

**Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak
Metanol *Hormophysa cuneiformis* Berdasarkan
Perbedaan Teknik Ekstraksi**



UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945 JAKARTA

SKRIPSI

**RONY TUA SIMBOLON
2043057009**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI
UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945 JAKARTA
2021/2022**

**Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak
Metanol *Hormophysa cuneiformis* Berdasarkan
Perbedaan Teknik Ekstraksi**



UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945 JAKARTA

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**RONY TUA SIMBOLON
2043057009**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI
UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945
JAKARTA
2022**

i

Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Rony Tua Simbolon

NPM : 2043057009

Tanda Tangan :



Tanggal : 23 Agustus 2022

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Rony Tua Simbolon
Npm : 2043057009
Program studi : Ilmu Farmasi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* Berdasarkan Perbedaan Teknik Ekstraksi.

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing



Riong Seulina Panjaitan, S.Si., M.Si
NIDN: 0317098801

Penguji

1.



apt. Purwati, S.Si., M.Farm
NIDN : 0311017901

2.



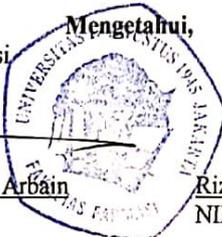
apt. Drs. Wahidin, M.Si
NIDK : 8817999920

Dekan Fakultas Farmasi

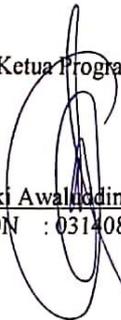


Prof. Dr. H. apt. Dayar Arbain
NIDK : 8881223419

Mengetahui,



Ketua Program Studi Ilmu Farmasi



Rizki Awaludin, S.Farm., M. Biomed
NIDN : 0314089401

Ditetapkan di : Universitas 17 Agustus 1945
Tanggal : 23 Agustus 2022

iii

Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi Jurusan Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. apt. Dayar Arbain Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
2. Bapak apt. Drs. Fauzi Kasim, M.Kes. Selaku Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
3. Bapak Rizki Awaluddin, S.Farm., M.Biomed Selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
4. Ibu Riong Seulina Panjaitan S.Si.,M.Si Selaku dosen pembimbing skripsi yang senantiasa sabar membantu, membimbing, mengarahkan dan selalu meluangkan waktunya untuk membimbing penelitian dalam penulisan skripsi ini.
5. Ibu apt. Purwati, S.Si., M.Farm Selaku dosen Penguji I yang telah Memberikan Kritik dan Masukan kepada penulis dalam penulisan proposal skripsi ini.
6. Bapak apt. Drs. Wahidin, M.Si Selaku dosen Penguji II yang telah Memberikan Kritik, Masukan serta Revisi kepada penulis dalam penulisan skripsi ini.
7. Bapak apt.Unsyura Dhipa Budaya.,M.Farm.,M.Tr.Opsla Mayor laut Selaku dosen pembimbing akademik yang telah menyediakan waktu dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penulisan skripsi ini.
8. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta yang telah banyak memberikan bekal

ilmu pengetahuan yang bermanfaat bagi penelitian dalam menyelesaikan skripsi ini.

9. Bapak Simbolon dan Ibu Siagian selaku Orang tua dan Kakak Abang saya yang telah memberikan Semangat dan Motivasi kepada Penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini memberi manfaat bagi pengembang ilmu.

Jakarta, 25 Agustus 2022



Rony Tua Simbolon

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rony Tua Simbolon
NPM : 2043057009
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Ilmu Farmasi
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty- Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK
METANOL HORMOPHYSA CUNEIFORMIS BERDASARKAN
PERBEDAAN TEKNIK EKSTRAKSI**

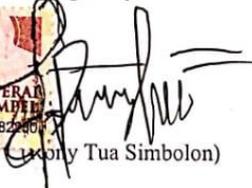
berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 25 Agustus 2022

Yang menyatakan


Rony Tua Simbolon

ABSTRAK

Nama : Rony Tua Simbolon .
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* Berdasarkan Perbedaan Teknik Ekstraksi Maserasi Dan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)
Pembimbing : Riong Seulina Panjaitan S.Si.,M.Si

Hormophysa cuneiformis merupakan salah satu jenis makroalga laut cokelat yang tumbuh di Pantai Sayang Heulang Garut, Jawa Barat dan mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan metode dan variasi waktu ekstraksi terbaik untuk menghasilkan % rendemen yang maksimal, aktivitas antioksidan dan toksisitas dari ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis*. Tahapan penelitian ini, meliputi sampling dan preparasi makroalga, ekstraksi *Hormophysa cuneiformis* dengan metode maserasi dan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) , skrining fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan uji DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhidrazyl*) dan uji toksisitas menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Dari hasil penelitian ini diketahui % rendemen ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dari metode maserasi adalah sebesar 6,76 % dengan waktu ekstraksi 72 jam (tiga hari). Sedangkan ekstraksi dengan teknik UAE menghasilkan % rendemen sebesar 5,53% (30 menit). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa metanol maserasi *Hormophysa cuneiformis* memiliki senyawa flavonoid dan steroid sedangkan pada UAE hanya diperoleh steroid. Dari hasil uji aktivitas antioksidan diketahui bahwa ekstrak methanol maserasi *Hormophysa cuneiformis* (217,859 µg/mL) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak methanol UAE *Hormophysa cuneiformis* (108,57 µg/mL). Dari hasil uji toksisitas diketahui bahwa ekstrak methanol maserasi *Hormophysa cuneiformis* (217,859 µg/mL) memiliki tokisistas yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak methanol UAE *Hormophysa cuneiformis* (844,294 µg/mL).

Kata kunci: antioksidan, BSLT, DPPH , *Hormophysa cuneiformis*, toksisitas.

ABSTRACT

Name : Rony Tua Simbolon
Studi Program : Pharmacy
Title : Antioxidant Activity Test and Toxicity Extract Methanol of *Hormophysa cuneiformis* Based on Differences Techniques Extraction.
Counsellor : Riong Seulina Panjaitan S.Si.,M.Si

Hormophysa cuneiformis is a type of brown marine macroalgae found in Sayang Heulang Beach, Garut, West Java, and contains various secondary metabolites which may be a source of natural antioxidants. The purpose of this study was to compare and vary the best time to produce maximum yield, antioxidant activity, and toxicity of *Hormophysa cuneiformis* methanol extract. This research was conducted experimentally, including macroalgae side and preparation, phytochemical screening, extraction of *Hormophysa cuneiformis* by maceration and UAE methods, antioxidant activity testing based on the DPPH test (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and toxicity testing using the BSLT (Brine Shrimp Lethality) method. The results showed that the methanol extract of *Hormophysa cuneiformis* with a yield proportion of 6.76% for maceration and 5.53% for UAE contained flavonoids and steroids. The antioxidant activity (IC_{50}) for maceration was 59.47 g/mL while the UAE was 108.57 g/mL. And for the toxicity test (LC_{50}) for maceration, 217,859 g/mL while the UAE is 844,294 g/mL. Based on the IC_{50} value, the macerated extract may be a strong antioxidant (less than 100 ppm) while the UAE extract may be a moderate antioxidant (101-150 ppm). based on the value (LC_{50}) for maceration in the very toxic category while the UAE is in the medium toxicity category.

Key words: *antioxidant, BSLT, DPPH, Hormophysa cuneiformis, toxicity.*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	Error! Bookmark not defined.
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 LATAR BELAKANG	1
1.2 RUMUSAN MASALAH	4
1.3 TUJUAN PENELITIAN.....	5
1.4 MANFAAT PENELITIAN.....	5
1.5 HIPOTESA PENELITIAN	6
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Hormophysa cuneiformis</i>	7
2.1.1 Deskripsi <i>Hormophysa cuneiformis</i>	7
2.1.2 Klasifikasi <i>Hormophysa cuneiformis</i>	8
2.1.3 Morfologi <i>Hormophysa cuneiformis</i>	9
2.1.4 Kandungan Kimia	9

2.2 Ekstraksi.....	10
2.3 Metode Ekstraksi.....	11
2.3.1 Ekstraksi Konvensional.....	14
2.3.2 Ekstraksi Modern	16
2.4 Ultrasound Assisted Extraction (UAE).....	18
2.5 Radikal bebas	20
2.6 Antioksidan	20
2.6.1 Vitamin C (Asam Askorbat)	22
2.6.2 Spektrofotometer Ultra Violet-Visibel.....	22
2.6.3 Uji Antioksidan dengan Metode 2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH).....	23
2.6.4 Pelarut.....	24
2.6.5 Pengukuran panjang gelombang	25
2.6.6 Waktu Pengukuran	25
2.7 Uji Toksisitas	25
2.7.1 Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)	26
BAB III.....	29
METODE PENELITIAN	29
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	29
3.2 Peralatan.....	29
3.3 Bahan.....	29
3.4 Persiapan Sampel	29
3.4.1 Sampling Makroalga	29
3.4.2 Determinasi Tumbuhan	30
3.4.3 Proses Pembuatan Bubuk Simplisia.....	30

3.4.4 Pembuatan Ekstrak	30
a. Ekstraksi dengan Metode Maserasi	30
b. Ekstraksi dengan Metode <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE)	31
3.4.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Metode <i>2,2-diphenyl-1 picrylhydrazil</i> (DPPH)(Yuliana, 2020)	31
3.4.6 Uji Toksisitas Ekstrak Metanol <i>Hormophysa cuneiformis</i> dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	34
3.4.7 Penentuan Nilai LC ₅₀	36
BAB IV	37
HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Hasil sampling Makroalga <i>Hormophysa cuneiformis</i>	37
4.2 Hasil Determinasi Makroalga <i>Hormophysa cuneiformis</i>	38
4.3 Ekstraksi Metanol Makroalga <i>Hormophysa cuneiformis</i>	40
4.3.1 Hasil Ekstraksi Makroalga <i>Hormophysa cuneiformis</i> dengan Metode Maserasi	41
4.3.2 Hasil Ekstraksi Makroalga <i>Hormophysa cuneiformis</i> dengan Metode UAE (ultrasound assisted extraction)	42
4.4 Hasil Skiring Fitokimia	44
4.5 Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol <i>Hormophysa cuneiformis</i> dengan Metode Maserasi, UAE(<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>) dan Asam askorbat	46
4.6 Toksisitas Ekstrak Metanol Maserasi dan UAE <i>Hormophysa cuneiformis</i> Terhadap Larva <i>Artemia salina Leach</i>	50
BAB V	55
KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55

5.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori Toksisitas Berdasarkan LC50	27
Tabel 4.1 Nilai Rendemen Maserasi dan UAE	43
Tabel 4.2 Skrining Fitokimia Metanol UAE dan Maserasi.....	44
Tabel 4.3 Hasil Persamaan Regresi Linear dan Analisis IC50 yang diperoleh dari Ekstrak Metanol Maserasi, UAE dan Asam askorbat	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Hormophysa cuneiformis	8
Gambar 2.2 Morfologi Artemia Salina leach.....	9
Gambar 2.3 Diagram Sistem UAE.....	19
Gambar 2.4 Struktur Molekul Kimia Asam askorbat	22
Gambar 2.5 Mekanisme Reaksi DPPH dengan Antioksidan.....	24
Gambar 2.6 Artemia Salina leach	28
Gambar 4.1 Peta Sayang Heulang dan Gambar Pantai Sayang Heulang.....	37
Gambar 4.2 Hormophysa cuneiformis yang Tumbuh di Pantai Sayang Heulan ..	39
Gambar 4.3 Ukuran Lebar dan Panjang Thallus Hormophysa cuneiformis	39
Gambar 4.4 Ekstrak Metanol Maserasi Hormophysa cuneiformis pada Hari 1, 2 dan 3	42
Gambar 4.5 Ekstrak Metanol UAE Hormophysa cuneiformis pada Waktu 10, 20, 30 Menit	42
Gambar 4.6 Probit Kematian dari Setiap Log Konsentrasi Ekstrak Metanol Maserasi Hormophysa cuneiformis	52
Gambar 4.7 Probit Kematian dari Setiap Log Konsentrasi Ekstrak Metanol UAE Hormophysa cuneiformis	52

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Radikal bebas ialah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Faktor penyebab terjadinya radikal bebas yaitu, adanya hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga atau aktivitas fisik yang berlebihan atau maksimal, peradangan, dan terpapar polusi dari luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, industri dan radiasi matahari(Tukiran et all, 2020).

Reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas inilah yang dapat merusak membran sel normal dan komposisi DNA disekitarnya sehingga menyebabkan terjadinya mutasi atau kerusakan komposisi suatu DNA yang menyebabkan terjadinya beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini dan lain-lain(Parwata, 2016).

Antioksidan didefinisikan sebagai zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid dan berfungsi untuk menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan sintetik dan alami. Contoh antioksidan sintetik yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). Antioksidan sintetik memiliki beberapa keuntungan yaitu, mempunyai efektivitas tinggi, murah, digunakan secara umum sementara kekurangannya adalah penggunaan terbatas untuk beberapa produk, daya larut rendah serta mengurangi daya tarik. Contoh antioksidan alami dapat diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid). Antioksidan alami memiliki keuntungan yaitu aman, tidak terkontaminasi zat kimia, mudah

diperoleh, jangkauan daya kelarutan luas, penggunaan terus berkembang dan meningkatkan daya tarik sementara kekurangannya adalah harga mahal dan hanya digunakan untuk beberapa produk. (Sakka & Muin, 2022).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH(2,2 *diphenyl-1-picrylhidrazyl*) menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH(2,2 *diphenyl-1-picrylhidrazyl*) dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm(Nugroho & Rahayu, 2018). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH(2,2 *diphenyl-1-picrylhidrazyl*) 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(Rahim & Ui, 2012).

Berdasarkan penelitian (El-Manawy et al., 2012) *Hormophysa cuneiformis* memiliki kandungan senyawa aktif yang terdiri dari senyawa fenolik, alkaloid, terpen dan florotanin. Ekstrak kasar dari makroalga *Hormophysa cuneiformis* dengan pelarut etil alkohol 70% menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan persentase aktivitas penangkapan DPPH tinggi ($97,2 \pm 2,6\%$) dibandingkan dengan rumput laut lainnya. Hal yang serupa juga ditemukan pada penelitian(Malo & Salosso, 2018) bahwa ekstraksi makroalga cokelat *Hormophysa sp* mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin dan tanin.

Dari kedua penelitian diatas, ekstraksi menggunakan teknik konvensional yaitu maserasi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan tujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman kedalam pelarut yang dipakai. Terdapat dua macam metode ekstraksi yaitu, metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern. Perbedaan dari kedua teknik tersebut yaitu, ekstraksi konvensional pada umumnya membutuhkan waktu yang lama, kurang ramah lingkungan, dan berpotensi memicu kerusakan senyawa, sehingga perlu metode alternatif lain (Mukhriani, 2014). Sedangkan ekstraksi

modern yaitu ekstraksi yang diperoleh dari pelarut dengan menambahkan kombinasi faktor fisik kedalamnya seperti suhu, energi bergelombang, atau pelarut yang bertekanan. Kelebihan dari metode ini dapat mengeluarkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak sehingga senyawa antioksidan tetap dalam keadaan utuh dan juga metode ekstraksi modern dapat mempercepat proses ekstraksi. Contoh metode ekstraksi konvensional diantaranya yaitu maserasi, sokletasi, perkolasi, infusa, dekokta, digesti dan refluks. Sedangkan metode ekstraksi modern contohnya yaitu ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE), *Ultrasound Microwave Assisted Extraction* (UMAE) , *Hydrothermal Assisted Extraction* (HAE), *High Pressure Assisted Extraction* (HPAE) dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) (Chemat et al., 2017).

Maserasi adalah proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Kelebihan dari Metode ini adalah metode mudah digunakan, murah, efektif dan efisien dalam penggunaan serta mencegah kerusakan senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Namun, maserasi juga mempunyai kelemahan yaitu memakan banyak waktu, kebutuhan pelarut yang cukup tinggi dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang (Chairunnisa et al., 2019).

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) merupakan teknik ekstraksi dengan cara memberikan gelombang ultrasonic (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz) pada simplisia. Pada proses ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terdapat banyak faktor yang terlibat seperti intensitas amplitudo, ukuran partikel, jenis pelarut, pH media ekstraksi, waktu dan temperatur. Intensitas amplitudo waktu merupakan faktor yang paling penting karena mempengaruhi banyaknya jumlah komponen yang diekstrak (Zou et al., 2014b). Kelebihan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dibandingkan metode konvensional menurut Widyasanti et al., (2018) yaitu dapat mengekstraksi lebih cepat, efisien, ramah lingkungan, tidak memerlukan panas dalam prosesnya dan dapat

menghasilkan produk murni dengan rendemen yang lebih tinggi. Namun UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) juga memiliki kekurangan diantaranya, membutuhkan energi dan biaya yang besar.

Toksisitas merupakan kemampuan racun (molekul) untuk menimbulkan kerusakan apabila masuk ke dalam tubuh dan lokasi organ yang rentan terhadapnya.(Gosal, 2015). Pengujian terhadap aktivitas dan toksisitas ekstrak makroalga dapat dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT sangat cocok digunakan untuk isolasi senyawa bioaktif ekstrak makroalga, uji BSLT dilakukan untuk melihat efek toksisitas terhadap sel. (Mangrove *Avicennia Marina* et al., 2018).

Berdasarkan pemaparan diatas, penelitian ini dirancang untuk menghasilkan dan menentukan teknik ekstraksi yang terbaik dalam meningkatkan % rendemen, aktivitas antioksidan dan toksisitas dari ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis*.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh perbedaan jenis metode dan variasi waktu terhadap % rendemen ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis*.
2. Manakah dari kedua metode ekstraksi tersebut, yang memberikan aktivitas antioksidan yang terbaik berdasarkan nilai IC_{50} yang dihasilkan.
3. Manakah dari kedua metode ekstraksi tersebut, yang memberikan toksisitas tertinggi berdasarkan nilai LC_{50} yang dihasilkan.

1.3 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dilakukannya penelitian ini antara lain untuk :

1. Untuk mengetahui metode dan variasi waktu terbaik terhadap % rendemen ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis*.
2. Untuk mengetahui metode ekstraksi manakah yang memberikan aktivitas antioksidan yang terbaik berdasarkan nilai IC₅₀ yang dihasilkan.
3. Untuk mengetahui metode ekstraksi manakah yang memberikan toksisitas tertinggi berdasarkan nilai LC₅₀ yang dihasilkan.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

1. Manfaat Bagi Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang perbandingan % rendemen yang dihasilkan dari kedua ekstraksi (UAE dan Maerasi) dari *Hormophysa cuneiformis*.

2. Manfaat Bagi Farmasi

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengetahuan tentang *Hormophysa cuneiformis* sebagai antioksidan yang diteliti dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dan Maserasi serta uji 2,2 *diphenyl-1-picrylhidrazyl* (DPPH) memberikan efek toksik yang dapat digunakan sebagai acuan dan landasan untuk menambah informasi ilmiah baru tentang pengembangan bahan baku obat.

3. Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat tentang kandungan *Hormophysa cuneiformis* sebagai antioksidan.

1.5 HIPOTESA PENELITIAN

Ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* memiliki persentase rendemen yang maksimal dan aktivitas antioksidan yang tinggi berdasarkan nilai IC_{50} dengan menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) jika dibandingkan dengan metode maserasi serta memiliki efek toksik terhadap larva udang *Artemia Salina Leach*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Hormophysa cuneiformis*

2.1.1 Deskripsi *Hormophysa cuneiformis*

Indonesia merupakan negara yang kaya akan potensi sumber daya alam yang dimiliki. Salah satunya adalah potensi sumber daya alam dari laut yaitu rumput laut atau sering disebut makroalga. Makroalga dibagi menjadi 3 kelompok besar berdasarkan komposisi kimianya yaitu makroalga hijau (*Chlorophyta*), alga merah (*Rhodophyta*), dan alga coklat (Kasim, 2016). Makroalga merupakan salah satu sumber antioksidan, karena mengandung senyawa bioaktif seperti karotenoid, senyawa fenol dan turunannya, sulfat polisakarida, dan vitamin. Pigmen karotenoid dapat berperan sebagai provitamin A, sebagai antioksidan, pencegah kanker dan sebagai pewarna alami (Suparmi, 2013).

Hormophysa cuneiformis merupakan makroalga coklat tropis dan subtropis. Pada penelitian (Ode & Wasahua, 2014) ditemukan *Hormophysa cuneiformis* di daerah perairan pantai Hutumuri yang hidup pada daerah substrat berbatu, pasir yang bercampur patahan batu-batuan atau karang dan tumbuh melekat pada batuan vulkanik dan benda-benda yang bersifat masif yang berada di dasar perairan. *Hormophysa cuneiformis* telah dikaji secara luas menunjukkan potensi antioksidan yang tinggi salah satunya florotanin. Merupakan senyawa fenolik utama yang terdeteksi didalam makroalga coklat yang tersusun oleh polimerasi unit monomer floroglusinol (1,3,5 trihydroxybenzena) dan disintensi dalam jalur asetat malonat (Basmal, 2013).



Gambar 2.1 *Hormophysa cuneiformis* (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Senyawa fenolik yang terdapat dalam makroalga cokelat memiliki komponen struktural yang tidak terpisahkan dari dinding sel dan memiliki berbagai fungsi melindungi dari paparan radiasi UV, berperan dalam reproduksi makroalga dan mekanisme perlindungan terhadap faktor biotik serta memiliki sifat terapeutik (Sinurat et al., 2018). Senyawa bioaktif yang memiliki peranan sebagai antioksidan, mampu menghambat dihasilkannya agen oksidatif dalam produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) oleh sel darah perifer, menghambat paparan oksidatif dalam tubuh dan berperan dalam proses penurunan tekanan darah (Diachanty et al., 2017).

2.1.2 Klasifikasi *Hormophysa cuneiformis*

Berdasarkan hasil Penelitian dari Bioekologi Vegetasi Laut, Pusat Riset Oseanografi – BRIN Jakarta, menyatakan bahwa makroalga tersebut adalah *Hormophysa cuneiformis* (J.F.Gmelin) P.C.Silva, 1987. Klasifikasi makroalga adalah sebagai berikut:

- a) Phylum : *Ochrophyta*
- b) Kelas : *Phaeophyceae*
- c) Ordo : *Fucales*
- d) Famili : *Sargassaceae*
- e) Genus : *Hormophysa*
- f) Spesies : *Hormophysa cuneiformis*(J.F.Gmelin) P.C.Silva.

2.1.3 Morfologi *Hormophysa cuneiformis*

Secara morfologi, *Hormophysa cuneiformis* adalah makroalga yang tergolong dalam *Phaeophyta* (ganggang cokelat). Spesies ini memiliki panjang *thallus* 7-9 cm, lebar 3 cm dengan Ciri-ciri umum sebagai berikut, *thallus* berdaun, *holdfast* mengerucut, *stipe* berbentuk silindris agak kasar, rimbun, alat pelekat seperti cakram, rhizoid pendek, warna coklat kekuningan dan bercabang pada kedua sisinya, bagian blade berbentuk sayap dengan struktur licin dan bergerigi, hidup menempel pada batu dengan alat pelekatnya berbentuk cakram kecil, tipe percabangan pada makroalga ini adalah bercabang dua selang seling (*pinnatus alternate*) dan hidup bercampur dengan *Sargassum* dan *Turbinaria*(Ibrahim, 2019).



Gambar 2.2 Morfologi *Hormophysa cuneiformis* (Sumber :Ibrahim, 2019)

2.1.4 Kandungan Kimia

Makroalga cokelat memiliki kandungan karbohidrat, protein, abu, air, vitamin dan mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), fosfat (P), iodin (I) dan besi (Fe)(Savitri et al., 2017).

Makroalga coklat mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan seperti alkaloid, glikosida, saponin, tannin dan steroid yang banyak digunakan dalam pengobatan dan industri farmasi serta senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas penghambatan oksidasi LDL, *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)*, *α -amilase*, *α -glukosidase* dan berpotensi sebagai terapeutik dan melindungi dari berbagai penyakit degeneratif terutama kanker (Wang et al., 2015).

Berdasarkan studi fitokimia menyatakan bahwa makroalga coklat *Hormophysa cuneiformis* mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid yang merupakan salah satu senyawa yang bersifat antioksidan. Hal yang sama juga diteliti oleh (El-Manawy et al., 2012) mengenai *Hormophysa cuneiformis* yang dimana mengandung senyawa bioaktif dengan kandungan total fenolik yang digunakan sebagai sumber antioksidan alami dengan rata-rata TPC tertinggi ($129,9 \pm 1,8$ mg GAE/g berat kering). Selain sebagai antioksidan, *Hormophysa cuneiformis* termasuk produk alam dari laut yang memiliki kemampuan sebagai antitumor, antibakteri, antijamur, anti inflamasi, dan antivirus (Kamoda et al., 2021).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan alam dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang selektif dan bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk melakukan proses ekstraksi, sehingga bisa memperoleh zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (*consentrata*) dari zat-zat yang tidak dibutuhkan, agar lebih mudah dipergunakan dan disimpan dibandingkan simplisia asal, dan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Ahmad, 2018)

Ekstraksi banyak dilakukan dalam bidang industri makanan dan juga dibidang farmasi. Berdasarkan prosesnya, ekstraksi dibedakan menjadi (alfinda novi kristanti, 2019)

- a. Ekstraksi cair-cair, yaitu proses pemisahan cairan dari suatu larutan dengan menggunakan cairan sebagai bahan pelarutnya

- b. Ekstraksi padat-cair, yaitu proses pemisahan cairan dari padatan dengan menggunakan cairan sebagai bahan pelarutnya.

Hasil ekstraksi disebut dengan ekstrak yakni zat yang dihasilkan dari ekstraksi bahan mentah secara kimiawi berupa sediaan pekat.

2.3 Metode Ekstraksi

Terdapat berbagai macam metode ekstraksi yaitu, metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern. Metode ekstraksi konvensional diantaranya yaitu maserasi, sokletasi dan refluks. Sedangkan metode ekstraksi modern diantaranya yaitu ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu.

Jenis-jenis metode ekstraksi konvensional (Lukman Junaidi, 2020) :

1. Metode Maserasi

Merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini baik digunakan dalam skala kecil maupun skala industri, dilakukan proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu (Putra dkk, 2014). Keuntungan Maserasi adalah metode termudah dan sederhana, tidak memerlukan pemanasan dengan suhu yang tinggi, dapat mencegah rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Kerugian Maserasi adalah membutuhkan waktu yang cukup lama, menggunakan pelarut yang cukup banyak, besar kemungkinan senyawa hilang, selain itu beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar.

2. Metode Sokletasi

Melibatkan kontak padatan-cair untuk menghilangkan satu atau beberapa senyawa dari padatan dengan melarutkannya ke dalam fase cair refluks. Dalam metode ini, sampel yang ditumbuk halus ditempatkan dalam kantong berpori atau disebut "*thimble*" yang terbuat dari kertas saring atau selulosa yang kuat.

Keuntungan Sokletasi adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi, membutuhkan jumlah pelarut yang lebih kecil dibandingkan dengan maserasi, sampel berulang kali dilewati oleh pelarut baru, mencegah kemungkinan pelarut menjadi jenuh dengan bahan yang diekstraksi. Kerugian Sokletasi adalah proses ekstraksi dapat berlangsung dalam waktu yang cukup lama hingga berjam-jam bahkan hari, senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih, sampel ideal untuk ekstraksi soxhlet juga terbatas pada padatan yang kering dan telah dihaluskan, banyak faktor yang mempengaruhi seperti suhu, rasio sampel dan pelarut, kemudian kecepatan agitasi perlu dipertimbangkan untuk metode ini.

3. Metode Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan bahan yang disusun secara unggul dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai prosesnya sempurna dan umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Keuntungan dari Perkolasi adalah tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak. Kerugian dari Perkolasi adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut.

4. Metode Refluks

Merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Keuntungan dari Refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak dengan metode ini. Kerugian dari Refluks adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak

Jenis-jenis metode Ekstraksi modern:

1. Metode Ekstraksi Ultrasonik

Pada metode ekstraksi ultrasonik yang dilakukan selama 15 menit dapat mempercepat proses pencucian yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi (*cavitation bubbles*) pada material larutan. Gelembung kavitasi akan pecah didekat dengan dinding sel tanaman maka terbentuk gelombang kejut dan pancaran cairan atau liquid jets yang akan membuat dinding sel pecah (Rukmi, Widya dwi, 2018)

Dinding sel kemudian membuat komponen di dalam sel keluar dan bercampur dengan pelarut. Gelombang ultrasonik akan menyebabkan pembesaran dan hidrasi sehingga pori-pori dinding sel tanaman membesar, hal tersebut berdampak pada peningkatan proses difusi dan transfer massa (Ananingsih, Victori kristina, n.d.). Keuntungan Metode Ekstraksi Ultrasonik adalah proses pemurnian suatu senyawa memiliki waktu proses lebih singkat dan kualitas produk yang lebih baik, memberikan efisiensi hasil yang sederhana, mereduksi penggunaan pelarut dan suhu yang digunakan, serta penggunaan energi yang lebih rendah, memberikan hasil rendemen ekstraksi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi maserasi. Kerugian metode ekstraksi ultrasonik adalah membutuhkan energi dan biaya yang besar.

2. Metode Sonikasi dan MAE

Memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dan pelarut meskipun pada suhu ruang yang menyebabkan proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat.

Sonikasi mengandalkan energi gelombang yang menyebabkan proses kavilasi yaitu proses pembentukan gelembung gelembung kecil akibat adanya transmisi gelombang ultrasonik untuk membantu difusi pelarut

ke dalam dinding sel tanaman. Keuntungan metode MAE adalah waktu ekstraksi lebih cepat, kebutuhan pelarut minimal, yield ekstraksi meningkat, lebih akurat dan presisi. Kerugian metode MAE adalah harga yang mahal dan membutuhkan proses curing yang merupakan suatu proses terjadinya reaksi kimia awal jaringan ikat kolagen kulit dengan bahan curing baik dengan menggunakan bahan curing asam, basa, maupun enzim.

2.3.1 Ekstraksi Konvensional

1. Ekstraksi Cara Dingin

a. Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling sering digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Irianti et al., 2020).

b. Ekstraksi Perkolasi

Menurut Farmakope Indonesia edisi III, kecuali dinyatakan lain dilakukan dengan : Basahi 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari masukkan ke dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 3 jam. Pindahkan massa sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali di tekan hati-hati, tuangi dengan cairan penyari secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari, tutup perkolator, biarkan selama 24 jam. Biarkan cairan menetes dengan kecepatan 1ml/menit, tambahkan cairan penyari berulang-ulang sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari secukupnya, hingga di peroleh 80 perkolat. Peras massa, campurkan cairan perasan ke dalam

perkolat, tambahkan cairan penyari secukupnya hingga di peroleh 100 bagian. Pindahkan dalam bejana, tutup biarkan selama 2 hari di tempat sejuk, terlindung dari cahaya lalu di enap tuangkan atau saring(alfinda novi kristanti, 2019).

2. **Ekstraksi Cara Panas**(alfinda novi kristanti, 2019)

a. Ekstraksi Sokletasi

Metode sokletasi dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai kemudian dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux.

b. Ekstraksi Reflux

Metode ekstraksi refluks, metode yang menggunakan pemanasan pada 50° C. Mekanisme kerja dari ekstraksi refluks yaitu pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu yang digunakan, tetapi akan didinginkan kembali dengan kondensor sehingga pelarut dalam bentuk uap dapat mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung.

c. Infusa

Infusa merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98 °C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu 96 °C tercapai). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun.

d. Dekok

Dekok merupakan metode ekstraksi yang mirip dengan infusa, hanya saja waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air.

e. Digesti

Digesti merupakan metode maserasi kinetik yang menggunakan temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar).dan umumnya dilakukan pada temperatur 40 – 50 °C.

2.3.2 Ekstraksi Modern

Metode ekstraksi modern merupakan metode ekstraksi yang diperoleh dari pelarut dengan menambahkan kombinasi faktor fisik kedalamnya seperti suhu, energi bergelombang, atau pelarut yang bertekanan. Metode ekstraksi terus berkembang hingga saat ini sehingga dinilai lebih modern. Contoh ekstraksi modern yaitu: *Ultrasound assisted extraction (UAE)*, *Microwave-assisted extraction (MAE)*, *Ultrasound-microwaveassisted extraction (UMAE)*, *Hydrothermal-assisted extraction (HAE)*, *High-pressureassisted extraction (HPAE)*.

Ada beberapa bagian yang termasuk ekstraksi modern antara lain:

a. *Ultrasound-assisted extraction (UAE)*

Ultrasound-assisted extraction adalah metode ekstraksi non termal yang dapat meningkatkan laju transfer massa serta memecahkan dinding sel dengan banyaknya microcavity sehingga akan mempersingkat waktu proses dan mengoptimalkan penggunaan pelarut. Kelebihan metode ultrasonikasi ialah dapat mempercepat waktu ekstraksi dan tidak memerlukan panas dalam prosesnya, sehingga tidak akan merusak dua komponen kimia dalam tumbuhan yang sifatnya mudah rusak oleh panas dan dapat meningkatkan hasil ekstraksi dengan volume pelarut yang sedikit(Zou et al., 2014a).

b. *Microwave-assisted extraction (MAE)*

Microwave-assisted extraction adalah ekstraksi yang menggunakan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi dan selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien.

Kelebihan MAE adalah waktu ekstraksi yang sangat singkat, kebutuhan pelarut yang sedikit, dan hasil ekstraksi yang lebih tinggi, menghasilkan produk yang baik dan biaya yang relatif rendah (Farid chemat, 2012)

c. *Ultrasound-microwave-assisted extraction (UMAE)*

Ultrasound-microwave-assisted extraction adalah metode pertama yang berfokus pada aplikasi simultan gelombang mikro dan ultrasound untuk mengekstraksi senyawa bernilai tinggi dari makroalga. UMAE merupakan metode ekstraksi yang jauh lebih efisien daripada UEA. Kelebihan dari UMAE adalah mengatasi kekurangan dari UEA dan akan menjadi metode ekstrak yang lebih menarik (Sasongko et al., 2018).

d. *Hydrothermal-assisted extraction (HAE)*

Hydrothermal-assisted extraction yaitu metode yang dapat diterapkan untuk isolasi senyawa polifenol dari jenis biomassa lain dan dapat mengarah pada teknologi ekstraksi komponen biomassa tanaman yang canggih (Sergio torres giner, 2021)

e. *High-pressure-assisted extraction (HPAE)*

High-pressure-assisted extraction merupakan teknologi yang bergantung pada kemampuan tekanan tinggi untuk menyebabkan kerusakan fisik pada sel tumbuhan, sehingga memungkinkan ekstraksi komponen internal pada suhu kamar. Meskipun aplikasi tekanan tinggi yang paling banyak dipelajari adalah pengawetan produk makanan, ekstraksi berbantuan tekanan tinggi (HPE) telah menunjukkan efisiensi yang besar dalam memulihkan senyawa bioaktif dari produk sampingan buah (Trigo et al., 2019).

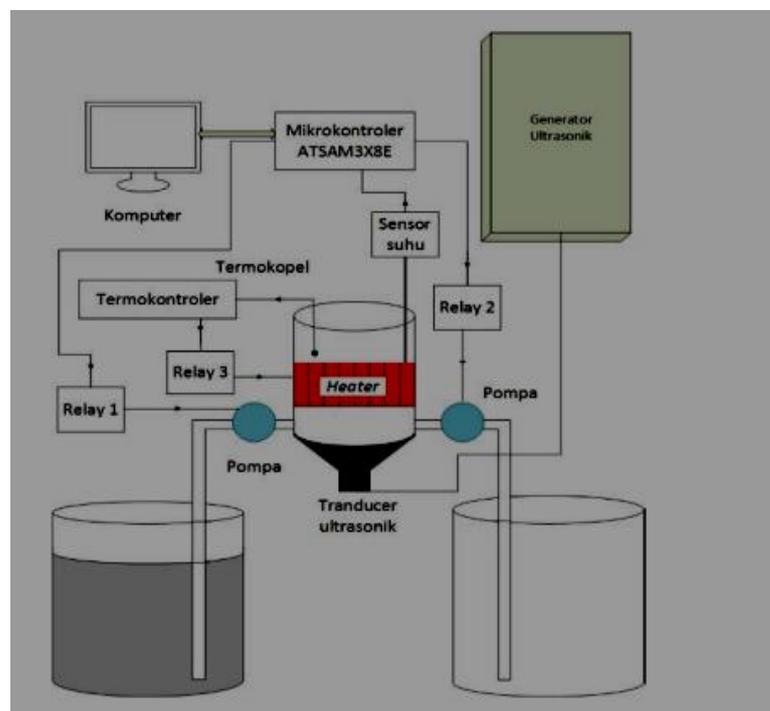
2.4 Ultrasound Assisted Extraction (UAE)

Metode *Ultrasound Assisted Extraction* merupakan mekanisme ekstraksi dengan melibatkan getaran gelombang ultrasonic dengan frekuensi diatas 20kHz (20000 Hz) dan dibantu dengan sedikit pemanasan yaitu 40⁰C. Gelombang ultrasonic dapat memecahkan dinding sel yang akan membantu terlepasnya senyawa aktif keluar(Zou et al., 2014a). UAE menawarkan teknik ekstraksi alternatif yang lebih murah, ramah lingkungan, cepat dan efisien daripada teknik ekstraksi konvensional. Penggunaan metode ini memberikan efek mekanis, yang memungkinkan penetrasi pelarut menjadi lebih besar ke dalam matriks sampel, meningkatkan area permukaan kontak antara fase padat dan cair, dan sebagai hasilnya, zat terlarut lebih cepat berdifusi dari fase padat ke dalam pelarut(Chemat et al., 2017).

Dalam proses *Ultrasound Assisted Extraction* menggunakan energi akustik atau energi mekanik yang tidak diserap oleh molekul tetapi ditransmisikan ke seluruh media) dan pelarut yang mengekstraksi senyawa target dari berbagai matriks tanaman. Gelombang ultrasonik ditransmisikan melalui media gelombang tekanan dengan menginduksi getaran molekul yang secara bergantian menekan dan meregangkan struktur molekul medium(Zou et al., 2014b).

Ultrasound Assisted Extraction telah terbukti dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi dan waktu ekstraksi. Selain itu, UAE juga dapat dilakukan pada suhu yang lebih rendah untuk menghindari terjadinya kerusakan akibat pemanasan. menyatakan bahwa peningkatan ekstraksi pelarut dari bahan oleh UAE terutama disebabkan efek mekanis dari kavitas akustik, yang dapat meningkatkan perpindahan massa dan penetrasi pelarut ke dalam bahan tanaman dengan menghancurkan sel-sel dalam tanaman. Oleh karena itu, untuk mencapai yang efisiensi tinggi dalam ekstraksi dinding sel tanaman, optimalisasi dari parameter operasional ultrasonik seperti pelarut, polaritas, waktu, pH merupakan faktor yang paling penting. Ekstraksi sonikasi dapat dilakukan untuk mengekstraksi antioksidan dalam suatu bahan(Ahmad najid, 2018).

Sistem instrumentasi penggunaan gelombang ultrasonik dirancang untuk melakukan proses ekstraksi secara otomatis. Sistem tersebut terdiri dari pompa dorong yang berfungsi untuk mengalirkan pelarut ke wadah ekstraksi. Pompa dorong dihubungkan ke *relay* yang berfungsi untuk menyalakan dan mematikan pompa saat volume pelarut yang diinginkan tercapai. Termokontroler berfungsi untuk mempertahankan suhu yang terukur oleh termokopel sesuai dengan nilai set point suhu yang diberikan. Heater beroperasi karena adanya relay yang dikontrol oleh mikrokontroler. Jika suhu yang terukur oleh sensor telah mencapai nilai set point suhu yang diberikan, maka *relay* mematikan fungsi heater. *Relay* bekerja sesuai dengan perintah program yang diberikan ke mikrokontroler. Selanjutnya data program yang telah diproses oleh mikrokontroler dikirim ke komputer ditampilkan pada aplikasi *software Borland Delphi* sebagai media *interface* (Ayu et al., 2020).



Gambar 2.3 Diagram Sistem UAE

2.5 Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sebagai usaha untuk mencapai kestabilan. Mekanisme kerja senyawa antioksidan dalam menetralkan radikal bebas, yaitu dengan cara mendonorkan atom hidrogen atau proton pada senyawa radikal sehingga menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas tersebut dan menjadikan radikal bebas lebih stabil (Tukiran et al, 2020)

Radikal bebas cukup banyak jenisnya didalam tubuh tapi turunan oksigen atau reactive oxygen species (ROS) dan reactive nitrogen species (RNS) adalah yang paling banyak dalam sistem biologis tubuh. Radikal-radikal bebas ini adalah hasil pemecahan homolitik dari ikatan kovalen suatu molekul atau pasangan elektron bebas suatu atom. *Reactive Oxygen Species* sebagian besar merupakan hasil metabolisme sel normal di dalam tubuh (ROS Endogen) dan sebagian kecil merupakan paparan dari zat-zat lain atau radikal-radikal dari luar tubuh (ROS eksogen) yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi atau peradangan. Respon fisiologis dari hasil metabolisme sel-sel normal tubuh seperti misalnya metabolisme karbohidrat dan protein disebut juga ROS endogen. Paparan dari luar tubuh merupakan oksigen reaktif yang berasal dari polutan lingkungan, radiasi, infeksi bakteri, jamur dan virus (Parwata, 2016).

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap dan menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan yaitu substansi yang dibutuhkan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang mampu memberikan elektronnya kepada molekul radikal

bebas tanpa terganggu terhadap fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Parwata, 2016).

Secara biologis, antioksidan diartikan sebagai senyawa yang dapat menangkal dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat. Reaksi oksidasi dapat dicegah dengan melakukan beberapa modifikasi sediaan atau formula seperti dengan melakukan penyesuaian pH, menambahkan zat agen chelating atau antioksidan, atau melakukan perlindungan dari cahaya dan oksigen (Tanti tatang Irianti & Swandi, 2021)

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia sudah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari tiga golongan yakni (Septia, 2021):

- a. Antioksidan primer adalah antioksidan yang mencegah pembentukan lebih lanjut radikal bebas (reproduksi). Antioksidan ini adalah transferin, ferritin, albumin.
- b. Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang menjebak radikal bebas dan menghentikan pembentukannya. Antioksidan tersebut adalah superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase.
- c. Antioksidan tersier, atau enzim perbaikan, adalah antioksidan yang memperbaiki jaringan tubuh yang rusak akibat radikal bebas. Antioksidan tersebut adalah metionin sulfosida reduktase, metionin sulfosida reduktase, enzim perbaikan DNA, protease, transferase, dan lipase.

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang bisa dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga yaitu :

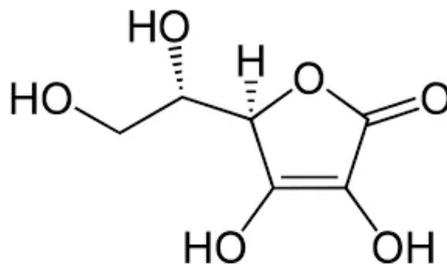
- a. Antioksidan yang telah diproduksi di dalam tubuh manusia biasa dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan (enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT).

- b. Antioksidan sintetis yang sering digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).
- c. Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid).

2.6.1 Vitamin C (Asam Askorbat)

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air, dan sangat berguna bagi kesehatan manusia. Dapat memberikan perlindungan antioksidan plasma lipid dan dibutuhkan untuk fungsi kekebalan tubuh termasuk (leukosit, fagositosis dan kemositaksis), penekanan replikasi virus dan produksi interferon.

Vitamin C sebagai antioksidan di dasarkan pada donor atom hidrogen terhadap radikal lipid, dan pelepasan molekul oksigen. Vitamin C adalah suatu penyumbang elektron yang sangat baik karena potensinya dapat menurunkan satu elektron standart rendah, sehingga memungkinkan untuk menghasilkan asam askorbat semi-dehidro yang relative lebih stabil (Euis Reni Yuslianti, 2018)



Gambar 2.4 Struktur Molekul Kimia Asam Askorbat (Euis Reni Yuslianti, 2018)

2.6.2 Spektrofotometer Ultra Violet-Visibel

Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis) merupakan suatu pengukuran energi cahaya yang dilakukan oleh sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm.

Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis banyak digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan analisis kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (R.A. Day, n.d.)

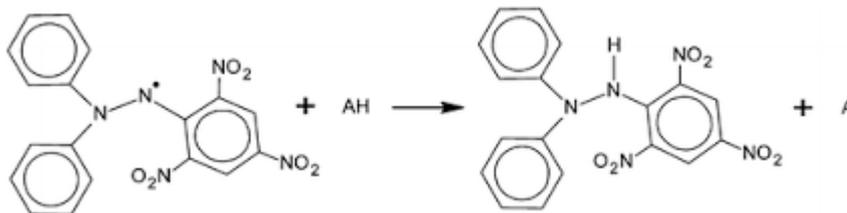
Menurut (Yanlinastuti & Fatimah, 2016) menyatakan bahwa pengukuran spektrofotometer didalam penggunaannya berdasarkan hukum Lambert-Beer yaitu bila suatu cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang tembus pandang, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media larutan yang digunakan.

2.6.3 Uji Antioksidan dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Salah satu metode yang sering digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah memakai metode serapan (peredaman) radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik maka tetap stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 510-520 nm (Euis Reni Yuslianti, 2018).

Prinsip kerja dari metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yaitu ketika larutan DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan maka senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada DPPH. Lalu akan diukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dan jika terjadi perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning muda maka hal tersebut menunjukkan kemampuan sampel atau ekstrak dalam merendam aktivitas radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Kekurangan DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) yaitu hanya bisa larut dalam pelarut

organik namun kelebihan dari metode ini yaitu cepat, sederhana dan murah untuk mengukur antioksidan (Parwata, 2016).



Gambar 2.5 Mekanisme Reaksi DPPH dengan Antioksidan

(Sumber : Buku Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan, Euis Reni Yuslianti, 2018)

Pengukuran absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm. Perhitungan aktivitas anti-radikal DPPH dihitung sebagai persentase reduksi DPPH (Q). Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus (Euis Reni Yuslianti, 2018):

$$Q = \frac{A_0 - A_c}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan :

A₀ = Absorbansi awal (larutan 2,2 diphenyl-1-picrylhidrazyl).

A_c = Absorbansi setelah penambahan sampel dengan konsentrasi tertentu

Menurut (Tristantini et al., n.d.) bahwa suatu bahan memiliki aktivitas antioksidan jika memperoleh nilai I_{c50} kurang dari 200 ppm. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai I_{c50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk nilai I_{c50} sebesar 50-100 ppm, sedang jika nilai I_{c50} sebesar 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai I_{c50} sebesar 151-200 ppm.

2.6.4 Pelarut

Metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dapat memberikan hasil yang baik dengan menggunakan pelarut metanol atau etanol karena kedua pelarut tersebut tidak mempengaruhi dalam reaksi antara sampel uji antioksidan dengan radikal bebas DPPH.

2.6.5 Pengukuran panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif yaitu panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Panjang gelombang maksimum yang digunakan dalam pengukuran sampel uji terhadap metode penangkapan radikal bebas DPPH sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur, panjang gelombang maksimum untuk DPPH antara lain 510-520 (Parwata, 2016).

2.6.6 Waktu Pengukuran

Waktu pengukuran atau waktu kerja (*operating time*) bertujuan untuk mengetahui waktu yang tepat dalam melakukan pengukuran, yaitu pada saat sampel sudah mencapai kesetimbangan dalam kondisi stabil. Waktu pengukuran yang digunakan dalam beberapa penelitian sangatlah bervariasi, yaitu 1-240 menit. Waktu pengukuran yang paling banyak direkomendasikan adalah 60 menit. Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh sifat dari aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam sampel (Putranti, 2013).

2.7 Uji Toksisitas

Toksisitas adalah kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologi lainnya. Mekanisme kerja yang mendasari efek toksik biasanya diketahui dari berbagai perubahan tingkat subseluler. Bagian yang potensial dipengaruhi toksikan adalah nukleulus, mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma, struktur subseluler lainnya dan membran plasma. Mekanisme tersebut diklasifikasikan berdasarkan sifat kimia berbagai molekul sasaran berupa protein, koenzim lipid dan asam-asam nukleat. Dilain pihak karbohidrat jarang terpengaruh oleh toksikan (Siti Setiasih et al., 2017).

Metode uji toksisitas dapat dibedakan menjadi dua golongan, yaitu uji toksisitas yang didesain untuk mengetahui atau mengevaluasi efek umum suatu senyawa dan uji toksisitas yang didesain untuk mengevaluasi secara rinci tipe toksisitas spesifik.

Uji toksisitas umum meliputi: uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis dan uji toksisitas kronis. Sedangkan uji toksisitas spesifik meliputi: uji teratogenitas, uji mutagenitas, uji karsinogenitas(Siti Setiasih et al., 2017).

2.7.1 Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test adalah metode yang digunakan untuk menguji toksisitas akut dan dilakukan untuk menentukan efek toksik setelah pemberian dosis dalam waktu 24 jam. Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan salah satu cara yang digunakan untuk mengetahui kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang dihasilkan oleh ekstrak tanaman dengan menggunakan larva udang *Artemia Salina Leach* sebagai bio indikator. Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT bertujuan untuk menentukan potensial suatu senyawa sebagai racun dengan mengetahui tingkat toksisitas dari suatu ekstrak(Taylor &Francis, 2007)

Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi senyawa atau ekstrak yang dapat mematikan larva udang *Artemia salina Leach* hingga 50% dibandingkan terhadap kontrol. Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menggunakan metode BSLT jika memperoleh nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ (Mangrove *Avicennia Marina* et al., 2018).

Kategori toksisitas berdasarkan nilai LC₅₀ sebagai berikut :

Table 2.1 Kategori Toksisitas Berdasarkan Nilai LC50 (Gosal, 2015)

Kategori	Nilai LC₅₀ µg/mL
Sangat toksik	0 – 250
Toksik	250 – 500
Sedang	500 – 1000
Tidak Toksik	> 1000

Uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) bisa menjadi pilihan karena memiliki kelebihan yaitu dapat dilakukan dengan cepat, murah dan mudah, sehingga banyak digunakan sebagai tahapan awal dalam penapisan ekstrak bahan aktif.

Artemia Salina Leach

Artemia Salina Leach adalah salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang sering digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa pada ekstrak tumbuhan. *Artemia Salina Leach* merupakan jenis udang-udangan yang memiliki ukuran relatif kecil dengan sistem osmoregulasi yang efisien sehingga mampu beradaptasi pada air asin yang luas. *Artemia Salina Leach* adalah golongan zooplankton yang hidup sebagai planktonik dengan melayang dalam air. *Artemia Salina Leach* dapat hidup di air yang berkadar garam tinggi (antara 15-300 per mil) dengan suhu berkisar antara 25-30 derajat, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L, dan pH antara 7,3-8,4(Putranti, 2013).

Artemia Salina Leach mempunyai dua cara reproduksi yaitu biseksual dan partenogenesis dalam kondisi lingkungan yang baik. Perkembangan jenis

biseksual terjadi karena adanya perkawinan antara induk jantan dan induk betina. Sedangkan pada jenis parthenogenesis tidak dengan proses perkawinan karena tidak ada induk jantan yang mengakibatkan induk betina harus beranak sendiri. Dalam kondisi lingkungan tidak baik, induk *Artemia Salina Leach* akan melahirkan telur bercangkang tebal yang disebut kista. Karenanya, *Artemia Salina Leach* juga disebut ovovivipar dalam melahirkan dan bersifat vivipar dalam hal mengeluarkan telur (AINUN SAFITRI HARLI, 2016).

Berikut klasifikasi dari *Artemia salina leach*(Springer Netherlands, 2013)

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Branchiopoda</i>
Bangsa	: <i>Anostraca</i>
Suku	: <i>Artemiidae</i>
Marga	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach



Gambar 2.6 *Artemia salina* Leach (Springer Netherlands, 2013)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta di Jl. Sunter Permai Raya No.1, RT.11/RW.6, Sunter Agung, Kec. Tj. Priok, Kota Jkt Utara dan Determinasi makroalga dilakukan di Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI di Jl. Pasir Putih I, Ancol Timur, Jakarta. Penelitian ini berlangsung dalam waktu enam bulan, terhitung mulai dari Januari 2022 sampai Juni 2022.

3.2 Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (*Boeco Germany*), *rotary evaporator* (*Eyela*®), erlenmeyer(500 mL; Iwaki®), gelas beker(500 mL; Iwaki®), labu tentukur(5 mL; Iwaki®), kertas saring, aluminium foil, gelas ukur(50 mL; Iwaki®), corong gelas, cawan penguap, blender (*Panasonic*®), alat sonikator (*Branson 1510*), peralatan maserasi, botol (20 mL), mikro pipet(2-10 ppm dan 20-80 ppm ; *Corning*®), dan spektrofotometer UV-Vis (*Genesys Spectrofotometer*®).

3.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut metanol p.a(*Merck*), asam askorbat, aquadestilata, *Hormophysa sp*, reagent DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil), Larva *Artemia salina leach* (*Supreme Plus*) dan Garam beryodium.

3.4 Persiapan Sampel

3.4.1 Sampling Makroalga

Pengumpulan sampel dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu tanpa membandingkan makroalga yang sama dari daerah lain. Makroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Hormophysa sp*. yang disampling dari

Pantai Sayang Heulang, Desa Mnacagahar, Kecamatan Pameungpeuk, Kabupaten Garut Jawa Barat. Bagian yang digunakan yaitu seluruh bagian makroalga yang diambil dalam keadaan segar, kemudian dibersihkan dan disimpan dalam cooler box untuk menjaga kesegarannya selama proses pengangkutan dari pantai ke laboratorium.

3.4.2 Determinasi Tumbuhan

Determinasi makroalga dilakukan di Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI di Jl. Pasir Putih I, Ancol Timur, Jakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui spesies makroalga cokelat yang diteliti dalam penelitian ini.

3.4.3 Proses Pembuatan Bubuk Simplisia

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *Hormophysa sp.* segar sebanyak 5 kg. Sampel dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pasir, kemudian makroalga *Hormophysa sp.* ditempatkan pada tampah untuk ditiriskan dan kemudian dikeringkan dengan cara kering angin dalam ruangan suhu ruang ($28 \pm ^\circ\text{C}$) tanpa terpapar cahaya selama 3-5 hari hingga diperoleh rumput laut kering. Makroalga *Hormophysa sp.* yang telah kering selanjutnya dihancurkan menggunakan blender (*Miyako BL- 101*) dan diayak menggunakan ayakan ukuran 18 mesh. Ditimbang dan dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan pada temperatur kamar (Panjaitan & Natalia, 2021).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

a. Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Sebanyak 30 gram bubuk simplisia *Hormophysa cuneiformis* dimasukkan ke dalam gelas beaker diekstraksi menggunakan pelarut methanol sebanyak 300 mL dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 (b/v). Kemudian ditutup dengan aluminium foil dengan waktu maserasi 3x 24 jam dan biarkan ditempat sejuk yang terlindung dari cahaya. Selama proses ekstraksi

sambil sesekali diaduk, filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada temperatur $\pm 40^\circ$ C selama 5 jam sampai diperoleh ekstrak pekat dan kemudian ekstrak pekat diuapkan kembali menggunakan *waterbath* untuk memperoleh ekstrak kental(Kamoda et al., 2021).

b. Ekstraksi dengan Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

Sebanyak 30 gram bubuk simplisia *Hormophysa cuneiformis* diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) menggunakan pelarut metanol sebanyak 300 mL dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 (b/v). Campuran bubuk *Hormophysa sp* dan pelarut dikenai gelombang ultrasonik dengan waktu ekstraksi yaitu: 10, 20 dan 30 menit dan amplitudo yaitu 20, 50 dan 100%. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan filtratnya ditampung(Sasongko et all., 2018). Filtrat tersebut diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu $\pm 40^\circ$ C selama 5 jam sehingga memperoleh ekstrak pekat. Kemudian ekstrak pekat diuapkan kembali menggunakan *waterbath* untuk memperoleh ekstrak kental.

3.4.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Metode *2,2-diphenyl-1*

***picrylhydrazil* (DPPH)(Yuliana, 2020)**

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) (DPPH) dengan konsentrasi 0,5 mM mengacu pada metode(Pramessti et al., 2013) dan (Gazali et al., 2018) yang telah dimodifikasi.

a. Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH ditimbang, kemudian dilarutkan dalam methanol dengan perbandingan 1:5 (b/v) hingga volume 50 mL (0,05 L) dan diperoleh konsentrasi 200 ppm.

b. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0,5 mM (konsentrasi 200 ppm). Dipipet sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 5 mL, dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 40 ppm).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan menggunakan larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dan diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm. Larutan DPPH 40 ppm ini juga digunakan sebagai larutan kontrol (larutan uji dengan konsentrasi 0 ppm).

d. Pembuatan Larutan Induk Baku Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis*

Sebanyak 10 mg sampel ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL, metanol dilarutkan sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm).

e. Pembuatan Larutan Induk Baku Asam Askorbat

Sebanyak 10 mg serbuk Asam Askorbat ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL, metanol dilarutkan sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm).

f. Pembuatan Larutan Uji

1. Larutan Uji Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis*

Larutan induk baku masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 0,1 mL; 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL (untuk mendapatkan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm), kemudian masing-masing labu tentukur ditambahkan 1 mL larutan induk baku DPPH 200 ppm, lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan.

2. Larutan Uji Pembanding Asam Askorbat

Larutan induk asam askorbat dipipet sebanyak 0,01 mL; 0,02 mL; 0,03 mL; 0,04 mL; kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL (untuk mendapatkan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm), kemudian masing-masing labu tentukur ditambahkan

1 mL larutan induk baku DPPH 200 ppm, lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan.

g. Pengujian Metode DPPH Dengan Spektrofotometri

Larutan uji yang telah dipersiapkan, segera diinkubasikan pada suhu 37 C selama 30 menit. Selanjutnya kontrol dan sampel uji diukur pada panjang gelombang 516 nm. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

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

Keterangan :

Abs Kontrol = Absorbansi yang tidak mengandung sampel

Abs sampel = Absorbansi sampel

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm). Sebagai absis (sumbu x) dan nilai pengikat radikal bebas (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y).

h. Analisis Data

Perhitungan yang digunakan dalam menentukan aktivitas penangkapan radikal bebas adalah nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dan nilai tersebut menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang mampu memerangkap radikal bebas sebesar 50%. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi sampel (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % pengikat radikal bebas (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y).

Secara spesifik, suatu senyawa bisa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk nilai IC_{50} sebesar 50-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} sebesar 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} sebesar 151-200 ppm (Fidrianny & Darmawati, 2014).

3.4.6 Uji Toksisitas Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas yang dilakukan menggunakan larutan hasil ekstraksi *Hormophysa cuneiformis* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva *Artemia salina leach* sehingga diperoleh suatu data yang kemudian diolah dengan menggunakan model analisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀.

1. Pembuatan Air Laut Buatan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan air laut buatan adalah garam laut tanpa yodium sebanyak 38 gram dalam 1000 mL aquadest hingga diperoleh sanilitas 38 ppt (Sahgal, dkk., 2010). Pembuatan media penetasan telur *Artemia Salina leach* dilakukan dengan cara melarutkan garam laut tanpa yodium dalam gelas beaker hingga terlarut sempurna, kemudian di masukkan ke dalam labu terukur 1000 mL dan ditambahkan aquadest sampai 1000 mL (Panjaitan & Natalia, 2021).

2. Penetasan Telur *Artemias salina* Leach

Disiapkan wadah penetasan yang mempunyai dua bagian bersekat yaitu bagian gelap (ditutupi aluminium foil) yang merupakan tempat telur dan bagian terang merupakan tempat telur yang sudah menetas dan diterangi dengan sinar lampu 25 watt untuk menghangatkan suhu dalam penetasan. Sekat dalam wadah tersebut di lubangi agar larva dapat berpindah dari tempat yang gelap ke tempat yang terang. Masukkan air laut buatan sebanyak 2 liter (38 ppt) kedalam bejana lalu taburkan Telur *artemia salina* Leach sebanyak 1 gram secara berhati-hati. Penambahan ragi 0,06% setelah larva berumur 24 jam untuk 1 liter air laut buatan untuk mencegah kematian larva setelah 24 jam. Setelah 48 jam, diambil larva *artemia salina* Leach yang akan diuji dengan pipet tetes. Larva yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva yang masih bergerak aktif dan berusia 36-48 jam (Wulandari, 2014).

3. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak *Hormophysa cuneiformis*

Dalam pembuatan disiapkan dari ekstrak *Hormophysa cuneiformis* dengan konsentrasi: 1000 µg/mL, 100 µg/mL, dan 10 µg/mL, disiapkan 4 vial untuk masing-masing konsentrasi larutan uji sehingga semuanya menjadi 3 vial dan 1 vial untuk kontrol. Larutan induk I dibuat dengan menimbang 100 mg ekstrak lalu dilarutkan dengan aquadest sampai 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 µg/mL. Dipipet 10 mL larutan induk I, lalu diencerkan sampai 100 mL dengan aquadest sehingga diperoleh larutan induk II dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Dipipet 10 mL larutan induk II, lalu diencerkan sampai 100 mL sehingga diperoleh larutan induk III konsentrasi 100 µg/mL. Dipipet 10 mL dari larutan induk III lalu diencerkan sampai 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10 µg/mL. Dimasukkan larutan uji ke masing-masing vial (Panjaitan & Natalia, 2021).

4. Pengujian Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Dalam masing-masing vial dimasukan 10 ekor larva *Artemia Salina Leach* yang telah berusia 48 jam, lalu ditambahkan untuk setiap konsentrasi ekstrak *Hormophysa cuneiformis* sampai 10 mL. Kemudian semua vial diletakkan di bawah cahaya lampu. Setelah 24 jam dihitung jumlah larva yang mati. Selain itu, pembuatan kontrol pada air laut juga telah dilakukan. Dimasukkan 10 ekor larva *artemia salina leach* ke dalam vial dan dicukupkan sampai 10 mL air laut buatan tanpa penambahan ekstrak *Hormophysa cuneiformis*. Pengujian dilakukan *triplo* untuk mendapatkan hasil yang akurat. Data dianalisis dengan metode analisis regresi probit dari nilai antilog faktor X (konsentrasi perlakuan) terhadap respon Y (nilai probit dari persentase mortalitas larva *A. salina*) pada tingkat kepercayaan 95% untuk menentukan nilai LC_{50} (Hamidi et al., 2014).

3.4.7 Penentuan Nilai LC₅₀

Pengukuran dilakukan dengan cara menghitung jumlah *Artemia salina leach* yang mati sebanyak 50% dari total larva uji (10 ekor pada vial). Kemudian nilai LC₅₀ dihitung dengan memasukkan angka probit (50 % kematian larva uji). Efek toksisitas dihitung dari persen kematian larva *artemia salina leach* dan persamaan regresi linear (Nur Rizqillah, 2013).

- a. Rumus persen kematian

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

- b. Persamaan regresi linier

$$y = a + b \cdot x$$

Keterangan:

y = Nilai probit

x = log konsentrasi

a = *Intercept* (garis potong)

b = *Slope* (kemiringan dari garis regresi linier)

LC₅₀ adalah nilai antilog x yang saat y = 50%.

Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka persen kematian ditentukan dengan rumus Abbot:

$$\% \text{Kematian} = \frac{T - K}{10} \times 100\%$$

Keterangan:

T = jumlah larva uji yang mati

K = jumlah larva kontrol yang mati

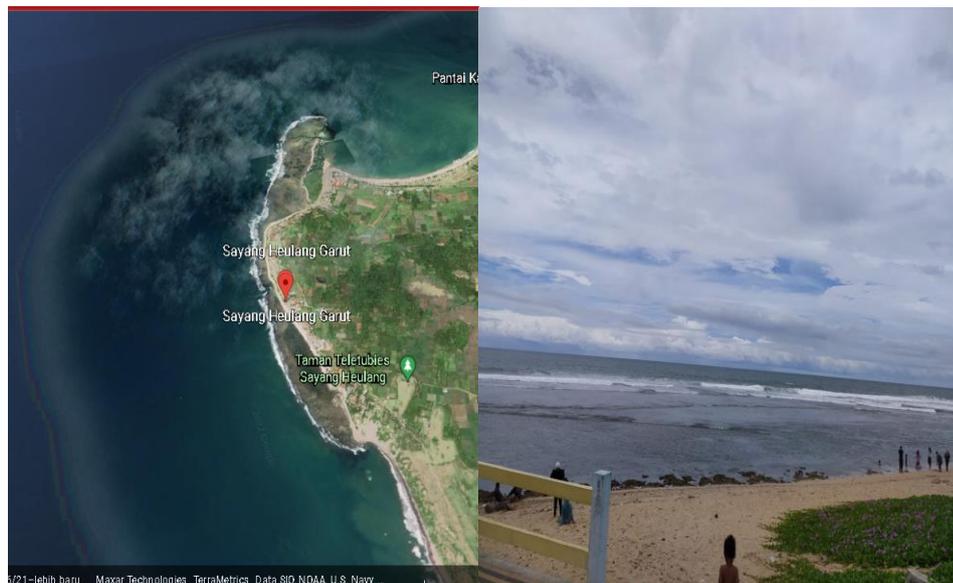
10 = jumlah larva uji

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil sampling Makroalga *Hormophysa cuneiformis*

Makroalga *Hormophysa cuneiformis* diperoleh dari Pantai Sayang Heulang, Desa Mnacagahar, Kecamatan Pameungpeuk, Kabupaten Garut Jawa Barat, Indonesia. Letak astronomi Pantai sayang Heulang pada $60^{\circ}57'34''$ – $70^{\circ}44'57''$ Lintang Selatan dan $107^{\circ}24'3''$ – $108^{\circ}24'34''$ Bujur Timur. Secara administrasi kawasan Pantai Sayang Heulang berlokasi di Desa Cijambe, Kecamatan Cikelet, Kabupaten Garut. Panjang pantai ini sekitar 2 km dan lebar tepi pantai kurang dari 50 m. Kondisi perairan di Pantai Sayang Heulang berwarna hijau kebiru-biruan, Bau air pantai normal, begitu pun dengan temperatur sekitar pantai (*Peta Wilayah Kabupaten Garut, 2017*).



Gambar 4.1 Peta Pantai Sayang Heulang (kiri) dan Gambar Pantai Sayang Heulang (kanan)
(Sumber : Google Earth, 2022; Dokumen pribadi, 2022)

Makroalga coklat *Hormophysa cuneiformis* diambil pada pagi hari (pukul 08.30-10.00 WIB) tanpa memperhatikan umur makroalga. Sampel yang diambil merupakan sampel segar dari seluruh bagian makroalga. Kemudian disimpan

dalam *cooler box* untuk dibawa ke Laboratorium dan dilakukan uji selanjutnya. Setelah itu makroalga dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan pasir dan pengotor lainnya yang menempel pada thallusnya, kemudian makroalga *Hormophysa cuneiformis* ditempatkan pada tampah untuk ditiriskan dan kemudian dikeringkan dengan cara kering angin dalam ruangan (suhu ruang $28 \pm ^\circ\text{C}$) tanpa terpapar cahaya selama 3-5 hari, setelah itu dimasukkan kedalam oven pada suhu 60°C selama 90 menit hingga makroalga kering dan mudah dipatahkan. makroalga *Hormophysa cuneiformis* yang telah kering selanjutnya dihancurkan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan ukuran 18 mesh.

Tujuan dilakukan penghalusan sampel adalah untuk memperbesar ukuran permukaan sampel sehingga proses ekstraksi dapat berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin besar (Ahmad Hanapi et al, 2013). Setelah itu ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam kantong plastic dan disimpan pada temperatur kamar. Hasil yang diperoleh dari proses ini menunjukkan bahwa dari 5 kg sampel basah didapatkan bubuk *Hormophysa cuneiformis* sebanyak 549,90 gram. Selain itu, bubuk *Hormophysa cuneiformis* berwarna coklat dan memiliki bau yang khas.

4.2 Hasil Determinasi Makroalga *Hormophysa cuneiformis*

Berdasarkan pengamatan secara visual, makroalga *Hormophysa cuneiformis* yang diperoleh dari Pantai Sayang Heulang memiliki warna coklat. *Hormophysa cuneiformis* memiliki *thallus* gepeng, banyak percabangan yang menyerupai pepohonan di darat, bangun daun melebar, lonjong seperti pedang, batang utama bulat agak kasar, pinggir daun bergerigi jarang dan ujung melengkung.



Gambar 4.2 *Hormophysa cuneiformis* yang tumbuh di Pantai Sayang Heulang
(Sumber: Dokumen Pribadi, 2022)

Menurut Ode&Wasahua, (2014) makroalga *Hormophysa cuneiformis* memiliki ciri-ciri umum thallus tegak, rimbun, alat pelekat seperti cakram dan rhizoid pendek, bagian pangkal thalli menyerupai tangkai, warna coklat tua, pada cabang-cabanya di kedua sisinya terdapat seperti 'sayap' yang bentuknya tidak teratur, dan hidup menempel pada bebatuan dengan alat pelekatnya berbentuk cakram kecil.



Gambar 4.3 Ukuran lebar dan Panjang *Thallus Hormophysa cuneiformis* yang tumbuh di Pantai Sayang Heulang (Sumber : (Ibrahim, 2019)

Secara makroskopik *Hormophysa cuneiformis* berwarna coklat kekuningan dengan panjang mencapai 8 cm dan lebar 3 cm, memiliki bau yang khas dan bagian pinggir pangkal daun yang bergerigi. Kemudian makroalga *Hormophysa cuneiformis* yang masih segar dan utuh diambil untuk kemudian dilakukan determinasi. Determinasi dilakukan di Pusat Riset Oseanografi – BRIN di Jl. Pasir Putih I, Ancol Timur, Jakarta. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa makroalga yang digunakan adalah jenis *Hormophysa cuneiformis* (J.F.Gmelin) P.C.Silva, 1987 .

4.3 Ekstraksi Metanol Makroalga *Hormophysa cuneiformis*

Ada dua metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu metode maserasi dengan pengadukan, dan metode *Ultrasound Assisted Extraction* dengan gelombang ultrasonic. Untuk metode maserasi dilakukan dengan sesekali pengadukan dan tidak dilakukan pemanasan, tetapi langsung dibiarkan di ruang gelap selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam dalam suhu kamar. Sedangkan metode *ultrasound assisted extraction* dikenai gelombang ultrasonic 42 kHz \pm 0,6% dengan waktu ekstraksi yaitu: 10 menit, 20 menit, dan 30 menit pada suhu \pm 40⁰C. Kemudian, dilakukan penyaringan hingga proses destilasi pelarut sampai diperoleh ekstrak kental *Hormophysa cuneiformis*.

Dalam proses ekstraksi ada beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil rendemen ekstrak dari suatu bahan yaitu : metode ekstraksi, ukuran simplisia, perbandingan bahan dan pelarut, jenis pelarut (kepolaran, toksisitas, konsentrasi), umur panen, perbedaan habitat dan interaksi sampel dengan pelarut (ukuran partikel, suhu, waktu ekstraksi, kecepatan pengadukan, proses pengulangan)(Diachanty et al., 2017).

Pelarut yang digunakan adalah metanol, yang memiliki bentuk alkohol dengan rumus kimianya CH₃OH. Struktur kimia metanol terdiri atas gugus hidroksil (polar) dan gugus karbon (non polar) sehingga metanol bersifat polar. Ekstraksi dengan metanol menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, karena sifat metanol yang sangat polar diduga dapat mengekstrak komponen bioaktif lebih

banyak yang bersifat sangat polar dan sedikit non polar yang terdapat dalam *Hormophysa cuneiformis* (Edison et al., 2020).

4.3.1 Hasil Ekstraksi Makroalga *Hormophysa cuneiformis* dengan Metode

Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sering digunakan dan dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Kelebihan dari metode maserasi yaitu biayanya murah, proses pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Sementara kerugian metode ini yaitu membutuhkan waktu yang cukup lama, menggunakan pelarut yang cukup banyak, besar kemungkinan senyawa hilang, selain itu beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar (Chairunnisa et al., 2019).

Metode maserasi termasuk metode ekstraksi dingin, yaitu metode ekstraksi yang dilakukan tanpa pemanasan. Sehingga metode ini hanya tergantung pada lamanya waktu kontak antara pelarut dengan sampel, dan kepolaran pelarutnya. Semakin lama waktu kontak antara pelarut dengan sampel, maka akan semakin banyak pula senyawa metabolit sekunder yang terekstrak. Besarnya rendemen ekstrak dari suatu pelarut dipengaruhi juga oleh sifat kepolaran dari pelarut, suhu, waktu ekstraksi serta tingkat kepolaran dari jumlah bahan yang diekstrak yang memiliki polaritas yang sama (Irianti et al., 2020).

Dalam penelitian ini proses maserasi dilakukan dengan perbandingan antara sampel (30 gram) dan pelarut (300 mL) yang dimasukkan dalam gelas beker yang telah di tutupi oleh aluminium foil yang bertujuan untuk mengurangi resiko terjadinya reaksi antara bahan dengan sinar matahari, didiamkan pada suhu kamar lalu di maserasi selama 24 , 48 dan 72 jam dan mengalami perubahan warna yakni dari warna coklat muda hingga coklat tua kehijauan. Semakin banyak pigmen yang terekstrak akan menyebabkan warna ekstrak semakin gelap dan pekat.



Gambar 4.4 Ekstrak Metanol Maserasi *Hormophysa cuneiformis* pada Hari 1,2 dan 3 (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

4.3.2 Hasil Ekstraksi Makroalga *Hormophysa cuneiformis* dengan Metode UAE (ultrasound assisted extraction)

Metode ekstraksi UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) memiliki kelebihan yakni proses pemurnian suatu senyawa relatif lebih singkat dengan kualitas ekstrak yang lebih baik. Dalam penelitian ini metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) dilakukan dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (b/v) yaitu berat bubuk simplisia 30 gram dalam pelarut metanol 300 mL dengan variasi waktu 10, 20 dan 30 menit dengan menggunakan gelombang ultrasonic 42 kHz \pm 0,6 % pada suhu 40⁰C.



Gambar 4.5 Ekstrak metanol metode UAE *Hormophysa cuneiformis* pada variasi waktu 10, 20 dan 30 menit (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2022)

Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan bobot sampel yang digunakan. Menghitung nilai rendemen yang diperoleh dengan persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang di hasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan. Besarnya rendemen ekstrak dari suatu pelarut dipengaruhi juga oleh sifat

kepolaran dari pelarut, suhu, waktu ekstraksi serta tingkat kepolaran dari jumlah bahan yang diekstrak yang memiliki polaritas yang sama.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100 \%$$

Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Oleh karena itu rendemen ekstrak kasar yang didapatkan dinyatakan baik karena hasil rendemen >10% (Madjid *et al.*, 2020).

Tabel 4.1 Nilai Rendemen Maserasi dan UAE

Metode Ekstraksi	Waktu	Sampel (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Maserasi	24 jam	30 g	1,6 g	5,33 %
	48 jam	30 g	1,73 g	5,76 %
	72 jam	30 g	2,03 g	6,76 %
UAE	10 menit	30 g	0,97 g	3,23 %
	20 menit	30 g	1,11 g	3,70 %
	30 menit	30 g	1,66 g	5,53 %

Berdasarkan Tabel diatas di simpulkan bahwa dengan variasi waktu yang berbeda menunjukkan nilai rendemen yang diperoleh dari metode UAE dan Maserasi dikategorikan kurang baik karena hasil < 10%. Efisen waktu , suhu dapat mempengaruhi bobot ekstrak dan nilai rendemen yang dihasilkan. Nilai rendemen tertinggi pada metode ekstraksi Maserasi dengan waktu 72 jam diperoleh rendemen yaitu 6,76 % dapat digunakan untuk uji toksisitas terhadap larva *Artemia Salina* Leach. Lamanya waktu ekstraksi mengakibatkan pelarutan senyawa optimum sehingga bahan dapat terekstraksi secara efisien sehingga semakin lama waktu ekstraksi maka akan menaikan jumlah analit yang terekstrak karena kontak antara pelarut dengan zat terlarut akan semakin lama sehingga proses pelarutan senyawa fenolik akan terus berlangsung dan berhenti sampai pelarut jenuh(Chairunnisa *et al.*, 2019)

Pada penelitian (Gazali et al., 2018) Hasil menunjukkan bahwa rendemen ekstrak etanol *Sargassum sp* yang diperoleh dari kawasan pesisir pantai Barat Aceh tepatnya di pesisir pantai Lhok Bubon Kabupaten Aceh Barat yaitu 0,565% dan etil-asetat 0,420%. Hal ini menunjukkan bahwa komponen senyawa polar *Sargassum sp*. lebih banyak. Rendemen pada pelarut n-heksane yaitu 0,265%, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa non –polar tidak banyak terdapat pada makroalga cokelat *Sargassum sp*.

4.4 Hasil Skiring Fitokimia

Skiring fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas senyawa bioaktif (Yuliana, 2020) ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis*. Adapun skiring fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pemeriksaan golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid.

Pada penelitian ini, dilakukan perbandingan kandungan fitokimia dari ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* yang diekstraksi dengan metode maserasi (72 jam) dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) (30 menit). Hasil perbandingan kedua metode ditabulasi pada Tabel 4.2.

Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol terbesar, mengandung 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzen yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari 3 atom karbon . Flavonoid memiliki aktivitas penghambatan oksidasi LDL, Angiotensin Coverting Enzyme (ACE), α -amilase, α -glukosidase dan berpotensi memberikan efek terapeutik serta perlindungan terhadap beberapa penyakit degeneratif dan bersifat antioksidan. Adapun steroid merupakan triterpen yang kerangka dasarnya sistem cincin siklopentana perhidrofenantren yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan memiliki toksisitas terhadap *Artemia salina*. (Gazali et al., 2018)(Yuliana, 2020).

Tabel 4.2 Skrining Fitokimia Metode UAE 30 Menit dan Maserasi 72 Jam

No	Golongan Senyawa	Hasil UAE (30 Menit)	Hasil Maserasi (72 jam)
1.	Flavonoid	-	+
2.	Alkaloid	-	-
3.	Tanin	-	-
4.	Saponin	-	-
5.	Quinon	-	-
6.	Steroid	+	+
7.	Triterpenoid	-	-

Keterangan:

(+) = Positif terhadap golongan yang diuji

(-) = Negatif terhadap golongan yang diuji

Dalam penelitian ini, senyawa aktif dari ekstrak metanol UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) hanya memiliki senyawa steroid dan menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 108,57 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong sedang. Dari Tabel 4.2, dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini ekstraksi dengan metode maserasi mengandung kandungan fitokimia yang lebih banyak dibandingkan metode UAE . Walaupun metode UAE memiliki keunggulan dalam % rendemen ekstrak yang dihasilkan tetapi kandungan senyawa aktifnya lebih sedikit dibandingkan metode maserasi. Hal ini mungkin disebabkan faktor waktu ekstraksi yang terlalu singkat.

Pada saat proses perendaman bahan pada metode maserasi akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga ekstraksi maserasi yang lama akan menyebabkan metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma menjadi pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Novitasari dan Putri, 2016).

4.5 Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan Metode Maserasi, UAE(*Ultrasound Assisted Extraction*) dan Asam askorbat

DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Prinsip metode pemerangkapan radikal bebas DPPH, yaitu elektron ganjil pada molekul DPPH memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 516 nm. Interaksi antioksidan dengan DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH.

Uji DPPH didasarkan pada reduksi warna ungu larutan DPPH yang mana warna ungu larutan DPPH akan berubah menjadi kuning lemah dikarenakan terjadi reaksi transfer atom hidrogen antara antioksidan dan radikal peroksil. Salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah konsentrasi penghambatan (IC_{50}). Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) menunjukkan konsentrasi senyawa antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal bebasnya (Fri Rahmawati, et all 2020).

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dengan adanya penambahan larutan uji dengan konsentrasi 20 µg/mL, 40 µg/mL, 60 µg/mL dan 80 µg/mL yang dibandingkan dengan kontrol DPPH (tanpa penambahan larutan uji). Pada hasil analisis aktivitas antioksidan terlihat adanya penurunan nilai absorbansi DPPH sebanding dengan

peningkatan konsentrasi larutan uji ekstrak metanol. Penurunan absorbansi DPPH dan persen pemerangkapan dengan penambahan ekstrak metanol maserasi (Lampiran 8) dan UAE (Lampiran 9).

Aktivitas antioksidan Asam Askorbat diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH setelah diinkubasi selama 30 menit dengan adanya penambahan larutan asam askorbat dengan konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL dan 8 µg/mL yang dibandingkan dengan kontrol DPPH (tanpa penambahan larutan kuersetin). Pada hasil analisis aktivitas antioksidan terlihat adanya penurunan nilai absorbansi DPPH sebanding dengan peningkatan konsentrasi larutan asam askorbat(Lampiran 10).

Penurunan nilai absorbansi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan. Penurunan nilai absorbansi terjadi karena ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dan larutan asam askorbat mampu menetralkan DPPH dengan memberikan elektron kepada DPPH sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron dan tidak lagi menjadi radikal. Hasil persamaan regresi linier dan hasil analisis IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode Maserasi ,UAE dan Asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Perbandingan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dan Asam askorbat

No	Larutan uji	Persamaan regresi	Korelasi	IC ₅₀ (µg/mL)	Kategori
1	Ekstrak metanol <i>Hormophysa cuneiformis</i> metode Maserasi	$Y=0,307x + 31,743$	R=0,998	59,47	Kuat
2	Ekstrak metanol <i>Hormophysa cuneiformis</i> metode UAE	$Y=0,3022x+ 17,19$	R=0,998	108,57	Sedang
3	Asam askorbat	$Y=4,1869x+ 56,491$	R=0,997	1,55	Sangat kuat

Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode Maserasi dalam kategori kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 59,47 µg/mL dan pada ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode UAE dalam kategori sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 108,57 µg/mL, sedangkan Asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,55 µg/mL, hal ini dikarenakan bahwa asam askorbat merupakan senyawa murni yang tidak memiliki campuran senyawa lain.

Menurut Putranti (2013) Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 µg/mL, sedang jika IC₅₀ bernilai 101- 150µg/mL dan lemah jika IC₅₀ bernilai lebih dari 150 µg/mL.

Hubungan antara IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dengan kemampuan antioksidan adalah berbanding terbalik, yang mana semakin rendah nilai IC_{50} yang diperoleh maka semakin kuat aktivitas antioksidannya. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas oksidan tersebut biasa dihamba. Flavonoid yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman dapat menghambat dan menetralkan terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas, baik yang eksogen maupun endogen. Reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas khususnya radikal bebas $\cdot OH$ yang dapat merusak membran sel normal di sekitarnya dan merusak komposisi DNA sehingga dapat menyebabkan terjadinya suatu mutasi. Karena bersifat sebagai reduktor, flavonoid dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas.

Hormophysa cuneiformis termasuk dalam familia *Sargaceae*, jika dibandingkan dengan familinya (*Sargassum sp*), maka aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol Maserasi *Hormophysa cuneiformis* masih lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak metanol *Sargassum sp* di Pantai Indrayanti sebesar 69,27 ppm (Sedjati et al., 2018). Tetapi jika dibandingkan dengan ekstrak etanol *S. filipendula*, potensi antioksidannya lebih rendah dengan IC_{50} sebesar 39,11 $\mu g mL^{-1}$ (Gazali et al 2018). Sedangkan ekstrak metanol Maserasi dan UAE *Hormophysa cuneiformis* sebesar 59,47 $\mu g mL$ dan 108,57 $\mu g mL$.

Perbedaan nilai IC_{50} dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain spesies makroalga, faktor lokasi, waktu pengambilan sampel, kandungan senyawa bioaktif, kandungan pigmen, dan jenis pelarut yang digunakan (Savitri et al., 2017). Pada penelitian ini digunakan pelarut metanol yang merupakan pelarut polar, untuk meng ekstraksi senyawa aktif sehingga ekstrak yang dihasilkan lebih kental. Hal ini disebabkan karena senyawa dalam ekstrak yaitu flavonoid cenderung bersifat polar, senyawa-senyawa polar akan ikut larut dengan pelarut yang polar.

Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif yang mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan. Flavonoid memiliki sifat antioksidan, senyawa ini berperan sebagai penangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil dan bersifat sebagai reduktor sehingga flavonoid dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas (Yuliana, 2020).

4.6 Toksisitas Ekstrak Metanol Maserasi dan UAE *Hormophysa cuneiformis* Terhadap Larva *Artemia salina* Leach

Uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui toksisitas dari sampel dengan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji dengan rentan waktu 24 jam setelah pemberian dosis. Aktivitas toksisitas dapat ditentukan dari jumlah kematian *A. salina* Leach yang dinyatakan dalam nilai *Lethal Concentration 50* (LC₅₀). Metode ini mudah dilakukan pengerjaannya dengan biaya murah dan memiliki tingkat kepercayaan 95% (Panjaitan & Natalia, 2021).

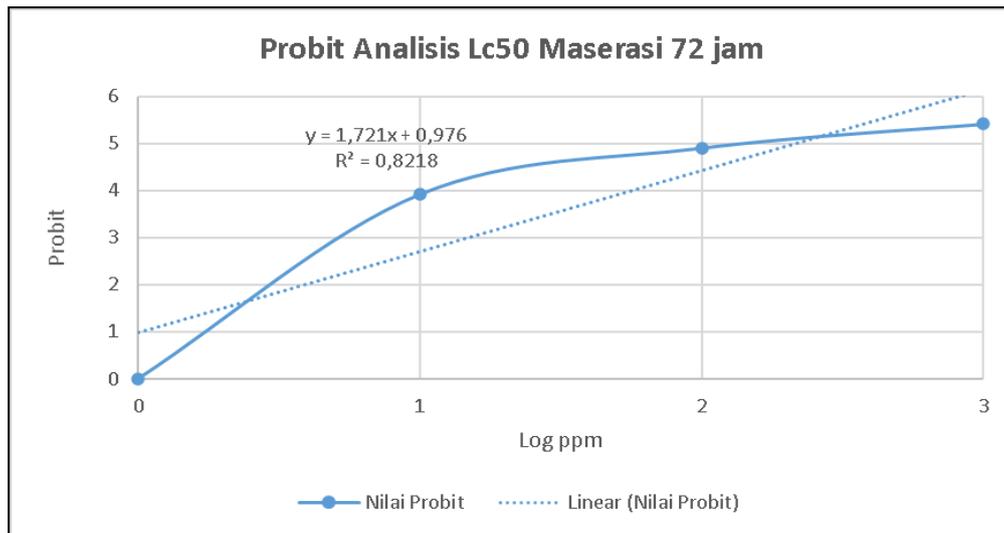
Pada penelitian ini, menggunakan sampel ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* menggunakan *Ultrasound Assisted Extraction* dan Maserasi dengan pembagian masing-masing konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi 10, 100, dan 1000 µg/mL. Sebelum dilakukan uji toksisitas, semua alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu sampai bersih lalu dibilas dengan menggunakan aquades kemudian di sterilisasi pada autoklaf.

Pada penelitian ini proses penetasan telur menjadi larva menggunakan lampu 25 watt supaya larva dapat bergerak ke tempat yang terang sebab larva bersifat fototaksis dan dipasang aerator sebagai sumber oksigen sehingga dapat mempengaruhi kelangsungan hidup dari larva yang digunakan, dengan hal ini dapat memperkecil kemungkinan terjadinya kematian larva yang disebabkan oleh kekurangan oksigen (Wulandari, 2014).

Kemudian di buat kontrol negatif berupa air laut dan larva udang yang berada di dalam vial tanpa adanya penambahan ekstrak untuk menguji pengaruh air laut maupun faktor lain yang berpengaruh terhadap kematian larva. Dengan demikian, dapat dipastikan bahwa kematian larva hanya karena pengaruh yang berasal dari ekstrak yang ditambahkan. Selanjutnya timbang 100 mg ekstrak lalu dilarutkan dengan air laut buatan berdasarkan konsentrasi yang bermacam-macam. Kemudian sampel dipipet sebanyak 5 mL dengan menggunakan pipet volume, setelah dipipet masukan ke dalam vial. Berikutnya, masukan larva sebanyak sepuluh ekor yang telah berusia dua hari atau kurang lebih 48 jam ke dalam masing-masing vial dan diberikan satu tetes ragi sebagai makanan bagi larva udang *artemia* lalu diinkubasi selama 24 jam.

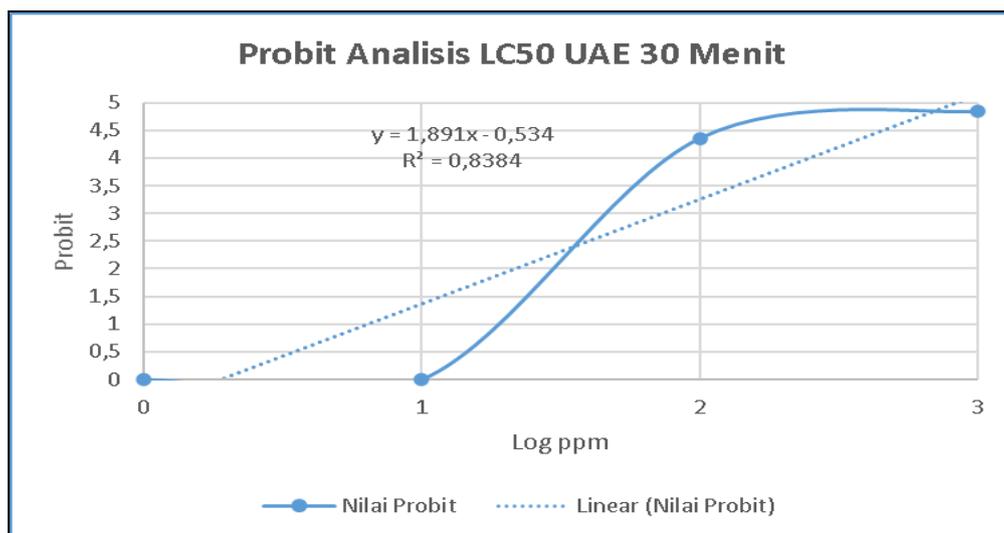
Pada penelitian ini menggunakan larva yang berumur 48 jam, dikarenakan memiliki saluran pencernaan yang sudah terbentuk sempurna sehingga peka terhadap suatu zat yang dimasukkan dan dilakukan sebanyak lima kali. Nilai LC₅₀ dari ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dianalisa dengan program *Microsoft Excel 2019* menggunakan metode regresi probit dari nilai antilog faktor X (konsentrasi perlakuan) terhadap respon Y (nilai probit dari persentase mortalitas larva *A. salina*) pada tingkat kepercayaan 95%. Apabila suatu ekstrak dari makroalga mempunyai sifat toksik berdasarkan harga LC₅₀ dengan menggunakan metode BSLT, dengan demikian makroalga tersebut dapat dikembangkan sebagai obat antikanker. Hal ini disebabkan karena terdapat hubungan antara sitotoksik dan BSLT pada ekstrak makroalga yang diteliti (Panjaitan & Natalia, 2021).

Pada Gambar 4.6, dapat diketahui bahwa pengaruh konsentrasi (ppm) ekstrak metanol Maserasi *Hormophysa cuneiformis* terhadap persentase kematian larva *Artemia salina leach*. Semakin besar konsentrasi larutan uji yang diberikan, maka persentase kematian juga semakin tinggi.



Gambar 4.6 Probit Kematian dari Setiap Log Konsentrasi Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* Metode Maserasi

Pada Gambar 4.7, dibawah ini, dapat diketahui bahwa pengaruh konsentrasi(ppm) ekstrak metanol UAE *Hormophysa cuneiformis* terhadap persentase kematian larva *Artemia salina leach*. Semakin besar konsentrasi larutan uji yang diberikan, maka persentase kematian juga semakin tinggi.



Gambar 4.7 Probit Kematian dari Setiap Log Konsentrasi Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* metode UAE

Berdasarkan hasil penelitian yang saya lakukan, menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* Maserasi dan UAE dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) memiliki kemampuan untuk membunuh larva *artemia salina* Leach dan bersifat toksik dalam variasi konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm. Pada Tabel diatas dapat dilihat bahwa setiap variasi konsentrasi ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *artemia salina leach*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi jumlah kematian larva(Wulandari, 2014). Berdasarkan hasil tersebut sesuai dengan pernyataan (Nur Rizqillah, 2013) dimana tingkat konsentrasi yang tinggi akan meningkatkan tingkat mortalitas larva *artemia salina leach*, maka terdapat korelasi antara tingkat konsentrasi dengan tingkat mortalitas larva artemia.

Pada penelitian ini digunakan analisis probit agar didapatkan kurva berbentuk garis lurus sehingga penentuan nilai LC_{50} lebih tepat. Dalam analisis probit didapatkan kurva berbentuk garis lurus karena konsentrasi sampel ditransformasikan menjadi logaritma konsentrasi sebagai variabel tetap (nilai x) dan persentase kematian larva ditransformasikan menjadi nilai probit sebagai variabel tergantung (nilai y) untuk mengetahui toksisitas ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan memiliki dengan tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan perhitungan analisa probit yang pertama metode Maserasi seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4.6 setelah dianalisa menggunakan *Microsoft Excel* 2019 hasilnya menunjukkan nilai $LC_{50} < 1000$ yaitu sebesar 217,859 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori Sangat Toksik, persamaan $y = 1,721x + 0,976$ dan koefisien korelasinya pada grafik diperoleh sebesar R^2 sebesar 0.8218 (82,1%). Selanjutnya pada Gambar 4.7 yaitu menggunakan metode UAE menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 844,294 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori Toksisitas Sedang, persamaan $y = 1.891x - 0,534$ dengan koefisien korelasinya berdasarkan grafik sebesar 0,8384 (83,8%).

Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan teknik ekstraksi dapat mempengaruhi toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa. Adanya kandungan senyawa Flavonoid dalam ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* yang berpotensi bersifat toksik dapat diketahui berdasarkan hasil uji fitokimia. Senyawa metabolit sekunder flavonoid dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan dan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut sehingga saat senyawa tersebut masuk ke tubuh larva, maka alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa atau ekstrak juga menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva, yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa, sehingga larva tidak mampu mengenali makanannya dan larva akhirnya mati kelaparan (Panjaitan & Natalia, 2021).

Sedangkan senyawa steroid dan turunannya (Fitosterol) diketahui memiliki sifat toksik terhadap larva udang (Laili Nur Azizah, 2016). Sehingga pada penelitian ini, ekstrak metanol UAE *Hormophysa cuneiformis* yang hanya memiliki steroid dapat bersifat toksik sebesar 844,294 µg/mL terhadap larva udang *Artemia salina leach*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil yang diperoleh dari penelitian ini didapatkan kesimpulan yaitu :

- a. % rendemen dari ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan variasi waktu yang lebih singkat yaitu 30 menit menghasilkan % rendemen yang relatif tinggi sebesar 5,53 % dibandingkan dengan metode Maserasi dengan variasi waktu 3 hari memiliki nilai sebesar 6,76 %. Dan memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid dan steroid pada ekstrak maserasi dan Steorid pada ekstrak UAE.
- b. Hasil nilai IC₅₀ ekstrak metanol Maserasi makroalga *Hormophysa cuneiformis* sebesar 59,47 µg/mL dalam kategori kuat sedangkan pada metode UAE dengan nilai sebesar 108,57 µg/mL dalam kategori sedang .
- c. Hasil nilai LC₅₀ ekstrak metanol Maserasi makroalga *Hormophysa cuneiformis* 217,859 µg/mL dengan kategori Sangat Toksik sedangkan pada metode UAE sebesar 844,294 µg/mL dengan kategori Toksisitas Sedang.

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini, yaitu :

- a. Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk membandingkan dengan metode ekstraksi lain yang bersifat modern seperti *Microwave-assisted-extraction(MAE)*.
- b. Selanjutnya, penambahan waktu ekstraksi pada metode *Ultrasound Assisted Extraction*.

- c. Kemudian, peneliti selanjutnya diharapkan dapat melakukan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad Hanapi. (2013). (PDF) *Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Alga Merah Eucheuma Spinosum dari Perairan Wongsorejo banyuwangi*.<https://www.researchgate.net/publication/284753701>
- Ahmad, N. (2018). *Ekstrak Senyawa Bahan alam*. 34.
- Ahmad najid. (2018). *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam - Google Books*.
https://www.google.co.id/books/edition/Ekstraksi_Senyawa_Bahan_Alam/ad2CDwAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=ekstraksi+adalah&printsec=frontcover
- Ainun Safitri Harli. (2016). *Uji Toksisitas Fraksi Ekstrak Etanol Daun Pedang-Pedang*.
- alfinda novi kristanti. (2019). *Fitokimia - Google Books*.
<https://www.google.co.id/books/edition/Fitokimia/3BnIDwAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=Berdasarkan+prosesnya,+ekstraksi+dibedakan+menjadi&pg=PA54&printsec=frontcover>
- Ananingsih, Victori kristina, bernadeta soedarini. (n.d.). *Ekstraksi Oleoresin Biji Pala - Google Books*. Retrieved March 12, 2022, from
[https://www.google.co.id/books/edition/Ekstraksi_Oleoresin_Biji_Pala/84LEAAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=\(Yingngam,+Monschein,+%26+Brantner,+2014\)&Pg=Pa18&Printsec=Frontcover](https://www.google.co.id/books/edition/Ekstraksi_Oleoresin_Biji_Pala/84LEAAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=(Yingngam,+Monschein,+%26+Brantner,+2014)&Pg=Pa18&Printsec=Frontcover)
- Ayu, H. R., Suryono, S., & Suseno, J. E. (2020). *Rancang Bangun Sistem Ultrasound Assisted Extraction (Uae) Dengan Otomasi Pengaturan Suhu Dan Volume Pelarut*. *Indonesian Journal Of Applied Physics*, 10(01), 56. <https://doi.org/10.13057/Ijap.V10i01.35032>
- Basmal, J. (2013). *Membuat Alginat dari Rumput Laut Sargassum - Google Books*.https://www.google.co.id/books/edition/Membuat_Alginat_dari_Rumput_Laut_Sargassum/jimtCQAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=sargassum+sp&printsec=frontcover
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). *Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus mauritiana L.) sebagai Sumber Saponin*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). *Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications*. *Areview.UltrasonicsSonochemistry*, 34, 540560. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2016.06.035>

- Diachanty, S., Nurjanah, N., & Abdullah, A. (2017). *Antioxidant Activities of Various Brown Seaweeds from Seribu Islands*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 305. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18013>
- Edison, E., Diharmi, A., Ariani, N. M., & Ilza, M. (2020). *Komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar Sargassum plagyophyllum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 58–66. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30725>
- El-Manawy, I. M., Nassar, M. Z., Fahmy, N. M., & Rashedy, S. H. (2012). *Article Info*. 434(2014), 138–142. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2007.11.012>
- Euis Reni Yuslianti. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan - Google Books*. https://www.google.co.id/books/edition/Pengantar_Radikal_Bebas_dan_Antioksidan/QRxmDwAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=radikal+bebas+dan+antioksidan&printsec=frontcover
- Farid chemat. (2012). *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds - GoogleBooks*. https://www.google.co.id/books/edition/Microwave_assisted_Extraction_for_Bioact/8MA8SWRDVVMC?hl=en&gbpv=1&dq=Metode+Sonikasi+dan+MAE&printsec=frontcover
- Fidrianny, I., & Darmawati, A. (2014). *Antioxidant Capacities From Different Polarities Extracts Of Cucurbitaceae Leaves Using Frap, Dpph Assays And Correlation With Phenolic, Flavonoid, Carotenoid Content*. 6.
- Fri Rahmawati, Linggom Kurniaty, M. B. (2020). *Antioxidant potential and identification of active compounds on Kabau seed (Archidendron bubalinum) flesh and husk extract | Rahmawati | Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/27250/16906>
- Gazali, M., Nurjanah, N., & Zamani, N. P. (2018). *Eksplorasi Senyawa Bioaktif Alga Cokelat Sargassum sp. Agardh sebagai Antioksidan dari Pesisir Barat Aceh*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 167. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21543>
- Gosal, G. M. (1210034). (2015). *Uji Toksisitas Akut Dermal Minyak Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) terhadap Tikus Betina*.
- Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Panovska, K. (2014). *Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (Artemia salina L.) model*. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(1), 9–18.
- Ibrahim. (2019). *Hasil Penelitian Dan Pembahasan A . Hasil Penelitian Tahap 1 (Identifikasi Morofologi Makroalga Di Pantai Lumbung Kabupaten Tulungagung) 1 . Identifikasi Morofologi Makroalga Divisi Chloropyta , Rhodophyta , Dan Phaeophyta Berdasarkan Penelitian Yang Di . 1*, 40–96.
- Irianti, T. T., Kuswandi, Nuranto, S., & Purwanto. (2020). *Antioksidan Dan Kesehatan*. 283.

- Kamoda, A. P. M. D., Nindatu, M., Kusadhiani, I., & Astuty, E. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat Saragassum Sp. Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrihidrasil (Dpph)*. *PAMERI: Pattimura Medical Review*, 3(1), 60–62. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/article/view/3742/2902>
- Kasim, M. (2016). *MakroAlga* Google Books. https://www.google.co.id/books/edition/Makro_Alga/MyMnDwAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=morfologi+sargassum+sp&pg=PA25&printsec=frontcover
- Laili Nur Azizah. (2016). *Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kltp Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (Eucheuma Spinosum)*. 31–48. <http://etd.lib.metu.edu.tr/upload/12620012/index.pdf>
- lukman junaidi. (2020). *Teknologi ekstraksi bahan aktif alami - Google Books*. https://www.google.co.id/books/edition/Teknologi_ekstraksi_bahan_aktif_alami/j0dgEAAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=ekstraksi+konvensional&pg=PA29&printsec=frontcover
- Madjid, A. D. R., Rahmawati, D. A., & Fasya, A. G. (2020). Variasi Komposisi Eluen pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *Alchemy*, 8(1), 35–40. <https://doi.org/10.18860/al.v8i1.10040>
- Malo, A., & Salosso, Y. (2018). *Kandungan Senyawa Aktif Makroalga Yang Diambil Di Perairan Pantai Arubara Kabupaten Ende*. *Jurnal Akuatik*, 1, 91–97. <Http://Ejurnal.Undana.Ac.Id/Jaqu/Article/View/2442>
- Mangrove *Avicennia Marina*, E., *Mucronata*, R., *Alba Dan Xylocarpus Granatum* Yang Berasal Dari Banyuasin, S., Selatan, S., Puspitasari, E., & Hendri, M. (2018). *Uji Toksisitas Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Pada Ekstrak Mangrove (Avicennia Marina, Rhizophora Mucronata, Sonneratia Alba Dan Xylocarpus Granatum) Yang Berasal Dari Banyuasin, Sumatera Selatan*. *Jurnal Biologi Tropis*, 18(1), 91–103. <Https://Doi.Org/10.29303/Jbt.V18i1.733>
- Mukhriani. (2014). *Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif*.
- Nugroho, W., & Rahayu, S. (2018). *Uji Fitokimia dan Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Terung Asam (Solanum ferox L) Phytochemistry Screening and Antioxidant Test of Ethanol Extract of Terung Asam (Solanum ferox L) A ABSTRAK*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3707211>
- Nur Rizqillah. (2013). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak N-Heksan Daun Garcinia Benthami Pierre Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt)*.
- Ode, I., & Wasahua, J. (2014). Jenis-jenis alga coklat potensial di perairan pantai Desa Hutumuri Pulau Ambon. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 7(2), 39. <https://doi.org/10.29239/J.AGRIKAN.7.2.39-45>

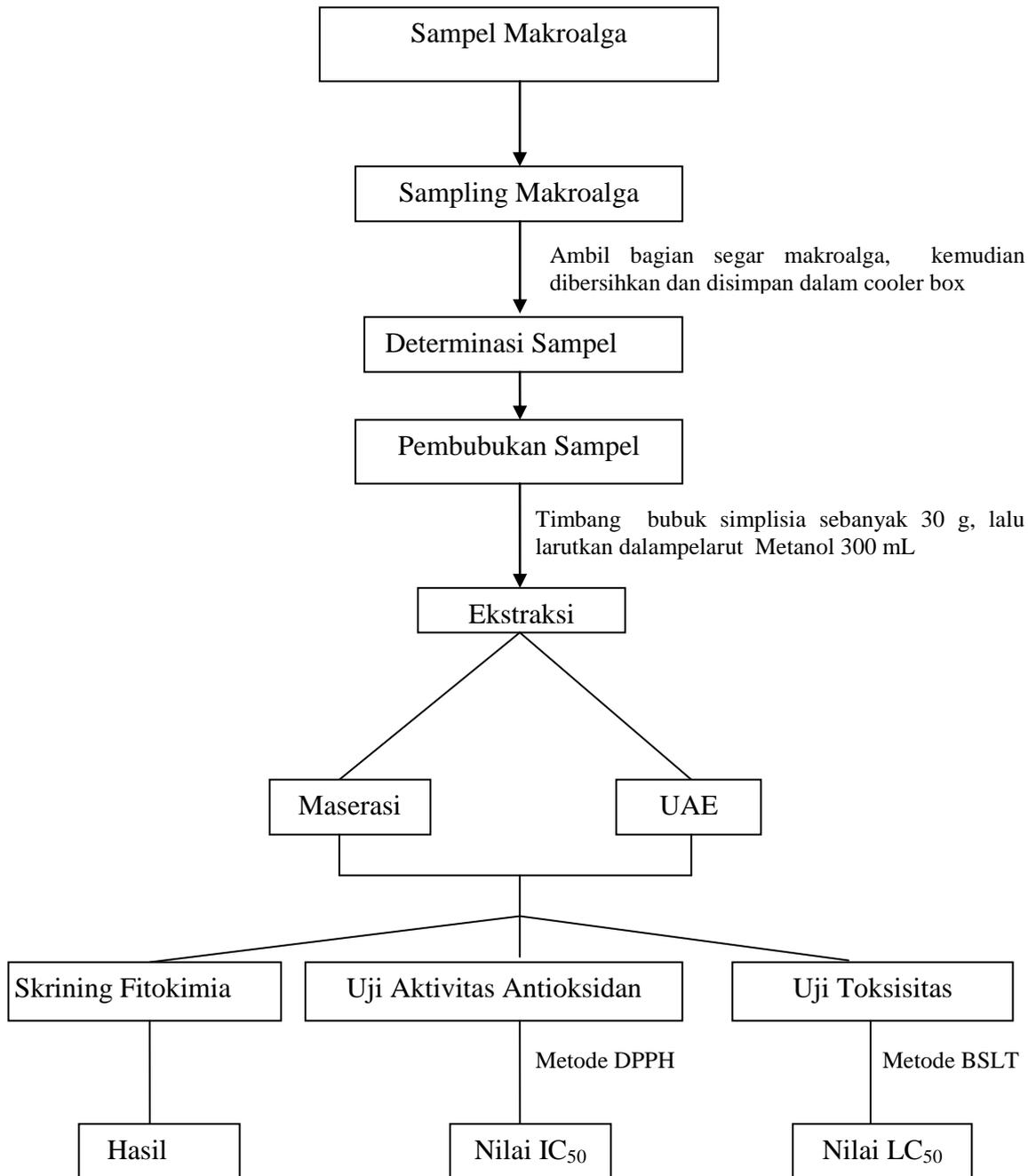
- Panjaitan, R. S., & Natalia, L. (2021). *Ekstraksi Polisakarida Sulfat dari Sargassum polycystum dengan Metode Microwave Assisted Extraction dan Uji Toksisitasnya. Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 16(1), 23–32. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v16i1.692>
- Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, April, 1–54.
- Peta Wilayah Kabupaten Garut*. (2017).
- Pramesti, R., Kelautan, J. I., Perikanan, F., & Kelautan, I. (2013). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpuk Laut Caulerpa serrulata Dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil)*. 2, 7–15. <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/buloma>
- Putranti, R. I. K. A. (2013). *Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpuk Laut Sargassum Duplicatum Dan Turbinaria Ornata Dari*.
- R.A. Day, J. (n.d.). *Analisis Kimia Kuantitatif/6 - Google Books*. Retrieved March 22, 2022, from https://www.google.co.id/books/edition/Analisis_Kimia_Kuantitatif_6/63qleQuMe40C?hl=en&gbpv=1&dq=Spektrofotometer+Ultraviolet-Visible&pg=PA412&printsec=frontcover
- Rahim, A., & Ui, F. (2012). *Universitas Indonesia*.
- Rukmi, Widya dwi, kiki fibrianto. (2018). *Rempah untuk Pangan dan Kesehatan GoogleBooks*. https://www.google.co.id/books/edition/Rempah_untuk_Pangan_dan_Kesehatan/GymJDwAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=ekstraksi+ultrasonik&pg=PA45&printsec=frontcover
- Sakka, L., & Muin, R. (2022). *Identifikasi Kandungan Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus mauritiana Lamk.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1). <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i1.13518>
- Sasongko, A., Nugroho, R. W., Setiawan, C. E., Utami, I. W., & Pusfitasari, M. D. (2018). *Aplikasi Metode Nonkonvensional Pada Ekstraksi Bawang Dayak. JTT (Jurnal Teknologi Terpadu)*, 6(1), 8. <https://doi.org/10.32487/jtt.v6i1.433>
- Savitri, I., Suhendra, L., & Wartini, N. M. (2017). *Pengaruh jenis pelarut pada metode maserasi terhadap karakteristik ekstrak Srgassum polycystum. Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 93–101.
- Sedjati, S., Supriyantini, E., Ridlo, A., Soenardjo, N., & Santi, V. Y. (2018). *Kandungan Pigmen, Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Sargassum sp. Jurnal Kelautan Tropis*, 21(2), 137. <https://doi.org/10.14710/jkt.v21i2.3329>

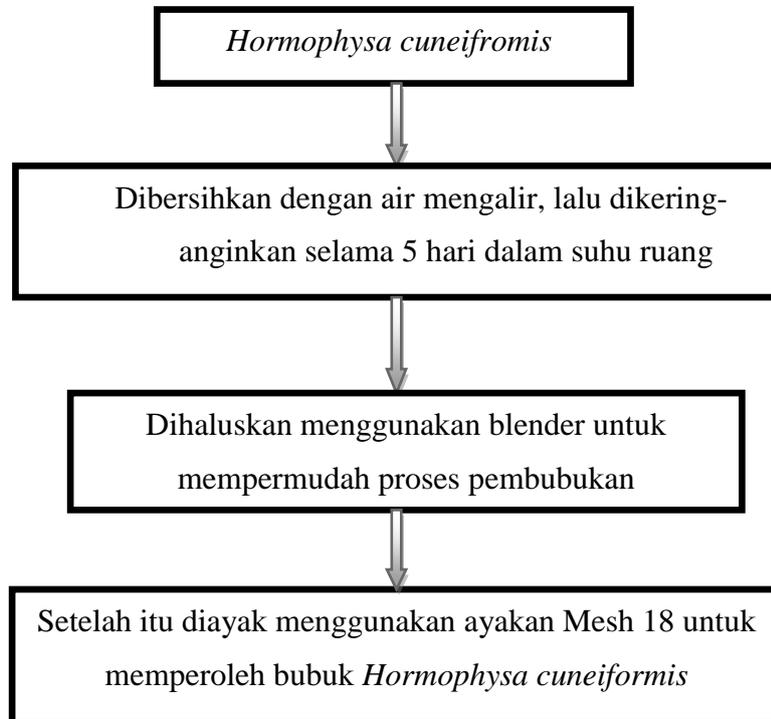
- Septia, R. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Formula Gel Peeling Scrub Daun Turi (Sesbania Grandiflora) Dengan Metode Dpph (1,1 Difenil- 2-Picrylhydrazyl)*.
- Sergio torres giner, F. dominici. (2021). *Environmentally Friendly Polymers and Polymer Composites* Google Books. [https://www.google.co.id/books/edition/Environmentally_Friendly_Polymers_and_Po/vFQkEAAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=Hydrothermalassisted+extraction+\(HAE\)&pg=PA12&printsec=frontcover](https://www.google.co.id/books/edition/Environmentally_Friendly_Polymers_and_Po/vFQkEAAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=Hydrothermalassisted+extraction+(HAE)&pg=PA12&printsec=frontcover)
- Sinurat, E., Nurun, D., Maulida, N., Riset, B. B., Produk, P., Kelautan, B., Perikanan, D., Riset, B., Daya, S., Kelautan, M., Tubun, J. K., & Vi, P. (2018). *Pengaruh Hidrolisis Fukoidan Terhadap Aktivasnya Sebagai Antioksidan Effect Of Fucoidan Hydrolysis On Its Activity As An Antioxidant*. <https://doi.org/10.15578/Jpbkp.V13i2.522>
- Siti Setiasih, I., Hanidah, I.-I., Wahyuda Wira, D., Rialita, T., Sumanti Staf Teknologi Pangan, D. M., teknologi Industri Pertanian, F., & Padjadjaran Jl Raya Bandung -Sumedang, U. K. (2017). *Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi The Toxicity Test of Cauliflower (Brassica oleracea L.) with Minimally Processed by Ozonation*. <https://doi.org/10.24198/jp2.2016.vol1.1.04>
- Springer Netherlands. (2013). *Artemia: Basic and Applied Biology - Google Books*. 2013. https://www.google.co.id/books/edition/Artemia_Basic_and_Applied_Biology/pUDyBwAAQBAJ?hl=en&gbpv=1&dq=klasifikasi+dari+Artemia+salina+leach&printsec=frontcover
- Suparmi, A. S. (2013). *Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri dan Kesehatan. Jurnal Majalah Ilmiah Sultan Agung, 44(118), 95–116*.
- Tanti Tatang Irianti, K., & Swandi, S. Nuranto. (2021). *Antioksidan Dan Kesehatangooglebooks*. https://www.google.co.id/books/edition/Antioksidan_Dan_Kesehatan/Ma1jeaaaqbj?hl=en&gbpv=1&dq=Antioksidan&printsec=frontcover
- Taylor & Francis. (2007). *Bioactive Natural Products - Google Books*. https://www.google.co.id/books/edition/Bioactive_Natural_Products/In8kaHnX5gUC?hl=en&gbpv=1&dq=brine+shrimp+lethality+test&pg=PA18&printsec=frontcover
- Trigo, J. P., Alexandre, E. M. C., Saraiva, J. A., & Pintado, M. E. (2019). High value-added compounds from fruit and vegetable by-products – Characterization, bioactivities, and application in the development of novel food products. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1572588>, 60(8), 1388–1416. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1572588>

- Tristantini, D., Ismawati, A., Tegar Pradana, B., & Gabriel Jonathan, J. (n.d.). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops Elengi L)*.
- Tukiran; Mauren Gita Miranti; Idah Dianawatia; Fauzia Indah Sabila. (2020). *View Of Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera Lam.) Dan Buah Bit (Beta Vulgaris L.) Sebagai Bahan Tambahan Minuman Suplemen*. <https://E-Journal.Unair.Ac.Id/Jkr/Article/View/22518/13031>
- Wang, C. Y., Wu, T. C., Hsieh, S. L., Tsai, Y. H., Yeh, C. W., & Huang, C. Y. (2015). *Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from Sargassum cristaefolium*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 766–777. <https://doi.org/10.1016/J.JFDA.2015.07.002>
- Widyasanti, A., Nurlaily, N., & Wulandari, E. (2008). Karakteristik Fisikokimia Antosianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Metode Uae *Physicochemical Characteristics Of Red Dragon Fruit Skin Anthocyanin Extracts Using Uae Method*. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian Dan Biosistem*, 6(1), 27–38. <https://Doi.Org/10.29303/Jrpb.V6i1.63>
- Wulandari, F. (2014). “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa [Scheff.] Boerl .) Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).” *Skripsi FKIK, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, 10 Septemb*, 24–31.
- Yanlinastuti, & Fatimah, S. (2016). *Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Panduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS*. *Jurnal PIN Pengolahan Instansi Nuklir*, 1(17), 22–33.
- Yuliana. (2020). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Biwa (Eriobotrya japonica(Thunb.) Lindl.) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl)*. In *Skripsi*.
- Zou, T. Bin, Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., & Li, H. W. (2014a). *Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (Mangifera indica L.) Leaves Using Response Surface Methodology*. *Molecules* 2014, Vol. 19, Pages 1411-1421, 19(2), 1411–1421. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES19021411>
- Zou, T. Bin, Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., & Li, H. W. (2014b). *Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (Mangifera indica L.) Leaves Using Response Surface Methodology*. *Molecules*, 19(2), 1411. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES19021411>

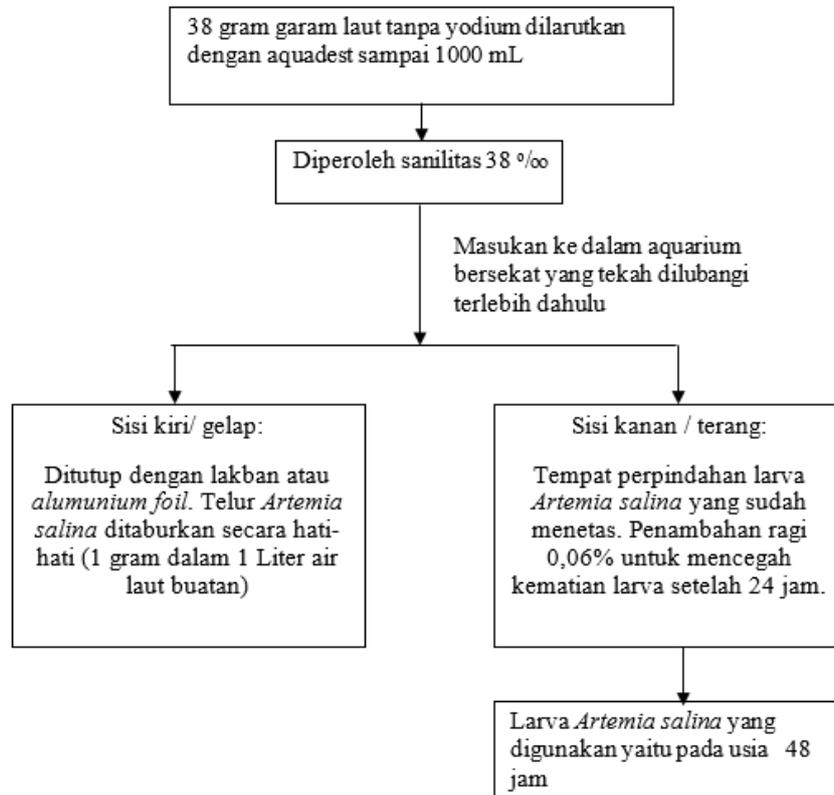
LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Alir Penelitian

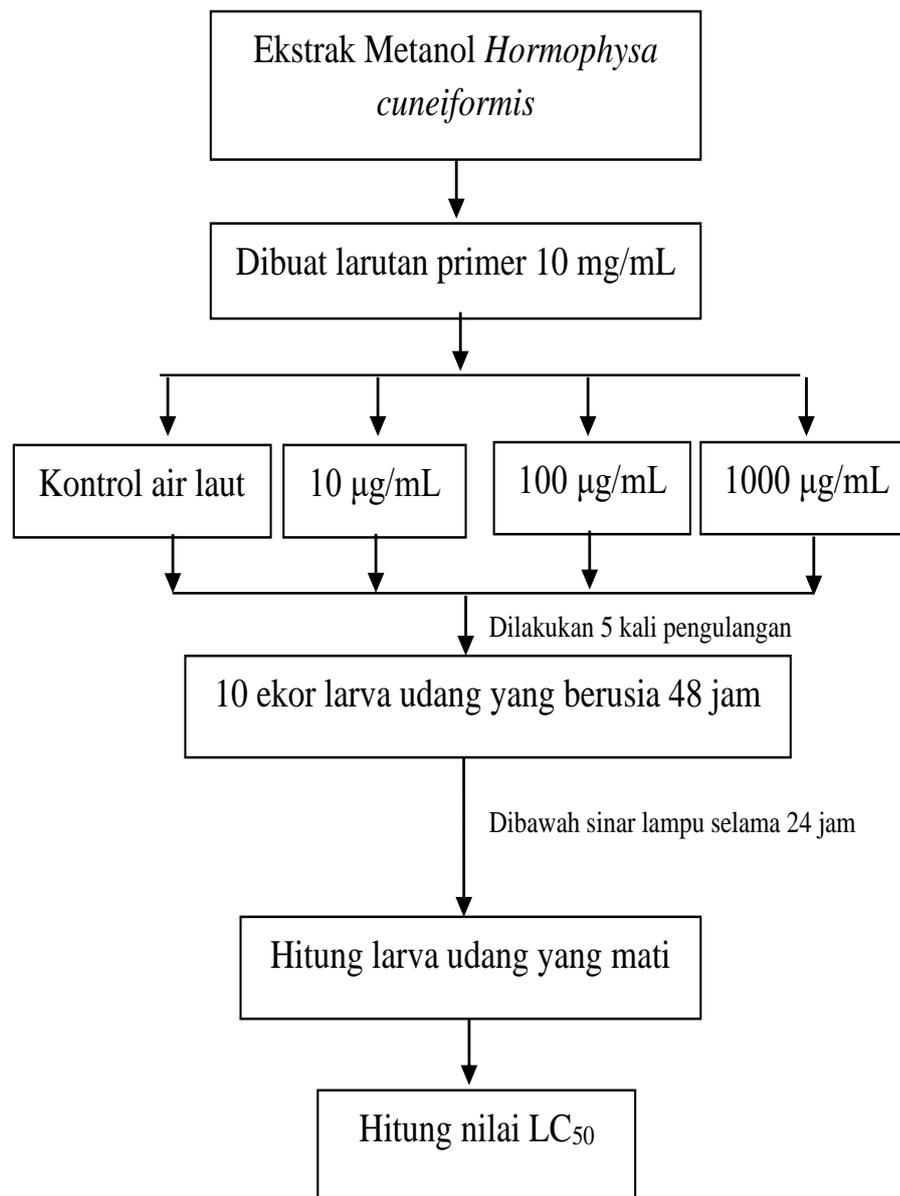


Lampiran 2. Preparasi Sampel (Pembuatan bubuk makroalga)

Lampiran 3. Penetasan Telur *Artemia salina* Leach



Lampiran 4. Skema Kerja Uji Toksisitas Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)



Lampiran 5. Hasil Determinasi Makroalga



DIREKTORAT PENGELOLAAN LABORATORIUM, FASILITAS RISET, DAN KAWASAN SAINS TEKNOLOGI

Gedung B.J. Habibie Jalan M.H. Thamrin Nomor 8,
Jakarta Pusat 10340
Telepon/WA: 0811 8612 392; E-mail: dit-plfrkst@brin.go.id
www.brin.go.id

No. ID ELSA : 29661
Transaction Number

Metode : Identifikasi secara morfologi
Method

Nama Laboratorium : Laboratorium Oseanografi - BRIN
Name of Laboratory

Alamat Laboratorium : Jl. Pasir Putih 1, Ancol Timur (Gedung Pusat Riset Oseanografi- BRIN)
Laboratory Address Jakarta - Indonesia 11048
Email : layan@lipi.go.id; Telp +62 811-1391-617

Kondisi Pengukuran/Parameter Pengujian *Measurement Conditions/Testing Parameters:*
Identifikasi dengan menggunakan karakter morfologi

Hasil Pengujian *Testing Results* : *Hormophysa cuneiformis* (J.F.Gmelin) P.C.Silva, 1987

<https://data.lipi.go.id/privateurl.xhtml?token=11839acb-aa12-40f3-a48b-c56496e9444c>

Catatan Note:

Daftar sampel yang dilakukan pengujian terdapat di lembar pengesahan.
Penamaan sampel sesuai dengan penamaan pada saat permohonan pengajuan layanan.

Terima kasih sudah melakukan pengujian/ penyewaan alat/ proses riset dengan fasilitas yang tersedia di Laboratorium Oseanografi. Jika dikemudian hari, hasil pengujian atau analisis ini akan dipublikasikan, mohon kiranya bisa menambahkan dalam Ucapan Terima Kasih atau Acknowledgement di dalam publikasi Anda,

seperti dalam contoh format berikut:

Dalam bahasa Indonesia : "Penelitian ini didukung oleh fasilitas riset, dan dukungan ilmiah serta teknis dari Laboratorium Oseanografi di Badan Riset dan Inovasi Nasional".

Dalam bahasa Inggris : "The authors acknowledge the facilities, and the scientific and technical assistance of the Oceanography Laboratories at the National Research and Innovation Agency

Lampiran 6. Hasil Skrining Fitokimia



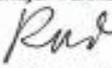
LABORATORIUM PUSAT STUDI BIOFARMAKA
 LPPM - INSTITUT PERTANIAN BOGOR
 Jl. Taman Kencana No. 03 Bogor 16151
 Telp/Fax: +62-251-8373561/ +62-251-8347525;
 website: www.biofarmaka.or.id; Email: bfarmaka.lub@gmail.com

LAPORAN HASIL UJI
No. (sertifikat) 405.010/LPSB IPB/III/22

No Order : 010/III
 Nama / Instansi : **Rony Tua Simbolon / Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta**
 Alamat : Jl. Sunter Permai Raya no 1 Rt 11 Rw 6 Sunter Agung Tj. Priok Jakarta Utara
 Jenis analisis : Fitokimia
 Tanggal Terima : 11 Maret 2022
 Tanggal pengujian : 16 Maret 2022

Nama Sampel	Identitas & keadaan sampel	Parameter	Hasil	Satuan	Teknik Analisis	
Sorgassum cuneiformis 72 jam	Padatan	Fitokimia:				Visualisasi Warna
		Flavonoid		Positif	-	
		Alkaloid	Wagner	Negatif	-	
			Mayer	Negatif	-	
			Dragendorf	Negatif	-	
		Tanin		Negatif	-	
		Saponin		Negatif	-	
		Quinon		Negatif	-	
Steroid		Positif	-			
Triterpenoid		Negatif	-			
Sorgassum cuneiformis UAE 30	Padatan	Fitokimia:				Visualisasi Warna
		Flavonoid		Negatif	-	
		Alkaloid	Wagner	Negatif	-	
			Mayer	Negatif	-	
			Dragendorf	Negatif	-	
		Tanin		Negatif	-	
		Saponin		Negatif	-	
		Quinon		Negatif	-	
Steroid		Positif	-			
Triterpenoid		Negatif	-			

Keterangan:

Bogor, 04 April 2022
 Manajer Teknis,

Rudi Heryanto, MSi
 NIP. 19760428 200501 1002

Hasil pengukuran/pengujian hanya bertanggung dengan barang yang diuji
 Disaring memperbanyak Laporan hasil uji tanpa persetujuan tertulis dari Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB

LPSB IPB-IV.25.2 1 dari 1

Lampiran 7. Hasil Penyaringan Filtrat dan Ekstrak Kental dari Metode

Maserasi dan UAE

Maserasi

Waktu Maserasi	Bobot Makroalga	Volume Yang digunakan	Volume hasil maserasi	Volume ekstrak	Bobot ekstrak kental	% Rendemen
HARI I	30 g	300 mL	255 mL	28 mL	94,42 - 92,82 = 1,6 g	$1,6/30 \times 100 = 5,33 \%$
HARI II	30 g	300 mL	260 mL	509,57 - 495,57 = 14 g	94,55-92,82 = 1,73 g	$1,73/30 \times 100 = 5,76 \%$
HARI III	30 g	300 mL	250 mL	510,50 - 495,57 = 14,93 g	94,85- 92,82 = 2,03 g	$2,03/30 \times 100 = 6,76 \%$

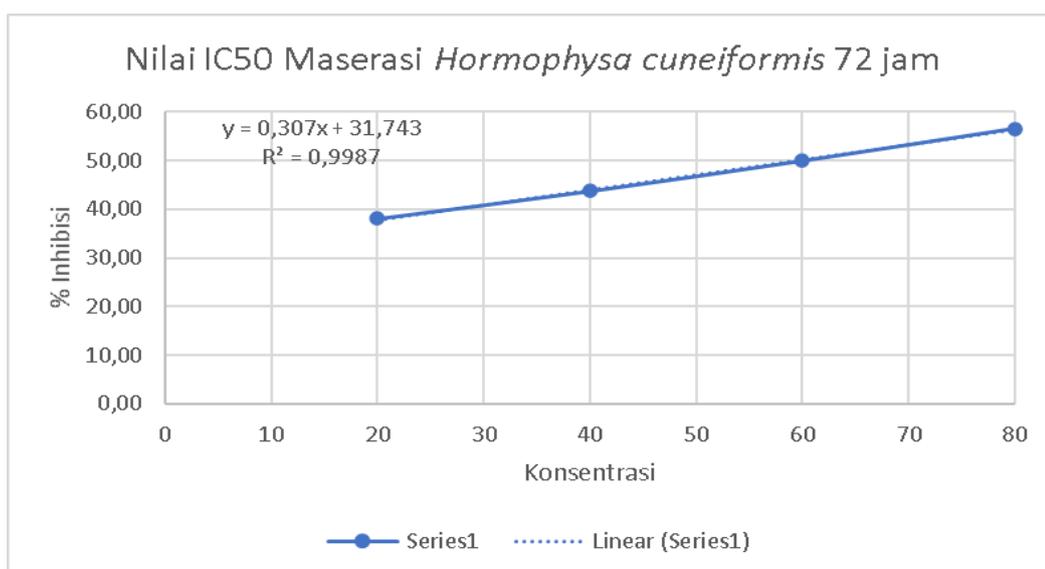
UAE

Waktu UAE	Bobot makroalga	Volume Yang digunakan	Volume hasil maaserasi	Volume ekstrak	Bobot Ekstrak Kental	%Rendemen
UAE 10 MENIT	30 g	300 mL	250 mL	27 mL	93,79 - 92,82 = 0,97 g	$0,97/30 \times 100 = 3,23 \%$
UAE 20 MENIT	30 g	300 mL	270 mL	498,29 - 495,57 = 2,72 g	93,93-92,82 = 1,11 g	$1,11/30 \times 100 = 3,7 \%$
UAE 30 MENIT	30 g	300 mL	260 mL	519,70 - 495,57 = 24,13 g	94,48- 92,82 = 1,66 g	$1,66/30 \times 100 = 5,53 \%$

Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan *Hormophysa cuneiformis*

Metode Maserasi

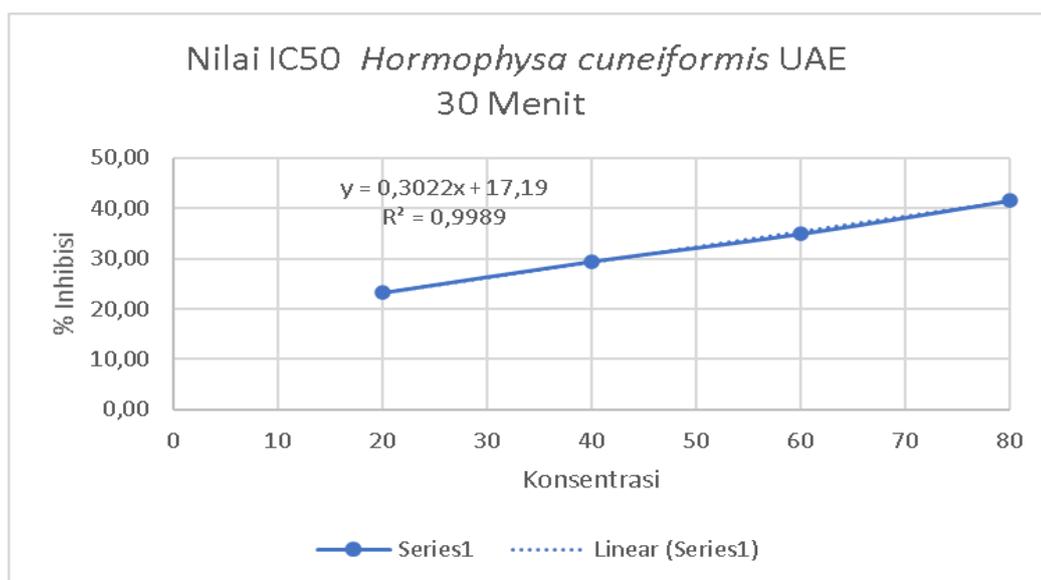
Nilai IC50 <i>Hormophysa cuneiformis</i> Maserasi 72 jam							
Konsentrasi Uji (ppm)	Ln Konsentrasi	Abs Pengulangan			Rata-Rata	% Inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3			
20	2,996	1,042	1,044	1,045	1,044	38,13	59,47 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
40	3,689	0,955	0,949	0,943	0,949	43,75	
60	4,094	0,840	0,845	0,848	0,844	49,95	
80	4,382	0,735	0,733	0,732	0,73	56,53	



Lampiran 9. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan *Hormophysa cuneiformis*

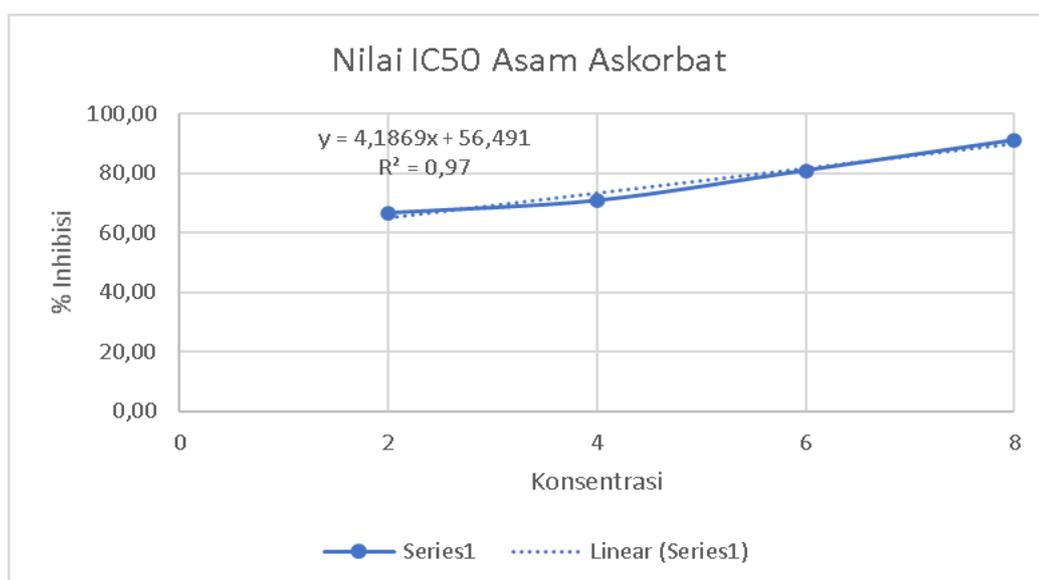
Metode UAE

Nilai IC50 <i>Hormophysa cuneiformis</i> UAE 30 Menit								
Konsentrasi Uji (ppm)	Ln Konsentrasi	Abs Pengulangan			Rata-Rata	Abs Sampel	% Inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3				
20	2,996	1,292	1,298	1,295	1,295	0,342	23,24	108,57 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
40	3,689	1,185	1,194	1,191	1,19	0,237	29,46	
60	4,094	1,098	1,096	1,098	1,097	0,144	34,95	
80	4,382	0,988	0,986	0,984	1,0	0,0	41,55	



Lampiran 10. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Asam askorbat

Nilai IC50 Asam Askorbat							
Konsentrasi Uji (ppm)	Ln Konsentrasi	Abs Pengulangan			Rata-Rata	% Inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3			
2	0,693	0,426	0,722	0,539	0,562	66,67	1,55 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
4	1,386	0,289	0,509	0,677	0,492	70,86	
6	1,792	0,327	0,225	0,411	0,321	80,97	
8	2,079	0,145	0,164	0,136	0,148	91,21	



Lampiran 11. Perhitungan Persentase Aktivitas Antioksidan

$$(\% \text{ perendeman} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%)$$

Sampel I : Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* (Maserasi)

Nilai IC50 <i>Hormophysa cuneiformis</i> Maserasi 72 jam						
Konsentrasi Uji (ppm)	Ln Konsentrasi	Abs Pengulangan			Rata-Rata	% Inhibisi
		1	2	3		
20	2,996	1,042	1,044	1,045	1,044	38,13
40	3,689	0,955	0,949	0,943	0,949	43,75
60	4,094	0,840	0,845	0,848	0,844	49,95
80	4,382	0,735	0,733	0,732	0,73	56,53

- Konsentrasi 20 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 1,044)}{1,687} \times 100 = 38,13 \%$$

- Konsentrasi 40 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,949)}{1,687} \times 100 = 43,75 \%$$

- Konsentrasi 60 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,844)}{1,687} \times 100 = 49,95 \%$$

- Konsentrasi 80 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,730)}{1,687} \times 100 = 56,53 \%$$

Sampel II : Ekstrak Metanol *Hormophysa cuneiformis* (UAE)

Nilai IC50 <i>Hormophysa cuneiformis</i> UAE 30 Menit							
Konsentrasi Uji (ppm)	Ln Konsentrasi	Abs Pengulangan			Rata-Rata	Abs Sampel	% Inhibisi
		1	2	3			
20	2,996	1,292	1,298	1,295	1,295	0,342	23,24
40	3,689	1,185	1,194	1,191	1,19	0,237	29,46
60	4,094	1,098	1,096	1,098	1,097	0,144	34,95
80	4,382	0,988	0,986	0,984	1,0	0,0	41,55

- Konsentrasi 20 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 1,295)}{1,687} \times 100 = 23,24 \%$$

- Konsentrasi 40 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 1,190)}{1,687} \times 100 = 29,46 \%$$

- Konsentrasi 60 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 1,097)}{1,687} \times 100 = 34,95 \%$$

- Konsentrasi 80 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 1,0)}{1,687} \times 100 = 41,55 \%$$

Sampel III : Vitamin C (Asam Askorbat)

Nilai IC50 Asam Askorbat						
Konsentrasi Uji (ppm)	Ln Konsentrasi	Abs Pengulangan			Rata-Rata	% Inhibisi
		1	2	3		
2	0,693	0,426	0,722	0,539	0,562	66,67
4	1,386	0,289	0,509	0,677	0,492	70,86
6	1,792	0,327	0,225	0,411	0,321	80,97
8	2,079	0,145	0,164	0,136	0,148	91,21

- Konsentrasi 2 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,562)}{1,687} \times 100 = 66,67 \%$$

- Konsentrasi 4 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,492)}{1,687} \times 100 = 70,86 \%$$

- Konsentrasi 6 ppm

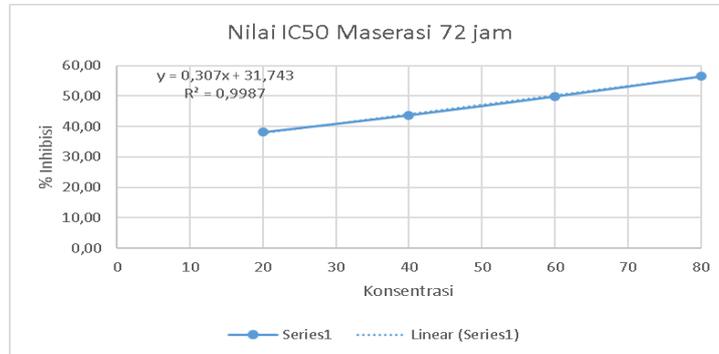
$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,321)}{1,687} \times 100 = 80,97 \%$$

- Konsentrasi 8 ppm

$$\% \text{ perendeman} = \frac{(1,687 - 0,148)}{1,687} \times 100 = 91,21 \%$$

Lampiran 12. Perhitungan IC₅₀

Gambar 1: Grafik Konsentrasi ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode maserasi Vs % Inhibisi



Dari data yang diperoleh pada tabel kemudia dibuat grafik antara konsentrasi dengan % perendemen maka diperoleh persamaan regresinya $Y = 0,307x + 31,743$ kemudian untuk digunakan dalam perhitungan IC₅₀ sebagai berikut :

$$\text{Diketahui : } Y = 0,307x + 31,743$$

$$Y = 50$$

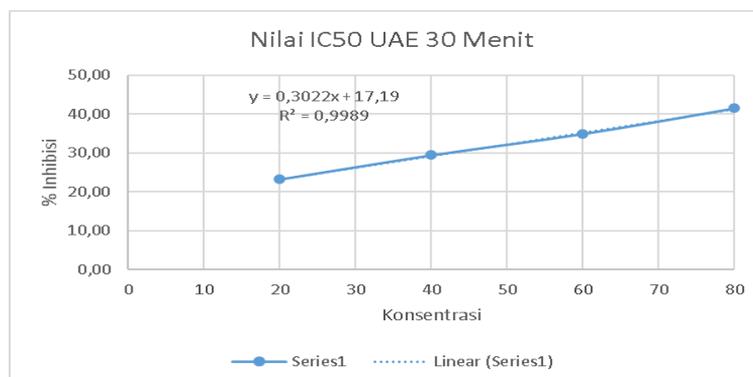
Dicari : x ?

$$\text{Jawab : } x = (50 - 31,74) / 0,307$$

$$x = 59,469$$

dari perhitungan dapat nilai IC₅₀ untuk sampel I adalah 59,469 ppm

Gambar 2: Grafik Konsentrasi ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode UAE Vs % Inhibisi



Dari data yang diperoleh pada tabel kemudia dibuat grafik antara konsentrasi dengan % perendemen maka diperoleh persamaan regresinya $Y = 0,3022x + 17,19$ kemudian untuk digunakan dalam perhitungan IC_{50} sebagai berikut :

$$\text{Diketahui : } Y = 0,3022x + 17,19$$

$$Y = 50$$

Dicari : x ?

$$\text{Jawab : } x = (50 - 17,19) / 0,3022$$

$$x = 108,570$$

dari perhitungan dapat nilai IC_{50} untuk sampel II adalah 108,570 ppm

Gambar 3: Grafik Konsentrasi Asam askorbat Vs % Inhibisi



Dari data yang diperoleh pada tabel kemudia dibuat grafik antara konsentrasi dengan % perendemen maka diperoleh persamaan regresinya $Y = 4,1869x + 56,491$ kemudian untuk digunakan dalam perhitungan IC_{50} sebagai berikut :

$$\text{Diketahui : } Y = 4,1869x + 56,491$$

$$Y = 50$$

Dicari : x ?

$$\text{Jawab : } x = (50 - 56,491) / 4,1869$$

$$x = 1,55$$

dari perhitungan dapat nilai IC_{50} untuk sampel III adalah 1,55 ppm

IC_{50} dari Asam askorbat lebih kecil dibandingkan ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode maserasi dan UAE, maka Asam askorbat masih tetap memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibanding ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* metode maserasi dan UAE.

Lampiran 13. Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach terhadap ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan metode maserasi

No	Konsentrasi	Jumlah Larva mati					Rata-rata	Persetase	Probit
		1	2	3	4	5	Kematian	kematian (%)	
1	1000 ppm	7	7	7	6	6	6,6	60	5,41
2	100 ppm	5	5	5	4	4	4,6	46	4,9
3	10 ppm	2	2	1	1	1	1,4	14	3,92
5	Air laut	0	0	0	0	0	0	0	0

Lampiran 14. Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach terhadap ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dengan metode UAE

No	Konsentrasi	Jumlah Larva mati					Rata-rata	Persetase	Probit
		1	2	3	4	5	Kematian	kematian (%)	
1	1000 ppm	5	5	4	4	4	4,4	44	4,85
2	100 ppm	3	3	3	2	2	2,6	26	4,36
3	10 ppm	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Air laut	0	0	0	0	0	0	0	0

Lampiran 15. Perhitungan Pengenceran Larutan Baku Uji Toksisitas Ekstrak *Hormophysa cuneiformis*.

1. Pembuatan Larutan Induk Baku I atau Stok 10.000 ppm

$$C = M / V(L)$$

$$C = 100 \text{ mg} / 0,01L = 10.000 \text{ ppm}$$

Larutan 10.000 ppm = 100 mg ekstrak metanol *Hormophysa cuneiformis* dilarutkan dalam 10 mL air laut buatan dan cukupkan sampai tanda batas.

2. Pembuatan Larutan Induk II Seri Pengenceran 1000 ppm

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 10.000 \text{ ppm} = 100\text{mL} \times 1000\text{ppm}$$

$$V1 = (100\text{mL} \times 1000\text{ppm}) / 10000\text{ppm}$$

$$V1 = 10\text{mL}$$

Di pipet 10 mL larutan induk baku I 10.000 ppm menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan air laut buatan sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan induk II konsentrasi 1000 ppm.

3. Pembuatan Larutan Induk III Seri Pengenceran 100 ppm

$$V1 \times 1000\text{ppm} = 100\text{mL} \times 100\text{ppm}$$

$$V1 = (100\text{mL} \times 100\text{ppm}) / 1000\text{ppm}$$

$$V1 = 10 \text{ mL}$$

Di pipet 10 mL larutan induk baku II 1000 ppm menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan air laut buatan sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan induk III konsentrasi 100 ppm.

4. Pembuatan Larutan Induk IV Seri Pengenceran 10 ppm

$$V_1 \times 100\text{ppm} = 100\text{mL} \times 10\text{ppm}$$

$$V_1 = (100\text{mL} \times 10\text{ppm})/100\text{ppm}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

Di pipet 10 mL larutan induk baku III 100 ppm menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan air laut buatan sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan induk IV konsentrasi 10 ppm.

Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian**Makroalga *Hormophysa cuneiformis*****Bubuk Makroalga *Hormophysa cuneiformis*****Alat Sonikator****Rotary evaporator**



Alat Penghalusan Simplisia



Wadah Maserasi



Water bath



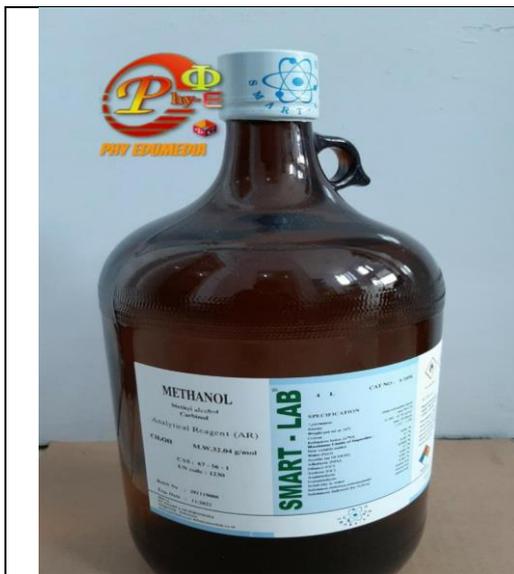
Wadah Pembiakan *Artemia salina* Leach



Sterilisasi botol vial



Persiapan Sampel Untuk Uji BSLT



Pelarut Metanol



Penimbangan Bubuk *Hormophysa cuneiformis*



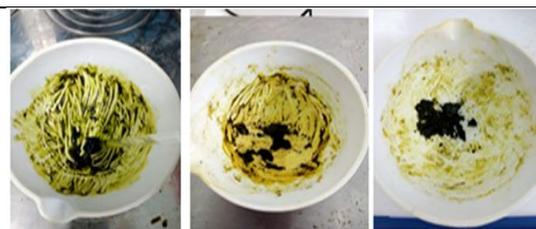
Filtrat Maserasi Hari 1,2,dan 3



Ekstrak Maserasi Hari1,2,dan 3



Filtrat UAE 10 menit,20 menit dan 30 menit



Ekstrak UAE 10 menit, 20 menit, dan 30 menit



Penyaringan Filtrat



Aerator Aquarium



Telur Larva *Artemia salina* Leach



Aquarium



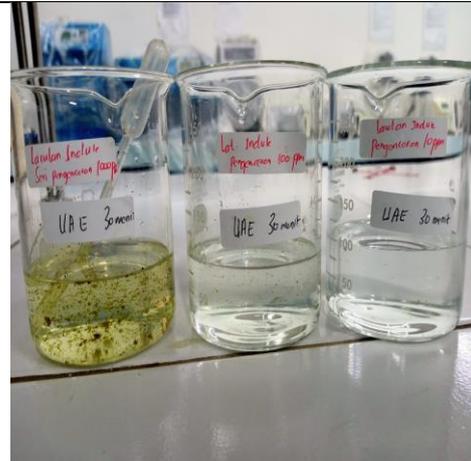
Air Laut Buatan Maserasi



Air Laut Buatan UAE



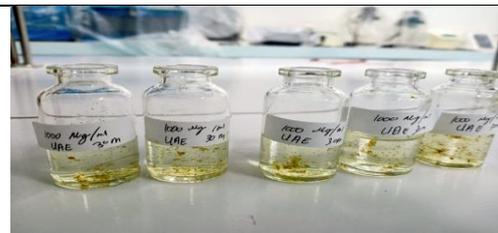
Larutan Induk Baku 10.000 $\mu\text{g/mL}$



Larutan Induk Baku seri pengenceran 1000 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$



Larutan Uji BSLT 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Maserasi)



Larutan Uji BSLT 1000 $\mu\text{g/mL}$ (UAE)



Larutan Uji BSLT 100 $\mu\text{g/mL}$ (Maserasi)



Larutan Uji BSLT 100 $\mu\text{g/mL}$ (UAE)



Larutan Uji BSLT 10 $\mu\text{g/mL}$ (Maserasi)



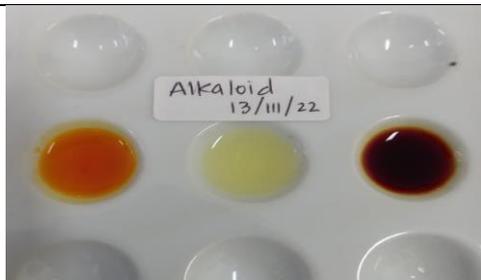
Larutan Uji BSLT 10 $\mu\text{g/mL}$ (UAE)



Skrining Fitokimia dari Maserasi



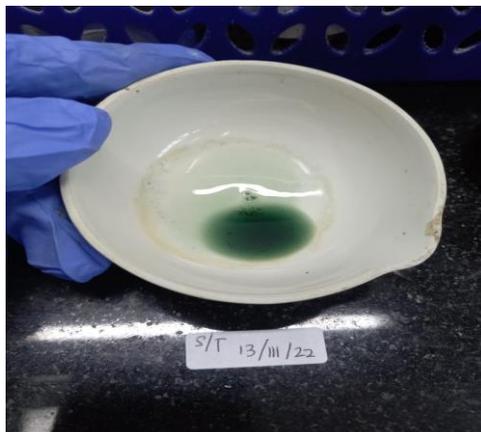
Skrining Fitokimia dari UAE



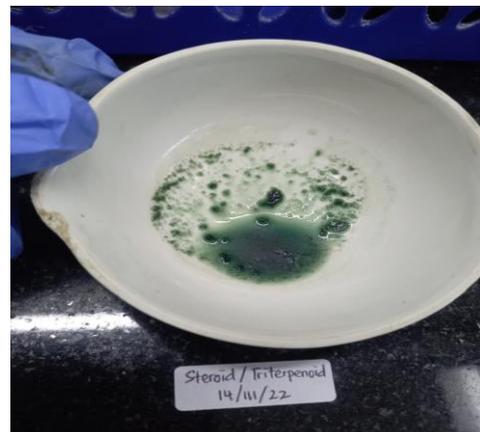
Skrining Fitokimia Alkaloid (Wagner, Mayer, Dragendorf) dari Maserasi



Skrining Fitokimia Alkaloid (Wagner, Mayer, Dragendorf) dari UAE



Skrining Fitokimia Steroid/Triterpenoid dari Maserasi



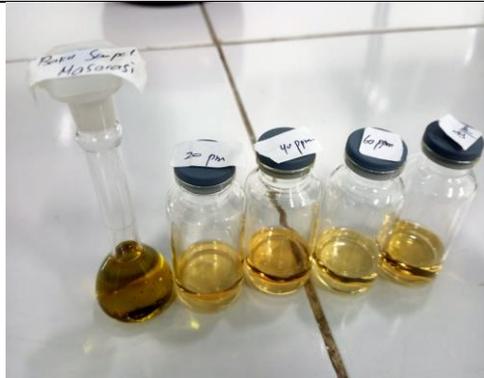
Skrining Fitokimia Steroid/Triterpenoid dari UAE



Persiapan Sampel dan mikropipet Untuk Uji Antioksidan



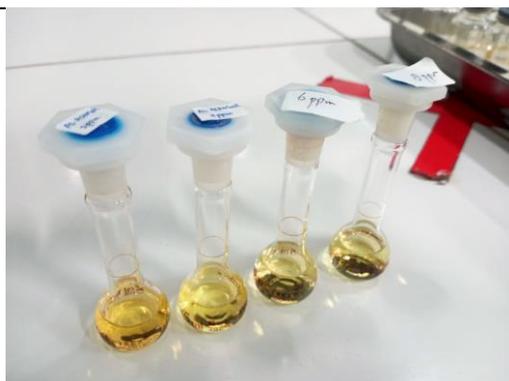
Alat Spektrofotometer UV-Visibel (UV- Shimadzu)



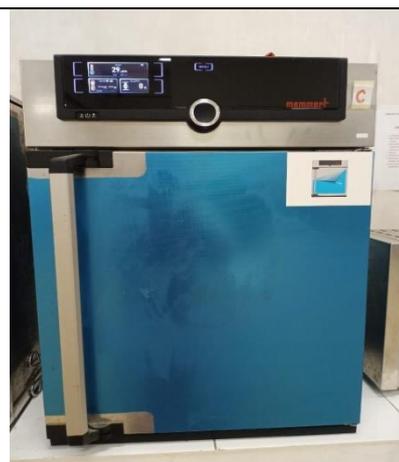
Larutan Uji Antioksidan konsentrasi 20, 40, 60, 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Maserasi)



Larutan Uji Antioksidan konsentrasi 20, 40, 60, 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (UAE)



Larutan Uji Antioksidan konsentrasi 2, 4, 6, 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Asam Askorbat)



Oven



UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945 JAKARTA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA
MASYARAKAT (LPPM)

Jln. Sunter Permai Raya Sunter Agung Jakarta 14350
Telp (021) 64715666–(021) 64717305, Email : lppmuta45@uta45jakarta.ac.id

SURAT KETERANGAN BEBAS PLAGIASI

Nomor: 144/SKBP/VII/2022

Berdasarkan hasil deteksi plagiasi menggunakan *iThenticate Plagiarism Detection Software* maka surat keterangan bebas plagiasi diberikan kepada:

Nama : Rony Tua Simbolon
Npm : 2043057009
Prodi/Fakultas : Farmasi/Fakultas Farmasi
Judul Artikel : Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol
Hormophysa Cuneiformis Berdasarkan Perbedaan Teknik Ekstraksi.

Bahwa benar artikel karya ilmiah tersebut telah lolos test plagiasi menggunakan alat deteksi *iThenticate Plagiarism Detection Software* dengan kriteria toleransi $\leq 30\%$. Apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam karya ilmiah tersebut, maka hal tersebut menjadi tanggung jawab penulis artikel.

Jakarta, 26 Juli 2022
Kepala LPPM.

Ir. Sri Endah Susilowati M. Si.
NIDN.0304116202

Tembusan:

Dosen Pembimbing