SKRINING FITOKIMIA SIMPLISIA SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa)* DENGAN METODE DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*)

ARTIKEL SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

Oleh :

ZIKRULLY PUTRI PALARUM

NIM. 125080107111007

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

SKRINING FITOKIMIA SIMPLISIA SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa)* DENGAN METODE DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*)

ARTIKEL SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Brawijaya

Oleh :

ZIKRULLY PUTRI PALARUM

NIM. 125080107111007

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

ARTIKEL SKRIPSI

SKRINING FITOKIMIA SIMPLISIA SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa)* DENGAN METODE DPPH (*1,1- diphenyl-2-pictylhydrazil*)

Oleh:

ZIKRULLY PUTRI PALARUM

NIM. 125080107111007

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 20 JAN 2017

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si)
NIP. 19730702 200501 2 001
Tanggal: 20 JAN 2017

Dosen Pembimbing II

(Prof. Dr.Ir. Diana Arfiati, MS.)
NIP. 19591230 198503 2 002
Tanggal: 20 JAN 2017

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SKRINING FITOKIMIA SIMPLISIA SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL ALGA MERAH (*Gracilaria verrucosa)* DENGAN METODE DPPH (*1,1- diphenyl-2-picrylhydrazil*)

SCREENING TEST PHYTOCHEMICAL SIMPLISIA ANTIOXIDANT ACTIVITIES of ETHANOL EXTRACTS on the RED ALGAE (*Gracilaria verrucosa*) with the DPPH METHOD (*1.1-diphenyl-2-picryhydrazil*)

Zikrully Putri Palarum [1], Yuni Kilawati [2], Diana Arfiati [3]
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Rumput laut *Glacilaria verrucosa* adalah alga merah yang menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid yang disebut agar. Selain itu alga merah banyak mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antivirus, antibakteri , antijamur, antitumor dan antioksidan yang mampu menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Penelitian ini dilakukan selama bulan Mei 2016 sampai dengan Agustus 2016 bertujuan untuk mengetahui golongan senyawanya, mengetahui konsentrasi asam askorbat yang terkandung dalam ekstrak etanol dan mengetahui berapa besar pengaruh vitamin C terhadap aktivitas antioksidan dan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang baru diambil lalu dipisahkan dari kerang yang menempel, dicuci dengan air tawar bersih, dikeringkan dan diuji kadar airnya. Selanjutnya digiling dengan menggunakan mesin penggiling dan didapatkan hasil berupa simplisia (serbuk) lalu di uji kandungan senyawa fitokimianya. Sebanyak 200 gram serbuk direndam dengan 800 ml etanol 96%, lalu di evaporasi (penguapan) sehingga dihasilkan produk berupa pasta ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa.* Pasta tersebut diuji kadar vitamin C nya secara kualitatif (pengendapan sampel berwarna coklat dengan $KMnO_4$) dan kuantitatif (menggunakan spektrofotometri UV-Visibel). Selain itu sampel pasta tersebut diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryllhydrazil*). Hasil pemeriksaan rumput laut *Gracilaria verrucosa* yang sudah kering diperoleh kadar air 20,46%. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia *Gracilaria verrucosa* tersebut mengandung golongan senyawa saponin dan steroida atau triterpenoida, vitamin C dan antioksidan. Diketahui bahwa ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* positif mengandung vitamin C dengan kadar 92,6 ppm. Pengaruh vitamin C dalam sampel terhadap aktivitas antioksidan diketahui sangat lemah sehingga kurang mampu menangkal radikal bebas.

ABSTRACT

Seaweed *Gracilaria verrucosa* is a red algae that produsces the primary metabolites of compounds called hidrokoloid in order. In addition red algae contain these Terpenoids and flavonoid compounds that are potent antiviral, antibacterial, antifungal, antitumor and antioxidant which is capable of inhibiting oxidation and capture of free radicals. This research was conducted during the months of May until August 2016 aims to find out the its compounds are, knowing the concentration of Ascorbic acid contained in the ethanol extracts and find out how great the influence of vitamin C against antioxidant activityand (Inhibition Concentration50%) IC_{50}. The methods used in the research is descriptive method. Seaweed *Gracilaria verrucowa* newly taken then was separated from shells attached, washed with clean fresh water, dried and tested the levels of the water. Further milled using a steamroller and the obtained results in the form of simplicia (powder) and then tasted compounds phytochemical. As many as 200 grams of powder soaked with 800 ml of 96% ethanol and then in the evaporation so that the resulting product in the form of ethanol extract of *Gracilaria verrucosa.* Paste the tested his vitamin C levels qualitatively (deposition samples are brown with $KMnO_4$) and quantitative (UV Visibel -spectrophotometry). Besides the pasta samples tested antioxidant activity with the DPPH method *(1.1-diphenyl-2-picryllhydrazil).* The results of the examination of seaweed *Gracilaria verrucosa* dried already obtained 20,46% water content. Phytochemical screening test results

[1] Mahasiswa Program Studi Manajemen Sumber daya Perairan
[2] Dosen Program Studi Manajemen Sumber daya Perairan

on the powder simplisia *Gracilaria verrucosa* contains the saponin, steroida or triterpenoida, vitamin V and antioxidants. Note that the ethanol extract of *Gracilaria verrucosa* positive contains vitamin C levels 92,6 ppm. The influence of vitamin C in the sample againts known antioxidant activity is very weak so that lesss able to ward off free radicals.
Key Word : *Gracilaria verrucosa*, Vitamin C , antioxidant

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki potensi sumber daya perikanan dan kelautan yang besar. Hal ini didukung dengan wilayah perairan Indonesia yang mencakup 2/3 luas wilayah keseluruhan Indonesia atau kurang lebih 60% luas wilayah Indonesia (Sompie, 2014). Pemanfaatan sumberdaya perikanan dapat berupa usaha budidaya dan penangkapan, namun aktifitas tersebut memberikan dampak positif dan negatif bagi lingkungannya. Salah satu contoh yaitu pencemaran.

Bahan pencemar menyebabkan terbentuknya radikal bebas dan menimbulkan rangkaian reaksi oksidasi (Niwa, 1997). Radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Selain terdapat di luar tubuh, radikal bebas juga secara normal dibentuk di dalam tubuh. Radikal bebas terbentuk di dalam tubuh akibat produk sampingan proses metabolisme ataupun karena tubuh terpapar radikal bebas melalui pernafasan (Praptiwi *et al.,* 2006).

Radikal bebas dapat ditangkal atau diredam dengan pemberian antioksidan atau dengan mengkonsumsi antioksidan (Toripah *et al.,* 2014). Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Vaya dan Aviram, 2001).

Asam askorbat (vitamin C) merupakan antioksidan yang dapat mencegah oksidasi, dan merupakan nutrien serta vitamin yang larut dalam air dan penting untuk menjaga kesehatan. Vitamin C merupakan satu-satumya vitamin yang memiliki gugus enadiol dengan daya reduksi kuat dan juga pemberi sifat asam (Rienoviar dan Nashrianto, 2010). Rumput laut juga menyediakan sumber vitamin C yang sangat bermanfaat untuk memperkuat sistem kekebalan tubuh, meningkatkan aktivitas penyerapan usus terhadap zat besi, pengendalian pembentukan jaringan dan matriks tulang, dan juga berperan

sebagai antioksidan dalam penangkapan radikal bebas dan regenerasi vitamin E (Soo-Jin Heo *et al*., 2005).

Menurut Putinella (2001), bahwa jenis alga merah seperti *Gracilaria sp* banyak digunakan sebagai obat tradisional di Cina. Hasil analisa kimia menunjukkan alga merah banyak mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid. Menurut Lailiyah *et al.,* (2014), di Indonesia, alga merah terdiri dari 452 jenis alga, dan alga coklat 134 jenis rumput laut mengandung komponen penting yang dibutuhkan dalam proses fisiologis hewan dan manusia. Rumput laut kaya akan karbohidrat, protein, lipid, mineral, berpotensi sebagai antivirus, antibakteri , antijamur, antitumor dan antioksidan.

Di Indonesia rumput laut hanya dibiarkan sebagai sampah lautan, mengapung, hanyut terbawa arus, ataupun terdampar di pinggir pantai (Yunizal, 1999). Pemanfaatan rumput laut di Indonesia sampai saat ini terbatas sebagai bahan makanan bagi penduduk yang tinggal di daerah pesisir dan belum banyak kalangan industri yang mau melirik potensi rumput laut ini. Hal ini mendasari penelitian ini untuk meneliti lebih lanjut konsentrasi total vitamin C yang terdapat di dalam *Gracilaria verrucosa* yang berpotensi meningkatkan kemampuan sistem kekebalan tubuh dalam serta kondisi tubuh organisme akuatik terhadap penyakit melalui aktivitas antioksidan.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam *Gracilaria verrucosa,* konsentrasi asam askorbat yang terkandung dalam ekstrak etanol dan berapa besar pengaruh vitamin C terhadap aktivitas antioksidan dan IC_{50}

1.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis (UPT). Laboratorium Materia Medika (Batu), Laboratorium Genetika Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei – Agustus 2016.

2. MATERI DAN METODE

2.1 Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak alga merah (*Gracilaria verrucosa)* yang berupa simplisia (serbuk) lalu di senyawa *Gracilaria verrucosa*

dengan uji skrining fitokimia, uji kadar vitamin C serta di uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) memberikan informasi reaktivitas ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* yang diuji dengan suatu radikal bebas menggunakan spektrofotometri UV-Visibel.

2.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode deskriptif. Data yang diambil meliputi data primer dan data sekunder. Rumput laut merah (*Gracillaria verrucossa*) merupakan bahan utama yang digunakan sebagai sampel uji, sampel rumput laut diambil dari Pantai Kartini, Desa Bulu, Kabupaten Jepara. Parameter uji meliputi parameter uji kualitatif dan kuantitatif. Parameter Kualitatif meliputi uji asam askorbat dan skrining fitokimia dimana uji tersebut untuk mengetahui ada tidaknya kandungan vitamin C dan metabolit sekunder dalam ekstrak rumput laut. Parameter kuantitatif mengacu pada pengukuran secara objektif yang meliputi pengujian kadar air pada rumput laut yang sudah kering, pembacan dengan menggunakan spektrofotemtri UV-Vis untuk mengetahui prosentase vitamin C yang ada dalam ektrak rumput laut, dan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui %inhibisi sehingga lakukan regresi untuk menghitung IC_{50} (inhibision consentration 50%). IC_{50} merupakan nilai yang menunjukan konsentrasi ektrak (ppm) yang mampu menghambat radikal bebas 50%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen basis basah (kadar air basah) atau persen basis kering (kadar air basis kering). Kadar air juga salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur dan citarasa pada bahan pangan (Winarno, 2004 *dalam* Gunawan dan Suhendra, 2012).

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Air *Gracilaria verrucosa*

Berat Cawan (A)	Berat Sampel	Berat Cawan+Sampel Sebelum Oven(B)	Berat Cawan+Sampel Sesudah Oven (C)	%Kadar Air
49,1189 gr	2,0191 gr	51,138 gr	50,7248 gr	20,46

Hasil uji kadar air rumput laut *Gracilaria verrucosa* adalah 20,46% pada Tabel 1. Hasil penetapan kadar air pada simplisia yang telah memenuhi persyaratan Menurut Winarno (2004), apabila kandungan air bahan berkisar 12-25 % kira-kira setara dengan a_w 0,8. Aktivitas air (water activity = a_w) merupakan jumlah air di dalam bahan yang tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme.

3.2 Hasil Skrining Fitokimia

Sampel *Gracilaria verrucosa* yang telah dihaluskan, kemudian ditimbang

menggunakan timbangan analitik seberat 10 gram dibagi menjadi 5 macam uji fitokimia, yaitu : Uji Flavonoid, Tanin/Polifenol, Saponin, Terpenoid (Triterpenoid dan Steroid) dan Alkaloid (P.Meyer dan P.Dragendrof).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia *Gracilaria verrucosa*

Golongan Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Flavonoid	-	(+) terbentuk warna jingga, merah, kuning
Saponin	+	(+) terbentuk busa
Tanin	-	(+) terbentuk warna biru tua atau hijaukehitaman
Triterpenoid	+	(+) terbentuk warna ungu atau merah
Alkaloid		
- Reagen Mayer	-	(+) terbentuk endapan putih
- Reagen Dragendorf	-	(+) terbentuk endapan jingga

Penentuan golongan senyawa kimia alga merah (*Gracilaria verrucosa*) dilakukan untuk mendapatkan informasi mengenai golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hasil pemeriksaan penentuan golongan senyawa kimia simplisia alga merah (*Gracilaria verrucosa*).

Berdasarkan hasil skrining fitokima pada *Gracilaria verrucosa* yang terdapat pada Tabel 2. Menunjukkan bahwa *Gracilaria verrucosa* mengandung saponin dan terpenoid (triterpenoid). Ini membuktikan *Gracilaria verrucosa* mengandung senyawa aktif metabolit sekunder.

Senyawa steroid pada *Gracilaria verrucosa* mempunyai aktivitas antibakteri dan antijamur (Sukmiwati, 2012). Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan merupakan golongan terpenoid, fenolik dan alkaloid yang bersifat semi polar dan polar. Senyawa-senyawa yang mempunyai aktifitas antioksidan diharapkan mampu mencegah kerusakan akibat radikal bebas. Kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan dinyatakan dengan persen inhibisi. Sebagai senyawa pembanding potensi aktivitas antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* diperlukan standar antioksidan dari bahan alam.

Bahan alam yang sering dipakai adalah vitamin C dan asam galat. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air dan cukup dikenal sebagai antioksidan dalam industri makanan karena dapat menangkap radikal bebas. Vitamin C atau *L-ascorbic acid,* merupakan senyawa hidrofilik. Senyawa ini merupakan antioksidan paling penting dalam cairan ekstraseluler. Vitamin C dapat mencegah terbentuknya superoksida, hydrogen peroksida, hipoklorit, radikal hidroksil, radikal peroksil dan radikal oksigen (Sukmiwati, 2012).

3.3 Ekstraksi dan Randemen

3.3.1 Ekstraksi

Perbandingan yang digunakan pada penelitian ini adalah 1:4, antara simplisia *Gracilaria verrucosa* dengan pelarut etanol 96%.

Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang berguna untuk mencegah rusaknya senyawa antioksidan yang terdapat di dalam alga merah (*Gracilaria verrucosa*). Pada proses maserasi dilakukan pengadukan dengan bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar dan di dalam sampel *Gracilaria verrucosa* . Selain itu juga akan mempercepat pengembangan sel yang mengandung zat aktif sehingga dengan mudah cairan penyaring dapat melarutkan senyawa dalam rongga sel kemudian keluar melalui proses difusi yang disebabkan adanya perbedaan konsentrasi larutan di dalam rongga sel dan di luar sel (Mitayani, 2010).

Setelah dilakukan maserasi *Gracilaria verrucosa* disaring sehingga didapatkan maserat (pelarut hasil rendaman *Gracilaria verrucosa*) dan ampas, maserat diuapkan menggunakan rotary evaporator, hingga diperoleh pasta yang berwarna hijau kecoklatan. Setelah proses evaporasi, masing-masing ekstrak yang diperoleh, dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diberi label dan ditimbang sebelumnya, untuk penghitungan nilai randemen. Ekstrak hasil evaporasi yang kedua maupun ketiga kalinya dimasukkan ke dalam botol vial yang berbeda-beda dan ditimbang berat akhir botol ditambah ekstrak.

3.3.2 Randemen

Randemen juga dapat diartikan sebagai persentase rasio antara berat ekstrak yang dihasilkan terhadap berat awal yang digunakan dikalikan 100 persen (Yudihapsari, 2009). Pada penelitian ini didapatkan 3 randemen yaitu randemen *Glacillaria verrucosa* kering, simplisia dan hasil ayakan. Pada Randemen 1 berat kering *Glacillaria verrucosa* didapatkan nilai randemen sebesar 14,21%. Pada Randemen 2 berat simplisia *Glacillaria verrucosa* didapatkan randemen sebesar 96,24%. Sedangkan pada randemen 3 hasil ayakan didapatkan randemen sebesar 57,90%. Berikut adalah tabel hasil randemen *Gracillaria verrucossa.* Didapatkan hasil perhitungan randemen yang terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Randemen Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Gracillaria verrucosa.	Berat (kg)	Randemen (%)
Basah	71,18	-
Kering	10,12	14,21
Simplisia	9,74	96,24
Hasil Ayakan	5,64	57,90

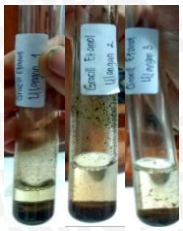
Menurut Hijaz (2009), nilai randemen yang tertinggi tidak hanya mengindikasikan banyaknya metabolit sekunder yang terdapat pada sampel tetapi dapat mengindikasikan bahwa pada sampel terdapat salah satu senyawa metabolit sekunder yang mendominasi.

3.4 Uji Kadar Vitamin C

3.4.1 Uji Kualitatif Vitamin C

Kelompok alga merah memiliki pigmen fikoeretein (*phycoeretherin)* dan fikosianin *(phycocyanin)* yang struktur dasarnya pirol dan berprotein. Fikoeretrin adalah pigmen yang berwarna merah cerah dan memancarkan warna oranye, sedangkan fikosianin berwarna biru dan memancarkan warna merah tua. Alga merah mempunya sifat adaptik kromatik, yaitu mempunyai penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan sehingga pada kenyataan di alam, alga merah menunjukkan variasi warna lain seperti pirang, violet, merah tua, merah muda, cokelat, kuning dan hijau (Atmadja, 2007 *dalam* Hijaz, 2009).

Alga merah (*Gracilaria verrucosa*) memiliki kandungan vitamin B1, B2 dan vitamin C. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah vitamin C. Tujuan dilakukannya uji kuantitatif kadar vitamin C adalah untuk memastikan bahwa didalam ekstrak etanol pada *Gracilaria verrucosa* terdapat senyawa yang mampu bekerja sebagai antioksidan.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif Vitamin C pada ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*

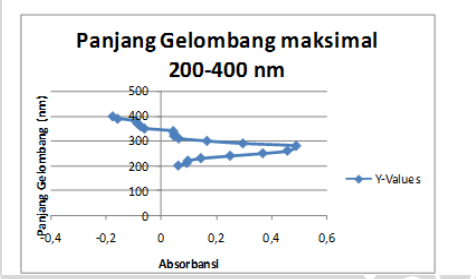
Hasil uji identifikasi kandungan vitamin C yaitu uji reaksi warna dengan yaitu melarutkan sampel *Gracilaria verrucosa* lalu ditambahkan dengan dua tetes larutan $KMnO_4$. Gambar 1 menunjukkan ekstrak *Gracilaria verrucosa* mengandung vitamin C, hal tersebut sesuai dengan Anggraeni (2014), apabila adanya perubahan warna dari pereduksi kalium permanganat yang semula berwarna ungu berubah menjadi cokelat maka pada ekstrak *Gracilaria verrucosa* positif mengandung vitamin C dan antioksidan.

3.4.2 Uji Spektrofotmetri UV-Visibel

Pada penelitian ini telah dilakukan analisis untuk mengetahui kadar vitamin C di dalam alga merah *Gracilaria verrucosa* dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel, dimulai dengan menentukan panjang gelombang maksimum untuk analisis vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Panjang gelombang optimum dengan menggunakan spektrofotmetri UV-Visibel dilakukan terhadap larutan standart vitamin C

pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

Menurut Wardani (2012), penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis vitamin C menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Panjang gelombang optimum dengan menggunakan spektrotometri UV-Visibel dilakukan terhadap larutan standar vitamin C pada rentang panjang gelombang 200-400 nm karena molekul-molekul dengan ikatan rangkaplah yang mempunyai enenrgi eksitasi yang cukup rendah yang menimbulkan penyerapan dalam daerah UV dekat.



Gambar 2. Grafik Panjang Gelombang Maksimal 200-400 nm.

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal 200-400 nm pada Gambar 2 terdapat nilai yang tertinggi dengan panjang gelombang 270 nm dan panjang gelombang paling terkecil terletak pada 400 nm. Dari hasil tersebut pengukuran yang digunakan untuk menghitung kadar vitamin C adalah panjang gelombang 270 nm.

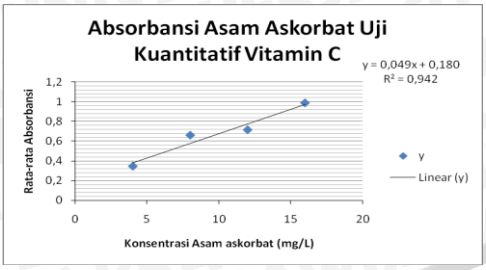
3.4.3 Uji Kuantitatif Vitamin C

Masing-masing deret standar vitamin C yang diukur dengan berbagai macam konsentrasi pada rentang linier 4 ppm sampai dengan konsentrasi 16 ppm, yaitu 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm dan 16 ppm. Vitamin C (asam askorbat) adalah vitamin yang larut dalam air, vitamin C memiliki banyak peranan penting dalam menangkal berbagai penyakit. Pengulangan yang dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan waktu yang sama atau dengan jarak waktu yang dekat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-Rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
4	0,396	0,313	0,323	0,344
8	0,644	0,657	0,676	0,659
12	0,691	0,735	0,714	0,713
16	1,029	0,970	0,958	0,986

Senyawa vitamin C ditetapkan dengan membuat deret standar sebanyak 4 konsentrasi pada rentang 4 ppm sampai dengan 16 ppm pada panjang gelombang 270 nm yang dihitung pada alat Spektrofotometri UV-Visibel. Berikut adalah grafik persamaan linier dari standar vitamin C dengan pelarut ethanol 96% pada sampel *Gracilaria verrucosa* dengan panjang gelombang 270 nm dan konsentrasi 500 ppm dilakukan dengan 1 kali pengulangan, terdapat pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva Regresi Absorbansi Asam Askorbat Uji Kuantitatif Vitamin C

Pada regresi asam askorbat diketahui bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan. Artinya, dengan meningkatnya konsentrasi, maka absorbansi juga akan meningkat. Hal ini berarti bahwa terdapat 94,2% data yang memiliki hubungan linier. Hasil dari persamaan gambar 3 tersebut dimasukkan kedalam perhitungan (y = absorbansi tiap ulangan). Berikut adalah hasil absorbansi standar vitamin C dengan pelarut etanol 96% pada sampel *Gracilaria verrucosa* dengan panjang gelombang 270 nm berdasarkan uji pendahuluan penentuan panjang gelombang konsentrasi 500 ppm memberikan persamaan regresi linier y = 0,049x + 0,180 dengan R^2= 0,942

Tabel 5. Hasil Absorbansi Vitamin C

Ulangan	Absorbansi	Hasil (ppm)	
		1000	5000
1	0,815	12,959	64,8
2	1,088	18,53	92,6
3	0,890	14,48	72,5

Pada panjang gelombang 270 nm dari konsentrasi 1000 ppm, 5000 ppm dan prosentase vitamin C pada tabel 5 memberikan hasil pengukuran kadar vitamin C dalam sampel 1000 ppm hasil tertinggi terdapat pada ulangan 2 adalah 18,53 ppm, pada 5000 ppm 92,6 ppm dan prosentase vimain C (5000 ppm) adalah 2,852. Pengaruh lama penyimpanan menjadi faktor utama turunnya kadar fenolat total. Penyimpanan semakain lama, semakin turun pula kadar fenolat total pada ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa.* Hasil ini sesuai dengan penelitian Zentimer (2007), bahwa semakin lama penyimpanan maka kadar vitamin C akan semakin rendah.

3.5 Uji Aktivitas Vitamin C Sebagai Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH dengan larutan uji konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm yang dibandingkan dengan larutan pembanding absorbansi ekstrak dan DPPH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Senyawa DPPH dilarutkan dalam metanol sebelum ditambahkan ekstrak *Gracilaria verrucosa*, hal ini dilakukan DPPH menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol. Menurut Praptiwi *et al.,* (2006), radikal bebas DPPH stabil dengan absorbsi maksimum pada

panjang gelombang 517 nm dan dapat direduksi oleh senyawa antioksidan.

Pada tabel 6 merupakan pembanding uji aktivitas antioksidan pada sampel *Gracilaria verrucosa* dan kontrol positif asam askorbat, tabel di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi (ppm) maka semakin besar nilai rata-rata absorbansinya, sehingga aktivitas antioksidan untuk meredam DPPH dengan bertambahnya waktu.

Tabel 6. % Inhibisi Uji Aktifitas Antioksidan Sampel *Gracilaria verrucosa* dengan larutan pembanding

Uji Aktivitas Antioksidan					
Sampel ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa*			**larutan pembanding**		
konsentrasi	absorbansi	% inhibisi	Konsentrasi	absorbansi	% inhibisi
Kontrol	1,876	-	kontrol	0,379	-
100 ppm	1,305	30,4	5 ppm	0,246	35,1
200 ppm	1,206	35,7	10 ppm	0,237	37,5
400 ppm	1,142	39,1	15 ppm	0,225	40,6
800 ppm	1,020	45,6	20 ppm	0,208	45,1

Pada Tabel 6 nilai %inhibisi diperoleh dari perhitungan larutan yang telah diencerkan dengan berbagai konsentrasi menghasilkan absorbansi yang berbeda sehingga menghasilkan persen inhibisi. Menurut Mardawati *et al*., (2008), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut, maka semakin tinggi persentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

3.6 Analisa Nilai IC_{50} Sampel Uji

Harga IC_{50} menggambarkan besarnya daya meredam radikal bebas (antioksidan) larutan uji dan sebagai pembanding adalah vitamin C, disebabkan senyawa ini memiliki daya meredam radikal bebas (antioksidan) yang baik. Oleh karena itu vitamin C dapat digunakan untuk membandingkan daya meredam radikal diantara senyawa-senyawa peredam radikal bebas (Haryoto *et al.,* 2007). Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh untuk ekstrak etanol dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh untuk ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria verrucosa* dan kontrol positif asam askorbat

Larutan Uji	Regresi	Hasil
Ekstrak etanol rumput laut	y = 0,02x + 30,2	990
Kontrol Positif Asam askorbat	y = 0,662x + 31,3	28,24

Menurut Mardawati *et al*., (2008), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%)* bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 ppm, lemah jika IC_{50} adalah 150-200 ppm dan sangat lemah jika nilai IC_{50} >200 ppm. Ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* diperoleh nilai IC_{50} sebesar 990 dan kontrol positif asam askorbat sebesar 28,24. IC_{50} *e*kstrak etanol *Gracilaria verrucosa* lebih kecil nilainya dibandingkan dengan kontrol positif asam askorbat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas

antioksidan lebih kecil dibandingkan dengan asam askorbat (Mitayani, 2010).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan antara lain:

1. Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh kadar air 20,46%. Hasil uji skrining fitokimia pada serbuk simplisia dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* mengandung golongan senyawa saponin, steroida atau triterpenoida, vitamin C dan antioksidan.

2. Pada uji kualitatif terdapat kadar vitamin C, karena adanya endapan berwarna coklat setelah diberi 2 tetes $KMnO_4$. Kadar vitamin C sampel *Gracilaria verrucosa* ekstrak ethanol 96% terbesar terdapat pada ulangan ke 2 sebesar 92,6 ppm.

3. Pengaruh vitamin C dalam sampel *Gracilaria verrucosa* dalam penelitian ini terhadap aktivitas antioksidan diketahui sangat lemah sehingga kurang mampu menangkal radikal bebas.

4.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk menggunakan rumput laut basah atau segar dengan pelarut yang berbeda dari penelitian ini agar dapat diperoleh kadar antioksidan lebih kuat.

DAFTAR PUSTAKA

Anggraeni, O.N., A.G, Fasya., M, Abidin., dan A, Hanapi. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Cholorella* sp. Alchemy. 3(2) : 173-188.

Gunawan, E. R., dan D, Suhendra. 2012. Screening Dan Analisis Kadar Omega-3 Dari Rumput Laut Pulau Lombok Ntb. Molekul, Vol. 7. No. 2: 95 – 104.

Haryoto., B, Santoso., dan H, Nugroho. 2007. Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang *Shorea acuminatissima* dengan Metode DPPH. Jurnal Ilmu Dasar. 8(2): 158-165.

Hijaz, M. N. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan dalam Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dan *Gracillaria verrucosa*. Universitas Islam Negeri Malang. Malang

Lailiyah, Ahwalul., T. K. Adi., A. Hakim dan E. Yusnawan. 2014. Kapasitas Antioksidan Dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Dari Pantai Sumenep Madura. ALCHEMY, Vol.3 No. 1 : hal 18 – 30.

Mardawati, F. Filianty, dan H, Marta. 2008. Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Padjadjaran.

Mitayani, G. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica Fragan Houtt*) Dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Semarang.

Niwa,Y. 1997. Radikal Bebas Mengundang Kematian. Personal Care Co. Ltd., Tokyo, 30-87.

Putinella, J.D. 2001. Evaluasi Lingkungan Budidaya Rumput Laut Di Teluk Bagula Maluku.

Rienoviar dan H, Nashrianto. 2010. Penggunaan Asam Askorbat (Vitamin C) Untuk Meningkatkan Daya Simpan Sirup Rosela (*Hibiscus sabdariffa Linn.*). Hasil Penelitian Industri. 23 (1) : 8-18.

Sompie, G.J. 2014. Analisis Sumberdaya Perikanan Dalam Pembangunan Daerah Kota Bitung. Jurnal Studi Pembangunan Interdisiplin. 28 (1) : 44-63.

Soo-Jin H,. P, Pyo-Jam., P, Eun-Ju., K, Se-Kwon., dan J, You-Jin. 2005. Antioxidant activity of enzymatic extracts from a brown seaweed Ecklonia cava by electron spin resonance spectrometry and comet assay. Eur Food Res Technol 221:41–47.

Sukmiwati, M. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Pada 16 Spesies Teripang Yang Ditemukan Pada Perairan Natuna Kepulauan Riau. Prosiding Semirata BKS PTN-B MIPA. ISBN 978-602-9115-20-8.

Vaya, J., dan M, Aviram. 2001. Nutritional Antioxidant : Mechanism of Action , Analyses of Activities and Medical Applications. Curr Med Chem-Imm, Endoc and Metabolism Agents. 1(1):99-117.

Wardani, L. A. 2012. Validasi Metode Analisis Dan Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Buah Kemasan Dengan Spektrofotometri UV-Visibel. Skripsi. Universitas Indonesia, Depok :Depok.

Winarno. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

Yudihapsari, E. 2009. Kajian Kadar Protein, pH, Viskositas dan Randemen Kecap Whey dari Berbagai Tingkat Penggunaan Tepung Kedelai. Universitas Brawijaya. Malang. 5 halaman.

Yunizal. 1999. Teknologi Ekstraksi Alginat dari Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae). Instalasi Penelitian Perikanan Laut Slipi, Balai Penelitian Perikanan Laut, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.