

Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH dan Daya Reduksi Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

DPPH Free Radical Catching Activities and Reduction Power of Gracilaria verrucosa Extract

Anggi Setiabudi¹, Delianis Pringgenies^{2*}, Ali Ridlo³

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH. Kampus UNDIP Tembalang, Semarang 50275

*email:delianispringgenies@lecturer.undip.ac.id

ABSTRAK

DOI;
10.30595/jrst.v4i2.5761

Histori Artikel:

Diajukan:
24/10/2019

Direvisi:
01/16/2020

Diterima:
07/09/2020

Gracilaria verrucosa adalah salah satu jenis rumput laut merah yang memiliki kandungan bioaktif untuk antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung di dalam *Gracilaria verrucosa* dengan menggunakan dua metode berbeda, yaitu penangkapan radikal bebas DPPH dan daya reduksi dengan menggunakan tiga pelarut berbeda (n – heksan, etil asetat dan metanol), mengetahui nilai total fenolat dan pigmen (klorofil a, klorofil b dan karotenoid). Penentuan total fenolat menggunakan asam galat sebagai standar dengan Folin – Ciocalteu sebagai pelarutnya. Penentuan pigmen klorofil a, klorofil b dan karotenoid dilakukan dengan spektrofotometri UV – VIS dengan Panjang gelombang 646 nm, 663 nm dan 470 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Gracilaria verrucosa* memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dengan nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat 1.274 ppm, ekstrak n – heksan 1.304 ppm dan ekstrak metanol 1.381 ppm sedangkan aktivitas antioksidan dengan daya reduksi menunjukkan nilai antioksidan ekstrak etil asetat 15,13 mgAAE/gr sampel; ekstrak n – heksan 8,50 mgAAE/gr sampel dan ekstrak metanol 5,85 mgAAE/gr sampel.

Kata Kunci: *Gracilaria verrucosa*, antioksidan, DPPH, Daya reduksi

ABSTRACT

Gracilaria verrucosa is one of the red seaweed that is potentially used as a natural antioxidant. This study aims to determine the antioxidant activity contained in *Gracilaria verrucosa* used two different methods, are DPPH free radical scavenging and reduction power with three different solvents based on polarity (n – hexane, aetyl acetat and methanol), to determine total phenolic and pigments (chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid). Determination of total phenolics used gallic acid as a standard with Folin – Ciocalteu as solvent. Determination pigment of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid did with spektrofotometri UV – VIS with wavelength 646 nm, 663 nm and 470 nm. The result showed that antioxidant activity of *Gracilaria verrucosa* aetyl acetat extract have very weak with IC₅₀ 1,274 ppm, n – hexane extract 1,304 ppm and methanol extract 1,381 ppm while antioxidant activity with reduction power showed antioxidant value of aetyl acetat extract 15,13 mgAAE/gr sample, n – hexane extract 8.50 mgAAE/gr sample and methanol extract 5.85 mgAAE/gr sample.

Keywords: *Gracilaria verrucosa*, antioxidant, DPPH, Reduction power

1. PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif merupakan penyakit berbahaya yang diakibatkan karena adanya kerusakan sel akibat adanya reaktivitas dari senyawa radikal bebas, penyakit ini tidak langsung muncul akan tetapi melalui proses bertahun – tahun, penyakit ini menjadi kematian terbesar di Indonesia, contoh dari penyakit degeneratif yaitu kanker, stroke, diabetes melitus dan penuaan dini (Indrawati *et al.*, 2009; Meydani, 2000; Wijaya, 1996). Radikal bebas adalah reaksi kimia yang tidak memiliki elektron berpasangan pada bagian terluarnya, karena tidak memiliki elektron yang berpasangan radikal bebas ini bersifat sangat reaktif dan mencari pasangan elektron dari senyawa lain, akibatnya akan terbentuk rantai radikal baru yang terus memanjang dan merusak struktur senyawa tertentu, radikal hidroksil, radikal peroksil dan anion superoksida merupakan contoh dari senyawa radikal bebas (Gordon MH *et al.*, 2001). Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat memutus reaksi rantai radikal bebas, yang kemudian dapat mencegah terjadinya proses biologis dalam tubuh yang dapat membahayakan dan merugikan. Senyawa antioksidan memiliki peran yang penting sebagai faktor pelindung, karena senyawa tersebut dapat menunda atau menghalangi oksidasi lipid dengan cara menghambat terjadinya reaksi berantai oksidasi (Picoella *et al.*, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan terbagi menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi secara alami dalam tubuh seperti Superoksida Dismutase (SOD), Katalase (CAT) dan Glutasion Peroksidase (GPx) (Agregan *et al.*, 2017; McCord dan Fridovitch, 1969). Antioksidan eksogen terbagi lagi menjadi dua bagian yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan, antioksidan alami didapat dari tumbuh – tumbuhan dan sayuran seperti karotenoid, vitamin A, vitamin C dan β – karoten, sedangkan antioksidan sintetis atau buatan yaitu antioksidan yang diperjualbelikan secara luas dan biasanya menjadi campuran pada makanan dan minyak, contohnya yaitu Butil Hidroksil Toluen (BHT), Butil Hidroksil Anisol (BHA) dan Tert – Butil Hidroksil Quinon (TBHQ), antioksidan sintetis memiliki sifat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker) jika digunakan melebihi batas aman penggunaan yaitu 0,02% dari kandungan lemak atau minyak), oleh karena itu penggunaan antioksidan alami sangat

diperlukan (Atta *et al.*, 2017). Salah satu organisme laut yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami yaitu *Gracilaria verrucosa*.

Gracilaria verrucosa merupakan salah satu rumput laut merah (Rhodophyta) yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Widowati *et al.*, 2014; Almeida *et al.*, 2011). *Gracilaria verrucosa* memiliki kandungan seperti pikoloid, agar, karagenan, klorofil, fikobilin yang terdiri dari fikosianin dan fikoeritrin, protein, lemak, kalium, besi, iodium, belerang, fosfor, kalsium dan brom (Fleurence and Ira, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mencari tahu nilai aktivitas antioksidan ekstrak *Gracilaria verrucosa*, dengan menggunakan dua metode yang berbeda yaitu metode penangkapan radikal bebas DPPH dan metode daya reduksi dan mencari nilai total fenolat serta pigmen dari ekstrak *G. verrucosa*.

2. MATERI DAN METODE

Materi dalam penelitian ini yaitu rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang didapatkan dari tambak Balai Besar Perikanan dan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator* untuk mendapatkan hasil ekstraksi dan Spektrofotometri UV – VIS- Shimadzu untuk mendapatkan data penangkapan radikal bebas DPPH. Metode deskriptif eksploratif digunakan dalam penelitian ini, beberapa tahapan metode dalam penelitian ini yaitu.

2.1 Ekstraksi sampel

Preparasi sampel; ekstraksi; uji penangkapan radikal bebas DPPH; Uji kandungan total fenolat; uji kandungan pigmen klorofil a, klorofil b dan karotenoid dan uji daya reduksi. *Gracilaria verrucosa* diambil dari tambak BBPBAP, lalu dicuci dan dikeringkan pada suhu ruang (27°C), selanjutnya dipotong kecil kecil dan dimasukkan ke dalam toples kaca untuk dimaserasi.

Sampel rumput laut *G. verrucosa* dimaserasi dengan tiga pelarut berbeda, yaitu: pelarut n – heksan, etil asetat dan metanol. Sampel *G. verrucosa* kering dalam toples kaca direndam dengan satu liter pelarut n – heksan, kemudian residu direndam dengan etil asetat dan metanol, masing – masing perendaman dilakukan selama 1 x 24 jam. Maserat lalu diuapkan dengan rotary evaporator dan dipekatkan dengan gas nitrogen. Nilai rendemen dihitung dengan rumus sebagai berikut (Mulangsri *et al.*, 2017):

Rendemen = (Berat ekstrak)/(Berat sampel) x 100%

2.2 Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH (1,1 - dyphenil - 2 - picrylhydrazyl).

Pengujian penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan dengan mengacu kepada Amri (2018); Miliuskas *et al.*, (2004); Leong dan Shui (2002). Ekstrak *Gracilaria verrucosa* dibuat dengan konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm. Masing – masing diambil 1 ml, dan ditambahkan dengan 3 ml 0,1 mM larutan DPPH. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap dan absorbansi diukur dengan spektrofotometri UV – VIS Panjang gelombang 517 nm. Persentase penangkapan radikal bebas DPPH dihitung dengan rumus berikut (Bajpai *et al.*, 2017; Gouda *et al.*, 2013):

Inhibisi (%) = ((A-B))/A x 100

Keterangan :

A = Absorbansi larutan DPPH

B = Absorbansi larutan DPPH ditambah ekstrak

2.3 Uji Kandungan Total Fenolat

Dilakukan dengan menimbang 5 mg ekstrak yang dilarutkan dalam 2 ml etanol p.a lalu ditambahkan 5 ml akuades dan 0,5 ml reagen Folin – Ciocalteu 50%. Campuran diinkubasi selama 5 menit dan ditambahkan Na₂CO₃ 5% sebanyak 1 ml, absorbansi diukur pada Panjang gelombang 725 nm dan asam galat dibuat dengan seri konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 mg/l, kurva sama galat dibuat untuk mengetahui nilai senyawa fenolat dengan persamaan regresi. Total fenolat dihitung dengan rumus berikut :

Total Fenolat = ((a x V)/1000)/G

Keterangan :

a = Konsentrasi asam galat dalam sampel uji (mg/l)

V = volume total larutan uji (mL)

G = Berat ekstrak yang digunakan (gr)

1000 = faktor konversi terhadap volume total larutan (mL)

2.4 Uji Pigmen

Uji pigmen seperti klorofil a, klorofil b dan karotenoid dilakukan dengan menggunakan metode yang mengacu kepada Lichtenthaler (1987), ekstrak ditimbang 5 mg dan ditambahkan

5 ml aseton p.a. absorbansi dihitung dengan rumus berikut :

Klorofil a = 12,21 x A₆₆₃ – 2,81 x A₆₄₆

Klorofil b = 20,13 x A₆₆₃ – 5,03 x A₆₆₃

Karotenoid = ((A₄₇₀+0,114 x A₆₆₃-0,638 x A₆₄₆) x V x 1000))/((112,5 x 0,1 x 10)

2.5 Uji Daya Reduksi

Pengujian daya reduksi dilakukan dengan pembuatan larutan buffer fosfat, yang dibuat dengan cara menimbang 2 gr NaOH dilarutkan dalam akuades bebas CO₂ hingga 250 ml. KH₂PO₄ ditimbang sebanyak 6,8 gr dilarutkan dalam akuades bebas CO₂ hingga 250 ml. NaOH sebanyak 16,4 ml dicampurkan dengan 50 ml KH₂PO₄ dan diukur hingga pH menunjukkan nilai 6,6 dan dicukupkan dengan akuades bebas CO₂ sampai 200 ml (Maryam *et al.*, 2016). Larutan blanko daya reduksi dibuat dengan cara 1 ml asam oksalat 1% ditambahkan dengan 1 ml larutan buffer fosfat (0,2 M pH 6,6) dan ditambahkan 1 ml K₃Fe(CN)₆ 1%. Campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu 500C, ditambah TCA 10% sebanyak 1 ml, disentrifuge pada 3.000 rpm selama 10 menit. Larutan diambil 1 ml dan ditambah dengan 1 ml akuades dan 0,5 ml FeCl₃ 1%. Absorbansi diukur pada Panjang gelombang 692 nm (Tahir *et al.*, 2016).

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 1% asam oksalat dengan 25 mg asam askorbat diencerkan hingga 25 ml, masing – masing diambil 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 dan 0,8 ml dan diencerkan dengan asam oksalat 1% hingga 10 ml. diambil larutan tersebut 1 ml dan dicampur dengan 1 ml larutan buffer fosfat (0,2 M pH 6,6) dan 1 ml K₃Fe(CN)₆ 1% campuran diinkubasi selama 20 menit suhu 500C. campuran ditambah 1 ml TCA diaduk selama 10 menit dan disentrifuge selama 10 menit kecepatan 3.000 rpm. Diambil 1 ml dan ditambahkan 0,5 ml FeCl₃ 0,1% dan 1 ml akuades, absorbansi diukur pada Panjang gelombang 692 nm (Tahir *et al.*, 2016; Oyaizu, 1986).

Pengenceran ekstrak dilakukan dengan mengambil 5 mg masing – masing ekstrak dilarutkan dengan 5 ml etanol p.a, diambil 1 ml dan ditambahkan larutan buffer fosfat (0,2 M pH 6,6) 1 ml dan 1 ml K₃Fe(CN)₆ 1%, campuran diinkubasi selama 20 menit suhu 500C. ditambah 1 ml TCA dan disentrifuge kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit, lapisan atas diambil 1 ml dan ditambahkan dengan 1 ml akuades dan 0,5 ml

FeCl₃ 0,1%, campuran diukur absorbansinya pada 692 nm (Tahir *et al.*, 2016).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Rendaman hasil ekstraksi

Ekstraksi dilakukan menggunakan tiga pelarut yang berbeda berdasarkan polaritasnya. Ekstraksi dengan metanol menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 1,90% lalu etil asetat 0,17% dan n – heksan 0,08%. Tujuan dari ekstraksi untuk memperoleh senyawa bioaktif dalam sampel (Harborne, 1987). Nilai metanol yang tinggi menunjukkan bahwa ekstrak *G. verrucosa* memiliki senyawa polar lebih banyak dibandingkan dengan senyawa non – polar (Gritter *et al.*, 1991).

3.2 Kandungan fenolat

Kandungan total fenolat tertinggi ada pada ekstrak etil asetat dengan 52,105 mgGAE/gr sampel, kemudian ekstrak n – heksan 43,265 mgGAE/gr sampel dan ekstrak metanol 20,130 mgGAE/gr sampel.

3.3 Kandungan Pigmen

Kandungan klorofil a tertinggi ada pada ekstrak etil asetat dengan 3,577 mg/gr sampel, ekstrak metanol 0,536 mg/gr sampel dan n – heksan 0,521 mg/gr sampel. Etil asetat memiliki nilai tertinggi pada pengujian klorofil dengan 4,681 mg/gr sampel, lalu ekstrak metanol 0,739 mg/gr sampel dan ekstrak n – heksan 0,679 mg/gr sampel. Karotenoid tertinggi pada ekstrak n – heksan 15,897 mg/gr sampel, etil asetat 11,688 mg/gr sampel dan metanol 1,244 mg/gr sampel.

Hasil total fenolat menunjukkan bahwa etil asetat memiliki kandungan total fenolat, klorofil a dan klorofil b tertinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya, yaitu total fenolat 52,105 mgGAE/gr sampel, klorofil a 3,577 mg/gr sampel dan klorofil b 4,681 mg/gr sampel. Klorofil a memiliki sifat kurang polar (Mlodzinska, 2009). Karotenoid tertinggi ada pada ekstrak n – heksan yaitu 15,897 mg/gr sampel, dimana hal ini diduga kandungan karotenoid dalam sampel termasuk golongan yang non – polar seperti α karoten dan β karoten. Senyawa karoten memiliki kandungan

hidrokarbon tak jenuh, yang mengakibatkan dapat melarutkan senyawa karoten yang polar (Pramesti *et al.*, 2017). Kondisi lingkungan, jenis spesies, lokasi tumbuh, umur, musim dan kondisi geografis adalah hal – hal yang dapat mempengaruhi variasi kandungan pigmen yang terkandung dalam suatu sampel (Fleurence and Ira, 2016).

Tingginya nilai total fenolat dalam pelarut etil asetat menunjukkan bahwa senyawa fenolat yang terkandung didalam *G. verrucosa* bersifat semipolar. Senyawa fenolat terbanyak tidak sepenuhnya berada dalam ekstrak poar (Harborne, 1987) akan tetapi tergantung pada senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel (Sheikh *et al.*, 2009).

Ekstrak etil asetat dapat menghasilkan kandungan fenolat paling tinggi, dimana etil asetat lebih efektif melarutkan senyawa fenolat daripada senyawa metanol dan n – heksan, etil asetat merupakan salah satu pelarut yang sering digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolat (Adawiyah *et al.*, 2001). Senyawa fenolat yang terkandung dalam algae dapat menangkap senyawa oksigen reaktif (ROS), menetralkan radikal bebas dan modulator enzim untuk mencegah terjadinya oksidasi lemak, akibatnya senyawa fenolat memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Pise *et al.*, 2010). Senyawa fenolat juga dapat meredam proses radikal bebas dengan cara mentransfer atom hidrogen radikal peroksil lemak (Heo *et al.*, 2006).

3.4 Uji antioksidan dengan DPPH

Pengujian antioksidan dengan penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan dengan cara menghitung nilai absorbansi DPPH yang dikurangi dengan nilai absorbansi DPPH ditambah ekstrak. Parameter untuk mengetahui nilai antioksidan adalah IC₅₀. Semakin tinggi nilai IC₅₀ artinya kekuatan antioksidan yang dimilikiny semakin lemah dan sebaliknya (Raudonis *et al.*, 2012). Nilai IC₅₀ yang didapatkan dalam pengujian ekstrak n – heksan adalah 1.304 ppm, ekstrak etil asetat 1.274 ppm dan ekstrak metanol 1.381 ppm. Kontrol positif yang digunakan adalah asam askorbat dengan nilai 59,235 ppm. Asam askorbat digunakan sebagai perbandingan nilai kekuatan antioksidan.

Tabel 1. Hasil Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

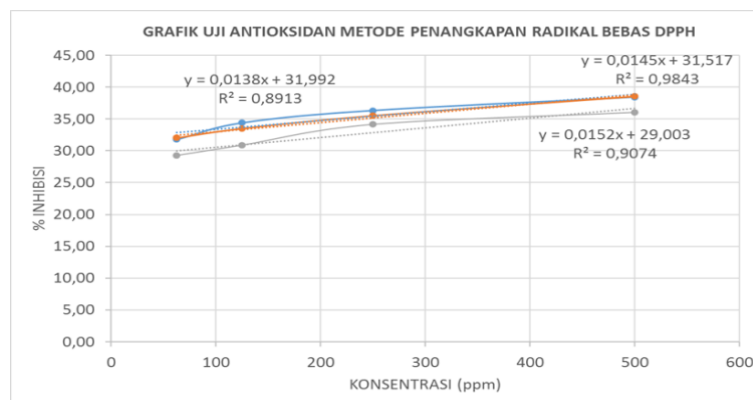
Pelarut	Bentuk	Warna	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen Ekstrak (%)
n - Heksan	Cair	Merah Kekuningan	0,19	0,08
Etil Asetat	Pasta	Hijau kehitaman	0,35	0,17
Metanol	Padat	Hijau	3,8	1,90

Tabel 2. Nilai Total Fenolat dan Pigmen *Gracilaria verrucosa*

Pelarut	Total Fenolat (mg GAE/gr)	Klorofil a (mg/g sampel)	Klorofil b (mg/gr sampel)	Karotenoid (mg/gr sampel)
n- heksan	43,265	0,521	0,679	15,897
Etil asetat	52,105	3,577	4,681	11,688
Metanol	20,213	0,536	0,739	1,244

Tabel 3. Nilai penangkapan radikal bebas DPPH

Ekstrak	Konsentrasi	Abs. DPPH	Abs DPPH + Ekstrak	% Inhibisi	IC ₅₀
n - heksan	62,5	0,996	0,6795	31,78	1.304
	125		0,6535	34,39	
	250		0,6343	36,32	
	500		0,6134	38,41	
Etil asetat	62,5	0,996	0,6769	32,04	1.274
	125		0,6622	33,51	
	250		0,6421	35,53	
	500		0,6119	38,56	
Metanol	62,5	0,996	0,7049	29,23	1.381
	125		0,6886	30,86	
	250		0,6558	34,16	
	500		0,6369	36,05	



Gambar 1. Grafik Uji Antioksidan Metode Penangkapan Radikal Bebas DPPH

Tabel 4. Nilai daya reduksi ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Ekstrak	Absorbansi 692 nm	Aktivitas Antioksidan (mg AAE/gr sampel)
n – heksan	0,4379	8,50
Etil asetat	0,7827	15,13
Metanol	0,3002	5,85

Hasil pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa nilai antioksidan yang dihasilkan sangat lemah dimana untuk ketiga ekstrak memiliki nilai IC₅₀ > 200 ppm (Mardawati *et al.*, 2008). Aktivitas antioksidan dalam suatu sampel diduga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti zat pengotor, parameter lingkungan pengambilan sampel dan jenis sampel itu sendiri (Leksono *et al.*, 2018; Sedjati *et al.*, 2018; Widowati *et al.*, 2014). Perbedaan sampel seperti sampel kering atau basah juga ikut mempengaruhi nilai antioksidan yang terkandung didalamnya (Muzaki *et al.*, 2017). Antioksidan ini sangat sensitive terhadap perubahan lingkungan di sekitarnya, dimana sifatnya yang mudah rusak apabila terpapar oksigen, cahaya, suhu tinggi dan pengeringan, penggunaan pelarut yang sama dapat memberikan hasil yang sangat berbeda, meskipun partikel dan stabilitas substrat sampel yang diekstraksi hampir sama (Jan *et al.*, 2001).

3.5. Uji Daya Reduksi

Kekuatan daya reduksi menunjukkan bahwa senyawa antioksidan merupakan donor elektron dan dapat mengurangi terjadinya proses peroksidasi lipid dan dengan cara tersebut antioksidan dapat bertindak sebagai antioksidan primer dan sekunder (Farvin *et al.*, 2013). Nilai pengujian daya reduksi berbanding lurus antara nilai absorbansi masing – masing pelarut sampel, dengan nilai aktivitas antioksidannya, dimana semakin besar nilai absorbansi suatu sampel, maka nilai aktivitas antioksidannya semakin naik. Hal itu disebabkan karena kandungan antioksidan yang terkandung didalamnya mampu mendonorkan elektron yang berguna untuk menutupi radikal bebas (Ganessan *et al.*, 2007).

Hasil pengujian ini telah membuktikan penelitian yang dilakukan oleh Dutta dan Sanjib (2018), Shahwar *et al.*, (2012) dan Faten *et al.*, (2009) bahwa nilai total fenolat berbanding lurus dengan nilai daya reduksi, artinya semakin tinggi nilai total fenolat yang terkandung dalam suatu

ekstrak, maka memiliki kemampuan daya reduksi yang tinggi.

Tingginya nilai daya reduksi dicirikan dengan absorbansi yang semakin tinggi. Kehadiran reduktan seperti antioksidan menyebabkan terjadinya reduksi Fe³⁺ kompleks menjadi bentuk ferrous (Chew *et al.*, 2008; Griffin and Ranjeet, 2004), karena itu melalui pengukuran pembentukan Pearls Prussian Blue pada 700 nm jumlah Fe²⁺ dapat diketahui (Shahwar *et al.*, 2012; Chew *et al.*, 2008). Kemampuan mereduksi ekstrak kimia atau senyawa umumnya tergantung pada peran reduktan tersebut sebagai antioksidan, proses tersebut melalui pemecahan rantai radikal bebas dengan adanya donasi atom hidrogen (Akoh and Min, 2008).

Standar yang digunakan adalah asam askorbat, dalam hal ini asam askorbat berperan sebagai pembanding yang berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Asam askorbat termasuk kedalam golongan antioksidan sekunder yang mampu menangkal berbagai macam radikal eksogen, hal tersebut disebabkan karena asam askorbat memiliki gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas, akan meningkatkan aktivitas antioksidan jika memiliki gugus polihidroksi (Kim, 2005).

Penambahan asam trikloroasetat pada pengujian daya reduksi ini bertujuan agar kompleks kalium ferrosianida dapat mengendap dan penambahan kalium ferrisianida bertujuan untuk membentuk kompleks berwarna hijau hingga biru (Pratama *et al.*, 2016). Pengujian antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH dan daya reduksi ini membuktikan penelitian yang telah dilakukan oleh Dutta *et al.*, (2018) dan Bajpai *et al.*, (2017) dimana nilai penangkapan radikal bebas DPPH dan daya reduksi memiliki nilai yang berbanding lurus.

4. KESIMPULAN

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak *Gracilaria verrucosa* memiliki nilai antioksidan yang sangat lemah dengan IC₅₀ > 1.000 ppm. Daya reduksi ekstrak *Gracilaria verrucosa* tertinggi ada pada ekstrak etil asetat dengan nilai 15,13 mgAAE/gr sampel, kemudian n – heksan 8,50 mgAAE/gr sampel dan metanol 5,85 mgAAE/gr sampel

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, D.R. 1998. Kajian Pengembangan Metode Ekstraksi Komponen Antimikroba Biji Buah Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk.). Tesis Program Studi Ilmu Pangan. Program Pascasarjana IPB: Bogor.
- Agregan, R., P.E. Munekata, R. Dominguez, J. Carballo, D. Franco, and J.M. Lorenzo. 2017. Proximate composition, phenolic content and in vitro antioxidant activity of aqueous extracts of the seaweeds *Ascophyllum nodosum*, *Bifurcaria bifurcata* and *Fucus vesiculosus*. Effect of addition of the extracts on the oxidative stability of canola oil under accelerated storage conditions. *J. Food Research International.*, 99 : 986 – 994.
- Akoh, C.C. and D.B. Min. 2002. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology* 2nd Edition. Marcel Dekker Inc, New York, 1.014 p.
- Almeida, C.L., H. de-S. Falcao, G.R.de-M. Lima, C. de-A. Montenegro, N.S. Lira, P.F.Athayde-Filho, L.C. Rodrigues, M.F.V de Souza, J.M. Barbosa-Filho and L.M. Batista. Bioactivities from Marine Algae of the Genus *Gracilaria*. *International Journal of Molecular Sciences.*, 12; 4550 – 4573.
- Amri, F.S.A. and M.A. Hossain. 2018. Comparison of Total Phenols, Flavonoids and Antioxidant Potential of Local and Imported Ripe Bananas. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.*, 2314 – 808X
- Bajpai, V.K., K.H. Baek, and S.C. Kang. 2017. Antioxidant and Free Radical Scavenging of Taxoquinone a Diterpenoid Isolated From *Metasequoia glyptostroboides*. *South African Journal of Botany.*, 111: 93 – 98 pp.
- Chew, Y.L., Y.Y. Lim, M. Omar, and K.S. Khoo. 2008. Antioxidant activity of Three Edible Seaweeds From Two Areas in South East Asia. *J. Food Science and Technology.*, 41 (6): 1067 – 1072 pp.
- Dutta, S. and S. Ray. 2018. Comparative Assessment of Total Phenolic Content and In Vitro Antioxidant Activities of Bark and Leaf Methanolic Extracts of *Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard. *Journal of King Saud University – Science.*
- Farvin. K.H.S. and C. Jacobsen. 2013. Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Selected Species of Seaweeds From Danish Coast. *Journal of Food Chemistry.*, 138: 1670 – 1681 pp.
- Faten, M., A. Elalla, and E.A. Shalaby. 2009. Antioxidant Activity of Extracts and Semi – Purified Fractions of Marine Red Macroalga, *Gracilaria verrucosa*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.*, 3 (4): 3179 – 3185.
- Fleurence, J, and I. Levine. 2016. *Seaweed in Health and Disease Prevention*. British Library Catalog, London, 480 p.
- Ganesan, P., C.S. Kumar, and N. Bhaskar. 2007. Antioxidant Properties of Methanol Extract and its Solvent Fractions Obtained From Selected Indian Red Seaweeds. *J. Bioresource Technology.*, 99: 2717 – 2723.
- Gordon, M., J. Pokorny, N. Yanishlieva. 2001. Antioxidant in Food: Practical Applications. *British Journal of Nutrition.*, 87: 391.
- Griffin, S.P. and R. Bhagooli. 2004. Measuring Antioxidant Potential in Corals Using the FRAP Assay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.*, 302: 201 – 211.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbit, and A.E. Swarting. 1991. *Introduction to Chromatography in Practical Thin Layer Chromatography: a Multidisciplinary Approach* 2nd Editio. Reinhold Books, New York, 97 – 104 pp.

- Harborne, J.B. 1987. *Phytochemical Method A Guide to the Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman and Hall Ltd, London, 286 p.
- Heo, S-J., S-H. Cha, K-W. Lee and Y-J. Jeon. 2006. Antioxidant Activities of Red Algae From Jeju Island. *J. Algae* 21 (1): 149 – 156 pp.
- Indrawati, L., A. Werddhasari, A. Yudi. 2009. Hubungan Pola Kebiasaan Konsumsi Makanan Masyarakat Miskin dengan Kejadian Hipertensi di Indonesia. *MPKK*, 19: 174 – 184 pp.
- Jan, P., Yanishlieve, and Gordu. 2001. *Antioxidant in Food: Practical Application*. CRC Press, Boston New York USA.
- Kim. S.W. 2012. *Handbook of Marine Macroalgae. Biotechnology and Applied Phycology*. John Wiley & Sons Ltd, UK, 531 p.
- Leksono, W.B., R. Pramesti, G.W. Santoso, dan W.A. Setyati. 2017. Jenis Pelarut Metanol dan N – Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Gelidium* sp. dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21 (1): 9 – 16.
- Leong, L.P, and G. Shui. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Market. *J. Food*, 69 – 76 pp.
- Lichtenthaler, H.K. and C. Buschmann. 1987. *Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes Methods in Enzimology*. Weinheim: Verlag Chemie
- Maryam, St., M. Baits, dan A. Nadia. 2016. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2 (2).
- McCord, J.M, and Fridovitch. 1967. Superoxide Dismutase an Enzimic Function For Erythrocyte (Hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244 (22): 6049 – 6055 pp.
- Meydani, M. 2000. Effect of Functional Food Ingredients: Vitamin E Modulation of Cardiovascular Disease and Immune Status in the Elderly. *J. Clinic Nutrition*, 71.
- Miliauskas, G., P.R. Venskutonis, and T.A. Van-Beek. 2004. Screening of Radical Scavenging Activity of Some Medical and Aromatic Plant Extracts. *Food Chemistry Journal*, 85: 231 – 237 pp.
- Mlodzinska, E. 2009. Survey of Plant Pigments: Molecular and Environmental Determination of Plant Colors. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 51 (1): 7 – 16 pp.
- Mulangsri, D.A.K., A. Budiarti, dan E.N. Saputri. 2017. Aktivitas Antioksidan Fraksi Dietiler Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharma Science*, 04 (01): 85 – 93.
- Muzaki, A.F., W.A.Setyati, dan Subagiyo. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Halimeda macroloba* dari Pantai Teluk Awur, Jepara, Jawa Tengah. *Journal of Marine Research*.
- Oyaizu, M. 1986. Studies of Product of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product Browning Reaction Prepared From Glucosamine. *Japan Journal Nutrition*, 44: 307 – 315 pp.
- Picoella, S., A. Fiorentino, S. Pacifico, B. D'Abrosca, P. Uzzo, and P. Monaco. 2008. Antioxidant Properties of Sour Cherries (*Prunus cerasus* L.): Role of Colorless Phytochemicals from the Methanolic Extract of Ripe Fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56 (6): 198 – 1935 pp.
- Pise, N.M., D. Maharana, K. Jena, and T. Jagtap. 2010. Free Radical Scavenging, Reducing Power, Phenolic and Biochemical Composition of *Porphyra* species. *Journal of Algal Biomass*, 1 (2): 60 – 73 pp.
- Pramesti, R., A. Ridlo, W.A. Setyati, M. Zainuddin, dan M.R. Akbar. 2017. Aktivitas

- Antioksidan dan Rumput Laut *Acanthophora muscoides* (Linnaeus) Bory dari Pantai Krakal Gunungkidul Yogyakarta. *Jurnal DISPROTEK*, 8 (1).
- Pratama, M., A. Muflihunna dan N. Octaviani. 2018. Analisis Aktivitas Antioksidan Sediaan Propolis yang Beredar di Kota Makassar dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal As – Syifaa*, 10 (01): 11 – 18 pp.
- Raudonis, R., L. Raudone, V. Jakstas, and V. Janulis. 2012. Comparative Evaluation of Post – Column Free Radical Scavenging and Ferric Reducing Antioxidant Power Assays For Screening of Antioxidants in Strawberries. *J. Chromatography A*, 1233: 8 – 15 pp.
- Sedjati, Sri., E. Supriyanti, A. Ridlo, N. Soenardjo, dan V.Y. Santi. 2018. Kandungan Pigmen, Total Fenolik, dan Aktivitas Antioksidan *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis*, Vol 21 (2): 137 – 144 pp.
- Shahwar, D., M.A. Raza, S. Bukhari, and G. Bukhari. 2012. Ferric Reducing Antioxidant Power of Essential Oils Extracted From Eucalyptus and Curcuma species. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, S1633 – S1636.
- Sheikh, T.Z.B., C.L. Yong, and M.S. Lian. 2009. In Vitro Antioxidant Activity of the Hexane and Methanolic Extract of *Sargassum baccularia* and *Cladophora patentiramea*. *Journal of Applied Science*, 13 (9): 2490 – 2493 pp.
- Tahir, M., A. Cahya. H, dan H. Widiastuti. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) dengan Metode FRAP. *Jurnal As – Syifaa*, 8 (01): 31 – 38 pp.
- Wijaya, A. 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan. *Forum Diagnostikum Prodia. Diagnostics Educational Center*, 1 – 12.