

Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Acanthophora muscoides* (Linnaeus) Bory Dari Pantai Krakal Gunung Kidul Yogyakarta

Muhamad Rahadian Akbar*, Rini Pramesti, Ali Ridlo

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl.Prof.H.Soedarto S.H, Tembalang,Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

*Corresponding author, e-mail: akbarrhdn@gmail.com

ABSTRAK : *Acanthophora muscoides* merupakan salah satu rumput laut merah yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan n-heksan, kadar total fenolat serta kadar pigmen (klorofil a & karotenoid) dari sampel segar *A. muscoides*. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode transfer elektron dengan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) sebagai radikal bebas. Penentuan kadar total fenolat menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar dan penentuan kandungan pigmen menggunakan prinsip spektrofotometri pada λ 663 nm, 646 nm dan 470 nm. Hasil penelitian menunjukkan *A. muscoides* memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah dengan nilai IC_{50} ekstrak metanol 325,47 ppm dan ekstrak n-heksan 351,27 ppm, sedangkan kadar total fenolat pada masing-masing ekstrak 22,68 dan 46,19 (mg GAE/g ekstrak), kadar klorofil a 7,72 dan 24,93 (mg/g sampel), dan kadar karotenoid 28,52 dan 68,55 (μ mol/g sampel).

Kata Kunci : *Acanthophora muscoides*, Antioksidan, Radikal Bebas

Antioxidant Activity of Acanthophora muscoides (Linnaeus) Bory Seaweed from Krakal Beach Gunung Kidul Yogyakarta

ABSTRACT : *Acanthophora muscoides* is one of the red seaweed that is potentially used as a natural antioxidant. This study aims to determine the antioxidant activity of methanol and n-hexane extract, and determine the total phenolic content and levels of pigments (chlorophyll and carotenoid) of fresh samples *A. muscoides*. Antioxidant activity measured using electron transfer method with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) as free radicals, while the determination of total phenolic content using the Folin-Ciocalteu reagent with gallic acid as standard and determination of pigment content measured by spectrophotometer at a wavelength of 663 nm, 646 nm and 470 nm. The result showed IC_{50} value of methanol extract was 325.47 ppm and n-hexane extract was 351.27 ppm which means that *A. muscoides* have very weak antioxidant activity. Total phenolic content in each extract were 22.68 and 46.19 (mg GAE/g extract), chlorophyll a 7.72 and 24.93 (mg/g sample) and carotenoid 28.52 and 68.55 (μ mol/g sample).

Keywords: *Acanthophora muscoides*, Antioxidant, Free Radical

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan substansi nutrisi maupun *non-nutrisi* yang terkandung dalam bahan pangan, mampu mencegah atau memperlambat terjadinya proses oksidasi. Kochhar dan Rossell (1990) mendefinisikan antioksidan sebagai zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas (*free radical*) dalam oksidasi lipid. Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang seiring bertambahnya pemahaman masyarakat mengenai radikal bebas.

Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron bebas tidak berpasangan yang menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Reaksi radikal bebas dengan molekul lain di sekitarnya dapat menyebabkan terjadinya reaksi

berantai hingga menghasilkan senyawa radikal baru. Hal ini menimbulkan kerusakan sel atau jaringan, munculnya penyakit degeneratif hingga kanker dan bahkan mutasi (Winarsi, 2007).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan yang umum digunakan yaitu *Butylated Hydroxyanisol* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *Tertbutylhydroquinone* (TBHQ) dan *Propyl Gallate* (PG). Jenis-jenis antioksidan ini merupakan antioksidan sintetik yang memiliki efektifitas tinggi, namun bersifat karsinogenik hingga dapat menyebabkan kerusakan hati (Heo *et al.*, 2005). Hal tersebut melatarbelakangi permintaan antioksidan dari bahan alami meningkat. Antioksidan alami lebih aman digunakan karena tidak terkontaminasi zat kimia serta mudah diperoleh karena dapat berasal dari darat dan laut. Qasim (1991); Muniarsih dan Rachmaniar (1999) menyatakan aktivitas antioksidan dari laut lebih tinggi dibanding dengan darat. Hal ini disebabkan kandungan senyawa metabolisme sekunder yang dihasilkan oleh organisme laut lebih tinggi. Salah satu organisme laut yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah rumput laut.

A. muscoides merupakan jenis rumput laut merah (Rhodophyceae) dari ordo Ceramiales yang berpotensi sebagai antioksidan (Ganesan *et al.*, 2008; Zakaria *et al.*, 2011; Lavakumar *et al.*, 2012; Priya dan Khora, 2013). Selain sebagai antioksidan, *A. muscoides* juga dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba dan antikesuburan (Wahidulla *et al.*, 1986), antibakteri (Gupta *et al.*, 1991; Zakaria *et al.*, 2011), *antifouling* (Devi *et al.*, 1997) antivirus (Duarte *et al.*, 2004), antikanker (Lavakumar *et al.*, 2012), antimikroba (Lavakumar dan Ravichandrian, 2012), serta anti-inflamasi (Quindere *et al.*, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan n-heksan dari sampel segar *A. muscoides*, serta menentukan kadar total fenolat dan pigmen (klorofil a & karotenoid).

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan adalah rumput laut jenis *Acanthophora muscoides* yang diambil dari Pantaik Krakal Gunung Kidul Yogyakarta.

Metode dalam penelitian ini adalah deskriptif eksploratif, yaitu untuk menggambarkan keadaan suatu fenomena, bukan untuk menguji hipotesis tertentu melainkan hanya menggambarkan suatu variabel, gejala atau kejadian dengan apa adanya.

A. muscoides setelah diambil dicuci dengan air, ditiriskan dan diletakkan di kantong plastik hitam dalam *cool box* berisi es. Sampel kemudian dipotong kecil hingga ukuran 0,5 cm.

Sebanyak 125 gram sampel direndam (maserasi) menggunakan pelarut metanol 500 mL selama 2 x 24 jam. Filtrat hasil rendaman kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai bervolume 125 mL. Sisa hasil penguapan dipisahkan (dipartisi) dengan n-heksan menggunakan *separatory funnel* (corong pemisah) agar didapat filtrat metanol dan n-heksan yang mewakili pelarut polar dan non-polar. Kedua filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40^o C hingga didapat ekstrak kasar (*crude extract*).

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode transfer elektron menggunakan DPPH sebagai radikal bebas. Masing masing ekstrak (metanol dan n-heksan) disiapkan dalam 5 seri konsentrasi berbeda yaitu 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm. Sebanyak 1,5 mL dari masing-masing konsentrasi diambil dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH 0,15 mM. Campuran reaksi kemudian diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap, setelah itu diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Vitamin C dengan seri konsentrasi 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm digunakan sebagai perbandingan.

Nilai persentase antioksidan dihitung dengan mencari nilai inhibisi (nilai penghambat radikal bebas) dalam persen menggunakan rumus:

$$\frac{(A-B)}{A} \times 100$$

Keterangan: A = absorbansi larutan DPPH; B = absorbansi ekstrak + larutan DPPH

Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC₅₀) dihitung menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dengan persentase penghambatan aktivitas radikal bebas.

Uji Kadar Total Fenolat

Uji ini dilakukan untuk mengetahui jumlah total senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel. Uji ini mengacu pada Yangthong *et al.* (2009), Sharma *et al.* (2011) dan Santoso *et al.* (2012). Ekstrak dengan berat 5 mg dilarutkan dalam 2 mL etanol p.a. lalu ditambahkan 5 mL akuades dan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 50%. Larutan diinkubasi selama 5 menit dan ditambahkan 1 mL Na₂CO₃ 5%. Larutan diaduk agar homogen lalu diinkubasi dalam kondisi gelap selama satu jam. Nilai absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 725 nm.

Asam galat digunakan sebagai standar dengan seri konsentrasi 0, 10, 20, 30 dan 40 ppm. Kurva kalibrasi asam galat digunakan untuk menentukan kadar senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/g ekstrak (mg GAE/g ekstrak) dengan rumus perhitungan:

$$\text{Total Fenolat} = \frac{a \times V}{G} \times 1000$$

Keterangan: a = konsentrasi asam galat (mg/l); V = volume total larutan uji (mL); G = massa ekstrak yang digunakan (g); 1000 = faktor konversi terhadap volume larutan total (mL)

Uji Kadar Pigmen Klorofil a dan Karotenoid

Penentuan kadar klorofil a dan karotenoid berdasarkan Lichtenthaler (1987). Ekstrak sebanyak 5 mg dilarutkan menggunakan aseton p.a. dengan konsentrasi 5 mg ekstrak/5 mL aseton. Masing-masing pelarut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 646, 663 dan 470 nm. Kadar klorofil a dan karotenoid dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Klorofil a (mg/g sampel)} = 12,21 \times A_{663} - 2,81 \times A_{646}$$

$$\text{Karotenoid (\mu mol/g sampel)} = \frac{(A_{470} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{646}) \times V \times 1000}{112,5 \times 0,1 \times 10}$$

Keterangan: A₆₆₃ = Absorbansi pada panjang gelombang 663 nm; A₆₄₆ = Absorbansi pada panjang gelombang 646 nm; A₄₇₀ = Absorbansi pada panjang gelombang 470 nm; V = Volume ekstrak

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut metanol dan kemudian dipartisi dengan n-heksan menggunakan corong pemisah (*separatory funnel*). Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan senyawa bioaktif dari suatu bahan (Harborne, 1987), sedangkan penggunaan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya bertujuan untuk menarik senyawa yang memiliki sifat yang sama (*like dissolve like*). Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa *non-polar* akan larut dalam pelarut *non-polar* (Gritter *et al.*, 1991).

Tabel 1. Hasil Ekstraksi

Pelarut	Bentuk	Warna	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Metanol	Padat	Hijau Pekat	0,68	0,54
n-heksan	Pasta	Hijau	0,48	0,38

Hasil penelitian diperoleh ekstrak metanol lebih banyak dengan berat dan rendemen sebesar 0,68 gram dan 0,54% dibanding ekstrak n-heksan 0,48 gram dan 0,38%. Hal ini diduga karena rumput laut *A. muscoides* memiliki senyawa polar lebih banyak dibandingkan dengan senyawa *non-polar* (Gritter *et al.*, 1991). Pelarut metanol tidak hanya memiliki kemampuan untuk menarik senyawa polar tapi juga senyawa yang bersifat semi polar. Pelarut metanol dapat mengekstrak senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang tinggi seperti senyawa fenolat polar (naphthoquinon, echinochrom, hidrosiquinon) dan karotenoid polar (xanthofil, lutein, zeaxhantin). Pelarut n-heksan dapat mengekstrak senyawa *non-polar* seperti senyawa fenolat *non-polar* (lignin,

flavonoid, querectin) dan karotenoid *non*-polar (α -karoten, β -karoten) (Harborne, 1984; Thompson, 1985).

Ekstrak yang diperoleh berwarna hijau menunjukkan bahwa sampel mengandung banyak klorofil. Atmadja (1996) menambahkan bahwa rumput laut merah memiliki kandungan pigmen berupa klorofil a, klorofil d, pikobiliprotein (pikoeritrin dan pikosianin), karoten dan xantofil.

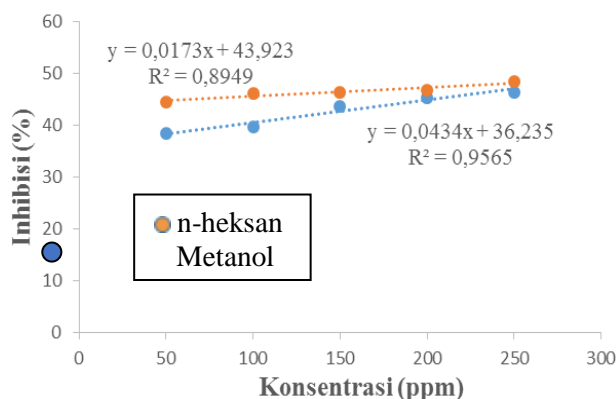
Aktivitas Antioksidan *A. muscoides*

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode transfer elektron menggunakan DPPH sebagai radikal bebas. Aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan ekstrak *A. muscoides* dalam mengurangi absorbansi radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*). Prinsip kerja metode ini berdasarkan kemampuan substansi antioksidan dalam menetralsir radikal bebas. Senyawa berfungsi sebagai antioksidan apabila mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk mengikat DPPH sehingga terbentuk DPPH yang tereduksi. Reduksi DPPH ditandai dengan berubahnya warna awal DPPH (ungu) menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004; Sheikh *et al.*, 2009).

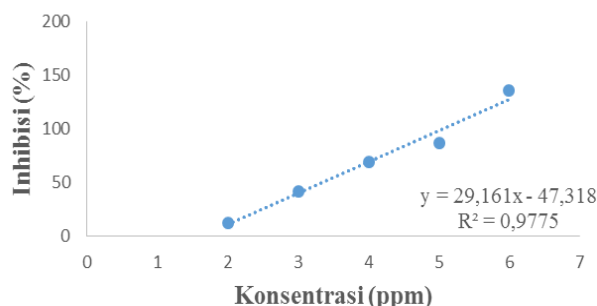
Tabel 2. Nilai Absorbansi, %Inhibisi dan IC50 Ekstrak *A. muscoides*

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi Sampel Uji + DPPH	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Metanol	50	1,453	0,895	38,4033	325,47
	100		0,875	39,7798	
	150		0,818	43,7027	
	200		0,794	45,3544	
	250		0,778	46,4556	
n-heksan	50	1,453	0,806	44,5286	351,27
	100		0,781	46,2491	
	150		0,778	46,4556	
	200		0,773	46,7997	
	250		0,747	48,5891	
Vitamin C	2	0,727	0,635	12,6548	3,34
	3		0,425	41,5406	
	4		0,221	69,6011	
	5		0,093	87,2077	
	6		-0,259	135,625	

Aktivitas antioksidan pada sampel dinyatakan dalam persen inhibisinya terhadap radikal bebas DPPH. Persen inhibisi didapat dari pengurangan nilai absorbansi DPPH dengan absorbansi DPPH ditambah ekstrak. Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil adalah nilai IC₅₀. IC₅₀ merupakan konsentrasi suatu sampel dalam meredam 50% aktivitas radikal bebas DPPH.



Gambar 1. Grafik Inhibisi Ekstrak ditambah DPPH



Gambar 2. Grafik Inhibisi Vit. C ditambah DPPH

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} pada ekstrak *A. muscoides* berturut-turut 325,47 ppm (metanol) dan 351,27 ppm (n-heksan). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm dan sangat lemah jika lebih dari 200 ppm (Mardawati *et al.*, 2008). Aktivitas antioksidan pada sampel tergolong sangat lemah. Hasil ini sangat jauh berbeda dibanding dengan Zakaria *et al.* (2011) serta Kumar dan Jeyaprakash (2015). Nilai IC_{50} Sampel *Acanthophora* kering dan basah dibawah 50 ppm pada semua pelarut, baik *non*-polar, semi polar dan juga polar (n-heksan, dietil eter, etil asetat, kloroform, butanol dan juga metanol) (Zakaria *et al.*, 2011) serta 56,75 ppm (Kumar dan Jeyaprakash, 2015).

Aktivitas antioksidan pada sampel diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor lainnya seperti zat pengotor, parameter lingkungan lokasi pengambilan sampel dan juga jenis sampel. Sampel yang diuji masih berupa ekstrak kasar sehingga diduga masih memiliki kandungan senyawa lain misal garam, mineral dan nutrisi lain yang menghambat kerja dari senyawa antioksidan (Wikanta *et al.*, 2005). Jensen *et al.* (2001) menyatakan setiap lokasi memiliki karakteristik dan nilai parameter lingkungan yang berbeda. Kondisi lingkungan lokasi pengambilan sampel seperti kedalaman, suhu dan intensitas cahaya matahari akan mempengaruhi komposisi lipid dan pigmen pada suatu sampel sehingga berpengaruh pada kandungan vitamin dan juga antioksidan. Proses biosintesis senyawa antioksidan akan menghasilkan senyawa yang optimal apabila kondisi lingkungannya mendukung. Hal ini karena proses biosintesis berawal dari proses fotosintesis. Selain itu, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan berawal dari metabolit primer yang dihasilkan dari proses fotosintesis (Taiz dan Zeiger, 2002). Jenis sampel (kering atau segar) mempengaruhi aktivitas antioksidan karena proses pengeringan dapat mengurangi senyawa yang berperan sebagai antioksidan misal senyawa fenolat di suatu sampel (Santoso *et al.*, 2010), sehingga aktivitas antioksidan terbaik terdapat pada sampel basah (Sari *et al.*, 2015; Rifkowsky dan Wardanu, 2016).

Kadar Total Fenolat

Kadar total fenolat dihitung secara spektrofotometri menggunakan asam galat sebagai standar. Nilai regresi linier dari konsentrasi asam galat dengan nilai absorbansinya digunakan untuk menentukan nilai kadar total fenolat.

Kadar total fenolat pada sampel menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan memiliki nilai yang lebih tinggi dibanding dengan ekstrak metanol dengan nilai masing masing 46,19 dan 22,68 (mg GAE/g ekstrak). Hal ini mengindikasikan senyawa fenolat yang terdapat pada ekstrak *A. muscoides* bersifat *non-polar* (lignin, flavonoid dan quercetin). Senyawa fenolat terbanyak tidak selalu terdapat dalam ekstrak polar (Harborne, 1987), namun tergantung dari struktur senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel (Sheikh *et al.*, 2009). Hasil ini menunjukkan nilai yang lebih

Tabel 3. Kadar Total Fenolat

Pelarut	Total Fenolat (mg GAE/g ekstrak)
Metanol	22,68
n-heksan	46,19

tinggi dibanding penelitian sebelumnya yaitu 29,917 mg GAE/g ekstrak (n-heksan) dan 5,33 – 7,837 mg GAE/g ekstrak (metanol) pada sampel kering *Acanthophora* (Zakaria *et al.*, 2011). Hasil ini menunjukkan nilai yang lebih rendah apabila dibanding Kumar dan Jeyaprakash (2015) dengan kadar total fenolat 217,59 mg GAE/g ekstrak (metanol) pada sampel segar *Acanthophora*. Perbedaan ini diduga karena perbedaan jenis sampel yang digunakan. Sampel segar menunjukkan kandungan total fenolat yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan senyawa fenolat memiliki sifat mudah teroksidasi dan sensitif terhadap perlakuan panas (Santoso *et al.*, 2010). Suhu dan waktu ekstraksi juga berpengaruh terhadap kandungan total fenolat (Sari *et al.*, 2013). Selain perlakuan sampel, perbedaan kandungan total fenolat juga dapat disebabkan oleh metode ekstraksi yang digunakan. Proses ekstraksi melalui soxhletasi lebih efektif dibanding melalui partisi menggunakan *separatory funnel* (Zakaria *et al.*, 2011).

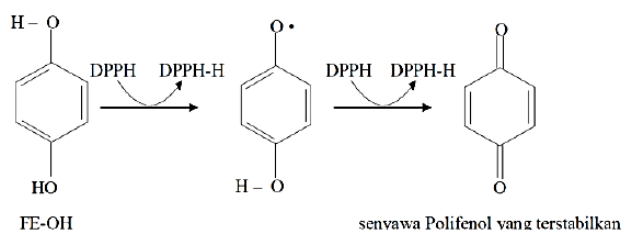
Senyawa fenolat memiliki aktivitas antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas. Senyawa fenolat yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenolat yang memiliki gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi ortho dan para (Andayani *et al.*, 2008).

Kadar total fenolat pada sampel tidak menunjukkan nilai yang berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol lebih tinggi (325,47 ppm) dibanding n-heksan (351,47 ppm), sedangkan kadar total fenolat tertinggi terdapat pada ekstrak n-heksan (46,19 mg GAE/g ekstrak) dibanding ekstrak metanol (22,68 mg GAE/g ekstrak). Putranti (2013) dan Chayati dan Miladiyah (2014) menambahkan tidak adanya korelasi positif antara kandungan total fenolat dengan aktivitas antioksidan. Hal ini diduga karena adanya senyawa antioksidan lain selain senyawa fenolat. Meskipun senyawa fenolat adalah senyawa utama yang berperan pada efek antioksidan, namun senyawa *non*-fenolat seringkali juga terlibat (Aljadi dan Kamaruddin, 2004).

Kadar Pigmen Klorofil a dan Karotenoid

Kadar klorofil a dan karotenoid diukur pada panjang gelombang (λ) 470, 646 dan 663 nm. Kadar klorofil a pada ekstrak n-heksan sebesar 24,93 mg/g sampel, lebih tinggi dibanding ekstrak metanol yaitu 7,72 mg/g sampel. Klorofil termasuk pigmen *non*-polar sehingga dapat larut dalam pelarut *non*-polar (Masojidek *et al.*, 2004; dan Sedjati *et al.* 2012). Kadar klorofil a pada rumput laut merah menunjukkan nilai yang terkecil dibanding dengan rumput laut hijau dan coklat (Fleurence dan Levine, 2016).

Klorofil dapat meredam radikal bebas karena adanya logam Mg yang terkelat dan kerangka porfirin yang dimilikinya. Logam yang terkelat itu membuat radikal bebas cenderung memberikan elektronnya kepada logam Mg tersebut, sehingga dapat menetralkan karakter radikal bebas.



Gambar 3. Penangkapan Radikal Bebas oleh Fenol

Tabel 4. Kadar Pigmen

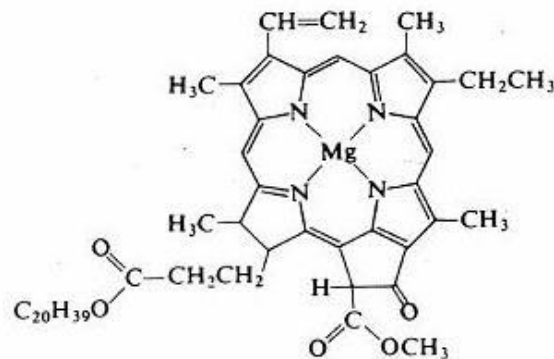
Pelarut	Kadar Pigmen	
	Klorofil a (mg/g sampel)	Karotenoid (μ mol/g sampel)
Metanol	7,72	28,52
n-heksan	24,93	68,55

Logam Mg pada klorofil dapat berpengaruh pada aktivitas antioksidan klorofil jika dalam bentuk terkelat bukan dalam bentuk ionik (Endo *et al.*, 1985).

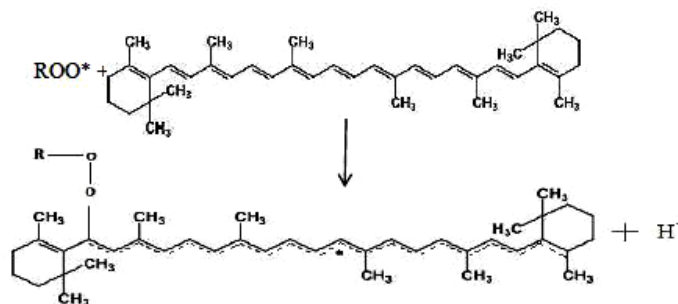
Kadar karotenoid tertinggi terdapat pada ekstrak n-heksan 68,55 $\mu\text{mol/g}$ sampel dibandingkan dengan ekstrak metanol 28,52 $\mu\text{mol/g}$ sampel. Hal ini diduga kandungan karotenoid pada sampel termasuk golongan *non-polar* (α -karoten dan β -karoten). Senyawa karoten mengandung hidrokarbon tak jenuh sehingga dapat melarutkan senyawa karoten yang *non-polar* seperti α -karoten dan β -karoten. Kandungan karoten pada beberapa rumput laut merah bervariasi dari 0,5 – 52,5% berat kering (Esteban *et al.*, 2008). Fleurence dan Levine (2016) menambahkan variasi kandungan pigmen dipengaruhi oleh faktor musim, lokasi geografi tempat tumbuh, jenis spesies, umur panen hingga kondisi lingkungan.

Karotenoid sebagai antioksidan mampu melindungi sel dan organisme dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas yang dihasilkan tubuh pada waktu metabolisme. Perlindungan tersebut karena karotenoid mampu meniadakan aktivitas radikal bebas. Penghambatan radikal bebas oleh karotenoid dilakukan oleh β -karoten. Aktivitas antioksidan β -karoten dapat menunjukkan pengaruh pro-oksidan secara autokatalitik (Limantara & Rahayu, 2008). Burton dan Ingold (1984) menjelaskan mekanisme kerja karotenoid berupa β -karoten yaitu dengan bereaksi dengan radikal peroksil sehingga terbentuk radikal ROO-Carotene (radikal ROO-CAR) dan terjadi delokalisasi elektron. Hal ini menyebabkan elektron tersebar di seluruh struktur β -karoten. β -karoten netral terbentuk apabila radikal ROO-CAR bereaksi dengan radikal ROOR-CAR.

Kadar pigmen, baik klorofil a dan karotenoid, juga tidak menunjukkan nilai yang berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya. Hasil perhitungan menunjukkan kadar pigmen tertinggi terdapat pada ekstrak n-heksan. Hal ini sesuai Biranti *et al.* (2009). Penyebab terjadinya hal ini diduga karena terdapat zat pengotor berupa komponen lain dalam pigmen yang menghambat kinerja antioksidan misal garam, mineral atau nutrisi lainnya (Wikanta *et al.*, 2005).



Gambar 4. Logam Mg Terkelat pada Klorofil



Gambar 5. Mekanisme β -karoten Mereduksi Radikal Bebas

KESIMPULAN

Nilai IC₅₀ ekstrak metanol *A. muscoides* sebesar 325,47 ppm dan ekstrak n- heksan sebesar 351,27 ppm. Keduanya memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat lemah. Kandungan total fenolat ekstrak metanol dan n-heksan masing-masing sebesar 22,68 dan 46,19 (mg GAE/g ekstrak), kadar klorofil a 7,72 dan 24,93 (µmol/g sampel) serta kadar karotenoid 28,52 dan 68,55 (µmol/g sampel).

DAFTAR PUSTAKA

- Aljadi, A. M., dan M. Y. Kamaruddin. 2004. Evaluation of The Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Two Malaysian Floral Honeys. *Journal of Food Chemistry*. 85(4): 513-518.
- Andayani, R., Maimunah dan Y. Lisawati. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13: 1-9.
- Atmadja, W. S., A. Kadi, Sulistijo dan R. Satari. 1996. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Biranti, F., M. Nursid, dan B. Cahyono. 2009. Analisis Kuantitatif β-Karoten dan Uji Aktivitas Karotenoid dalam Alga Coklat *Turbinaria decurrens*. *Jurnal Sains dan Matematika (JSM)*. 17(2): 90-96.
- Burton, W. dan Ingold, U. 1984. B-Carotene: An Unusual Type of Lipid Antioxidant. *Science* 224: 569-573.
- Chayati, I., dan I. Miladiyah. 2014. Kandungan Komponen Fenolat, Kadar Fenolat Total, dan Aktivitas Antioksidan Madu dari Beberapa Daerah di Jawa dan Sumatra. *MGMI* 6(1): 11-24.
- Devi, P., W. Solimabi, L. D. Souza, S. Y. Sonak, S. Y. S. Singbal. 1997. Screening of Some Marine Plants for Activity Against Marine Fouling Bacteria. *Botanica Marina*, 40: 87-91
- Duarte, M. E. R., J. R. Cauduro, G. D. Nosedo, M. D. Nosedo, A. G. Goncalves, C. A. Pujol, E. B. Damonte dan A. S. Cerezo. 2004. The structure of 23 the Agaran Sulfate from *Acanthophora spicifera* Composition and Antibacterial Activity of (Rhodomelaceae, Ceramiales) and its Antiviral Activity. Relation Between Structure and Antiviral Activity in Agarans. *Carbohydrate Research*, 35-347
- Endo, Y., R. Usuki, dan T. Kaneda. 1985. Antioxidant Effects of Chlorophyll and Pheophytin on the Autoxidation of Oils in the Dark. The Mechanism of Antioxidative Action of Chlorophyll. *Journal of the American Oil Chemists Society* 62(9) : 1387–1390.
- Esteban, R., B. Martinez, B. Fernandez-Marin, J. M. Becerril dan I. Garcia-Plazaola. 2008. Carotenoid Composition in Rhodophyta: Insights into Xanthophyll Regulation in *Corallina elongate*. *European Journal Phycology*. 44(2): 221-230.
- Fleurence, J., dan I. Levine. 2016. *Seaweed in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. ISBN: 978-0-12-802772-1
- Ganesan P., C.S. Kumar, dan N. Bhaskar. 2008. Antioxidant Properties of Methanol Extracts and its Solvent Fractions Obtained from India Red Seaweeds. *Bioresource Technology*, 99: 2717-2723.
- Gritter, R. J., M. B James dan E. S. Arthur. 1991. Pengantar Kromatografi. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata).
- Gupta, M.P., N. E. Gomez, A. I. Santana, P. N. Solis, dan G. Palacios. 1991. Antimicrobial Activity of Various Algae of The Panamian Atlantic Coast. *Review in Medical Panama*, 16: 64-8.
- Harborne. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro).
- Heo, S. J., S. H. Cha., K. W. Lee., S. K. Cho. dan Y. J. Jeon. 2005. Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. *Algae*, 20(3): 251-260.
- Jensen, G., G. I. Ginsberg dan C. Drapeu. 2001. Blue-Green Algae as an Immune-Enhancer and Biomodulator. *Jana* 3(4): 24-30

- Kochhar, S. P. dan J. B. Rossel. 1990. Detection, Estimation and Evaluation of Antioxidant in Food Systems. In: B.J.F. Hudson (Ed.), Food Antioxidant. Elsevier Applied Science, London and New York.
- Kumar, R., R. dan K. Jeyaprakash. 2015. Screening of Phytochemical and In Vitro Antioxidant Efficacy on Selected Red Seaweed (*Acanthophora spicifera*) Collected from Gulf of Mannar, Tamilnadu, India. World Journal of Pharmaceutical Research, 4(6): 1505-1518.
- Lavakumar, V., N. Ahamed dan V. Ravichandrian. 2011. Anticancer and Antioxidant Effect of *Acanthophora spicifera* Against EAC Induced Carcinoma in Mice. Journal of Pharmacy Research, 5(3): 1503-1507.
- Lavakumar, V. dan V. Ravichandrian. 2012. Antimicrobial Activity of *Acanthophora spicifera*. International Journal Research Pharmaceutical Sciences, 3(1): 176-178.
- Lichtentaler. H. K. 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes Methods in Enzimology. Weinheim: Verlag Chemie.
- Limantara, L. dan P. Rahayu. 2008. Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Pigmen Alami, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, p: 2-42.
- Mardawati, E., F. Fitry dan M. Herlina. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L*) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Padjajaran
- Masojidek, J., M. Koblizek, dan G. Torzillo. 2004. Photosynthesis in Microalgae in: A. Richmond (Ed). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blakwell Science Ltd., Iowa. P. 20-39
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical *Diphenylpicryl-hydrazil* (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakar J. Science Technology, 26(2): 211-219.
- Muniarsih, T dan Rachmaniar, R. 1999. Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu. *Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 151- 158.
- Priya, M., K., dan S.S. Khora. 2013. Ameliorative Effect of Red Algae *Acanthophora spicifera* Against Puffer Fish *Arothron hispidus* Induced Biochemical and Oxidative Stress in Mice. International Journal of Pharma and Bio Science, 4(3): 1043-1052.
- Putranti, R.,I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. [Tesis]. Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Qasim, R. 1991. Amino Acid Composition of Some Common Seaweeds. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 4(1): 49-54.
- Quindere, G. L. A., Fontes, P. B., Vanderlei, O. S. E., Queiroz, L. N. I., Rodrigues, G. A. J., Araujo, F. W. I., Jorge, B. J. R., Menezes, B. D., Silva, R. A. A., Chaves, V. H., Evangelista, M. A. S. J., Bezerra, M. M., Benevides, B. M. N. 2013. Peripheral Antinociception and Anti-Edematogenic Effect of a Sulfated Polysaccharide from *Acanthophora muscoides*. Pharmacological Reports. ISSN 1734-1140.
- Rifkowaty, E. E., A. P. Wardanu. 2016. Pengaruh Ekstraksi Cara Basah dan Cara Kering Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cengkodok (*Melastoma malabathricum L.*). Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 5(1): 10-15.
- Santoso, J., N. Aryudhani and S. H. Suseno. 2010. Kandungan Senyawa Fenol Rumput Laut Hijau *Caulerpa racemosa* dan Aktivitas Antioksidannya. Jurnal Kelautan Nasional, 2: 109-118.
- Santoso, J., S. Anwariyah, R. O. Rumiantin, A. P. Putri, N. Ukhty dan Y. Yoshie Stark. 2012. Phenol Content, Antioxidant Activity and Fibers profile of Four Tropical Seagrasses from Indonesia. Journal of Coastal Development, 15(2): 189-196.
- Sari, B. L., N. Susanti dan Sutanto. 2015. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Alga Merah *Eucheuma spinosum*. Journal Pharm. Sci. Res. 2(1). 59-67.
- Sari, K. D., D. H. Wardani, A. Prasetyaningrum. 2013. Kajian Isolasi Senyawa Fenolik Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Berbantu Gelombang Mikro dengan Variasi Suhu dan Waktu. Jurnal Teknik Kimia (3):19. 38-43

- Sedjati, S., Yudiati dan Suryono. 2012. Profil Pigmen Polar Mikroalga Laut *Spirulina* sp. dan Potensinya Sebagai Pewarna Alami. Indonesian Journal of Marine Science, 17(3). 176-181.
- Sharma, G. N., S. K. Dubey, N. Sati and J. Sanadaya. 2011. Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Content in *Aegle marmelos* Seeds. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 3(2): 27-29.
- Sheikh, T. Z. B., C.L. Yong dan M.S. Lian. 2009. In Vito Antioxidant Activity of The Hexane and Methanolic Extracts of *Sargassum baccularia* and *Cladophora patentiramea*. Journal of Applied Sciences. 13(9): 2490-2493
- Taiz, L., dan Zeiger, E. 2002. Plant Physiology, 3rd edition. Aannals of Botany 91: 750-751
- Thompson, E.B. 1985. Drug Bioscreening. America: Graceway Publishing Company, Inc. Pp. 40, 118.
- Wahidulla, S., L.D. Souza dan S.Y. Kamax 1986. Chemical Constituents of the Red Algae *Acanthophora spicifera*. Bot. mar. 29: 49 - 50.
- Wikanta, T., H.D. Januar dan M. Nursed. 2005. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Sitoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhododymenia palmate*. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. 11(4): 41-49
- Winarsi, H, 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius, Yogyakarta.
- Yangthong, M., N. Hutadilok-Towatana, dan W. Phromkunthong. 2009. Antioxidant Activities of Four Edible Seaweeds from the Southern Coast of Thailand. Plant Foods Human Nutrition, 64: 218-223
- Zakaria, N. A., D. Ibrahim, S. F. Shaida dan A.N. Supardy. 2011^a. Phytochemical Composition and Antibacterial Potential of Hexane Extract from Malaysian Red Algae *Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen. World Applied Sciences Journal. 15(4): 496-501.
- Zakaria, N. A., D. Ibrahim, S. F. Shaida dan A.N. Supardy. 2011^b. Assessment of Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Invitro Toxicity of Malaysian Red Seaweed, *Acanthophora spicifera*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 3(3): 182-191.