

KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN RUMPUT LAUT *Gracilaria* sp. ASAL BANTEN

Sri Purwaningsih*, Eka Deskawati

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat

Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

Diterima: 12 Oktober 2020/Disetujui: 15 Desember 2020

*Korespondensi: sripurwa65@gmail.com

Cara sitasi: Purwaningsih S, Deskawati E. 2020. Karakteristik dan aktivitas antioksidan rumput laut *Gracilaria* sp. asal Banten. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 503-512.

ABSTRAK

Rumput laut *Gracilaria* sp. sering dimanfaatkan sebagai sumber agar-agar komersial. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik dari *Gracilaria* sp. sebagai bahan baku pangan fungsional. Metode ekstraksi pada penelitian ini yaitu maserasi tunggal menggunakan berbagai pelarut seperti: etanol, etil asetat, dan n-heksan, dengan perbandingan *Gracilaria* sp. dan pelarut yaitu 1:6. Parameter analisis terdiri atas proksimat, logam berat, rendemen, fitokimia, penentuan total fenol dan total flavonoid menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis, serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan kadar air 83,28% (bb), protein 9,36%, lemak 0,60%, abu 24,83% dan karbohidrat 11,05% (bk). Kadar logam berat Hg, Pb, Cd di bawah ambang batas dan tidak ditemukan logam berat As sesuai dengan SNI 2690:2015. Pengujian komponen bioaktif ekstrak etanol *Gracilaria* sp. secara kualitatif didapatkan alkaloid, fenol, saponin, flavonoid, triterpenoid. Kadar total flavonoid dan total fenol berturut-turut sebesar $21,78 \pm 0,32$ mg QE/g dan $124 \pm 2,13$ mg GAE/g. Perbedaan pelarut dalam ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap aktivitas antioksidan, dengan aktivitas tertinggi adalah ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar $22,15 \pm 1,63$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ (sangat kuat). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa *Gracilaria* sp. aman dan dapat digunakan sebagai bahan baku pangan fungsional.

Kata kunci: antioksidan, *Gracilaria* sp., komponen bioaktif, logam berat, proksimat

Characteristics and Antioxidant Activities of *Gracilaria* sp. Seaweed from Banten

ABSTRACT

The *Gracilaria* sp. seaweed is often used as a source of commercial agar, however in recent years the price of this seaweed has dropped dramatically. Red seaweed has many health benefits. This study was aimed to determine proximate contains, heavy metal, total phenol and total flavonoid, and antioxidant activity of the seaweed *Gracilaria* sp. Extraction using the maceration method with ethanol, ethyl acetate, and n-hexane solvents with a ratio of 1:6 had a significant effect ($\alpha=0.05$) on the antioxidant activity. The highest antioxidant activity was observed fromthe ethanolic extract with $IC_{50} = 22.15 \pm 1.63 \mu\text{g}/\text{mL}$ (very strong). Qualitative testing of the bioactive components of the ethanol extract of *Gracilaria* sp. found alkaloids, phenols, saponins, flavonoids, triterpenoids. Tests for total flavonoids and total phenols were carried out using a UV-Vis spectrophotometer obtaining 21.78 ± 0.32 mg QE/g and 124 ± 2.13 mg GAE/g respectively.

Keywords: antioxidant, bioactive compound, heavy metal, *Gracilaria* sp., proximate

PENDAHULUAN

Rumput laut cocok dijadikan bahan pangan serta bermanfaat untuk kesehatan karena mengandung serat, asam-asam amino, lemak yang rendah, karbohidrat, mineral, dan vitamin (Amaranggana dan Wathonni 2017). Kandungan serat dan bahan aktif polifenol yang terdapat pada rumput laut

memiliki peranan penting terhadap respons glikemik dan pengaturan berat badan yang dapat menurunkan indeks glikemik (Hall *et al.* 2012). Kandungan agar-agar yang tinggi sangat bermanfaat untuk berbagai keperluan sehingga masyarakat dunia dapat mengonsumsi produk-produk hasil alam (*back to nature*) (Hasan *et al.* 2015). Salah

satu rumput laut merah yang potensial adalah *Gracilaria* sp. *Gracilaria* sp. banyak digunakan sebagai sumber agar-agar komersial dan sebagai sumber polisakarida tersulfasi yang digunakan dalam industri farmasi dan bioteknologi (Coura *et al.* 2012).

Kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, awet muda atau pencegahan penyakit degeneratif akibat radikal bebas semakin meningkat, salah satunya dengan mengonsumsi makanan yang kaya akan antioksidan. La Barre *et al.* (2010) menyatakan alga menyintesis berbagai senyawa yaitu antioksidan seperti polifenol, karotenoid, xantofil, klorofil, fukoidan, vitamin, asam lemak jenuh dan tak jenuh ganda, asam amino, *acetogenins*, alkaloid, terpenoid, senyawa terhalogenasi dan polisakarida misalnya agar, karagenan, proteoglikan, alginat, laminaran, rhamnan sulfat, dan galaktosil gliserol. Sanger *et al.* (2010) melaporkan bahwa ekstrak aseton *G. salicornia* memiliki kadar fikoeritrin sebesar $1,08 \pm 0,08 \text{ } \mu\text{g/g}$ (berat kering) dan fukosantin yaitu $0,01 \pm 0,004 \text{ mg/g}$. Alga merah merupakan sumber bahan baku antioksidan, adapun komponen antioksidan antara lain antheraxanthin (karotenoid), fikoeritrin (pikobilin), galaktan dan sulfat galaktan (Pereira *et al.* 2012). Tumbuhan air mampu menyerap logam berat sehingga terjadi akumulasi yang mengakibatkan kadar logam-logam tersebut lebih tinggi dibandingkan lingkungannya (Sudir *et al.* 2017). Penelitian ini bertujuan menentukan karakteristik dari rumput laut *Gracilaria* sp. yang berasal dari perairan Banten-Indonesia, meliputi kandungan kimia, komponen aktif, kadar logam berat, dan aktivitas antioksidan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan yaitu rumput laut *Gracilaria* sp. dalam bentuk kering dan berasal dari daerah Kampung Berangbang, Desa Lontar, Kecamatan Tirtayasa Serang, Banten, Jawa Barat. Bahan kimia untuk analisis berupa etanol (Merck, Jerman), n-heksan (Merck, Jerman), etil asetat (Merck, Jerman), H_3BO_3 (Sigma-Aldrich, AS), H_2SO_4 (Merck, Jerman), HCl (Merck, Jerman), CHCl_3 (Sigma-Aldrich, AS), asam asetat (Merck, Jerman),

Mg (Merck, Jerman), FeCl_3 (Merck, Jerman). HNO_3 (Merck, Germany), $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (Sigma-Aldrich, AS), NaOH (Merck, Jerman), NaBH_4 (Merck, Jerman), HCl (Merck, Jerman), 1,1-Difenil-2-2pikrilhidrazil (Sigma-Aldrich). asam askorbat (Merck, Jerman).

Alat yang digunakan adalah *shaker* (DLAB SK-0330 pro, China), alat-alat gelas (Pyrex, Jepang), tanur (Vulcan, AS), labu destruksi (Pyrex, Jepang), mikro pipet (Socorex, Swiss), AAS (*Atomic Absorbtion Spectrofotometri*) (Shimadzu AA-7000, Jepang), UV-Vis RS *Spectrophotometer* (UV-2500, Jepang)

Metode Penelitian

Preparasi bahan baku

Rumput laut *Gracilaria* sp. yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari tambak pada umur panen sekitar 50-60 hari. Pemanenan dilakukan dengan cara rumpun tanaman diangkat kedalam perahu dan diangkut ke darat. *Gracilaria* sp. dibersihkan dari kotoran/lumpur kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai kering. Rumput laut yang kering kemudian dilakukan analisis proksimat.

Pembuatan Tepung *Gracilaria* sp.

Pembuatan tepung mengacu pada penelitian Purwaningsih *et al.* (2020) dan Fauzi (2017), yaitu pencucian *Gracilaria* sp. dari kotoran, perendaman selama satu malam, pencucian, dan penggilingan. Tepung *Gracilaria* sp. kemudian dilakukan analisis proksimat.

Ekstraksi *Gracilaria* sp.

Ekstrasi *Gracilaria* sp. mengacu pada Julyasih *et al.* (2009) menggunakan metode maserasi tunggal dengan beberapa pelarut yaitu etanol, etil asetat dan n-hexan dengan perbandingan *Gracilaria* sp. dan ekstrak 1:6 selama 48 jam. Hasil maserasi disaring dengan kertas Whatman no 42 dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C sampai terbentuk pasta. Ekstrak kemudian ditimbang dan dihitung rendemen dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Analisis proksimat

Analisis proksimat mengacu pada metode AOAC (2005) meliputi analisis kadar air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat dengan metode *by difference*. Uji kadar air dengan metode oven, kadar abu dengan metode tanur, uji kadar protein menggunakan metode kjeldahl, uji kadar lemak menggunakan metode soxhlet, dan uji karbohidrat secara *by difference*.

Analisis logam berat

Pengujian logam berat dilakukan pada tepung dari rumput laut *Gracilaria* sp. Pengujian logam berat kadmium (Cd) dan timbel (Pb) dalam sampel diukur dengan cara digesti kering (pengabuan) bedasarkan BSN (2011), sedangkan analisis logam berat merkuri (Hg) mengacu pada metode BSN (2006) serta arsen mengacu pada metode BSN (1998).

Analisis aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan dari tiga jenis ekstrak yaitu ekstrak etanol, n-heksan, dan etil asetat pada penelitian ini diukur menggunakan metode DPPH mengacu pada Molyneux (2004).

Analisis fitokimia

Analisis fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak *Gracilaria* sp. meliputi pemeriksaan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol hidroquinon, dan steroid/triterpenoid mengacu pada Harborne (1987).

a. Alkaloid

Sebanyak 50 g sampel dilarutkan dalam asam sulfat (H_2SO_4) 2 N sebanyak 2 tetes. Larutan sampel diletakkan pada plat tetes dan ditetesi pereaksi. Pengujian menggunakan tiga pereaksi alkaloid yaitu Dragendorff, Meyer, dan Wagner. Hasil uji positif apabila terbentuk endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff, endapan putih kekuningan dengan dengan pereaksi Meyer, dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b. Flavonoid

Sebanyak 50 mg sampel ditambah dengan 0,05 mg serbuk Mg dan dilarutkan menggunakan 0,2 mL amil alkohol (campuran

HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol 70%. Hasil uji positif apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

c. Fenol Hidrokuinon

Sebanyak 50 mg sampel dilarutkan dalam 0,25 mL etanol 70%. Larutan ditambahkan $FeCl_3$ 5% sebanyak 2 tetes. Hasil uji positif apabila terbentuk warna hijau atau hijau biru.

d. Saponin

Sampel sebanyak 50 g dalam tabung reaksi ditambahkan air panas 20 mL lalu dikocok. Hasil uji positif apabila busa yang terbentuk stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N.

e. Steroid/Terpenoid

Sebanyak 50 mg sampel ditambah dengan 2 mL kloroform kemudian ditetesi dengan anhidrida asam asetat sebanyak 5 tetes dan asam sulfat pekat (H_2SO_4) 2 N sebanyak 3 tetes. Hasil uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah kecokelatan untuk petama kali yang kemudian berubah menjadi biru dan hijau. Warna biru pada larutan menandakan adanya kandungan steroid sedangkan warna merah kecokelatan menandakan adanya kandungan triterpenoid.

f. Tanin

Sebanyak 50 mg sampel ditambah dengan 20 mL air panas lalu disaring dan ditetesi $FeCl_3$ 1% sebanyak 2 tetes. Hasil uji positif apabila larutan berwarna biru atau hijau kehitaman

Analisis total fenol

Kadar fenol pada ekstrak terpilih dari rumput laut *Gracilaria* sp. dilakukan dengan metode Wan-Ibrahim *et al.* (2010). Sebanyak 10 μ L larutan ekstrak konsentrasi 1 mg/mL (pelarut etanol) dimasukkan ke dalam *microplate* yang berisi 160 μ L akuades, lalu ditambah 10 μ L reagen Folin-Ciocalteu 10% dan 20 μ L larutan Na_2CO_3 10%. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Standar yang digunakan yaitu asam galat dengan berbagai konsentrasi (20, 40, 60, 80, 100 μ g/mL).

Analisis total flavonoid

Total flavonoid dari ekstrak terpilih dari rumput laut *Gracilaria* sp. dilakukan dengan mengacu pada Son *et al.* (2015). Sebanyak 10 μL larutan ekstrak konsentrasi 1 mg/mL (pelarut etanol) dimasukkan ke dalam *microplate* yang berisi 120 μL akuades, lalu ditambah 10 μL aluminium klorida 10%, 10 μL larutan asam asetat dan 60 μL etanol. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 415 nm. Standar yang digunakan yaitu kuarsit dengan berbagai konsentrasi (100, 150, 200, 250, 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Analisis Data

Penentuan ekstrak terbaik dilakukan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan dari rumput laut *Gracilaria* sp. Semua perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Analisis data menggunakan analisis ragam (ANOVA), bila hasil uji menunjukkan pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan pada taraf kepercayaan 95% (Mattijk dan Sumertajaya 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Proksimat

Hasil analisis proksimat dalam kondisi basah dan kering dalam bentuk tepung disajikan pada *Table 1*.

Kadar air tepung rumput laut akan menentukan daya awet, semakin tinggi kadar air maka daya awet dari tepung rumput laut semakin rendah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar air rumput laut

dalam kondisi basah sangat tinggi, setelah menjadi tepung kadar air dari rumput laut tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Munandar *et al.* (2019) dan sesuai dengan SNI 2690:2015 yaitu maksimal 12%.

Kadar protein rumput laut berbeda antara satu daerah dengan daerah lain, karena kadar protein dipengaruhi oleh habitatnya dan jenis rumput laut itu sendiri, serta umur dari rumput laut. Dari data terlihat bahwa kadar protein pada penelitian ini lebih tinggi dibanding kadar protein hasil penelitian Munandar *et al.* (2019). Meskipun dari perairan yang sama, kondisi perairan tempat tumbuhnya bibit rumput laut yang ditanam dapat mempengaruhi kandungan protein, misalnya unsur hara nitrat dan fosfat. Menurut Yudiaty *et al.* (2020) apabila *Gracilaria* sp. kekurangan kedua senyawa tersebut, akan menyebabkan penurunan kandungan protein pada sel-sel rumput laut dan diikuti dengan degradasi berbagai komponen sel yang berkaitan dengan sintesa protein.

Kadar abu tepung rumput laut penelitian ini lebih rendah dibanding dengan rumput laut penelitian Munandar *et al.* (2019), hal ini dikenakan rumput laut pada penelitian ini dicuci terlebih dulu sebelum digunakan. Kadar abu yang tinggi menunjukkan bahwa tingginya kandungan mineral dalam bahan.

Kadar Logam Berat

Terdapat empat jenis logam berat yang diuji sesuai yang disyaratkan dalam SNI 2690 : 2015 tentang rumput laut kering. Abernethy *et al.* (2010) menjelaskan bahwa cemaran logam berat terutama timbel (Pb), kadmium (Cd), merkuri (Hg), dan arsen

Table 1 Result of chemical content from *Gracilaria* sp. seaweed

Parameter	Value (%)		
	<i>Gracilaria</i> sp.	<i>Gracilaria</i> sp. flour	<i>Gracilaria</i> sp. flour**
Moisture	83.28+3.25*	10.72+0.85	11.83
Protein	9.36+0.50	12.78+1.28	8.77
Lipid	0.60+0.003	1.18+0.16	0.32
Ash	24.83+0.83	10.19+0.75	15.08
Carbohydrate (by difference)	11.05+0.24	65.13+1.42	64.00

Note: *)wet basis, dw (dry weight); **)Munandar *et al.* (2019)

Table 2 Heavy metal content from *Gracilaria* sp. seaweed

Heavy Metals	Value (ppm)		Standard** (ppm)
	Banten	Bekasi*	
Hg	0.011	-	0.5
Pb (<0.005)	0.001	0.515±0.040	0.3
Cd (<0.005)	0.010	0.121±0.003	0.1
As (<0.002)	0.000	-	1.0

Note: *)Afiah *et al.* (2019); **)INS 2690 : 2015 (dry seaweed)

(As) perlu diawasi karena efek bahaya yang ditimbulkan seperti gangguan ginjal, sifat neurotoksin yang mengganggu perkembangan otak dan gangguan sistem saraf, efek kardiovaskular, imunotoksitas dan karsinogenitas. Hasil penelitian (*Table 2*) menunjukkan bahwa kadar logam berat yang terdapat dalam bahan memenuhi standar BSN (2015).

Kadar logam berat dalam rumput laut sangat tergantung dari habitat di mana dia tumbuh atau lokasi sangat menentukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rumput laut *Gracilaria* sp. yang berasal dari Banten memenuhi standar SNI sedangkan rumput laut *Gracilaria* sp. dari Bekasi hasil penelitian Afiah *et al.* (2019), menunjukkan bahwa kadar logam berat Cd dan Pb melebihi standar yang ditentukan. Hasil penelitian kadar logam berat dari rumput laut oleh Purwaningsih *et al.* (2020) menunjukkan bahwa kadar logam berat *Gracilaria* sp. dari Kabupaten Bekasi masih memenuhi standar yang ditetapkan BSN (2015). Kandungan logam berat pada rumput laut yang dibudidayakan di muara perkotaan memang harus dipantau, terutama rumput laut yang dibudidayakan di lokasi sekitar industri dengan pengelolaan limbah yang buruk berdampak pada tingkat logam berat yang lebih tinggi.

Rendemen Ekstrak

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian adalah ekstraksi tunggal dengan metode maserasi menggunakan tiga jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar) dan dilakukan selama 48 jam. Penelitian (Hardiningtyas 2012) menjelaskan semakin lama waktu proses ekstraksi maka kesempatan bersentuhan antara bahan dan pelarut semakin besar sehingga komponen aktif dalam bahan dapat terlarut dengan baik. Rendemen hasil ekstraksi dengan jenis pelarut yang berbeda disajikan dalam *Table 3*.

Hasil ekstraksi memperlihatkan pelarut etanol memiliki rendemen paling banyak yaitu 2,13±0,66. Nilai rendemen yang tinggi menggunakan pelarut etanol diduga kemampuan pelarut etanol dalam melarutkan hampir semua komponen aktif. Zhang *et al.* (2007) menyatakan bahwa prinsip umum ekstraksi adalah "like dissolves like", hal ini menunjukkan bahwa suatu pelarut hanya mengekstrak senyawa kimia yang memiliki polaritas yang sama. Jumlah rendemen ekstrak bergantung pada kondisi alamiah senyawa, metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu ekstraksi, serta perbandingan sampel dengan pelarut (Harborne 1987)

Table 3 Yield of *Gracilaria* sp. extract

Solvent	% Yield	Phenol total (mg GAE/g)	Flavonoids (mg QE/g)
Ethanol	2.13±0.66	124±2.13	21.78±0.32
Ethyl acetate	1.22±0.42	28±1.42	25.23±0.46
n-hexan	1.07±0.83	64±1.63	9.78±0.22

Table 4 Active components from *Gracilaria* sp. seaweed

Bioactive Compound	Results		
	Ethanol extract	N-Hexane extract	Ethyl acetate extract
Alkaloid			
Mayer	+	+	-
Wagner	+	+	-
Dragendrof	+	+	-
Phenol hydroquinone	+	+	-
Tannins	-	-	-
Saponins	+	+	-
Flavonoids	+	+	+
Steroids	-	-	-
Triterpenoids	+	-	+

Kandungan Komponen Bioaktif

Pengujian terhadap komponen bioaktif dilakukan pada tiga jenis ekstrak rumput laut *Gracilaria* sp. yaitu etanol, n-heksan, dan etil asetat. Hasil uji terhadap komponen bioaktif dari ekstrak rumput laut *Gracilaria* sp. disajikan pada Table 4.

Hasil uji memperlihatkan ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria* sp. memiliki komponen bioaktif paling banyak yaitu alkaloid, fenol, saponin, flavonoid, triterpenoid. Etanol dapat melarutkan senyawa flavonoid maupun saponin yang mempunyai bagian yang bersifat polar maupun nonpolar dengan bagian yang hampir sama. Terpenoid memiliki bagian polar dan nonpolar, tetapi bagian nonpolar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan bagian polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar. Septiana dan Asnani (2012) menjelaskan bahwa senyawa seperti tanin cenderung polar sehingga ekstraksi dengan pelarut polar, seperti metanol dan etanol akan mengestrak tanin secara optimal.

Beberapa komponen bioaktif seperti fenol hidrokuinon, saponin, flavonoid, steroid dan tannin merupakan antioksidan. Menurut Mahardika dan Roanisca (2018) bahwa hidrogen radikal pada senyawa fenol hidrokuinon mudah didonorkan, sehingga senyawa ini merupakan antioksidan yang baik. Saponin terdeteksi pada ekstrak etanol karena senyawa glikosida tidak larut dalam

pelarut nonpolar. Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid, senyawa ini aktif pada permukaan dan bersifat seperti sabun. Xiong *et al.* (2010) menjelaskan bahwa saponin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan menyumbangkan hidrogen untuk menghentikan reaksi pada radikal. Flavonoid masuk dalam golongan senyawa fenolik dan berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan atom hidrogen atau mengelat logam, dalam bentuk bebas yang disebut aglikon atau bentuk glukosida. Redha (2010) menjelaskan bahwa flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Menurut Topcu *et al.* (2007) mekanisme antioksidan dari steroid adalah dengan cara menangkap/*scavenging* spesies reaktif, seperti superoksida, dan mengelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{2+}). Malangngi *et al.* (2012) melaporkan bahwa tanin memiliki peranan biologis kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkelat logam. Tanin dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis. Kandungan tanin yang tinggi maka semakin besar aktivitas antioksidannya karena tanin tersusun dari senyawa-senyawa polifenol yang memiliki aktivitas penangkap radikal bebas.

Kandungan Total Fenol

Hasil pengujian total fenol secara kualitatif ekstrak ketiga pelarut disajikan pada *Table 3*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total fenol dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, dan yang tertinggi yaitu ekstrak etanol sebesar $124 \pm 2,13$. Bangol *et al.* (2014) menyatakan bahwa sebagian besar senyawa fenolik bersifat polar. Matanjun *et al.* (2008) menyatakan bahwa rumput laut memiliki senyawa fenolik/total fenol yang berbeda-beda tergantung spesies rumput laut, jenis pelarut dan metode ekstraksi. Rajauria *et al.* (2016) menyatakan bahwa kandungan polifenol dari rumput laut bervariasi menurut jenis spesies, musim, umur panen, waktu panen, dan letak geografis. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Yanuarti (2017) menunjukkan bahwa total fenol dari rumput laut *E. cottonii* yang diekstrak dengan metanol lebih tinggi ($141 \pm 3,33$ mg GAE/g) dibandingkan etil asetat ($134,33 \pm 3,33$ mg GAE/g). Chakraboty *et al.* (2013) menjelaskan total fenol yang ditemukan pada ekstrak metanol *H. musciformid* dan *H. valentia* berturut-turut 6,90 mg GAE/g dan 9,80 mg GAE/g.

Kandungan Total Flavonoid

Hasil pengujian total flavonoid secara kualitatif ekstrak ketiga pelarut disajikan pada *Table 3*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total flavonoid dari ekstrak etil asetat dari rumput laut *Gracilaria* sp. mempunyai nilai tertinggi sebesar $25,23 \pm 0,46$ mg QE/g diikuti etanol. Hal ini dipengaruhi oleh sifat kelarutan dari senyawa flavonoid dari rumput laut. Menurut Pramudia (2008) flavonoid yang berikatan dengan gula cenderung larut dalam air

(polar), sedangkan aglikon yang kurang polar misalnya isoflavon, flavonon, flavon, dan flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semi polar. Flavonoid merupakan salah satu antioksidan alami yang memiliki fungsi menghambat oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) yang merupakan pemicu terjadinya penyempitan pada pembuluh darah. Zhu *et al.* (2000) mengemukakan bahwa senyawa flavonoid alami antara lain kaempferol, miricetin, morin, dan quercetin memiliki aktivitas perlindungan dengan menurunkan kandungan α -tokoferol dalam LDL. Yanuarti *et al.* 2017 menunjukkan bahwa total flavonoid rumput laut *E. cottonii* yang diekstrak dengan etil asetat lebih besar ($35,17 \pm 1,00$ mg QE/g) dibandingkan dengan metanol ($17,78 \pm 0,31$ mg QE/g). Meenakshi *et al.* (2009) melaporkan total flavonoid pada ekstrak metanol *S. wightii* sebanyak 2,02 mg QE/g.

Aktivitas Antioksidan

Hasil pengujian total fenol secara kualitatif ekstrak ketiga pelarut disajikan pada *Table 5*.

Kekuatan aktivitas antioksidan suatu ekstrak akan digolongkan berdasarkan batasan kemampuan dalam menangkap radikal bebas. Molyneux (2004) menggolongkan kekuatan aktivitas antioksidan sebagai berikut : suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat bila mempunyai nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat 50–100 $\mu\text{g/mL}$, sedang 101–150 $\mu\text{g/mL}$ dan lemah 150–200 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis pelarut memberikan pengaruh pada nilai IC_{50} /aktivitas antioksidan. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak mempunyai kekuatan aktivitas yang berbeda-

Table 5 Antioxidant activity of *Gracilaria* sp. seaweed

Extract	IC_{50} Value ($\mu\text{g/mL}$)	Information
Ascorbic acid	6.02 ± 0.02	Positive control
Ethanol	22.15 ± 1.63^a	Very strong
Ethyl acetate	72.77 ± 2.59^b	Strong
n-hexane	109.12 ± 2.41^c	Moderate

Note: very strong= IC_{50} value <50 $\mu\text{g/mL}$, strong = $50\text{--}100$ $\mu\text{g/mL}$, moderate = $101\text{--}150$ $\mu\text{g/mL}$, weak = $150\text{--}200$ $\mu\text{g/mL}$

beda, dan aktivitas terbaik adalah dari ekstrak etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang paling baik dan tergolong aktivitas sangat kuat terdapat pada ekstrak etanol *Gracilaria* sp. Hal ini sesuai dengan kandungan komponen bioaktifnya pada penjelasan sebelumnya, yaitu ekstrak etanol mengandung alkaloid, fenol, saponin, flavonoid, triterpenoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Selain itu total fenol dan total flavonoid pada ekstrak etanol juga tinggi yaitu sebesar $124 \pm 2,13$ mg GAE/g dan $21,78 \pm 0,32$ mg QE/g. Penggunaan asam askorbat atau vitamin C sebagai pembanding pada pengukuran aktivitas antioksidan karena asam askorbat merupakan antioksidan yang dikonsumsi masyarakat dan juga terdapat dalam bahan makanan. Penelitian lain yang dilakukan oleh Yanuarti *et al.* (2017) tentang aktivitas antioksidan rumput laut menunjukkan bahwa ekstrak metanol *T. conoides* mempunyai nilai IC₅₀ sebesar $15,14 \pm 9,76$ µg/mL dan ekstrak etil asetat dari *T. conoides* nilainya sebesar $193,76 \pm 3,30$ µg/mL, sedangkan ekstrak metanol dari rumput laut *E. cottonii* mempunyai nilai IC₅₀ sebesar $23,15 \pm 1,49$ µg/mL dan ekstrak etil asetat nilainya sebesar $594,68 \pm 1,14$ µg/mL. Suryaningrum *et al.* (2006) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari rumput laut *E. cottonii* sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 45,6 µg/mL, sedangkan menurut Nurjanah *et al.* (2015) sebesar 105,04 µg/mL, dan menurut Maharany *et al.* (2017) sebesar 106,021 µg/mL.

KESIMPULAN

Rumput laut *Gracilaria* sp. mengandung kadar proksimat dan kadar logam berat yang memenuhi standar SNI. Ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria* sp. mempunyai aktivitas antioksidan yang paling baik dan tergolong aktivitas sangat kuat (nilai IC₅₀ = $22,15 \pm 1,63$ µg/mL). Kandungan komponen bioaktif dari ekstrak etanol *Gracilaria* sp. adalah alkaloid, fenol, saponin, flavonoid, triterpenoid. Total flavonoid dari ekstrak etanol *Gracilaria* sp. sebesar $21,78 \pm 0,32$ mg QE/g, sedangkan total fenol sebesar $124 \pm 2,13$ mg GAE/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiah RN , Supartono W , Suwondo E. 2019. Potential of heavy metal contamination in cultivated red seaweed (*Gracilaria* sp. and *Eucheuma cottonii*) from coastal area of Java, Indonesia. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 365 (2019) 012024.
- Amaranggana L, Wathoni N. 2017. Manfaat alga merah (Rhodopyta) sebagai sumber obat dari bahan alam. *Majalah Farmasetika*. 2(1): 16-19.
- Bangol E, Momuat LI, Abidjulu J. 2014. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan n-heksan dari daun rumput santa maria (*Artemisia vulgaris* L.) pada minyak ikan. *Jurnal Ilmiah Sains*. 14(2): 129-135..
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2005. *Official Method of Analysis* (18 Edn). Arlington, Virginia, USA : Published by The Association of Official Analytical Chemist. Inc.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1998. *Cara uji cemaran arsen dalam makanan: SNI 01- 4866-1998*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2006. *Penentuan Kadar Logam Berat Merkuri (Hg) pada Produk Perikanan: SNI 01-2354.6-2006*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2011. *Cara uji kimia Bagian 5: Penentuan kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada produk perikanan: SNI 2354.5-2011*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2015. *Rumput laut kering: SNI 2690:2015*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Chakraborty K dan Joseph D. 2016. Antioxidant potential and phenolic compounds of brown seaweeds *Turbinaria conoides* and *Turbinaria ornata* (class: phaeophyceae). *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 25(8):1249–1265
- Coura CO, de Araújo IWF, Vanderlei ESO, Rodrigues JAG, Quinderé ALG, Fontes BP. *et al.* (2012). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of sulphated polysaccharides from the red seaweed

- Gracilaria cornea. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology.* 110(4): 335–341.
- Fauzi, A. 2017. Karakteristik Beras Tiruan Dengan Penambahan Rumput Laut dan Agar-agar [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Hall AC, Fairclough AC, Mahadevan K, Paxman JR. 2012. *Ascophyllum nodosum* enriched bread reduces subsequent energy intake with no effect on postprandial glucose and cholesterol in healthy, overweight males. *Journal Appetite.* 58: 379-386.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia.* Bandung : Penerbit ITB.
- Hardiningtyas SD, Purwaningsih P, Handharyani E. 2014. Aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif daun bakau api-api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 17(1): 80-91.
- Hasan MR, Rejeki S, Wisnu R. 2015. Pengaruh bobot awal yang berbeda terhadap pertumbuhan *Gracilaria* sp. yang dibudidayakan dengan metode longline di perairan tambak terabiasi Desa Kaliwlingi Kabupaten Brebes. *Journal of Aquaculture Management and Technology.* 4(2): 92-99.
- Julyasih KSM, Wirawan IGP, Harijani WS, Widajati W. 2009. Aktivitas antioksidan beberapa jenis rumput laut (seaweeds) komersial di Bali. Seminar Nasional Akselerasi Pengembangan Teknologi Pertanian dalam Mendukung Revitalisasi Pertanian; 2009 Des 2; Surabaya, Indonesia, Surabaya (ID): Universitas Pembangunan Nasional Veteran. hlm 1-8.
- La Barre S, Potin P, Leblanc C, Delage L. 2010. The halogenated metabolism of brown algae (Phaeophyta), its biological importance and its environmental significance. *Marine Drugs.* 8: 988–1010.
- Maharany F, Nurjanah, Suwandi R, Anwar E, Hidayat T. 2017. Kandungan senyawa bioaktif rumput laut *Padina australis* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim tabir surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 20(1): 11-18.
- Mahardika RG, Roanisca O. 2018. Aktivitas antioksidan dan fitokimia dari ekstrak etil asetat pucuk idat (*Cratoxylum glaucum*). *Indonesian Journal of Chemical Research.* 5(2): 69-74.
- Malangngi LP, Meiske SS, Jessy JEP. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT.* 1(1): 5-10.
- Matanjun P, Mohamed S, Mustapha NM, Muhammad K, Ming CH. 2008 Antioxidant activities and phenolic content of eight species of seaweed from North Borneo. *Journal Applied Phycology.* 20: 367–373.
- Mattjik AA, Sumertajaya M. 2013. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab.* Bogor (ID): IPB Press.
- Meenakshi SDM, Gnanambigai ST, Mozhi M, Arumugam T, Balasubramanian. 2009. Total flavonoid and in vitro antioxidant activity of two seaweed of rameshwaram coast. *Global Journal of Pharmacology.* 3(2): 59–62.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radikal diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology.* 26(2): 211-219.
- Munandar A, Surilayani D, Haryati S, Sumantri MH, Aditia RP, Pratama G. 2019. Characterization flour of two seaweeds (*Gracilaria* spp. and *Kappaphycus alvarezii*) for reducing consumption of wheat flour in Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* 383 (2019) 012009.
- Nurjanah, Nurilmala N, Anwar E, Luthfiyana N, Hidayat T. 2017. Identification of bioactive compounds of seaweed *Sargassum* sp. and *Eucheuma cottonii* Doty as a raw sunscreen cream. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences.* 54(4): 311-318.
- Pereira DC, Trigueiro TG, Colepicolo P, Marinho-soriano E. 2012. Seasonal changes in the pigment composition of natural population of *Gracilaria dumigenensis* (Graciariaes. Rhodophyta). *Brazilians Journal of Pharmacognosy.* 22:874-880.

- Purwaningsih S, Santoso J, Handharyani E, Setiawati NP, Deskawati E. 2020. Artificial rice from *Gracilaria* sp. as functional food to prevent diabetes. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 414 (2020) 012017.
- Rajauria G, Foley B, Abu-Ghannam N. 2016. Identification and characterization ophenolic antioxidant compounds from brown irish seaweed *Himanthalia elongata* using LC-DAD-ESI-MS/MS. *Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 37:261–268.
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, sifat antioksidan dan peranannya dalam system biologis. *Jurnal Berlian*. 9 (2): 196-202.
- Sanger G. 2010. Kandungan fosfor minuman sari rumput laut (*Eucheuma cottonii*). *Pacific Journal*. 1(5): 792–795.
- Septiana AT, Asnani A. 2012. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi, *Agrointek*. 6 (1): 22-28.
- Son YR, Choi EH, Kim GT, Park TS, Shim SM. 2015. Bioefficacy of graviola leaf extracts in scavenging free radicals and upregulating antioxidant genes. *Journal Food and Fungtion Royal Society of Chemistry*. 7(2): 61–71.
- Sudir S, Tumaruk Y, Taebi B, Naid T. 2017. Analisis kandungan logam berat As, Cd dan Pb pada *Eucheuma cottonii* dari Perairan Takalar serta analisis maximum tolerable intake pada manusia. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*. 21(3): 63-66.
- Suryaningrum TD, Wikanta T, Kristiana H. 2006. Uji aktivitas senyawa antioksidan dari rumput laut *Halymenia harveyana* dan *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(1): 51-63.
- Topcu G, Ertas A, Kolak U, Ozturk M, Ulubelen A. (2007). Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *Archive for Organic Chemistry*. 7: 195-208.
- Wan-Ibrahim WI, Sidik K, Kuppusamy UR. 2010. A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. *Food Chemistry*. 122: 1139–1144.
- Xiong Y, Yuan C, Chen R, Dawson TM, Dawson VL. 2010. Preparation and biological activity saponin *Ophiogon japonicas*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 6 (2): 1964-1970.
- Yanuarti R. 2017. Karakteristik bubur rumput laut *Turbinaria conoides* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim tabir surya [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yudiati E, Ridho A, Nugroho AA, Sedjati S, Maslukah L. 2020. Analisis kandungan agar, pigmen dan proksimat rumput laut *Gracilaria* sp. pada reservoir dan biofilter tambak udang *Litopenaeus vannamei*. *Buletin Oseanografi Marina*. 9(2): 133-140.
- Zhang ZS, Li D, Wang LJ, Ozkan N, Chen XD, Mao ZH, Yang HZ. 2007. Optimisation of ethanol-water extraction of lignans from flaxseed. *Journal of Separation and Purification Technology*. 57: 17-24
- Zhu, Yan Q, Huang Y, Chen ZY. 2000. Insteractions between falvonoids and α -tocopherol in human low density lipoprotein. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 11 (1): 14-21.