .....	38
3.4.4	Uji Kandungan Total Fenol .....	40
3.4.5	Uji Kandungan Total Flavonoid .....	41
3.4.6	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH_.....	42
3.4.7	Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp</i> <i>Lethality Test</i> (BSLT) .....	43
3.5	Analisis Data .....	46
BAB IV	: HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Hasil	
4.1.1	Pengambilan, Identifikasi dan Preparasi <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	48
4.1.2	Ekstraksi <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	50
4.1.3	Analisis Fitokimia .....	51
4.1.4	Kandungan Total Fenol .....	51
4.1.5	Kandungan Total Flavonoid .....	54
4.1.6	Aktivitas Antioksidan .....	56
4.1.7	Korelasi Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan .....	57
4.1.8	Uji Toksisitas BSLT .....	58
4.2	Pembahasan	
4.2.1	Pengambilan, Identifikasi dan Preparasi <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	61
4.2.2	Ekstraksi <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	62
4.2.3	Analisis Fitokimia .....	64
4.2.4	Kandungan Total Fenol .....	67
4.2.5	Kandungan Total Flavonoid .....	72
4.1.6	Aktivitas Antioksidan .....	75
4.2.7	Korelasi Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan .....	82
4.2.8	Uji Toksisitas BSLT .....	83
4.2.9	Manajemen Sumberdaya <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	86
BAB V	: KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Kesimpulan .....	89
5.2	Saran .....	89
DAFTAR PUSTAKA .....		91
LAMPIRAN .....		103
RIWAYAT HIDUP .....		130

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1.	Daftar Alat yang Digunakan dalam Penelitian ..... 32
2.	Daftar Bahan yang Digunakan dalam Penelitian ..... 33
3.	Persentase Rendemen Simplisia <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> ..... 49
4.	Persentase Rendemen Ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> ..... 50
5.	Analisis Fitokimia Ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> ..... 51
6.	Korelasi Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan (IC <sub>50</sub> ) .... 58
7.	Persentase Mortalitas <i>A. salina</i> yang diberi Ekstrak Etanol <i>S. duplicatum</i> (Uji Pendahuluan) ..... 58
8.	Persentase Mortalitas <i>A. salina</i> yang diberi Ekstrak Etanol <i>T. ornata</i> (Uji Pendahuluan) ..... 59
9.	Persentase Mortalitas <i>A. salina</i> yang diberi Ekstrak Etanol <i>S. duplicatum</i> (Uji Utama) ..... 60
10.	Persentase Mortalitas <i>A. salina</i> yang diberi Ekstrak Etanol <i>T. ornata</i> (Uji Utama) ..... 60

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Alur Pendekatan Masalah Penelitian .....	8
2. <i>Sargassum duplicatum</i> .....	9
3. <i>Turbinaria ornata</i> .....	11
4. Struktur DPPH .....	27
5. Tahapan <i>Bioprospecting</i> .....	29
5. Peta Lokasi Pengambilan Sampel .....	31
6. Diagram Alir Penelitian .....	36
7. Diagram Alir Proses Ekstraksi .....	39
8. <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> segar .....	48
9. Simplisia <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	49
10. Kurva Kalibrasi Asam Galat .....	52
11. Total Fenol Ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	53
12. Kurva Kalibrasi Kuersetin .....	54
13. Total Flavonoid Ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	55
14. Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	56
15. Asam Galat dan <i>T. ornata</i> yang direaksikan dengan <i>Folin Ciocalteau</i> .....	67
16. Struktur Kimia Asam Galat .....	68
17. Kuersetin, <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> yang direaksikan dengan $AlCl_3$ .....	72
18. Struktur Kimia Kuersetin .....	73
19. DPPH sebelum dan setelah bereaksi dengan antioksidan <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> .....	75

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1.	Identifikasi <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> ..... 104
2.	Analisis Statistik Total Fenol ..... 105
3.	Analisis Statistik Total Flavonoid ..... 109
4.	Hubungan Konsentrasi Ekstrak <i>S. duplicatum</i> , <i>T. ornata</i> dan BHT dengan %Inhibisi ..... 113
5.	Analisis Statistik Aktivitas Antioksidan ..... 117
6.	Analisis Korelasi Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> ..... 121
7.	Analisa Probit Toksisitas Ekstrak Etanol <i>S. duplicatum</i> dan <i>T. ornata</i> ..... 122
8.	Dokumentasi Penelitian ..... 128

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya proses oksidasi (Tamat *et al.*, 2007; Winarsi, 2007). Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan kosmetik (Tamat *et al.*, 2007) serta berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan (Heo *et al.*, 2005; Tamat *et al.*, 2007).

Antioksidan yang paling umum digunakan adalah antioksidan sintetik, seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Heo *et al.*, 2005; Vadlapudi *et al.*, 2012). Antioksidan sintetik bersifat karsinogenik dan dapat menimbulkan kerusakan hati (Heo *et al.*, 2005), sehingga permintaan terhadap antioksidan alami terus mengalami peningkatan. Ada berbagai sumber antioksidan alami dari laut, seperti rumput laut (Heo *et al.*, 2005; Cornish and Garbary, 2010; Sadati *et al.*, 2011; Vadlapudi *et al.*, 2012), lamun (Santoso *et al.*, 2012), mikroalga (Li *et al.*, 2007), sponge (Hanani *et al.*, 2005; 2006) dan sebagainya.

Rumput laut, terutama Phaeophyceae (*Sargassum* dan *Turbinaria*) tersebar luas di perairan tropis, termasuk Indonesia (Aslan, 1991). Spesies-spesies *Sargassum* sp. yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, salah satunya adalah *S. duplicatum*. *Turbinaria* sp. yang ditemukan di Indonesia ada 3 spesies

dan salah satunya adalah *T. ornata* (Atmadja *et al.*, 1996). *Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp. sering membentuk suatu komunitas alga (Tjitrosoepomo, 2005).

Saat ini, Phaeophyceae (*Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp.) belum dimanfaatkan secara optimal (Williams, 2007), padahal Phaeophyceae sangat bermanfaat, misalnya di bidang kesehatan, mikrobiologi, enzimologi dan ekotoksikologi (La Barre *et al.*, 2010). Hasil ekstraksi *Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp. adalah alginat (Kusumawati, 2009) dan produksinya masih diperoleh dari alam (Rachmat, 1999<sup>a</sup>; Rasyid, 2003). Alginat banyak digunakan dalam industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari berbagai produk olahan (Poncomulyo *et al.*, 2006).

*Sargassum* sp. telah dimanfaatkan sebagai antikolesterol (Herpandi, 2005), biofuel (Lenstra *et al.*, 2011), biofertilizer (Erulan *et al.*, 2009; Sridhar and Rengasamy, 2010), antibakteri (Devi *et al.*, 2012), antitumor (Zandi *et al.*, 2010; Ale *et al.*, 2011), antikanker (Thinh *et al.*, 2013), antifouling (Bazes *et al.*, 2009; Habsah *et al.*, 2011), antivirus (Sivagnanavelmurugan *et al.*, 2012) dan krim kosmetik (Kadi, 2008; Yoon *et al.*, 2009). Ekstrak *Sargassum* sp. juga berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini telah dilakukan di Indonesia (Firdaus *et al.*, 2009; Merdekawati *et al.*, 2009; Budhiyanti *et al.*, 2012), India (Patra *et al.*, 2008; Bhaigyabati *et al.*, 2011), Hawaii (Kelman *et al.*, 2012), Thailand (Yangthong *et al.*, 2009; Boonchum *et al.*, 2011) dan Korea (Heo *et al.*, 2005).

Penelitian tentang *Turbinaria* sp. menyatakan bahwa spesies ini berpotensi dimanfaatkan sebagai antibakteri (Vijayabakar and Shiyamala, 2011; Kantida *et al.*, 2012; Sridharan and Dhamotharan, 2012), antitumor (Fajarningsih *et al.*,

2008), antifungi (Kumar *et al.*, 2010; Kumari *et al.*, 2011), antivirus (Kumar *et al.*, 2009), antikoagulan (Manoj *et al.*, 2013) dan antifouling (Kantida *et al.*, 2012). Ekstrak *Turbinaria* sp. juga berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini telah dilakukan di Indonesia (Supriyono, 2007), India (Ananthi *et al.*, 2010; Ananthi *et al.*, 2011; Vijayabakar and Shiyamala, 2012), Hawaii (Kelman *et al.*, 2012) dan Thailand (Boonchum *et al.*, 2011).

Phaeophyceae menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi diantara Rhodophyceae dan Chlorophyceae (Yangthong *et al.*, 2009; Kelman *et al.*, 2012). Phaeophyceae di daerah tropis memproduksi metabolit sekunder lebih baik sebagai suatu sistem proteksi terhadap radiasi sinar UV (ultra violet). Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan yang dihasilkan oleh Phaeophyceae (Budhiyanti *et al.*, 2012). Demirel *et al.* (2009) menyebutkan bahwa senyawa fenol ini lebih efektif dibanding  $\alpha$ -tokoferol dan hampir sebanding dengan antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT. Berdasarkan hal tersebut maka perlu diteliti lebih lanjut besarnya total kandungan senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) dalam Phaeophyceae.

Senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan etanol/metanol (polar). Perbedaan jenis pelarut ini akan mempengaruhi karakteristik dari senyawa bioaktif yang terdapat pada *S. duplicatum* dan *T. ornata* yang dimungkinkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Penelusuran potensi dan identifikasi senyawa bioaktif organisme laut gencar dilakukan selama satu dekade terakhir ini (Murniasih, 2003). Potensi suatu tanaman berkaitan dengan toksisitas tanaman dan senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya (Lisdawati *et al.*, 2006). Sehingga penelitian terhadap toksisitas ekstrak tanaman dibutuhkan untuk menentukan keaktifan senyawa bioaktif dalam tanaman. Hal ini dapat digunakan sebagai pedoman optimalisasi pemanfaatannya.

Saat ini, belum ada produk antioksidan dari rumput laut *S. duplicatum* dan *T. ornata* dan masih sedikit penelitian yang mengkombinasikan antara kandungan senyawa bioaktif, aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata* serta korelasi antara kandungan total fenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Hal ini membuka peluang untuk melakukan penelitian tentang *S. duplicatum* dan *T. ornata* ditinjau dari kandungan senyawa bioaktif untuk antioksidan alami serta efek toksisitasnya. Selanjutnya, data hasil aktivitas antioksidan dari 2 spesies tersebut dapat memberikan informasi baru dalam rangka pemanfaatan *natural product* rumput laut.

## **1.2 Perumusan Masalah**

*Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp. merupakan rumput laut golongan Phaeophyceae yang ditemukan di daerah tropis, termasuk di Indonesia. Hingga saat ini, pemanfaatan *Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp. hanya sebatas ekstraksi polisakarida berupa alginat, sedangkan kandungan senyawa bioaktifnya belum

dimanfaatkan secara optimal, termasuk belum adanya produk antioksidan dari rumput laut *S. duplicatum* dan *T. ornata*

Beberapa penelitian tentang kandungan senyawa bioaktif dan potensinya sebagai antioksidan alami telah dilakukan di beberapa negara. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Metode ini bersifat sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009).

Antioksidan berpotensi dikembangkan di bidang industri farmasi, kecantikan dan pengawetan makanan. Antioksidan diduga mempunyai efek antikanker (Tamat *et al.*, 2007; Winarsi, 2007). Potensi suatu ekstrak tanaman yang diduga mempunyai efek antikanker dapat dideteksi dengan uji toksisitas. Uji toksisitas ini sering dikaitkan dengan potensi suatu ekstrak tanaman sebagai antikanker (Meyer *et al.*, 1982).

Metode BSLT *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk skrining atau penapisan aktivitas farmakologis pada tanaman obat dan mendeteksi toksisitas ekstrak tanaman (Krishnaraju *et al.*, 2005). Metode ini bersifat sederhana, mudah dilakukan, murah, cepat, akurat dan membutuhkan ekstrak dalam jumlah sedikit (Meyer *et al.*, 1982; Pisutthanan *et al.*, 2004).

Di Indonesia, penelitian tentang kandungan senyawa bioaktif, total kandungan fenol dan flavonoid, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan

toksisitas dengan metode BSLT serta korelasi antara kandungan total fenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan dari ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata*, terutama dari Jepara masih sedikit dilakukan. Berdasarkan kondisi tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji kandungan senyawa bioaktif, total kandungan fenol dan flavonoid, aktivitas antioksidan serta toksisitas dari ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata*.

Berdasarkan uraian permasalahan tersebut, maka pertanyaan riset (*research questions*) dalam penelitian ini adalah :

- a. Bagaimana pengaruh perbedaan jenis pelarut terhadap komponen bioaktif, kandungan total fenol dan flavonoid serta aktivitas antioksidan ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata* terhadap radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).
- b. Bagaimana korelasi antara total fenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata*.
- c. Bagaimana toksisitas ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata* terhadap *Artemia salina*.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan latar belakang dan perumusan masalah, maka tujuan penelitian ini adalah untuk :

- a. Mengkaji pengaruh perbedaan jenis pelarut terhadap komponen bioaktif, kandungan total fenol dan flavonoid serta aktivitas antioksidan ekstrak *S.*

*duplicatum* dan *T. ornata* terhadap radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

- b. Mengkaji korelasi antara total fenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata*.
- c. Mengkaji toksisitas ekstrak *S. duplicatum* dan *T.ornata* terhadap *Artemia salina*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Akademis**

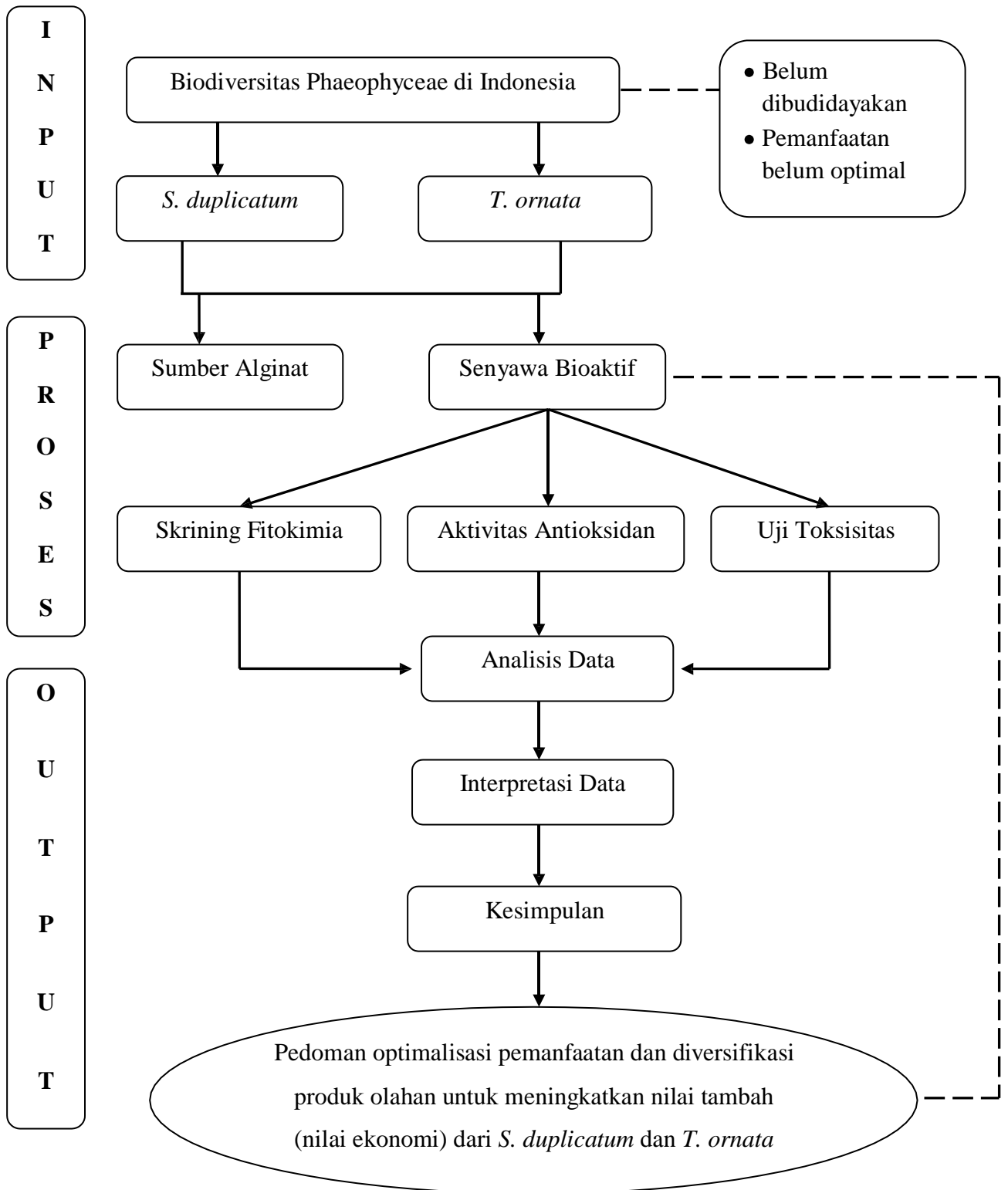
Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi *database* potensi pemanfaatan *S. duplicatum* dan *T. ornata* sehingga dapat digunakan sebagai pedoman dalam pengembangan ilmu bioteknologi kelautan (*marine biotechnology*).

### **1.4.2 Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi *S. duplicatum* dan *T. ornata* sebagai senyawa antioksidan alami sehingga dapat meningkatkan optimalisasi pemanfaatan dan nilai tambah (nilai ekonomi) dari *S. duplicatum* dan *T. ornata* di masa mendatang.

## **1.5 Alur Penelitian**

Alur pendekatan masalah dalam penelitian terangkum pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur Pendekatan Masalah Penelitian

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi dan Deskripsi *Sargassum duplicatum*

*Sargassum* merupakan bagian dari kelompok rumput laut coklat (Phaeophyceae) dan genus terbesar dari famili Sargassaceae. Klasifikasi *Sargassum* adalah sebagai berikut (Dawes, 1981; Tjitrosoepomo, 2001; 2005) :

Divisi : Thallophyta

Kelas : Phaeophyceae

Ordo : Fucales

Famili : Sargassaceae

Genus : *Sargassum*

Spesies : *Sargassum duplicatum* J. Agardh



Gambar 2. *Sargassum duplicatum* (Hasil Penelitian, 2013)

*Sargassum* terdiri dari kurang lebih 400 spesies di dunia. Spesies-spesies *Sargassum* sp. yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu : *S. duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofilum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Atmadja *et al.*, 1996; Rachmat, 1999<sup>b</sup>).

Ciri-ciri umum dari *Sargassum* ini adalah bentuk thallus umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, oval, atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter, ukuran panjang umumnya mencapai 3-7 meter, warna thallus umumnya coklat (Aslan, 1991). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh 3 sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Dawes, 1981; Tjitrosoepomo, 2005).

*Sargassum* tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu, pada daerah intertidal maupun subtidal (Aslan, 1991; Kadi, 2005). Zat yang dapat diekstraksi dari *Sargassum* berupa alginat yaitu suatu garam dari asam alginik yang mengandung ion sodium, kalsium dan barium. Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, terutama di daerah rata pasir (*sand flat*) (Aslan, 1991).

*Sargassum* sp. telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas, dan lain sebagainya. Hasil ekstraksi *Sargassum* sp. berupa alginat banyak digunakan

industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pastel isi, dan kue. *Sargassum* sp. juga telah dimanfaatkan di bidang farmasi dan ternak (Tjitrosoepomo, 2005; Poncomulyo *et al.*, 2006).

## 2.2 Klasifikasi dan Deskripsi *Turbinaria ornata*

Klasifikasi ilmiah dari *Turbinaria* sp. adalah sebagai berikut (Dawes, 1981; Tjitrosoepomo, 2001; 2005) :

Devisi : Thallophyta

Class : Phaeophyceae

Ordo : Fucales

Famili : Sargassaceae

Genus : *Turbinaria*

Spesies : *Turbinaria ornate* (Turner) J. Agardh



Gambar 3. *Turbinaria ornata* (Hasil Penelitian, 2013)

*Turbinaria* sp. yang ditemukan di Indonesia ada 3 spesies, yaitu : *T. ornata*, *T. decurrens* dan *T. conoides* (Atmadja *et al.*, 1996). Ciri-ciri umum dari *Turbinaria* sp. ini adalah pada umumnya warna thallus adalah coklat, tubuhnya seperti pohon atau semak, bentuk thallus utama umumnya silindris, bentuk daun seperti terompet, kecubung atau corong dengan pinggir bergerigi, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang terletak pada filoid. *Sargassum* sp. dan *Turbinaria* sp. sering membentuk suatu komunitas alga (Aslan, 1991; Tjitrosoepomo, 2005). *Turbinaria* sp. tersebar hampir di seluruh perairan tropis termasuk Indonesia, pada daerah karang dengan pasang surut rendah dan area subtidal (Aslan, 1991; Atmadja *et al.*, 1996).

Secara tradisional, *Turbinaria* sp. telah dikonsumsi sebagai sayuran yang nilai ekonomisnya masih sangat rendah. *Turbinaria* sp. biasanya diekspor ke Filipina untuk diolah menjadi beraneka produk seperti sup, salad dan obat gondok. *Turbinaria* sp. mempunyai kandungan alginat dan iodine (Aslan, 1991; Tjitrosoepomo, 2005). Pemanfaatan alginat pada *Turbinaria* sp. seperti halnya pada *Sargassum* sp.

### **2.3. Metabolit Rumput Laut**

Metabolit diklasifikasikan menjadi 2, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer dibentuk dalam jumlah terbatas dan digunakan untuk pertumbuhan dan kehidupan organisme (Nofiani, 2008). Metabolit primer rumput laut adalah senyawa polisakarida hidrokoloid seperti karagenan, agar dan alginat. Senyawa hidrokoloid tersebut telah digunakan dalam berbagai industri, terutama

industri makanan, kosmetik dan obat-obatan (Chapman, 1970; Bhat *et al.*, 2009). Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim atau dari ancaman predator. Metabolit sekunder tidak digunakan untuk pertumbuhan dan dibentuk dari metabolit primer pada kondisi stress (Nofiani, 2008; Bhat *et al.*, 2009). Metabolit sekunder biasanya dalam bentuk senyawa bioaktif.

Metabolit sekunder rumput laut merupakan senyawa bioaktif yang terus dimanfaatkan dan dikembangkan di berbagai bidang. Seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, penerapan metode ekstraksi dapat digunakan untuk mengisolasi metabolit sekunder dari rumput laut. Hal ini mendorong meluasnya pemanfaatan metabolit sekunder rumput laut di bidang farmasi, seperti antibakteri, antioksidan dan antikanker.

Pada umumnya, rumput laut mengandung senyawa fenol dan turunannya sebagai salah satu cara proteksi terhadap lingkungan yang ekstrim (Meenakshi *et al.*, 2009). Senyawa fenol merupakan salah satu sumber antioksidan non-gizi (Winarsi, 2007). Rumput laut coklat (*Sargassum* sp.) mempunyai aktivitas antioksidan, karena mampu menghambat peroksidasi lemak dan aktivitas radikal bebas (Firdaus *et al.*, 2009). *S. myriocystum* dan *T. ornata* dari pantai selatan Tamil Nadu, India mengandung senyawa steroid, alkaloid, fenol, flavonoid, saponin dan tanin (Jeyabalan and Marimuthu, 2012).

## 2.4 Ekstraksi Komponen Bioaktif Rumput Laut

Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Harborne, 1987). Ada beberapa metode umum ekstraksi yang sering dilakukan, yaitu ekstraksi dengan pelarut (maserasi), destilasi, *supercritical fluid extraction* (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi (Gritter *et al.*, 1991), serta secara enzimatik (Taherzadeh and Karimi, 2007; Hammed *et al.*, 2013). Destilasi dan ekstraksi dengan pelarut merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan (Gritter *et al.*, 1991).

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti eter, kloroform dan n-heksana (Gritter *et al.*, 1991). Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah terbakar (Harborne, 1987).

Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

Secara umum, ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut berbeda secara berurutan, dimulai dengan pelarut non polar lalu dengan pelarut yang kepolarannya menengah kemudian dengan pelarut polar, dengan demikian akan diperoleh ekstrak kasar yang mengandung berturut-turut senyawa non polar, semi polar, dan polar. Metode ini berguna bila kita bekerja dengan skala gram. Sedangkan ekstraksi tunggal dilakukan dengan cara merendam sampel dengan satu jenis pelarut tertentu. Bila menggunakan beberapa pelarut yang berbeda maka pada setiap pelarut dicampurkan dengan sampel yang belum pernah dilarutkan dengan pelarut lain sebelumnya (Harborne, 1987).

## **2.5 Fitokimia**

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Harborne, 1987; Sirait, 2007). Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harborne, 1987).

### **2.5.1 Alkaloid**

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu atau 2 atom nitrogen (Harborne, 1987; Bhat *et al.*, 2009). Alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan untuk pengobatan (Harborne, 1987). Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid (Sirait, 2007). Alkaloid tidak mempunyai tata nama sistematis, oleh karena itu, suatu alkaloid dinyatakan dengan nama trivial yang berakhiran -in (Lenny, 2006). Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalau dan penarik serangga (Harborne, 1987).

### **2.5.2 Triterpenoid dan Steroid**

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, sering kali mempunyai titik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya (Harborne, 1987).

Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan 4 cincin yang saling bergabung (Lehninger, 1982; Bhat *et al.*, 2009). Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol

merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunan esternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar. Membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterol hanya dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan 23 (Lehninger, 1982; Bhat *et al.*, 2009).

Bhat *et al.* (2009) mengklasifikasikan sterol menjadi beberapa golongan sebagai berikut :

- a. Zoosterol, merupakan sterol yang terdapat pada hewan. Contoh  $5\alpha$ -cholestan- $3\beta$ -cholestan- $3\beta$ -ol.
- b. Fitosterol, merupakan sterol yang terdapat pada tumbuhan. Contoh stigmasterol.
- c. Mycoosterol, merupakan sterol yang ditemukan pada yeast dan fungi. Contoh mycoosterol.
- d. Marine sterol, merupakan sterol yang ditemukan pada organisme laut.

### **2.5.3 Saponin**

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987).

#### **2.5.4 Fenol**

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007).

Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya. Misalnya lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen. Namun beberapa lainnya hanya sebatas dugaan sementara. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana : orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 1987; Apak *et al.*, 2007).

#### **2.5.5 Flavonoid**

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang terdiri dari C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007; Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino

(Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).

Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan co-pigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen ini merupakan antraktan bagi serangga dan merupakan agen polinasi. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan (Bhat *et al.*, 2009). Bagi manusia, flavon dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler, sebagai diuretic dan antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

#### **2.5.6 Kuinon**

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor dasar pada benzokuinon, yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap. Kuinon untuk tujuan identifikasi dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu benzokuinon (kuinon dengan kromofor yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap karbon-karbon), naftokuinon, antrakuinon dan kuinon isoprenoid. Tiga kelompok pertama biasanya terhidroksilasi dan bersifat senyawa fenol serta mungkin secara *in vivo* terdapat dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk

kuinon tanpa warna dan terkadang juga dalam bentuk dimer. Dengan demikian diperlukan hidrolisis asam untuk melepaskan kuinon bebasnya. Senyawa kuinon yang terdapat sebagai glikosida mungkin larut sedikit dalam air, tetapi umumnya kuinon lebih mudah larut dalam lemak dan akan terdeteksi dari tumbuhan bersama-sama dengan karotenoid dan klorofil (Harborne, 1987).

## **2.6 Radikal Bebas**

Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan (Winarsi, 2007). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Radikal bebas erat kaitannya dengan kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Fessenden dan Fessenden, 1986). Radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal (Winarsi, 2007).

Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel, yaitu protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. Asam lemak tak jenuh adalah yang paling rentan. Radikal bebas akan merusak lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak pembuluh darah dan menimbulkan aterosklerosis. Radikal bebas juga merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetika dan membentuk sel kanker. Jaringan lipid

juga akan dirusak oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya dapat menyebabkan reaksi berantai dan kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Hal ini akan menimbulkan kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif hingga kanker. Berbagai gangguan akibat kerja radikal bebas adalah gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul yang tidak teridentifikasi oleh sistem imun bahkan mutasi. Semua gangguan tersebut memicu timbulnya berbagai macam penyakit (Sadikin, 2001 *dalam* Winarsi, 2007).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan reaksi radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas, tahap propagasi merupakan pemanjangan rantai dan tahap terminasi merupakan bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan cara (Winarsi, 2007) :

- Mencegah (*prevention*) atau menghambat (*inhibition*) pembentukan radikal bebas baru
- Menginaktivasi (*inactivation*) atau menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*) dan memotong propagasi (pemutusan rantai)
- Memperbaiki (*repaire*) kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas

Antioksidan merupakan substansi penting yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredamnya. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti

kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007).

## **2.7 Antioksidan**

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun non-nutrisi yang terkandung dalam bahan pangan, yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya kerusakan oksidatif dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan/reduktor. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil tapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Tamat *et al.* (2007) menyatakan bahwa antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan.

Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan yang diproduksi secara kontinue untuk menangkal atau meredam radikal bebas, seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Bila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan alami dalam tubuh maka radikal bebas akan

menyerang komponen lipid, protein dan DNA. Sehingga tubuh kita membutuhkan asupan antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas tersebut (Prakash, 2001; Winarsi, 2007; Hapsari, 2008).

### **2.7.1 Manfaat Antioksidan**

Antioksidan penting untuk kesehatan dan kecantikan serta mempertahankan mutu produk pangan. Di bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.* 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).

Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai mampu menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur (Winarsi, 2007).

Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga dapat digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan.

Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan yang memproduksi asam, aroma tak sedap dan toksik selama proses pengolahan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi mutu dan keamanan produk pangan (Heo *et al.*, 2005).

### **2.7.2 Sumber Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya**

Berdasarkan mekanisme kerja dan sumbernya, antioksidan diklasifikasikan menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier. Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan endogenus, yaitu antioksidan yang diproduksi secara alami dan kontinue oleh tubuh. Antioksidan primer merupakan jenis antioksidan enzimatis, yaitu mampu memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas ini menjadi lebih stabil. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007). Contoh antioksidan primer adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH) (Prakash, 2001; Tamat *et al.* 2007; Winarsi, 2007).

Antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan eksogenus atau antioksidan non-enzimatis, yaitu antioksidan yang tidak diproduksi secara alami oleh tubuh dan didapatkan dari asupan makanan maupun minuman. Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical*

*scavenger*). Sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalamnya adalah vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, asam lipoat, bilirubin dan albumin, likopen dan klorofil (Winarsi, 2007). Antioksidan sintetik dibuat dari bahan-bahan kimia antara lain *butylated hydroxyanisol* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Heo *et al.*, 2005).

Antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-*repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-basa (Winarsi, 2007).

## **2.8 Uji Aktivitas Antioksidan**

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*.

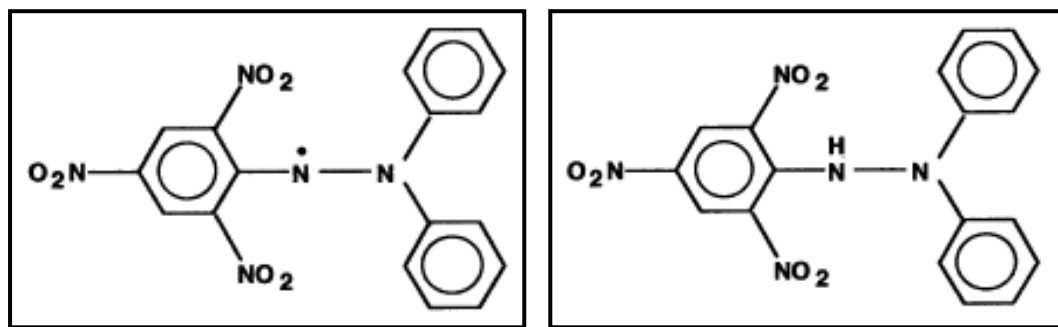
Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Badarinath *et al.*, 2010).

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010).

Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai  $IC_{50}$

(*Inhibitor Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm ( $IC_{50} < 50$  ppm), kuat ( $50 \text{ ppm} < IC_{50} < 100$  ppm), sedang ( $100 \text{ ppm} < IC_{50} < 150$  ppm), lemah ( $150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200$  ppm), dan sangat lemah ( $IC_{50} > 200$  ppm). Struktur DPPH radikal bebas dan DPPH yang telah bereaksi dengan antioksidan disajikan pada Gambar 4. (Molyneux, 2004).



a. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil

b. 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazin

Gambar 4. Struktur DPPH (a) Radikal Bebas dan (b) Radikal Bebas yang Telah Bereaksi dengan Antioksidan (Molyneux, 2004)

## 2.9 Uji Toksisitas

Pengujian terhadap aktivitas dan toksisitas ekstrak tanaman dapat dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT sangat cocok digunakan untuk isolasi senyawa bioaktif ekstrak tanaman. Metode BSLT ini sering dilakukan dalam uji pendahuluan untuk skrining atau penapisan aktivitas farmakologis pada tanaman obat untuk mendukung penggunaan tanaman obat dalam pengobatan tradisional dan modern, mendeteksi efek racun dari fungi,

toksisitas ekstrak tanaman, logam berat, pestisida dan sitotoksisitas (Krishnaraju *et al.*, 2005; Tamat *et al.*, 2007). Metode BSLT digunakan secara luas untuk *bioassay* bioaktivitas ekstrak kasar suatu tanaman. Metode ini bersifat sederhana, mudah dilakukan, murah, cepat dan membutuhkan ekstrak dalam jumlah sedikit. Metode BSLT dapat ditindak lanjuti dengan metode *bioassay* lain yang lebih kompleks dan mahal setelah senyawa aktifnya berhasil diisolasi (Pisutthanan *et al.*, 2004).

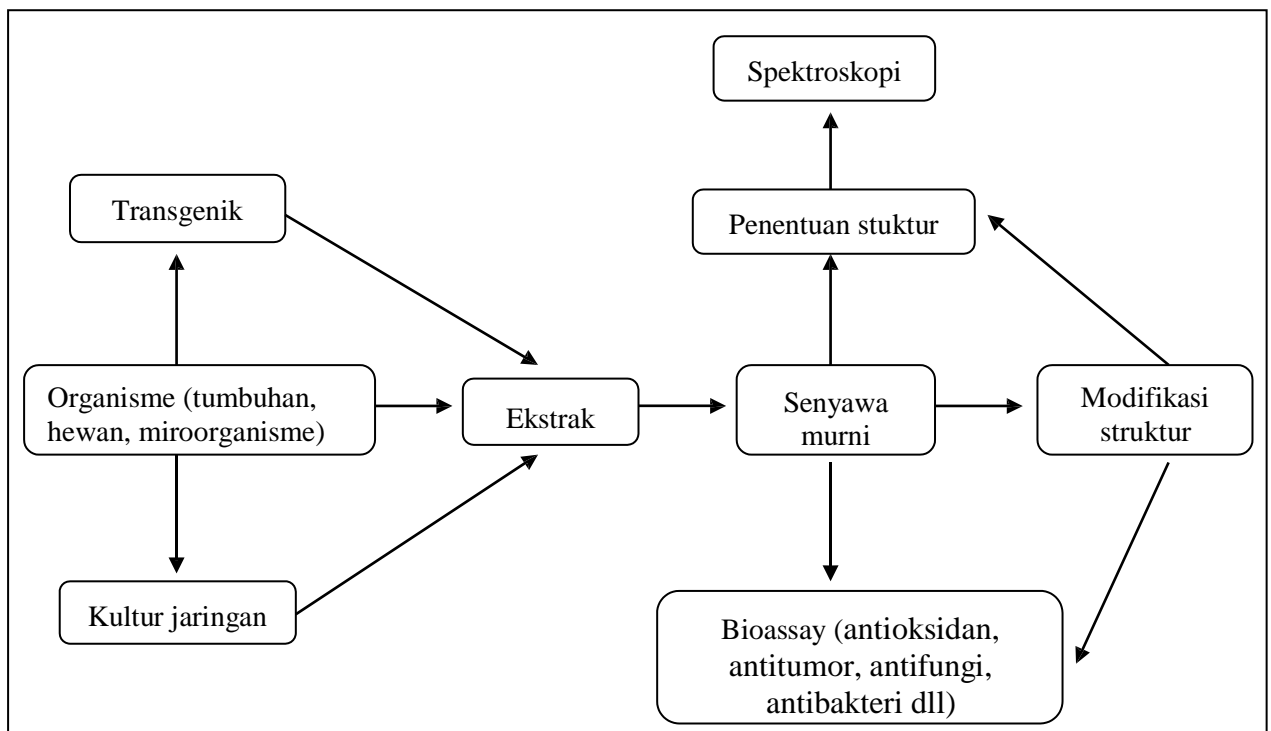
Uji BSLT dilakukan untuk melihat efek toksisitas terhadap sel dan sering digunakan untuk skrining senyawa bioaktif antikanker (Tamat *et al.*, 2007). Metode BSLT dilakukan dengan mengamati tingkat kematian (mortalitas) yang ditimbulkan oleh ekstrak terhadap larva udang jenis *Artemia salina* setelah dilakukan pengujian selama 24 jam. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC<sub>50</sub> (*Lethal Concentration*) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Suatu ekstrak dinyatakan aktif dan bersifat toksik jika dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm dan bersifat tidak toksik jika ditemukan pada konsentrasi lebih dari 1000 ppm (Meyer *et al.*, 1982).

## **2.10 Natural Product and Bioprospecting**

Bahan alam (*natural product*) merupakan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi dan berasal dari organisme (tumbuhan, hewan dan mikroorganisme). Bahan alam dikelompokkan berdasarkan kesamaan struktur

atau jalur biosintesisnya, seperti kelompok lipid, protein, karbohidrat, alkaloid, fenol, flavonoid, terpenoid dan sebagainya (Baker *et al.*, 2007). Berbagai bahan alam ini mempunyai banyak manfaat bagi kehidupan manusia, sehingga mendorong para ilmuwan untuk mempelajari dan mengisolasinya serta melakukan *bioprospecting*.

*Bioprospecting* merupakan eksplorasi keanekaragaman hayati, terutama di bidang genetika dan biokimia untuk dilakukan skrining aktivitas biologi dan diusulkan sebagai bahan alam yang bernilai ekonomi, terutama di bidang industri farmasi, pangan dan kosmetik (Duraismy *et al.*, 2011). *Bioprospecting* didukung oleh kemajuan teknologi rekombinan (rekayasa), teknologi kimia dan pengetahuan lokal masyarakat. *Bioprospecting* dilakukan dalam berbagai tahapan dan terangkum dalam Gambar 5.



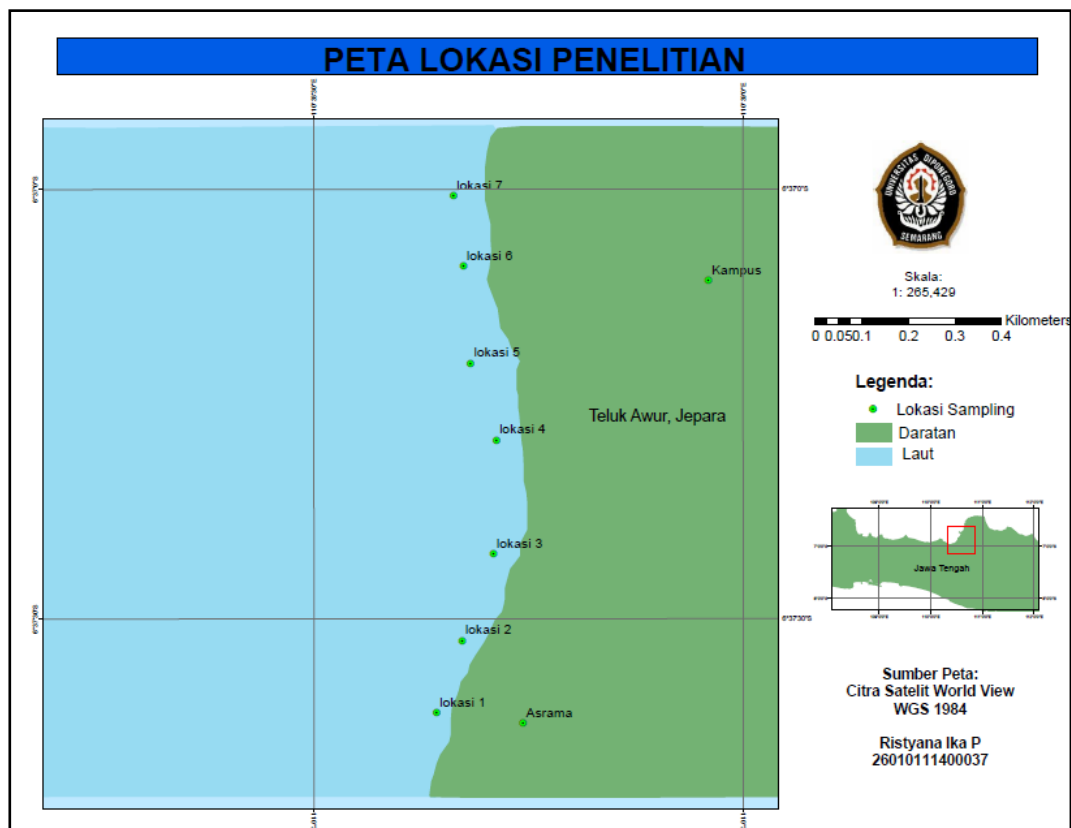
Gambar 5. Tahapan *Bioprospecting* (Wright, 2012)

Kegiatan *bioprospecting* dimulai dengan pengumpulan bahan alam dan identifikasi spesies (sampel). Sampel organisme diekstrak dan dilakukan identifikasi senyawa bioaktif (analisis fitokimia) dan uji bioaktivitas/bioassay (antioksidan, antitumor, antifungi, antibakteri dan sebagainya). Ekstrak yang mempunyai bioaktivitas tinggi difraksinasi, sehingga didapatkan fraksi aktifnya dan dilanjutkan isolasi senyawa bioaktif menggunakan teknik kromatografi sehingga dihasilkan senyawa murni. Identifikasi dan penentuan struktur senyawa murni dilakukan dengan teknik spektroskopi (UV, FT-IR, NMR dan GC/MS). Senyawa murni ini diuji bioaktivitasnya. Jika mempunyai bioaktivitas yang tinggi maka berpotensi untuk dikembangkan dengan memodifikasi struktur dan mensintesisnya dengan teknologi rekombinan (Wright, 2012).

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juli 2013. Sampel *S. duplicatum* dan *T. ornata* diperoleh dari perairan Teluk Awur, Jepara (Gambar 5.). Proses ekstraksi sampel dan analisis fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Sains dan Matematika, UNDIP. Uji total fenol, uji total flavonoid, uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas dilakukan di Laboratorium Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UNDIP.



Gambar 5. Peta Lokasi Pengambilan Sampel *S. duplicatum* dan *T. ornata* di Teluk Awur, Jepara

### 3.2 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini menggunakan *S. duplicatum* dan *T. ornata* yang diperoleh dari perairan Teluk Awur, Jepara. Penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap pertama adalah pengambilan, identifikasi dan preparasi sampel, pembuatan ekstrak dan analisis fitokimia. Tahap kedua yaitu uji total fenol dan flavonoid serta uji aktivitas antioksidan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Tahap ketiga adalah aplikasi hasil antioksidan terbaik dari *S. duplicatum* dan *T. ornata* untuk uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Tahapan penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.

### 3.3 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian meliputi alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian dan disajikan pada Tabel 1. dan Tabel 2.

Tabel 1. Daftar Alat yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Peralatan	Kegunaan
1.	Timbangan	Menimbang rumput laut basah
2.	Blender	Menghaluskan sampel
3.	Kantung plastik	Menyimpan sampel tepung rumput laut
4.	Erlenmeyer 1000 ml	Tempat merendam sampel
5.	Erlenmeyer 500 ml	Tempat menetaskan nauplius <i>A. salina</i>
6.	Gelas ukur 10 ml, 100 ml	Mengukur volume larutan
7.	Labu ukur 10 ml, 100 ml	Mengukur volume larutan dan pengenceran
8.	Spatula	Mengambil ekstrak
9.	Gelas beker 500 ml	Mengukur volume larutan
10.	<i>Rotary evaporator</i>	Menguapkan pelarut ekstrak

Lanjutan Tabel 1. Daftar Alat yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Peralatan	Kegunaan
11.	Vial 15 ml	Tempat hasil ekstrak dan tempat uji sampel
12.	Corong	Membantu memasukkan larutan
13.	Neraca analitik	Menimbang sampel dan ekstrak
14.	Tabung reaksi	Tempat sampel untuk fitokimia, uji kandungan total fenol dan flavonoid
15.	Rak tabung reaksi	Meletakkan tabung reaksi
16.	Pipet tetes	Memipet nauplius <i>A. salina</i>
17.	Pipet ukur 5 ml	Mengambil larutan
18.	Mikropipet	Memindahkan larutan bervolume kecil
19.	Mikropipet 1 ml	Mengambil larutan volume 1 ml
20.	Lemari es	Menyimpan ekstrak
21.	Batang pengaduk	Mengaduk
22.	Kaca pembesar (lup)	Mengamati dan menghitung <i>A. salina</i>
24.	Spektrofotometer <i>UV</i> Shimidzu 1601	Mengukur absorbansi sampel
25.	Autoclave	Sterilisasi alat dan air laut
26.	Aerator	Suplai oksigen
27.	pH meter	Mengukur pH air laut
28.	Refraktometer	Mengukur salinitas air laut
29.	Lampu TL 40 watt	Sumber cahaya
30.	<i>Hotplate</i> dan <i>magnetic stirrer</i>	Memanaskan dan menghomogenkan sampel

Tabel 2. Daftar Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	<i>S. duplicatum</i>	Sampel
2.	<i>T. ornata</i>	Sampel

Lanjutan Tabel 2. Daftar Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
3.	n-heksan	Pelarut sampel
4.	Etil asetat	Pelarut sampel
5.	Etanol 96 %	Pelarut sampel
6.	Metanol p.a.	Pelarut sampel
7.	Air kran	Pencuci alat
8.	Akuades	Pelarut
9.	Aluminium foil	Pembungkus sampel
10.	Tissue	Pembersih alat
11.	Kertas saring Whatman 42	Menyaring larutan
12.	Kertas label	Memberi label penanda
13.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Reagen uji fitokimia
14.	Pereaksi dragendorff	Reagen uji fitokimia
15.	Pereaksi meyer	Reagen uji fitokimia
16.	Kloroform	Reagen uji fitokimia
17.	Anhidra asetat	Reagen uji fitokimia
18.	FeCl <sub>3</sub>	Reagen uji fitokimia
19.	HCl 2N	Reagen uji fitokimia
20.	NaOH	Reagen uji fitokimia
21.	Serbuk magnesium	Reagen uji fitokimia
22.	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 5 %	Reagen uji total fenol
23.	<i>Folin-Ciocalteau</i> 50 %	Reagen uji total fenol
24.	Asam galat	Kontrol positif uji total fenol
25.	AlCl <sub>3</sub> 10 %	Reagen uji total flavonoid
26.	Kalium asetat	Reagen uji total flavonoid
27.	<i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil</i> (DPPH)	Reagen uji antioksidan
28.	Kuersetin	Kontrol positif uji total flavonoid

Lanjutan Tabel 2. Daftar Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
29.	BHT	Kontrol positif antioksidan
30.	Air laut steril	Medium penetasan <i>Artemia salina</i>
31.	Nauplius <i>Artemia salina</i>	Hewan uji toksisitas

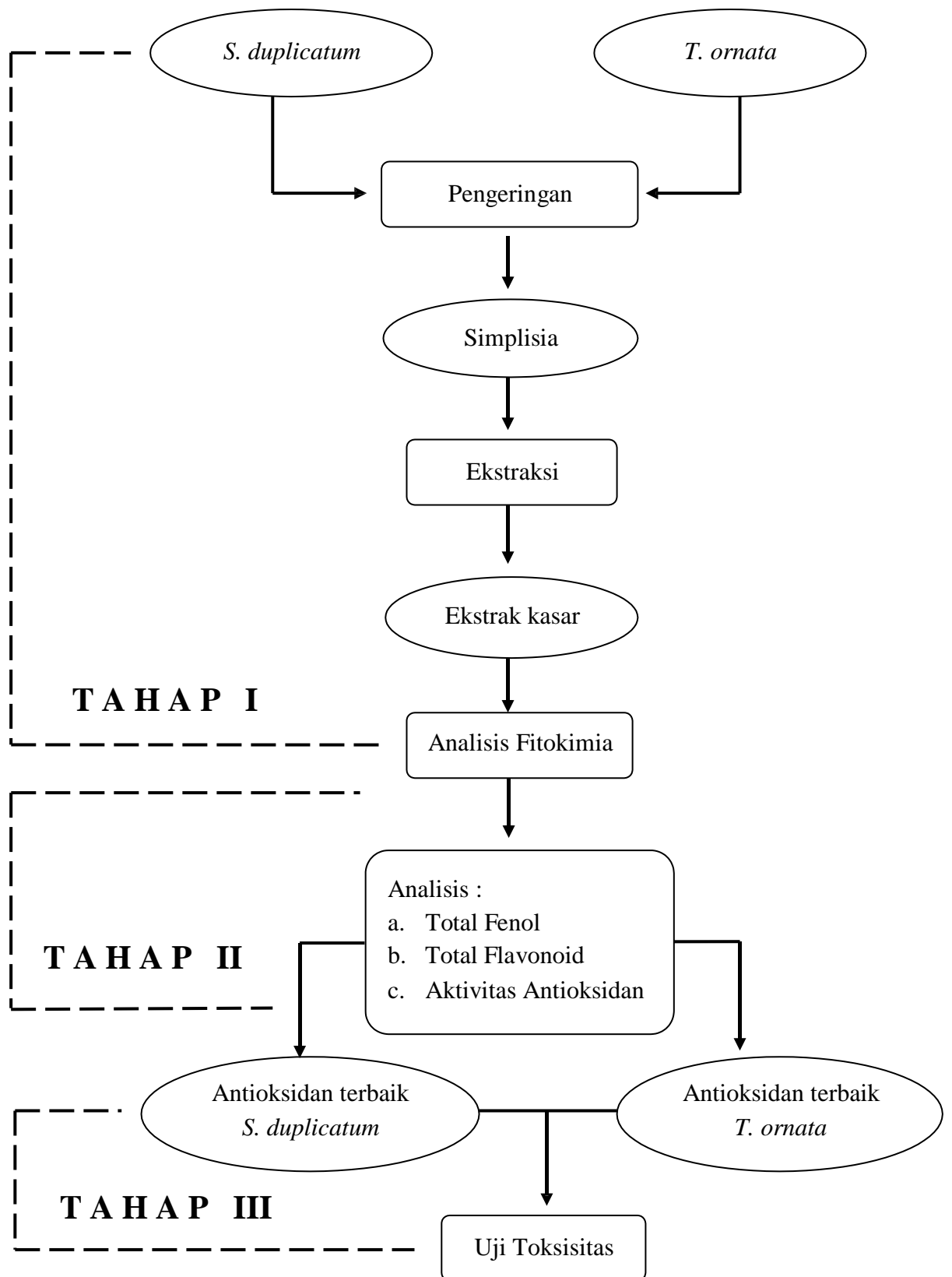
### 3.4 Prosedur Penelitian

#### **3.4.1 Pengambilan, Identifikasi dan Preparasi *S. duplicatum* dan *T. ornata***

Pengambilan sampel rumput laut dilakukan pada saat surut. Rumput laut yang telah diambil diberi label dan disimpan dalam *coolbox* yang telah berisi es batu untuk menjaga kesegaran rumput laut selama perjalanan menuju laboratorium. Identifikasi sampel rumput laut dilakukan berdasarkan pustaka dari Atmadja *et al.* (1996), Tjitrosoepomo (2001; 2005) dan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Preparasi *S. duplicatum* dan *T. ornata* dimulai dengan proses pencucian, pengeringan dan penggilingan. Rumput laut segar dicuci dengan menggunakan air tawar untuk menghilangkan kotoran, lumut, lumpur dan pasir. Sebelum dikeringkan, terlebih dahulu sampel ditimbang untuk mengetahui biomassa basahnya, kemudian sampel dikeringkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari secara langsung. Hal ini dilakukan untuk menghindari kerusakan senyawa bioaktif suatu bahan.

Rumput laut yang telah kering dihaluskan dengan blender, kemudian disaring untuk mendapatkan butiran yang seragam, dimasukkan dalam kantong plastik dan diberi label kemudian ditimbang dengan timbangan analitik dan



Gambar 6. Diagram Alir Penelitian

disimpan dalam kondisi kering untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi. Sediaan rumput laut kering ini disebut simplisia. Rendemen berat kering (simplisia) dari masing-masing sampel dihitung dengan rumus berikut (Agoes, 2007).

$$\text{Rendemen berat kering} = \frac{\text{Jumlah berat kering (g)}}{\text{Jumlah berat basah (g)}} \times 100 \%$$

### **3.4.2 Proses Pembuatan Ekstrak**

Ekstraksi bahan aktif dilakukan dengan mengacu pada penelitian Juniarti *et al.* (2009) dan Santoso *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Metode ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi bertingkat. Harborne (1987) menyatakan bahwa ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut berbeda secara berurutan, dimulai dengan pelarut non polar (n-heksana) lalu dengan pelarut semipolar (etil asetat) kemudian dengan pelarut polar (etanol).

Simplisia *S. duplicatum* dan *T. ornata* ditimbang sebanyak 250 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut hingga volume akhir mencapai 1000 ml dengan perbandingan 1 : 4 (w/v). Prosedur ekstraksi dilakukan dengan merendam sampel dengan n-heksan, etil asetat dan etanol secara berurutan. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring Whatman 42 sehingga dihasilkan filtrat dan residu. Perendaman dilakukan 3 kali sampai filtrat mendekati bening. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kasar

(*crude extract*) berupa pasta. Proses ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 7.

Rendeman ekstrak dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Jumlah berat ekstrak berupa pasta (g)}}{\text{Jumlah berat kering (g)}} \times 100 \%$$

#### **3.4.4 Analisis Fitokimia**

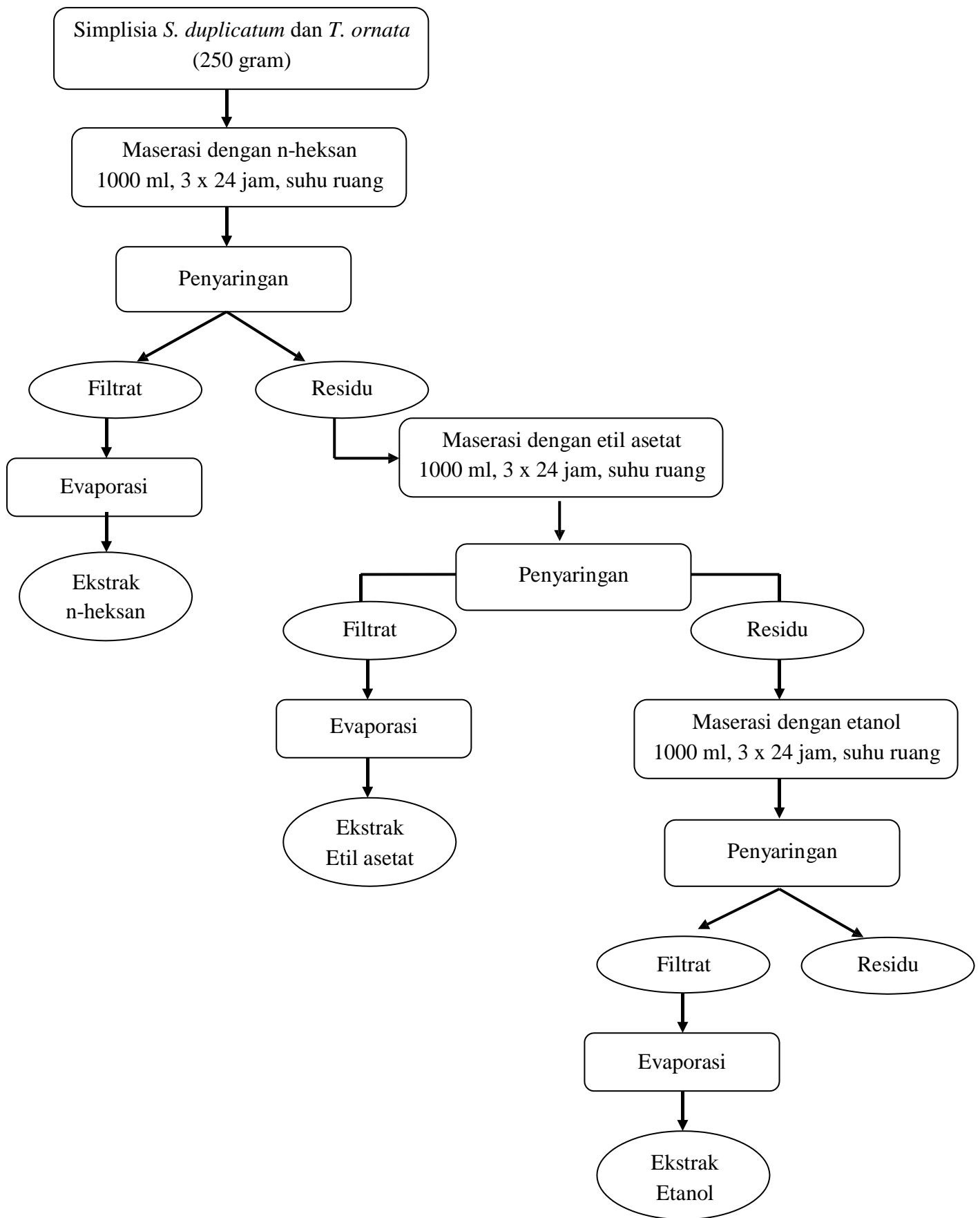
Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam tiap pelarut dari ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata*. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon. Metode analisis yang digunakan berdasarkan pada Harborne (1987).

##### a. Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N kemudian diuji dengan 2 pereaksi alkaloid yaitu pereaksi dragendorff dan pereaksi meyer. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga dengan pereaksi dragendorff dan endapan putih kekuningan dengan pereaksi meyer.

##### b. Triterpenoid dan steroid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering lalu ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.



Gambar 7. Diagram Alir Ekstraksi

c. Saponin (uji busa)

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil akan terus terlihat selama 5 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

d. Fenol

Sejumlah sampel diekstrak dengan 20 ml etanol 70 %. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

e. Flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 ml amil alkohol (campuran asam klorida 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama) dan 4 ml alkohol kemudian campuran dikocok. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

f. Kuinon

Sejumlah sampel ditambahkan NaOH 1 N kemudian diamati perubahan warnanya. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning.

### **3.4.5 Uji Kandungan Total Fenol**

Metode yang digunakan mengacu pada Yangthong *et al.* (2009), Sharma *et al.* (2011) dan Santoso *et al.* (2012) dengan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu*. Ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata* dengan berat 5 mg dilarutkan

dalam 2 ml etanol 96%. Kemudian larutan ditambahkan 5 ml akuades dan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* 50% dan diinkubasi selama 5 menit, kemudian ditambahkan 1 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5%. Larutan dihomogenkan lalu diinkubasi dalam kondisi gelap selama satu jam. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 725 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 3 kali ulangan.

Asam galat digunakan sebagai standar dengan seri konsentrasi 0 ppm, 5 ppm, 15 ppm dan 20 ppm. Kurva kalibrasi asam galat digunakan untuk menentukan kadar senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/g ekstrak (mg GAE/g ekstrak) dengan rumus perhitungan :

$$C = C_1 \times \frac{V}{m}$$

Keterangan :

C : Total fenol (mg GAE/g ekstrak)

M : Berat ekstrak (g)

C<sub>1</sub> : Konsentrasi asam galat (mg/l)

V : Volume ekstrak (l)

#### **3.4.6 Uji Kandungan Total Flavonoid**

Metode yang digunakan mengacu pada metode Chang *et al.* (2002), Hassan *et al.* (2013) dan Nugroho *et al.* (2013) dengan menggunakan pereaksi AlCl<sub>3</sub>. Sebanyak 0.5 ml ekstrak *S. duplicatum* dan *T. ornata* dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1,5 ml metanol, 0,1 ml AlCl<sub>3</sub> 10%, 0,1 ml CH<sub>3</sub>COOK 1 M dan 2,8 ml akuades. Larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur dengan

spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 415 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 3 kali ulangan.

Kuersetin digunakan sebagai standar dengan seri konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Kurva kalibrasi kuersetin digunakan untuk menentukan kadar senyawa total flavonoid yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen kuersetin/g ekstrak (mg GAE/g ekstrak) dengan rumus perhitungan :

$$C = C_1 \times \frac{V}{m} \times FP$$

Keterangan :

C : Total flavonoid (mg QE/g ekstrak)

M : Berat ekstrak (g)

C<sub>1</sub> : Konsentrasi kuersetin (mg/l)

FP : Faktor pengenceran

V : Volume ekstrak (l)

#### **3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak *S. dupicatum* dan *T. ornata* ini menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) seperti yang dilakukan oleh Molyneux (2004) dan Vijayabaskar and Shiyamala (2012). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009).

Konsentrasi ekstrak sampel *S. dupicatum* dan *T. ornata* yang digunakan adalah 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi tersebut dipipet 3 ml dan dicampurkan dengan 1 ml larutan DPPH 100 µM. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap, kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum (517 nm). Pada tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. BHT (*butylated hydroxytoluene*) digunakan sebagai pembanding dengan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm. Kemampuan untuk meredam radikal bebas DPPH (inhibisi) dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{ h} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100\%$$

Keterangan :

$A_{\text{DPPH}}$  : absorbansi larutan DPPH

$A_{\text{sampel}}$  : absorbansi sampel

Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% ( $IC_{50}$ ) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan presentase penghambatan aktivitas radikal bebas.

#### **3.4.8 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

Metode BSLT digunakan secara luas untuk *bioassay* bioaktivitas ekstrak kasar suatu tanaman. Metode ini bersifat sederhana, mudah dilakukan, murah, cepat dan membutuhkan ekstrak dalam jumlah sedikit (Pisutthanan *et al.*, 2004).

Metode BSLT juga banyak digunakan untuk skrining senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat dan akurat (Meyer *et al.*, 1982).

Pengujian toksisitas ekstrak *S. dupicatum* dan *T. ornata* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang mengacu pada Meyer *et al.* (1982) dan Krishnaraju *et al.* (2005). Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak *S. dupicatum* dan *T. ornata* yang mempunyai aktivitas antioksidan terbaik.

a. Penetasan kista *A. salina*

Hewan uji yang digunakan adalah nauplius *A. salina*. Kista *A. salina* yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Penetasan kista *A. salina* dilakukan dengan cara merendam kista ke dalam akuades selama  $\pm$  15-30 menit, kemudian dipindahkan ke dalam air laut steril dan ditetaskan. Tempat penetasan dilengkapi dengan aerasi yang kuat sebagai penyuplai oksigen dan disinari lampu TL 40 watt sebagai sumber cahaya hingga kista menetas. Kista akan menetas menjadi nauplius *A. salina* setelah berumur 24-48 jam. Nauplius *A. salina* siap untuk uji BSLT setelah berumur 48 jam.

b. Uji Pendahuluan

Uji toksisitas menggunakan ekstrak terpilih dari *S. dupicatum* dan *T. ornata* yang mempunyai aktivitas antioksidan terbaik. Sebelum melakukan penentuan uji toksisitas, maka dilakukan uji pendahuluan. Uji pendahuluan

dilakukan untuk mengetahui nilai ambang atas ( $LC_{100}$ ) dan ambang bawah ( $LC_0$ ).

Konsentrasi ekstrak sampel *S. dupicatum* dan *T. ornata* yang digunakan dalam uji pendahuluan adalah 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, 0,1 ppm dan 0 ppm (kontrol). Larutan stock disiapkan dengan melarutkan 100 mg sampel *S. dupicatum* dan *T. ornata* ke dalam 0,5 ml etanol dan 49,5 ml air laut. Sebanyak 10 ekor nauplius *A. salina* dalam 4 ml air laut dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi 1 ml larutan ekstrak sampel *S. dupicatum* dan *T. ornata*. Pada tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Semua vial diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam di bawah penerangan lampu TL 20 watt. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan melihat jumlah nauplius *A. salina* yang mati pada tiap konsentrasi.

Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dan dinyatakan dalam persen kematian nauplius :

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

c. Penentuan Uji Toksisitas

Pembuatan konsentrasi berdasarkan hasil dari uji pendahuluan. Konsentrasi ambang atas pada uji pendahuluan digunakan sebagai konsentrasi maksimal pada penentuan uji toksisitas. Prosedur yang dilakukan sama dengan uji pendahuluan. Sebanyak 10 ekor nauplius *A. salina* dalam 4 ml air laut dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi 1 ml larutan ekstrak sampel *S. dupicatum* dan *T. ornata*. Pada tiap konsentrasi dilakukan 3

kali pengulangan. Semua vial diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam di bawah penerangan lampu TL 20 watt. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan melihat jumlah nauplius *A. salina* yang mati pada tiap konsentrasi.

Perhitungan konsentrasi uji utama didasarkan dari perhitungan Komisi Pestisida (1983), yaitu :

$$\text{Log } \frac{N}{n} = K \text{ Log } \frac{a}{n}$$

Keterangan :

N : Konsentrasi ambang atas

n : Konsentrasi ambang bawah

K : Jumlah konsentrasi uji

a : Konsentrasi uji terkecil

Rumus deret konsentrasi uji definitive :

$$\frac{a}{n} \quad \frac{b}{a} \quad \frac{c}{b} \quad \frac{d}{c} \quad \frac{e}{d}$$

Keterangan :

n : ambang bawah

a : konsentrasi uji terkecil

b,c,d,e : konsentrasi yang diinginkan

### 3.5 Analisis Data

Data skrining fitokimia disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara deskriptif (Jeyabalan and Marimuthu, 2012). Data total fenol, total flavonoid dan

aktivitas antioksidan diuji normalitas dan homogenitasnya, kemudian dilakukan uji ANOVA satu arah (One Way ANOVA) untuk menentukan perbedaan rata-rata antar perlakuan. Jika terdapat perbedaan, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji Post Hoc Tuckey untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan, berdasarkan nilai signifikansi  $p < 0,05$ . Hubungan antara total fenol dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan dianalisis dengan analisis Korelasi Pearson (Rohman *et al.*, 2006; Zakaria *et al.*, 2011; Budhiyanti *et al.*, 2012). Penentuan nilai  $LC_{50}$  dilakukan menggunakan analisis probit selang kepercayaan 95% (Zakaria *et al.*, 2011).

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Seri Farmasi Industri : Teknologi Bahan Alam*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Albutana, A., Yasman dan W. Wardhana. 2011. *Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuriidae dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta Menggunakan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis, 3 (1) : 65-72.
- Ale, M. T., H. Maruyama, H. Tamauchi, J. D. Mikkelsen and A. S. Meyer. 2011. *Fucoidan from Sargassum sp. and Fucus vesiculosus Reduces Cell Viability of Lung Carcinoma and Melanoma Cells In Vitro and Activates Natural Killer Cells In Mice In Vivo*. International Journal of Biological Macromolecules, 49 : 331-336.
- Ananthi, S., H. R. Raghavendran, A. G. Sunil, V. Gayathri, G. Ramakrishnan and Vasanthi, H. R. 2010. *In Vitro Antioxidant and In Vivo Anti-inflammatory Potential of Crude Polysaccharide from Turbinaria ornata (Marine Brown Alga)*. Food Chem. Toxicol. 48. (abstract).
- Ananthi, S., V. Gayathri., C. Chandronitha., R. Lakshmisundaram and H. R. Vasanthi. 2011. *Free Radical Scavenging and Anti-Inflammatory Potential of Marine Brown Alga Turbinaria ornata (Turner) J. Agardh*. Indian Journal of Geo-Marine Science, 40 (5) : 664-670.
- Andayani, R., Maimunah dan Y. Lisawati. 2008. *Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (Solanum lycopersicum)*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, 13, 1-9.
- Apak, R., K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E. Çelik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker and D. Özyurt. 2007. *Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPPRAC Assay*. Molecules, 12 : 1496-1547.
- Apsari, P. D. dan H. Susanti. 2011. *Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa, Linn) secara Spektrofotometri. Dalam : Prosiding Seminar Nasional Home Care : 73-77.*
- Aslan, L. M. 1991. *Budidaya Rumput Laut*. Kanisius, Yogyakarta.
- Atmadja, W. S., A. Kadi, Sulistijo dan R. Satari. 1996. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Badarinath, A. V., K. M. Rao, C. M. S. Chetty, S. Ramkanth, T. V. S. Rajan and K. Gnanaprakash. 2010. *A review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations and Considerations*. International Journal of Pharmaceutics Technology Research, 2 (2) : 1276-1285.

- Baker, D. D., M. Chu, U. Oza and V. Rajgarhia. 2007. *The Value of Natural Products to Future Pharmaceutical Discovery*. Natural Product Reports, 24 : 1225-1244.
- Bazes, A., A. Silkina, P. Douzenel, F. Faÿ, N. Kervarec, D. Morin, J. P. Berge and N. Bourgougnon. 2009. *Investigation of The Antifouling Constituents from The Brown Alga Sargassum muticum (Yendo) Fensholt*. J. Appl. Phycol, 21 : 395-403.
- Bhaigyabati, T., T. Kirithika, K. Shiny and K. Usha. 2011. *Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Various Extracts of Sargassum muticum*. International Journal Pharmaceutical Research and Development, 3 (10) : 25-30.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi and S. Meenakshi. 2009. *Natural Products : Chemistry and Application*. Narosa Publishing House, New Delhi. India.
- Bishayee, A., S. Ahmed, N. Brankov and M. Perloff, 2011. *Triterpenoids as Potential Agents for The Chemoprevention and Therapy of Breast Cancer*. Front Biosci, 1 (16) : 980-996.
- Bolton, J. L., M. A. Trush, T. M. Penning, G. Dryhurst and T. J. Monks. 2000. *Role of Quinones in Toxicology*. Chemical Research in Toxicology, 13 (3) : 135-160.
- Boonchum, W., Y. Peerapornpisal, D. Kanjanapothi, J. Pekkoh, C. Pumas, U. Jamjai, D. Amornlerdpison, T. Noiraksar and P. Vacharapiyasophon. 2011. *Antioxidant Activity of some Seaweed from The Gulf of Thailand*. International Journal of Agriculture & Biology, 11 (1) : 95-99.
- Budhiyanti, S. A., S. Raharjo, D. W. Marseno and I. Y. B. Lelana. 2012. *Antioxidant Activity of Brown Algae Sargassum Species Extract from The Coastline of Java Island*. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 7 (3) : 337-346.
- Chakraborty, K., N. K. Praveen, K. K. Vijayan and G. S. Rao. 2013. *Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Activities of Brown Seaweed Belonging to Turbinaria spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) Collected from Gulf of Mannar*. Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine, 3 (1) : 8-16.
- Chang, C. C., M. H. Yang, H. M. Wen and J. C. Chern. 2002. *Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods*. Journal of Food and Drug Analysis, 10 (3) : 178-182.
- Chapman, V. J. 1970. *Seaweed and Their Uses*. Methuen and Co. Ltd. London. Inggris.

- Connan, S., F. Delisle, E. Deslandes and E. Ar Gall. *Intra-thallus Phlorotannin Content and Antioxidant Activity in Phaeophyceae of Temperate Waters*. *Botanica Marina* 49 : 39-46
- Cornish, M. L. and D. J. Garbary. 2010. *Antioxidant from Macroalgae : Potential Applications in Human Health and Nutrition*. *Algae*, 25 (4) : 155-171.
- Corpuz, M. J. A. T., M. O. Osi and L. A. Santiago. 2013. *Free Radical Scavenging Activity of Sargassum siliquosum J. G. Agardh*. *International Food and Research Journal*, 20 (1) : 291-297.
- Cowan, M. M. 1999. *Plants Products as Antimicrobial Agents*, *Clinical Microbiology Review*, 12 (4) : 564-582.
- Dawes, C. 1981. *Marine Botany*. John Wiley and Sons, Inc. Canada.
- Demirel, Z., F. F. Yilmaz-Koz, U. N. Karabay-Yavasoglu, G. Ozdemir and A. Sukatar. 2009. *Antimicrobial and Antioxidant Activity of Brown Algae from The Aegean Sea*. *Journal of Serbian Chemical Society*, 74 (6) : 619-628.
- Devi, G. K., Manivannan, K., Thirumaran, G., Rajathi, F. A. A. and Anantharaman, P. 2011. *In Vitro Antioxidant of Selected Seaweeds from Southeast Coast of India*. *Asian Pasific Journal of tropical Medicine*, 205-211.
- Devi, K. N., T. T. A. Kumar, K. V. Dhaneesh, T. Marudhupandi and T. Balasubramanian. 2012. *Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Properties from Brown Seaweed, Sargassum Wightii (Greville, 1848) Against Human Bacterial Pathogens*. *Academic Sciences*, 4 (3) : 143-149.
- Duraisamy, A., V. Krishnan and K. P. Balakrishnan. 2011. *Bioprospecting and New Cosmetic Product Development : A Brief Review On The Current Status*. *International Journal of Natural Products Research*, 1 (3) : 26-37.
- Emilan, T., A. Kurnia, B. Utami, L. N. Diyani dan A. Maulana. 2011. *Konsep Herbal Indonesia : Pemastian Mutu Produk Herbal*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Farmasi. Program Studi Magister Ilmu Herbal. Depok.
- Erulan, V., P. Soundarapandian, G. Thirumaran and G. Ananthan. 2009. *Studies on The Effect of Sargassum polycystum (C. Agardh, 1824) Extract on The Growth and Biochemical Composition of Cajanus cajan (L.) Mill sp*. *American-Eurasian J. Agricultural & Environment Science*, 6 (4) : 392-399.
- Fajarningsih, N. D., M. Nursid, T. Wikanta dan E. Marraskuranto. 2008. *Bioaktivitas Ekstrak Turbinaria decurrens sebagai Antitumor (HeLa*

dan T47D) serta Efeknya terhadap Proliferasi Limfosit. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan 3 (1) : 21-27.

- Farasat, M., R. A. K. Nejad, S. M. B. Nabavi and F. Namjooyan. 2013. *Antioxidant Properties of Two Edible Green Seaweed from Northern Coasts of The Persian Gulf*. Jundishapur J Nat Pharm Prod., 8(1) : 47-52.
- Fessenden, R. J. dan J. S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Erlangga. Jakarta. (diterjemahkan oleh A. H. Pudjastmaka).
- Firdaus, M., S. S. Karyono dan M. Astawan. 2009. *Penapisan Fitokimia dan Identifikasi Ekstrak Rumpun Laut Coklat (Sargassum duplicatum)*. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (Life Sciences), 21 : 1. (abstrak).
- Gritter, R. J., M. B James dan E. S. Arthur. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata).
- Gusdinar, T., R. Herowati, R. E. Kartasasmita dan I. K. Adnyana. 2009. *Sintesis Kuersetin Terklorinasi dan Aktivitas Perlindungan Terhadap Tukak Lambung*. Majalah Farmasi Indonesia, 20 (4) : 163-169.
- Habsah, M., Kamariah, B., Aisha, M. R. S., Julius, Y. F. S., Desy, F. S., Asnulizawati, A., and Faizah, S. 2011. *The Potential of Local Sargassum granuliferum Crude Extract as Antibacterial and Antifouling Properties*. In : Proceedings of International Conference on Life Science, 11<sup>th</sup>-13<sup>th</sup> July 2011. Universiti Malaysia Terengganu, Kuala Terengganu, Malaysia, pp. 721-726
- Hafiluddin. 2011. *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Lintah Laut (Discodoris sp.) sebagai Antioksidan*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hanani, E., A. Mun'im dan R. Sekarini. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia sp. dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian, 2 (3) : 127-133.
- Hanani, E., A. Mun'im, R. Sekarini dan S. Wiryowidagdo. 2006. *Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Spons dari Kepulauan Seribu*. Jurnal Bahan Alam Indonesia, 6 (1) : 1-4.
- Hammed, A. M., I. Jaswir, A. Amid, Z. Alam, T. T. Asiyandi-H. and N. Ramli. 2013. *Enzymatic Hydrolysis of Plants and Algae for Extraction of Bioactive Compounds*. Food Review International (abstract).
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro).

- Hassan, S. M., A. A. Al Aqil and M. Attimarad. 2013. *Determination of Crude Saponin and Total Flavonoids Content in Guar Meal*. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 1 (2) : 24-28.
- Hayati, E. K. dan N. Halimah. 2010. *Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against Artemia salina Leach of Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) Plant Extract*. *Alchemy*, 1 (2) : 75-82.
- Heo, S. J., S. H. Cha., K. W. Lee., S. K. Cho. And Y. J. Jeon. 2005. *Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island*. *Algae*, 20 (3) : 251-260.
- Hernani dan R. Nurdjanah. 2009. *Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Obat*. *Perkembangan Teknologi TRO* 21 (2) : 33-39.
- Hernawan, U. D. dan A. D. Setyawan. 2003. *Review: Ellagitanin : Biosintesis, Isolasi dan Aktivitas Biologi*. *Biofarmasi*, 1 (1) : 25-38.
- Herpandi. 2005. *Aktivitas Hipokolesterolemik Tepung Rumput Laut pada Tikus Hiperkolesterolemia*. [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jeyabalan, J. P. P. and J. Marimuthu. 2012. *Preliminary Phytochemical Analysis of Sargassum myriocystum J. Ag. and Turbinaria ornata (Turner) J. Ag. from The Southern Coast of Tamil Nadu, India*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, : 1-4.
- Juniarti, D. Osmeli dan Yuhernita. 2009. *Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) dari Ekstrak Daun Saga (Abrus precatorius l.)*. *Makara Sains*, 13 (1) : 50-54.
- Kadi, A. 2005. *Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia*. *Oseana*, 30 (4) : 19-29.
- Kannan, R. R. R., R. Arumugam, and S. Meenakshi. 2010. *Thin Layer Chromatography Analysis of Antioxidant Constituents from Seagrasses of Gulf of Mannar Biosphere Reserve, South India*. *International Journal of Chemtech Research*, 2 (3) : 1526-1530.
- Kanopa, I. U., L. I. Momuat dan E. Suryanto. 2012. *Aktivitas Antioksidan Tepung Pisang Goroho (Musa spp) yang Direndam dengan Beberapa Rempah-Rempah*. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 1 (1) : 29-32.
- Kantida, S. R., K. R. T. Asha and S. Sujatha. 2012. *Influence of Bioactive Compounds of Seaweeds and Its Biocidal and Corrosion Inhibitory Effect of Mild Steel*. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 6 (3) : 101-109.

- Kelman, D., E. K. Posner, K. J. McDermid, N. K. Tabandera, P. R. Wright and A. D. Wright. 2012. *Antioxidant Activity of Hawaiian Marine Algae*. *Marine Drugs*, 10 : 403-416.
- Komisi Pestisida. 1983. *Pedoman Umum Pengujian Laboratorium Toksisitas Letal Pestisida Pada Ikan Untuk Keperluan Pendaftaran*. Komisi Pestisida Departemen Pertanian. Jakarta.
- Krishnaraju, A. V, T. V. N. Rao, D. Sundararaju, M. Vanisree, H. S. Tsay and G. V. Subbaraju. 2005. *Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay*. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3 (2) : 125-134.
- Kumar, S. S., Y. Kumar, M. S. Y. Khan, J. Anbu and E. De Clercq. 2009. *Antihistaminic, Anticholinergic and Antiviral Activities of Fucosterol from *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kutzing*. *Pharmacologyonline*, 1 : 1104-1112.
- Kumar, S. S., Y. Kumar, M. S. Y. Khan and V. Gupta. 2010. *New Antifungal Steroids from *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kutzing*. *Natural Product Resource*, (abstract).
- Kumari, S. S., S. V. S. Rao, S. Misra and U. S. Murty. 2011. *Antifungal Activity of *Turbinaria conoides* and Evaluation for The Effective Concentration Against The Infection of *Beaveria bassiana* in Silkworm Larvae*. *Research Journal of Microbiology*, 6 (2) : 115-123.
- Kusumawati, P. 2009. *Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan dari Makroalga dan Mikroalga*. *Oseaba*, 34 (3) : 9-18.
- La Barre, S., P. Potin, C. Leblanc and L. Delage. 2010. *The Halogenated Metabolism of Brown Algae (*Phaeophyta*), Its Biological Importance and Its Environmental Significance*. *Marine Drugs*, 8 : 988-1010.
- Lee, E. R., Kang, G. H. and Cho, S. G. 2007. *Effect of Flavonoids on Human Health : Old Subjects but New Challenges*. *Pat Biotechnol*. [Abstract].
- Lehninger, A. L., 1982. *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers. New York.
- Le Lann, K., C. Ferret, E. VanMee, C. Spagnol, M. Lhuillery, C. Payri and V. Stiger-Pouvreau. 2012. *Total Phenolic, Size-fractionated Phenolics and Fucoxanthin Content of Tropical Sargassaceae (*Fucales*, *Phaeophyceae*) from The South Pacific Ocean : Spatial and Specific Variability*. *Phycological Research*, 60 : 37-50.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. [Karya Ilmiah]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.

- Lenstra, W. J., J. W. van Hal and J. H. Reith. 2011. *Ocean Seaweed Biomass for Large Scale Biofuel Production*. The Ocean Seaweed Biomass, Conferences Bremerhaven, Germany.
- Lestario, L. N., S. Sugiarto and K. H. Timotius. 2009. *Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (Gracilaria verrucosa L.)*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 19 (2) : 131-138.
- Li, H. B., K. W. Cheng, C. C. Wong, K. W. Fan, F. Chen and Y. Jiang. 2007. *Evaluation of Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Different Fractions of Selected Microalgae*. Food Chemistry, 102 : 771-776.
- Lim, S. N., P. C. K. Cheung, V. E. C. Ooi and P. O. Ang. 2002. *Evaluation of Antioxidant Activity of Extracts from Brown Seaweed, Sargassum siliquastrum*. J. Agric. Food Chem., 50 : 3862-3866
- Lisdawati, V., S. Wiryowidagdo dan L. B. S. Kardono. 2006. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak dari Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa*. Buletin Panel Kesehatan, 34 (3) : 111-118.
- Lubis, A. H. 1994. *Pemeriksaan Fitokimia dan Uji Pendahuluan Aktivitas Turbinaria ornata J. Agardh*. Sekolah Farmasi. Institut Teknologi Bandung. Bandung. (abstrak tesis).
- Manilal, A., S. Sujith, G. S. Kiran, J. Selvin, C. Shakir. 2009. *Cytotoxic Potentials of red Alga, Laurencia brandenii Collected from The Indian Coast*. Global Journal of Pharmacology, 3 (2) : 90-94.
- Manoj, S. G. M., K. P. S. Mahesh, M. Vasanthi and A. Achary. 2013. *Anticoagulant Property of Sulphated Polysaccharides Extracted from Marine Brown Algae Collected from Mandapam Island, India*. African Journal of Biotechnology, 12 (16) : 1937-1945.
- Matanjun, P., S. Mohamed, N. M. Mustapha, K. Muhammad and C. H. Ming. 2008. *Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweeds from North Borneo*. J. Appl Phycol, 20 : 367-373.
- McLaughlin, J. L and L. L. Rogers. 1998. *The Use of Biological Assay to Evaluate Botanicals*. Drug Information Journal, 32 : 513-524.
- 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.
- Merdekawati, W., Susanto, A. B. dan Limantara, L. 2009. *Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Klorofil a dan  $\beta$  Karoten Sargassum sp.* Jurnal Kelautan Nasional, 2 : 144-155.

- Meyer, B. N., N. R. Ferrigni, J. E. Putman, L. B. Jacobsen, D. E. Nicols and J. L. McLaughlin. 1982. *Brine Shrimp : A Comvenient general Bioassay For Active Plant Constituents*. *Planta Medica* 45 : 31-34.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van-Beek, T. A. 2003. *Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medical and Aromatic Plant Extracts*.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. *Songklanakarin J. Science Technology*, 26 (2) : 211-219.
- Murniasih, T. 2003. *Metabolit Sekunder dari Spons sebagai Bahan Obat-obatan*. *Oseana*, 28 (3) : 27-33.
- Nofiani, R. 2008. *Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut*. *Jurnal Natur Indonesia*, 10 (2) : 120-125.
- Nugroho, A. E., A. Malik and S. Pramono. 2013. *Total Phenolic and Flavonoid Content, and In Vitro Antihypertension Activity of Purified Extract of Indonesian Cashew Leaves (Anacardium occidentale L.)*. *International Food Research Journal*, 20 (1) : 299-305.
- Nurhayati, A. P. D., N. Abdulgani dan R. Febrianto. 2006. *Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma alvarezii terhadap Artemia salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker*. *Akta Kimindo*, 2 (1) : 41-46.
- Patra, J. K., S. K. Rath, K. Jena, V. K. Rathod and H. Thatui. 2008. *Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (Sargassum sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity*. *Jurk J Biol*, 32 : 119-125.
- Pisutthanan, S., P. Plianbangchang, N. Pisutthanan, S. Ruanruay and O. Muanrit. 2004. *Brine Shrimp Lethality Activity of Thai Medicinal Plants in the Family Meliaceae*. *Naresuan University Journal*, 12 (2) : 13-18.
- Plouguerné, E., K. Le Lann, S. Connan, G. Jechoux, E. Deslandes and V. Stiger-Pouvreau. 2006. *Spatial and Seasonal Variation in Density, Reproductive Status, Length and Phenolic Content of The Invasive Brown Macroalga Sargassum muticum (Yendo) Fensholt Along The Coast of Western Brittany (France)*. *Aquatic Botany*, 85 (4) : 337-344.
- Poncomulyo, T., M. Herti dan K. Lusi. 2006. *Budi Daya dan Pengolahan Rumput Laut*. PT. AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity Medallion Laboratories : Analithycal Progress*. A publication of Medallion Labs : 1-4.
- Rachmat, R. 1999<sup>a</sup>. *Pemanfaatan Produk Alam Algae Laut untuk Obat dan Kosmetik*. *Prosiding Pra Kipnas VII Forum Komunikasi I Ikatan Fikologi Indonesia (IFI)*.

- \_\_\_\_\_. 1999<sup>b</sup>. *Kandungan dan Karakteristik Fisiko Kimia Alginat dari Sargassum sp. yang Dikumpulkan dari Perairan Indonesia*. Laboratorium Produk Alam Laut, Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Rafaela, T. A., V. A. Elisa, P. H. J. de Jesús, L. L. Aurelio, Q. R. M. Antonio, O. M. Verónica and V. L. Rodolfo. 2006. *Toxic Activity of Different Extracts and Fractions on Brine Shrimp, Artemia salina*. *Pharmacologyonline*, 3 : 824-829.
- Rao, K. S., P. R. Munjuluri and N. K. Keshar. 2011. *Invitro Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Mimusops elengi Bark*. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45 (4) : 317-323.
- Rasyid, A. 2003. *Algae Coklat (Phaeophyta) sebagai Sumber Alginat*. *Oseana*, 28 (1) : 33-38.
- Ren, W., Z. Qiao, H. Wang, L. Zhu and Zhang, L. 2003. *Flavonoids : Promising Anticancer Agents*. *Medicinal Research Reviews*, 23 (4) : 519-534.
- Risjani, Y. dan K. W. Anita. 2009. *Karakterisasi Metabolit Bioaktif Rumput Laut Sargassum sp. (Phaeophyta) yang Berpotensi sebagai Senyawa Antitumor*. [Laporan Penelitian Hibah Strategis Nasional Tahun 2009]. Universitas Brawijaya, Malang. (abstrak).
- Rita, W. S., I. W. Suirta. dan A. Sabikin. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (Momordica charantia L.)*. *Jurnal Kimia*, 2 : 1907-9850.
- Rohman, A., S. Riyanto dan D. Utari. 2006. *Antioxidant Activities, Total Phenolic and Flavonoid Contents Of Ethyl Acetate Extract Of Mengkudu (Morinda citrifolia, L) Fruit and Its Fractions*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17 : 137-138.
- Ruiz, C., S. Falcocchio, E. Xoxi, L. Villo, G. Nicolosi, F. I. J. Pastor, P. Diaz and L. Saso. 2005. *Inhibition of Candida rugosa Lipase by Saponins, Flavonoids and Alkaloids*. *J. Biosci. Biotechnol. Biochem*, 539-560.
- Sadati, N., Khanavi, M., Mahrokh, A., Nabavi, S. M. B., Sohrabipour, J. and Hadjiakhoondi, A. 2011. *Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of Some Persian Gulf Marine Algae*. *Journal of Medicinal Plants*, 10 (37) : 73-79.
- Santoso, J., N. Aryudhani and S. H. Suseno. 2009. *Kandungan Senyawa Fenol Rumput Laut Hijau Caulerpa racemosa dan Aktivitas Antioksidannya*. *Jurnal Kelautan Nasional*, 2 : 109-118.
- Santoso, J., S. Anwariyah, R. O. Rumiantin, A. P. Putri, N. Ukhty and Y. Yoshie-Stark. 2012. *Phenol Content, Antioxidant Activity and Fibers profile of Four Tropical Seagrasses from Indonesia*. *Journal of Coastal Development*, 15 (2) : 189-196.

- Saragih, B. 2001. *Potensi Antimikroba Ekstrak Kulit kayu Sikam (Bischofia javanica, BL) terhadap Bakteri Patogen dan Perusak makanan*. [Tesis]. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sarek, J., M. Kvasnica, M. Vlk., M. Urban, P. Dzubak and M. Hajduch. 2012. *The Potential of Triterpenoids an The Treatment of Melanoma*. Research on Melanoma : A Glimpse into Current Directions and Future Trends : 125-158.
- 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.
- Scheuer, J. S. 1994. *Produk Alami Lautan*. Cetakan pertama. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Seenivasan, R. Rekha, M. Indu, H. and Geetha, S. 2012. *Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Selected Seaweeds from Mandapam Coast-India*. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2 (10) : 159-169.
- Sharma, G. N., S. K. Dubey, N. Sati and J. Sanadaya. 2011. *Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Content in Aegle marmelos Seeds*. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 3 (2) : 27-29.
- Simanjuntak, P., R. Samsodin, T. Parwati, dan Widayanti. 2001. *Uji Toksisitas Ekstrak Tumbuhan Suku Annonaceae : Alphonsea teysmannii, annona glabra, Polyalthia lateriflora terhadap Larva Spodoptera litura*. Jurnal Biologi Indonesia 3 (1): 5-6.
- Singh, B., T. K. Bhat, B. Singh. 2003. *Potential Therapeutic Applications of Some Antinutritional Plant Secondary Metabolites*. J. Agric. Food Chem, 51 : 5579-5597.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sivagnanavelmurugan, M., T. Marudhupandi, A. Palavesam, G. Immanuel. 2012. *Antiviral Effect of Fucoidan Extracted from Sargassum wightii, on Shrimp Penaeus monodon Postlarvae Against White Spot Syndrome Virus*. Journal of World Aquaculture Society (abstract).
- Souza, B. W. S., M. A. Cerqueira, J. T. Martins, M. A. C. Quintas, A. C. S. Ferreira, J. A. Teixeira and A. A. Vicente, 2011. *Antioxidant Potential of Two Red Seaweed from The Brazilia*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59 : 5589-5594.
- Sridhar, S. and R. Rengasamy. 2010. *Studies on The Effect of Seaweed Liquid Fertilizer on The Flowering Plant Tagetes erecta in Field Trial*. Advances in Bioresearch, 1 (2) : 29-34.

- Sridharan, M. C and R. Dhamotharan, 2012. *Antibacterial Activity of Marine Brown Alga Turbinaria conoides*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4 (4) : 2292-2294.
- Stiger-Pouvreau, V., E. Deslandes and C. E. Payri. 2004. *Phenolic Contents of Two Brown Algae, Turbinaria ornata and Sargassum mangarevense on Tahiti (French Polynesia) : Interspecific, Ontogenic and Spatio-temporal Variations*. Botanica Marina, 47 : 402-409.
- Supriyono, A. 2007. *Aktivitas Antioksidan Beberapa Spesies Rumpun Laut dari Pulau Sumba*. Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia, 9 (1) : 34-38.
- Taherzadeh, M. J. and K. Karimi. 2007. *Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol From Lignocellulosic Materials : A Riview*. BioResources, 1 (24) : 707-738.
- Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. *Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumpun Laut Hijau Ulva reticulata Forsskal*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5 (1) : 31-36.
- Tariq, A., J. Ara, V. Sultana, S. Ehteshamul-Haque and M. Athar. 2011. *Antioxidant Potential of Seaweeds Occuring at Karachi Coast of Pakistan*. Journal of Applied Botany and Food Quality, 84 : 207-212.
- Thin, P. D., R. V. Menshova, S. P. Ermakova, S. D. Anastyuk, B. M. Ly and T. N. Zvyagintseva. 2013. *Structural Characteristics and Anticancer Activity of Fucoidan from The Brown Alga Sargassum mcclurei*. Marine Drugs, 11 : 1456-1476.
- Tjitrosoepomo, G. 2001. *Taksonomi Tumbuhan : Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- \_\_\_\_\_. 2005. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Vadlapudi, V., D. S. V. G. K. Kaladhar, M. J. Paul, S. V. N. S. Kumar and M. Behara. 2012. *Antioxidant Activities of Marine Algae : A Review*. International Journal of Recent Scientific Research, 3 (7) : 574-580.
- Vijayabakar, P. and V. Shiyamala. 2011. *Antibacterial Activities of Brown Marine Algae (Sargassum wightii and Turbinaria ornata) from The Gulf of Mannar Biosphere Reserve*. Advances in Biological Research, 5 (2) : 99-102.
- \_\_\_\_\_. 2012. *Antioxidant Properties of Seaweed Polyphenol from Turbinaria ornata (Turner) J. Agard, 1848*. Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine : 90-98.

- Waji, R. A. dan A. Sugrani. 2009. *Flavonoid (Quersetin)*. Program S2 Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin.
- Widowati, I., A. B. Susanto, M. Puspita, V. Stiger-Pouvreau and N. Bourgoignon. 2013. *Potentiality of Using Spreading Sargassum Species from Jepara, Indonesia as an Interesting Source of Antibacterial and Antioxidant Compound : A Preliminary Study*. 21<sup>st</sup> International Seaweed Symposium. International Seaweed Association Council, Bali, pp. 118 (abstract).
- Williams, A. M. 2007. *Analysis of Benefits of Sargassum on Galveston Island and Indications for Beach Management Policy*. [Thesis]. Graduate Studies of Texas A & M University. Texas. USA.
- Winarsi, H, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Wright, A. 2012. *Marine Natural Products Drug Discovery*. Center for Marine Biomedical and Biotechnology Research Harbor Branch Oceanographic Institute at Florida Atlantic University. Florida. USA.
- Yangthong, M., N. Hutadilok-Towatana, and W. Phromkunthong. 2009. *Antioxidant Activities of Four Edible Seaweeds from The Southern Coast of Thailand*. Plant Foods Human Nutrition, 64 : 218-223.
- Yoon, W. J., Y. M. ham, S. S. Kim, B. S. Yoo, J. Y. Moon, J. S. Baik, N. H. Lee and C. G. Hyun. 2009. *Suppression of Pro-inflammatory Cytokines, iNOS and COX-2 Expression by Brown Algae Sargassum micracanthum in RAW 264.7 Macrophages*. EurAsian Journal of BioSciences, 3 : 130-143.
- Yumiko, Y. S., H. Ya-Pei and S. Takeshi. 2003. *Distribution of Flavonoids and Related Compounds from Seaweeds in Japan*. Journal of Tokyo University of Fisheries, 89.
- Zakaria, N. A., D. Ibrahim, S. F. Sulaiman and N. A. Supardy. 2011. *Assessment of Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Invitro Toxicity of Malaysian Red Seaweed, Acanthophora spicifera*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 3 (3) : 182-191.
- Zandi, K., S. Ahmadzadeh, S. Tajbakhsh, Z. Rastian, F. Yousefi, F. Farshadpour, K. Sartavi. 2010. *Anticancer Activity of Sargassum oligocystum Water Extract Against Human Cancer Cell Lines*. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 14 : 669-673.

# **LAMPIRAN**

**Lampiran 1. Identifikasi *S. duplicatum* dan *T. ornata***

<b>No.</b>	<b>Ciri</b>	<b><i>S. duplicatum</i></b>	<b><i>T. ornata</i></b>
1.	Bentuk batang utama	bulat (silindris)	bulat (silindris)
2.	Bentuk holdfast	cakram	cakram
3.	Warna thalus	hijau kecoklatan	hijau kecoklatan
4.	Tipe percabangan	dichotomus	dichotomus
5.	Bentuk daun	bentuk bulat telur hingga lonjong dengan pinggir daun bergerigi	bentuk corong atau terompet dengan pinggir daun bergerigi
6.	Letak gelembung udara (bladder)	melekat pada batang, berbentuk bulat telur atau elips	melekat pada pertengahan daun

## Lampiran 2. Analisis Statistik Total Fenol

### Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
Treatment		Statistic	df	Sig.
Total fenol	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.783	3	.068
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	.793	3	.107
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.925	3	.440
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	.995	3	.833
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	.868	3	.289
	<i>T. ornata</i> (etanol)	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

Total Fenol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.009	5	12	.055

### ANOVA

Total Fenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.371	5	1.274	1151	.000
Within Groups	.013	12	.001		
Total	6.384	17			

### Multiple Comparisons

Total Fenol  
Tukey HSD

(I) treatment	(J) treatment	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-.414154*	.027169	.000	-.50541	-.32289
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.767623*	.027169	.000	.67636	.85888
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-.363967*	.027169	.000	-.45523	-.27271
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.502589*	.027169	.000	-.59385	-.41133
	<i>T. ornata</i> (etanol)	1.009355*	.027169	.000	.91810	1.10061
<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.414154*	.027169	.000	.32289	.50541
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	1.181777*	.027169	.000	1.09052	1.27304
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	.050187	.027169	.474	-.04107	.14145
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.088435	.027169	.059	-.17969	.00282
	<i>T. ornata</i> (etanol)	1.423509*	.027169	.000	1.33225	1.51477
<i>S. duplicatum</i> (etanol)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-.767623*	.027169	.000	-.85888	-.67636
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-1.181777*	.027169	.000	-1.27304	-1.09052
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-1.131590*	.027169	.000	-1.22285	-1.04033
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-1.270212*	.027169	.000	-1.36147	-1.17895
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.241732*	.027169	.000	.15047	.33299

<i>T. ornata</i> (n-heksan)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.363967*	.027169	.000	.27271	.45523
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-.050187	.027169	.474	-.14145	.04107
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	1.131590*	.027169	.000	1.04033	1.22285
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.138621*	.027169	.003	-.22988	-.04736
	<i>T. ornata</i> (etanol)	1.373323*	.027169	.000	1.28206	1.46458
<i>T. ornata</i> (etil asetat)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.502589*	.027169	.000	.41133	.59385
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	.088435	.027169	.059	-.00282	.17969
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	1.270212*	.027169	.000	1.17895	1.36147
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	.138621*	.027169	.003	.04736	.22988
	<i>T. ornata</i> (etanol)	1.511944*	.027169	.000	1.42068	1.60320
<i>T. ornata</i> (etanol)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-1.009355*	.027169	.000	-1.10061	-.91810
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-1.423509*	.027169	.000	-1.51477	-1.33225
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	-.241732*	.027169	.000	-.33299	-.15047
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-1.373323*	.027169	.000	-1.46458	-1.28206
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-1.511944*	.027169	.000	-1.60320	-1.42068

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Total Fenol**

Tukey HSD

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
<i>T. ornata</i> (etanol)	3	.68073				
<i>S. duplicatum</i> (etanol)	3		.92246			
<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	3			1.69008		
<i>T. ornata</i> (n-heksan)	3				2.05405	
<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	3				2.10424	2.10424
<i>T. ornata</i> (etil asetat)	3					2.19267
Sig.		1.000	1.000	1.000	.474	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### Lampiran 3. Analisis Statistik Total Flavonoid

#### Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
Treatment		Statistic	df	Sig.
Total flavonoid	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.777	3	.062
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	.993	3	.843
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.886	3	.342
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	.942	3	.537
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	.893	3	.363
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.980	3	.726

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Total Flavonoid				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
7.520	5	12	.2	

#### ANOVA

Total Flavonoid					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.946	5	.589	274.267	.000
Within Groups	.026	12	.002		
Total	2.972	17			

### Multiple Comparisons

Total Flavonoid  
Tukey HSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-.086942	.036934	.246	-.21100	.03712
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.676412*	.036934	.000	.55235	.80047
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-.263471*	.036934	.000	-.38753	-.13941
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.266171*	.036934	.000	-.39023	-.14211
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.684887*	.036934	.000	.56083	.80895
<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.086942	.036934	.246	-.03712	.21100
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.763354*	.036934	.000	.63929	.88741
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-.176529*	.036934	.005	-.30059	-.05247
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.179229*	.036934	.004	-.30329	-.05517
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.771829*	.036934	.000	.64777	.89589
<i>S. duplicatum</i> (etanol)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-.676412*	.036934	.000	-.80047	-.55235
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-.763354*	.036934	.000	-.88741	-.63929
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-.939882*	.036934	.000	-1.06394	-.81582
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.942583*	.036934	.000	-1.06664	-.81852
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.008475	.036934	1.000	-.11558	.13253

<i>T. ornata</i> (n-heksan)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.263471*	.036934	.000	.13941	.38753
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	.176529*	.036934	.005	.05247	.30059
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.939882*	.036934	.000	.81582	1.06394
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.002700	.036934	1.000	-.12676	.12136
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.948358*	.036934	.000	.82430	1.07242
<i>T. ornata</i> (etil asetat)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.266171*	.036934	.000	.14211	.39023
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	.179229*	.036934	.004	.05517	.30329
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.942583*	.036934	.000	.81852	1.06664
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	.002700	.036934	1.000	-.12136	.12676
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.951058*	.036934	.000	.82700	1.07512
<i>T. ornata</i> (etanol)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-.684887*	.036934	.000	-.80895	-.56083
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-.771829*	.036934	.000	-.89589	-.64777
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	-.008475	.036934	1.000	-.13253	.11558
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-.948358*	.036934	.000	-1.07242	-.82430
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-.951058*	.036934	.000	-1.07512	-.82700

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

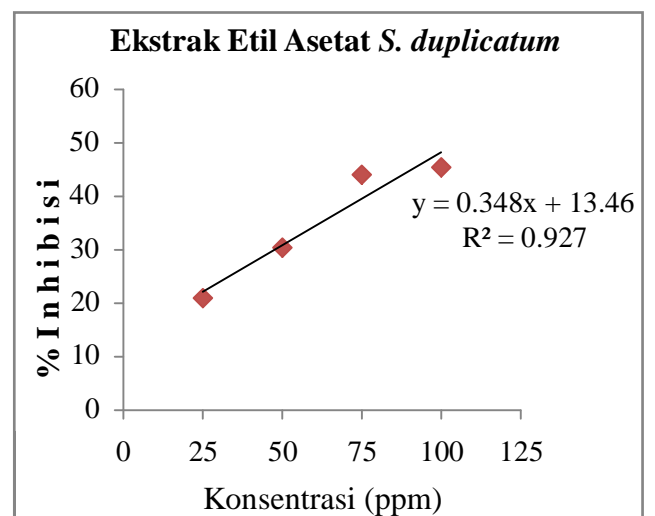
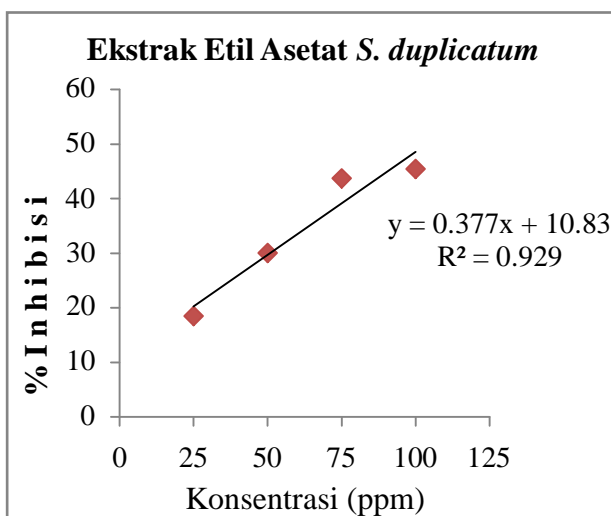
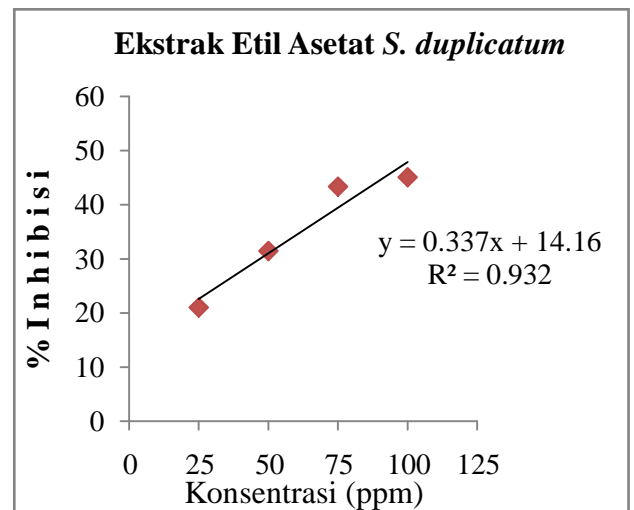
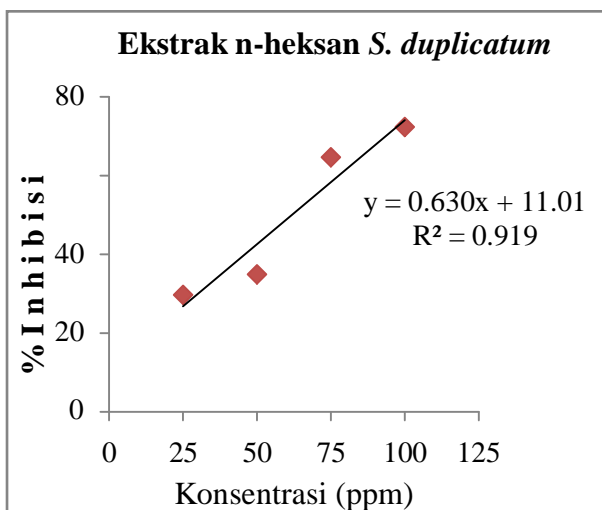
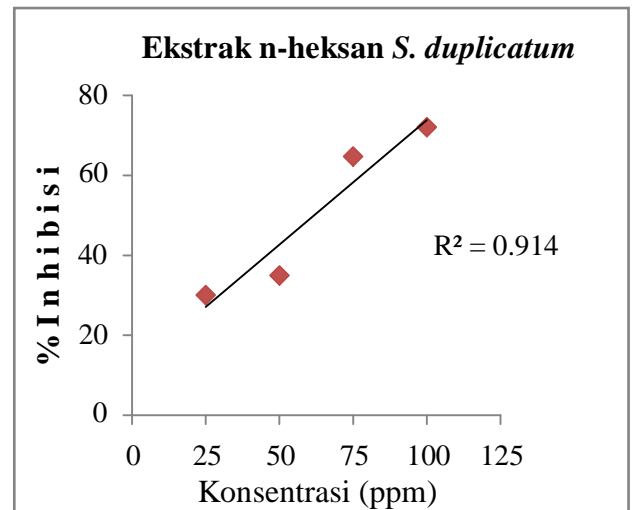
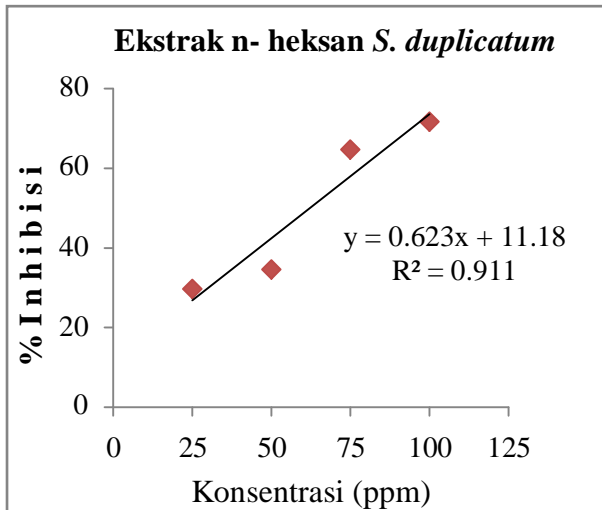
### Total Flavonoid

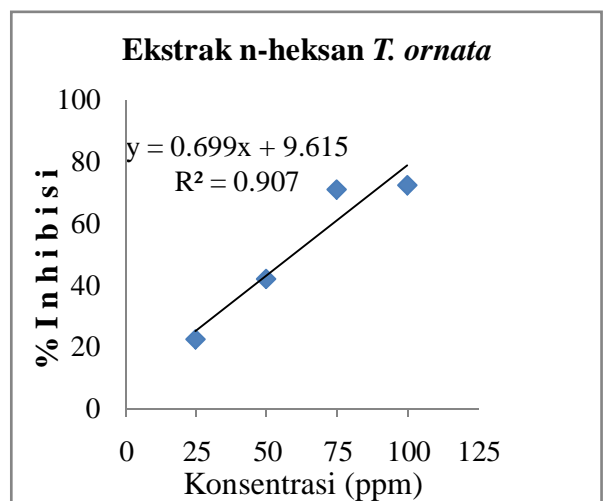
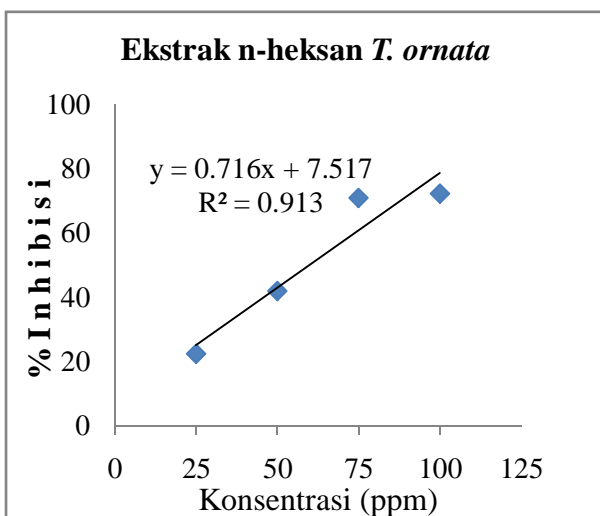
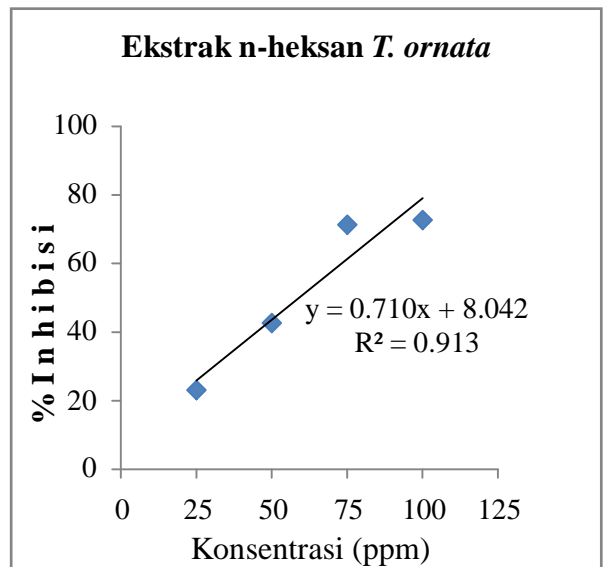
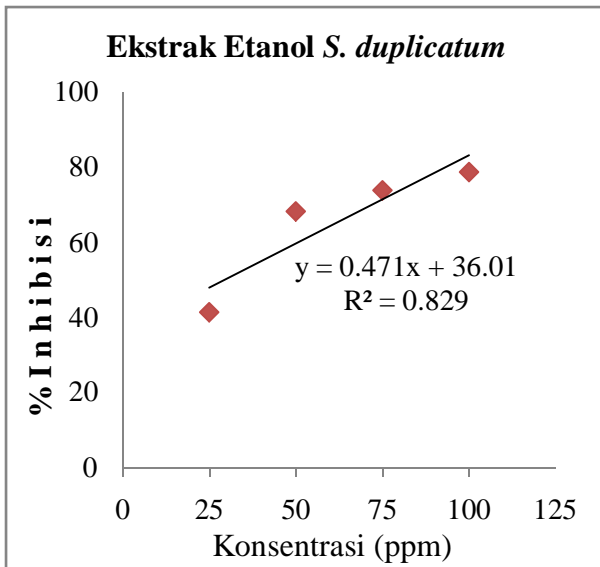
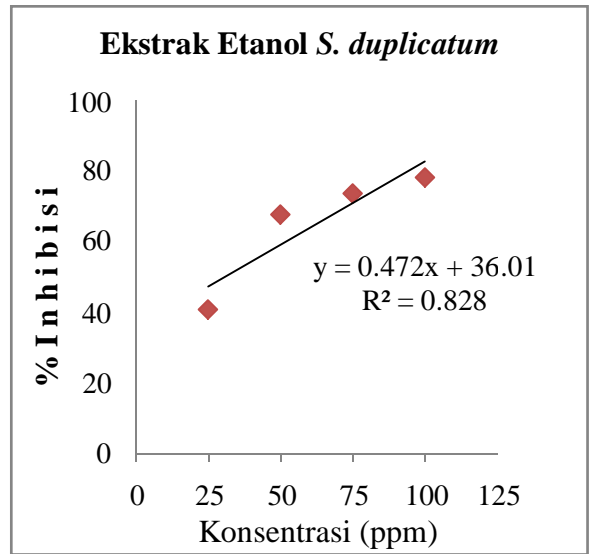
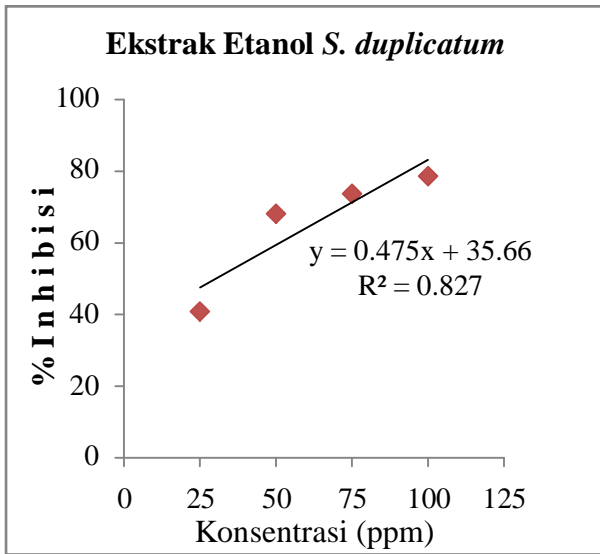
Tukey HSD

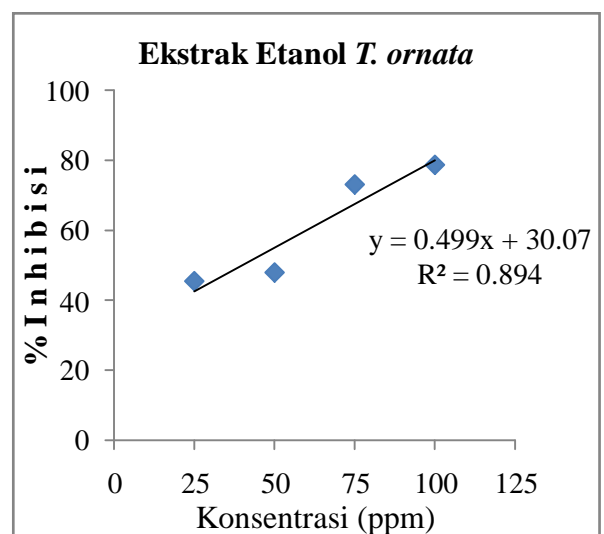
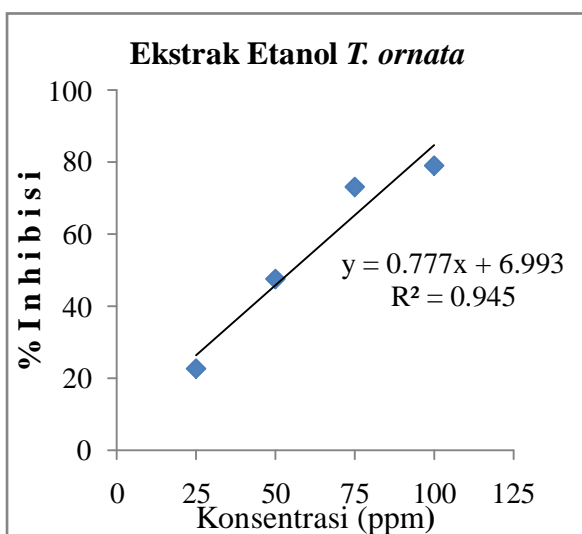
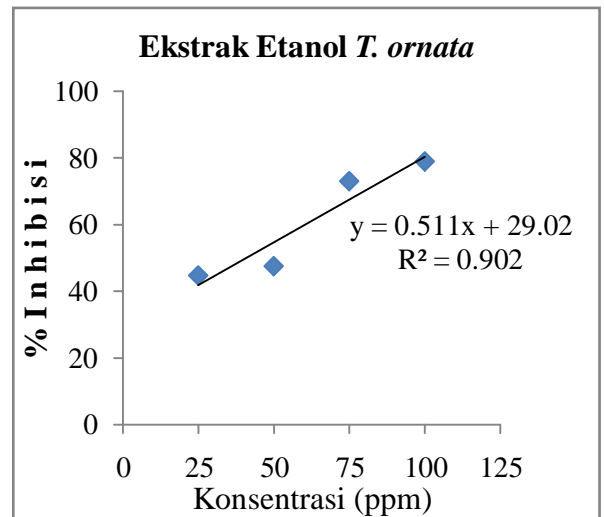
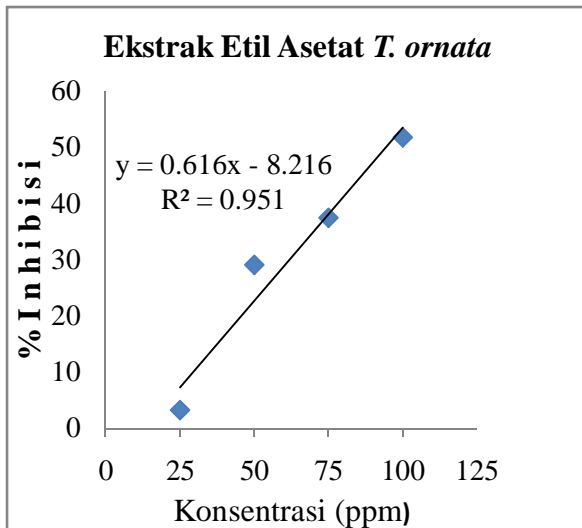
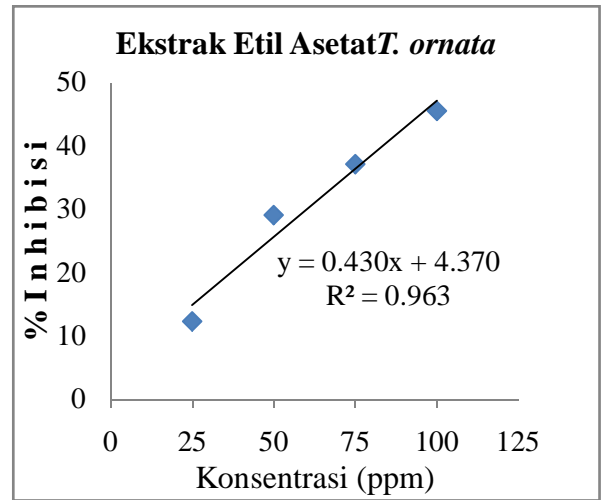
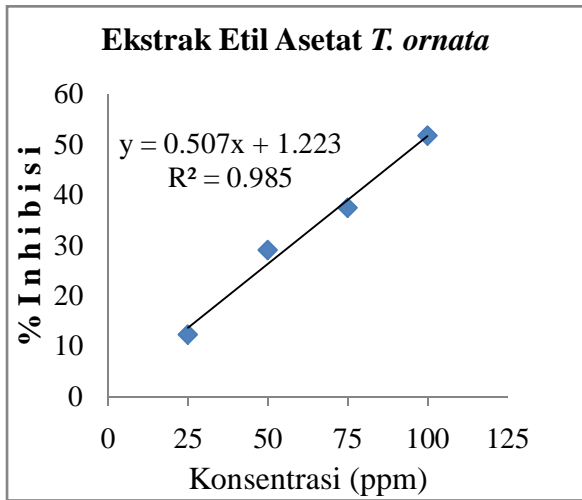
Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
<i>T. ornata</i> (etanol)	3	1.26113		
<i>S. duplicatum</i> (etanol)	3	1.26960		
<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	3		1.94601	
<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	3		2.03295	
<i>T. ornata</i> (n-heksan)	3			2.20948
<i>T. ornata</i> (etil asetat)	3			2.21218
Sig.		1.000	.246	1.000

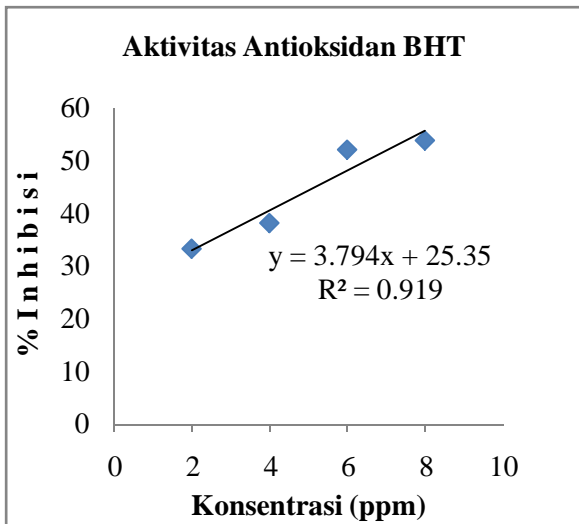
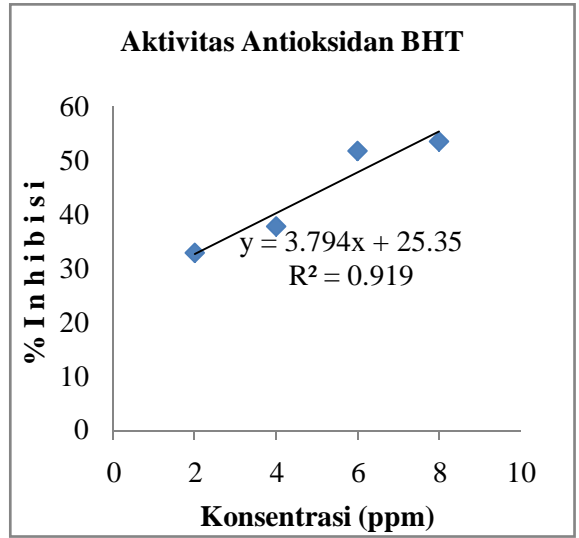
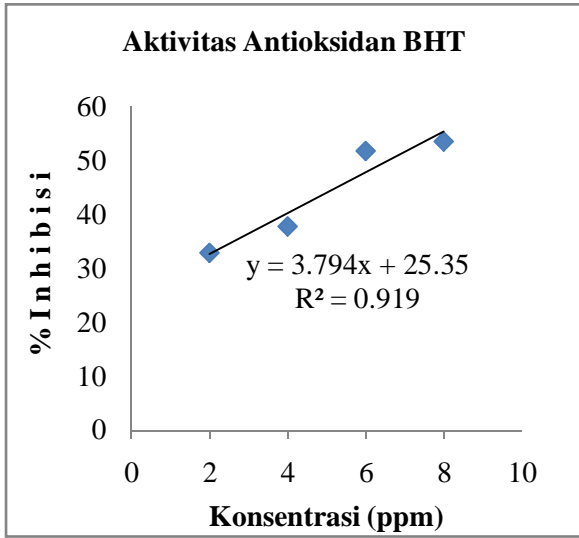
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 4. Hubungan Konsentrasi Ekstrak *S. duplicatum*, *T. ornata* dan BHT dengan %Inhibisi**









## Lampiran 5. Analisis Statistik Aktivitas Antioksidan

### Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
treatment		Statistic	df	Sig.
IC 50	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	.799	3	.111
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	.997	3	.888
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	.831	3	.190
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	.880	3	.325
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	.857	3	.258
	<i>T. ornata</i> (etanol)	.804	3	.125

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

IC 50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.808	5	12	.1

### ANOVA

IC 50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13225.593	5	2645.119	137.398	.000
Within Groups	231.018	12	19.251		
Total	13456.610	17			

### Multiple Comparisons

IC 50

Tukey HSD

(I) Treatment	(J) Treatment	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		(I-J)			Lower Bound	Upper Bound
<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-43.070000*	3.582503	.000	-55.10334	-31.03666
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	32.170000*	3.582503	.000	20.13666	44.20334
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	3.293333	3.582503	.934	-8.74001	15.32668
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-36.930000*	3.582503	.000	-48.96334	-24.89666
	<i>T. ornata</i> (etanol)	16.563333*	3.582503	.006	4.52999	28.59668
<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	43.070000*	3.582503	.000	31.03666	55.10334
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	75.240000*	3.582503	.000	63.20666	87.27334
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	46.363333*	3.582503	.000	34.32999	58.39668
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	6.140000	3.582503	.548	-5.89334	18.17334
	<i>T. ornata</i> (etanol)	59.633333*	3.582503	.000	47.59999	71.66668
<i>S. duplicatum</i> (etanol)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-32.170000*	3.582503	.000	-44.20334	-20.13666
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-75.240000*	3.582503	.000	-87.27334	-63.20666
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-28.876667*	3.582503	.000	-40.91001	-16.84332
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-69.100000*	3.582503	.000	-81.13334	-57.06666
	<i>T. ornata</i> (etanol)	-15.606667*	3.582503	.009	-27.64001	-3.57332

<i>T. ornata</i> (n-heksan)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-3.293333	3.582503	.934	-15.32668	8.74001
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-46.363333*	3.582503	.000	-58.39668	-34.32999
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	28.876667*	3.582503	.000	16.84332	40.91001
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-40.223333*	3.582503	.000	-52.25668	-28.18999
	<i>T. ornata</i> (etanol)	13.270000*	3.582503	.028	1.23666	25.30334
<i>T. ornata</i> (etil asetat)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	36.930000*	3.582503	.000	24.89666	48.96334
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-6.140000	3.582503	.548	-18.17334	5.89334
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	69.100000*	3.582503	.000	57.06666	81.13334
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	40.223333*	3.582503	.000	28.18999	52.25668
	<i>T. ornata</i> (etanol)	53.493333*	3.582503	.000	41.45999	65.52668
<i>T. ornata</i> (etanol)	<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	-16.563333*	3.582503	.006	-28.59668	-4.52999
	<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	-59.633333*	3.582503	.000	-71.66668	-47.59999
	<i>S. duplicatum</i> (etanol)	15.606667*	3.582503	.009	3.57332	27.64001
	<i>T. ornata</i> (n-heksan)	-13.270000*	3.582503	.028	-25.30334	-1.23666
	<i>T. ornata</i> (etil asetat)	-53.493333*	3.582503	.000	-65.52668	-41.45999

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

IC 50

Tukey HSD

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
<i>S. duplicatum</i> (etanol)	3	2984.33			
<i>T. ornata</i> (etanol)	3		4545.00		
<i>T. ornata</i> (n-heksan)	3			5872.00	
<i>S. duplicatum</i> (n-heksan)	3			6201.33	
<i>T. ornata</i> (etil asetat)	3				9894.33
<i>S. duplicatum</i> (etil asetat)	3				1050.83
Sig.		1.000	1.000	.934	.548

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 6.**

**a. Analisis Korelasi Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *S. duplicatum***

		<b>Correlations</b>		
		Total Fenol	Total Flavonoid	IC 50
Total fenol	Pearson Correlation	1	.876	.995
	Sig. (2-tailed)		.320	.061
	N	3	3	3
Total flavonoid	Pearson Correlation	.876	1	.918
	Sig. (2-tailed)	.320		.259
	N	3	3	3
IC 50	Pearson Correlation	.995	.918	1
	Sig. (2-tailed)	.061	.259	
	N	3	3	3

**b. Analisis Korelasi Total Fenol, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *T. ornata***

		<b>Correlations</b>		
		Total Fenol	Total Flavonoid	IC 50
Total fenol	Pearson Correlation	1	.964	.863
	Sig. (2-tailed)		.172	.338
	N	3	3	3
Total flavonoid	Pearson Correlation	.964	1	.696
	Sig. (2-tailed)	.172		.510
	N	3	3	3
IC 50	Pearson Correlation	.863	.696	1
	Sig. (2-tailed)	.338	.510	
	N	3	3	3

**Lampiran 7.**

**a. Analisa Probit Toksisitas Ekstrak Etanol *S. duplicatum***

**Data Information**

		N of Cases
Valid		15
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		3

**Convergence Information**

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	11	Yes

**Parameter Estimates**

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	konsentrasi	.598	.105	5.688	.000	.392	.804
	Intercept	-1.037	.191	-5.424	.000	-1.228	-.846

a. PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

### Chi-Square Tests

	Chi-Square	df <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	8.869	13	.783 <sup>b</sup>

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

### Cell Counts and Residuals

	Number	Concentration	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	-.200	10	2	1.237	.763	.124
	2	-.200	10	2	1.237	.763	.124
	3	-.200	10	1	1.237	-.237	.124
	4	.600	10	3	2.489	.511	.249
	5	.600	10	2	2.489	-.489	.249
	6	.600	10	2	2.489	-.489	.249
	7	1.400	10	3	4.210	-1.210	.421
	8	1.400	10	5	4.210	.790	.421
	9	1.400	10	4	4.210	-.210	.421
	10	2.200	10	5	6.100	-1.100	.610
	11	2.200	10	4	6.100	-2.100	.610
	12	2.200	10	6	6.100	-.100	.610
	13	3.000	10	10	7.757	2.243	.776
	14	3.000	10	7	7.757	-.757	.776
	15	3.000	10	9	7.757	1.243	.776

**Confidence Limits**

	Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>a</sup>		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	.009	.000	.078	-2.070	-3.989	-1.106
	0.02	.024	.000	.173	-1.617	-3.306	-.761
	0.03	.047	.001	.287	-1.329	-2.873	-.541
	0.04	.077	.003	.421	-1.113	-2.549	-.375
	0.05	.116	.005	.576	-.937	-2.285	-.239
	0.06	.163	.009	.753	-.787	-2.062	-.123
	0.07	.221	.014	.953	-.656	-1.866	-.021
	0.08	.290	.020	1.177	-.538	-1.691	.071
	0.09	.370	.029	1.429	-.431	-1.533	.155
	0.1	.465	.041	1.709	-.333	-1.387	.233
	0.15	1.188	.162	3.630	.075	-.790	.560
	0.2	2.505	.475	6.739	.399	-.324	.829
	0.25	4.750	1.165	11.725	.677	.066	1.069
	0.3	8.440	2.538	19.815	.926	.404	1.297
	0.35	14.376	5.054	33.298	1.158	.704	1.522
	0.4	23.830	9.356	56.585	1.377	.971	1.753
	0.45	38.858	16.313	98.379	1.589	1.213	1.993
	<b>0.5</b>	<b>62.873</b>	27.122	176.241	1.798	1.433	2.246
	0.55	101.730	43.578	326.689	2.007	1.639	2.514
	0.6	165.882	68.598	629.094	2.220	1.836	2.799
	0.65	274.967	107.202	1266.538	2.439	2.030	3.103
	0.7	468.361	168.563	2695.623	2.671	2.227	3.431
	0.75	832.130	270.744	6179.993	2.920	2.433	3.791
	0.8	1578.133	453.274	15761.347	3.198	2.656	4.198
	0.85	3327.602	817.277	47468.156	3.522	2.912	4.676
	0.9	8507.105	1696.576	192205.629	3.930	3.230	5.284
	0.91	10671.900	2021.128	269809.163	4.028	3.306	5.431
	0.92	13652.277	2443.264	390191.035	4.135	3.388	5.591
	0.93	17898.516	3008.307	585698.677	4.253	3.478	5.768
	0.94	24219.833	3792.990	922425.055	4.384	3.579	5.965
	0.95	34196.464	4937.435	1549482.539	4.534	3.694	6.190
	0.96	51284.807	6725.295	2852127.175	4.710	3.828	6.455
	0.97	84404.892	9823.813	6044442.140	4.926	3.992	6.781
	0.98	1.637E5	16234.617	1.643E7	5.214	4.210	7.216
	0.99	4.649E5	35743.291	7.962E7	5.667	4.553	7.901

a. Logarithm base = 10.

**b. Analisa Probit Toksisitas Ekstrak Etanol *T. ornata***

**Data Information**

		N of Cases
Valid		15
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		3

**Convergence Information**

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	11	Yes

**Parameter Estimates**

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	konsentrasi	.605	.105	5.764	.000	.399	.811
	Intercept	-.902	.185	-4.885	.000	-1.086	-.717

a. PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

### Chi-Square Tests

	Chi-Square	df <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	7.131	13	.895 <sup>b</sup>

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

### Cell Counts and Residuals

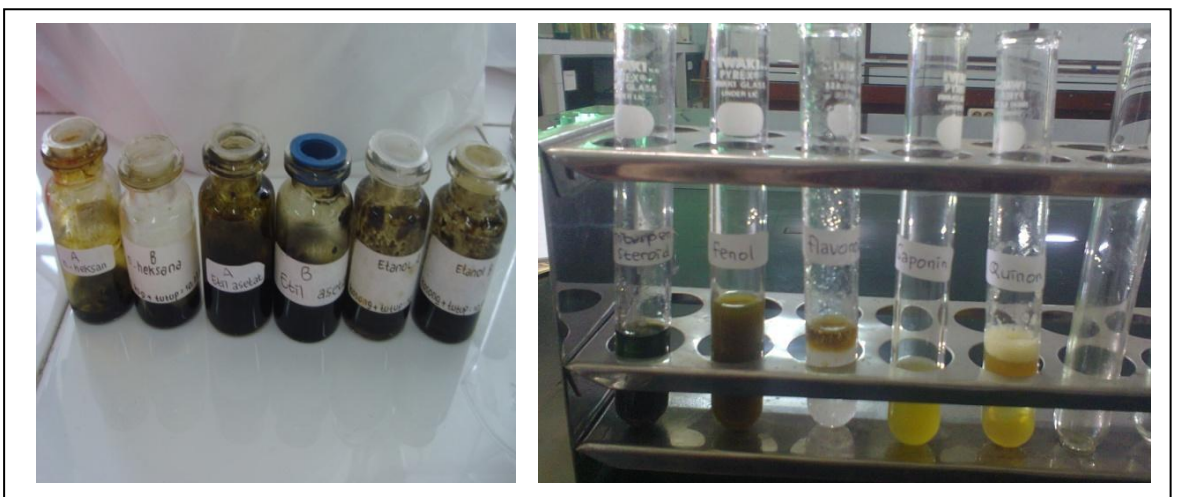
	Number	Concentration	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	-.200	10	2	1.532	.468	.153
	2	-.200	10	2	1.532	.468	.153
	3	-.200	10	2	1.532	.468	.153
	4	.600	10	3	2.951	.049	.295
	5	.600	10	3	2.951	.049	.295
	6	.600	10	2	2.951	-.951	.295
	7	1.400	10	6	4.782	1.218	.478
	8	1.400	10	5	4.782	.218	.478
	9	1.400	10	3	4.782	-1.782	.478
	10	2.200	10	6	6.662	-.662	.666
	11	2.200	10	6	6.662	-.662	.666
	12	2.200	10	5	6.662	-1.662	.666
	13	3.000	10	10	8.195	1.805	.819
	14	3.000	10	9	8.195	.805	.819
	15	3.000	10	8	8.195	-.195	.819

**Confidence Limits**

	Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>a</sup>		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	.023	.001	.149	-1.632	-3.130	-.827
	0.02	.058	.003	.304	-1.233	-2.556	-.517
	0.03	.105	.006	.480	-.981	-2.192	-.319
	0.04	.162	.012	.677	-.791	-1.920	-.169
	0.05	.231	.020	.897	-.636	-1.699	-.047
	0.06	.313	.031	1.141	-.505	-1.511	.057
	0.07	.408	.045	1.410	-.389	-1.347	.149
	0.08	.517	.063	1.706	-.286	-1.200	.232
	0.09	.642	.086	2.030	-.192	-1.067	.308
	0.1	.784	.113	2.385	-.106	-.945	.378
	0.15	1.787	.359	4.698	.252	-.444	.672
	0.2	3.441	.883	8.193	.537	-.054	.913
	0.25	6.036	1.873	13.457	.781	.273	1.129
	0.3	9.999	3.602	21.472	1.000	.557	1.332
	0.35	15.960	6.440	33.932	1.203	.809	1.531
	0.4	24.875	10.880	53.823	1.396	1.037	1.731
	0.45	38.214	17.567	86.508	1.582	1.245	1.937
	<b>0.5</b>	<b>58.309</b>	27.391	141.824	1.766	1.438	2.152
	0.55	88.970	41.663	238.343	1.949	1.620	2.377
	0.6	136.681	62.455	412.622	2.136	1.796	2.616
	0.65	213.026	93.225	740.731	2.328	1.970	2.870
	0.7	340.044	140.091	1392.860	2.532	2.146	3.144
	0.75	563.269	214.700	2788.191	2.751	2.332	3.445
	0.8	988.061	341.602	6105.863	2.995	2.534	3.786
0.85	1902.282	580.977	15381.880	3.279	2.764	4.187	
0.9	4337.399	1121.370	49715.753	3.637	3.050	4.696	
0.91	5292.810	1312.693	66086.783	3.724	3.118	4.820	
0.92	6570.674	1556.987	90076.664	3.818	3.192	4.955	
0.93	8334.585	1877.452	126682.580	3.921	3.274	5.103	
0.94	10869.886	2312.650	185509.814	4.036	3.364	5.268	
0.95	14715.396	2931.556	286791.102	4.168	3.467	5.458	
0.96	21005.002	3870.527	478824.231	4.322	3.588	5.680	
0.97	32532.937	5441.343	900040.298	4.512	3.736	5.954	
0.98	58196.367	8546.162	2085458.602	4.765	3.932	6.319	
0.99	1.455E5	17366.647	7860847.694	5.163	4.240	6.895	

a. Logarithm base = 10.

## Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian





## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



**Ristyana Ika Putranti**, dilahirkan di Yogyakarta, 5 Februari 1989. Putri pertama pasangan bapak Drs. Tommy Soetomo dan ibu Dra. Nadar Mursih. Penulis menyelesaikan pendidikan formal SD, SMP dan SMA di Boja, Kendal. Pada tahun 2006, penulis diterima sebagai mahasiswa S1 jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro.

Penulis tercatat aktif dalam kegiatan kemahasiswaan dan akademik. Pada tahun 2010, penulis berhasil lolos dalam program PKM-GT DIKTI dengan judul "Smoothie Pisang Kedelai sebagai Minuman Kesehatan untuk Mengatasi Insomnia". Pada tahun 2011, penulis berhasil mendapat gelar Sarjana Sains (S. Si) dengan judul skripsi "Variasi Jumlah Kromosom dan Tingkat Ploidi Genus *Curcuma* di Semarang, Jawa Tengah" dan mendapat predikat cumlaude terbaik.

Pada tahun 2011, penulis berhasil mendapatkan beasiswa studi S2 dari Program Beasiswa Unggulan BPKLN (Biro Perencanaan Kerjasama Luar Negeri), Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan. Pada tahun 2013, penulis mendapatkan beasiswa tesis dari LPDP (Lembaga Pengelola Dana Pendidikan), Kementerian Keuangan. Penulis melakukan penelitian tesis berjudul "Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara". Salah satu bagian dari tesis ini telah dipublikasikan dalam *International Symposium on Indonesian Biodiversity and The Indonesian Biological Society Scientific Meeting* di Fakultas Biologi, UNSOED Tahun 2013 dengan judul *Phytochemical Screening and Cytotoxic Activities of Brown Algae Sargassum duplicatum and Turbinaria ornata*.

**SARAN DAN KOREKSI  
PADA UJIAN TESIS TANGGAL 4 OKTOBER 2013  
S2 MSDP PPS UNDIP**

Nama Penguji : Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M.Sc

No	Saran/Koreksi	Perbaikan	Halaman	Paraf
1.	Tinjauan pustaka : metode pengukuran aktivitas antioksidan	Sudah ditambahkan metode pengukuran aktivitas antioksidan pada poin 2.8 Uji Aktivitas Antioksidan	25	
2.	Tinjauan pustaka : tahapan isolasi dan aplikasi dari <i>natural product</i>	Sudah ditambahkan tahapan isolasi dan aplikasi dari <i>natural product</i> pada poin 2.10 <i>Natural Product and Bioprospecting</i>	28	

Semarang, 16 Oktober 2013

Nama Mahasiswa

*Rimtya*

Rizka Putranti

NIM. 26010111400037

Penguji,

*Ambariyanto*

Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M.Sc

NIP. 196104131988031002

**SARAN DAN KOREKSI  
PADA UJIAN TESIS TANGGAL 4 OKTOBER 2013  
S2 MSDP PPS UNDIP**

Nama Penguji : Dr. Ir. Ita Widowati, DEA

No	Saran/Koreksi	Perbaikan	Halaman	Paraf
1.	Faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan total fenol	Sudah ditambahkan factor-faktor yang mempengaruhi kandungan total fenol pada poin 4.2.4 Kandungan Total Fenol	66	
2.	Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan	Sudah ditambahkan factor-faktor yang mempengaruhi kandungan total fenol pada poin 4.2.6 Aktivitas Antioksidan	74	

Surabaya, 16 Oktober 2013

Nama Mahasiswa

*RimEya*

Rizka Ika Putranti

NIM. 26010111400037

Penguji,



Dr. Ir. Ita Widowati, DEA

NIP. 196204211987032001

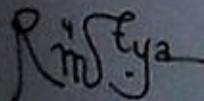
**SARAN DAN KOREKSI  
PADA UJIAN TESIS TANGGAL 4 OKTOBER 2013  
S2 MSDP PPS UNDIP**

Nama Penguji : Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc

No	Saran/Koreksi	Perbaikan	Halaman	Paraf
1.	Tinjauan pustaka : tahapan isolasi dan aplikasi dari <i>natural product</i>	Sudah ditambahkan tahapan isolasi dan aplikasi dari <i>natural product</i> pada poin 2.10 <i>Natural Product and Bioprospecting</i>	28	

Semarang, 16 Oktober 2013

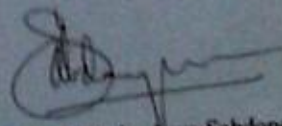
Nama Mahasiswa



Rizka Ika Putranti

NIM. 26010111400037

Penguji,



Prof. Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc

NIP. 195806151985031001

SARAN DAN KOREKSI  
PADA UJIAN TESIS TANGGAL 4 OKTOBER 2013  
S2 MSDP PPS UNDIP

Nama Penguji : Dr. Ir. Bambang Yulianto, DEA

No	Saran/Koreksi	Perbaikan	Halaman	Paraf
1.	Tahapan penghambatan aktivitas radikal bebas dan istilahnya.	Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan cara : <ul style="list-style-type: none"><li>• Mencegah (<i>prevention</i>) atau menghambat (<i>inhibition</i>) pembentukan radikal bebas baru</li><li>• Menginaktivasi (<i>inactivation</i>) atau menangkap radikal bebas (<i>free radical scavenger</i>) dan memotong propagasi (pemutusan rantai)</li><li>• Memperbaiki (<i>repair</i>) kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas</li></ul>	21	

Semarang, 7 Oktober 2013

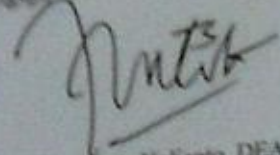
Nama Mahasiswa

R<sup>4</sup> M<sup>4</sup> Eya

Ratyan Ika Putranti

26010111400037

Penguji



Dr. Ir. Bambang Yulianto, DEA  
NIP. 196107221987031002