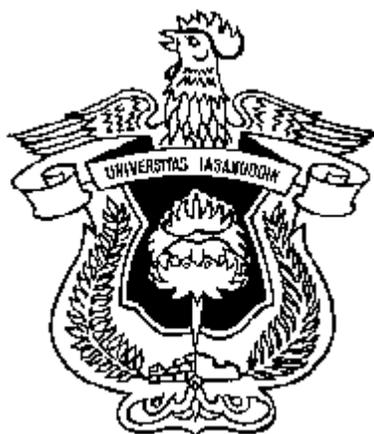


**POTENSI Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} TERHADAP PENINGKATAN AKTIVITAS
KLOROFIL SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA ALGA HIJAU
*Halimeda discoidea***

SRI WIDIASTUTI

H311 13 506



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2017

**POTENSI Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} TERHADAP PENINGKATAN AKTIVITAS
KLOROFIL SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA ALGA HIJAU
*Halimeda discoidea***

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

Sri Widiastuti

H31113506



MAKASSAR

2017

SKRIPSI

**POTENSI Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} TERHADAP PENINGKATAN AKTIVITAS
KLOROFIL SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA ALGA HIJAU
*Halimeda discoidea***

Disusun dan diajukan oleh:

Sri Widiastuti

H31113506

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Ahyar Ahmad
NIP. 19671231 199103 1 020

Pembimbing Pertama



Dr. Yusafir Hala, M.Si
NIP. 19580510 198810 1 001

“Harta yang tak pernah habis adalah Ilmu pengetahuan dan ilmu yang tak ternilai adalah pendidikan. Orang yang pintar bukanlah orang yang merasa pintar, akan tetapi ia adalah orang yang merasa bodoh, dengan begitu ia tak akan pernah berhenti untuk terus belajar. Belajar dan bekerja dengan giat, serta tidak lupa bersyukur, tentu akan memberikan hasil yang baik. Terus menggali ilmu dan pengetahuan baru, maka engkau akan bisa mengenali dan mengembangkan kemampuan dirimu. Tak perlu malu karena berbuat kesalahan, sebab kesalahan akan membuatmu lebih bijak dari sebelumnya”.

Kupersembahkan karya kecil ini untuk orang tua dan teman-temanku.....

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah puji syukur atas kehadiran Allah SWT, karena atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nyalah sehingga kami dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Potensi Fe^{2+} dan Co^{2+} Terhadap Peningkatan Aktivitas Klorofil Sebagai Antioksidan Pada Alga Hijau *Halimeda discoidea*”**. Salam dan salawat senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW sebagai suri tauladan bagi seluruh umat manusia.

Banyak rintangan dan masalah yang saya hadapi dalam proses penyelesaian skripsi ini, atas berkat bantuan, doa dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis juga menghanturkan banyak terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya kepada:

- Terkhusus kepada kedua orang tua dan saudara-saudara saya, dengan segala kerendahan hati, saya ucapkan terima kasih kepada ayahanda Drs. H. Jamaluddin dan Ibunda Hj. ST. Rahman serta Kak Surya Rahman, Kak Dewi Sudawan dan kak trisna atas doa dan dukungan mereka yang tak henti-hentinya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
- Bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad dan Dr. Yusafir Hala, M.Si selaku pembimbing yang telah berusaha maksimal dalam membimbing dan memberi motivasi penulis untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Terima kasih banyak.
- Bapak Dr. Eng. Amiruddin selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Makassar beserta jajarannya.
- Ketua dan Sekretaris Jurusan Kimia Ibu Dr. Hj. Indah Raya, M.Si dan Ibu Dr. Fauziah dan seluruh dosen yang telah member ilmu serta arahan kepada penulis selama menempuh pendidikan serta staf Jurusan Kimia Fakultas atas semua bantuan dan kerja samanya.

- Tim Penguji skripsi bapak Drs. L. Musa Ramang, M.Si, Ir. Abd. Hayat Kasim, MT dan Drs. F.W. Mandey, M. Sc atas segala arahan dan masukan yang diberikan kepada penulis.
- Terima kasih kepada Kak ilham dan kak wahyu 2011 dan teman seperjuangan tian dan murtina 2013 yang telah membantu dalam pengambilan sampel.
- Kepada rekan-rekan sepenelitian saya Andi Eka Kartika, Andi akbar, Maudy Audina Afandy, Emmi Astuti, Asrul Sani, Yudith Ayu Lestari, dan Haryati Rafsen serta kakak-kakak 2012 dan kakak-kakak 2011 yang selalu memberikan semangat, dukungan, motivasi dan berbagi pemikiran selama penelitian hingga penyusunan skripsi.
- Analis Laboratorium Kak **Fiby**, Kak **Linda**, Ibu **Tini**, Pak **Sugeng**, Pak **Iqbal**, dan terkhusus kepada Kak **Anti**, terimakasih atas bantuan yang diberikan selama saya berada di Jurusan Kimia.
- Terima kasih kepada teman-teman TITRASI 13 (Afdal, Wahyu, Akbar Wawan, Anton, Danang, Sandi, Adhan, Fathur, Sufriyadi, Asrul, Mun, Eka, Emmi, Ros, Wina, Santri, Aulia, Yudit, Rafsen, Sarifah, Diana, Ita, Muli, Dewi, Ana, Afni, Nisa, Shila, Ani, Adji, Harma, Suci, Rani, Hikma, Tisa, Ulfa, Samri, Usfa, Vero, Mima, Adri, Eni, Fitri, Irma, Butet, Fira, Ifah, Riska) yang telah memberikan semangat, motivasi dan dukungan.

Penulis berharap semoga segala bantuan, motivasi dan pengorbanan yang telah di berikan kepada penulis bernilai ibadah dan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kelak.

Makassar, 8 September 2017

Penulis

ABSTRAK

Penelitian mengenai potensi Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap peningkatan aktivitas klorofil sebagai antioksidan pada alga hijau *Halimeda discoidea* telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan klorofil alga hijau *Halimeda discoidea*, menentukan pengaruh Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap klorofil pada Alga Hijau *Halimeda discoidea* sebagai antioksidan, menentukan potensi klorofil pada alga hijau *Halimeda discoidea* sebagai antioksidan. Penentuan klorofil dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Identifikasi gugus fungsi dengan menggunakan FT-IR. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrasil) pada panjang gelombang 515 nm menghasilkan data IC₅₀. Pada penelitian ini kadar klorofil dari alga hijau sebesar 9,94 mg/m³, sementara ekstrak klorofil memiliki nilai IC₅₀ sebesar 68,99 µg/mL yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat, sedangkan ekstrak klorofil dengan penambahan ion logam Fe^{2+} pada konsentrasi 50, 100, 150 ppm memiliki IC₅₀ berturut-turut sebesar 56,12; 44,17; dan 61,27 µg/mL. Dilain pihak ekstrak klorofil dengan penambahan ion logam Co^{2+} pada konsentrasi 50, 100, dan 150 ppm memiliki IC₅₀ berturut-turut sebesar 46,47; 57,39; dan 19,04 µg/mL dan ekstrak klorofil dengan penambahan ion logam Ca^{2+} pada konsentrasi 50, 100,150 ppm memiliki IC₅₀ berturut-turut sebesar 84,48; 50,80; dan 40,22 µg/mL. Aktivitas antioksidan ekstrak klorofil tergolong kuat sedangkan ekstrak klorofil yang mengandung logam Fe^{2+} 100 ppm, Co^{2+} dan Ca^{2+} dengan konsentrasi 150 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sehingga ekstrak klorofil dari alga hijau berpotensi sebagai antioksidan.

Kata kunci : Alga hijau, antioksidan, ion Ca^{2+} , ion Co^{2+} , ion Fe^{2+} , klorofil, DPPH, spektrofotometer Uv-Vis, FT-IR

ABSTRACT

Research on the potential of Fe^{2+} , Co^{2+} and Ca^{2+} to the increased activity of chlorophyll as antioxidant in green algae *Halimeda discoidea* has been done. This study aims to determine the chlorophyll content of green algae *Halimeda discoidea*, determine the effect of Fe^{2+} , Co^{2+} and Ca^{2+} to the chlorophyll in green alga *Halimeda discoidea* as antioxidants, determine the potential of chlorophyll in the green alga *Halimeda discoidea* as an antioxidant. Determination of chlorophyll using Uv-Vis spectrophotometer. Identification of functional groups by using FT-IR. Testing of antioxidant activity with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) at a wavelength of 515 nm to produce data IC_{50} . In this study, the chlorophyll content of green algae at 9.94 mg/m^3 , while the extract chlorophyll have IC_{50} of $68.99 \text{ }\mu\text{g/ mL}$ categorized as a powerful antioxidant, while the chlorophyll extract with the addition of metal ions Fe^{2+} at a concentration of 50, 100, 150 ppm have IC_{50} respectively for 56.12; 44.17; and $61.27 \text{ }\mu\text{g/ mL}$. On the other hand chlorophyll extract with the addition of the metal ions Co^{2+} at concentrations of 50, 100, and 150 ppm have IC_{50} respectively for 46.47; 57.39; and $19.04 \text{ }\mu\text{g/ mL}$ and the extract chlorophyll with the addition of the metal ions Ca^{2+} at concentrations of 50, 100, 150 ppm have IC_{50} respectively for 84.48; 50.80; and $40.22 \text{ }\mu\text{g/ mL}$. The antioxidant activity of the extract chlorophyll is relatively strong while the extract chlorophyll-containing metals Fe^{2+} , of 100 ppm Co^{2+} and Ca^{2+} with a concentration of 150 ppm showed a very strong antioxidant activity, thus extract chlorophyll from green algae potential as antioxidants.

Keywords: green algae, antioxidants, ion Ca^{2+} , ion Co^{2+} , ion Fe^{2+} , chlorophyll, DPPH, spektrofotometer Uv-Vis, FT-IR

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Maksud Penelitian	4
1.3.2 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Rumput Laut	5
2.2 Alga Hijau Genus <i>Halimeda</i>	8
2.3 Klorofil	12
2.4 Ion Logam Fe ²⁺	14
2.5 Ion Logam Co ²⁺	15
	viii

2.6. Ion Logam Ca^{2+}	16
2.7 Antioksidan	16
2.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	17
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1 Bahan Penelitian	19
3.2 Alat Penelitian	19
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.4 Prosedur Penelitian	20
3.4.1 Isolasi Klorofil dari Alga Hijau <i>Halimeda Discoidea</i>	20
3.4.2 Penentuan Konsentrasi Klorofil Secara Spektrofotometri ..	20
3.4.3 Pembuatan Kompleks Logam Klorofil	20
3.4.3.1 Pembuatan Kompleks Fe^{2+} Klorofil.....	20
3.4.3.2 Pembuatan Kompleks Co^{2+} Klorofil	21
3.4.3.3 Pembuatan Kompleks Ca^{2+} Klorofil	21
3.5 Analisis Spektroskopi	21
3.5.1 Analisis Spektrofotometer Uv-VIS.....	22
3.5.2 Analisis Spektrofotometer FT-IR	22
3.6 Uji Antioksidan.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Isolasi dan Penentuan Kadar Klorofil dari Alga Hijau <i>Halimeda discoidea</i>	24
4.2 Identifikasi dengan spektrofotometer Uv-Vis	24
4.3 Analisis dengan FTIR	26
4.5 Analisis Antioksidan dengan metode DPPH.....	28

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan klorofil pada alga hijau <i>Halimeda discoidea</i>	24
2. Perbandingan Panjang Gelombang Alga Kontrol dengan yang Dipaparkan Logam.....	25
3. Data spektrum IR ekstrak klorofil kontrol dengan ekstrak klorofil dengan yang dipaparkan logam	27
4. Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Fe^{2+}	28
5. Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Co^{2+}	30
6. Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Ca^{2+}	32
7. Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Halimeda macroloba	5
2. Halimeda Micronesia	10
3. Halimeda opuntia.....	10
4. Halimeda discoidea.....	11
5. Struktur klorofil	13
6. Spektrum IR ekstrak kontrol alga hijau dengan ekstrak alga hijau dengan penambahan logam.....	26
7. Grafik Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Fe^{2+}	29
8. Grafik Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Co^{2+}	31
9. Grafik Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Ca^{2+}	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Isolasi Klorofil dari Alga Hijau <i>Halimeda Discoidea</i>	42
2. Bagan Kerja Penentuan Kadar Klorofil Secara Spektrofotometri	43
3. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kompleks Logam Fe ²⁺ klorofil	44
4. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kompleks Logam Co ²⁺ klorofil	45
5. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kompleks Logam Ca ²⁺ klorofil	46
6. Bagan Kerja Analisis dengan Spektrofotometer Uv-VIS	47
7. Bagan Kerja Analisis dengan FTIR	47
8. Bagan Kerja Uji Antioksidan Metode DPPH	48
9. Bagan Kerja Pembuatan Larutan Vitamin C	49
10. Bagan Kerja Pengujian Aktivitas Antioksidan	50
11. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH 0,4 Mm	51
12. Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) DPPH	52
13. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dan ekstrak klorofil yang dipaparkan logam dan asam askorbat	53
14. Perhitungan Pembuatan Ekstrak Ion Logam	72
15. Panjang Gelombang Alga Kontrol dan yang Dipaparkan Logam	76

DAFTAR SINGKATAN

p.a	: pure analise
LC50	: Lethal Concentration 50
Ppm	: Part Per Million
Uv-Vis	: Ultra Violet-Visible
FTIR	: Fourier Transfer Infara Red
DPPH	: 1.1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara maritim yang permukaannya didominasi oleh lautan. Bahan alam laut banyak dimanfaatkan dalam bidang pertanian sebagai bahan pangan, industri, kesehatan, dan lingkungan yang umumnya bersumber dari organisme hayati (Khotimah dkk., 2013).

Rumput laut merupakan salah satu komoditi ekspor yang potensial untuk dikembangkan. Namun rumput laut masih banyak diekspor dalam bentuk bahan mentah berupa rumput laut kering. Rumput laut merupakan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Selain dapat digunakan sebagai bahan makanan, minuman, dan obat-obatan, beberapa hasil olahan alga seperti agar-agar, alginat dan karaginan. Beberapa jenis rumput laut mengandung mineral penting seperti iodin, kalsium dan selenium yang berguna untuk metabolisme tubuh (Khotimah dkk., 2013).

Rumput laut merupakan tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun dari kebanyakan alga dan berperan dalam proses fotosintetik. Berdasarkan pigmen atau zat warna yang dikandung dalam alga dikelompokkan atas empat kelas yaitu ganggang merah *Rhodophyceae*, ganggang cokelat *Phaeophyceae*, ganggang hijau *Chlorophyceae*, dan ganggang hijau-biru *Cyanophyceae* (Supirman dkk., 2013). Secara umum rumput laut mengandung pigmen yaitu klorofil a dan b, xantofil serta senyawa karoten yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa kimia yang dihasilkan oleh rumput laut pada umumnya yaitu senyawa terpenoid dan senyawa aromatik

(Tamat dkk., 2007). Berdasarkan penelitian, Supardy dkk. (2011) rumput laut *Halimeda discoidea* mengandung pigmen golongan karotenoid yaitu β -karoten dan klorofil.

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama dengan karoten dan xantofil (Winarno, 2004). Klorofil pada umumnya dikenal berperan dalam proses fotosintesis (Maddu dkk., 2015). Kloroplas berfungsi sebagai tempat berlangsung fotosintesis, di mana pigmen-pigmen pada membran tilakoid akan menyerap cahaya matahari dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia (Lakitan, 2001). Klorofil juga mampu berfungsi sebagai antioksidan karena klorofil dapat mencegah oksidasi yang berlebihan dalam tubuh. Klorofil mengandung enzim yang berfungsi dalam menetralkan aktivitas radikal bebas (Iriyani dan Nugrahani, 2014). Pemanfaatan klorofil sebagai bahan pangan masih sedikit, padahal klorofil mampu meningkatkan fungsi metabolik dalam tubuh (Mardaningsih dkk., 2012). Sementara menurut Mortensen (2006) sumber klorofil di Indonesia sangat melimpah.

Kondisi salinitas air laut dan konsentrasi ion-ion logam media kultur berperan aktif pada pertumbuhan dan proses fotosintesis pada rumput laut (Sutomo, 1990). Ion logam Mg^{2+} memiliki peranan fisiologis dan molekul klorofil merupakan molekul utama dalam tanaman karena Mg^{2+} merupakan inti molekul klorofil (Datu dkk., 2013). Klorofil tidak stabil yang mudah terdegradasi oleh paparan panas, asam, cahaya, pH lingkungan dan oksigen. Hal ini disebabkan karena ikatan koordinasi dengan Mg^{2+} dalam klorofil mudah lepas (Mortensen, 2006). Untuk meningkatkan kestabilan ekstrak klorofil dan kemampuan anti oksidasi dapat dilakukan dengan mengganti Mg^{2+} dengan ion logam lain (Abdilah, 2014).

Besi dapat ditemukan hampir di semua tempat seperti lapisan geologis dan badan air. Besi mempunyai peran bagi makhluk hidup sebagai salah satu unsur esensial dalam pembentukan klorofil bagi tumbuhan (Supriyatna dkk., 2013). Logam kobal dalam tubuh berperan dalam pembentukan vitamin B12 yang sangat penting untuk menjaga normalitas kerja semua sel, kobal memiliki jari-jari ion yang menyerupai jari-jari magnesium serta keelektronegatifan yang lebih besar dari magnesium sehingga dapat membentuk kompleks baru yang stabil dengan klorofil (Abdillah dkk., 2014).

Antioksidan adalah zat yang memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi karena itu antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan, terutama mencegah kanker dan tumor. Di samping itu, antioksidan juga dapat mempertahankan mutu produk pangan karena dapat mencegah proses oksidasi yang berpotensi menyebabkan kerusakan (Tamat dkk., 2007). Penggunaan antioksidan bertujuan untuk mencegah terjadinya oksidasi sehingga tidak menyebabkan penyakit. Antioksidan, dalam konsentrasi yang rendah, dapat menghambat atau mencegah terjadinya proses oksidasi (Nawaly dkk., 2009).

Berdasarkan uraian di atas telah dilakukan penelitian mengenai “potensi Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap peningkatan klorofil sebagai antioksidan pada alga hijau *halimeda discoidea*”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa kandungan klorofil pada Alga Hijau *Halimeda Discoidea*?
2. Bagaimana pengaruh Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap klorofil pada Alga Hijau *Halimeda Discoidea* sebagai antioksidan?

3. Bagaimana potensi klorofil pada Alga Hijau *Halimeda Discoidea* sebagai antioksidan?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Adapun maksud dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui dan memahami kandungan klorofil dan potensi Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap peningkatan klorofil sebagai antioksidan pada alga hijau *halimeda discoidea*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah

1. Menentukan kandungan klorofil Alga Hijau *Halimeda Discoidea*.
2. Menentukan pengaruh Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap klorofil pada Alga Hijau *Halimeda Discoidea* sebagai antioksidan.
3. Menentukan potensi klorofil pada Alga Hijau *Halimeda Discoidea* sebagai antioksidan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai kandungan klorofil Alga Hijau *Halimeda Discoidea* dan potensi Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} terhadap peningkatan klorofil sebagai antioksidan pada alga hijau *halimeda discoidea*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut

Rumput laut merupakan tumbuhan laut yang sangat berpotensi sebagai sumber pangan dan obat-obatan. Rumput laut mengandung polisakarida yang banyak digunakan sebagai bahan pangan, rumput laut kaya akan senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan diantaranya pigmen yang dihasilkan oleh rumput laut merah, rumput laut hijau, dan rumput laut coklat. Jenis rumput laut yang mempunyai pigmen yang spesifik dengan komposisi yang berbeda (Merdekawati dan Susanto, 2009).

Berbagai jenis rumput laut yang terdapat di seluruh dunia yang berkhasiat sebagai obat, ternyata beberapa marga di antaranya merupakan marga yang terdapat umum tumbuh dan tersebar luas di perairan laut Indonesia. Marga-marga tersebut antara lain adalah *Acanthophora*, *Gracilaria*, *Gelidium*, *Hypnea*, *Sargassum*, *Codium*, *Halimeda* dan *Ulva*. Rumput laut tersebut umumnya tumbuh menempel pada batu di perairan pantai pasang-surut termasuk di daerah terumbu karang, kecuali *Codium* dan *Caulerpa* yang dapat tumbuh pula pada beberapa substrat selain batu misalnya pasir dan lumpur di daerah yang agak terlindung.

Klasifikasi rumput laut secara garis besar terdiri dari 3 kelas, yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyceae*), rumput laut merah (*Rhodophyceae*), dan rumput laut coklat (*Phaeophyceae*) (Merdekawaty dan Susanto, 2009). Rumput laut ini merupakan salah satu kelompok tumbuhan laut yang mempunyai sifat yang tidak dapat dibedakan antara bagian akar, batang dan daun, sehingga seluruh bagian

tumbuhan disebut *thallus* dan tergolong tumbuhan tingkat rendah (Suparmi dan Sahri, 2009).

Secara taksonomi alga dikelompokkan ke dalam divisi *Rhodophyta* dan berdasarkan kandungan pigmen di bagi ke dalam empat kelas menurut (Anggadireja dkk., 2007) sebagai berikut:

1. *Chlorophyceae* (ganggang hijau) yaitu makroalga yang didominasi oleh zat warna (klorofil).
2. *Phaeophyceae* (ganggang coklat) yaitu makroalga yang didominasi zat warna coklat (karotenoid) dan alga kelas ini dapat menghasilkan alginat.
3. *Rhodophyceae* (ganggang merah) yaitu makro yang didominasi zat warna merah, ungu, lembayung. *Rhodophyceae* lebih banyak dibudidayakan karena dapat menghasilkan karaginan dan agar.
4. *Cyanophyceae* (ganggang biru-hijau), yaitu makroalga yang didominasi zat warna biru sampai kehijauan (fikosianin).

Alga dapat hidup sebagai fitoplankton yang mengapung dalam air serta dapat juga hidup menancap atau melekat didasar laut. Alga yang hidup didasar laut banyak terdapat di sepanjang pantai dari zona pasang surut, diperairan yang jernih beberapa jenis alga dapat hidup sampai kedalaman lebih 150 m. Alga pada umumnya banyak ditemukan melekat pada batu, potongan karang, cangkang moluska, potongan kayu dan sebagainya, apabila terlepas dari substrat dasar, dapat hidup mengambang di permukaan karena mempunyai gelembung-gelembung udara sebagai pelampung seperti yang terdapat pada *Sargassum sp.* (Nontji, 2002).

Seluruh wujud alga terdiri dari semacam batang yang disebut *thallus*, hanya bentuknya yang beraneka ragam. Substansinya bermacam-macam, ada yang

lunak, keras mengandung kapur, berserabut dan lain sebagainya. Alga yang berkapur (*calcareous*) misalnya *Halimeda* banyak ditemukan di terumbu karang tersebut (Nontji, 2002).

Alga hijau ditemui hidup dalam perairan dengan berbagai ragam kondisi mulai dari perairan tawar sampai dengan perairan laut. Alga hijau (*Chlorophyta*) merupakan salah satu kelompok alga terbesar dengan keanekaragaman jenis yang tinggi, bentuk hidup alga ini bervariasi mulai dari bentuk yang uniseluler, berkoloni, berfilamen, berbentuk lembaran ataupun berupa tabung. Sel-sel alga hijau mempunyai kloroplas yang berwarna hijau, mengandung klorofil a dan b serta karotenoid (Widiana dkk., 2011). Selain memiliki klorofil sebagai pigmen fotosintesis, alga hijau juga memiliki karotenoid sebagai pigmen tambahan. Karotenoid utama yang dimiliki alga hijau diantaranya β -karoten, lutein, violaxantin, zeaxantin dan neoxantin (Fretes dkk., 2012).

Menurut Romimohtarto dan Juwana (2009), alga hijau (*Chlorophyceae*) terdapat berlimpah di perairan hangat (tropik) dan terdapat beberapa genus alga hijau yang diantaranya sering dijumpai di perairan pantai Indonesia diantaranya adalah:

- a. *Halimeda* terdiri dari 18 jenis. Marga ini berkapur dan menjadi salah satu penyumbang endapan kapur di laut. *Halimeda tuna* terdiri dari rantai bercabang dari potongan tipis berbentuk kipas. Alga ini terdapat di bawah air surut, pada pantai berbatu dan paparan terumbu, tetapi potongan-potongannya dapat tersapu ke bagian atas pantai setelah terjadi badai.
- b. *Ulva*, mempunyai *thallus* berbentuk lembaran tipis seperti sla, oleh karenanya dinamakan sla laut. Ada tiga jenis yang tercatat, satu diantaranya, *U. reticulata*. Alga ini biasanya melekat dengan

menggunakan alat pelekat berbentuk cakram pada batu atau pada substrat lain.

- c. *Valonia* (*V. ventricosa*), mempunyai *thallus* yang membentuk gelembung berisi cairan berwarna ungu atau hijau mengkilat, menempel pada karang atau karang mati.
- d. *Dictyosphaera* (*D. caversona*) dan jenis-jenis dari marga ini di Nusa Tenggara Barat dinamakan bulung dan dimanfaatkan sebagai sayuran.

2.2 Alga Hijau Genus *Halimeda*

Halimeda secara umum terdapat di perairan tropis dan mensekresikan CaCO_3 yang telah mati akan menyuplai pada pasir karbonat. Alga ini mendeposit CaCO_3 sebagai aragonit pada sisi luar *thallus*. Halimeda berperan pada formasi terumbu karang dan umumnya sebagai pengikat sedimen (Susanto, 1995).

Genus Halimeda dicirikan dengan karakteristik talus *coenocytic*, genus ini berkembang baik di terumbu karang bersubstrat keras. Pada umumnya Halimeda mempunyai bentuk percabangan yang hampir sama yaitu *dichotomous* dan *trichotomous*, bentuk segmen yang silindris dan garis permukaan utrikel yang hampir sama yaitu heksagonal dan polygonal. Talus Halimeda banyak mengandung kapur dan membentuk koloni-koloni atau berkelompok dan mempunyai alat perekat berupa rhizoid dan bersegmen (Tampubolon dkk., 2013).

Beberapa spesies makroalga hijau dari genus *halimeda*, diantaranya (Tampubolon dkk., 2013):

a. *Halimeda Micronesia*



Gambar 1. *Halimeda micronesica* (Agusti, 2016)

Klasifikasi

- Kingdom : Plantae
Divisi : Chlorophyta
Ordo : Bryopsidales
Family : Halimedaceae
Genus : Halimeda
Spesies : *Halimeda Micronesia*

Alga *Halimeda micronesica* seperti yang terlihat pada gambar 1. memiliki spesifikasi pertumbuhan thalli kompak, menjalar tinggi mencapai 10 cm, percabangan utama *trichotomus*, segmen lebar 7 mm, panjang 5 mm, berbentuk discoidal dan kadang-kadang berbentuk silinder. Tumbuh pada substrat karang, batu, menempel diantara sela-sela karang hidup. Keberadaannya di daerah tubir dengan kedalaman 5-50 m terutama pantai berkarang (Anonim, 2013).

b. *Halimeda opuntia*



Gambar 2. *Halimeda opuntia* (Agusti, 2016)

Makroalga spesies *Halimeda opuntia* memiliki bentuk thalli kompak, bentuk *blade* berupa lembaran-lembaran kecil dengan permukaan kasar. Percabangan segmen bertumpuk menjalar dan membentuk pertumbuhan baru. Segmen relative kecil berbentuk pipih, bulat dan bergelombang. Warna bagian bawah yang menyerupai *blade* biasanya berwarna putih dan bagian atas permukaan berwarna hijau tua atau hijau muda. Tunas segmen baru terletak pada segmen utama pada bagian lekukan. Umumnya habitatnya berada pada sela-sela karang yang hidup atau mati, batu, pecahan karang dan berpasir (Langoy dkk., 2009).

c. *Halimeda macroloba*



Gambar 3. *Halimeda macroloba* (Agusti, 2016)

Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Divisi : Chlorophyta
Ordo : Bryopsidales
Family : Haalimedaceae
Genus : Halimeda
Spesies : *Halimeda macroloba*

Alga spesies *Halimeda macroloba* memiliki hijau pudar keputihan, tegak, rimbun, berukuran sedang, tinggi mencapai 16 cm, menanamkan diri dalam substrat dengan serabut rhizoid yang berbentuk umbi. Thalli berupa segmen-segmen dengan klasifikasi ringan hingga sedang. Hidup di zona pasang surut bagian tengah yang berdasar pasir bercampur sedikit lumpur. Sering ditemukan tumbuh di sela-sela padang lamun (Anonim, 2013).

d. *Halimeda discoidea*



Gambar 4. *Halimeda discoidea* (Agusti, 2016)

Klasifikasi

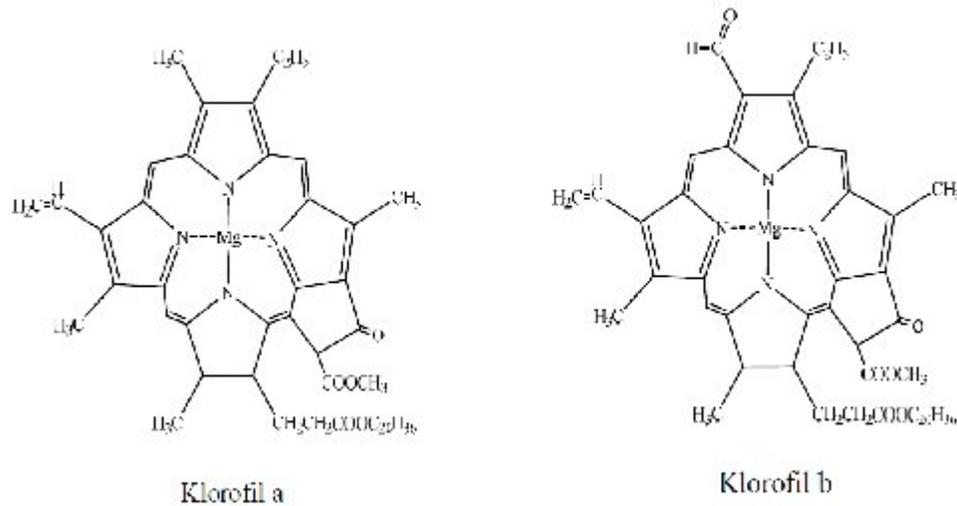
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Ordo	: Bryopsidales
Family	: Halimedaceae
Genus	: Halimeda
Spesies	: <i>Halimeda discoidea</i>

Halimeda discoidea merupakan alga yang berkapur dan tegak, rimbun yang pertumbuhannya lambat. Halimeda memiliki *thallus* berbentuk tegak dan memiliki *holdfast* (akar) yang secara normal melindungi substrat tetapi terkadang juga untuk melindungi kehidupannya pada karang. Thallus pada Halimeda mudah menjadi kapur yang panjangnya mencapai 12 cm dan berbentuk segmen-segmen dengan klasifikasi ringan hingga sedang. Warnanya hijau keputihan dan tingginya mencapai 15 cm, habitat hidup alga spesies *Halimeda discoidea* yaitu di zona pasang surut bagian tengah dengan dasar pasir berlumpur halus. Sering berasosiasi dengan kelompok Halimeda lainnya dan juga tumbuh diantara tanaman lamun dan tersebar merata diseluruh perairan (Langoy dkk., 2009).

2.3 Klorofil

Klorofil merupakan pigmen hijau alam yang umumnya terdapat pada tumbuhan hijau dan memiliki peranan sangat penting dalam proses fotosintesis (Maddu dkk., 2015). Seperti alga dan *cyanobacteria* (Nurusholah dkk., 2014). Klorofil salah satu pigmen alami yang ditemukan pada setiap organisme fotototrof yaitu tumbuhan hijau baik yang berada di lautan maupun di daratan, klorofil dalam proses fotosintesis dapat mengabsorpsi cahaya pada panjang

gelombang merah, biru dan ungu dimana penyerapan cahaya oleh klorofil disebabkan karena adanya struktur porfirin yang berkoordinasi dengan ion magnesium (Sandiningtyas dan Suendo, 2010). Adapun struktur klorofil dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur klorofil a dan b (Inanc, 2011).

Menurut Milenkovic dkk., (2012), komponen vital dalam proses fotosintesis yaitu klorofil. Klorofil dapat mengubah energi cahaya menjadi energi kimia, perbedaan antara struktur klorofil a ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5$) dan klorofil b ($C_{55}H_{70}MgN_4O_6$) dengan berat molekul berturut-turut 893,49 dan 906,51 gram/mol. Hal ini menyebabkan perbedaan warna antara keduanya yaitu klorofil a berwarna hijau kebiruan dan klorofil b berwarna hijau kekuningan (Hosikian dkk., 2010).

Kandungan klorofil suatu tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu salah satu umur daun. Susanto (2008), melakukan penelitian pengaruh umur panen suatu tanaman dengan kandungan klorofil, hasilnya semakin tua umur panen semakin banyak jumlah klorofil yang dihasilkan. Posisi daun dalam

tanaman serta perbedaan spesiesnya sangat mempengaruhi kandungan klorofil suatu tanaman (Gond dkk., 2012).

Klorofil bersifat tidak stabil dan lebih mudah rusak bila terkena sinar matahari, panas, asam dan basa, klorofil dalam daun terikat pada protein, dalam proses pemanasan proteinnya terdenaturasi dan klorofil dilepaskan (Rozak dan Hartanto, 2008).

Klorofil terdapat dalam kloroplas bersama dengan karoten dan xantofil (Winarno, 2004). Kloroplas berfungsi sebagai tempat berlangsungnya proses fotosintesis, pigmen-pigmen pada membran tilakoid akan menyerap sumber cahaya dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia (Lakitan, 2001).

2.4 Ion Logam Fe²⁺

Salah satu bahan yang kaya akan zat besi adalah rumput laut. Rumput laut merupakan salah satu bahan makanan yang kaya akan zat besi. Dari penelitian yang telah dilakukan, *Gracilaria changgi* mengandung zat besi 95,6 mg per 100 g dalam berat kering dan kandungan zat besi *Sargassum sp* adalah 68.21 mg per 100 g berat kering. Zat besi yang terkandung dalam rumput laut memiliki bioavailabilitas yang tinggi, rumput laut selain memiliki kandungan besi yang cukup tinggi, rumput laut juga merupakan sumber serat pangan yang baik (Yuniarti, 2011).

Besi merupakan unsur kimia yang dapat ditemukan hampir disemua tempat yaitu pada bagian lapisan geologis dan badan air. Besi berperan sebagai penyusun sitokrom dan klorofil bagi tumbuhan. Secara garis besar besi mempunyai peran bagi makhluk hidup. Salah satu peran besin yaitu sebagai salah

satu unsur esensial dan berperan sebagai penyusun sitokrom dan klorofil bagi tumbuhan (Supriyatna dkk., 2013).

Besi (Fe) merupakan unsur esensial karena merupakan bagian dari enzim-enzim tertentu dan merupakan bagian dari protein yang berfungsi sebagai pembawa electron pada fase terang fotosintesis dan respirasi, besi diserap oleh tanaman dalam bentuk Fe^{2+} dan Fe^{3+} . Fe penting bagi pembentukan klorofil, karbohidrat, lemak, protein dan enzim, akan tetapi meskipun Fe tidak menjadi komponen klorofil namun berperan sebagai katalisator pada sintesis polisakarida. Fungsi unsur Fe pada tanaman ikut dalam proses fotosintesis dan respirasi (Primaryadi, 2015).

Menurut Primaryadi (2015) menyatakan bahwa Fe berperan penting dalam regulasi metabolisme sel sebagai unsur esensial pada mikroalga sehingga jika kekurangan konsentrasi Fe akan menekan pertumbuhan sel.

2.5 Ion Logam Co^{2+}

Kobal merupakan logam transisi yang memiliki berat molekul 59,93 g/mol yang berbentuk padat pada suhu kamar, berwarna abu-abu perak, memiliki titik didih 2.870-2.927 °C, titik leleh 1.495 °C, tidak berbau serta merupakan oksidator kuat dan bisa menimbulkan api dan eksplosif bila terkena panas dan bersifat stabil bila berada di udara (Widowati, dkk., 2008).

Menurut Widowati dkk. (2008), kobalt digunakan sebagai: (1) bahan magnet, sebagai katalisator pengolahan minyak bumi dan berbagai industri kimia; seperti bahan pengering cat; tinta; berbagai industri porcelain keramik, dan kaca. (2) menstabilisasi buih pada minuman bir. Kobalt digunakan sebagai unsur mikro yang ditambahkan dalam bahan makan dan obat-obatan. (4) kobalt radioaktif

digunakan untuk berbagai bidang kesehatan. kobal digunakan untuk sterilisasi peralatan medis dan terapi pasien kanker. (5) industri plastik serta iradiasi pada industri pangan untuk membunuh mikroorganisme dan mengawetkan pangan.

Logam kobal dalam tubuh berperan dalam pembentukan vitamin B12 yang sangat penting untuk menjaga normalitas kerja semua sel dan maturasi sel-sel darah merah (Abdilah, 2014).

2.6 Ion Logam Ca^{2+}

Unsur kalsium diperlukan oleh tanaman dalam jumlah relatif banyak dan diserap dalam bentuk ion Ca^{2+} . Kekurangan kalsium dapat menghambat pertumbuhan tunas baru, jika terjadi pada awal pembungaan dapat menyebabkan gugurnya kuncup bunga. Namun untuk kekurangan kalsium ringan biasanya ditandai oleh daun yang keriting dan munculnya warna putih pada tepian daun muda yang disebabkan oleh menurunnya kadar klorofil. Sedangkan kekurangan kalsium yang parah bisa menyebabkan kerusakan dan kematian akar dan dapat menyebabkan tanaman menjadi kerdil, pertumbuhan panjang yang lambat, dan pertambahan tepi daun terhambat sehingga daun menggulung (Karlinda 2017).

2.7 Antioksidan

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*elektron donor*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Pratama dkk., 2015).

Keberadaan antioksidan dapat ditemukan secara endogen yang dihasilkan oleh tubuh sendiri, dan eksogen yang berasal dari makanan, antioksidan yang ada

pada makanan berasal dari tanaman telah lama dikenal potensinya dan telah lama diketahui untuk menstabilkan senyawa radikal yang dapat diukur aktivitas antioksidannya (Panjaitan dkk., 2010). Sehingga senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam dunia kesehatan karena kemampuannya dalam menghambat pembentukan radikal bebas serta dapat menghambat oksidasi asam nukleat, protein, lemak, DNA sehingga dapat mengurangi berbagai penyakit degeneratif serta mencegah penyakit tumor (Biranti dkk., 2009).

Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi dan mudah bereaksi dengan molekul lain yaitu DNA, protein, karbohidrat dan lainnya. Radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu yang lama dan berusaha untuk berikatan dengan molekul yang bersifat stabil dan mengambil elektronnya (Panjaitan dkk., 2010).

Antioksidan salah satu bahan aditif yang dapat melindungi bahan pangan dari kerusakan oksidasi serta dapat berupa zat gizi seperti vitamin E dan vitamin C dan zat non gizi seperti pigmen karoten, klorofil, likopen, dan flavanoid. Berdasarkan sumbernya antioksidan digolongkan dalam antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Tamat dkk., 2007). Berdasarkan penelitian tentang antioksidan marak dilakukan akhir-akhir ini karena bertujuan untuk menemukan antioksidan alami untuk pengobatan preventive yang disebabkan karena jumlah antioksidan yang dimiliki oleh tubuh untuk mencegah kerusakan oksidatif masih kurang serta banyak antioksidan sintetik yang bersifat karsinogenik (Kong dkk., 2010).

2.8 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pada umumnya menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) karena pengukuran antioksidan dengan metode DPPH yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan reagen yang banyak

dibandingkan dengan metode lain. Metode pengujian antioksidan dengan metode ini dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif (Tamat dkk., 2007).

Larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan antioksidan sehingga DPPH berubah menjadi 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazine yang bersifat tidak radikal, pembentukan 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazine ditandai dengan terjadi perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004).

Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dinyatakan dalam nilai IC_{50} (Inhibitor Concentration 50). IC_{50} berarti konsentrasi larutan substrat atau sampel yang dapat menghambat aktivitas DPPH sebanyak 50 %, semakin besar aktivitas antioksidan maka nilai IC_{50} akan semakin kecil (Molyneux, 2004).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alga Hijau *Halimeda discoidea* diperoleh dari kepulauan Barrang Lompo, aseton p.a, etanol p.a, metanol p.a, akuades, HCl, NaOH, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , pH meter, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), padatan vitamin C, kertas saring Whatman 42, buffer asetat, asam askorbat, plastik *wrap*, *tissue roll* dan aluminium foil.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (ohaus Analytical plus) Laboratorium Biokimia, *magnetic stirrer*, mikro pipet, cuvet, corong Buchner, oven (Genlab LTD, Type 275 °C), *Evaporator Rotary* Laboratorium Biokimia, perangkat alat ultrasonik Ney Ultrasonik 28 H Laboratorium Kimia Fisika, spektrometer Uv-Vis SHIMADZU Uv-2600 Laboratorium Kimia Terpadu, FTIR model SHIMADZU IRPrestige-21 Laboratorium Kimia Terpadu, *incubator* (Memmerth) Laboratorium Biokimia, dan peralatan gelas yang umum digunakan di Laboratorium Biokimia.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai Bulan April 2017 sampai Agustus 2017 di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Terpadu dan Laboratorium Kimia Anorganik Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Isolasi Klorofil dari Alga Hijau *Halimeda discoidea* (Abdillah, 2014)

Sampel ditimbang sebanyak 5 gram, digerus dan ditambahkan dengan 100 mL aseton p.a, kemudian diekstraksi dengan alat ultrasonik selama 15 menit pada suhu 50 °C. Campuran kemudian disentrifugasi selama 10 menit lalu di saring. Filtrat yang diperoleh dievaporasi sampai kering. Ekstrak kering ditambahkan dengan etanol p.a sebanyak 600 mL. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk pembuatan pengaruh logam pada klorofil.

3.4.2 Penentuan Kadar Klorofil Secara Spektrofotometri (Abdillah, 2014)

Sebanyak 0,1 g sampel rumput laut digerus menggunakan mortal. Setelah halus ditambahkan aseton 80% ke dalam gelas kimia sampai volume 20 mL dan di aduk. Campuran disimpan selama 24 jam di tempat gelap. Campuran kemudian disaring dengan kertas saring whatman No.42. Filtrat yang diperoleh dianalisis konsentrasi klorofil *a*, *b*, dan klorofil total dengan menggunakan spektrofotometer Uv/VIS pada panjang gelombang 400-700 nm.

3.4.3 Pembuatan Kompleks Logam Klorofil (Abdillah, 2014)

3.4.3.1 Pembuatan Kompleks Fe²⁺ Klorofil

Pembuatan ekstrak kompleks Fe²⁺ klorofil dilakukan dengan mengambil 100 mL ekstrak rumput laut ke dalam gelas kimia 400 mL, kemudian ditambahkan dengan HCl 1 N sampai pH menjadi 5 sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan dipipet sebanyak 25 mL ke dalam empat erlenmeyer berbeda yang mengandung Fe²⁺ masing-masing dengan konsentrasi 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Ke dalam masing-masing erlenmeyer

ditambahkan dengan NaOH 1 N sampai pH 8,5 sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*.

3.4.3.1 Pembuatan Kompleks Co^{2+} Klorofil

Pembuatan ekstrak kompleks Co^{2+} klorofil dilakukan dengan mengambil 100 mL ekstrak rumput laut ke dalam gelas kimia 400 mL, kemudian ditambahkan dengan HCl 1 N sampai pH menjadi 5 sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan dipipet sebanyak 25 mL ke dalam empat erlenmeyer berbeda yang mengandung Co^{2+} masing-masing dengan konsentrasi 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Ke dalam masing-masing erlenmeyer ditambahkan dengan NaOH 1 N sampai pH 8,5 sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*.

3.4.3.2 Pembuatan Kompleks Ca^{2+} Klorofil

Pembuatan ekstrak kompleks Ca^{2+} klorofil dilakukan dengan mengambil 100 mL ekstrak rumput laut ke dalam gelas kimia 400 mL, kemudian ditambahkan dengan HCl 1 N sampai pH menjadi 5 sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan dipipet sebanyak 25 mL ke dalam empat erlenmeyer berbeda yang mengandung Ca^{2+} masing-masing dengan konsentrasi 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Ke dalam masing-masing erlenmeyer ditambahkan dengan NaOH 1 N sampai pH 8,5 sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*.

3.5 Analisis Spektroskopi

Analisis spektroskopi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah analisis spektrofotometer Uv-Vis dan spektrofotometer IR.

3.5.1 Analisis Uv/Vis

Sampel ekstrak Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} klorofil ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dengan 5 mL etanol p.a dan diukur spektrum elektroniknya dengan menggunakan spektrofotometer Uv/Vis pada panjang gelombang 300-700 nm.

3.5.2 Analisis FT-IR

Sekitar 10 mg sampel ekstrak kompleks Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} klorofil di haluskan dalam lumpang dan dicampurkan dengan serbuk KBr (5-10% sampel dalam serbuk KBr). Selanjutnya ditentukan langsung menggunakan *diffuse reflectance measuring* (DRS-800) yang dipasang pada tempat sampel. Serbuk KBr dimasukkan ke dalam *sample pan* dan *background* ditentukan. Spektrum sampel ditentukan dengan cara memasukkan sampel yang telah dicampur dengan KBr pada *sample pan* dan spektrum diperoleh pada rentang bilangan gelombang $340\text{-}4500\text{ cm}^{-1}$, resolusi 4 cm^{-1} , dan jumlah scan = 300.

3.6 Uji Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode perendaman radikal bebas DPPH yang dimodifikasi. Larutan induk ekstrak alga hijau yang telah diketahui konsentrasinya dibuat dalam 5 seri konsentrasi yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM kemudian dicukupkan volumenya hingga 5 mL dengan methanol p.a dan sebagai pembanding digunakan vitamin C dengan seri konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. Campuran tersebut dikocok dan di inkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit. Dan dilakukan pada ekstrak alga hijau yang mengandung logam Fe^{2+} , Co^{2+} dan Ca^{2+} dengan perlakuan yang sama. Sebagai kontrol negatif digunakan 1 mL akuades sebagai pengganti

sampel. Sebelumnya ditentukan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan metanol sebagai blanko. Semakin banyak radikal DPPH yang dinetralkan ditunjukkan oleh semakin pudarnya warna campuran reaksi atau semakin besar selisih absorbansi terhadap blanko. Adapun % inhibisi ditentukan dengan menggunakan persamaan (2)

$$\text{Inhibisi (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi blanko
 A_1 = Absorbansi larutan sampel

Konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang di peroleh diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi liner. Persamaan tersebut di gunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} (Nurjanah dkk., 2011). Adapun rumus IC_{50} ditentukan dengan persamaan regresi linear. Dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC_{50} dengan menggunakan persamaan (3)

$$IC_{50} = (50 - a) : b \quad (3)$$

Keterangan : IC_{50} = Konsentrasi sumbu x
50 = Konsentrasi sumbu y

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

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Penentuan Kadar Klorofil dari Alga Hijau *Halimeda discoidea*

Hasil isolasi klorofil dari alga hijau *Halimeda discoidea* dianalisis kadar klorofilnya dengan spektrofotometer Uv-Vis yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan klorofil pada alga hijau *Halimeda discoidea*

Sampel	Kandungan klorofil mg/m ³
Alga hijau <i>Halimeda discoidea</i>	9,94 mg/m ³ .

Berdasarkan pada Tabel 1, kandungan klorofil pada alga hijau *Halimeda discoidea* diperoleh kadar klorofil sebesar 9,94 mg/m³. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Abdilah (2014), kadar klorofil dari *Chlorella vulgaris* sebesar 11,64 mg/g, kadar yang diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Abdilah (2014). Hal ini disebabkan oleh perbedaan spesies yang mempengaruhi jumlah kandungan klorofil yang terdapat pada tanaman dan hal ini berkaitan dengan kemampuan biosintesis klorofil tanaman satu dengan yang lain berbeda-beda.

4.2 Identifikasi dengan Spektrofotometer Uv-Vis

Hasil identifikasi klorofil dari Alga hijau *Halimeda discoidea* dengan Spektrofotometer Uv-Vis dihasilkan panjang gelombang yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Panjang gelombang yang didapatkan pada alga hijau dan dibandingkan dengan penelitian sebelumnya berbeda, hal ini disebabkan karena perbedaan

sumber klorofil dan perbedaan pelarut yang digunakan. Adapun absorpsi panjang gelombang dari ekstrak klorofil alga hijau yang dihasilkan dapat dilihat pada Lampiran 14.

Tabel 2. Perbandingan Panjang Gelombang Alga Kontrol dengan yang Dipaparkan Logam

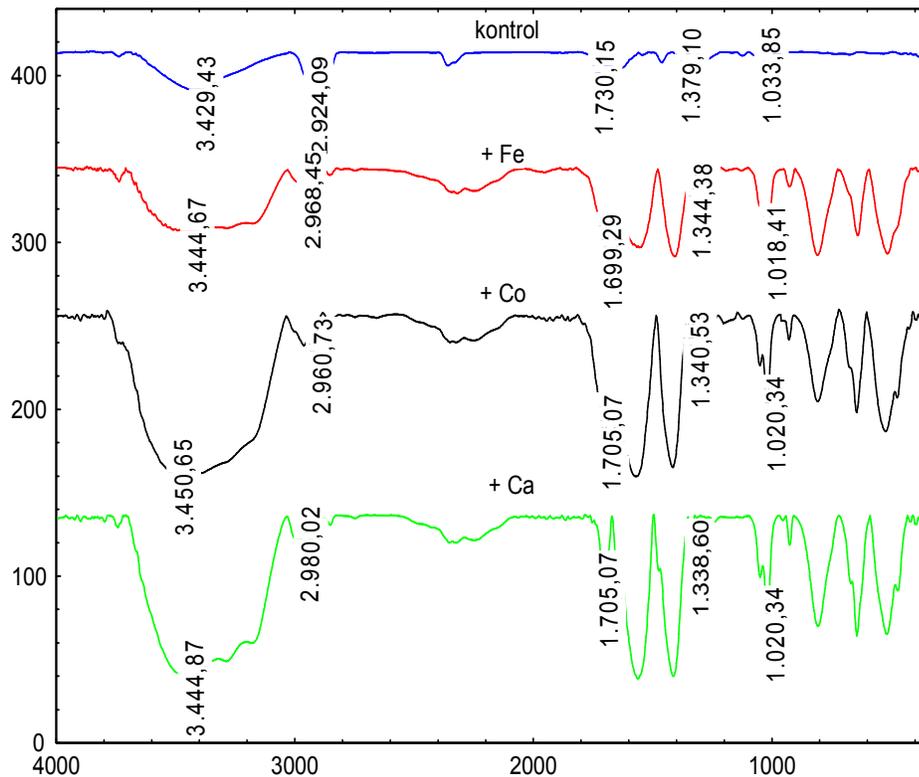
Alga Kontrol dengan alga yang dipaparkan logam	λ (nm)	
	Hasil Penelitian	Penelitian sebelumnya
Kontrol	409 dan 664	<i>Chlorella vulgaris</i> (Abdillah, 2014) 415 dan 663 Daun bayam (Nurhayati dn Suendo, 2010) 413 dan 667
Logam Fe ²⁺	409 menjadi 410	-
Logam Co ²⁺	409 menjadi 418 664 menjadi 654	<i>Chlorella vulgaris</i> (Abdillah, 2014) 400 menjadi 407 664 menjadi 662
Logam Ca ²⁺	409 menjadi 411 664 menjadi 663	-

Terjadinya pergeseran panjang gelombang maksimum dapat menjadi indikasi terbentuknya ikatan klorofil dengan logam. Spektrum absorpsi yang mengandung logam Fe²⁺ klorofil mengalami pergeseran pada panjang gelombang 409 nm menjadi 410 nm, hasil spektrum ini menunjukkan bahwa ekastrak Fe²⁺ klorofil mengalami pergeseran dari ekstrak klorofil. Spektrum Uv/Vis Co²⁺ klorofil mengalami pergeseran dari ekstrak klorofil dari panjang gelombang maksimum 409 menjadi 418 dan 664 nm menjadi 654 nm dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil spektrum ini menunjukkan bahwa ekastrak Co²⁺ klorofil mengalami pergeseran dari ekstrak klorofil. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Abdillah (2014) di mana spektrum serapan Co²⁺ klorofil terjadi pergeseran pada panjang gelombang 400 nm menjadi 407 nm dan 664 nm menjadi 662 nm. Spektrum Uv/Vis Ca²⁺ klorofil mengalami pergeseran dari ekstrak klorofil

dari panjang gelombang maksimum 409 menjadi 411 dan 664 nm menjadi 663 nm dan dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil spektrum ini menunjukkan bahwa ekastrak Ca^{2+} klorofil mengalami pergeseran dari ekstrak klorofil. Perbedaan serapan panjang gelombang yang didapatkan di sebabkan oleh perbedaan tanaman, pelarut dan waktu ekstraksi yang digunakan.

4.3 Analisis dengan FTIR

Berdasarkan analisis FTIR spektrum infa merah (IR) dari ekstrak alga hijau sebagai kontrol dan ekstrak alga hijau dengan penambahan ion logam dapat dilihat pada Gambar 6. Gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak alga hijau sebelum dan sesudah penambahan logam dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 6. Spektrum IR ekstrak kontrol alga hijau dengan ekstrak alga hijau dengan penambahan logam

Spektrum IR mengindikasikan adanya beberapa gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak kontrol alga hijau sebagai berikut pada gugus OH (Hidroksil) memiliki bilangan gelombang 3429,43 cm^{-1} , pada bilangan gelombang 2924,09 untuk vibrasi gugus fungsi C-H sp^3 , bilangan gelombang 1730,15 untuk vibrasi gugus fungsi C=O, pada bilangan gelombang 1379,10 untuk vibrasi gugus fungsi CH_3 , dan pada bilangan gelombang 1033,85 untuk vibrasi gugus fungsi C-O.

Setelah penambahan ion logam puncak-puncak serapan yang diamati mirip dengan puncak-puncak serapan untuk ekstrak kontrol alga hijau. Tetapi puncak serapan mengalami pergeseran seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Data spektrum IR ekstrak klorofil kontrol dengan ekstrak klorofil dengan yang dipaparkan logam

No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})			
		Ekstrak Klorofil Kontrol	Ekstrak Klorofil Dengan Penambahan Logam		
			Logam Fe^{2+}	Logam Co^{2+}	Logam Ca^{2+}
1	O-H hidroksil	3429,43	3444,87	3450,65	3444,87
2	C-H sp^3	2924,09	2968,45	2960,73	2980,02
3	C=O	1730,15	1699,29	1705,07	1705,07
4	CH_3	1379,10	1344,38	1340,53	1338,60
5	C-O	1033,85	1018,41	1020,34	1020,34

Pada vibrasi C=O, CH_3 , dan C-O menunjukkan pergeseran bilangan gelombang namun pergeseran tersebut tidak signifikan. Berbeda dengan vibrasi O-H hidroksil dan CH sp^3 . Jika dibandingkan antara vibrasi O-H pada ekstrak alga hijau dengan penambahan logam dengan ekstrak alga hijau kontrol terjadi pergeseran pada ion logam Fe^{2+} dan Ca^{2+} sebesar 15,44 cm^{-1} , dan pada ion logam Co^{2+} sebesar 21,22 cm^{-1} . Pergeseran bilangan gelombang tersebut menunjukkan bahwa terjadi proses pengikatan ion logam pada ekstrak klorofil alga hijau.

4.4 Analisis Antioksidan dengan metode DPPH

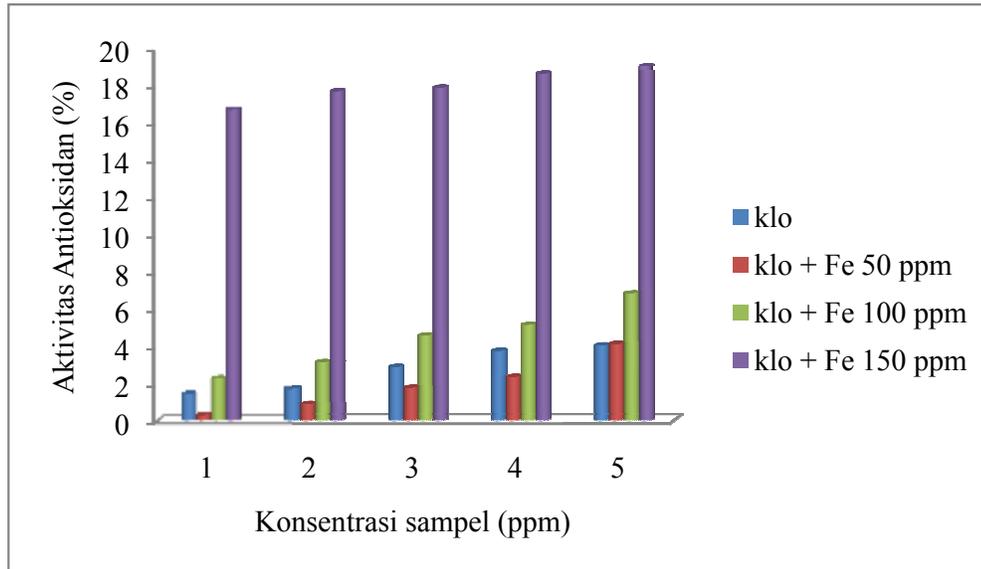
Hasil analisis uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, absorbansi ekstrak dan DPPH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Panjang gelombang tersebut dapat digunakan untuk pengukuran metode DPPH sebab panjang gelombang maksimum yang dapat digunakan adalah 515-520 nm dan panjang gelombang yang diperoleh digunakan untuk pengukuran sampel dan kontrol.

Hasil yang diperoleh dari metode DPPH dihitung aktivitas antioksidannya dengan menggunakan parameter IC_{50} yang didefinisikan sebagai konsentrasi larutan setiap sampel yang menyebabkan tereduksinya aktivitas DPPH sebesar 50 %. Perbandingan yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan adalah asam askorbat. Nilai IC_{50} dari masing-masing sampel, asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Fe^{2+} .

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
klorofil	1	0,344	1,432	$y = 0,716x + 0,601$	68,99
	2	0,343	1,719		
	3	0,339	2,865		
	4	0,336	3,724		
	5	0,335	4,011		
Klorofil + Fe^{2+} 50 ppm	1	0,341	0,292	$y = 0,906x - 0,848$	56,12
	2	0,339	0,877		
	3	0,336	1,754		
	4	0,334	2,339		
	5	0,328	4,093		
Klorofil + Fe^{2+} 100 ppm	1	0,344	2,272	$y = 1,108x + 1,051$	44,17
	2	0,341	3,125		
	3	0,336	4,545		
	4	0,334	5,113		
	5	0,328	6,818		
Klorofil + Fe^{2+} 150 ppm	1	0,439	16,698	$y = 0,550x + 16,3$	61,27
	2	0,434	17,647		
	3	0,433	17,836		
	4	0,429	18,595		
	5	0,427	18,975		

Pengukuran aktivitas antioksidan klorofil dari alga hijau dilakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga di peroleh hasil seperti pada Tabel 4 (Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 13).



Gambar 7. Grafik Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Fe^{2+} .

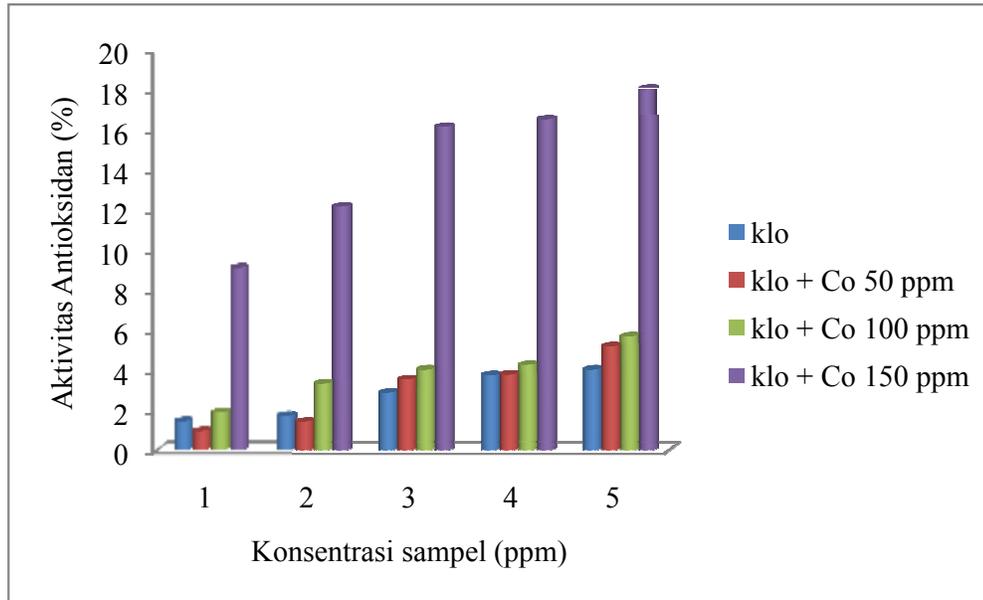
Pengukuran aktivitas antioksidan klorofil dari alga hijau dilakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga diperoleh hasil seperti pada Gambar 6. Menunjukkan bahwa ekstrak klorofil pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 1,43 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,71 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 2,86 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ 3,72 %, dan pada konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 4,01%. Hasil analisis klorofil yang mengandung logam Fe^{2+} 50 ppm pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 0,29 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 0,87 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ 1,75 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 2,32 %, dan pada

konsentrasi 5 µg/mL sebesar 4,09 %. Klorofil mengandung logam Fe²⁺ 100 ppm pada konsentrasi 1 µg/mL memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 2,27 %, konsentrasi 2 µg/mL sebesar 3,12 %, konsentrasi 3 µg/mL 4,54 %, konsentrasi 4 µg/mL sebesar 5,11 %, dan pada konsentrasi 5 µg/mL sebesar 6,81%. Klorofil yang mengandung logam Fe²⁺ 150 ppm pada konsentrasi 1 µg/mL memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 16,698 %, konsentrasi 2 µg/mL sebesar 17,647 %, konsentrasi 3 µg/mL 17,836 %, konsentrasi 4 µg/mL sebesar 18,596 %, dan pada konsentrasi 5 µg/mL sebesar 18,093 %.

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Co²⁺.

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/mL)
klorofil	1	0,344	1,432	$y = 0,716x + 0,601$	68,99
	2	0,343	1,719		
	3	0,339	2,865		
	4	0,336	3,724		
	5	0,335	4,011		
Klorofil + Co ²⁺ 50 ppm	1	0,421	0,941	$y = 1,082x - 0,282$	46,47
	2	0,419	1,412		
	3	0,410	3,529		
	4	0,409	3,765		
	5	0,403	5,176		
Klorofil + Co ²⁺ 100 ppm	1	0,416	1,887	$y = 0,849x + 1,273$	57,39
	2	0,410	3,310		
	3	0,407	4,010		
	4	0,406	4,245		
	5	0,400	5,660		
Klorofil + Co ²⁺ 150 ppm	1	0,479	9,108	$y = 2,220x + 7,723$	19,04
	2	0,463	12,144		
	3	0,442	16,129		
	4	0,440	16,509		
	5	0,432	18,027		

Pengukuran aktivitas antioksidan klorofil dari alga hijau dilakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga diperoleh hasil seperti pada Tabel 5 (Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 13)



Gambar 8. Grafik Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Co^{2+} .

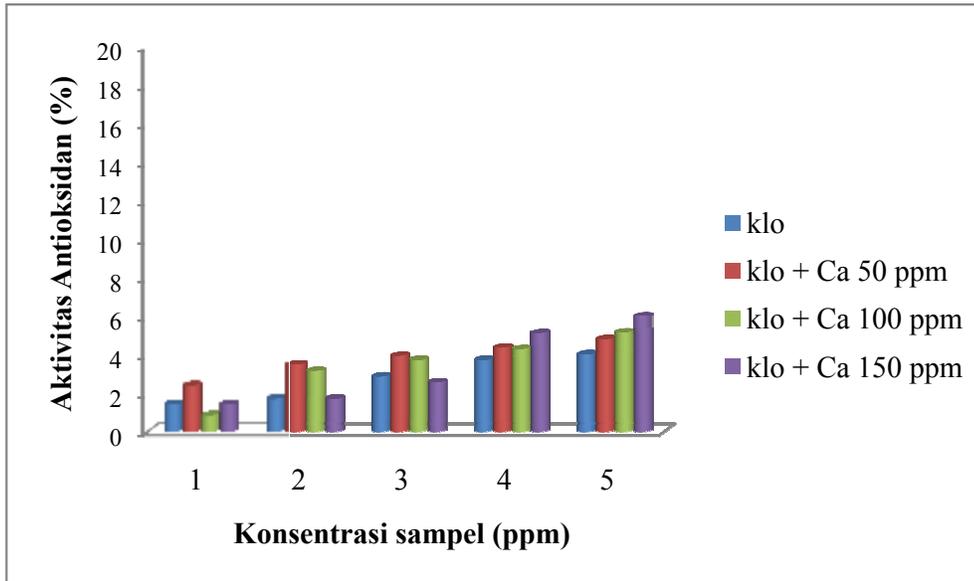
Pengukuran aktivitas antioksidan klorofil dari alga hijau dilakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga diperoleh hasil seperti pada Gambar 7. Menunjukkan bahwa ekstrak klorofil pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 1,43 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,71 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 2,86 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ 3,72 %, dan pada konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 4,01%. Hasil analisis klorofil yang mengandung logam Co^{2+} 50 ppm pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 0,94 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,41 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ 3,52 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 3,76 %, dan pada

konsentrasi 5 µg/mL sebesar 5,17 %. Klorofil yang mengandung logam Co^{2+} 100 ppm pada konsentrasi 1 µg/mL memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 1,88 %, konsentrasi 2 µg/mL sebesar 3,31 %, konsentrasi 3 µg/mL 4,01 %, konsentrasi 4 µg/mL sebesar 4,24 %, dan pada konsentrasi 5 µg/mL sebesar 5,66 %. Klorofil yang mengandung logam Co^{2+} 150 ppm pada konsentrasi 1 µg/mL memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 9,11 %, konsentrasi 2 µg/mL sebesar 12,14 %, konsentrasi 3 µg/mL 16,12 %, konsentrasi 4 µg/mL sebesar 16,50 %, dan pada konsentrasi 5 µg/mL sebesar 18,02 %.

Tabel 6. Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Ca^{2+} .

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/mL)
klorofil	1	0,344	1,432	$y = 0,716x + 0,601$	68,99
	2	0,343	1,719		
	3	0,339	2,865		
	4	0,336	3,724		
	5	0,335	4,011		
Klorofil + Ca^{2+} 50 ppm	1	0,447	2,401	$y = 0,567x + 2,096$	84,48
	2	0,442	3,493		
	3	0,440	3,930		
	4	0,438	4,366		
	5	0,436	4,803		
Klorofil + Ca^{2+} 100 ppm	1	0,346	0,859	$y = 0,974x + 0,515$	50,80
	2	0,338	3,151		
	3	0,336	3,724		
	4	0,334	4,297		
	5	0,331	5,157		
Klorofil + Ca^{2+} 150 ppm	1	0,346	1,424	$y = 1,253x - 0,918$	40,22
	2	0,345	1,709		
	3	0,342	2,564		
	4	0,333	5,128		
	5	0,330	5,982		

Pengukuran aktivitas antioksidan klorofil dari alga hijau dilakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga diperoleh hasil seperti pada Tabel 6 (Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 13)



Gambar 9. Grafik Aktivitas Antioksidan dari ekstrak klorofil yang dihasilkan menggunakan logam Ca^{2+} .

Pengukuran aktivitas antioksidan klorofil dari alga hijau dilakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga diperoleh hasil seperti pada Gambar 8. Menunjukkan bahwa ekstrak klorofil pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 1,43 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,71 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 2,86 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ 3,72 %, dan pada konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 4,01 %. Hasil analisis klorofil yang mengandung logam Ca^{2+} 50 ppm pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 2,40 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 3,49 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ 3,93 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 4,36 %, dan pada

konsentrasi 5 µg/mL sebesar 4,80 %. Klorofil yang mengandung logam Ca^{2+} 100 ppm pada konsentrasi 1 µg/mL memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 0,85 %, konsentrasi 2 µg/mL sebesar 3,15 %, konsentrasi 3 µg/mL 3,72 %, konsentrasi 4 µg/mL sebesar 4,29 %, dan pada konsentrasi 5 µg/mL sebesar 5,15 %. Klorofil yang mengandung logam Ca^{2+} 150 ppm pada konsentrasi 1 µg/mL memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 1,42 %, konsentrasi 2 µg/mL sebesar 1,70 %, konsentrasi 3 µg/mL 2,56 %, konsentrasi 4 µg/mL sebesar 5,12 %, dan pada konsentrasi 5 µg/mL sebesar 5,98 %.

Uji aktivitas antioksidan menggunakan larutan pembanding vitamin C sebagai kontrol positif karena merupakan antioksidan yang larut dalam air. Penggunaan kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak klorofil dan ekstrak klorofil yang mengandung logam jika dibandingkan dengan vitamin C. Pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 7

Tabel 7. Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/mL)
Vitamin C	1	0,433	11,812	$y = 19,73x - 2,301$	2,65
	2	0,293	40,325		
	3	0,190	61,303		
	4	0,094	80,855		
	5	0,048	90,224		

Pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C di lakukan pada masing-masing lima seri konsentrasi pengenceran sehingga di peroleh hasil seperti

pada Tabel 4 (Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 13) Menunjukkan bahwa vitamin C pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya hambatan radikal bebas sebesar 11,81 %, konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 40,32 %, konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 61,30 %, konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$ 80,85 %, dan pada konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 90,22 %.

Aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu menjadi ungu muda dan kuning pucat tergantung dari jenis sampel dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak sampel (Agusti, 2016). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat jika memiliki nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$ dan lemah jika nilai IC_{50} antara 150-200 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan senyawa yang memiliki nilai IC_{50} lebih dari 200 $\mu\text{g/mL}$ merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah atau hampir tidak dapat dikategorikan sebagai antioksidan (Malyneux, 2004). Tabel 4, 5, dan 6 menunjukkan aktivitas antioksidan pada ekstrak klorofil kuat karena memiliki nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak klorofil yang mengandung logam Fe^{2+} 100 $\mu\text{g/mL}$, Co^{2+} dan Ca^{2+} 150 $\mu\text{g/mL}$ aktivitas antioksidannya sangat kuat karena nilai IC_{50} nya $< 50 \mu\text{g/mL}$ dan asam askorbat sebagai pembanding termasuk antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,65 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan nilai inhibisi menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak klorofil dan ekstrak klorofil yang mengandung logam dan asam askorbat maka semakin besar pula persentase penghambatan radikal bebas yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Amirullah (2017) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang dimiliki oleh sampel maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kadar klorofil dari alga hijau sebesar $9,94 \text{ mg/m}^3$, sementara ekstrak klorofil memiliki nilai IC_{50} sebesar $68,99 \text{ } \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sebagai antioksidan kuat, sedangkan ekstrak klorofil dengan penambahan ion logam Fe^{2+} pada konsentrasi 50, 100, 150 ppm memiliki IC_{50} berturut-turut sebesar 56,12; 44,17; dan $61,27 \text{ } \mu\text{g/mL}$. Dilain pihak ekstrak klorofil dengan penambahan ion logam Co^{2+} pada konsentrasi 50, 100, dan 150 ppm memiliki IC_{50} berturut-turut sebesar 46,47; 57,39; dan $19,04 \text{ } \mu\text{g/mL}$ dan ekstrak klorofil dengan penambahan ion logam Ca^{2+} pada konsentrasi 50, 100,150 ppm memiliki IC_{50} berturut-turut sebesar 84,48; 50,80; dan $40,22 \text{ } \mu\text{g/mL}$.

Aktivitas antioksidan ekstrak klorofil tergolong kuat sedangkan ekstrak klorofil yang mengandung logam Fe^{2+} 100 ppm, Co^{2+} dan Ca^{2+} dengan konsentrasi 150 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sehingga ekstrak klorofil dari alga hijau berpotensi sebagai antioksidan.

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan pengujian ekstrak klorofil dari alga hijau dengan pelarut yang berbeda dan spesies yang digunakan lebih dari satu sehingga dapat diperoleh kandungan klorofil yang tinggi dan perlu dilakukan pengujian efek lain seperti toksisitas, antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah, F., 2014, Karakterisasi, Uji Toksisitas dan Antioksidan Kompleks Logam Cu(II), Zn(II) dan Co(II) Turunan Klorofil dari Ekstrak Fitoplanton, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Agusti, N., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Pigmen Karotenoid yang Diisolasi dari Makroalga Hijau *Halimeda Discoidea*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Amirullah, A. M., 2017, Isolasi, Pemurnian dan Identifikasi Protein Bioaktif dari Teripang Pasir *Holothuria scabra*. Serta Potensinya Sebagai Antioksidan dan Sifat Toksisitasnya, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Anggadiredja, J. T., A. Zalnika, H. Purwoto dan S. Istini. 2006, *Rumput Laut*. Cetakan I. Swadaya, Jakarta.
- Anonim, 2013, *Rumput Laut (Seaweed)*, (online), <http://ke-lautan.blogspot.com/2013/06/-rumput-laut-seaweed.html>, diakses tanggal 23 Desember 2016.
- Biranti, F., Nursid, M., Cahyono, B., Analisa Kualitatif β -karoten dan Uji Aktivitas Karotenoid dalam Alga Coklat *Tubularia decurrens*, *Jurnal Sains dan Matematika*, Volume 7 (2), Universitas Diponegoro, Semarang.
- Datu, A. M., Raya, I., Zakir, M., 2013, Pengaruh Penambahan Ion Mg^{2+} terhadap Kandungan Lipid Fitoplankton *Chorella vulgaris* sebagai Bahan Baku Pembuatan Biodiesel dengan Metode Ultrasonik, *Marine Chimica Acta*, 14 (2): 1411-2132.
- Fretes, H.D., Susanto, A.B., Prasetyo, A.B., dan Limantara, L., 2012, Karotenoid dari Makroalga: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 23(2): 221-228.
- Gond, V., DePury, D. G. G., Veroustraete, F., dan Ceulemans, R., 2012, Seasonal Variations in Leaf Area Index, Leaf Chlorophyll and Water Content; Scaling-up to Estimate FAPAR and Carbon Balance in a Multilayer, Multispecies temperate forest, *Tree Physiol*, 19: 673-679.
- Hosikian, A., Lim, S., Halim, R., dan Danquah, M.K., 2010, Chlorophyll Extraction from Microalgae: A Review on the Process Engineering Aspects, *Int. J. Chem. Eng.*, 10 (1): 1-11.

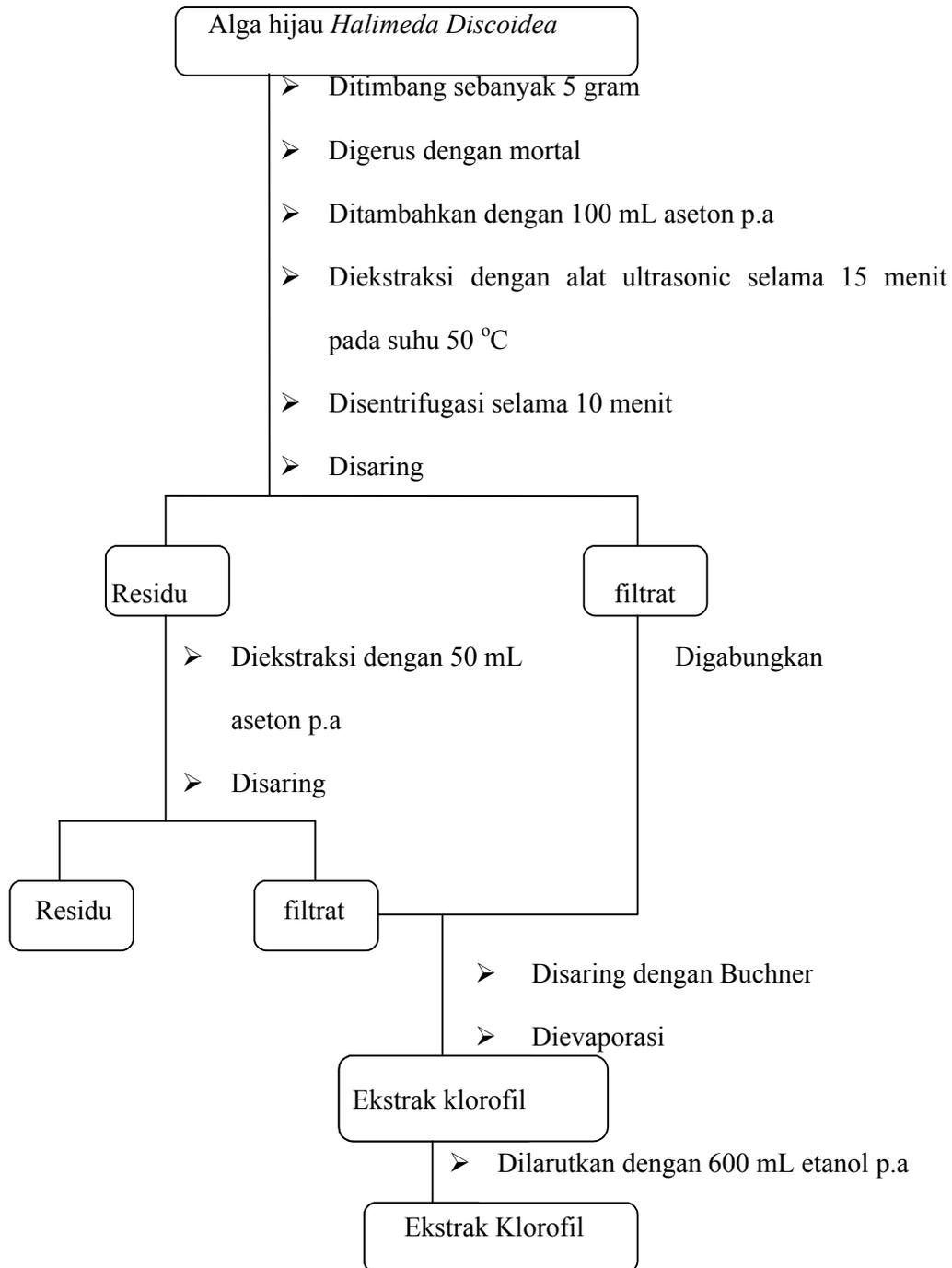
- Inanc, A. L., 2011, Chlorophyll: Structural Properties, Health Benefits and Its Occurrence in Virgin Olive Oils, *Akademik Gida/ Academic Food Journal*, **9**(2): 26-32.
- Iriyani, D., Nugrahani, P., 2014, Kandungan Klorofil, Karotenoid, dan Vitamin C Beberapa Jenis Sayuran Daun pada Petanian Periurban Di Kota Surabaya, *Jurnal Matematika Sains dan teknologi*, Volume 15 (2), Hal. 84-90.
- Karlinda., 2017, Pengaruh Suhu Pada Adsorpsi Kation Ca^{2+} Oleh Adsorben Silika Dari Bagasse Tebu, Skripsi diterbitkan, Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Kong, F., Zhang, M., Liao, S., Yu, S., Chi, J., dan Wei, Z., 2010, Antioxidant Activity of Polysaccharide-enriched Fractions Extracted from Pulp Tissue of *Litchi Chinensis sonn*, *J. Agric. Food Chem*, **50**: 3533-3539.
- Khotimah, K., Darius, Sasmito, B. B., 2013, Uji Aktivitas Senyawa Aktif Alga Coklat (*Sargassum filipendulla*) Sebagai Antioksidan pada Minyak Ikan Lamuru (*Sardinella longiceps*), *THPi Student Journal*, Volume 1 (1) Hal. 10-20.
- Lakitan, B., 2001, *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*, Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Langoy, M.L.D., Saroyo, Dapas, F.N.J., Katili, D.Y., dan Hamsir, S.B., 2009, Deskripsi Alga Makro di Taman Wisata Alam Batuputih, Kota Bitung, *Jurnal Ilmiah Sains*, **11** (2): 1-6.
- Maddu, A., Gareso, P. P., Sugianto., 2015, Karakteristik Optik Film Hibrid ZnO/Klorofil yang Termodifikasi Logam Seng (Zn) dan Tembaga (Cu), *Jurnal Fisika dan Pendidikan Fisika*, **1** (1): 45-48.
- Mardaningsih F, Andriani MAM, Kawiji. 2012. Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Suhu Spray Dryer terhadap Karakteristik Bubuk Klorofil daun Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin. *Jurnal Teknologi Pangan*, **1** (1). Hlm 110-117.
- Merdekawati, W., Susanto., 2009, Kandungan dan Komposisi Pigmen Rumput Laut Serta Potensinya Untuk Kesehatan, *Squalen*, **4** (2): 41-47.
- Milenkovic, S. M., Zvezdanovic, J. B., Anelkovic, T. D., dan Markovic, D. Z., 2012, The Identification of Chlorophyll and its Derivatives in the Pigment Mixtures: HPLC-Chromatography, Visible and Mass Spectroscopy Studies, *Adv. Technol.*, **1** (1): 16-24.

- Molyneux, P., 2004, The Use of the Stable Free Radical Dyphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Technol.*, **26**: 211-219.
- Mortensen, A., 2006, Carotenoids and Other Pigments as Natural Colorants. *Pure Appl. Chem.*, **78** (8): 1477–1491.
- Nawaly, H., Susanto, A.B., dan Uktolseja, J. L. A., 2009, Aplikasi Antioksidan dari Rumput Laut, *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi*, FIKP UNS
- Nontji, A., 2002, *Laut Nusantara*, Djambatan, Jakarta.
- Nurusholah, T., Ma'ruf, W. F., dan Ibrahim, R., 2014, Pengaruh Perbedaan Penambahan Konsentrasi ZnCl₂ dalam Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil Rumput Laut *Sargassum* sp. Terhadap Stabilitasnya, *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, **3** (1): 89-97.
- Panjaitan, T. D, Prasetyo, B dan Limantara, L., 2010. *Peranan Karotenoid Alami Dalam Menangkal Radikal Bebas Di Dalam Tubuh*. Universitas Sumatra Utara.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, UI-Press, Indonesia.
- Primaryadi, I. N. B., 2015, Pengaruh Penambahan Magnesium Sulfat Heptahidrat dan Feri Klorida Pada Blue Green Medium-11 Terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Tetraselmis chuii*, 92:100.
- Pratama, D. M., Yuliawati, K. M., dan Kodir, R. A., 2015, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh. dari Pantai Ujung Genteng, *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, Prodi Farmasi Fakultas Mipa Unisba, Bandung.
- Purnomohadi, A., 2008, *Peranan Logam Mangan bagi Makhluk Hidup dan Pengaruh Defisiensinya*, Makalah Pribadi, IPB, Bogor.
- Romimohtarto, K dan Juwana, S., 1999, *Biologi Laut, Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut*, Penerbit Djambatan, Jakarta.
- Rozak, A., dan Hartanto, U., 2008, *Ekstraksi Klorofil dari Daun Pepaya dengan Solvent I-Butanol*, Maklah Penelitian Semarang: Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Sandiningtyas, R. D., dan Suendo, V., 2010, *Isolation of Chlorophyll a from Spinach and its Modification Using Fe²⁺ in Photostability Study*, Proc. Third Int. Conf. Math. and Nat. Sci., 859-873.

- Suparmi, dan Sahri, A., 2009, *Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan*, Universitas Diponegoro.
- Supardy, N.A., Ibrahim, D., Sulaiman, S.F., and Zakaria, N.A., 2011, Free Radical Scavenging Activity, Total Phenolic Content and Toxicity Level of *Halimeda discoidea* Extracts (Malaysia's Green Macroalgae), *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3** (5), Hal. 2-8.
- Supirman, Kartikaningsih, Zaelanie, K., 2013, Pengaruh Perbedaan pH Perendaman Asam Jeruk Nipis (*Citrus auratifolia*) dengan Pengeringan Sinar Matahari Terhadap Kualitas Kimia The Alga Coklat (*Sargassum filipendula*), *THPi Student Journal*, Volume 1 (1), hal 46-52.
- Supriyatna, A., Ramdani, R. D dan Suhendar, D., 2013, Korelasi Kandungan Besi Terlarut Terhadap Kelimpahan *Phytoconis* sp. Pada Perairan Situ Ciburuy Kabupaten Bandung Barat, **7** (1): 1979-8911.
- Susanto, A.B., 1995, Ekologi *Halimeda* sp. di Perairan Jepara, FIKP, Universitas Diponegoro.
- Susanto, A., 2008, *Kadar Klorofil pada Berbagai Tanaman yang Berbeda, Umur*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Surabaya.
- Sutomo, 1990, Pengaruh Salinitas dan pH Terhadap Pertumbuhan *Chorella* sp. Di dalam Buku Panduan dan Kumpulan Abstrak Seminar Ilmiah Nasional Lustrum VII, Yogyakarta, Fakultas Biologi UGM.
- Tamat, S. R., Wikanta, T., Maulina, L. S., 2007, Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulate* Forsskal, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **5** (2): 31-36.
- Tampubolon, A., Gerung, G.S., dan Wagey, B., 2013, Biodiversitas Alga Makro di Lagun Pulau Pasige, *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, **2** (1): 35-43.
- Widiana, R., Abizar, Wahyuni, S., 2011, Jenis-Jenis Alga Epilitik Pada Sumber Air Panas Dan Alirannya Di Kawasan Cagar Alam Rimbo Panti Kabupaten Pasaman, *Jurnal Sainstek*, **3** (2): 56-164.
- Widowati, W., Sastiono, A., Jusuf, R.R., 2008, *Efek Toksik Logam Pencegahan dan penanggulangan Pencemaran*, Edisi Pertama, ANDI, Yogyakarta.
- Winarno, F. G., 2004, *Kimia Pangan dan Gizi*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

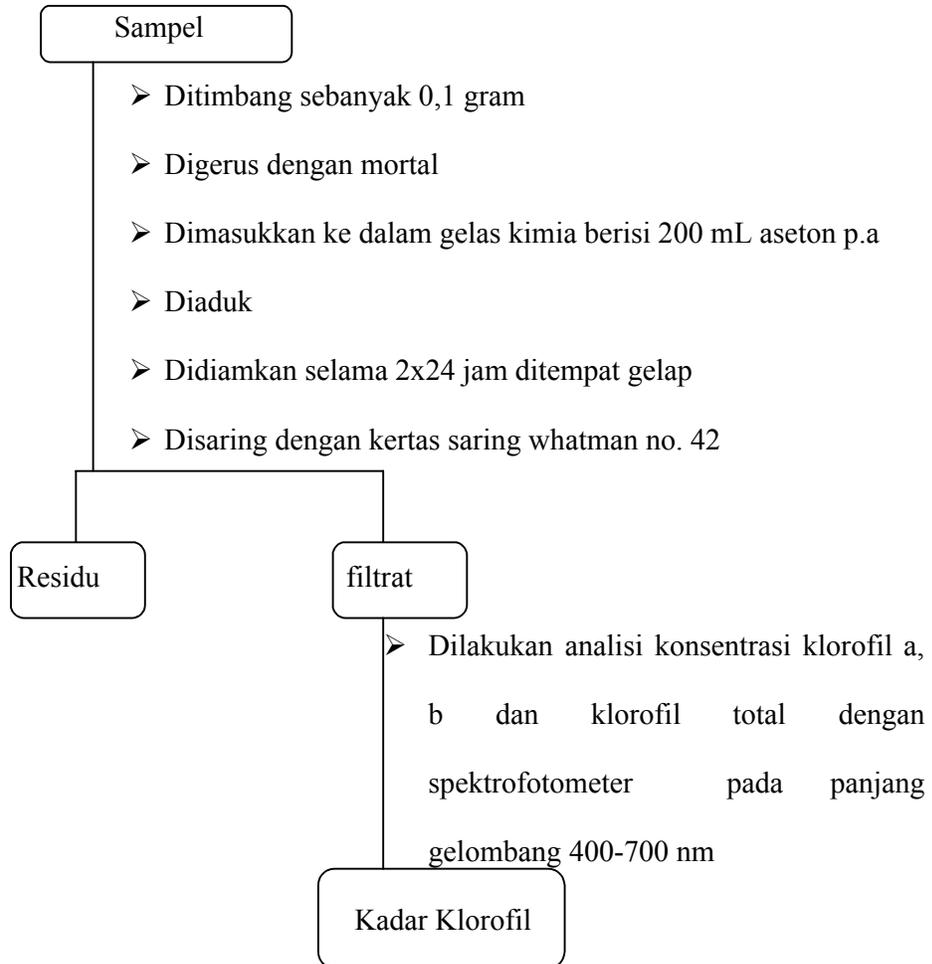
Yuniarti, A., 2011, Kadar Zat Besi, Serat, Gula Total, Dan Daya Terima Permen Jelly Dengan Penambahan Rumput Laut *Gracilaria Sp* Dan *Sargassum Sp*, *Artikel Penelitian*, Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Lampiran 1. Bagan Kerja Isolasi Klorofil dari Alga Hijau *Halimeda Discoidea*



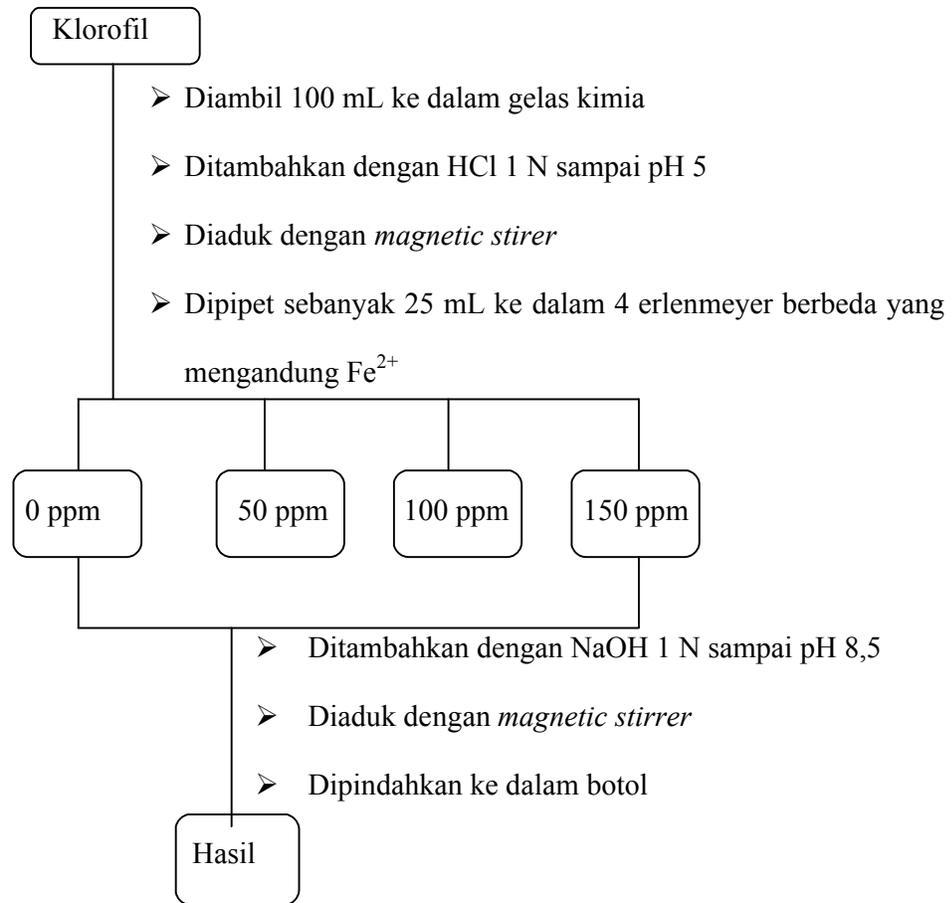
Catatan : Pengerjaan dilakukan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari

Lampiran 2. Bagan Kerja Penentuan Kadar Klorofil Secara Spektrofotometri

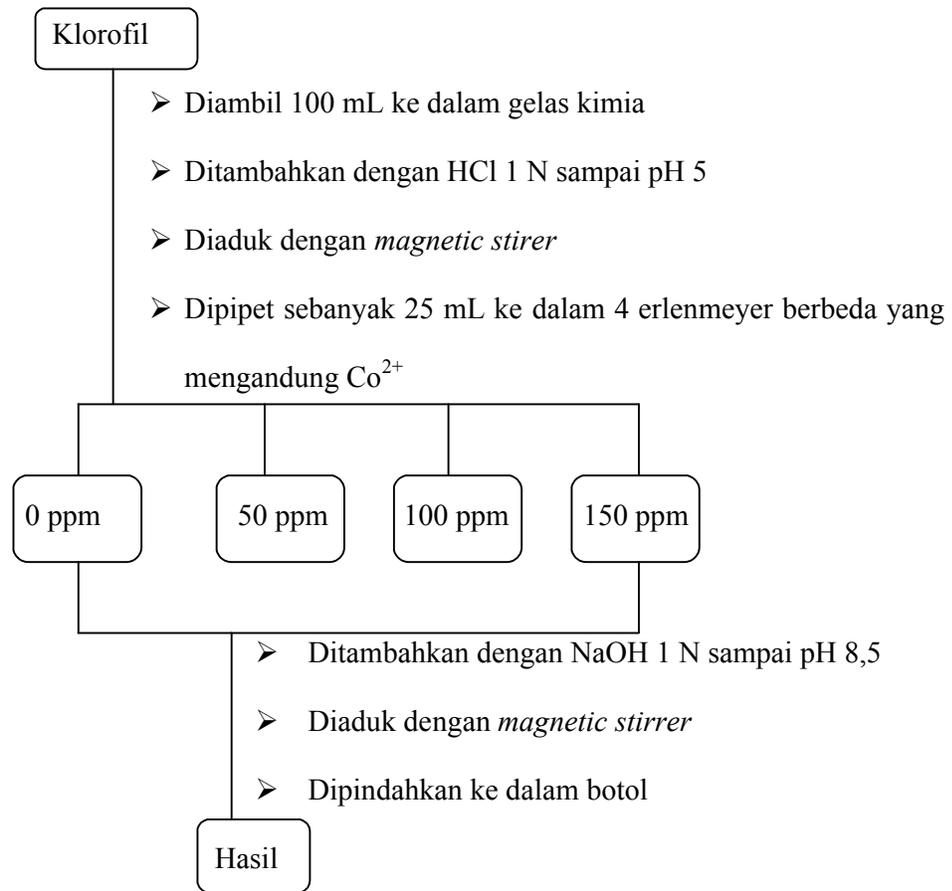


Catatan : Pengerjaan dilakukan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari

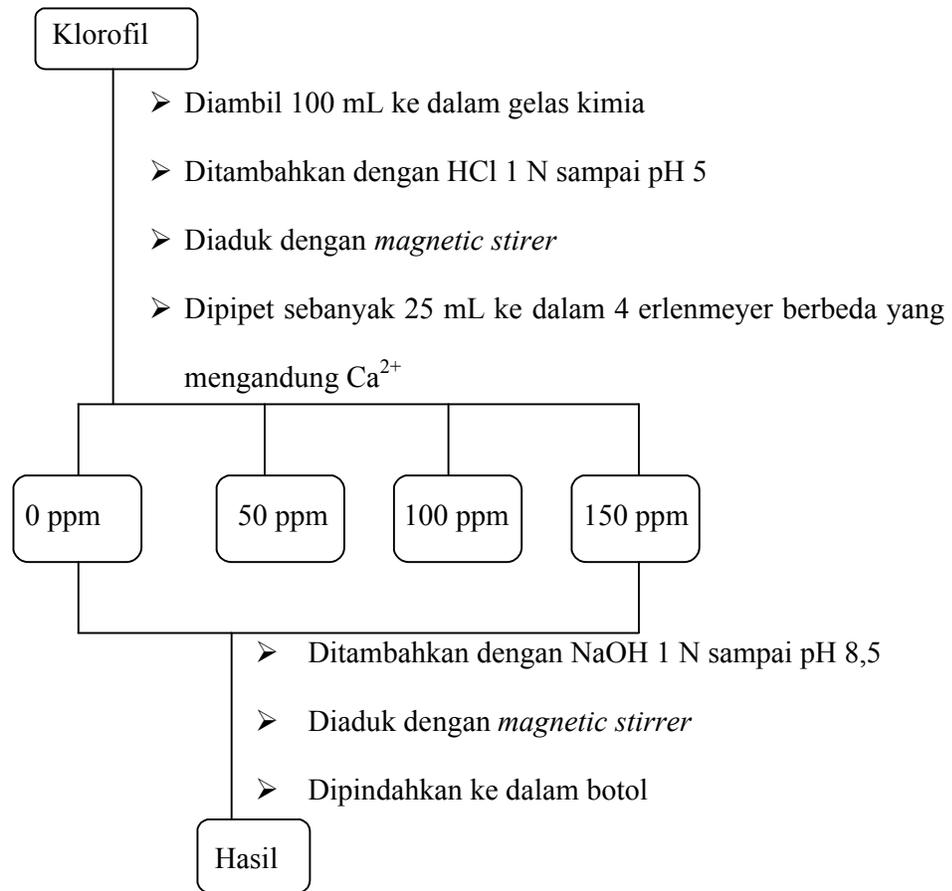
Lampiran 3. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kompleks Logam Fe^{2+} klorofil



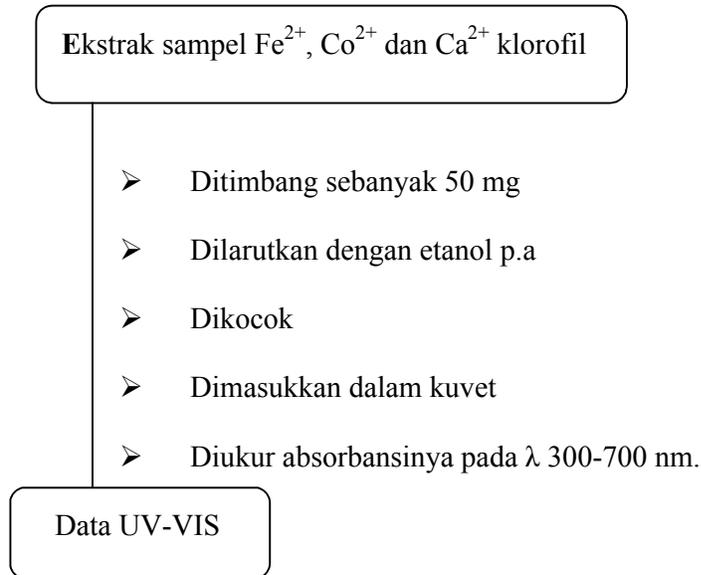
Lampiran 4. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kompleks Logam Co^{2+} klorofil



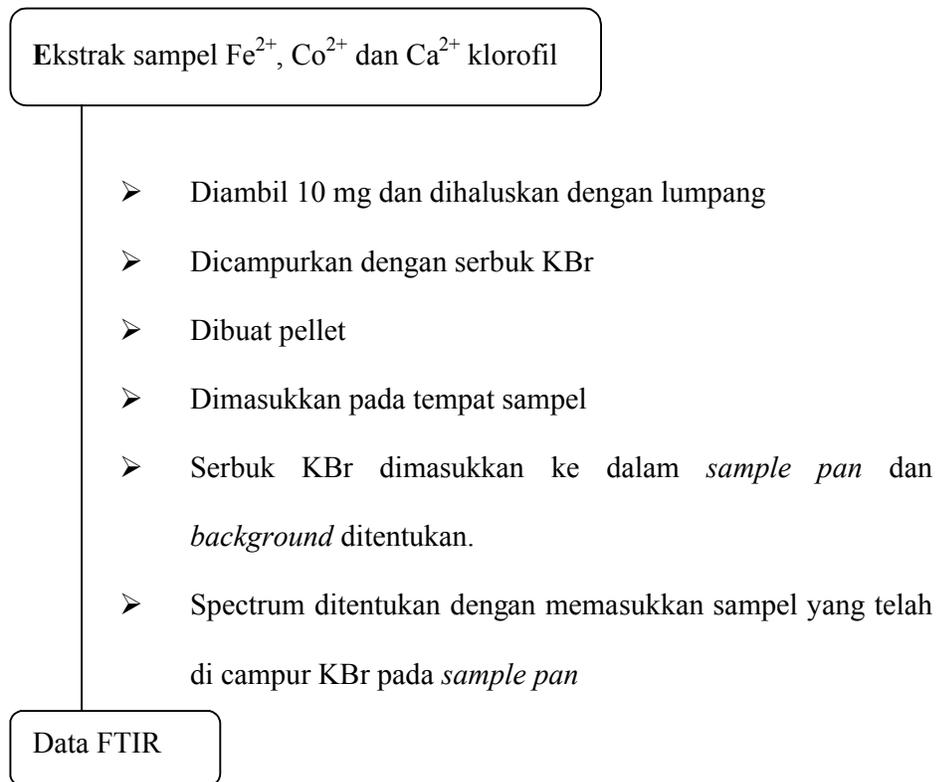
Lampiran 5. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kompleks Logam Ca^{2+} klorofil



Lampiran 6. Bagan Kerja Analisis dengan Spektrofotometer Uv-VIS

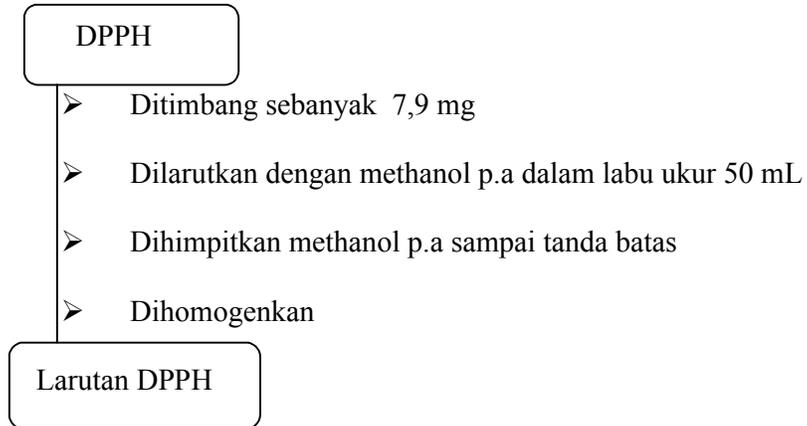


Lampiran 7. Bagan Kerja Analisis dengan FTIR

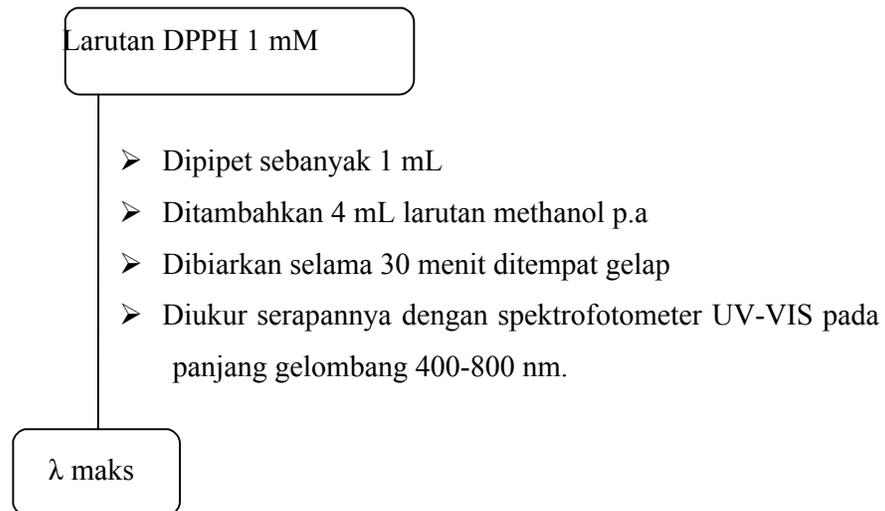


Lampiran 7. Bagan Kerja Uji Antioksidan Metode DPPH

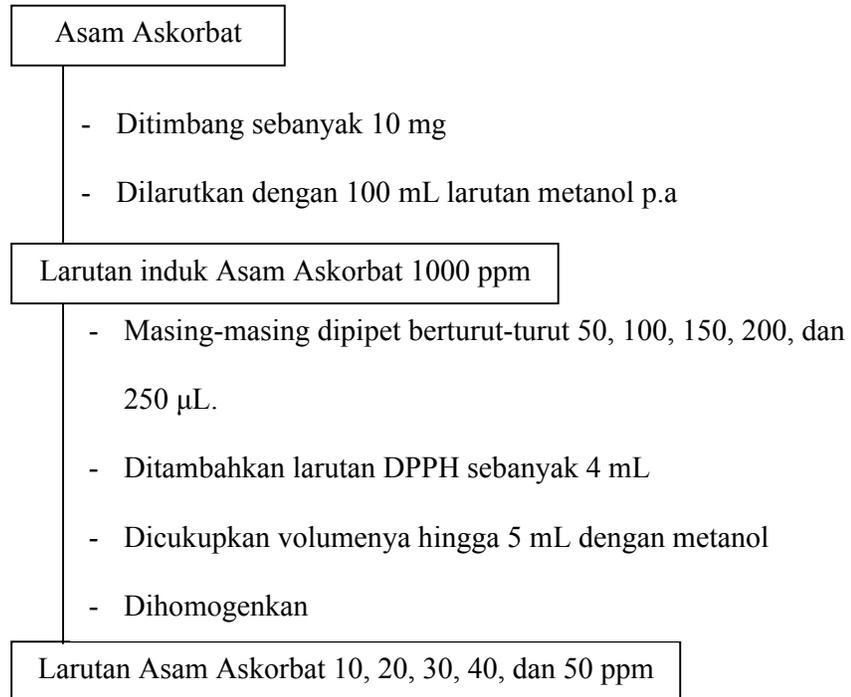
1. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM



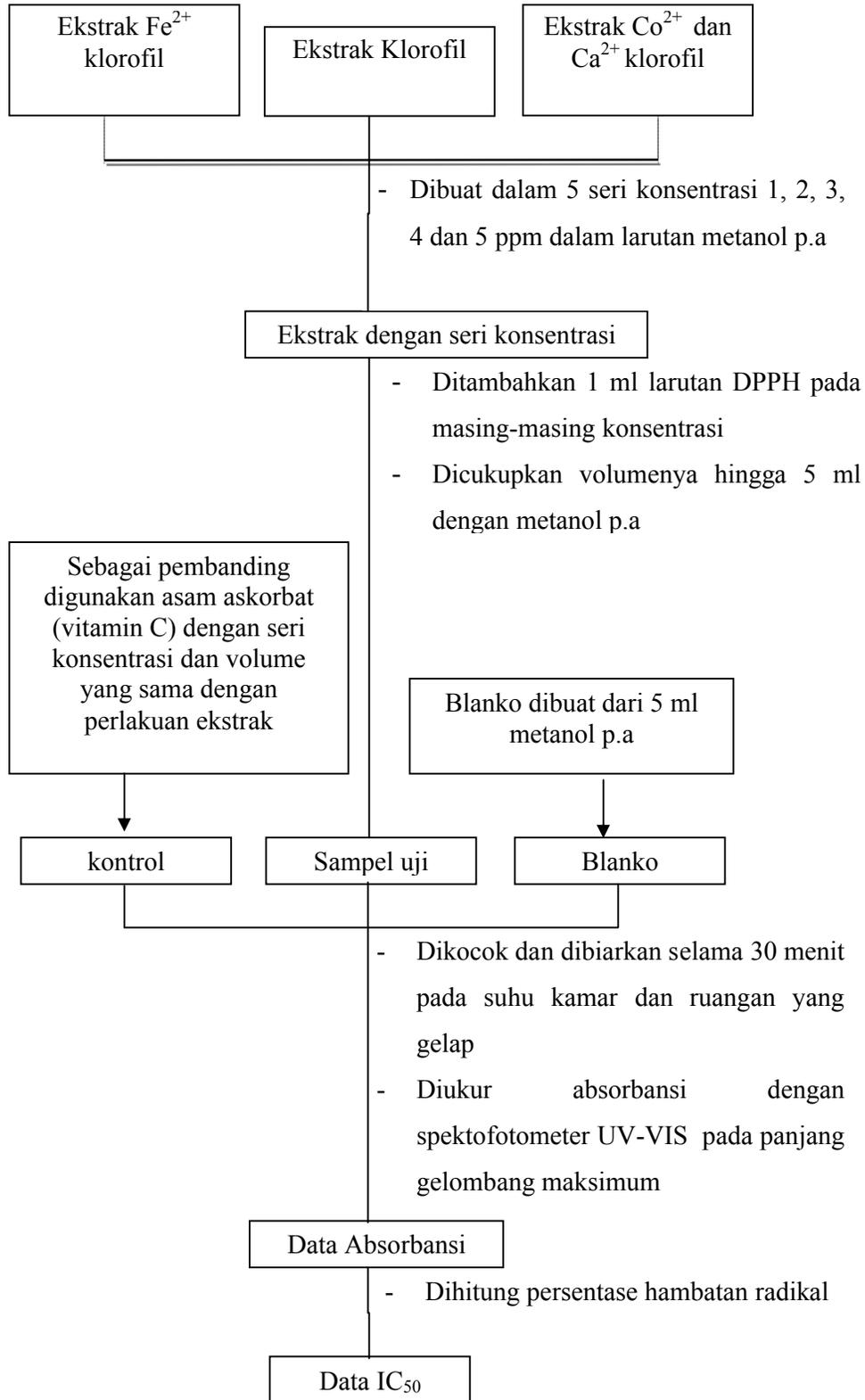
2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



Lampiran 8. Bagan Kerja Pembuatan Larutan Vitamin C



Lampiran 9. Bagan Kerja Pengujian Aktivitas Antioksidan



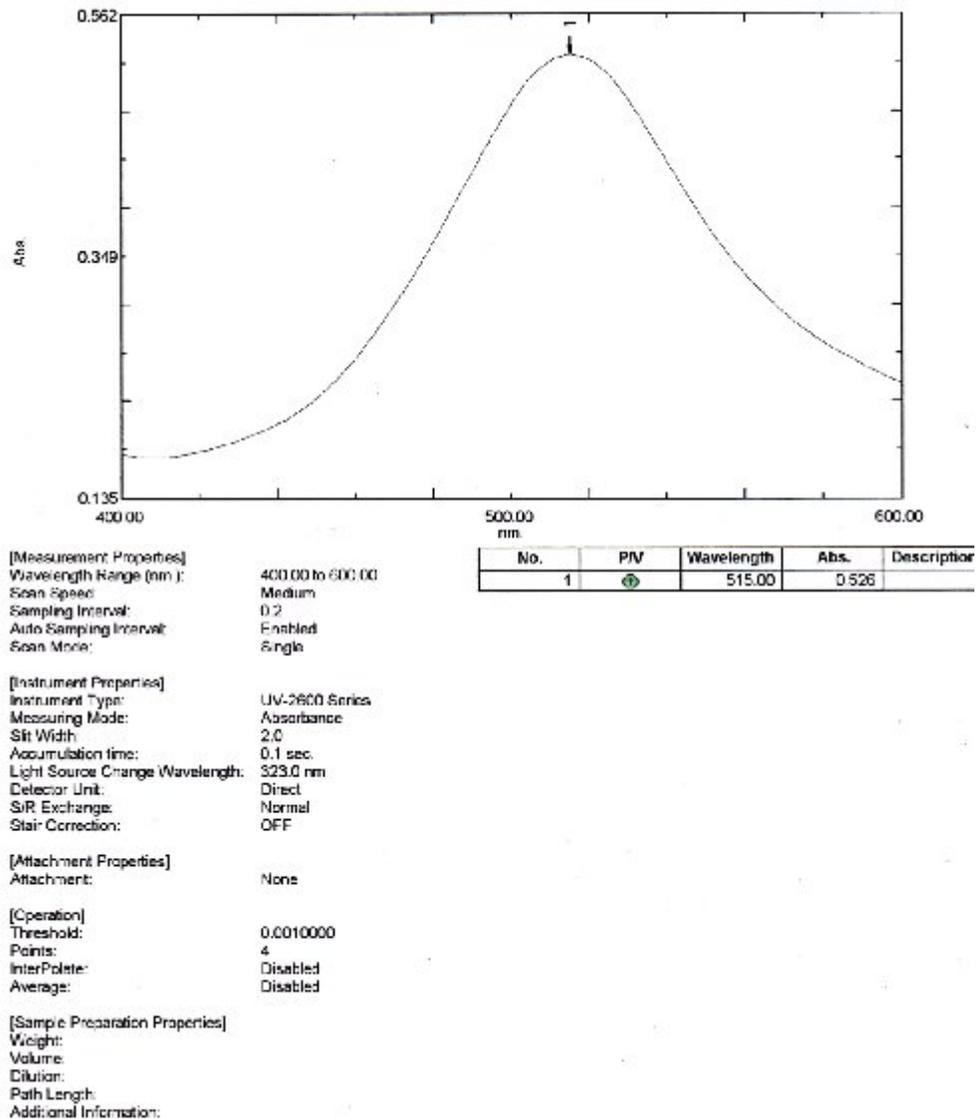
Lampiran 10. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

$$\text{mM} = \text{—————}$$

$$0,4\text{mM} = \frac{\text{—————}}{\text{, / ,}}$$

$$\text{mg DPPH} = 7,9 \text{ mg}$$

Lampiran 12. Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) DPPH



Lampiran 13. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dan ekstrak klorofil yang dipaparkan logam dan asam askorbat

1. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	1,432
2	1,719
3	2,865
4	3,724
5	4,011

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,344}{0,349} \times 100 \% = 1,432 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,343}{0,349} \times 100 \% = 1,719 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

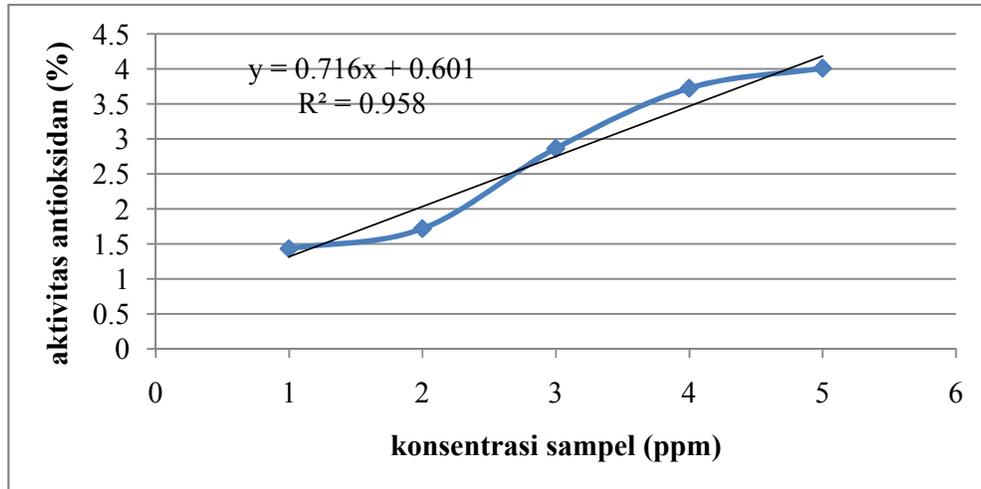
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,339}{0,349} \times 100 \% = 2,865 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,336}{0,349} \times 100 \% = 3,724 \%$$

5. Konsentrasi 5 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,335}{0,349} \times 100 \% = 4,011 \%$$



Perhitungan nilai IC_{50} :

$$Y = ax + b$$

$$y = 0,716x + 0,601$$

$$50 = 0,716x + 0,601$$

$$x = \frac{50 - 0,601}{0,716}$$

$$x = 68,993$$

2. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe^{2+}

a. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe^{2+} 50 ppm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	0,292
2	0,877
3	1,754
4	2,339
5	4,093

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe^{2+} 50 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,342 - 0,341}{0,342} \times 100 \% = 0,292 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,342 - 0,339}{0,342} \times 100 \% = 0,877 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

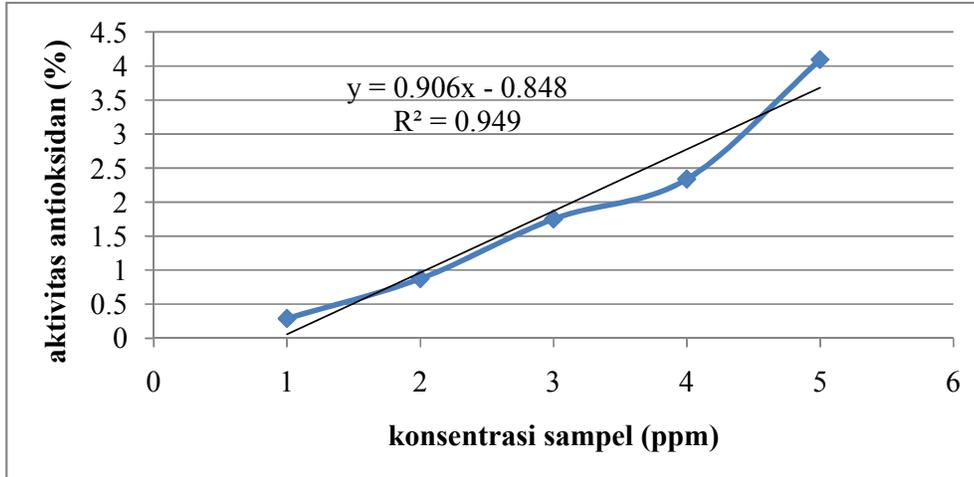
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,352 - 0,336}{0,352} \times 100 \% = 4,545 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,342 - 0,336}{0,342} \times 100 \% = 1,754 \%$$

5. Konsentrasi 5 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,342 - 0,328}{0,342} \times 100 \% = 4,093 \%$$



Perhitungan nilai IC₅₀:

$$Y = ax + b$$

$$y = 0,906x - 0,848$$

$$50 = 0,906x - 0,848$$

$$x = \frac{50 + 0,848}{0,906}$$

$$x = 56,12$$

b. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe²⁺ 100 ppm

Konsentrasi (µg/mL)	Aktivitas antioksidan (%)
1	2,272
2	3,125
3	4,545
4	5,113
5	6,818

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe^{2+} 100 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,352 - 0,344}{0,352} \times 100 \% = 2,272 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,352 - 0,341}{0,352} \times 100 \% = 3,125 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

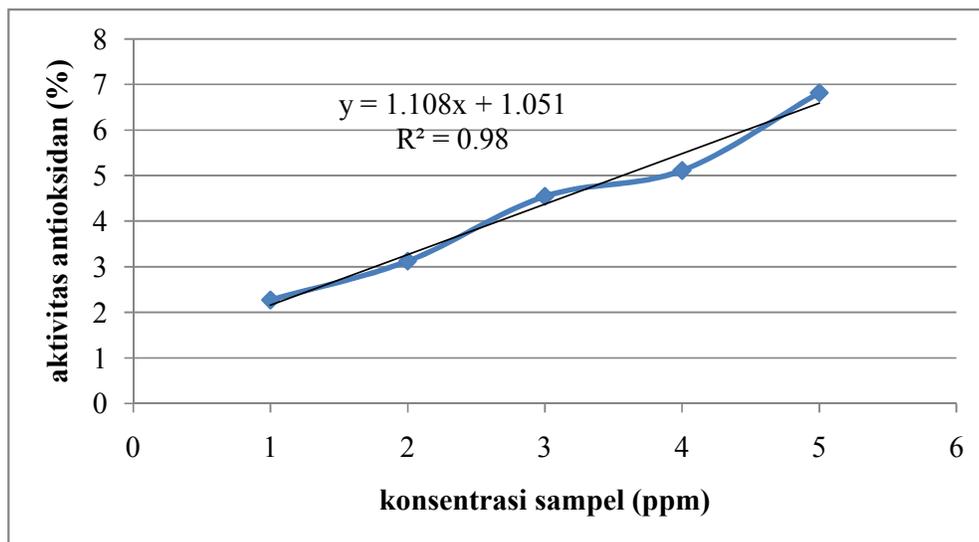
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,352 - 0,336}{0,352} \times 100 \% = 4,545 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,352 - 0,334}{0,352} \times 100 \% = 5,113 \%$$

5. Konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,352 - 0,328}{0,352} \times 100 \% = 5,818 \%$$



Perhitungan nilai IC₅₀:

$$Y = ax + b$$

$$y = 1,108x + 1,051$$

$$50 = 1,108x + 1,051$$

$$x = \frac{50 - 1,051}{1,108}$$

$$x = 44,17$$

c. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe²⁺ 150 ppm

Konsentrasi (µg/mL)	Aktivitas antioksidan (%)
1	16,698
2	17,647
3	17,836
4	18,595
5	18,975

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Fe²⁺ 150 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,439}{0,527} \times 100 \% = 16,698 \%$$

2. Konsentrasi 2 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,434}{0,527} \times 100 \% = 17,647 \%$$

3. Konsentrasi 3 µg/mL

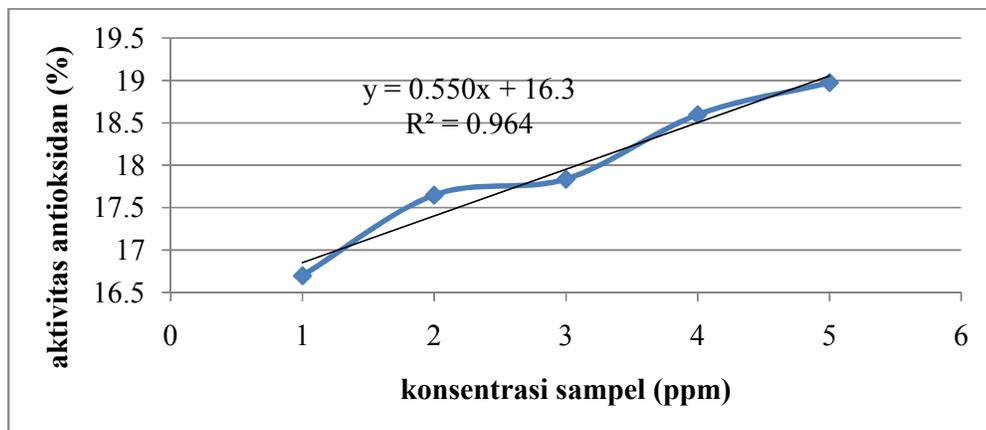
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,433}{0,527} \times 100 \% = 17,836 \%$$

4. Konsentrasi 4 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,429}{0,527} \times 100 \% = 18,595 \%$$

5. Konsentrasi 5 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,427}{0,527} \times 100 \% = 18,975 \%$$



Perhitungan nilai IC₅₀:

$$Y = ax + b$$

$$y = 0,550x + 16,3$$

$$50 = 0,550x + 16,3$$

$$x = \frac{50 - 16,3}{0,550}$$

$$x = 61,27$$

3. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co^{2+}

a. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co^{2+} 50 ppm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	0,941
2	1,412
3	3,529
4	3,765
5	5,176

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co^{2+} 50 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,425 - 0,421}{0,425} \times 100 \% = 0,941 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,425 - 0,419}{0,425} \times 100 \% = 1,412 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

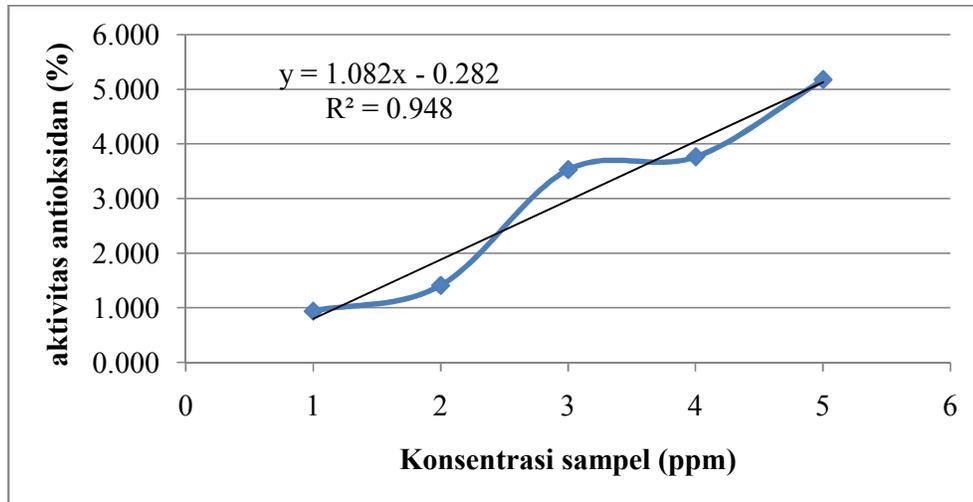
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,425 - 0,410}{0,425} \times 100 \% = 3,529 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,425 - 0,409}{0,425} \times 100 \% = 3,765 \%$$

5. Konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,425 - 0,403}{0,425} \times 100 \% = 5,176 \%$$



Perhitungan nilai IC_{50} :

$$Y = ax + b$$

$$y = 1,082x - 0,282$$

$$50 = 1,082x - 0,282$$

$$x = \frac{50 + 0,282}{1,082}$$

$$x = 46,47$$

b. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co^{2+} 100 ppm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	1,887
2	3,302
3	4,009
4	4,245
5	5,660

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co^{2+} 100 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,424 - 0,416}{0,424} \times 100 \% = 1,887 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,424 - 0,410}{0,424} \times 100 \% = 3,302 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

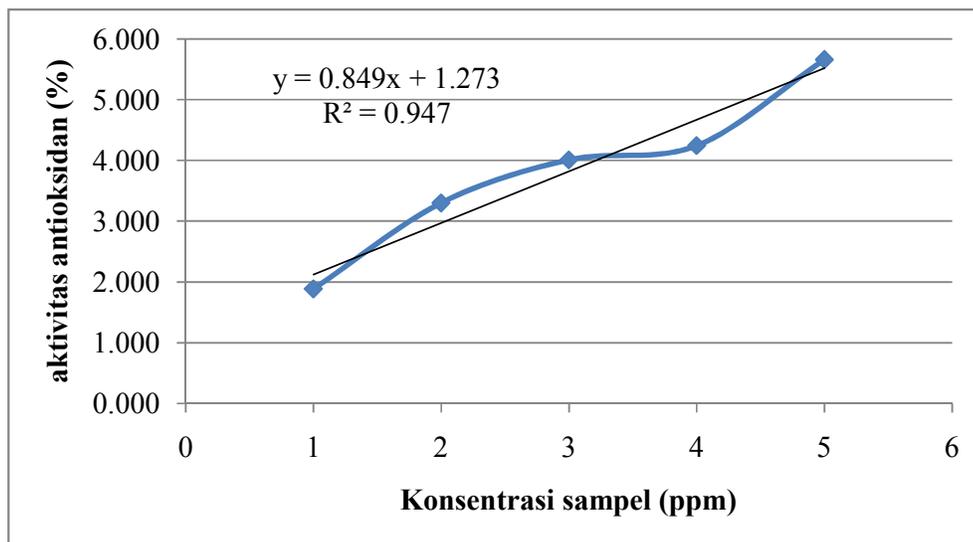
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,424 - 0,407}{0,424} \times 100 \% = 4,009 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,424 - 0,406}{0,424} \times 100 \% = 4,245 \%$$

5. Konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,424 - 0,400}{0,424} \times 100 \% = 5,660 \%$$



Perhitungan nilai IC₅₀:

$$Y = ax + b$$

$$y = 0,849x + 1,273$$

$$50 = 0,849x + 1,273$$

$$x = \frac{50 - 1,273}{0,849}$$

$$x = 57,39$$

c. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co²⁺ 150 ppm

Konsentrasi (µg/mL)	Aktivitas antioksidan (%)
1	9,108
2	12,144
3	16,129
4	16,509
5	18,027

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Co²⁺ 150 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,479}{0,527} \times 100 \% = 9,108 \%$$

2. Konsentrasi 2 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,463}{0,527} \times 100 \% = 12,144 \%$$

3. Konsentrasi 3 µg/mL

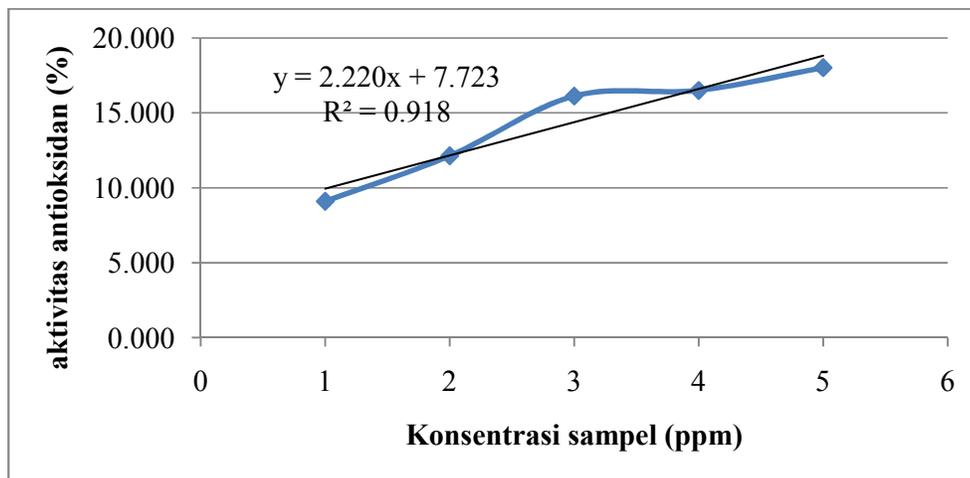
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,442}{0,527} \times 100 \% = 16,129 \%$$

4. Konsentrasi 4 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,440}{0,527} \times 100 \% = 16,509 \%$$

5. Konsentrasi 5 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,527 - 0,432}{0,527} \times 100 \% = 18,027 \%$$



Perhitungan nilai IC_{50} :

$$Y = ax + b$$

$$y = 2,220x + 7,723$$

$$50 = 2,220x + 7,723$$

$$x = \frac{50 - 7,723}{2,220}$$

$$x = 19,04$$

4. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca^{2+}

a. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca^{2+} 50 ppm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	2,401
2	3,493
3	3,930
4	4,366
5	4,803

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca^{2+} 50 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,458 - 0,447}{0,458} \times 100 \% = 2,401 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,458 - 0,442}{0,458} \times 100 \% = 3,493 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

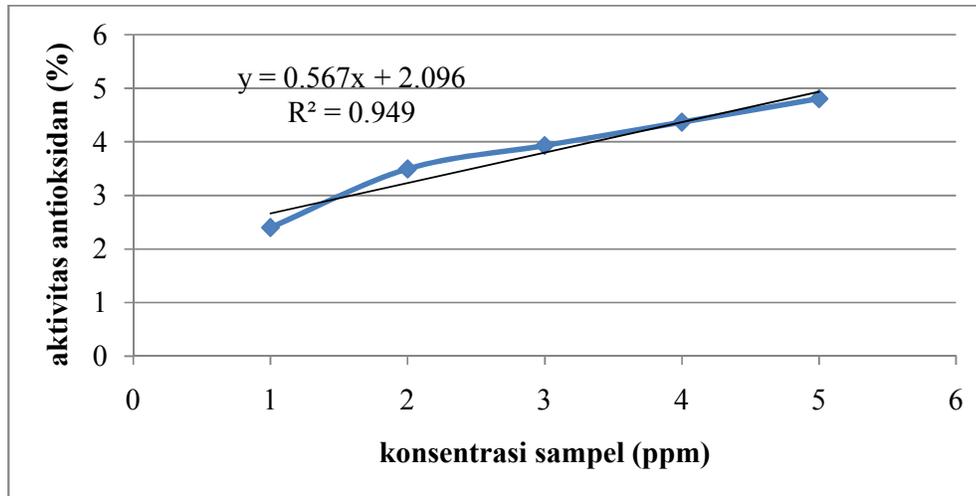
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,458 - 0,440}{0,458} \times 100 \% = 3,930 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,458 - 0,438}{0,458} \times 100 \% = 4,366 \%$$

5. Konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,458 - 0,436}{0,458} \times 100 \% = 4,803 \%$$



Perhitungan nilai IC_{50} :

$$Y = ax + b$$

$$y = 0,567x + 2,096$$

$$50 = 0,567x + 2,096$$

$$x = \frac{50 - 2,096}{0,567}$$

$$x = 84,48$$

b. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca^{2+} 100 ppm

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	0,859
2	3,151
3	3,724
4	4,297
5	5,157

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca^{2+} 100 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,346}{0,349} \times 100 \% = 0,859 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,338}{0,349} \times 100 \% = 3,151 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

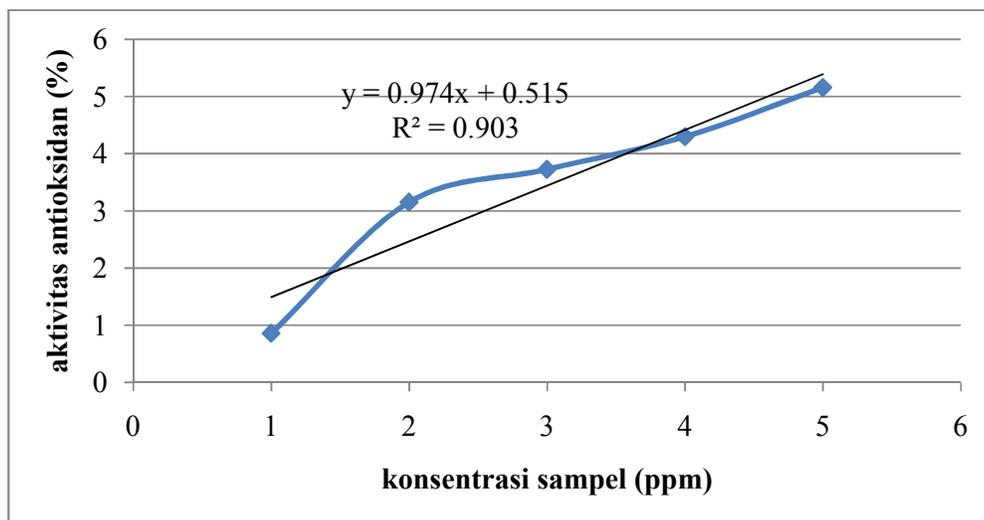
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,336}{0,349} \times 100 \% = 3,724 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,334}{0,349} \times 100 \% = 4,297 \%$$

5. Konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,349 - 0,331}{0,349} \times 100 \% = 5,157 \%$$



Perhitungan nilai IC₅₀:

$$Y = ax + b$$

$$y = 0,974x + 0,515$$

$$50 = 0,974x + 0,515$$

$$x = \frac{50 - 0,515}{0,974}$$

$$x = 50,80$$

c. Aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca²⁺ 150 ppm

Konsentrasi (µg/mL)	Aktivitas antioksidan (%)
1	1,424
2	1,709
3	2,564
4	5,128
5	5,982

Perhitungan aktivitas antioksidan Ekstrak klorofil dipaparkan logam Ca²⁺ 150 ppm

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,351 - 0,346}{0,351} \times 100 \% = 1,424 \%$$

2. Konsentrasi 2 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,351 - 0,345}{0,351} \times 100 \% = 1,709 \%$$

3. Konsentrasi 3 µg/mL

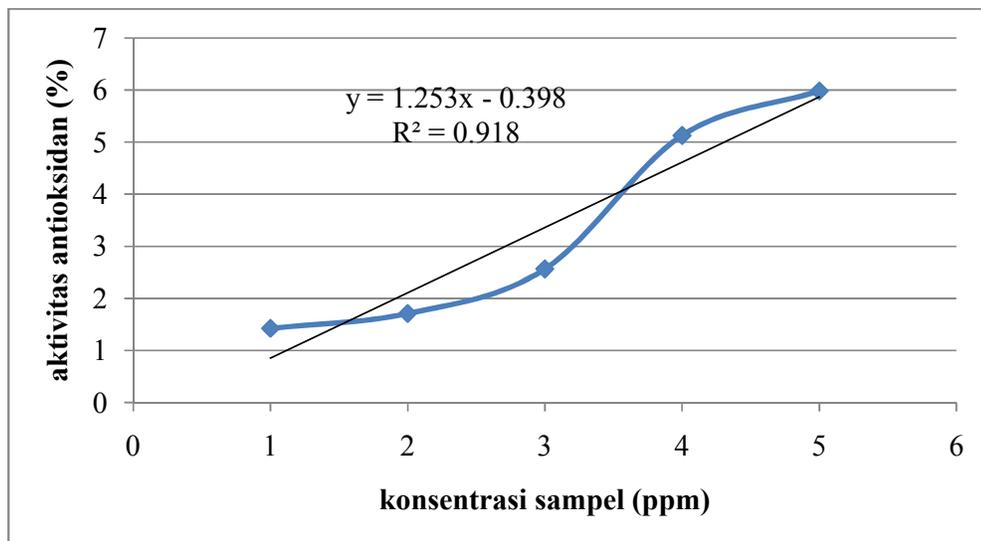
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,351 - 0,342}{0,351} \times 100 \% = 2,564 \%$$

4. Konsentrasi 4 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,351 - 0,333}{0,351} \times 100 \% = 5,128 \%$$

5. Konsentrasi 5 µg/mL

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,351 - 0,330}{0,351} \times 100 \% = 5,982 \%$$



Perhitungan nilai IC₅₀:

$$Y = ax + b$$

$$y = 1,253x - 0,398$$

$$50 = 1,253x - 0,398$$

$$x = \frac{50 + 0,398}{1,253}$$

$$x = 40,22$$

5. Kurva pengukuran aktivitas antioksidan Vitamin C

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas antioksidan (%)
1	11,812
2	40,325
3	61,303
4	80,855
5	90,224

Perhitungan aktivitas antioksidan Vitamin C

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

1. Konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,491 - 0,433}{0,491} \times 100 \% = 11,812 \%$$

2. Konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,491 - 0,293}{0,491} \times 100 \% = 40,325 \%$$

3. Konsentrasi 3 $\mu\text{g/mL}$

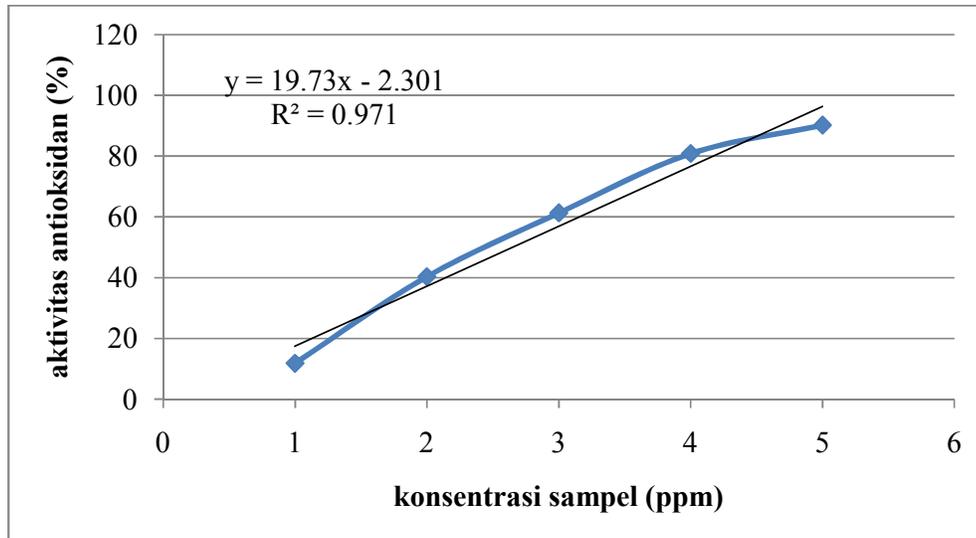
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,491 - 0,190}{0,491} \times 100 \% = 61,303 \%$$

4. Konsentrasi 4 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,491 - 0,094}{0,491} \times 100 \% = 80,855 \%$$

5. Konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{0,491 - 0,048}{0,491} \times 100 \% = 90,224 \%$$



Perhitungan nilai IC_{50} :

$$Y = ax + b$$

$$y = 19,73x - 2,301$$

$$50 = 19,73x - 2,301$$

$$x = \frac{50 + 2,301}{19,73}$$

$$x = 2,650$$

Lampiran 14. Perhitungan Pembuatan Ekstrak Ion Logam

1. Pembuatan Logam Fe²⁺

a. Pembuatan Logam Fe²⁺ 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Fe}}{\text{Mr FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}}$$

$$50 = \frac{\text{mg}}{100} \times \frac{55,845}{253,75}$$

$$50 = \frac{\text{mg}}{100}$$

$$\text{mg} = \frac{5000}{100}$$

$$= 4,4377 \text{ mg}$$

$$= 0,0044 \text{ gram}$$

b. Pembuatan Logam Fe²⁺ 100 ppm

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Fe}}{\text{Mr FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}}$$

$$100 = \frac{\text{mg}}{100} \times \frac{55,845}{253,75}$$

$$100 = \frac{\text{mg}}{100}$$

$$\text{mg} = \frac{10000}{100}$$

$$= 8,8755 \text{ mg}$$

$$= 0,0089 \text{ gram}$$

c. Pembuatan Logam Fe²⁺ 150 ppm

$$150 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Fe}}{\text{Mr FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}}$$

$$150 = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Fe}}{\text{Mr FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}}$$

$$150 = \frac{\text{mg}}{\text{volume}}$$

$$\text{mg} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}}$$

$$= 13,3133 \text{ mg}$$

$$= 0,0133 \text{ gram}$$

2. Pembuatan Logam Co²⁺

a. Pembuatan Logam Co²⁺ 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Co}}{\text{Mr CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}}$$

$$50 = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Co}}{\text{Mr CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}}$$

$$50 = \frac{\text{mg}}{\text{volume}}$$

$$\text{mg} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}}$$

$$= 5,0468 \text{ mg}$$

$$= 0,0050 \text{ gram}$$

b. Pembuatan Logam Co²⁺ 100 ppm

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Co}}{\text{Mr CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}}$$

$$100 = \frac{\quad}{\quad} \times \frac{\quad}{\quad}$$

$$100 = \frac{\quad}{\quad}$$

$$\text{mg} = \frac{\quad}{\quad}$$

$$= 10,0936 \text{ mg}$$

$$= 0,0101 \text{ gram}$$

c. Pembuatan Logam Co^{2+} 150 ppm

$$150 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Co}}{\text{Mr CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}}$$

$$150 = \frac{\quad}{\quad} \times \frac{\quad}{\quad}$$

$$150 = \frac{\quad}{\quad}$$

$$\text{mg} = \frac{\quad}{\quad}$$

$$= 15,1405 \text{ mg}$$

$$= 0,0151 \text{ gram}$$

3. Pembuatan Logam Ca^{2+}

a. Pembuatan Logam Ca^{2+} 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Ca}}{\text{Mr CaCl}_2}$$

$$50 = \frac{\quad}{\quad} \times \frac{\quad}{\quad}$$

$$50 = \frac{\quad}{\quad}$$

$$\begin{aligned} \text{mg} &= \frac{\quad}{\quad} \\ &= 3,4683 \text{ mg} \\ &= 0,0034 \text{ gram} \end{aligned}$$

b. Pembuatan Logam Ca^{2+} 100 ppm

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Ca}}{\text{Mr CaCl}_2}$$

$$100 = \frac{\quad}{\quad}$$

$$\begin{aligned} \text{mg} &= \frac{\quad}{\quad} \\ &= 6,9367 \text{ mg} \\ &= 0,0069 \text{ gram} \end{aligned}$$

c. Pembuatan Logam Ca^{2+} 150 ppm

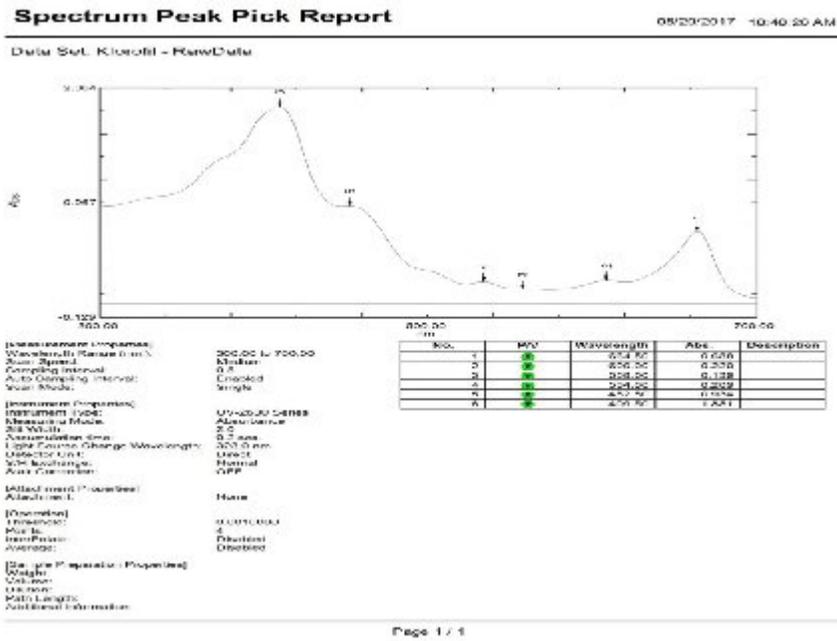
$$150 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{volume}} \times \frac{\text{Ar Ca}}{\text{Mr CaCl}_2}$$

$$150 = \frac{\quad}{\quad}$$

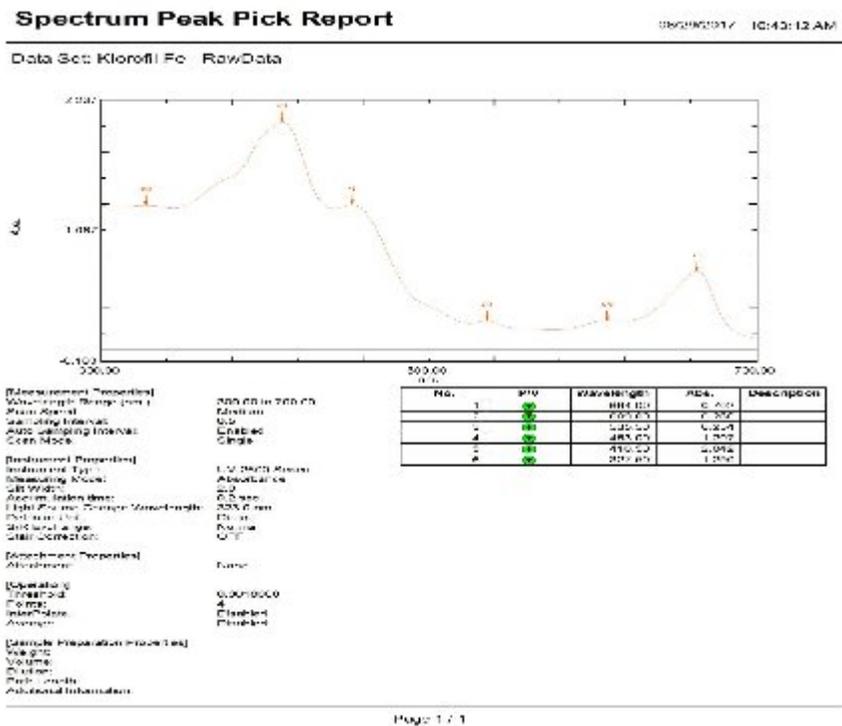
$$\begin{aligned} \text{mg} &= \frac{\quad}{\quad} \\ &= 10,4015 \text{ mg} \\ &= 0,0104 \text{ gram} \end{aligned}$$

Lampiran 15. Panjang Gelombang Alga Kontrol dan yang Dipaparkan Logam

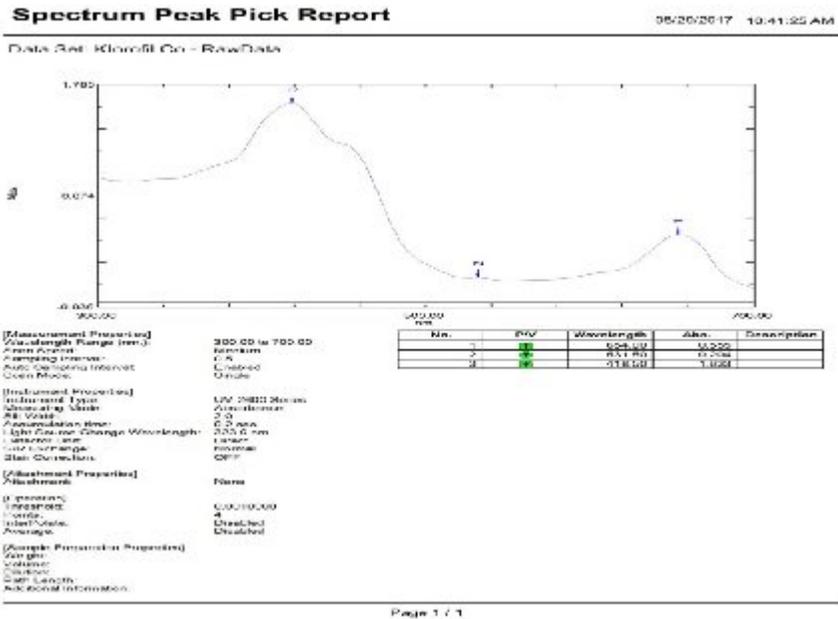
1. Spektrum panjang gelombang klorofil



2. Spektrum panjang gelombang klorofil yang dipaparkan logam Fe²⁺



3. Spektrum panjang gelombang klorofil yang dipaparkan logam Co^{2+}



4. Spektrum panjang gelombang klorofil yang dipaparkan logam Ca^{2+}

