

## UJI AKTIVITAS SENYAWA AKTIF ALGA COKLAT (*Sargassum fillipendula*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA MINYAK IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)

Khusnul Khotimah<sup>1)</sup>, Darius<sup>2)</sup>, Bambang Budi Sasmito<sup>2\*)</sup>

PS Teknologi Hasil Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
\*)nia

### ABSTRAK

Minyak ikan lemuru merupakan salah satu jenis minyak ikan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat. Namun, karena ikatan rangkap yang dimilikinya menyebabkan minyak ikan lemuru mudah teroksidasi baik karena cahaya maupun suhu. Adanya kandungan senyawa aktif pada alga coklat *Sargassum fillipendula* diduga mampu berperan sebagai antioksidan atau suatu agent yang mampu melawan radikal bebas yang bersifat merugikan. Pada penelitian ini dilakukan uji kuantitatif dan kualitatif pada ekstrak *Sargassum fillipendula* untuk mengetahui jenis senyawa aktif yang diduga memiliki sifat sebagai antioksidan dan mekanismenya dalam mencegah kerusakan minyak ikan. Selain itu dilakukan juga uji kualitatif terhadap minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* yang telah ditambah dengan ekstrak alga coklat *Sargassum fillipendula* dengan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial (RAL Faktorial) dengan perlakuan pertama yaitu masa simpan 1 hari, 5 hari dan 10 hari serta perlakuan kedua dengan konsentrasi 0%, 0.1%, 0.2% dan 0.3%. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa perlakuan terbaik terdapat pada konsentrasi penambahan ekstrak *Sargassum fillipendula* sebesar 0.2% dengan rincian angka iod sebesar 3.42%, bilangan peroksida sebesar 6.19 meq/kg dan nilai TBA sebesar 5.14 mg malonaldehid/kg minyak. Sedangkan untuk hasil analisis senyawa aktif alga coklat *Sargassum fillipendula* merupakan jenis karotenoid yang merupakan golongan fenol dan *benzenedicarboxyl acid*.

**Kata kunci:** *Sargassum fillipendula*, senyawa aktif, antioksidan, minyak ikan lemuru, *Sardinella longiceps*

### ABSTRACT

Fish oil sardine is often used by society. But, because of double bound, it make the fish oil sardine easy to oxidated both of light and temperature. The content of active compound in brown algae is guessed as an antioxidant or an agent which against free radical that damage fish oil characteristic. This research was carried on quantitative and qualitatve assay of *Sargassum fillipendula* in order to explore the active compound as an antioxidant and is a role on avoiding fish oil deterioration.

The reserach was carried on by using a Factorial Fully Random Design (Factorial FRD) method with first treatment is storage time, 1 day, 5 days and 10 days, the second treatment with concentration 0%, 0.1%, 0.2% and 0.3%. The obtained data analysed by ANOVA (analysis of variance) and continued with Duncan tested. Based on this research the best treatment is in adding *Sargasuum fillipendula* ekstrak 0.2% concentration with detail iod number 3.42%, peroxide number 6.19 meq/kg and TBA 5.14 mg malonaldehid/kg oil. Whereas the result of analysed the active compound of brown algae *Sargassum fillipendula* is a carotenoid which is phenol group and *benzenedicarboxyl acid*.

**Key Words:** *Sargassum fillipendula*, active compound, antioxidant, fish oil sardine *Sardinella longiceps*

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut merupakan salah satu komoditi ekspor yang potensial untuk dikembangkan. Saat ini Indonesia merupakan negara eksportir rumput laut terbesar kedua setelah Filipina. Namun, rumput laut masih banyak yang diekspor dalam bentuk bahan mentah yaitu berupa rumput laut kering. Alga merupakan salah satu sumber devisa negara dan 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 merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri Hijaz (2009). Beberapa jenis rumput laut mengandung mineral penting yang berguna untuk metabolisme tubuh seperti iodin, kalsium dan selenium.

Menurut Fateha (2007) rumput laut adalah bentuk ganggang (alga) yang berbentuk poliseluler dan hidup dilaut. *Sargassum fillipendula* merupakan salah satu jenis alga yang masuk pada kelas *Phaeophyceae* atau ganggang coklat. Alga coklat berbentuk benang atau lembaran, bahkan ada yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi dengan bagian-bagian serupa akar, batang, dan daun. Menurut Atmadja (2012), habitat alga coklat tumbuh di perairan pada kedalaman 0.5–10 m ada arus dan ombak. Alga coklat hidup di daerah perairan yang jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang dan dapat tumbuh subur pada daerah tropis. Menurut Majid (2012) alga coklat berupa tumbuh-tumbuhan bercabang berbentuk benang kecil yang halus (*Ectocarpus*), bertangkai pendek dan bertalus lebar (*Copstaria*, *Alaria*, dan *Laminaria*, beberapa diantaranya mempunyai lebar 2 m). Selain itu, *Sargassum fillipendula* juga mempunyai pigmen klorofil a dan b, beta karoten, violasantin, dan fukosantin.

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu sama yang lainnya. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan.

Ketertarikan untuk mengkonsumsi ikan semakin lama semakin meningkat seiring dengan tingginya angka kesehatan yang didapatkan dari mengkonsumsi minyak ikan khususnya dari *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) (Okada, *et al.*, 2006). Minyak ikan merupakan salah satu jenis minyak yang memiliki kandungan asam lemak tak jenuh paling tinggi dibandingkan dengan jenis minyak lainnya. Karena kandungan inilah yang menyebabkan minyak ikan menjadi kurang stabil, sebab mudah teroksidasi. Proses oksidasi akan semakin meningkat dengan adanya panas, cahaya dan oksigen (Irianto, *et al.*, 2002)

Dalam proses pemurnian minyak ikan terdapat empat proses yang dilalui, yang mana dalam proses tersebut melibatkan panas yang menjadi faktor pemicu terjadinya oksidasi. Adanya proses oksidasi pada minyak akan mampu menyebabkan kerusakan. Selain itu, oksidasi juga akan menimbulkan radikal bebas yang bersifat berbahaya bagi kesehatan karena dapat merusak biomolekul lainnya di dalam pangan dan tubuh (Purwanti, 2008). Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Kuncahyo, 2007). Menurut (Rohman, 2008), antioksidan sintesis memiliki efektifitas yang tinggi namun kurang aman bagi kesehatan, sehingga penggunaannya diawasi secara ketat di berbagai negara. Adanya kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas seperti yang dijelaskan di atas, maka diperlukan sebuah penelitian terhadap kandungan antioksidan pada alga coklat *Sargassum fillipendula* khususnya pada kandungan senyawa aktifnya mengingat alga coklat jenis ini belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Oleh karena itu dengan penelitian uji aktivitas senyawa aktif alga coklat pada minyak ikan lemuru nantinya dapat diketahui kemampuannya dalam menghambat oksidasi.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah konsentrasi optimum dari senyawa aktif *Sargassum fillipendula* yang harus diberikan sehingga mampu menghambat terjadinya oksidasi pada minyak ikan lemuru.
2. Bagaimana pengaruh penambahan senyawa aktif yang diberikan terhadap tingkat kerusakan minyak ikan lemuru?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan konsentrasi optimum dari senyawa aktif *Sargassum fillipendula* sehingga mampu menghambat terjadinya oksidasi pada minyak ikan lemuru.
2. Untuk mengetahui pengaruh penambahan senyawa aktif yang diberikan terhadap tingkat kerusakan minyak ikan lemuru?

## 1.4 Kegunaan Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi dan pengetahuan baru kepada peneliti-peneliti selanjutnya untuk mengembangkan ilmu pengetahuan dalam memanfaatkan alga coklat sebagai antioksidan alami.
2. Secara umum, diharapkan hasil penelitian ini nantinya dapat digunakan untuk menambah nilai guna dari alga coklat bagi masyarakat, sehingga mampu meningkatkan kualitas sumber daya manusia Indonesia dan alga coklat itu sendiri.

## 1.5 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

H<sub>0</sub> :

- Diduga penambahan senyawa aktif *Sargassum fillipendula* tidak dapat menghambat terjadinya oksidasi pada minyak ikan lemuru.

- Diduga penambahan senyawa aktif tidak dapat mempengaruhi tingkat kerusakan minyak ikan lemuru.

H1 :

- Diduga penambahan senyawa aktif senyawa aktif *Sargassum fillipendula* dapat menghambat terjadinya oksidasi pada minyak ikan lemuru.
- Diduga Penambahan senyawa aktif dapat mempengaruhi tingkat kerusakan minyak ikan lemuru.

## 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Brawijaya, Laboratorium Kimia Analisis Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biokimia Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Malang pada bulan April 2012 sampai pada bulan Juni 2012.

## 2 METODOLOGI

### 2.1 Materi Penelitian

#### 2.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi dua macam yaitu bahan utama dan bahan tambahan. Bahan utama yaitu berupa alga coklat *Sargassum filipendula* yang nantinya akan diekstraksi untuk didapatkan senyawa aktifnya. Alga coklat jenis ini yang didapatkan dari Pulau Talango, Kabupaten Sumenep, Madura. Alga coklat yang di dapatkan di Pulau ini cukup jauh dari kawasan perkotaan dan hidup di air laut dengan kedalaman antara 2 sampai 3 meter dari permukaan. Selain itu, untuk minyak ikan yang digunakan yaitu berupa minyak ikan lemuru yang didapatkan dari pelabuhan Muncar-Banyuwangi. Bahan-bahan penunjang lain yang digunakan berupa pelarut metanol dan aseton, heksan, etil asetat, aquades, *sea sand* dan *silica gel*.

#### 2.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator*, nampan, timbangan analitik dengan ketelitian 0,01 g, *beaker glass* 600 ml, *beaker glass* 1000 ml, *beaker glass* 250 ml, gelas ukur 100 ml, botol vial, *erlenmeyer* 250 ml, *erlenmeyer* 500 ml dan 50 ml, labu pemisah 500 ml, statif, pipet volume 10 ml dan ml, bola hisap, pipet tetes, *sentrifuge*, *spektrofotometer*, corong kaca, *hot plate*, *magnetic stirrer*, spatula, dan kolom.

### 2.2 Metode Penelitian

#### 2.2.1 Metode Eksperimen

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah mengadakan kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil. Hasil itu yang akan menegaskan bagaimana kedudukan hubungan kausal antara variabel yang diselidiki (Surakhmad, 1998). Ditambahkan oleh Zulnaldi (2007), metode eksperimen adalah prosedur penelitian yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya didalam variabel terikat.

#### 2.1.2 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat dua macam variabel yang digunakan yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas merupakan variabel yang diselidiki pengaruhnya atau yang mempengaruhi pada variabel terikat. Sedangkan variabel terikat adalah variabel yang timbul akibat dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah masa simpan dan konsentrasi. Dimana masa simpan yang ditentukan yakni pada hari ke-1, hari ke-5 dan hari ke-10. Sedangkan pada konsentrasi yang digunakan yaitu pada konsentrasi 0% (kontrol), 0.1%, 0.2% dan 0.3%. Adapun variabel terikat yang di amati yaitu angka TBA, bilangan peroksidan dan angka IOD. Dimana masing-masing perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan.

#### 2.1.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 macam perlakuan yaitu perlakuan pertama dengan konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2% dan 0,3%. Sedangkan untuk perlakuan kedua menggunakan masa simpan selama 1 hari, 5 hari dan 10 hari dengan ulangan sebanyak tiga kali. Metode analisa yang digunakan adalah sidik ragam ANOVA dengan uji lanjut untuk menentukan nilai yang berpengaruh maupun yang tidak dengan metode Duncan.

## 2.2 Analisis

Analisis yang dilakukan antara lain analisis ekstrak *Sargassum fillipendula* dengan uji DPPH, UV-Vis dan GC-MS. Serta analisis kualitas minyak ikan dengan uji bilangan TBA, uji bilangan peroksidan dan uji angka IOD.

### 2.2.2 Uji DPPH

Pada uji DPPH ini digunakan metode Bloish dengan menggunakan lima variabel konsentrasi yaitu 0ppm (blanko), 25ppm, 50ppm, 100ppm dan 200ppm. Dari konsentrasi tersebut didapatkan rincian absorbansi seperti pada tabel diatas. Untuk mengetahui besarnya nilai IC 50 dari sampel maka sebelumnya dilakukan perhitungan %inhibisi dengan rumus :

$$\frac{(\text{Absorbance blanko} - \text{Absorbance sampel})}{\text{Absorbance blanko}} \times 100\%$$

Setelah data % inhibisi didapatkan maka berikutnya dilakukan perhitungan untuk mendapatkan nilai IC 50.

IC 50 merupakan besarnya konsentrasi larutan uji untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Nilai IC 50 dihitung dari persentase penghambatan atau % inhibisi larutan ekstrak dengan menggunakan persamaan yang diperoleh dari kurva regresi linier.

### 2.2.3 Uji Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Menurut Huda (2001), prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu di daerah ultra violet dan sinar tampak (visible).

Uji UV-Vis dilakukan pada empat isolat hasil dari kromatografi kolom yang didapatkan yaitu isolate dengan warna hijau, kuning kehijauan, kuning dan orange. Pada proses UV-Vis ini digunakan sperktofotometer jenis 1601 merk Shimadzu dengan panjang gelombang 400nm sampai 700 nm.

### 2.2.4 Uji GC-MS

Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. GC-MS terdiri dari dua blok bangunan utama : kromatografi gas dan spektromater massa. Proses GC-MS dilakukan dengan isolat warna orange dan isolat yang warna kuning kehijauan, dengan menggunakan alat GC-MS tipe Shimadzu QP2010S. Fungsi dari kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif senyawa dalam suatu campuran.

### 2.2.5 Uji Bilangan TBA

Uji ini berdasarkan atas terbentuknya pigmen berwarna merah sebagai hasil dari reaksi kondensasi antara 2 molekul TBA dengan 1 molekul malonat dialdehida (Ketaren, 2005). Tujuan dilakukan uji TBA untuk mengetahui adanya reaksi lebih lanjut pada lemak yang menyebabkan ketengikan. Lemak yang tengik akan bereaksi dengan asam thiobartiturat menghasilkan warna merah.

Intensitas warna merah menunjukkan derajat ketengikan dari minyak tersebut. Makin besar angka TBA minyak maka makin tengik (Sudarmadji *et al*, 1989). Prosedur analisis pengujian bilangan TBA dilakukan sesuai dengan metode Sudarmadji *et.,al* (2003).

### 2.2.6 Uji Bilangan Peroksida

Peroksida merupakan suatu tanda adanya pemecahan atau kerusakan pada minyak karena terjadi oksidasi (kontak dengan udara), yang meyebabkan bau/aroma tengik pada minyak. Ukuran dari ketengikan dapat diketahui dengan menentukan bilangan peroksida. Semakin tinggi bilangan peroksida maka semakin tinggi pula tingkat ketengikan suatu minyak.

Pengukuran angka peroksida pada dasarnya adalah mengukur kadar peroksida dan hiperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Oksidasi lemak oleh oksigen terjadi secara spontan jika bahan dibiarkan kontak dengan udara, sedangkan kecepatan proses oksidasinya tergantung pada tipe lemak dan kondisi penyimpanannya (Aminah, 2010).

### 2.2.7 Uji Angka IOD

Bilangan iodin menyatakan derajat ketidakjenuhan asam lemak penyusun minyak. Asam lemak tidak jenuh mampu mengikat iodium dan membentuk persenyawaan yang jenuh. Banyaknya iodium yang diikat menunjukkan banyaknya ikatan rangkap dimana asam lemak tidak jenuh mampu mengikat iodium dan membentuk persenyawaan yang jenuh. Menurut Hidayati (2002) menyatakan bahwa,

iodium akan mengadisi ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh maupun dalam bentuk ester. Bilangan iodium tergantung pada jumlah asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Semakin banyak jumlah asam lemak tidak jenuh dalam minyak semakin tinggi pula bilangan iodium yang dikandung oleh minyak tersebut. Adanya ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh akan memudahkan terjadinya oksidasi di udara atau jika ada air dan dipanaskan.

### 2.3 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, dilakukan analisis keragaman ANOVA dengan uji F pada taraf 5%. Jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji Duncan 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Uji Senyawa Aktif

#### 3.1.1 Uji DPPH

Hasil dari uji DPPH ekstrak *Sargassum fillipendula* di dapatkan nilai  $IC_{50}$  untuk triplo 1 sebesar 81.14 ppm, triplo 2 sebesar 82.37 ppm, triplo 3 sebesar 80.31 ppm. Dari data yang didapat dibuat rata-rata dan diperoleh nilai sebesar 81.28 ppm. Untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$  sebelumnya harus dicari nilai %inhibisi yang nantinya akan dimasukkan pada grafik untuk mendapatkan persamaan garis. Daya aktivitas antioksidan pada skala 50-100 ppm berada pada golongan kuat.

#### 3.1.2 Uji Spektrofotometri UV-Vis

Uji spektrofotometri UV-Vis dilakukan pada 4 macam isolat, yaitu isolat hijau, isolat kuning kehijauan, isolat kuning dan isolat *orange*. Untuk isolate hijau didapatkan 7 puncak yang berada pada abscis atau panjang gelombang 666nm, 609nm, 560nm, 533,5nm, 504nm, 472,5nm dan 408nm. Berdasarkan data panjang gelombang yang didapatkan maka dapat diketahui bahwa senyawa yang teridentifikasi adalah jenis klorofil-a, fukosantin, lycocanthin dan karotenoid.

Menurut Sunarto (2008) menyatakan bahwa absorpsi maksimal oleh klorofil *a* terjadi dalam dua berkas panjang gelombang, yang puncaknya pada sekitar 430 dan 660 nm. Pigmen asesori memiliki absorpsi maksimal pada panjang gelombang yang berbeda: klorofil *b*, yang terjadi pada *Chlorophyta*, puncaknya pada sekitar 450 dan 645 nm untuk  $\beta$ -carotene memuncak pada kisaran 450-470 nm, xantophyl yang secara luas tersebar di antara kelompok alga, puncaknya antara 480 dan 560 nm, phycobilins, seperti phycoerythrine mengabsorpsi pada 540-560 nm dan phycocyanins, 610–630 nm (terdapat pada *Rhodophyta*, *Cryptomonads* dan pada *Cyanobacteria*).

Untuk isolat kuning kehijauan didapatkan hasil peak sebanyak empat puncak yaitu pada panjang gelombang 696,5nm, 631,5nm, 448,5nm dan 427,5nm. Panjang gelombang 450-500nm teridentifikasi sebagai serapan karotenoid. Sedangkan menurut Sunarto (2008) menyatakan bahwa pada panjang gelombang 610-630 nm merupakan *phycocyanins* yang terdapat pula pada *Rhodophyta*, *Cryptomonads* dan pada *Cyanobacteria*.

Untuk isolat kuning didapatkan dua peak yaitu pada panjang gelombang 480,5nm dan 454nm. Pada panjang gelombang 450-500nm diidentifikasi sebagai serapan karotenoid. Selain itu menurut Sunarto (2008) menyatakan bahwa pada klorofil *b* mengalami puncak pada panjang gelombang 450-645 nm

Sedangkan pada isolate orange didapatkan dua peak pada panjang gelombang 792nm dan 446.5nm. Menurut Sunarto (2008), menyatakan bahwa panjang gelombang 400-700nm merupakan *visible light* yang mampu dideteksi oleh indra penglihatan. Panjang gelombang 450-500nm teridentifikasi sebagai serapan karotenoid. Hal ini didukung juga dengan Britton (1995) yang menyatakan bahwa pada panjang gelombang 446nm merupakan *anthexaxanthin* yang juga merupakan golongan dari karotenoid

#### 3.1.3 Uji GC-MS (*Gas Chromatography –Massa Spectrofotometer*)

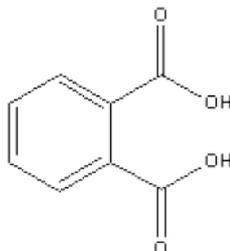
Pada proses GC-MS ini digunakan dua isolate yaitu isolat dan kuning kehijauan. Pada isolat *orange* didapatkan 10 peak. Berdasarkan deteksi mass spektrometri didapatkan 3 senyawa yang dominan yaitu Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl (CAS) diacetone alcohol, Bis-(3,5,5-trimethylhexyl)ether dan 1,2-Benzenedicarboxyl acid serta senyawa lain yang diduga juga memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu senyawa Phenol,2-(1,1-dimethyl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl).

Senyawa pertama yang muncul adalah Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl (CAS) diacetone alcohol dengan rumus molekul  $MeCOCH_2CMe_2OH$  yang mempunyai berat molekul sebesar 116. Senyawa ini muncul pada *retention time* 3,666 dengan luas area sebesar 51,20%. Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl (CAS) diacetone alcohol merupakan senyawa bioaktif yang terdapat pada jenis alga dan spons. Senyawa ini diduga sebagai senyawa antibakteri.

Senyawa dominan kedua adalah Bis-(3,5,5-trimethylhexyl)ether dengan berat molekul 270 dan memiliki luas area sebesar 11.32% serta muncul pada *retention time* 19,642. Senyawa ini merupakan

salah satu jenis senyawa aromatik yang juga terkandung pada ekstrak nektar dari bunga jenis *E. atrorubens* (Busse *et al.*, 2010).

Senyawa dominan ketiga adalah 1,2-Benzenedicarboxyl acid dengan berat molekul 330 dan memiliki luas area sebesar 11,59%. Senyawa ini muncul pada *retention time* 27,001. Senyawa 1,2-Benzenedicarboxyl acid atau sesuai dengan *IUPAC name* sering disebut dengan *Phthalic Acid* merupakan asam dikarboksilat aromatik. *Phthalic Acid* tidak berwarna dan berbetuk kristal padat yang larut dalam alkohol dan air. Asam dikarboksilat mempunyai ikatan *hydrogen* sesamanya dan dapat berikatan secara ikatan *hydrogen* dengan molekul air, serta mempunyai gugus hidroksil yang bersifat polar. 1,2-Benzenedicarboxyl acid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yang memiliki 6 gugus cincin benzen yang bersifat aromatis.



**Gambar 1. 1,2-Benzenedicarboxyl acid**

Selain itu, berdasarkan hasil dari analisa GCMS didapatkan pula senyawa Phenol,2-(1,1-dimethyl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl). Senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 262 dan % area 5.04. Phenol,2-(1,1-dimethyl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) merupakan senyawa aromatis yang masuk pada gugus fenol. Senyawa fenol telah dikenal sebagai antioksidan terhadap material organik yang telah teroksidasi.

Sedangkan pada isolat kuning kehijauan didapatkan 12 peak yang terdeteksi dengan 3 senyawa yang dominan, yaitu 2-Pentanone,4-hydroxy-4-methyl (CAS) diacetone alcohol, 9-Eicosene, (E)-(CAS) dan 1,2-Benzenedicarboxylic acid bis(2-ethylhexyl)ester (CAS) serta senyawa lain yang diduga juga memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu senyawa Phenol,2-(1,1-dimethyl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) dan Bis-(3,5,5-trimethylhexyl)ether.

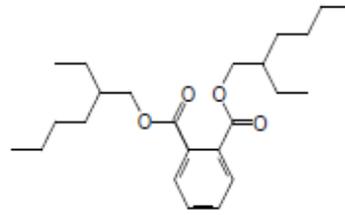
Senyawa 2-Pentanone,4-hydroxy-4-methyl (CAS) diacetone alcohol merupakan senyawa dominan pertama yang terdeteksi dengan mass spektrometri. Senyawa ini mempunyai rumus molekul  $\text{MeCOCH}_2\text{CMe}_2\text{OH}$  dan muncul pada *retention time* 3,663. 2-Pentanone,4-hydroxy-4-methyl (CAS) diacetone alcohol juga terdeteksi pada ekstrak orange *Sargassum fillipendula*. Adanya senyawa ini pada kedua ekstrak membuktikan bahwa adanya sinergi dan kesamaan fungsi antar keduanya.

Senyawa dominan kedua yang muncul pada *retention time* 16,258 adalah 9-Eicosene, (E)-(CAS) dengan luas area sebesar 16,30%. Senyawa ini mempunyai berat molekul sebesar 280 dan rumus molekul  $\text{Me}(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{Me}$ . Berdasarkan spektrum massa senyawa ini identik dengan eikosana ( $\text{C}_{20}\text{H}_{42}$ ). Berikut gambar 2 tentang struktur molekul eikosana.



**Gambar 2. Struktur molekul eikosana**

Senyawa dominan ketiga yang muncul pada *retention time* 27,00 adalah 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)ester (CAS) dengan luas area sebesar 18,66% dan berat molekulnya sebesar 390. 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)ester (CAS) mempunyai rumus molekul  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$  dengan pola pemenggalan dari spectrum massa sebanyak 2 kali yaitu pada pemenggalan gugus alkil  $m/z$  279 dan  $m/z$  167. Menurut Silverstein (1991) dalam Swantara *et al* (2007), berdasarkan pemenggalan gugus alkil ini merupakan ciri khas dari ester aromatik. Pemenggalan pada  $m/z$  149 merupakan puncak kuat yang ada pada semua ester asam ftalat. Adapun struktur molekul dari 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)ester (CAS) dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Struktur molekul bis(2-etilheksil)1,2-benzenkarboksilat**

Pada isolat kedua ini ditemukan juga gugus senyawa fenol dengan jenis yang sama yaitu Phenol,2-(1,1-dimethyl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl). Pada isolat kedua ini senyawa Phenol,2-(1,1-dimethyl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) memiliki % area sebesar 3.94%. Senyawa fenol telah dikenal sebagai antioksidan terhadap material organik yang telah teroksidasi. Selain itu, terdapat senyawa yang sama pula yaitu Bis-(3,5,5-trimethylhexyl)ether dengan berat molekul 270 dan memiliki % area sebesar 4.53. Senyawa ini merupakan salah satu jenis senyawa aromatik yang juga terkandung pada ekstrak nektar dari bunga jenis *E. atrorubens* (Busse, *et al*, 2010). Diduga senyawa-senyawa aromatislah yang berperan sebagai antioksidan.

### 3.2 Uji Kualitas Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

#### 3.2.1 Uji Bilangan TBA

Pada uji bilangan TBA dilakukan dengan ketentuan 2 variabel yaitu konsentrasi (0%, 0,1%, 0,2% dan 0,3%) dan masa simpan (1, 5 dan 10 hari). Berdasarkan uji TBA yang dilakukan terhadap minyak ikan lemuru dengan perlakuan masa simpan dan konsentrasi yang berbeda maka didapatkan rata-rata antara 1.74 mg malonaldehid/kg minyak hingga 11.72 mg malonaldehid/kg minyak. Dari ANOVA dapat diketahui bahwa hubungan atau interaksi antara masa simpan dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kualitas minyak ikan tersebut.

Adanya interaksi tersebut maka perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui pengaruh-pengaruh sederhananya yang merupakan konsekuensi logis dari model percobaan faktorial dalam penelitian. Dengan tujuan untuk mendapatkan kesimpulan yang lebih komprehensif. Uji lanjutan dilakukan dengan menggunakan uji Duncan. Analisa uji lanjut Duncan dilakukan secara manual dan disajikan sesuai dengan tabel berikut :

**Tabel 1. Pengaruh Interaksi Masa Simpan dan Konsentrasi Terhadap Kadar TBA Minyak Ikan Lemuru**

Konsentrasi	Masa Simpan		
	H1	H5	H10
0%	8.88 mg	10.42 mg	11.72 mg
	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg
	minyak (f)	minyak (g)	minyak (h)
0.1%	8.93 mg	6.87 mg	6.73 mg
	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg
	minyak (f)	minyak (e)	minyak (e)
0.2%	6.92 mg	5.14 mg	4.59 mg
	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg
	minyak (e)	minyak (d)	minyak (cd)
0.3%	4.35 mg	3.12 mg	1.74 mg
	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg	malonaldehid/kg
	minyak (c)	minyak (b)	minyak (a)

Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Berdasarkan tabel Duncan di atas, pada masa simpan 1 hari didapatkan nilai terkecil yaitu sebesar 4.35 mg malonaldehid/kg minyak, untuk masa simpan 5 hari mengalami penurunan menjadi 3.12 mg malonaldehid/kg minyak dan untuk masa simpan 10 hari sebesar 1.74 mg malonaldehid/kg minyak. Hal ini dikarenakan jumlah peroksida yang terbentuk masih kecil akibat dari reaksi senyawa aktif yang ada pada *Sargassum fillipendula*, sehingga untuk diubah menjadi malonaldehid juga terbatas dan menyebabkan jumlah kadar TBA menurun.

### 3.2.2 Uji Bilangan Peroksida

Uji bilangan peroksida juga dilakukan dengan dua variabel seperti uji bilangan TBA sebelumnya. Pengukuran angka peroksida pada dasarnya adalah mengukur kadar peroksida dan hiperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Berdasarkan hasil uji bilangan peroksida terhadap minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda dan masa simpan maka didapatkan rata-rata antara 6.19 meq/kg sampai 47.51 meq/kg. Dari data tersebut dilakukan perhitungan ragam ANOVA.

Berdasarkan tabel ANOVA tersebut dapat diketahui bahwa hubungan atau interaksi antara masa simpan dan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kualitas minyak ikan tersebut. Hal ini dibuktikan dengan nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan dengan F 5% yaitu  $12.10 > 2.50$ . Adanya reaksi antara masa simpan dan konsentrasi yang diberikan maka harus dilakukan uji lanjutan yaitu uji Duncan. Berikut tabel uji Duncan dengan variabel pengaruh lama penyimpanan terhadap bilangan peroksida minyak ikan lemuru dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Pengaruh Interaksi Masa Simpan dan Konsentrasi Terhadap Bilangan Peroksida Minyak Ikan Lemuru**

Konsentrasi	Masa Simpan		
	H1	H5	H10
0%	36.86 mg/kg (e)	42.48 mg/kg (ef)	46.33 mg/kg (f)
0.1%	47.51 mg/kg (f)	33.45 mg/kg (d)	26.39 mg/kg (cd)
0.2%	34.87 mg/kg (e)	6.19 mg/kg (a)	15.94 mg/kg (b)
0.3%	18.6 mg/kg (b)	19.96 mg/kg (b)	22.18 mg/kg (bc)

Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Berdasarkan tabel di atas pada variabel masa simpan pada hari ke- 1 didapatkan nilai terkecil yaitu 18.6 meq/kg pada konsentrasi 0.3%. Sedangkan pada hari ke-5 didapatkan nilai terkecil yaitu sebesar 6.19 meq/kg pada konsentrasi 0.2%. Begitu juga pada hari ke-10 juga di dapatkan nilai terkecil pada konsentrasi tersebut yaitu 15.94 meq/kg. Terjadinya penurunan bilangan peroksida, ditentukan diduga karena ekstrak senyawa aktif yang ada pada *Sargassum fillipendula* dapat mencegah atau menghambat autooksidasi dari lemak/minyak, sehingga asam lemak tidak jenuh pada minyak ikan lemuru tidak dapat berikatan dengan radikal bebas.

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui jika perlakuan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap rata-rata bilangan peroksida pada minyak ikan lemuru. Pada tiap penambahan konsentrasi terjadi penurunan rata-rata bilangan peroksida, hal ini disebabkan karena peran dari senyawa aktif dari *Sargassum fillipendula* yang mampu menghambat laju oksidasi dan bertindak sebagai antioksidan.

Tingginya rata-rata bilangan peroksida pada konsentrasi 0% disebabkan karena pada sampel minyak ikan lemuru tersebut teroksidasi akibat paparan dengan oksigen dan suhu. Tanpa adanya agent penghambat atau berupa senyawa aktif dari *Sargassum fillipendula* tersebut menyebabkan minyak ikan lemuru mudah teroksidasi, sesuai dengan yang dikemukakan oleh Aminah (2010), yang menyatakan bahwa peningkatan bilangan peroksida signifikan dengan peningkatan suhu penyimpanan.

### 3.2.3 Uji Angka IOD

Bilangan iodin adalah jumlah gram iodin yang diserap dalam 1 gram minyak. Atom – atom karbon tidak jenuh dari asam lemak menyerap iodin berdasarkan reaksi berikut :  $-CH = CH - + I_2 - CHI - CHI-$ . Pada uji analisa angka iod pada minyak ikan lemuru dengan perlakuan masa simpan dan konsentrasi, didapatkan rata-rata nilainya dari 2.14% sampai 3.42%.

Dari data tersebut dilakukan perhitungan ragam ANOVA. Berdasarkan tabel ANOVA tersebut dapat diketahui jika nilai dari F hitung Interaksi yaitu 5.107337 dan nilai dari F 5% yaitu 2.508189. Dari nilai tersebut menandakan bahwa terjadi interaksi antara masa simpan dan konsentrasi yang diberikan karena memberikan nilai beda nyata pada F hitung  $> F 5\%$ . Adanya interaksi tersebut sehingga perlu dilakukannya uji lanjutan yaitu uji Duncan. berikut tabel uji Duncan terhadap interaksi lama masa simpan dengan konsentrasi.

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui jika pada H1 nilai tertinggi bilangan iod terdapat pada konsentrasi 0.2%. Pada H5 nilai bilangan iod tertinggi juga terdapat pada konsentrasi 0.2%. Begitu juga pada H10 nilai bilangan iod tertinggi terdapat pada konsentrasi 0.2%. Terjadinya peningkatan bilangan iod ini dikarenakan *hydrogen* peroksida yang terbentuk pada tahap propagansi tidak dapat bereaksi dengan ikatan rangkap asam lemak tak jenuh, karena senyawa aktif yang ada

pada *Sargassum fillipendula* berperan sebagai antioksidan yang dapat memecah rantai oksidatif dengan cara bereaksi dengan radikal bebas. Sedangkan pada setiap perlakuan masa simpan dengan konsentrasi 0.3% bilangan iod pada minyak ikan lemuru mengalami penurunan, dikarenakan senyawa aktif yang terdapat pada *Sargassum fillipendula* telah melemah sehingga kurang mampu dalam mencegah terbentuknya radikal bebas.

Menurut Hidayati (2002) menyatakan bahwa, iodium akan mengadisi ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh maupun dalam bentuk ester. Bilangan iodium tergantung pada jumlah asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Semakin banyak jumlah asam lemak tidak jenuh dalam minyak semakin tinggi pula bilangan iodium yang dikandung oleh minyak tersebut.

**Tabel 3. Pengaruh Interaksi Masa Simpan dan Konsentrasi Terhadap Bilangan Iod Minyak Ikan Lemuru**

Konsentrasi	Masa Simpan		
	H1	H5	H10
0%	2.52 % (c)	2.33 % (b)	2.14 % (a)
0.1%	3.14 % (ef)	3.27 % (f)	3.04 % (de)
0.2%	3.21 % (f)	3.42 % (g)	3.05 % (e)
0.3%	2.93 % (d)	3.13 % (e)	2.89 % (d)

Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

### 3.3 Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik untuk minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode De Garmo Sullivan dan Canada (1984) Parameter uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai TBA, bilangan peroksida dan bilangan iod yang merupakan penilaian terhadap kualitas dari minyak ikan. Pada analisa De Garmo ini ranking pertama pada parameter bilangan iod, ranking kedua pada parameter TBA dan terakhir pada bilangan peroksida.

Berdasarkan dari uji De Garmo, diperoleh perlakuan terbaik pertama yaitu pada penambahan konsentrasi ekstrak *Sargassum fillipendula* sebesar 0.2% dengan rincian angka iod sebesar 3.42%, bilangan peroksida sebesar 6.19 meq/kg dan nilai TBA sebesar 5.14 mg malonaldehid/kg minyak. Pada konsentrasi ini dinilai sebagai konsentrasi optimum pada penambahan ekstrak senyawa aktif pada minyak ikan lemuru.

Hal ini didukung pula oleh Permatasari (2011) yang menyatakan bahwa besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Aktivitas antioksidan group fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut justru menjadi prooksidan pada konsentrasi tinggi. Pengaruh konsentrasi pada laju oksidasi dipengaruhi oleh struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan di uji.

Menurut Seafast (2012), sifat dari senyawa aromatik baik benzen dan turunannya fenolik yang memiliki kesamaan yaitu menyukai reaksi substitusi (pergantian atom) yang menyebabkan keduanya mudah berikatan dengan gugus kimia lainnya. Fenol sendiri juga dapat disubstitusi lagi dengan berbagai macam gugus kimia. Sehingga menyebabkan fenol mempunyai berbagai jenis senyawa. Sedangkan menurut Leiwakabessy (2001) menyatakan bahwa prinsip kerja gugus fenol dan amina aromatik dalam mencegah terjadinya proses oksidasi dengan cara senyawa antioksidan tersebut berinteraksi dengan radikal bebas yang terdapat di dalam sistem atau dalam minyak ikan lemuru dan membentuk produk substrat non radikal dan suatu radikal antioksidan. Jika radikal antioksidan yang dihasilkan cukup stabil mencegah reaksi berikutnya, maka radikal antioksidan tersebut tidak akan berperan sebagai inisiator dari berikutnya.

### 3.4 Rendemen

Hasil rendemen *Sargassum fillipendula* yang didapatkan untuk isolat kuning kehijauan yaitu sebesar 0.33% dan untuk isolat orange sebesar 0.46%. Hasil tersebut didapatkan dari rumus:

$$\frac{\text{berat akhir serbuk yang dihasilkan (g)}}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

Rendemen yang didapatkan berasal dari 100 g sampel awal *Sargassum fillipendula* dan telah mengalami pengurangan akibat dari proses atau prosedur yang dilakukan. Adanya perbedaan rendemen yang didapatkan karena adanya perbedaan kuantitas yang didapatkan pada saat proses kromatografi kolom.

#### 4 KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai ekstrak senyawa aktif *Sargassum fillipendula* sebagai antioksidan pada minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

- Ekstrak senyawa aktif *Sargassum fillipendula* diperoleh aktivitas antiradikal bebas DPPH sebesar 81,281ppm.
- Senyawa aktif yang ditambahkan pada proses pemurnian minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* dapat memberikan pengaruh nyata terhadap nilai TBA, bilangan lod dan bilangan Peroksida pada minyak tersebut
- Penambahan senyawa aktif dari *Sargassum fillipendula* dapat mencegah terjadinya kerusakan pada proses netralisasi minyak ikan lemuru dengan perlakuan terbaik atau konsentrasi optimum yaitu pada penambahan konsentrasi ekstrak *Sargassum fillipendula* sebesar 0.2% dengan rincian angka iod sebesar 3.42%, bilangan peroksida sebesar 6.19 meq/kg dan nilai TBA sebesar 5.14 mg malonaldehid/kg minyak.

##### 4.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung pada *Sargassum fillipendula* dengan pengaplikasian yang berbeda maupun isolasi dari *Sargassum fillipendula* tersebut.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aminah Siti. 2010. Bilangan Peroksida Minyak Goreng Curah dan Sifat Organoleptik Tempe Pada Pengulangan Penggorengan. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Jurnal Pangan dan Gizi Vol. 01 No. 01
- Atmadja, W. 2012. Apa Rumput Laut Itu Sebenarnya?. <http://www.coremap.or.id/print/article.php?id=264>, diakses Tanggal 14 Februari 2012.
- Busse Anna Jakubska, Kadej Marcin. 2011. The Pollination Of *Epipactis* Zinn, 1757 (Orchidaceae) Species In Central Europe – The Significance Of Chemicalattractants, Floral morphology and Concomitant Insects. Institute of Plant Biology, University of Wroclaw. Poland. Vol.80 No.1:48-57, 2011
- Fateha, 2007. Teknik Penanganan Pascapanen Rumput laut Coklat, *Sargassum filipendulla* sebagai Bahan Baku Alginat. Teknisi Litkayasa Pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Bul. Tek. Lit. Akuakultur Vol.6 No.1 Tahun 2007.
- Hidayati Nur. 2002. Bilangan Iodium Pada Minyak Kelapa Hasil Olahan Tradisional dan Hasil Olahan dengan Penambahan Buah Nanas Mentah. Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi. Surakarta. Jurnal Kimia dan Teknologi
- Hijaz Melka Nurul. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan dalam Alga Merah Jenis *Euclima spinosum* dan *Gracillaria verrucosa*. Universitas Islam Negeri Malang. Malang
- Huda N. 2001. Pemeriksaan Kerja Spektrofotometer UV-Vis. GBC911A Menggunakan Pewarna Tartazine CL 19140. Bidang Evaluasi dan Pengembangan Keselamatan Instalasi. Sigma Epsilon.
- Irianto, H.E., Suparno, Murtini, J.T. dan Sunarya. 1995. Kandungan Asam Lemak Omega-3 Beberapa Jenis Ikan dan Produk Olahan Tradisional. Prosiding Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional, Jakarta 9-11 Juni 1995, p.176-181, Kantor Menteri Negara Urusan Pangan, Jakarta
- Ketaren, S. 2005. Minyak dan Lemak Pangan. UI Press. Jakarta
- Kuncahyo Ilham, Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). Teknologi Farmasi. Universitas Setia Budi. Yogyakarta
- Majid. 2012. Praktikum Marine Biologi (Botani), [http://majidundip.blogspot.com/2008\\_11\\_01\\_archive.html](http://majidundip.blogspot.com/2008_11_01_archive.html) Diakses pada tanggal 26 Febuari 2012 pukul 10.00 WIB.
- Okada Tomoko, Morrissey Michael T. 2006. Production of n-3 polyunsaturated fatty acid concentrate from sardine oil by lipase-catalyzed hydrolysis. Department Of Food Sciences and Technology. United States
- Permatasari Ellis. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Pada Selada Air (*Nasturtium officinale* L. R. Br). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Purwanti Elly. Profil Komponen Bioaktif tanaman Kava-Kava (*Piper methysticum, Forst*) Dengan Pelarut Etanol dan Metanol. 2009. Univesitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Rohman Abdul, Riyanto Sugeng. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack Secara In Vitro. Majalah Farmasi Indonesia 16 (3), hal. 136-140.
- Seafast. 2012. Senyawa Fenolik Pada Sayuran Indigenous. seafast.ipb.ac.id/tpc.../wp.../1-senyawa-fenolik.pdf. Diakses pada tanggal 21 Desember 2012.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2003. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Pusat Antar Universitas Gadjah Mada. Liberty. Yogyakarta
- Sunarto. 2008. Peranan Cahaya Dalam Proses Produksi Di Laut. Karya Ilmiah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Bandung
- Surakhmad, W. 1998. Pengantar Penelitian Ilmiah. Penerbit Tarsito. Bandung
- Swantara I M, Supriyono Agus, Trinoviani Mila. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Toksik Pada Spons Dari Perairan Gili Sulat-Lombok. Jurnal Kimia 1 (1): 67-69.
- Zulnaidi. 2007. Metode Penelitian. Departemen Sastra Jepang. Fakultas Sastra. Universitas Sumatera Utara. Medan