

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR FENOLIK TOTAL DARI GANGGANG MERAH (*Gracilaria verrucosa* L.)

[Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Red Sea Weed (*Gracilaria verrucosa* L.)]

Lydia Ninan Lestario¹⁾, Stefanli Sugiarto¹⁾, dan K.H. Timotius¹⁾

¹⁾ Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. Diponegoro 52-60, Salatiga

Diterima 2 Januari 2008 / Disetujui 30 Juni 2008

ABSTRACT

The aims of this study were to compare the antioxidant activity and the total phenolic content of red sea weed (*Gracilaria verrucosa* L.) from extract of methanol, ethanol, acetone, chloroform and hexane; and the correlation between total phenolic content and the antioxidant activity of each extract; then to determine the chlorophyll a, chlorophyll b, and carotene content of each extract and their correlation with the free radical scavenging activity as well.

The antioxidant activity were measured by free radical scavenging method with DPPH and by reducing power method with $K_4Fe(CN)_6$ as standard, whereas the total phenolic content was measured by Folin Ciocalteu method with gallic acid as standard. Chlorophyll a, chlorophyll b, and carotene were determined by spectrophotometric method based on Lambert-Beer law. The data of antioxidant activity and total phenolic content were statistically analyzed by Randomized Completely Block Design (RCBD) with five kinds of solvents as treatments and five replications. Honestly Significant Difference Test (HSDT) was used to compare the difference of treatments; whereas the chlorophyll a, chlorophyll b, and carotene content were not statistically analyzed since they were only supplement data.

The results showed that the highest of the antioxidant activity by free radical scavenging method was found in acetone extract : 43.43% (BHT: 84.15%); whereas by reducing power method was found in chloroform extract : 0.1756 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ extract (BHT : 6.1767 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ extract); and the highest of the total phenolic content was also found in acetone extract : 45.29 mg /g extract. There were close correlation between phenolic content and antioxidant activity both by free radical scavenging method and by reducing power method with r (coefficient correlation) respectively 0.89 and 0.91. Chlorophyll a and carotene had also close correlation with the free radical scavenging activity, but not for chlorophyll b.

Key words : antioxidant activity, free radical scavenging activity, reducing power, phenolic content, chlorophyll, carotene

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta berubahnya pola hidup masyarakat seperti mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung minyak dan lemak dapat mengakibatkan terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh yang dapat menyebabkan munculnya penyakit seperti kanker, katarak, dan arterosklerosis. Oleh karena itu, kesehatan sangatlah penting untuk dijaga dengan gizi seimbang, termasuk mengkonsumsi makanan berantioksidan.

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Senyawa ini harus mencari elektron lain sebagai pasangan untuk mencapai kestabilan. Reaksi ini terjadi secara berantai dan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang lebih banyak dalam tubuh. Reaksi berantai ini dapat diredam bila tubuh memiliki senyawa penangkap radikal bebas. Senyawa ini dapat diperoleh dari konsumsi makanan yang bergizi seperti sayuran dan buah.

Senyawa penangkap radikal bebas disebut antioksidan. Fungsi utama antioksidan pada lemak dan minyak untuk memperlambat terjadinya proses oksidasi. Tubuh manusia juga dapat menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi masih belum mencukupi untuk menangkap radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh. Untuk mengatasi kekurangan senyawa antioksidan dalam tubuh, sebaiknya perlu mengkonsumsi makanan yang mengandung senyawa antioksidan seperti vitamin, mineral, dan karotenoid (Hernani, 2004).

Ganggang merupakan salah satu sumber makanan yang mengandung senyawa antioksidan. Jenis ganggang di Indonesia yang mempunyai nilai ekonomis dan yang sering digunakan adalah ganggang merah karena komposisinya sangat kompleks, yaitu : agar-agar, karagenan, furcellaran, klorofil, karoten, fikobilin yang terdiri dari fikosianin dan fikoeritrin, protein, lemak, klor, kalium, natrium, magnesium, belerang, silikon, fosfor, kalsium, besi, iodium, dan brom (Indriani dan Sumiarsih, 1991; Soegiarto *et al.* 1978).

Penelitian terhadap kandungan senyawa antioksidan dari beberapa spesies ganggang dengan metode penangkapan radikal bebas oleh 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) telah dilakukan oleh Yan *et al.* (1999), diantaranya ganggang hijau yang memiliki aktivitas antioksidan kurang dari 20 % dan ganggang coklat dari spesies *Hijikia fusiformis* yang memiliki aktivitas antioksidan sampai 65 %, namun aktivitas antioksidan dari ganggang merah, khususnya dari spesies *Gracilaria verrucosa*, belum dilakukan. Menurut Sreenivasan *et al.* (2007) ganggang merah mengandung beberapa macam senyawa fenolik, misalnya : asam kafeat, asam ferulat, dan asam vanilat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan aktivitas antioksidan dan kadar fenolik total berbagai ekstrak *G. verrucosa* L., yang diekstrak dengan beberapa jenis pelarut, mengetahui korelasi antara kadar fenolik dan aktivitas antioksidan, sehingga dapat diketahui peran fenolik terhadap aktivitas antioksidan. Tujuan selanjutnya adalah mengetahui adanya peran klorofil a, klorofil b, dan karoten dari berbagai ekstrak tersebut terhadap aktivitas penangkapan radikal bebasnya.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Ganggang merah (*G. verrucosa* L.) diperoleh dari tambak di daerah Brebes. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah metanol, etanol, aseton, kloroform, heksana, sedang untuk analisis digunakan akuades, DPPH DMSO (*Dimethyl Sulfoksida*), buffer tris-HCl, asam galat, natrium karbonat, reagen *Folin Ciocalteu*, BHT (*Butil-hidroksitoluen*), TCA (*Trichloroacetic acid*), $K_4Fe(CN)_6$, $K_3Fe(CN)_6$, $FeCl_3$. Alat-alat yang digunakan adalah *rotary evaporator* (Heidolph 4000), mikropipet, spektrofotometer UV-Vis (Mini Shimadzu U-1240), neraca analitis, dan peralatan gelas.

Metode

Ekstraksi Sampel (Revilla *et al.* 1998 yang telah dimodifikasi; Duh, 1998 yang telah dimodifikasi)

Ganggang kering yang telah dipotong kecil-kecil dimaserasi selama 4 jam dengan 5 jenis pelarut, yaitu : metanol, etanol, aseton, kloroform, dan heksana dengan perbandingan sampel terhadap pelarut 1 : 5 (w/v), kemudian disaring. Residu dimaserasi 2 kali lagi, masing-masing selama 12 jam dan 4 jam, kemudian disaring. Filtrat disatukan dan pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 30 °C, dilanjutkan dengan pengeringan dengan gas N_2 .

Pengukuran kadar fenolik total (Jayaprakasha *et al.* 2002)

Ditimbang sejumlah ekstrak kering, lalu dilarutkan dengan DMSO dengan volume sesuai dengan

konsentrasi yang dikehendaki (misal 200 ppm, ditimbang 20 mg ekstrak, dan dilarutkan dalam 100 mL DMSO, (w/v). Untuk pengukuran fenolik total, diambil 0.2 ml lalu ditambah 0.8 ml natrium karbonat 7.5 % dan 1 ml reagen Folin Ciocalteu 10 %. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (27-29 °C) dalam keadaan gelap selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Sebagai blanko digunakan DMSO, dan sebagai standar digunakan asam galat.

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas (Negi *et al.* 2004 yang dimodifikasi; Mokbel and Hashinaga, 2005 yang dimodifikasi)

Metode pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas yang stabil dari DPPH, secara luas telah digunakan untuk menguji sifat antioksidatif suatu bahan, khususnya dalam bertindak sebagai 'pembersih/penangkap' radikal bebas. Molekul DPPH dikarakterisasikan sebagai radikal bebas yang stabil, dan ketika DPPH direaksikan dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, DPPH akan tereduksi dan kehilangan warna violetnya menjadi warna kuning pucat (Molyneux, 2004).

Ditimbang sejumlah ekstrak kering dan dilarutkan dengan DMSO dengan volume sesuai dengan konsentrasi yang dikehendaki (misal 200 ppm, ditimbang 20 mg ekstrak, dan dilarutkan dalam 100 mL DMSO, (w/v). Diambil 0.2 ml dari larutan tersebut, lalu ditambah 1 ml DPPH 0.4 mM dalam metanol dan 0.8 ml buffer tris-HCl 100 mM pH 7.4. Larutan diinkubasi pada suhu ruang (27-29 °C) dalam keadaan gelap selama 20 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai blanko digunakan 1 ml metanol ditambah 0.2 ml DMSO dan 0.8 ml buffer tris-HCl. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % penangkapan radikal bebas.

$$\% \text{ penangkapan radikal bebas} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan : A_0 = absorbansi DPPH setelah diinkubasi 20 menit

A = absorbansi sampel + DPPH setelah diinkubasi 20 menit

Penghitungan nilai IC_{50} dari aktivitas penangkapan radikal bebas oleh DPPH

Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat oksidasi sebesar 50 %, dalam hal ini untuk 'menangkap' 50% DPPH. Untuk mengetahui nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*), ekstrak dilarutkan dalam DMSO dalam beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing larutan ekstrak diukur aktivitas antioksidannya. Setelah itu dibuat grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak (mg/mL) dengan aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas (%) sehingga diperoleh persamaan garis linier. Berdasarkan persamaan garis

itu, dapat ditentukan konsentrasi ekstrak pada saat aktivitas antioksidan mencapai 50 %. Dengan demikian, nilai IC₅₀ yang rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dan nilai IC₅₀ yang tinggi menunjukkan aktivitas antioksidan yang rendah. Nilai IC₅₀ dinyatakan sebagai mg/ mL atau µg/ mL.

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi (Yildirim et al. 2001)

Metode pengukuran aktivitas antioksidan dengan kemampuan mereduksi ini didasarkan pada terbentuknya senyawa Fe(CN)₆⁴⁻ yang merupakan hasil reduksi dari senyawa Fe(CN)₆³⁻. Senyawa ini akan membentuk kompleks dengan Fe⁺³ menjadi Fe₄(Fe(CN)₆)₃ yang berwarna biru berlin (Qian et al. 2004).

Ditimbang sejumlah ekstrak kering dan dilarutkan dengan DMSO dengan volume sesuai dengan konsentrasi yang dikehendaki (misal 200 ppm, ditimbang 20 mg ekstrak/ 100 mL DMSO, w/v). Diambil 0.5 ml lalu ditambah dengan 1.25 ml buffer fosfat 0.2 M pH 6.6 dan 1.25 ml K₃Fe(CN)₆ 1 %. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu 50 °C selama 30 menit, lalu ditambah dengan 1.25 ml TCA 10 % dan disentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit. Diambil supernatannya (bagian atas larutan) sebanyak 1.25 ml lalu ditambah dengan 1.25 ml DMSO dan 0.25 ml FeCl₃ 0.10 %. Larutan tersebut diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm. Sebagai blanko, sampel diganti dengan DMSO, sedangkan sebagai standar digunakan K₄Fe(CN)₆. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai meq (miliequivalent) K₄Fe(CN)₆. Untuk menghitung aktivitas antioksidan, dibuat kurva standar antara berbagai konsentrasi K₄Fe(CN)₆ dalam miliequivalent dengan absorbansi, kemudian nilai absorbansi dari sampel dimasukkan ke dalam persamaan garis linier yang diperoleh.

Pengukuran kadar klorofil a, klorofil b, dan karoten (Lichtenthaler, 1987)

Ditimbang sejumlah ekstrak kering dan dilarutkan dengan aseton 80 % dengan volume sesuai dengan konsentrasi yang dikehendaki (misal 200 ppm, ditimbang 20 mg ekstrak/100 mL DMSO, w/v), kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 663, 646, dan 470 nm. Kandungan klorofil a, klorofil b, dan karoten dihitung dengan rumus :

$$Ca = 12.21 A_{663} - 2.81 A_{646}$$

$$Cb = 20.13 A_{663} - 5.03 A_{646}$$

$$Cx+c = \frac{1000 A_{470} - 3.27Ca - 104 Cb}{229}$$

Keterangan : Ca = Klorofil a
 Cb = Klorofil b
 Cx+c = Karoten

Rancangan percobaan dan analisa data

Data - data aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas dan dengan kemampuan mereduksi serta kadar fenolik dianalisis dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan lima jenis pelarut sebagai perlakuan dan lima ulangan. Untuk mengetahui adanya beda antar perlakuan, digunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kepercayaan 5 %, sedangkan data kadar klorofil a, klorofil b, dan karoten tidak dianalisis secara statistik karena dianggap sebagai pelengkap/data sekunder saja.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar fenolik total

Hasil pengukuran kadar fenolik total dari ekstrak rumput laut merah dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa kadar fenolik total dari ekstrak *G. verrucosa* L. tertinggi terdapat pada ekstrak aseton dan ekstrak kloroform, yang saling tidak berbeda nyata secara statistik. Hal ini berarti senyawa fenolik dalam rumput laut merah bersifat semi polar.

Tabel 1 Kadar fenolik total berbagai ekstrak *G. verrucosa* L.

Ekstrak	Kadar fenolik (mg/g ekstrak)
Metanol	20.01 ± 1.39 (a) *)
Etanol	31.38 ± 5.45 (a)
Aseton	45.29 ± 5.23 (b)
Kloroform	45.25 ± 9.06 (b)
Heksana	30.10 ± 3.40 (a)

*) huruf yang sama menunjukkan secara statistik tidak berbeda nyata

Kandungan fenolik total dari *G. verrucosa* L. ini (45.29 mg/g ekstrak) lebih tinggi bila dibandingkan kandungan fenolik total rumput laut merah lain dari spesies yang berbeda, yaitu *G. edulis* 16,26 mg/g ekstrak (Ganesan et al. 2008) maupun *G. changii* 5.0 mg/g (Sreenivasan et al. 2007), namun lebih rendah bila dibandingkan kandungan fenolik rumput laut coklat *Sargassum siliquastrum* 127.4 mg/g ekstrak (Cho et al. 2007).

Bila dibandingkan kadar fenolik dari beberapa jenis sayur yang diekstrak dengan aseton 70%, kadar fenolik *G. verrucosa* L. ini jauh lebih besar, misalnya daun ketimun 3.8 mg/g, daun wortel 7.4 mg/g, wortel 0.6 mg/g, tomat 2.0 mg/g, kapri 1.6 mg/g (Kahkonen et al. 1999). Beberapa herba dan tanaman obat mempunyai kadar fenolik total yang hampir menyamai kadar fenolik *G. verucosa*, antara lain: 'bog-rosemary' (*Andromeda polifolia glaucophylla*) 32.8 mg/g, 'willow herb' (*Epilobium angustifolium*) 32.2 mg/g, bunga 'camomile' (*Matricaria chamomilla*) 9.1 mg/g, thyme (*Thymus vulgaris*) 17.1 mg/g (Kahkonen et al. 1999), namun beberapa tanaman obat lain kandungan fenoliknya lebih tinggi daripada *G. verucosa*, antara lain kulit batang *Cassia equisetifolia* 72.1 mg/g, buah *Lawsonia inermis* 75.8 mg/g, buah *C. fistula* 107.8 mg/g (Prakash et al. 2007).

Aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH

Data hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Aktivitas antioksidan berbagai ekstrak *G. verrucosa* L. dengan metode penangkapan radikal bebas

Ekstrak (200 ppm)	Penangkapan radikal bebas (%)
Metanol	19.71 ± 1.63 (a) *
Etanol	24.37 ± 6.82 (a)
Aseton	43.43 ± 7.00 (b)
Kloroform	37.78 ± 11.02 (b)
Heksana	16.39 ± 4.69 (a)
BHT	84.15 ± 3.82 (**)

*) huruf yang sama menunjukkan secara statistik tidak berbeda nyata
 **) dianalisis bersama dengan sampel, namun tidak dianalisis secara statistik

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase penangkapan radikal bebas tertinggi terdapat pada ekstrak aseton (43.43 %) dan ekstrak kloroform (37.78 %), yang saling tidak berbeda nyata secara statistik dan lebih tinggi secara nyata jika dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Hal ini menunjukkan pelarut aseton dan kloroform lebih dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa – senyawa antioksidan yang terdapat dalam *G. verrucosa* L. daripada pelarut-pelarut lain dan juga berarti senyawa-senyawa antioksidan dalam *G. verrucosa* L. bersifat semi polar.

Hasil dalam penelitian agak berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yan *et al.* (1999), yang mendapatkan aktivitas antioksidan tertinggi dari beberapa rumput laut adalah dari ekstrak metanol, antara lain pada *Undaria pinatifida*, *Sargassum fulvellum*, dan *Hijikia fusiformis* dengan aktivitas antioksidan berturut-turut sebesar 51.1, 36.3, dan 65.0 % .

Nilai IC₅₀ dari aktivitas penangkapan radikal bebas oleh DPPH

Nilai IC₅₀ dari aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH dapat dilihat pada Tabel 3, yang menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) terkecil – yang berarti aktivitas antioksidan terbesar - terdapat pada ekstrak aseton (262.26 µg/ml) dan kloroform (339.02 µg/ml), yang saling tidak berbeda nyata secara statistik. Nilai IC₅₀ ekstrak aseton tiga kali lebih besar daripada BHT, yang berarti aktivitas antioksidan aseton lebih kecil sepertiganya daripada aktivitas antioksidan BHT.

Aktivitas antioksidan ekstrak aseton *G. verrucosa* L. lebih besar daripada *G. changii* dan setara dengan daun ginseng jawa, yang tercermin dari nilai IC₅₀ ekstrak 80 % metanol dari *G. changii* sebesar 14.70 mg/ml (Sreenivasan *et al.* 1997), nilai IC₅₀ ekstrak etanol dari daun ginseng jawa (*Talinum paniculatum*) sebesar 273.13 µg/mL (Lestario *et al.* 2008).

Tabel 3 Nilai IC₅₀ dari berbagai ekstrak *G. verrucosa* L. dengan metode penangkapan radikal bebas

Ekstrak (200 ppm)	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)
Metanol	1680.59 ± 385.15 (b) *)
Etanol	900.52 ± 188.30 (ab)
Aseton	262.26 ± 71.68 (a)
Kloroform	339.02 ± 103.84 (a)
Heksana	1957.81 ± 669.17 (bc)
BHT	80.07 ± 12.62 (**)

*) huruf yang sama menunjukkan secara statistik tidak berbeda nyata
 **) dianalisis bersama dengan sampel, namun tidak dianalisis secara statistik

Hubungan/korelasi antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH

Hubungan antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan nilai r (koefisien korelasi) sebesar 0.8926. Hal ini berarti ada korelasi yang erat antara kadar fenolik total pada *G. verrucosa* L. dengan aktivitas antioksidannya, yang berarti senyawa fenolik yang ada dalam *G. verrucosa* L. mempunyai peranan yang cukup besar dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan.

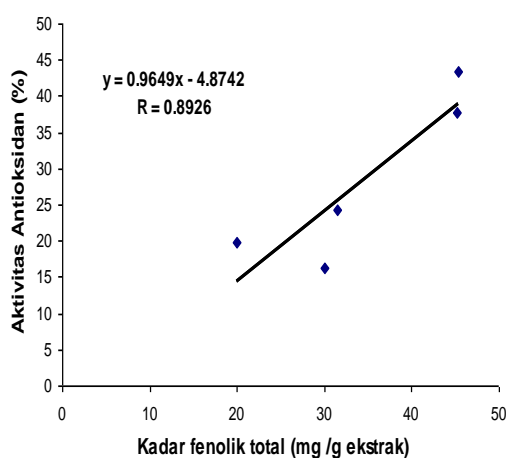
Korelasi antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidan tidak selalu terjadi, misalnya pada ekstrak *Sargassum siliquastrum* tidak menunjukkan korelasi antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidannya (Lim *et al.* 2002), yang menunjukkan bahwa senyawa fenolik dalam sampel tersebut kurang berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan. Hal ini berarti ada senyawa lain dalam sampel tersebut yang dapat berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan karena rumput laut juga mengandung senyawa-senyawa lain selain fenolik, seperti agar-agar, porpiran, furcellaran, protein, lemak, kalsium, unsur mineral, klorofil dan karoten (Indriani dan Sumiarsih, 1991).

Aktivitas antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi dapat dilihat pada Tabel 4, yang menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak kloroform (0.1756 meq K₄Fe(CN)₆/g ekstrak) dan ekstrak aseton (0.1473 meq K₄Fe(CN)₆/g ekstrak). Hal ini menunjukkan ekstrak kloroform dan ekstrak aseton paling mudah mereduksi ion Fe(CN)₆³⁻ dibandingkan ekstrak lainnya dan juga berarti bahwa senyawa-senyawa pereduksi dalam *G. verrucosa* L. bersifat semi polar.

Hasil ini agak berbeda dengan 'brown seaweed' (*Sargassum siliquastrum*), di mana kemampuan mereduksi tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol, yang menunjukkan bahwa senyawa pereduksinya bersifat polar (Cho *et al.* 2007), namun sejalan dengan 'Indian red seaweed' (*Eucheuma kappaphycus*) yang kemampuan mereduksi tertingginya terdapat pada

ekstrak etil asetat yang bersifat semi polar (Prakash *et al.* 2007).



Gambar 1 Korelasi antara kadar fenolik total ekstrak *G. verrucosa* L. dengan aktivitas antioksidan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH

Tabel 4 Aktivitas antioksidan dari berbagai ekstrak *G. verrucosa* L. dengan metode kemampuan mereduksi

Ekstrak (200 ppm)	Aktivitas antioksidan (meqK ₄ Fe(CN) ₆ /g ekstrak)
Metanol	0.0647 ± 0.0091 (a) *
Etanol	0.1121 ± 0.0347 (ab)
Aseton	0.1473 ± 0.0478 (bc)
Kloroform	0.1756 ± 0.0435 (c)
Heksana	0.0619 ± 0.014 (a)
BHT	6.1767 ± 0.2505 (**)

*) huruf yang sama menunjukkan secara statistik tidak berbeda nyata
 **) dianalisis bersama dengan sampel, namun tidak dianalisis secara statistik

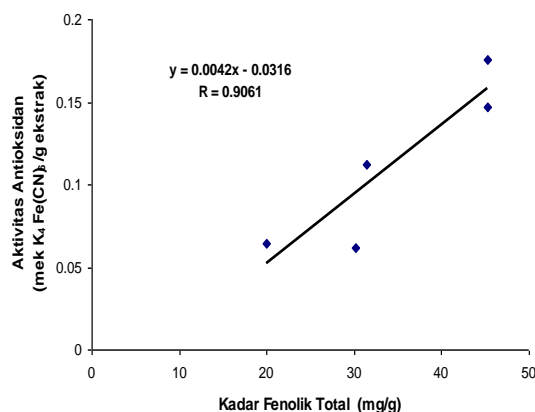
Kemampuan mereduksi dari ekstrak kloroform *G. verrucosa* L. ini (0.1756 meqK₄Fe(CN)₆/g ekstrak) sangat rendah dibandingkan dengan BHT (6.1767 meq K₄Fe(CN)₆/g ekstrak), yaitu kira-kira 35 kali lebih rendah, dan juga lebih rendah daripada kemampuan mereduksi daun *Talinum paniculatum*, yaitu sebesar 0.7022 meq K₄Fe(CN)₆/g ekstrak (Lestario *et al.* 2008).

Hubungan/korelasi antara kadar fenolik total dengan kemampuan mereduksinya

Pada Gambar 2 dapat dilihat adanya korelasi yang positif antara kadar fenolik total dari *G. verrucosa* L. dengan kemampuan mereduksinya, dengan nilai r (koefisien korelasi) yang sangat besar, yaitu 0.9061. Hal ini berarti ada hampir semua senyawa fenolik yang ada dalam *G. verrucosa* L. mempunyai kemampuan mereduksi.

Nilai r yang besar dari korelasi ini tidak dapat diartikan sebagai *tingginya* kemampuan mereduksi dari ekstrak *G. verrucosa* L., namun hanya menunjukkan bahwa hampir semua senyawa fenolik dalam ekstrak *G. verrucosa* L. dapat berperan sebagai senyawa pereduksi.

Di samping senyawa-senyawa fenolik, ekstrak rumput laut mungkin mengandung senyawa-senyawa lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya, seperti agar-agar, porpiran, furcellaran, protein, lemak, kalsium, unsur mineral, klorofil dan karoten (Indriani dan Sumiarsih, 1991). Oleh sebab itu dalam penelitian ini diukur juga kandungan klorofil a, klorofil b, dan karoten dari berbagai ekstrak *G. verrucosa* L.



Gambar 2 Korelasi antara kadar fenolik total ekstrak *G. verrucosa* L. dengan aktivitas antioksidan dengan metode kemampuan mereduksi

Kadar klorofil a, klorofil b, dan karoten dari berbagai ekstrak G. verrucosa L.

Kadar Klorofil a, klorofil b, dan karoten dari berbagai ekstrak rumput laut merah dilihat pada Tabel 5, yang menunjukkan kandungan klorofil a dan b yang terbesar terdapat pada ekstrak etanol, sedangkan kandungan karoten yang terbesar terdapat pada ekstrak kloroform. Hasil tersebut dapat dimengerti mengingat bahwa klorofil lebih bersifat polar karena adanya stuktur tetrapirrol yang bersifat polar disamping adanya rantai hidrofobik yang panjang yang disebut dengan fitol, sedangkan karoten yang terutama tersusun atas rantai isoprene yang tidak polar, menyebabkannya lebih larut dalam pelarut yang kurang polar (Gross, 1987).

Klorofil dapat mencegah proses oksidasi lipid dengan mekanisme pendonoran atom hidrogen, sehingga memutus rantai reaksi pembentukan radikal. Hidrogen yang didonorkan adalah yang terletak pada gugus metil pada klorofil a atau pada gugus aldehid pada klorofil b (Marquez *et al.* 2005). Salah satu anggota dari karoten adalah beta karoten yang berperan sebagai provitamin A dan mempunyai sifat sebagai antioksidan dengan mencegah pembentukan hidroperoksida dengan adanya radikal oksigen (Gross, 1987).

Hubungan/korelasi antara kadar klorofil a, klorofil b, dan karoten dengan penangkapan radikal bebas oleh DPPH

Korelasi antara kadar klorofil a, klorofil b, dan karoten dengan aktivitas antioksidan metode

penangkapan radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 3a, b, dan c, yang menunjukkan adanya korelasi positif dengan nilai r yang bervariasi, yaitu klorofil a ($r = 0.6423$), klorofil b ($r = 0.1334$), dan karoten ($r = 0.8371$)

Hasil tersebut menunjukkan klorofil a dan karoten mempunyai korelasi yang cukup besar dengan aktivitas antioksidannya, yang berarti senyawa-senyawa tersebut cukup berperan dalam menentukan aktivitas antioksidan dari *G. verrucosa* L., sedang klorofil b yang memiliki nilai r yang kecil kurang berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidan.

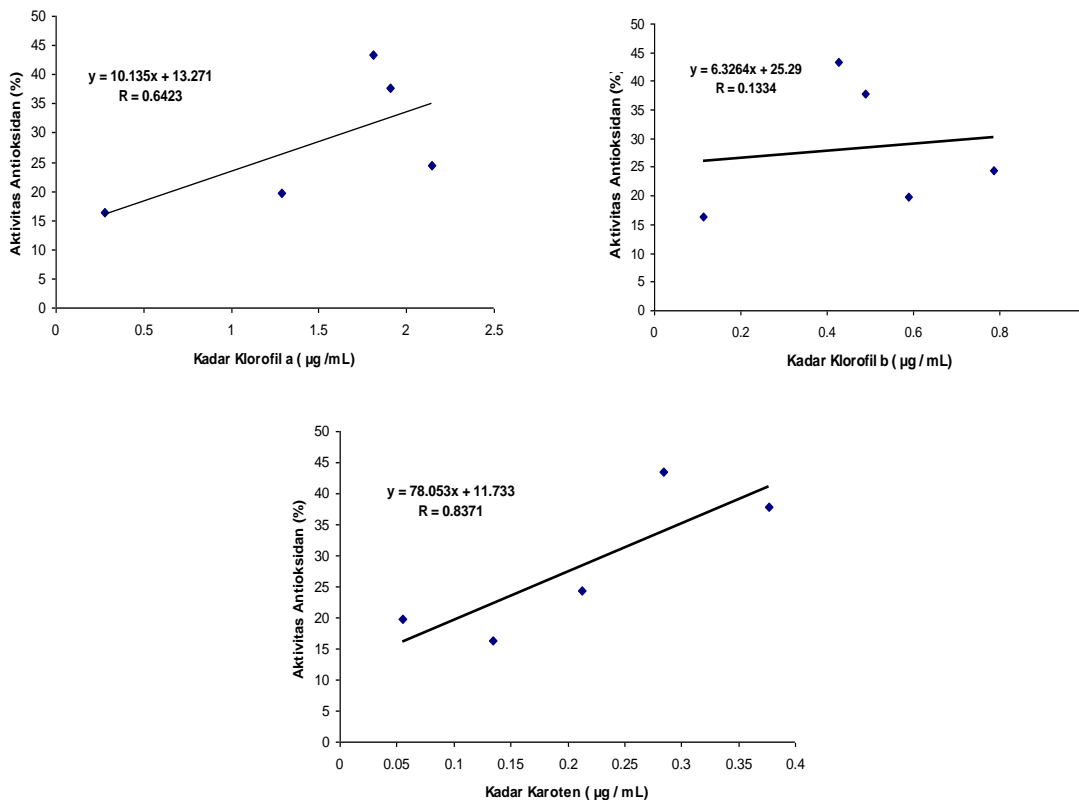
KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah : aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH tertinggi dari *G. verrucosa* L. diperoleh dari ekstrak aseton (43.43%), sedangkan dengan metode kemampuan mereduksi tertinggi diperoleh dari ekstrak kloroform (0.1756 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ ekstrak). Kadar fenolik total *G. verrucosa* L. tertinggi diperoleh dari ekstrak aseton (45.29 mg/g ekstrak).

Ekstrak *G. verrucosa* L. dapat memerangi radikal bebas dengan cukup baik (43.43%, BHT = 84.15%), namun kurang memiliki kemampuan mereduksi (0.1756 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ ekstrak, BHT= 6.1767 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ ekstrak).

Tabel 5 Kadar klorofil a, klorofil b, dan karoten dari berbagai ekstrak *G. verrucosa* L.

Ekstrak	Klorofil a \pm SE ($\mu g / ml$)	Klorofil b \pm SE ($\mu g / ml$)	Karoten \pm SE ($\mu g / ml$)
Metanol	1.29 \pm 0.26	0.59 \pm 0.45	0.05 \pm 0.05
Etanol	2.14 \pm 0.93	0.79 \pm 0.35	0.21 \pm 0.07
Aseton	1.81 \pm 0.61	0.43 \pm 0.20	0.28 \pm 0.07
Kloroform	1.91 \pm 1.21	0.49 \pm 0.39	0.38 \pm 0.26
Heksana	0.28 \pm 0.19	0.11 \pm 0.06	0.13 \pm 0.10



Gambar 3 Grafik hubungan antara kandungan klorofil a, klorofil b, dan karoten dari ekstrak *G. verrucosa* L. dengan aktivitas antioksidan metode penangkapan radikal bebas

Terdapat korelasi yang cukup besar antara kadar fenolik total *G. verrucosa* L. dengan aktivitas penangkapan radikal bebas maupun dengan kemampuan mereduksinya, yang berarti senyawa fenolik dalam *G. verrucosa* L. cukup berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidannya. Di samping fenolik, klorofil a dan karoten juga mempunyai korelasi yang besar dengan aktivitas penangkapan radikal bebasnya, namun tidak demikian dengan klorofil b.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah : aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas oleh DPPH tertinggi dari *G. verrucosa* L. diperoleh dari ekstrak aseton (43.43%), sedangkan dengan metode kemampuan mereduksi tertinggi diperoleh dari ekstrak kloroform (0.1756 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ ekstrak). Kadar fenolik total *G. verrucosa* L. tertinggi diperoleh dari ekstrak aseton (45.29 mg/g ekstrak).

Ekstrak *G. verrucosa* L. dapat memerangi radikal bebas dengan cukup baik (43.43%, BHT = 84.15%), namun kurang memiliki kemampuan mereduksi (0.1756 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ ekstrak, BHT= 6.1767 meq $K_4Fe(CN)_6/g$ ekstrak).

Terdapat korelasi yang cukup besar antara kadar fenolik total *G. verrucosa* L. dengan aktivitas penangkapan radikal bebas maupun dengan kemampuan mereduksinya, yang berarti senyawa fenolik dalam *G. verrucosa* L. cukup berperan dalam menyumbangkan aktivitas antioksidannya. Di samping fenolik, klorofil a dan karoten juga mempunyai korelasi yang besar dengan aktivitas penangkapan radikal bebasnya, namun tidak demikian dengan klorofil b.

DAFTAR PUSTAKA

- Cho SH *et al.* 2007. The antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *J Med Food* 10 (3): 479 – 485.
- Duh, Pin-Der. 1998. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne) : its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *JAOCS* 75 (4).
- Ganesan P, Kumar CS, Bhaskar N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red sea weeds. *Bioresour Technol* 99 (8) : 2717-2723.
- Gross J. 1987. *Pigments in Fruits*. Toronto: Academic Press.
- Hernani MR. 2004. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Indriani H, dan Sumiarsih E. 1991. *Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jayaprakasha GK, Selvi T, Sakariah KK. 2002. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International* 36: 117-122.
- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J, Pihlaja K, Kujala TS, dan Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem* 47 : 3954 – 3962.
- Lestario LN, Christian AE, Martono Y. 2008. Aktivitas antioksidan daun ginseng jawa (*Talinum paniculatum*). *AGRITTECH* (submitted).
- Lichtenthaler HK. 1987. *Chlorophylls and Carotenoids : Pigments of Photosynthetic Biomembranes. Methods in Enzymology*. Weinheim: Verlag Chemie.
- Lim SN, Cheung PC, Ooi VE, Ang PO. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J Agric Food Chem* 50 (13): 3862-3866.
- Marquez UML, Barros RMC, Sinnecher RP. 2005. *Antioxidant Activity of Chlorophylls dan Their Derivates*. Brazil: Department of Food and Experimental Nutrition.
- Mokbel MS, dan Hashinaga F. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of banana (*Musa, AAA cv. Cavendish*) fruits peel. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 1 (3): 125-131.
- Molyneux P. 2004. The Use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol* 26(2) : 211 – 219.
- Negi PS, Chauhan AS, Sadia GA, Rohinishree YS, Ramteke RS. 2004. Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extracts. *Food Chemistry* 92:119-124.
- Prakash D, Suri S, Upadhyav G, Singh BN. 2007. Total phenol, antioxidant, and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *Int J Food Sci Nutr* 58 (1) : 18-28.
- Qian He, Nihorimbere, Venant. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from psidium guajava leaf. *Journal of Zhejiang University Science* 5 (6).
- Revilla E, Ryan JM, and Ortega GM. 1998. Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. *Food Chemistry* 40: 4592-4597.

Soegiarto A, Sulistijo, Atmadja WS, Mubarak H. 1978. *Rumput Laut (Algae)*. Jakarta: Lembaga Oseanologi Nasional – LIPI.

Sreenivasan S, Ibrahim D, Kassim MJN. 2007. Free radical scavenging activity and total phenolic compounds of gracilaria changing. *International Journal of Natural and Engineering Sciences* 1 (3):115-117.

Yan X, Chuda Y, Suzuki M, and Nagata T.1999. Fucoxantin as the major antioxidant in hijikia fusiformis, a common edible seaweed biosci. *Biotechnol Biochem* 63 (3), 605-607.

Yildirim, Ali, Oktay M, and Bilaloglu V. 2001. The antioxidant activity of leaves of Cydonia vulgaris. *Journal Medicine Science*.hlm. 31, 23-27.