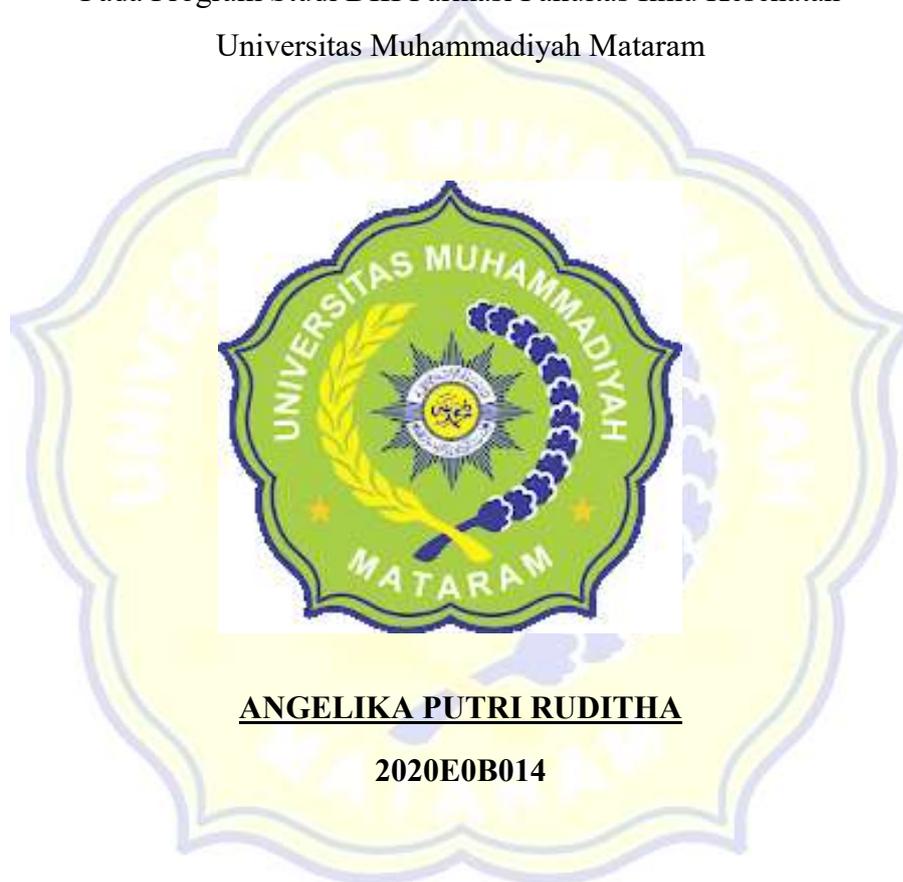


KARYA TULIS ILMIAH

**“POTENSI ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI AIR, N-HEKSAN & ETIL
ASETAT EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH *Eucheuma spinosum*”**

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Ahli Madya Farmasi
Pada Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Mataram



ANGELIKA PUTRI RUDITHA

2020E0B014

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
TAHUN 2023**

LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING

KARYA TULIS ILMIAH

**“POTENSI ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI AIR, N-HEKSAN & ETIL
ASETAT EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH *Eucheuma spinosum*”**

Oleh :

Angelika Putri Ruditha

2020E0B014

Menyetujui,

Dosen Pembimbing Pertama

Dosen Pembimbing Kedua

(Apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm)

NIDN: 0817038601

(Apt. Safwan, M.Sc., Ph.D)

NIDN: 0825078802

KARYA TULIS ILMIAH TELAH DISEMINARKAN DAN DIUJI
OLEH TIM PENGUJI PADA HARI SENIN TANGGAL 10 JULI TAHUN 2023

OLEH
DEWAN PENGUJI

Ketua

Apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm
NIDN: 0817038601

(.....)

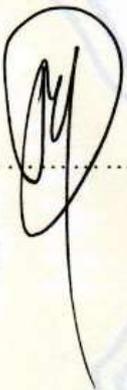

Anggota I

Apt. Yuli Fitriana, M.Farm
NIDN. 0822078202

(.....)


Anggota II

Apt. Safwan, M.Sc.,Ph.D
NIDN. 0825078802

(.....)


Mengetahui,
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Mataram,

Dekan,

(Apt. Nurul Qiyaam, M.Farm. Klin)
NIDN: 0827108402

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, mahasiswa Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Mataram

Nama : Angelika Putri Ruditha

NIM : 2020E0B014

Program Studi : D3 Farmasi

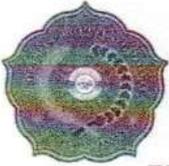
Dengan ini menyatakan:

1. Karya Tulis Ilmiah yang berjudul:
“Potensi Antioksidan dari Fraksi Air, N-heksan & Etil Asetat Ekstrak Etanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*” ini merupakan hasil karya tulis asli yang saya ajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Semua sumber yang saya gunakan dalam penulisan karya tulis tersebut telah saya cantumkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. Jika di kemudian hari terbukti bahwa karya tulis saya tersebut terbukti hasil jiplakan dari orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi yang berlaku di Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Mataram, 21 Juli 2023



(Angelika Putri Ruditha)
NIM. 2020E0B014



**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT**

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram

Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

**SURAT PERNYATAAN BEBAS
PLAGIARISME**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Angelika Putri Ruditha
NIM : 2020E06014
Tempat/Tgl Lahir : Plampang, 19 Juli 2000
Program Studi : D3 Farmasi
Fakultas : Ilmu Kesehatan
No. Hp : 085253180515
Email : angelikapr19@gmail.com

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi/KTI/Tesis* saya yang berjudul :

Potensi Antioksidan dari Fraksi Air, N-heksan x Etil Asetat Ekstrak
Etanol Akar Merah Eucheuma spinosum

Bebas dari Plagiarisme dan bukan hasil karya orang lain. 4/4 9

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian dari Skripsi/KTI/Tesis* tersebut terdapat indikasi plagiarisme atau bagian dari karya ilmiah milik orang lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dan disebutkan sumber secara lengkap dalam daftar pustaka, saya **bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum** sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya tanpa ada paksaan dari siapapun dan untuk dipergunakan sebagai mana mestinya.

Mataram, 15 November 2023

Penulis

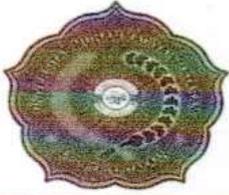


Angelika Putri Ruditha
NIM. 2020E06014

Mengetahui,
Kepala UPT, Perpustakaan UMMAT

Iskandar, S.Sos., M.A.
NIDN. 0802048904

*pilih salah satu yang sesuai



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PEPRUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jalan K.H. Ahmad Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : upt.perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Angelika Putri Ruditha
NIM : 2020E08014
Tempat/Tgl Lahir : Plampang, 19 Juli 2000
Program Studi : DS Farmasi
Fakultas : Ilmu Kesehatan
No. Hp/Email : 085253180515
Jenis Penelitian : Skripsi KTI Tesis

Menyatakan bahwa demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Mataram hak menyimpan, mengalih-media/format, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Repository atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama *tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta* atas karya ilmiah saya berjudul:

Potensi Antiksidan dari Fraksi Air N-heksan & Etil Asetat Ekstrak
Etanol Alga Merah Eucheuma spinosum

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Mataram, 15 November 2023
Penulis

Mengetahui,
Kepala UPT. Perpustakaan UMMAT



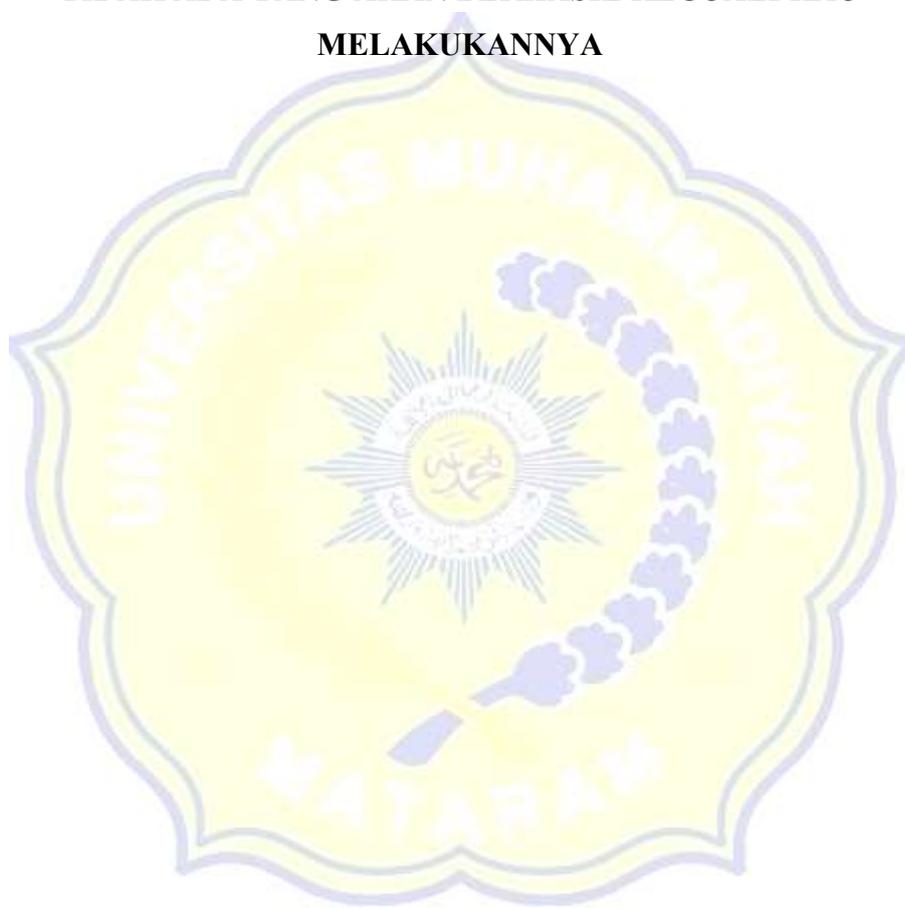
Angelika Putri Ruditha
NIM. 2020E08014



Iskandar, S.Sos.,M.A.
NIDN. 0802048904

MOTTO

**TIDAK ADA YANG AKAN BERHASIL KECUALI KAU
MELAKUKANNYA**



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Potensi Antioksidan Dari Fraksi Air, N-Heksan & Etil Asetat Ekstrak Etanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*”** dengan sebaik-baiknya. Sholawat serta salam senantiasa terucap kepada junjungan alam Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman yang jahiliah menuju zaman yang penuh dengan ilmu, sehingga kita semua dapat merasakan nikmatnya dunia pengetahuan seperti saat ini.

Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi syarat pelaksanaan penyusunan Karya Tulis Ilmiah atau tugas akhir pada program studi Diploma III Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram. Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dapat terlaksana dengan baik dan lancar tidak lepas dari bantuan dan peran serta berbagai pihak. Pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada :

1. Apt. Nurul Qiyaam, M.Farm., Klin selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Cahaya Indah Lestari, M.Keb selaku Wakil Dekan I Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. Apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm selaku Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram sekaligus merupakan

pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu untuk membimbing saya dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah sehingga saya dapat menyelesaikannya dengan baik.

4. Apt. Cyntiya Rahmawati, M.K.M. selaku Kepala Program Studi Diploma III Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
5. Apt. Safwan, M.Sc., Ph.D selaku pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu untuk membimbing saya dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah sehingga saya dapat menyelesaikannya dengan baik.
6. Apt. Yuli Fitriana, M.Farm selaku dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan meluangkan waktu untuk membimbing saya dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah sehingga saya dapat menyelesaikannya dengan baik.
7. Diri saya sendiri yang tidak pernah menyerah dalam keadaan apapun, sehingga dapat melakukan kewajiban saya sebagai seorang mahasiswa untuk menyusun tugas akhir saya seperti sekarang ini.
8. Kedua orang tua yang sangat saya cintai yang senantiasa selalu mendo'akan dan memberikan dukungannya serta memberi bantuan materil kepada saya dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Kedua adik saya yang senantiasa memberikan semangat dan bantuan materil dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
10. Semua sahabat, teman-teman, dan kerabat yang senantiasa mendukung, memberi semangat dan menemani peneliti dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

11. Pratu Muh. Ramdani yang senantiasa mendukung, memberi semangat dan menemani peneliti dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak luput dari kesalahan, mengingat peneliti adalah seorang manusia biasa yang jauh dari kata sempurna. Akhir kata peneliti ingin menyampaikan permohonan maaf yang sebesar-besarnya apabila terdapat kesalahan kata dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini. Harapan peneliti agar nantinya Karya Tulis Ilmiah ini dapat dimanfaatkan dan dipergunakan sebaik-baiknya.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Mataram, Juli 2023

Peneliti



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM

FAKULTAS ILMU KESEHATAN PROGRAM STUDI DIII FARMASI

TAHUN 2023

POTENSI ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI AIR, N-HEKSAN & ETIL
ASETAT EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH *Eucheuma spinosum*

ANGELIKA PUTRI RUDITHA, 2023

Pembimbing: (1) Abdul Rahman W, (2) Safwa n, (3) Yuli Fitriana

ABSTRAK

Alga merah *Eucheuma spinosum* mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, triterpenoid, alkaloid, dan asam askorbat yang sangat berperan penting sebagai antioksidan. Antioksidan dapat meredam aktivitas radikal bebas yang menimbulkan kerusakan diberbagai bagian sel dan menyebabkan berbagai penyakit berbahaya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antioksidan dari ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* yang lebih murni. Metode penelitian ini menggunakan penelitian kuantitatif *Experimental Laboratorium Design (ELD)* dengan sampel alga merah, yang dibuat menjadi simplisia, diekstraksi dengan etanol 70%, difraksinasi, kemudian diuapkan, lalu semua fraksi diuji antioksidan dengan metode DPPH, dengan instrument spektrofotometri UV-Vis, dan diperoleh nilai IC_{50} . Analisis data menggunakan *Anova One Way* dan *Pos-Hoc Tukey*. Hasil uji aktivitas antioksidan dari fraksi air, n-heksan dan etil asetat dengan konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm terbukti bahwa ketiga fraksi memiliki aktivitas antioksidan, tapi fraksi air memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 36,695 ppm dengan kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm). Kesimpulannya alga merah *Eucheuma spinosum* mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

Kata kunci: *Eucheuma spinosum*, Fraksi, Antioksidan, Potensi.

MUHAMMADIYAH UNIVERSITY OF MATARAM
FACULTY OF HEALTH SCIENCE DIII PHARMACY STUDY PROGRAMME
YEAR 2023

ANTIOXIDANT POTENTIAL OF WATER, N-HEXSAN & ETHYLASETATE
FRACTIONS OF ETANOL EXTRACT OF RED ALGA *Eucheuma spinosum*
ANGELIKA PUTRI RUDITHA, 2023

Supervisors: (1) Abdul Rahman W, (2) Safwan, (3) Yuli Fitriana

ABSTRACT

Red algae Eucheuma spinosum contains various secondary metabolites such as flavonoids, triterpenoids, alkaloids, ascorbic acid, and essential antioxidants. Antioxidants can reduce the activity of free radicals that cause damage to various parts of the cell and cause multiple dangerous diseases. This study aimed to determine the antioxidant potential of ethanol extract of purer red algae Eucheuma spinosum. This research method uses quantitative research Experimental Laboratory Design (ELD) with red algae samples, which are made into simplistic, extracted with 70% ethanol, fractionated, then evaporated, then all fractions are tested for antioxidants with the DPPH method, with UV-Vis spectrophotometric instruments, and obtained IC50 values. Data analysis using One Way Anova and Post-Hoc Tukey. The results of antioxidant activity tests of water, n-hexane and ethyl acetate fractions with concentrations of 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm and 100 ppm proved that the three fractions had antioxidant activity. Still, the water fraction had the highest antioxidant activity with an IC50 value of 36.695 ppm with a very strong category (IC50 < 50 ppm). In conclusion, red algae Eucheuma spinosum contains secondary metabolite compounds, namely flavonoids with antioxidant activity.

Keywords: *Eucheuma spinosum*, Fraction, Antioxidant, Potential.

MENGESAHKAN
SALINAN FOTO COPY SESUAI ASLINYA
MATARAM _____



DAFTAR ISI

JUDUL KARYA TULIS ILMIAH	i
LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING	ii
LEMBAR SUSUNAN DEWAN PENGUJI	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	v
SURAT PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA TULIS ILMIAH	vi
MOTO HIDUP	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat.....	3
1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan (<i>Scientific</i>)	3
1.4.2 Bagi Pengguna (<i>Consumer</i>).....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Alga	4
2.1.1 Klasifikasi Alga Merah <i>Eucheuma Spinosum</i>	4
2.1.2 Morfologi Alga Merah <i>Eucheuma Spinosum</i>	5
2.1.3 Kandungan Kimia Alga Merah <i>Eucheuma Spinosum</i>	5
2.1.4 Pemanfaatan Alga Merah <i>Eucheuma Spinosum</i>	6
2.1.5 Skrining Fitokimia	6
2.1.6 Flavonoid	7

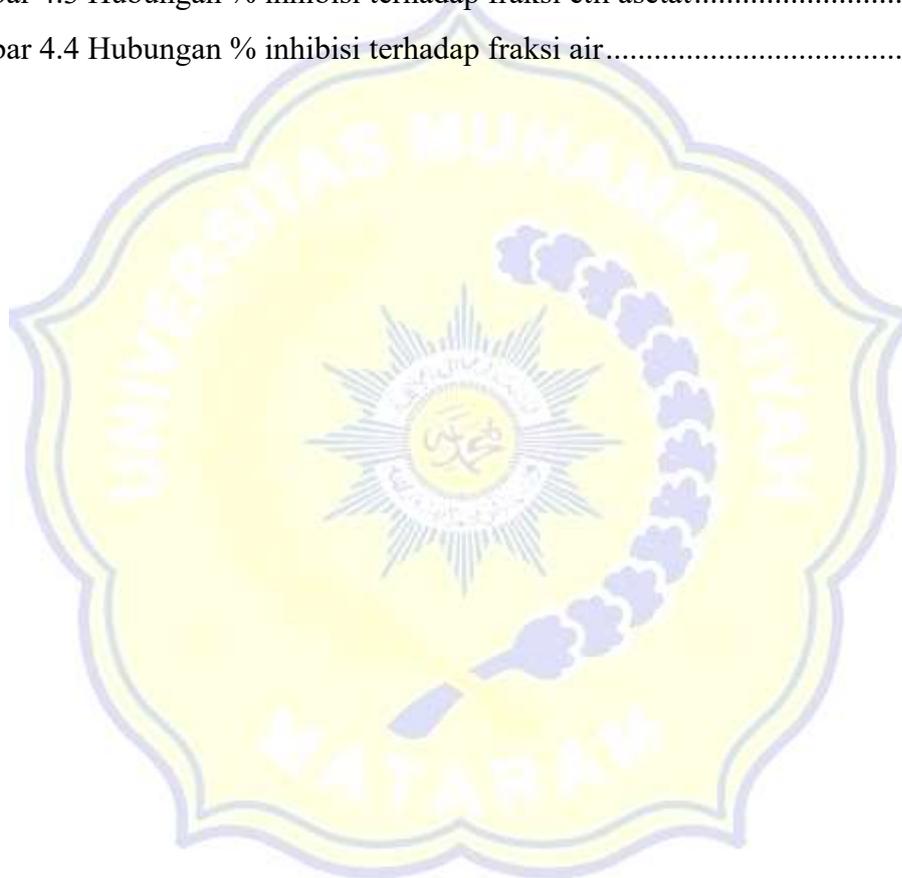
2.1.7	Fraksinasi	7
2.2	Pelarut.....	9
2.2.1	Jenis-jenis Pelarut Berdasarkan Kepolaran.....	10
2.3	Antioksidan	10
2.4	Spektrofotometer	11
2.5	Antioksidan Metode DPPH	12
2.6	Simplisia.....	14
2.6.1	Definisi Simplisia	14
2.6.2	Tahap Pembuatan Simplisia.....	15
2.7	Ekstraksi	16
2.7.1	Definisi	16
2.7.2	Metode Ekstraksi.....	17
2.8	Keaslian Penelitian	18
2.9	Kerangka Teori.....	21
2.10	Kerangka Konsep	22
2.11	Hipotesis	23
BAB III	METODE PENELITIAN	24
3.1	Desain Penelitian	24
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.3	Variabel Penelitian	24
3.4	Definisi Operasional.....	25
3.5	Sampel.....	26
3.6	Alat dan Bahan	26
3.7	Pembuatan Simplisia Sampel Alga Merah.....	27
3.8	Ekstraksi sampel Alga Merah.....	27
3.9	Skrining Fitokimia	28
3.10	Fraksinasi Sampel Ekstrak Alga Merah	28
3.11	Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.....	29
3.12	Metode Pengolahan dan Analisis Data	31
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Pembuatan Ekstrak Etanol Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	33

4.2	Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Alga Merah <i>Euclima spinosum</i>	34
4.3	Pembuatan Fraksi Air, N-heksan, dan Etil asetat Ekstrak Etanol Alga Merah <i>Euclima spinosum</i>	34
4.4	Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, N-heksan, dan Etil Asetat Ekstrak Etanol Alga Merah <i>Euclima spinosum</i>	34
4.4.1	Penentuan Panjang Maksimum DPPH	35
4.4.2	Quersetin.....	36
4.4.3	N-Heksan	36
4.4.4	Etil Asetat	38
4.4.5	Air	39
4.5	Keterbatasan Penelitian	45
BAB V PENUTUP		46
5.1	Kesimpulan.....	46
5.2	Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA		47



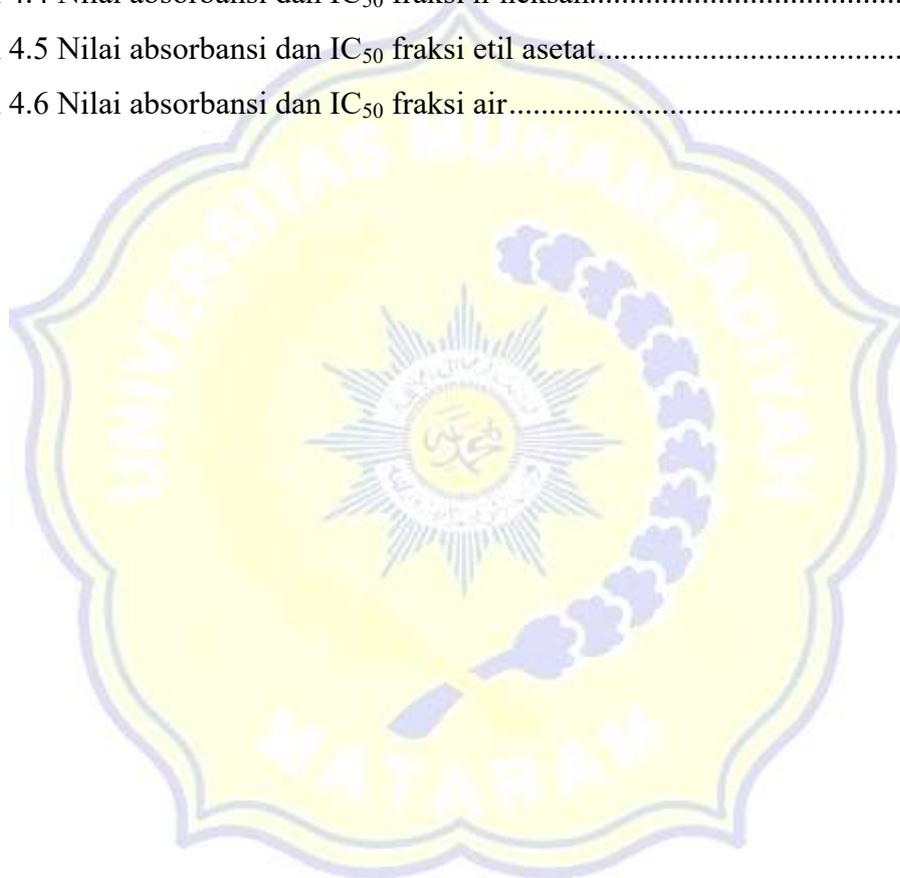
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i> (Nopianti, 2022).....	4
Gambar 2.2 Penangkapan Radikal Bebas oleh Antioksidan (Ibrahim, 2018).....	11
Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Juniarti, 2011).....	14
Gambar 4.1 Hubungan % inhibisi terhadap quersetin	38
Gambar 4.2 Hubungan antara % inhibisi terhadap fraksi n-heksan.....	39
Gambar 4.3 Hubungan % inhibisi terhadap fraksi etil asetat.....	41
Gambar 4.4 Hubungan % inhibisi terhadap fraksi air.....	42



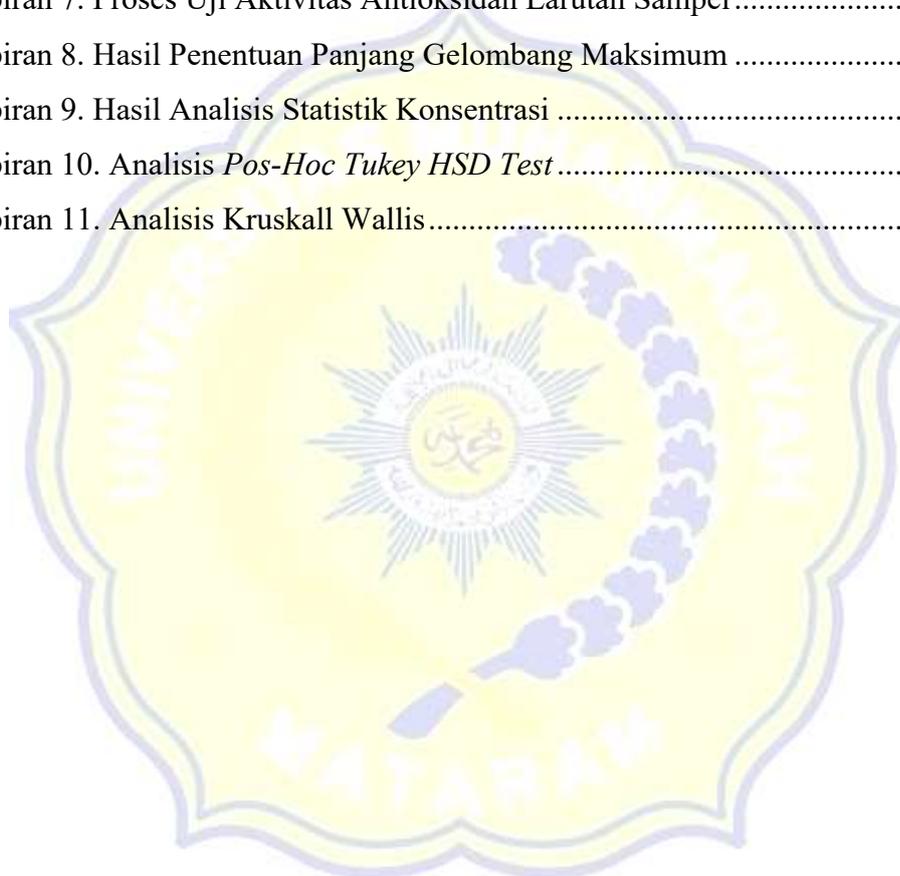
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH	13
Tabel 2.2 Keaslian Penelitian.....	19
Tabel 4.1 Hasil nilai λ_{maks} Fraksi.....	36
Tabel 4.2 Hasil nilai λ_{maks} DPPH	37
Tabel 4.3 Nilai absorbansi dan IC_{50} quersetin	38
Tabel 4.4 Nilai absorbansi dan IC_{50} fraksi n-heksan.....	39
Tabel 4.5 Nilai absorbansi dan IC_{50} fraksi etil asetat.....	41
Tabel 4.6 Nilai absorbansi dan IC_{50} fraksi air.....	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar Keterangan Telah Uji Aktivitas Antioksidan.....	50
Lampiran 2. Perhitungan % Rendemen dan Ekstraksi.....	51
Lampiran 3. Perhitungan IC ₅₀	52
Lampiran 4. Proses Pembuatan Ekstrak.....	54
Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokimia	55
Lampiran 6. Proses Pembuatan Fraksi	56
Lampiran 7. Proses Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Sampel	57
Lampiran 8. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	58
Lampiran 9. Hasil Analisis Statistik Konsentrasi	61
Lampiran 10. Analisis <i>Pos-Hoc Tukey HSD Test</i>	63
Lampiran 11. Analisis Kruskal Wallis	64



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Myra pada tahun 2022 menyatakan bahwa alga merah *Eucheuma spinosum* dengan pelarut etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai tertinggi IC_{50} sebesar 101.18 (Nopianti, 2022). Berdasarkan hasil penelitian tersebut peneliti termotivasi untuk melakukan penelitian terhadap potensi antioksidan dari sampel yang lebih murni, yaitu pada fraksinasi air, n-heksan, dan etil asetat ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum*.

Pengaruh fraksinasi terhadap kadar antioksidan diharapkan dapat lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Najihudin, Chaerunisaa, & Subarnas, 2017) fraksinasi kulit batang trengguli fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling baik dengan nilai IC_{50} 3,980 $\mu\text{g/ml}$. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Septiani, Marianne, & Nainggolan, 2018) fraksinasi daun jambang dengan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 5,31 $\mu\text{g/ml}$. Dan Penelitian yang dilakukan oleh (Hasanah, Maharani, & Munarsih, 2017) fraksinasi daun kopi robusta menyatakan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC_{50} 37,07 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Putra, Mahardika, & Permatasari, 2021) fraksinasi kulit buas naga merah dengan fraksi air

mempunyai aktivitas antioksidan paling kuat, yaitu dengan nilai IC_{50} 73,464 $\mu\text{g/ml}$.

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang lain yaitu penelitian ini melakukan pengujian potensi antioksidan menggunakan fraksi air, n-heksan, dan etil asetat ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* yang dilakukan pada bulan Mei 2023 sampai bulan Juni 2023 di Laboratorium Biologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Persamaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu penelitian ini menggunakan pelarut etanol dalam proses ekstraksi maserasi dan menggunakan instrumen Spektrofotometri dengan metode DPPH pada pengujian aktivitas antioksidannya.

Melakukan pengujian potensi antioksidan dianggap penting karena antioksidan dapat meredam aktivitas radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel dan menyebabkan berbagai penyakit seperti tumor, kanker, aterosklerosis, katarak, keriput, penuaan dan lainnya (Widyowati, Ulfah, & Sumantri, 2014).

Dan tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk menentukan kadar antioksidan ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* yang lebih murni dengan menggunakan fraksi air, n-heksan, dan etil asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah fraksi air, n-heksan, dan etil asetat ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* berpotensi memiliki aktivitas antioksidan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah dalam penelitian, tujuan yang ingin dicapai adalah untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan fraksi air, n-heksan, dan etil asetat ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum*.

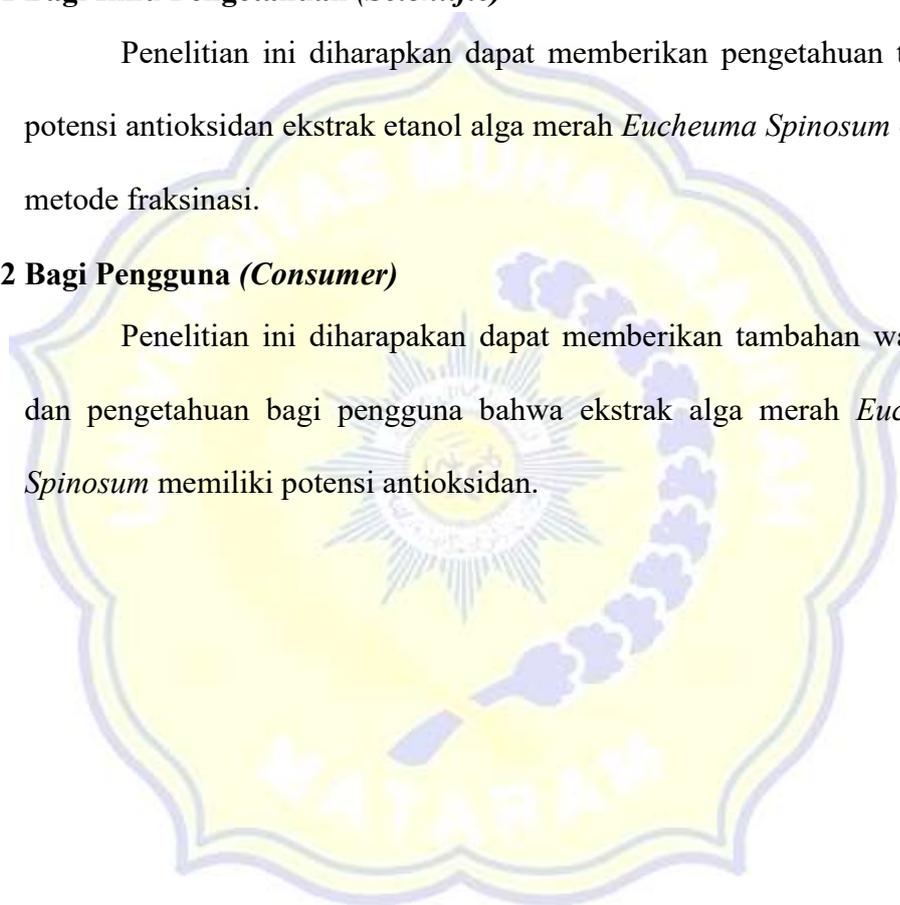
1.4 Manfaat

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan (*Scientific*)

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang potensi antioksidan ekstrak etanol alga merah *Eucheuma Spinosum* dengan metode fraksinasi.

1.4.2 Bagi Pengguna (*Consumer*)

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan wawasan dan pengetahuan bagi pengguna bahwa ekstrak alga merah *Eucheuma Spinosum* memiliki potensi antioksidan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga

2.1.1 Klasifikasi Alga Merah *Eucheuma Spinosum*

Eucheuma Spinosum merupakan salah satu jenis rumput laut kelas Rhodophyceae (ganggang merah).



Gambar 2.1 Alga Merah *Eucheuma spinosum* (Nopianti, 2022)

Klasifikasi alga merah jenis *Eucheuma Spinosum* menurut (Aslan, 1998):

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Thallophyta*

Subdivisi : *Algae*

Kelas : *Rhodophyceae*

Ordo : *Nemastomales*

Famili : *Rhodophyllidaceae*

Genus : *Eucheuma*

Spesies : *Eucheuma spinosum*

2.1.2 Morfologi Alga Merah *Eucheuma Spinosum*

Rumput laut biasa disebut dengan spinosum, istilah yang menunjukkan ciri khas durinya yang tajam dalam bidang perdagangan. Rumput laut mempunyai warna yang bermacam-macam, antara lain coklat tua, hijau coklat, hijau kuning, dan merah ungu. Selain ciri-ciri lainnya, thallus organisme ini memiliki bentuk silinder, serta tekstur seperti lilin dan kenyal. (Sudrajat, 2008).

Eucheuma Spinosum dicirikan oleh thallus silindris dengan cabang yang ujungnya tajam atau tumpul. Cabang-cabang ini ditutupi bintil-bintil berbentuk duri yang tersusun secara berputar teratur. Jumlah duri pada *Eucheuma Spinosum* lebih banyak dibandingkan *Eucheuma Cottonii*. Jaringan pusat terdiri dari filamen transparan dan diselimuti oleh sel-sel yang cukup besar, lapisan korteks, dan lapisan epidermis. Pembelahan sel terjadi di daerah apikal thallus. (Anggadireja, Zalnika, Purwoto, & Istini, 2006).

Alga merah *Eucheuma Spinosum* memiliki tinggi mencapai 30 cm. Organisme ini melekat pada substrat melalui alat yang berbentuk cakram. Cabang awal dan selanjutnya berkembang menjadi kelompok padat dengan ciri khas yang menunjukkan orientasi sinar matahari. Cabang-cabang tertentu menunjukkan pemanjangan, sementara yang lain memiliki bentuk melengkung menyerupai tanduk. (Atmaja & Setyowati, 2012)

2.1.3 Kandungan Kimia Alga Merah *Eucheuma Spinosum*

Alga merah *Eucheuma Spinosum* mengandung berbagai macam metabolit sekunder seperti flavonoid, triterpenoid, alkaloid, dan asam askorbat. Berbagai golongan senyawa yang terdapat dalam alga merah *Eucheuma Spinosum* sangat berperan penting sebagai antioksidan (Mardiyah, Fasya, & Amalia, 2014).

2.1.4 Pemanfaatan Alga Merah *Eucheuma Spinosum*

Alga menjanjikan sebagai bahan baku kosmetik serbaguna karena kandungan dan fungsinya. Selain itu, biomekanismenya memungkinkan terjadinya diversifikasi, menjadikannya bahan potensial untuk kosmetik obat dan sediaan herbal di industri farmasi. Alga, karena sifat antioksidannya, memiliki potensi aplikasi sebagai agen anti kanker dan anti penuaan dengan secara efektif mengurangi spesies oksigen reaktif (ROS) dan menghambat pembentukan matriks metalloproteinase (MMP). Selain berperan sebagai pewarna, pigmen yang terdapat pada alga juga berfungsi sebagai agen imunoprotektif dan menangkal efek berbahaya radikal bebas, yang berhubungan dengan kanker pencernaan, radang sendi, dan penuaan dini. (Oktarina, 2017).

2.1.5 Skrining Fitokimia

Pada tumbuhan terdapat senyawa organik yang dibagi menjadi dua kelompok berbeda, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer, termasuk karbohidrat, lemak, dan protein, memainkan peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan organisme.

Metabolit sekunder merupakan senyawa bioaktif yang disintesis oleh tanaman yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangga, bakteri, jamur, dan patogen lainnya. (Julianto, 2019).

Skrining fitokimia merupakan langkah awal dalam penelitian fitokimia yang berupaya memberikan pemahaman komprehensif tentang jenis senyawa yang ada pada tanaman yang diteliti. (Kristianti, Aminah, Tanjung, & dan Kurniadi, 2008). Penelitian ini akan melakukan pengujian senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid.

2.1.6 Flavonoid

Flavonoid mewakili kategori senyawa fenolik paling melimpah yang terjadi secara alami. Senyawa ini meliputi pewarna merah, ungu, dan biru, serta pewarna kuning tertentu yang terdapat secara alami pada tumbuhan. Flavonoid memiliki struktur karbon dasar yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana susunan C₆-C₃-C₆ dibentuk oleh ikatan dua cincin benzena (C₆) ke rantai propana (C₃). Susunan ini dapat menghasilkan tiga struktur berbeda: 1,3-diarilpropana dan neoflavonoid. Senyawa flavonoid dapat diklasifikasikan menjadi beberapa jenis berdasarkan tingkat oksidasi rantai propana dalam sistem 1,3-diarilpropana. Flavon, flavonol, dan antosianidin merupakan jenis flavonoid yang umum ditemukan, sehingga sering dikenali sebagai subkelas utama dalam kelompok ini. Beragamnya senyawa flavonoid muncul dari variasi tingkat hidrosilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi dalam strukturnya. (Gafur, Isa, & Bialangi, 2011).

2.1.7 Fraksinasi

Fraksinasi adalah teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan kelompok berbeda dalam suatu zat. Senyawa polar lebih menyukai pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar cenderung lebih menyukai pelarut nonpolar. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Fraksinasi berasal dari istilah "pecahan" atau "bagian", yang mengacu pada tindakan membagi suatu kumpulan atau unit menjadi beberapa bagian. Ini dapat dipahami sebagai metode memisahkan atau mengurutkan suatu kelompok menjadi pecahan atau divisi yang berbeda. Ekstrak tumbuhan dapat mengandung banyak senyawa, mulai dari puluhan hingga ratusan. Proses fraksinasi memungkinkan pembagian ekstrak yang mengandung 100 senyawa menjadi empat fraksi berbeda (A, B, C, dan D), masing-masing terdiri dari sekitar 25 jenis senyawa berbeda. Selanjutnya segmentasi kelompok tahap kedua dapat dilakukan melalui proses pembagian kelompok sasaran atau kelompok terpilih menjadi pecahan-pecahan yang lebih kecil. Artinya dari 100 senyawa tersebut dilakukan pemisahan yang dibagi menjadi empat kelompok pemisahan yang dibagi masing-masing 25 senyawa. Kemudian dipisahkan perkelompoknya untuk mengambil masing-masing senyawa yang terdapat pada ekstrak tersebut. Misalnya, jika pecahan B dipilih berdasarkan evaluasi yang cermat atau hasil tes, pecahan tersebut selanjutnya dapat difraksinasi menjadi lima pecahan atau kelompok yang lebih kecil (misalnya, B1, B2, B3, B4, dan

B5). Masing-masing fraksi ini mengandung sekitar lima jenis senyawa berbeda. Selanjutnya dilakukan pengujian lanjutan untuk memperoleh porsi yang diinginkan. Jika dipilih fraksi B3, maka secara teknis dimungkinkan untuk mengisolasi salah satu senyawanya, misalnya B3-2 (senyawa kedua di antara lima senyawa pada fraksi B3). (Nugroho, 2017).

Fraksinasi memiliki berbagai tujuan, termasuk isolasi fraksi tertentu dari ekstrak. Hal ini sangat penting bila fraksi yang diinginkan adalah komponen aktif, sehingga memerlukan pemisahan dari fraksi yang kurang aktif. Selain itu, fraksinasi dapat digunakan untuk mendapatkan ekstrak yang lebih murni dengan menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan. -polutan lain atau senyawa pengganggu. Fraksinasi diperlukan untuk isolasi atau pemisahan senyawa metabolit sekunder individu. (Nugroho, 2017).

Fraksinasi dapat dicapai melalui berbagai metode seperti ekstraksi cair-cair atau dengan menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak yang ditentukan. (Nugroho, 2017).

2.2 Pelarut

Senyawa tumbuhan dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut. Memilih pelarut yang tepat merupakan pertimbangan penting dalam prosedur ekstraksi. Pilihan dan kualitas pelarut merupakan faktor penting dalam menentukan kemanjuran proses ekstraksi (Harborne, 1987). Ekstraksi pelarut adalah proses yang mengandalkan polaritas zat dalam pelarut untuk ekstraksi.

2.2.1 Jenis-jenis Pelarut Berdasarkan Kepolaran

1. Pelarut Polar

Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air (R J Gritter. J M Bobbitt, 1991).

2. Pelarut non-polar

Senyawa nonpolar hanya larut dalam pelarut nonpolar, seperti eter, kloroform, dan n-heksana. (R J Gritter. J M Bobbitt, 1991).

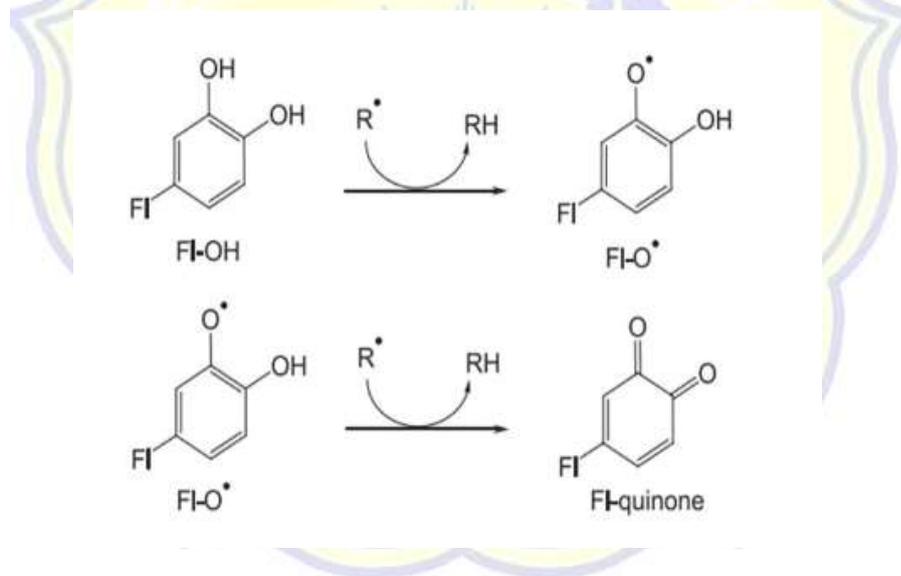
3. Pelarut semi polar

Pelarut semi polar mempunyai kemampuan menarik berbagai senyawa seperti likopen, betakaroten, vitamin C, padatan terlarut, dan total fenol (Ma'sum J., 2014). Pelarut harus mempunyai kemampuan untuk melarutkan zat yang diinginkan, memiliki titik didih rendah, hemat biaya, tidak beracun, dan mudah terbakar. (Harborne, 1987).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang secara efektif dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi berantai bila hadir dalam konsentrasi rendah. Antioksidan memiliki kemampuan untuk melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan memiliki kemampuan untuk mentransfer elektron ke radikal bebas, sehingga menstabilkannya dan mencegah reaksi berantai selanjutnya. Antioksidan yang umum termasuk beta-karoten, likopen, vitamin C, dan vitamin E. (Santoso, 2014).

Antioksidan dapat dikategorikan menjadi dua kelompok: enzim antioksidan dan vitamin. Enzim antioksidan terdiri dari superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione ferrosidase (GSH.Prx). Vitamin antioksidan meliputi alfa-tokoferol (vitamin E), beta-karoten, dan asam askorbat (vitamin C). Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat atau menetralkan efek berbahaya dari radikal bebas, dimana Vitamin umumnya lebih disukai daripada enzim karena sifat antioksidannya. Flavonoid adalah antioksidan yang terdapat dalam vitamin dan fitokimia. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menyerap molekul tidak stabil yang disebut radikal bebas (Santoso, 2014).



Gambar 2.2 Penangkapan Radikal Bebas oleh Antioksidan (Ibrahim, 2018)

Gambar menunjukkan mekanisme senyawa flavonoid menangkap radikal bebas. Senyawa flavonoid tunggal dapat melakukan fungsi ganda dalam proses penangkapan. Senyawa flavonoid mengikat radikal bebas sehingga terjadilah terbentuknya senyawa radikal flavonoid. Senyawa tersebut

selanjutnya akan mengais dan menangkap radikal bebas tambahan, sehingga mengarah pada pembentukan senyawa flavonoid kuinon yang stabil.

2.4 Spektrofotometer

Spektrofotometer terdiri dari dua komponen: spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer digunakan untuk menentukan suatu senyawa secara kuantitatif dan kualitatif dengan mengukur transmitansi atau serapan sampel yang berkaitan dengan konsentrasi. Di sisi lain, fotometer digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diserap. Spektrometer memancarkan cahaya dalam rentang panjang gelombang tertentu. Spektrofotometer terdiri dari sumber cahaya tampak, monokromator, sel penyerap untuk sampel atau larutan blanko, dan alat untuk mengukur perbedaan serapan antara sampel dan blanko atau kontrol. (Bambang & D, 2019).

Spektrofotometri UV-Vis terutama digunakan untuk analisis kuantitatif karena adanya energi elektronik yang signifikan dalam molekul yang diperiksa. Spektrofotometri melibatkan pembangkitan cahaya monokromatik dari sumber cahaya. Cahaya selanjutnya diarahkan ke kuvet yang merupakan lokasi sampel. Detektor mengukur transmisi cahaya atau penyerapan larutan, yang kemudian ditransmisikan ke pembaca layar. (Bambang & D, 2019).

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan sampel dalam bentuk larutan, gas atau uap. Dalam hal sampel dalam bentuk larutan, harus diperhatikan bahwa pelarut yang digunakan tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi dalam struktur molekulnya dan tidak berwarna,

bahwa tidak ada interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan kemurniannya harus tinggi. (Mulja & Suharman, 1995).

2.5 Antioksidan Metode DPPH

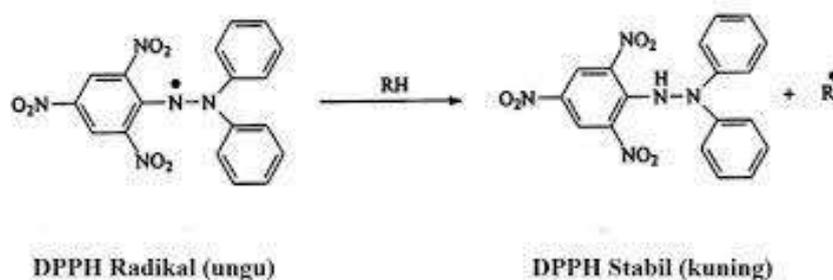
Parameter yang umum digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH adalah nilai konsentrasi efektif yang disebut juga EC_{50} atau IC_{50} . Hal ini mengacu pada konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menetralkan 50% radikal DPPH, atau konsentrasi yang menyebabkan penghambatan 50% sifat radikal DPPH. Zat yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat ditandai dengan nilai EC_{50} atau IC_{50} yang rendah. Suatu zat menunjukkan sifat antioksidan ketika nilai IC_{50} nya melebihi 200 ppm. Suatu zat dengan nilai IC_{50} berkisar antara 200 hingga 1000 ppm menunjukkan aktivitas yang berkurang, namun tetap memiliki potensi sebagai antioksidan. (Bambang & D, 2019).

Tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat diklasifikasikan menurut nilai IC_{50} . (Bambang & D, 2019):

Tabel 2.1 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	151-200
Sangat lemah	>200

Metode DPPH mengandalkan kapasitas antioksidan untuk menghambat radikal bebas melalui sumbangan atom hidrogen. Perubahan warna yang diamati pada DPPH, khususnya dari ungu menjadi ungu kemerahan atau kuning, digunakan sebagai alat untuk menilai kemanjuran senyawa antioksidan. (Richard, 2016).



Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Juniarti, 2011).

Metode DPPH memiliki keuntungan karena kesederhanaan, kecepatan, kemudahan analisis, dan sensitivitas terhadap sampel konsentrasi rendah. Namun, penerapannya terbatas karena DPPH hanya larut dalam pelarut organik, sehingga menimbulkan tantangan dalam analisis senyawa berair. Kendala ini menghambat kemampuan untuk memastikan fungsi antioksidan hidrofilik (Richard, 2016).

2.6 Simplisia

2.6.1 Definisi Simplisia

Simplisia mengacu pada bahan-bahan alami yang belum diolah yang digunakan dalam pengobatan, biasanya dalam bentuk bahan kering, kecuali ditentukan lain. Simplisia dapat dibedakan menjadi tiga jenis utama, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

1. Simplisia nabati

Simplisia tumbuhan adalah bahan tumbuhan yang dapat berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan mengacu pada isi seluler yang dilepaskan secara spontan atau sengaja diekstraksi dari sel tumbuhan.

2. Simplisia hewani

Simplisia hewan adalah hewan utuh atau bahan yang berasal dari hewan yang belum dimurnikan menjadi bahan kimia murni.

3. Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan adalah bahan pelikan yang telah mengalami pengolahan minimal dan belum mencapai status bahan kimia murni.

2.6.2 Tahap Pembuatan Simplisia

Ada beberapa tahapan dalam pembuatan simplisia yaitu :

a. Pengumpulan bahan baku

Pengumpulan bahan baku merupakan tahap kritis yang sangat mempengaruhi kualitas bahan. Waktu panen menjadi penentu utama pada tahap ini. Waktu panen bergantung pada persyaratan spesifik, tujuan, dan pemanfaatan komponen aktif. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

b. Sortasi basah

Penyortiran dilakukan terhadap berbagai jenis bahan organik, seperti tanah, kerikil, rumput, dan bahan tanaman yang tidak terpakai

atau rusak karena faktor seperti konsumsi ulat atau organisme lain. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada permukaan, khususnya zat-zat yang berasal dari tanah dan zat-zat yang terkontaminasi pestisida. Mencuci biasanya melibatkan penggunaan air bersih yang mengalir. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

d. Perajangan

Tujuan mengasah atau mengubah bentuk adalah untuk menambah luas permukaan bahan baku. Proses pengeringan bahan mentah dipercepat seiring dengan bertambahnya luas permukaan. Proses transformasinya meliputi beberapa perlakuan seperti pemotongan rimpang, daun, dan herba berdasarkan ukurannya, mengupas buah, cangkang, dan biji besar, membuang biji dari tongkol jagung, serta memotong akar, batang, kayu, kulit kayu, dan ranting. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

e. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air guna mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri, serta menghambat aktivitas enzim yang dapat menurunkan kandungan bahan aktif dan memperlancar proses selanjutnya. (Bambang & D, 2019).

f. Sortasi kering

Penyortiran kering melibatkan pemilihan bahan yang telah dikeringkan. Bahan yang tidak dapat digunakan termasuk bahan yang terbakar berlebihan, rusak, atau tidak mengalami pengeringan yang merata.

2.7 Ekstraksi

2.7.1 Definisi

Ekstraksi melibatkan pemisahan zat kimia yang larut dari bahan yang tidak larut melalui penggunaan pelarut cair. Kandungan aktif yang terdapat dalam simplisia berbeda-beda dapat dikategorikan menjadi minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan senyawa lainnya. Memahami bahan aktif yang ada dalam simplisia memudahkan pemilihan pelarut dan metode yang sesuai. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.7.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua cara yaitu :

1. Ekstraksi cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah Metode ekstraksi berbasis pelarut yang melibatkan pengadukan berulang atau pada suhu sekitar. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah Ekstraksi biasanya dilakukan pada suhu kamar menggunakan pelarut yang segar dan optimal secara konsisten. Prosesnya melibatkan tiga tahap: pengembangan zat, maserasi perantara, dan perkolasi. Tahap perkolasi menghasilkan ekstrak yang berukuran 15 kali lebih besar dari bahan aslinya. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2. Ekstraksi cara panas

a. Soxhlet (Sokhletasi)

Sokletasi adalah Ekstraksi berkelanjutan biasanya dilakukan dengan menggunakan peralatan khusus dan pelarut yang terus diisi ulang. Proses ini memastikan jumlah pelarut yang konsisten dipertahankan melalui pendinginan balik. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

b. Refluks

Refluks adalah Ekstraksi melibatkan penggunaan pelarut dalam jumlah tetap dengan suhu titik didih yang konsisten, dan menerapkan pendinginan terbalik dalam durasi tertentu. Biasanya, proses ekstraksi diulang 3-5 kali pada residu awal untuk mencapai ekstraksi optimal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

c. Infus (infudasi)

Infus adalah Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut air pada waterbath suhu 96-98°C dengan durasi 15 menit. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

d. Dekok

Dekok adalah Ekstraksi air dilakukan pada waterbath suhu 96-98°C dengan durasi 30 menit. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

e. Digesti

Digesti adalah Maserasi kinetik dilakukan pada suhu tinggi, khususnya dalam kisaran 40-50°C. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8 Keaslian Penelitian

Tabel 2.2 Keaslian Penelitian

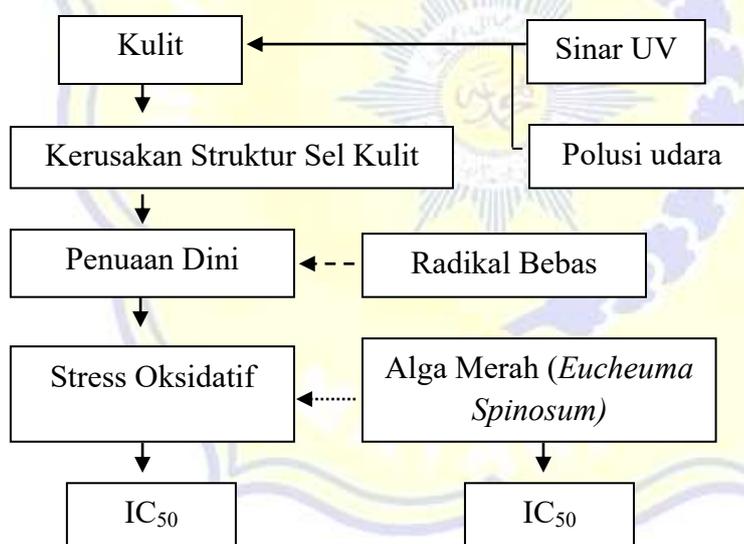
No.	Nama peneliti (tahun)	Judul penelitian	Hasil	Kesimpulan
1	Myra Sulistia Nopianti, (2022)	<i>Formulasi dan Uji Antioksidan Gel Ekstrak Alga Merah (Eucheuma spinosum) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)</i>	Konsentrasi ekstrak tertinggi ada pada formula ketiga yaitu sejumlah 30% ekstrak alga merah, selanjutnya formula kedua 20%, dan formula pertama dengan konsentrasi 10%. Dari ketiga formula tersebut, nilai IC ₅₀ tertinggi ada pada formula ketiga dengan konsentrasi ekstrak	Aktivitas antioksidan formula gel ekstrak alga merah (Eucheuma Spinosum) dievaluasi menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formula ekstrak 10%, 20%, dan 30% mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC ₅₀ masing-masing sebesar

			30% yang termasuk kedalam intensitas sedang ($101 \text{ ppm} < IC_{50} < 150 \text{ ppm}$) yaitu pada angka 101.18 ppm, selanjutnya formula dengan konsentrasi ekstrak 20% dengan nilai IC_{50} 153.85 ppm, dan formula pertama dengan konsentrasi ekstrak 10% yaitu 198.88 ppm.	198,88 ppm. Konsentrasi 153,85 ppm berada pada rentang intensitas lemah ($151 < IC_{50} < 200 \text{ ppm}$), sedangkan konsentrasi 101,18 ppm berada pada rentang intensitas sedang ($101 \text{ ppm} < IC_{50} < 150 \text{ ppm}$).
2	Mardiya h, Ulfatul dan Fasya, A.Ghanaim dan Fauziyah, Begum dan Amalia, Suci (2014)	Ekstraksi, uji aktivitas antioksidan dan identifikasi golongan senyawa aktif alga merah Eucheuma spinosum dari perairan Banyuwangi.	Hasil identifikasi menunjukkan bahwa senyawa flavonoid banyak terdapat pada pelarut metanol. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa sampel alga merah E. spinosum menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan. Hal ini terlihat dari nilai EC_{50} tiap fraksi yang berkisar antara 12-80 ppm, menunjukkan adanya kapasitas antioksidan yang kuat.	Ekstrak alga merah E. spinosum menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi di antara ekstrak yang diuji dalam penelitian ini. Secara khusus, ekstrak petroleum eter menunjukkan nilai EC_{50} sebesar 12,65 ppm. Nilai EC_{50} menunjukkan tingginya tingkat aktivitas antioksidan pada ekstrak petroleum eter. Ekstrak petroleum eter menunjukkan aktivitas antioksidan karena adanya senyawa aktif antara lain flavonoid, triterpenoid, alkaloid, dan asam askorbat.
3	Eva Oktarina (2017)	Alga : Potensinya pada Kosmetik dan Biomekanismenya.	Bahan aktif alga memiliki berbagai khasiat seperti anti penuaan, memutihkan, antioksidan, melembapkan,	Alga mempunyai potensi sebagai bahan baku kosmetik karena kandungan dan fungsinya. Selain itu, biomekanismenya memungkinkan

			<p>mengentalkan, mewarnai, dan efek fotoprotektif.</p>	<p>terjadinya diversifikasi, menjadikannya bahan potensial untuk kosmetik obat dan sediaan herbal di industri farmasi. Alga memiliki sifat antioksidan yang menjadikannya kandidat potensial untuk pengembangan agen anti kanker dan anti penuaan. Hal ini disebabkan kemampuannya dalam menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan matriks metalloproteinase (MMP). Pigmen alga memiliki tujuan selain digunakan sebagai pewarna. Selain itu, ia berfungsi sebagai agen imunoprotektif dan melawan efek buruk radikal bebas, yang berhubungan dengan perkembangan kanker pencernaan, radang sendi, dan penuaan dini.</p>
4	Bina Lohita Sari, Nurulia Susanti, Sutanto (2015)	Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Alga Merah <i>Euccheuma spinosum</i>	Ekstrak kering fraksi etanol olahan alga mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi, dengan nilai IC50 sebesar 333,66 µg/mL. Alga segar dan alga kering memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah, dengan	Ekstrak kering fraksi etanol mengandung triterpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Kapasitas antioksidan fraksi etanol alga segar, kering, dan olahan dipengaruhi oleh kandungan flavonoid. Fraksi etanol dari alga

		<p>nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 418,32 µg/mL dan 472,14 µg/mL. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol hasil olahan alga mempunyai potensi sebagai sumber antioksidan alami. Etanol merupakan pelarut polar yang cocok untuk senyawa antioksidan.</p>	<p>olahan menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan tertinggi, menjadikannya sumber antioksidan alami yang berharga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total polifenol dan total flavonoid pada alga <i>Eucheuma spinosum</i> guna mengetahui hubungan kadar senyawa tersebut dengan aktivitas antioksidan.</p>
--	--	--	---

2.9 Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

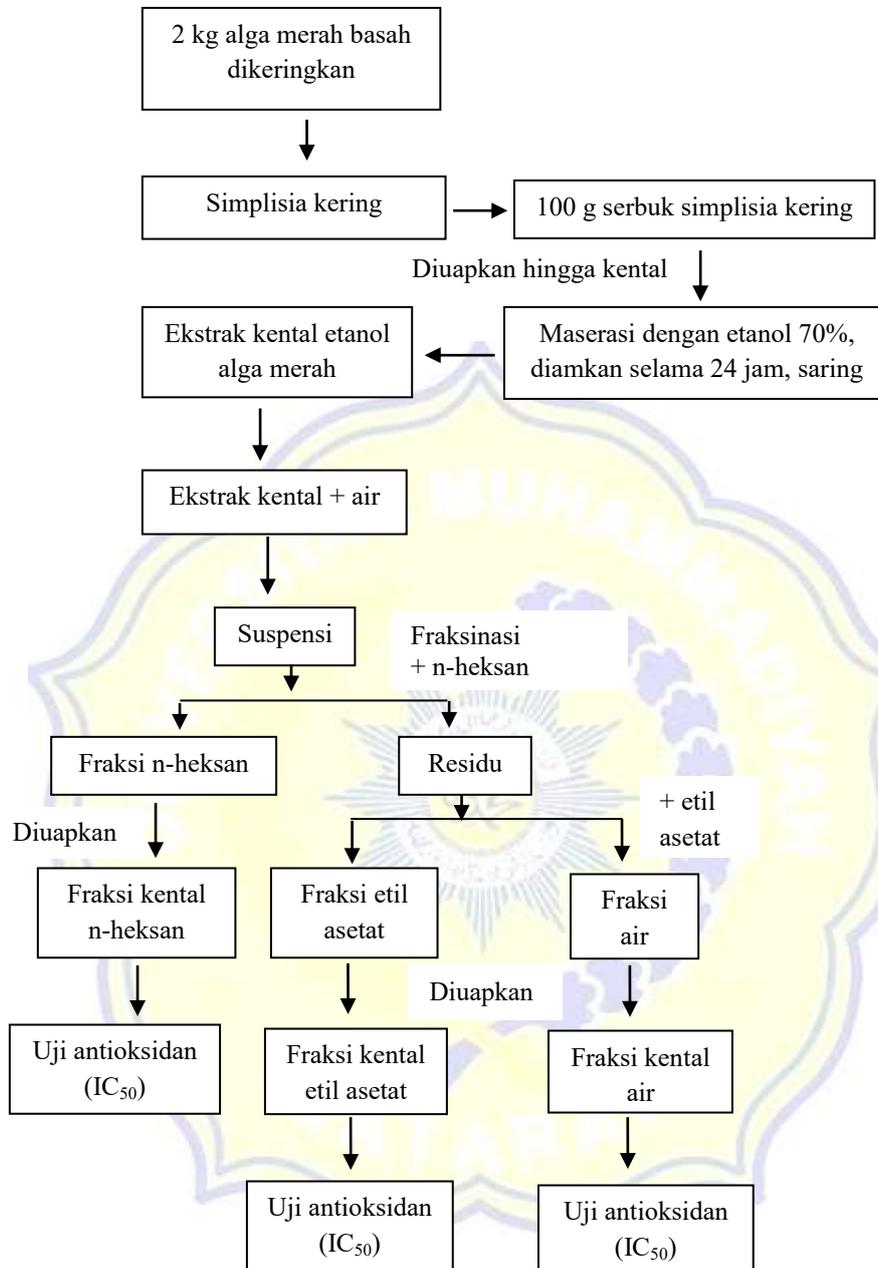
Keterangan :

—> = Mengaktivasi

--> = Mengakibatkan

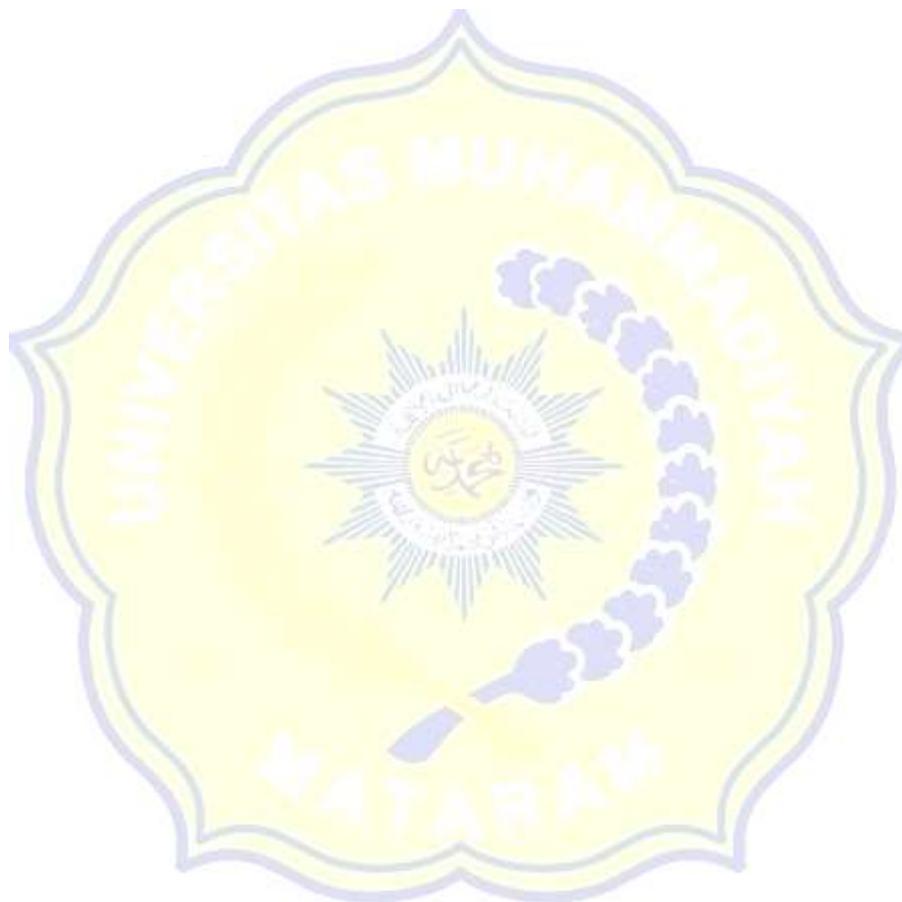
.....> = Mencegah

2.10 Kerangka Konsep



2.11 Hipotesis

Berdasarkan deskripsi teoritis dan tinjauan teori, maka hipotesis pada penelitian ini adalah sediaan fraksi air, n-heksan dan etil asetat ekstrak etanol kental alga merah *Eucheuma spinosum* dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif *Eksperimental Laboratory Design (ELD)*. Penelitian kuantitatif yang dilakukan secara eksperimental dengan tujuan untuk menguji potensi dari fraksi ekstrak alga merah *Eucheuma Spinosum* dengan menggunakan pelarut air, n-heksan dan etil asetat dengan metode DPPH.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Mataram. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2023 sampai bulan Juni 2023.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian pada penelitian ini terdiri dari variable bebas, variable terikat, dan variable terkontrol, antara lain:

a. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah terdiri dari konsentrasi fraksi air, n-heksan dan etil asetat ekstrak etanol 70% alga merah *Eucheuma spinosum* dan konsentrasi yang dibuat dalam konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm.

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai IC_{50} antioksidan fraksi ekstrak alga merah.

c. Variable terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini terdiri dari mengendalikan pengambilan sampel atau pemanenan dan pembuatan simplisia, yaitu dimulai dari sortasi basah hingga pengeringannya.

3.4 Definisi Operasional

1. Alga merah

Spesies alga merah *Eucheuma Spinosum* dikoleksi dari perairan Gili Tangkong, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat untuk penelitian ini.

2. Simplisia

Simplisia adalah serbuk kering tanaman alga merah yang melalui proses pengumpulan bahan, kemudian bahan disortasi basah, lalu dilakukan pengeringan menggunakan oven, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan *blender* dan diayak untuk mendapatkan serbuk halus.

3. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi.

4. Fraksi

Fraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi polar (air), non-polar (n-heksan) dan semi polar (etil asetat) dengan menggunakan metode cair-cair.

5. Metode DPPH

Metode DPPH menggunakan senyawa yang menghambat radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen. Metode ini digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan suatu senyawa.

6. Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah metode yang digunakan untuk mengukur nilai absorbansi sediaan fraksi ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum*.

3.5 Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel alga merah *Eucheuma spinosum* yang dikumpulkan dari Gili Tangkong, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat, Provinsi Nusa Tenggara Barat. Sampel dipanen pada umur 35-45 hari.

3.6 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas beaker, gelas ukur, pipet tetes, batang pengaduk, sendok stainless, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, rak tabung reaksi, maserator, cawan porselen, *rotary evaporator*, *spektrofotometri*, kompor, penangas air, *waterbath*, timbangan analitik, labu takar, aluminium foil, mikropipet, botol kaca berwarna gelap, kertas saring, spatula, nampan, botol kaca, lampu spiritus, mortir dan stamper, HCl pekat, serbuk Mg, aquades, etanol 70%, etanol pa, n-heksan, etil asetat, kuersetin, DPPH, sampel alga merah *Eucheuma spinosum* yang diambil dari perairan Gili Tangkong, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat, Provinsi Nusa Tenggara Barat.

3.7 Pembuatan Simplisia Sampel Alga Merah

Eucheuma spinosum, sejenis alga merah, dipanen pada pagi hari dan selanjutnya dilakukan penyortiran basah untuk memisahkannya dari kotoran. Kemudian dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pasir dan lumpur yang menempel pada thallus. Terakhir, alga dikeringkan dalam oven dengan suhu 38°C selama 24 jam.

Ganggang merah kering difragmentasi dan kemudian dicampur hingga mencapai konsistensi yang halus. Campuran yang dihasilkan selanjutnya disaring melalui saringan 60-250 mesh. Tujuan penghalusan sampel adalah untuk meningkatkan luas permukaan sampel, sehingga mengoptimalkan proses ekstraksi. Hal ini karena luas permukaan sampel yang lebih besar mendorong peningkatan interaksi antara pelarut dan sampel. Proses tersebut menghasilkan 350 gram bubuk alga merah dari 4 kg sampel basah. Selain itu, bubuk alga merah menunjukkan warna coklat dan mengeluarkan aroma yang menyengat. (Mardiyah, Fasya, & Amalia, 2014)

3.8 Ekstraksi sampel Alga Merah

Proses ekstraksi alga merah *Eucheuma spinosum* dilakukan pada 100 gram serbuk simplisia kering dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% didiamkan selama 24 jam kemudian disaring dan menghasilkan filtrat dan residu. Residu dimaserasi kembali dan menghasilkan filtrat yang kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan filtrat hasil maserasi pertama hingga menghasilkan ekstrak kental.

Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian, yaitu perhitungan rendemen ekstrak dan skrining fitokimia. Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin, 2006). Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya (Nurhayati, Aryanti, & Nurjanah, 2009). Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Berikut merupakan rumus perhitungan rendemen ekstrak:

$$\%rendemen = \frac{\text{jumlah berat ekstrak (g)}}{\text{jumlah berat kering (g)}} \times 100\%$$

3.9 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* adalah dengan menggunakan metode pereaksi kimia, yaitu uji flavonoid. Pengujiannya melibatkan penggabungan 2 ml ekstrak dengan air panas secukupnya, diikuti dengan perebusan selama 5 menit dan selanjutnya penyaringan. Campuran dibuat dengan menggabungkan 5 mL filtrat dengan 0,05 mg bubuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Campuran tersebut kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan adanya pembentukan warna merah, kuning, atau jingga. (Harborne, 1987).

3.10 Fraksinasi Sampel Ekstrak Alga Merah

Fraksinasi sampel dilakukan dengan menggunakan di 3 jenis pelarut yang berbeda dengan menggunakan metode cair-cair. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut polar (air), semi polar (etil asetat) dan non polar (n-heksan). Fraksinasi

dilakukan pada 20 gram sediaan ekstrak simplisia yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia alga merah menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Lalu filtrat hasil ekstraksi yang diuapkan dengan *rotary evaporator* menghasilkan ekstrak etanol kental dan hitung randemennya. Setelah itu ekstrak tersebut dilarutkan menggunakan 25 ml pelarut air yang sudah dipanaskan, lalu ditambahkan dengan 25 ml pelarut n-heksan, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan digojok kuat hingga larut. Dari hasil penggojokan tersebut akan terbentuk dua bagian yang terpisah karena perbedaan bobot jenisnya. Lalu didiamkan untuk dipisahkan antara residu dan fraksi n-heksan dan disimpan. Kemudian residu hasil fraksinasi ditambahkan 25 ml etil asetat dan digojok kuat hingga larut. Lalu dipisahkan antara fraksi etil asetat dan bagian air. Bagian air yang tidak diambil tersebut adalah fraksi air. Dan semua fraksi tersebut diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga menghasilkan fraksi kental.

3.11 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

1. Pembuatan larutan DPPH 100 ppm

Untuk menyiapkan larutan DPPH 100 ppm, 10 mg DPPH harus ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml etanol 70% dalam labu takar. Solusinya harus dikocok hingga menjadi homogen. Terakhir, solusinya harus disimpan di lingkungan yang gelap. (Bambang & D, 2019).

2. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Masukkan 2 mL larutan DPPH kedalam tabung reaksi, tambahkan 2 ml etanol 70 %, Solusinya harus dikocok kuat-kuat hingga mencapai konsistensi yang seragam. Kemudian dapat ditransfer ke dalam kuvet dan serapannya dapat diukur dalam rentang panjang gelombang 400-700 nm. (Bambang & D, 2019).

3. Pembuatan larutan kuersetin 100 ppm

Sampel kuersetin sebanyak 10 mg diukur dan selanjutnya dilarutkan dalam 100 ml metanol, menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Aliquot 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, dan 2 ml dipipet dari larutan stok. Selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan DPPH, dan volume yang dihasilkan ditingkatkan menjadi 5 ml menggunakan etanol. Proses ini menghasilkan konsentrasi kuersetin sebesar 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm. Solusinya diaduk dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbansi masing-masing larutan diukur pada rentang panjang gelombang 300-600 nm, dengan tiga kali ulangan. Sehingga larutan stok yang dibuat adalah 1,5 ml, 3 ml, 4,5 ml, dan 6 ml. Dengan masing-masing pelarut berturut-turut adalah sebanyak 13,5 ml, 12 ml, 10,5 ml, dan 9 ml.

4. Pembuatan larutan blanko

Tambahkan 2 ml larutan DPPH ke dalam tabung reaksi, dilanjutkan dengan penambahan 2 ml etanol 70%. Kocok adonan hingga

homogen, selanjutnya simpan di tempat gelap selama 30 menit. (Bambang & D, 2019).

5. Pengujian aktivitas antioksidan fraksi

Sebanyak 2 mL fraksi kental air, 2 mL fraksi kental n-heksan dan 2 mL fraksi kental etil asetat alga merah *Eucheuma spinosum* dengan konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan ke dalam 2 mL DPPH 0,1 mMol. Solusinya diaduk dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit, sambil terlindung dari cahaya. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 515 nm menggunakan spektrofotometer UV Vis. (Muthia, Saputri, & Asfia, 2018).

3.12 Metode Pengolahan dan Analisis Data

Data dan gambar dianalisis menggunakan analisis deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel. Data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan potensi antioksidan fraksi ekstrak etanol alga merah yang ditentukan melalui uji aktivitas antioksidan. Metode DPPH digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan. Nilai serapan pada panjang gelombang tertentu digunakan dalam rumus % penghambatan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Selanjutnya, kurva standar dihasilkan untuk menentukan hubungan antara konsentrasi (ppm) dan % penghambatan.

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Setelah itu dimasukkan ke persamaan regresi linier untuk mengetahui nilai IC_{50} dengan rumus: $Y = bx + a$

Keterangan :

Y = Persen penangkapan radikal sampel

x = Konsentrasi sampel

a = Titik potong kurva pada sumbu Y (*Intercep*)

b = Kemiringan kurva (*Slope*)

Berdasarkan data % inhibisi larutan pembanding baik itu positif dan negatif diuji dengan menggunakan *Anova One Way* dan *Pos-Hoc Tukey* yang bertujuan untuk menguji perbedaan yang signifikan antara kelompok variable independen dengan variable dependennya.

Hasil data yang diperoleh dari penelitian ini berupa data kuantitatif yang diperoleh dari nilai IC_{50} aktivitas antioksidan dari fraksinasi sampel.



