

**EKSTRAKSI KAROTENOID DARI ALGA COKLAT *Padina australis*  
ASAL KABUPATEN TAKALAR DAN VALIDASI METODE  
ANALISISNYA SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL**



**SHERREN GIVEN BEVILIA  
N011201012**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**EKSTRAKSI KAROTENOID DARI ALGA COKLAT *Padina australis*  
ASAL KABUPATEN TAKALAR DAN VALIDASI METODE ANALISISNYA  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL**

**SHERREN GIVEN BEVILIA  
N011201012**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**EKSTRAKSI KAROTENOID DARI ALGA COKLAT *Padina australis*  
ASAL KABUPATEN TAKALAR DAN VALIDASI METODE ANALISISNYA  
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL**

**SHERREN GIVEN BEVILIA  
N011201012**

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI  
DEPARTEMEN FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

SKRIPSI

EKSTRAKSI KAROTENOID DARI ALGA COKLAT *Padina australis* ASAL KABUPATEN TAKALAR DAN VALIDASI METODE ANALISISNYA SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL

SHERREN GIVEN BEVILIA  
N011201012

Skripsi

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sarjana Farmasi pada 17 Mei 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan pada



Mengesahkan:  
Pembimbing Tugas Akhir,

Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc., Stud., Apt  
NIP. 19900528 201504 1 001

Pembimbing Pendamping,

Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001



Mengetahui,  
Ketua Program Studi,

Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "EKSTRAKSI KAROTENOID DARI ALGA COKLAT *Padina australis* ASAL KABUPATEN TAKALAR DAN VALIDASI METODE ANALISISNYA SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc..Stud., Apt. dan Ismail, S.Si., M.Si., Apt.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 05-06-2024





## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Ekstraksi Karotenoid Dari Alga Coklat *Padina australis* Asal Kabupaten Takalar Dan Validasi Metode Analisisnya Secara Spektrofotometri UV-Visibel" dengan baik dan benar sesuai dengan ketentuan yang berlaku. Mohon maaf penulis ucapkan bila terdapat kesalahan kata atau penulisan dalam penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini dapat tersusun dengan baik berkat bantuan dan bimbingan dari banyak pihak . Oleh karena itu, pada kesempatan ini izinkan penulis untuk menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:


1. Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas anugrah-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi ini.
2. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M. Sc. Stud., Apt. dan Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. sebagai dosen pembimbing yang telah banyak memberikan banyak bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. Kedua orang tua yang sangat penulis cintai, Ayahanda Arisandy Sugiantho dan Ibunda Sherly Veronica yang selalu mendoakan dan memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan tugasakhir skripsi ini.
4. Keluarga besar penulis yang selalu mendukung dan memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
5. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada Sdri. Marwah Wirdaningsih yang selalu membantu dan mengawasi penulis sebagai operator dalam menjalankan instrument yang digunakan dalam penelitian ini.
6. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada kepala Laboratorium Fitokimia Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. dan kepala Laboratorium Kimia Analisis Farmasi Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. yang telah

memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitiannya pada laboratorium tersebut.

7. Ucapan terima kasih yang tulus kepada teman-teman yang selalu ada dan saling mendukung satu sama lain dalam penelitian masing-masing, yaitu Nurzafira, Hasriani Hasbi, Risna Iriani Unus, Tiara Minarfa, Riry Indhani Khyangan, yang telah banyak memberikan bantuan moral dalam penulisan skripsi ini.

Semoga Tuhan memberikan balasan yang sesuai dengan segala kebaikan semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis dan harapannya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi setiap pihak yang membacanya terkhususnya bagi para farmasis untuk pengembangan ilmu pengetahuan kedepannya.

Penulis,



Sherren Given Bevilia

## ABSTRAK

SHERREN GIVEN BEVILIA. **Ekstraksi Karotenoid Dari Alga Coklat *Padina australis* Asal Kabupaten Takalar Dan Validasi Metode Analisisnya Secara Spektrofotometri UV-Visibel.** (dibimbing oleh Muhammad Raihan dan Ismail)

**Latar belakang.** *Padina australis* merupakan jenis alga coklat yang banyak dijumpai di Indonesia dan kaya akan kandungan karotenoid dengan berbagai bioaktivitasnya. Kandungan karotenoid dari *Padina australis* dapat diperoleh dengan berbagai metode ekstraksi dan dalam penentuan kadar karotenoidnya dapat dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis. Namun metode tersebut perlu divalidasi terlebih dahulu untuk membuktikan bahwa metode tersebut telah sesuai untuk peruntukannya. **Tujuan.** Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validitas dari metode spektrofotometri UV-Vis pada analisis penetapan kadar karotenoid alga coklat *Padina australis* dan untuk mengetahui metode ekstraksi yang paling optimal dalam mengekstraksi karotenoid. **Metode.** Pada penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap utama, yaitu, 1) Validasi metode analisis, 2) Proses ekstraksi, dan 3) Implementasinya dalam pengukuran kadar karotenoid total pada *Padina australis*. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil validasi metode ini diperoleh nilai linearitas  $r^2 = 0,997$ ; akurasi (80-110%) dan presisi (0,683%) yang sesuai dan juga diperoleh nilai batas deteksi dan batas kuantifikasi, yaitu 0,295  $\mu\text{g/mL}$  dan 0,895  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan 3 metode (Merasasi, UAE, dan MAE) dan didapatkan kadar karotenoid total secara berturut-turut  $1,844 \pm 0,04$ ;  $12,562 \pm 0,27$ ;  $1,983 \pm 0,07$   $\mu\text{g/mL}$ . **Kesimpulan.** Dengan demikian, metode spektrofotometri UV-Vis valid untuk digunakan dalam penetapan kadar karotenoid total pada *Padina australis* dan dalam implementasinya diketahui bahwa metode ekstraksi secara ultrasonikasi merupakan metode paling optimal.

Kata kunci: *Padina australis*, Ekstraksi Karotenoid, Spektrofotometri UV-Vis, Validasi Metode Analisis



## ABSTRACT

SHERREN GIVEN BEVILIA. **Extraction of Carotenoids Brown Algae *Padina australis* From Takalar District and Validation Of Method Analysis By UV-Visible Spectrophotometry** (supervised by Muhammad Raihan and Ismail)

**Background.** *Padina australis* is a type of brown algae that is often found in Indonesia and is rich in carotenoid content with various bioactivities. The carotenoid content of *Padina australis* can be obtained using various extraction methods and determining the carotenoid content can be done using UV-Vis spectrophotometry. However, the method needs to be validated first to prove that the method is suitable for its purpose. **Aim.** Therefore, this study aims to determine the validity of the UV-Vis spectrophotometric method in determining the carotenoid content analysis of the brown alga *Padina australis* and to determine the most optimal extraction method for extracting carotenoids. **Method.** This research was divided into 3 main stages, namely, 1) Method validation, 2) Extraction process, and 3) Implementation in measuring total carotenoid levels in *Padina australis*. **Results.** The research results show that the validation results of this method obtained a linearity value of  $r^2 = 0.997$ ; accuracy (80-110%) and precision (0.683%) were appropriate and the detection limit and quantification limit values were also obtained, namely 0.295  $\mu\text{g/mL}$  and 0.895  $\mu\text{g/mL}$ . In this study, the extraction process was carried out using 3 methods (Maceration, UAE, and MAE) and total carotenoid levels were obtained respectively  $1.844 \pm 0.04$ ;  $12.562 \pm 0.27$ ;  $1.983 \pm 0.07$   $\mu\text{g/mL}$ . **Conclusion.** Thus, the UV-Vis spectrophotometry method is valid for use in determining total carotenoid levels in *Padina australis* and in its implementation it is known that the ultrasonic extraction method is the most optimal.

**Keywords:** *Padina australis*, Carotenoid extraction, UV-Vis Spectrophotometry, Validation of Analytical Methods

## DAFTAR ISI

### Halaman

HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	iv
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	iv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Teori Dasar .....	2
1.2.1    Uraian Alga Coklat Padina australis .....	2
1.2.2    Karotenoid.....	3
1.2.3    Metode Ekstraksi Bahan Alam .....	5
1.2.4    Spektrofotometri UV-Vis.....	7
1.2.5    Validasi Metode Analisis.....	9
1.3 Rumusan Masalah .....	11
1.4 Tujuan Penelitian .....	11
BAB II.....	12
METODE PENELITIAN.....	12
II.1 Alat dan Bahan .....	12
II.2 Metode Kerja.....	12

II.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel .....	12
II.2.2 Ekstraksi <i>Padina australis</i> dengan Metode Maserasi .....	12
II.2.3 Ekstraksi <i>Padina australis</i> dengan Berbantu Gelombang Mikrowave ....	12
II.2.4 Ekstraksi <i>Padina australis</i> dengan Berbantu Gelombang Ultrasonik.....	12
II.2.5 Pembuatan Larutan Induk Standar .....	13
II.2.6 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	13
II.2.7 Pembuatan Kurva Baku .....	13
II.2.8 Pengujian Validasi Metode Analisis.....	13
II.2.8.1 Linearitas.....	13
II.2.8.2 <i>Limit Of Detection</i> (LOD) .....	13
II.2.8.3 <i>Limit Of Quantification</i> (LOQ) .....	14
II.2.8.4 Akurasi .....	14
II.2.8.5 Presisi .....	14
II.2.9 Penentuan Kadar Karotenoid pada <i>Padina australis</i> .....	14
II.2.10 Analisis dan Kesimpulan .....	14
BAB III.....	15
HASIL DAN PEMBAHASAN .....	15
III.1 Validasi Metode Analisis .....	15
III.1.1 Linearitas.....	15
III.1.2 <i>Limit Of Detection</i> (LOD) dan <i>Limit Of Quantification</i> (LOQ) .....	16
III.1.3 Akurasi .....	17
III.1.4 Presisi .....	17
III.2 Ekstraksi .....	18
III.3 Penentuan Kadar Karotenoid pada Alga Coklat <i>Padina australis</i> .....	18
BAB IV .....	21
KESIMPULAN DAN SARAN .....	21
IV.1 Kesimpulan.....	21
IV.2 Saran .....	21
DAFTAR PUSTAKA.....	22
LAMPIRAN .....	27

**DAFTAR TABEL**

	<b>Halaman</b>
1. Jenis karotenoid dan karakter warnanya.....	3
2. Parameter yang dibutuhkan untuk validasi metode analisis.....	10
3. Data absorbansi larutan seri standar beta karoten yang diukur pada $\lambda_{maks}$ 450 nm.....	15
4. Hasil perhitungan nilai LOD dan LOQ beta karoten .....	16
5. Hasil pengukuran akurasi beta karoten.....	17
6. Hasil uji presisi beta karoten .....	17
7. Hasil %Rendemen dan Perbandingan kadar karotenoid dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda .....	18

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Alga coklat <i>Padina australis</i> .....	2
Gambar 2. Struktur senyawa beta karoten (a); struktur senyawa <i>fucoxanthin</i> (b); struktur senyawa <i>zeaxanthin</i> (c) .....	4
Gambar 3. Proses maserasi .....	6
Gambar 4. Alat ultrasound-assisted extraction .....	6
Gambar 5. Alat microwave-assisted extraction (MAE) .....	7
Gambar 6. Bagian bagian spektrofotometer UV-Vis) .....	8
Gambar 7. Grafik kurva hasil pengukuran linearitas .....	15
Gambar 9. Perbandingan kadar karotenoid pada alga coklat <i>Padina australis</i> . ....	19
Gambar 9. Alga <i>Padina australis</i> .....	37
Gambar 10. Proses pencucian.....	37
Gambar 11. Proses pengeringan .....	37
Gambar 12. Penyimpanan simplisia .....	37
Gambar 13. Penggerusan simplisia .....	37
Gambar 14. Proses maserasi .....	37
Gambar 15. Proses ekstraksi UAE.....	37
Gambar 16. Proses ekstraksi MAE .....	38
Gambar 17. Proses penguapan pelarut .....	38
Gambar 18. Penguapan pelarut di waterbath .....	38
Gambar 19. Proses penimbangan ekstrak kental .....	38

**DAFTAR LAMPIRAN****Halaman**

1. Skema Kerja .....	27
1.1 Ekstraksi <i>Padina australis</i> .....	27
1.2 Validasi Metode Analisis <i>Padina australis</i> dengan Spektrofotometer UV-Vis .....	28
2. Perhitungan.....	29
2.1 Perhitungan Validasi Metode Analisis .....	29
2.1.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) .....	30
2.1.3 Akurasi .....	30
2.1.4 Presisi .....	32
2.2 Perhitungan Hasil Ekstraksi dan Penetapan Kadar Karotenoid .....	33
3. Dokumentasi Penelitian .....	37
4. Spektrum Hasil Validasi Metode Analisis Karotenoid.....	39
5. Surat Determinasi Sampel .....	41



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan sumber daya alam laut yang melimpah, salah satunya adalah kaya akan beragam jenis rumput laut. Rumput laut dan ekstraknya telah menjadi banyak subjek penelitian terutama pada industri farmasi, industri pangan, peternakan, dan perikanan (Sheikhzadeh *et al.*, 2022). Berdasarkan kandungan pigmen yang dominan, rumput laut dibagi menjadi 3 divisi utama, yaitu *Chlorophyta* (alga hijau), *Rhodophyta* (alga merah), dan *Phaeophyta* (alga coklat). Adapun salah satu rumput laut yang umum dan paling banyak ditemukan di perairan Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan adalah rumput laut *Phaeophyta* (alga coklat) (Subagio dan Kasim, 2019).

Alga coklat yang berasal spesies *Padina australis* merupakan salah satu sumber karotenoid yang potensial karena memiliki kadar karotenoid yang tinggi (Heriyanto *et al.*, 2017). Karotenoid merupakan senyawa isoprenoid yang tersusun dari kerangka poliena dengan adanya ikatan ganda terkonjugasi sehingga membentuk rantai poliena dengan struktur yang khas. Senyawa ini yang memberikan pigmen warna pada pada alga (Fitria *et al.*, 2020). *Padina australis* mengandung 4 pigment warna utama yang dominan, seperti klorofil a (211,75  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  $\beta$ -karoten (14,57  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), *fucoxanthin* (97,26  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), dan *zeaxanthin* (1,82  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) (Brotosudarmo *et al.*, 2018). Karotenoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antiobesitas, dan antikoagulan (Ojulari *et al.*, 2020; AvilaRoman *et al.*, 2021; Fadilla *et al.*, 2023). Adapun beberapa senyawa bioaktif yang termasuk dalam pigmen karotenoid yang telah diidentifikasi dan diisolasi, yaitu *fucoxanthin*, *astaxanthin*, *zeaxanthin*, dan  $\beta$ -karoten (Ratananikom *et al.*, 2021).

Banyaknya manfaat yang dapat diperoleh dari karotenoid membuat *Padina australis* menjadi salah satu sumber daya alam yang perlu untuk dikembangkan lebih lanjut. Karotenoid ini dapat diperoleh melalui proses ekstraksi baik secara konvensional ataupun non-konvensional. Adapun pada metode konvensional biasanya menggunakan pelarut-pelarut organik, misalnya aseton, etanol, heksan, dan metanol dengan atau tanpa pemanasan langsung. Pada metode non-konvensional biasanya menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk dapat mengekstraksi karotenoid (Saini dan Keum, 2018). Pada penelitian sebelumnya belum dilakukan analisis yang membandingkan metode konvensional (maserasi) dengan metode non-konvensional (UAE dan MAE) pada sampel *Padina australis*. Penelitian yang telah dilakukan lebih memfokuskan pada optimasi masing-masing metode dan lebih mengarah pada ekstraksi senyawa *fucoxanthin* sehingga perlu diteliti lebih lanjut terkait perbandingan ketiga metode tersebut dalam mengekstraksi karotenoid (Flora dan Shanmugam, 2023; Wahyuni dan Murdinah, 2023; Sari *et al.*, 2020).

Tahap selanjutnya yang dilakukan setelah ekstraksi karotenoid adalah analisis kandungan karotenoid dengan menggunakan metode yang sesuai, salah satunya

dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Puspitasari dan Wulandari, 2017). Metode ini dapat digunakan karena pada struktur karotenoid terdapat gugus kromofor yang dapat mempermudah proses identifikasi jika dibandingkan dengan senyawa yang tidak memiliki gugus kromofor sehingga kandungan karotenoid dapat dianalisis (Winahyu *et al.*, 2021; Alminda dan Ramadhania, 2018).

Analisis kadar karotenoid secara spektrofotometri perlu dikembangkan dan divalidasi agar hasil analisis yang diperoleh juga valid, akurat, dan dapat dipertanggung jawabkan (Puspitasari and Wulandari, 2017). Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan yang dilakukan pada suatu metode untuk memastikan apakah metode tersebut memenuhi parameter-parameter tertentu yang menjadi syarat sebelum digunakan. Pada penelitian sebelumnya, sudah banyak dilakukan analisis dan penentuan kadar dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, namun belum pernah dilakukan validasi untuk metode analisis yang akan digunakan pada sampel alga coklat *Padina australis* khususnya untuk pengukuran kadar karotenoid (Wahyuni dan Murdinah, 2023)(Hidayati *et al.*, 2022). Adapun pada penelitian ini akan dilakukan validasi metode analisis karotenoid secara spektrofotometri UV-Vis dengan beberapa parameter yang dijadikan pedoman, seperti linearitas, *Limit Of Detection* (LOD), *Limit Of Quantification* (LOQ), akurasi, presisi, dan persen *recovery* (Saiya dan Caroles, 2023).

## 1.2 Teori Dasar

### 1.2.1 Uraian Alga Coklat *Padina australis*

#### 1.2.1.1 Klasifikasi Alga Coklat *Padina australis*

Berikut adalah klafisikasi alga coklat *Padina australis* (Subagio dan Kasim, 2019):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaephyceae
Ordo	: Dictyotales
Famili	: Dictyotaceae
Genus	: Padina



**Gambar 1. Alga coklat padina australis (Subagio dan Kasim, 2019)**

Spesies : *Padina australis* (Subagio dan Kasim, 2019)

#### 1.2.1.2 Morfologi Alga Coklat *Padina australis*

*Padina australis* memiliki bentuk tangkai dan thallus yang pipih berbentuk seperti kipas dengan diameter 5-8 cm. Alga jenis ini memiliki warna coklat yang kekuningan dengan garis-garis konsentrik yang terdapat pada permukaannya. Alga jenis ini biasanya tumbuh menempel pada terumbu karang

dengan ujung tangkai yang pipih dan meruncing (Aulis *et al.*, 2021; Subagio dan Kasim, 2019).

### 1.2.1.3 Senyawa Bioaktif Alga Coklat *Padina australis*

*Padina australis* memiliki kandungan senyawa polifenol, karotenoid, mineral, vitamin, phlorotannin, peptide, tocotrienol, protein, tokoferol, dan polisakarida (El-Beltagi *et al.*, 2022). Selain itu juga terdapat natrium alginat dan beberapa senyawa dominan lainnya yang terdapat pada *Padina australis*, misalnya klorofil a (211,75  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  $\beta$ -karoten (14,57  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), *fucoxanthin* (97,26  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), dan *zeaxanthin* (1,82  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), (Brotosudarmo *et al.*, 2018).

## 1.2.2 Karotenoid

### 1.2.2.1 Pengertian Karotenoid

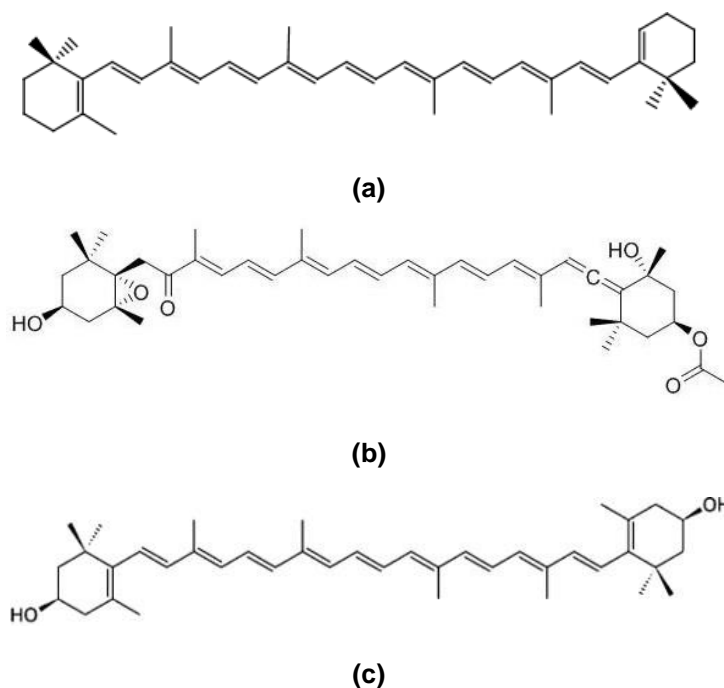
Karotenoid merupakan senyawa poliena isoprenoid yang membentuk 8 unit isoprene yang memberikan warna kuning hingga merah dan biasanya ditemukan pada tumbuhan darat, algae, jamur, dan beberapa hewan dengan komposisi yang berbeda-beda (Merdekawati *et al.*, 2017). Karotenoid memiliki serapan pada panjang gelombang 400-550 nm dan biasanya terdapat pada organisme fotosintetik yang dimana fungsinya berkaitan erat dengan proses fotosintesis (Syukri, 2021). Beberapa contoh senyawa karotenoid, antara lain  $\beta$ -karoten, *fucoxanthin*, likopen, *asthaxanthin*,  $\alpha$ -karoten, dan *zeaxanthin* yang dapat memberikan beberapa manfaat kesehatan bagi tubuh manusia (Maleta *et al.*, 2018).

### 1.2.2.2 Penggolongan Karotenoid

Secara umum, karotenoid digolongkan menjadi 2 kelompok, yaitu karoten dan xantofil (karoten teroksidasi). Setiap jenis senyawa ini memiliki karakteristik warna tertentu. Berikut adalah beberapa jenis senyawa karotenoid yang umum dijumpai dapat dilihat pada tabel 1 (Syukri, 2021).

**Tabel 1. Jenis karotenoid dan karakter warnanya**

Nama Senyawa	Karakter Warna	Jenis Karotenoid
$\zeta$ -karoten	Kuning pucat	Karoten
Likopen	Merah	Karoten
$\alpha$ -karoten	Kuning	Karoten
Lutein	Kuning	Xantofil
$\beta$ -karoten	Orange	Karoten
$\gamma$ -karoten	Merah-orange	Karoten
$\beta$ - <i>criptoxanthin</i>	Orange	Xantofil
<i>Zeaxanthin</i>	Kuning-orange	Xantofil
<i>Antheraxanthin</i>	Kuning terang	Xantofil
<i>Violaxanthin</i>	Kuning orange	Xantofil
<i>Neoxanthin</i>	Kuning	Xantofil
<i>Asthaxanthin</i>	Merah	Xantofil
<i>Fucoxanthin</i>	Coklat	Xantofil



**Gambar 2.** Struktur senyawa beta karoten (a); struktur senyawa *fucoxanthin* (b); struktur senyawa *zeaxanthin* (c) (Pubchem, 2023; EI-Beltagi *et al.*, 2022; Karpiński dan Adamczak, 2019)

### 1.2.2.3 Sifat Senyawa Karotenoid

Pada subbab sebelumnya, penggolongan senyawa dibedakan menjadi 2 bagian berdasarkan karakter dan struktur kimianya, yaitu xantofil dan karoten. Keduanya bersifat non polar, namun pada senyawa karoten memiliki kelarutan yang lebih tinggi pada pelarut non polar jika dibandingkan dengan senyawa xantofil karena adanya atom oksigen teroksidasi (atom oksigen yang tersebut dapat berupa hidroksi, aldehid, epoksida, furanoksida, dan karbonil) pada xantofil yang menyebabkan kelarutannya menjadi lebih larut pada pelarut yang bersifat semi polar. Kelompok senyawa karoten hanya terdiri dari atom hidrogen dan karbon sehingga sifatnya lebih non polar. Senyawa karoten dapat dibedakan dari struktur ujung dari rantai poliena (Syukri, 2021).

Senyawa karotenoid yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi sehingga senyawa karotenoid dapat memberikan warna kuning hingga merah setelah menyerap sinar tampak pada panjang gelombang 400 sampai 500 nm. Salah satu turunan dari senyawa karotenoid adalah senyawa  $\beta$ -karoten yang memiliki kelarutan yang mudah larut dalam lemak, tidak larut dalam air, mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi, dan dapat teridentifikasi pada panjang gelombang 450 nm (Kusbandari dan Susanti, 2017).

$\beta$ -karoten dengan rumus molekul  $C_{40}H_{56}$  memiliki delapan unit isoprene yang saling berikatan. Strukturnya yang mempunyai ikatan karbon rangkap terkonjugasi membuat senyawa ini rentan terhadap isomerisasi dan pembelahan oksidatif (Nururrahmah and Widiarnu, 2013). Proses isomerisasi pada senyawa dapat terjadi disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu faktor cahaya, panas, dan juga dapat disebabkan oleh perbedaan struktur dasar dari suatu senyawa.

Karotenoid yang berada bentuk isomer *trans* memiliki bioaktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dalam bentuk isomer *cis*. Hal ini dikarenakan senyawa karotenoid yang berada dalam bentuk *cis* mempunyai stabilitas yang lebih rendah sehingga akan lebih mudah mengalami oksidasi dan dapat menyebabkan terjadinya degradasi dari senyawa tersebut. Terdapat dua jenis isomer *cis* yang berasal dari  $\beta$ -karoten, yaitu *13-cis- $\beta$ -carotene* dan *9-cis- $\beta$ -carotene* (Syukri, 2021).

#### **1.2.2.4 Sumber Senyawa Karotenoid**

Senyawa karotenoid termasuk  $\beta$ -karoten dapat ditemukan pada buah dan sayuran yang berwarna kuning dan jingga, seperti papaya, mangga, jeruk, wortel, dan labu. Ada beberapa yang terdapat pada sayuran berwarna hijau gelap, seperti bayam dan *amaranth* (Nururrahmah dan Widiarnu, 2013). Selain itu, karotenoid juga terdistribusi pada alga, bakteri, jamur dan hewan dengan jumlah tertentu (Merdekawati *et al.*, 2017).

#### **1.2.2.5 Manfaat Senyawa Karotenoid**

Turunan dari senyawa karotenoid memiliki berbagai manfaat dalam bidang kesehatan, misalnya sebagai provitamin A, antioksidan, anti kanker, anti obesitas, zat warna, dan stimulan pembentukan zat tulang. Sebagai provitamin A, karotenoid merupakan prekursor dalam pembentukan vitamin A (retinol) yang memiliki fungsi sangat berguna bagi kesehatan mata manusia. Ikatan rangkap terkonjugasi pada karotenoid juga dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas dengan cara melindungi membrane sel dan lipoprotein yang terdapat didalam sel. Hal ini juga berkaitan dengan fungsinya sebagai senyawa anti kanker. Senyawa turunan karotenoid, seperti *astaxanthin* juga diketahui dapat mengurangi jumlah trigliserida dan kolesterol total di dalam hati. Selain itu, senyawa  *$\beta$ -cryptoxanthin* juga dapat meningkatkan kadar kalsium dan alkaline phosphatase sehingga dapat menurunkan risiko terjadinya osteoporosis (Syukri, 2021).

### **1.2.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam**

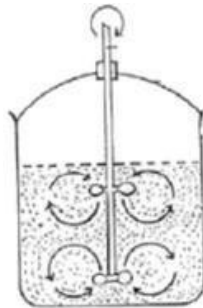
#### **1.2.3.1 Definisi Ekstrak**

Menurut Farmakope Herbal Indonesia (Kemenkes RI, 2017) ekstrak merupakan sediaan yang dibuat secara kering, kental, atau cair dengan cara menyari suatu senyawa pada simplisia menurut cara yang sesuai. Sedangkan ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu senyawa yang berdasarkan pada perbedaan kelarutannya. Terdapat beberapa cara ekstraksi tergantung dengan sifat

dari senyawa yang ingin diperoleh, antara lain metode maserasi, *ultrasound-assisted solvent extraction*, *microwave-assisted solvent extraction*, soklet, perkolasi, destilasi uap dan refluks (Mukhran, 2011).

### 1.2.3.2 Maserasi

Metode maserasi merupakan salah satu metode yang umum digunakan dalam mengekstraksi suatu senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Metode ini dilakukan pada suhu kamar sehingga dinilai dapat mengurangi risiko dari rusaknya senyawa yang ingin diekstraksi. Namun disisi lain, metode ini memakan banyak waktu dan pelarut untuk digunakan dalam prosesnya (Deny Romadhon Badaring *et al.*, 2020).



**Gambar 3. Proses maserasi (Saputra, 2020)**

### 1.2.3.3 Metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE)

Metode UAE merupakan salah satu metode ekstraksi modern yang menggunakan bantuan gelombang ultrasonik ( $\geq 20$  kHz) dalam prosesnya sehingga dapat meminimalisir terjadinya kerusakan pada senyawa bioaktif yang terdapat didalamnya. Metode ini memiliki beberapa keunggulan, seperti biaya yang dibutuhkan lebih murah, penangannya lebih murah, baik waktu dan pelarut yang digunakan lebih sedikit. Pada prosesnya, metode ini dapat lebih meningkatkan penetrasi dari suatu cairan ke dinding sel serta meningkatkan transfer massa dengan cara memecah dinding sel menggunakan gelombang ultrasonik (Sulvi dan Nur, 2023).



**Gambar 4. Alat *ultrasound-assisted extraction* (Sulvi dan Nur, 2023)**



#### 1.2.3.4 Metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE)

Metode ini merupakan salah satu metode ekstraksi yang lebih efisien jika dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Selain itu, metode ini juga memerlukan waktu yang singkat dalam prosesnya, pelarut yang lebih sedikit, ekonomis, dan ekstrak yang diperoleh lebih baik. Prinsip kerja dari metode ini berdasarkan pada pemanasan yang berasal dari radiasi gelombang mikro yang menyebabkan terjadinya penguapan pada dinding sel sehingga terjadi pembengkakan dan peningkatan tekanan. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel dari sampel dan senyawa yang menjadi target akan terekstraksi (Wadli and Hasdar, 2021).



**Gambar 5. Alat *microwave-assisted extraction* (MAE) (Sulvi dan Nur, 2023)**

#### 1.2.4 Spektrofotometri UV-Vis

##### 1.2.4.1 Pengertian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk mendeteksi suatu senyawa berdasarkan pada panjang gelombang UV dan visibel. Sedangkan spektrofotometer adalah instrument yang digunakan dalam menganalisis. Metode berdasarkan pada absorbs cahaya pada panjang gelombang tertentu dan biasanya digunakan pada senyawa yang memiliki gugus kromofor dan ausokrom. Pengujian dengan metode ini termasuk cepat dan efisien jika dibandingkan dengan metode lainnya (Handoyo Sahumena *et al.*, 2020)

##### 1.2.4.2 Prinsip Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip kerja dari spektrofotometri UV-Vis adalah cahaya polikromatis yang berasal dari sumber cahaya akan melewati monokromator yang dapat mengubah cahaya polikromatis tersebut menjadi cahaya monokromatis dan akan diteruskan melalui kuvet yang berisi sampel. Sinar tersebut nantinya akan ada yang diserap, dipantulkan, dan diteruskan ke bagian detektor yang akan diubah menjadi nilai serapan dari suatu zat. Pengukuran spektrofotometri UV-Vis mengacu pada hukum Lambert-Beer. Hukum ini menyatakan bahwa hubungan antara nilai absorbansi suatu larutan dengan konsentrasinya berbanding lurus. Hal ini dinyatakan dalam rumus berikut (Miarti dan Legasari, 2022):

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan:

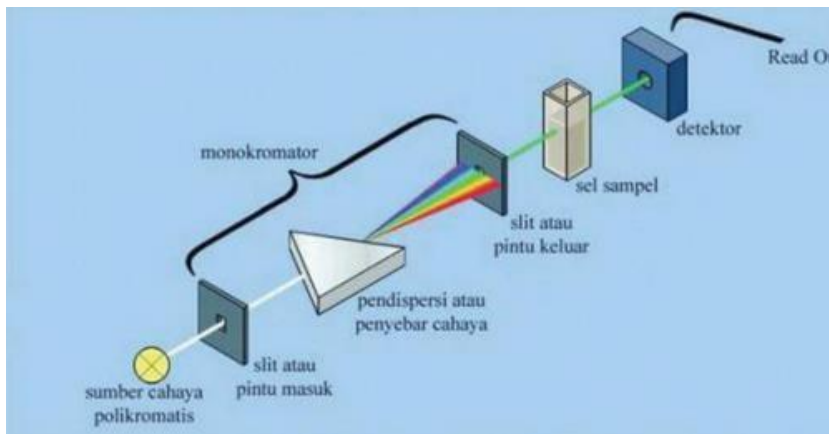
A = Absorban (serapan)

b = Tebal kuvet (umumnya 1 cm)

c = Konsentrasi larutan (mol/cm)

$\epsilon$  = Absorbtivitas molar (L/mol.cm)

### 1.2.4.3 Instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis



**Gambar 6. Bagian bagian spektrofotometer UV-Vis (Ningrum, 2023)**

Spektrofotometer UV-Vis memiliki beberapa bagian yang memiliki fungsinya masing-masing. Berikut adalah masing-masing bagian dan fungsinya pada instrumen spektrofotometer UV-Vis (Ningrum, 2023):

#### 1. Sumber Cahaya

Bagian ini berfungsi sebagai sumber cahaya yang memberukan rentang panjang gelombang yang lebar, dimana terdapat 2 jenis sumber cahaya yang biasanya digunakan, yaitu berupa lampu deuterium yang digunakan untuk mengukur sampel pada panjang gelombang UV (190-380 nm) dan lampu tungsten atau wolfram yang digunakan untuk mengukur sampel pada panjang gelombang visibel (350-2200 nm).

#### 2. Monokromator

Monokromator memiliki fungsi sebagai bagian yang dapat memilih panjang gelombang untuk mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis dengan melalui prisma, kisi difraksi, dan celah optik.

### 3. Kompartemen Sampel

Bagian ini merupakan tempat untuk meletakkan kuvet atau wadah untuk menempatkan sampel yang ingin dianalisis. Adapun kuvet yang digunakan biasanya harus memenuhi persyaratan tertentu, yaitu tidak bereaksi, secara optik permukaannya harus paralel, tidak berwarna, rentan, dan bentuknya sederhana.

### 4. Detektor

Detektor memiliki fungsi sebagai bagian untuk menangkap cahaya yang telah melewati kuvet dan akan mengubahnya menjadi arus listrik. Syarat dari detektor yang baik, antara lain memiliki sensitivitas yang tinggi, memiliki respon yang konstan dengan waktu respon yang cepat. Terdapat beberapa jenis detektor yang biasanya digunakan, misalnya fototida, fotosel, dan fotodetektor.

### 5. *Read Out*

*Read out* merupakan bagian yang digunakan untuk membaca sinyal listrik yang sebelumnya berasal dari detektor.

## 1.2.5 Validasi Metode Analisis

### 1.2.5.1 Pengertian Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis merupakan suatu proses yang dilakukan untuk menjamin suatu analisis melalui beberapa proses pengujian laboratorium. Tujuan dari dilakukannya suatu validasi metode analisis adalah untuk menjamin atau memastikan apakah metode analisis tersebut dapat memberikan suatu hasil yang valid dan dapat dipercaya (Astuti *et al.*, 2016).

### 1.2.5.2 Parameter Validasi Metode Analisis

Dalam penentuan validasi metode analisis, terdapat beberapa acuan yang biasanya digunakan menjadi pedoman, seperti Farmakope Indonesia, *International Council for Harmonisation (ICH) Guidelines*, *United States Pharmacopeia (USP)*, dan lain-lain. Berdasarkan Farmakope Indonesia, klasifikasi metode analisis dibedakan menjadi 4 kategori, yaitu (Depkes RI, 1995):

1. Kategori I: Prosedur yang digunakan untuk menetapkan kadar komponen utama dalam bahan baku
2. Kategori II: Prosedur yang digunakan untuk menetapkan cemaran yang terdapat pada bahan baku
3. Kategori III: Prosedur analisis yang digunakan untuk menetapkan karakteristik dari kinerja sediaan

#### 4. Kategori IV: Prosedur yang digunakan untuk identifikasi

Pada validasi metode analisis terdapat beberapa parameter yang dilakukan, diantaranya linearitas, *Limit of Detection* (LOD), *Limit of Quantification* (LOQ), akurasi, dan presisi. Berikut adalah pengujian parameter-parameter yang dilakukan berdasarkan kategori diatas:

**Tabel 2. Parameter yang dibutuhkan untuk validasi metode analisis (Depkes RI, 1995)**

Karakteristik kinerja analitik	Kategori I	Kategori II		Kategori III	Kategori IV
		Kuantitatif	Uji Batas		
Akurasi	Ya	Ya	*	*	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Spesifitas	Ya	Ya	Ya	*	Ya
Batas Deteksi	Tidak	Tidak	Ya	*	Tidak
Batas Kuantitasi	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak
Linearitas	Ya	Ya	Tidak	*	Tidak
Rentang	Ya	Ya	*	*	Tidak

Catatan: \* Mungkin dipersyaratkan tergantung pada sifat khusus dari uji

##### 1.2.5.3 Linearitas

Pengujian linearitas merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui dan menunjukkan hubungan antara hasil uji dengan konsentrasi dari analit pada sampel. Dalam pengujiannya, larutan yang standar yang digunakan minimal 5. Hasil absorbansi yang telah diperoleh akan diplot dan membentuk kurva sehingga dapat ditentukan nilai koefisien korelasi ( $r$ ). Dimana nilai linearitas yang baik jika nilai  $r$  yang diperoleh mendekati satu (Ramadhan dan Musfiroh, 2021).

##### 1.2.5.4 *Limit Of Detection* (LOD) dan *Limit Of Quantification* (LOQ)

LOD merupakan konsentrasi analit terendah yang terdapat pada sampel dan masih dapat terdeteksi, sedangkan LOQ merupakan konsentrasi analit terendah pada sampel yang ditetapkan dengan akurasi dan presisi yang memenuhi kriteria. Nilai LOD dapat ditentukan berdasarkan nilai standar deviasi dengan melakukan pengukuran pada sampel yang sudah diketahui konsentrasinya. Untuk penentuan nilai LOQ, nilai yang dilihat adalah berdasarkan nilai simpangan baku relative (SBR) (Ramadhan dan Musfiroh, 2021).

##### 1.2.5.5 Akurasi

Pengujian yang dilakukan untuk menentukan tingkat kedekatan dari suatu hasil pengujian disebut dengan uji akurasi. Dalam penentuannya, ICH merekomendasikan menggunakan 3 konsentrasi berbeda dengan masing-masing 3 replikasi. Hasil yang baik ditunjukkan oleh nilai perolehan kembali yang baik (*recovery*). Adapun kriteria yang baik dalam pengujian akurasi adalah jika diperoleh

persen *recovery* yang masuk dalam rentang 98-102% (Ramadhan dan Musfiroh, 2021).

#### 1.2.5.6 Presisi

Pengujian presisi menunjukkan nilai kedekatan antara pengukuran yang diperoleh ketika dilakukan pengujian secara berulang. Kriteria penerimaan dari pengujian presisi adalah  $SBR < 2\%$ . Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi dengan masing-masing 3 replikasi dalam pengujiannya (Ramadhan dan Musfiroh, 2021)

### 1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan, yaitu sebagai berikut:

1. Apakah metode penentuan kadar karotenoid yang telah diekstraksi dari alga coklat *Padina australis* memenuhi kriteria atau parameter validasi (meliputi akurasi, presisi, linearitas, *Limit Of Detection* (LOD), *Limit Of Quantitation* (LOQ), metode analisis yang dianalisis secara Spektrofotometri UV-Vis?
2. Bagaimana pengaruh dari metode ekstraksi yang digunakan jika dibandingkan kadar kerotenoid total yang dihasilkan dari *Padina australis* antara metode maserasi, *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) ?

### 1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian yang dilakukan, yaitu sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui metode penentuan kadar karotenoid yang telah diekstraksi dari alga coklat *Padina australis* memenuhi kriteria atau parameter validasi (meliputi akurasi, presisi, linearitas, *Limit Of Detection* (LOD), *Limit Of Quantitation* (LOQ), metode analisis yang dianalisis secara Spektrofotometri UV-Vis.
2. Untuk mengetahui pengaruh dari metode ekstraksi yang digunakan jika dibandingkan kadar kerotenoid total yang dihasilkan dari *Padina australis* antara metode maserasi, *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE), dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE).