

Pengaruh Metode Ekstraksi (Dekoktasi, Infudasi, dan Microwave) Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*

Fandaratsani Tsaqif Ibrahim, Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

*email (co-author): yonirina854@yahoo.com

Background: *Gracilaria verrucosa*, which comes from the sea waters in Ngembah Gresik, is known to have antioxidant activity. *G. verrucosa* extraction was carried out by various methods. However, antioxidant activity will differ dependant on extraction methods. The purpose of this study was to determine the most effective method of obtaining antioxidants from *G. verrucosa*.

Methods: An experimental study in the laboratory using *G. verrucosa* was carried out in vitro. *G. verrucosa* extraction was carried out by decoction, infudation, microwave methods. Active compounds test using phytochemical methods. Antioxidant activity test of *G. verrucosa* extract using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) method associated with UV-Vis spectrophotometry with a wavelength of 517 nm. Antioxidant content test was performed using gas chromatography mass (GC-MS). Data were analyzed using one way ANOVA with the most significant difference (LSD) statistical results if $p < 0.05$.

Results: The extraction results with various methods obtained the highest yield at 60% decoction extraction. Secondary metabolites that was found in the phytochemical including flavonoids, alkaloids and terpenoids. One way ANOVA test was obtained ($p < 0.05$) there was a significant difference. IC₅₀ value of 8.29 ppm decoction method, 21.62 ppm infudation, microwave 10.402 ppm. GC-MS test of *G. verrucosa* extract with air solvent detected the presence of benzenedicarboxylic acid.

Conclusion: The decoction method produced the highest antioxidant activity compared to the infudation and microwave methods. *G. verrucosa* extract contains DPPH radical scavenging activity and GC-MS test of *G. verrucosa* extract using the decoction method showed an active composition containing benzenedicarboxylic acid.

Keywords: *Gracilaria verrucosa*, Fitokimia, DPPH, Antioxidant, GC-MS

Latar Belakang: *Gracilaria verrucosa* yang berasal dari perairan laut Ngembah Gresik diduga memiliki aktivitas antioksidan. Namun, kadar antioksidan akan berbeda bergantung dari metode ekstraksi. Ekstraksi *G. verrucosa* dilakukan dengan berbagai variasi metode. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui metode yang paling efektif dalam memperoleh antioksidan dari *G. verrucosa*.

Metode: Penelitian eksperimental di laboratorium menggunakan *G. verrucosa* yang dilakukan secara in vitro. Ekstraksi *G. verrucosa* dilakukan dengan metode dekoktasi, infudasi, dan microwave. Uji senyawa aktif menggunakan metode fitokimia. Uji aktivitas antioksidan ekstrak *G. verrucosa* dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidradrazil (DPPH) yang diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Uji struktur senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan gas chromatography mass (GC-MS). Data dianalisis menggunakan one way anova dengan least significant difference (LSD) hasil dinyatakan bermakna bila $p < 0.05$.

Hasil: Hasil ekstraksi dekoktasi memiliki nilai rendemen tertinggi 60%. Uji fitokimia didapatkan senyawa metabolit sekunder meliputi flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Uji one way anova didapatkan ($p < 0.05$) terdapat perbedaan yang signifikan. Uji aktivitas antioksidan didapatkan Nilai IC₅₀ metode dekoktasi 8,29 ppm, infudasi 21,62 ppm, microwave 10,402 ppm. Uji GC-MS ekstrak *G. verrucosa* dengan pelarut air terdeteksi adanya senyawa benzenedicarboxylic acid, Octadecenoic Acid, Hexadecenoic Acid.

Kesimpulan: Metode Ekstraksi dekoktasi menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi dibanding dengan metode infudasi dan microwave. Ekstrak *G. verrucosa* memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH dan uji GC-MS ekstrak *G. verrucosa* dengan metode dekoktasi menunjukkan adanya senyawa aktif berupa asam benzenedicarboxylic.

Kata kunci: *Gracilaria verrucosa*, Fitokimia, DPPH, Antioksidan, GC-MS.

PENDAHULUAN

Gracilaria verrucosa merupakan salah satu rumput laut merah yang dibudidayakan di perairan laut Ngemboh Gresik. *G. verrucosa* mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid serta senyawa bioaktif lainnya (Widowati, Lubac, Puspita, & Bourgougnon, 2014). Alkaloid, flavonoid, dan terpenoid merupakan senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Rukmi, 2012). Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mendonorkan satu elektron kepada senyawa radikal oksidan sehingga dapat menghambat proses oksidasi. Senyawa radikal memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga cenderung untuk menyerap elektron disekitarnya. Antioksidan dapat diperoleh dari proses ekstraksi bahan alam yang berasal dari alam. Antioksidan alami berasal dari hasil ekstraksi bahan alami yang berpotensi menangkap radikal bebas, sedangkan antioksidan sintetik diperoleh dari hasil sintesis secara kimia (Isfahlan, Mahmoodzadeh, Hassanzadeh, Heidari, & Jamei, 2010).

Tahapan penting untuk mendapatkan senyawa aktif adalah tahap ekstraksi dan pelarut yang digunakan pada saat proses ekstraksi. Hasil ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya : jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi, dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi (Senja, 2015). Air merupakan salah satu pelarut yang murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap dan terbakar (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dari *G. verrucosa* yang di ekstraksi menggunakan metode dekotaksi, infudasi, dan microwave. ekstraksi dekotaksi dan infudasi memiliki lama waktu pemanasan yang berbeda sedangkan pada metode microwave pemanasan didapatkan dengan daya elektromagnetik. Aktivitas antioksidan ditentukan dari nilai Inhibition Concentration (IC50) dengan menggunakan metode 1,1 difenil 2 pikrihidrazil (DPPH). Sedangkan komponen senyawa bioaktif dikarakterisasi menggunakan metode Gas Chromatography-Mass Spectrofometer (GC-MS). GC-MS digunakan untuk mengetahui jumlah komponen sekaaligus menentukan struktur dari komponen-komponen yang terdapat dalam miyak hasil ekstraksi.

Penelitian ini diharapkan metode-metode dengan menggunakan pelarut air dan menggunakan metode pemanasan dapat menarik potensi dari rumput laut *G. verrucosa* sebagai tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan dengan didapatkan ditemukan adanya senyawa yang mengandung metabolit sekunder pada *G. verrucosa* seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid dan senyawa bioaktif lainnya. Dan terdapat aktivitas antioksidan pada rumput laut *G. verrucosa* yang berpotensi untuk penangkap radikal bebas. Serta ditemukannya senyawa bioaktif yang dikarakterisasi menggunakan menggunakan metode Gas Chromatography-Mass Spectrofometer (GC-MS).

METODE

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium secara in vitro. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juni hingga Agustus 2019. Tempat pengambilan sampel dilakukan di Pantai Ngemboh, Desa Ngemboh, Kecamatan Ujung Pangkah, Kota Gresik, Provinsi Jawa Timur. Uji determinasi dilakukan di LIPI Purwodadi dan uji fitokimia, ekstraksi, dan pengamatan aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Herbal Biomedik Universitas Islam Malang sedangkan untuk uji GC-MS dilakukan di Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang.

Pengambilan Sampel *Gracilaria verrucosa*

Pengambilan tanaman dilakukan purposif tanpa membandingkan dengan tanaman yang sama dari daerah yang lain. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah *G. verrucosa* yang diambil dari Pantai Ngemboh, Desa Ngemboh, Kecamatan Ujung Pangkah, Kota Gresik, Provinsi Jawa Timur.

Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Dalam pembuatan ekstrak *G. Verrucosa* pada penelitian digunakan tiga metode, antara lain:

Metode Infudasi

Metode infudasi dilakukan dengan menimbang *G. verrucosa* sebanyak 5 gram aquades sebanyak 150ml dimasukkan dalam panci dekoktasi hingga suhu mencapai 90 °C, ditambahkan alga hingga 15 menit. Kemudian disaring dengan kertas saring, corong saring dan tabung elenmyer. dan dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 60 °C hingga ekstrak menjadi pasta.

Metode Dekoktasi

Metode dekoktasi dilakukan dengan menimbang *G. verrucosa* sebanyak 5 gram aquades sebanyak 150 ml dimasukkan dalam panci dekoktasi hingga suhu mencapai 90 °C, ditambahkan alga hingga 30 menit. Kemudian disaring dengan kertas saring, corong saring dan tabung elenmyer. dan dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 60 °C hingga ekstrak menjadi pasta.

Metode Microwave

Metode microwave dilakukan dengan menimbang *G. verrucosa* sebanyak 5 gram. Kemudian ditambahkan air sebanyak 150 ml dalam beerglass dan diberikan plastic wrap. microwave di set di angka 400 watt dan waktu 30 detik. Ekstraksi dilakukan 30 detik didalam microwave dan didiamkan 1 menit di luar microwave dilakukan hingga 4 kali pengulangan. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, corong saring dan tabung elenmyer. dan dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 60 °C hingga ekstrak menjadi pasta.

Hasil ekstraksi kemudian dihitung jumlah rendemennya dengan Rumus

$$\text{Rendemen} = (\text{Berat ekstrak}) / (\text{Berat simplisia}) \times 100\%$$

Rendemen : Rendemen Ekstrak(%)

Berat ekstrak : Ekstrak *G. verrucosa* (gram)

Berat simplisia : Simplisia *G. verrucosa* (gram)

Uji Fitokimia Secara Kualitatif

Uji Flavonoid

Ekstrak 2 ml di masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml larutan amoniak encer dan dikocok. Lalu diamati perubahan warnanya menjadi warna orange atau merah tomat menandakan ekstrak tersebut mengandung flavonoid (Bintari, Elyani, Medicine, Malang, & Bioaktif, 2017).

Uji Fenolik

Ekstrak 1 ml di masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃. Perubahan warna menjadi biru menandakan adanya kandungan fenolik (Bintari et al., 2017).

Uji Saponin

Uji dilakukan dengan foam test. Ekstrak 5 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dikocok beberapa saat. Adanya metabolit sekunder golongan saponin ditunjukkan dengan adanya pembentukan busa permanen kurang lebih 15 menit, dan tidak hilang jika ditambahkan HCl pekat (Bintari et al., 2017).

Uji Alkaloid

Dalam menguji alkaloid menggunakan uji Mayer. Dengan mengambil ekstrak 2 ml, kemudian ditambahkan amonia 0,05 N dan asam sulfat 2 N tambahkan pereaksi Mayer, endapan putih menunjukkan adanya alkaloid (Bintari et al., 2017).

Uji Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan ekstrak 5 ml ditambah H₂SO₄ pekat. Adanya warna coklat kemerahan antar muka lapisan menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder golongan terpenoid (Bintari et al., 2017).

Uji Antioksidan

Pengujian Kemampuan Antioksidan dengan Spektrofotometer Visibel

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan berupa asam askorbat. Larutan standar dari asam askorbat dibuat dengan mencampurkan 1 mg asam askorbat dengan 100 mL metanol p.a. Larutan asam askorbat diperoleh konsentrasi 10 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat untuk mendapatkan konsentrasi sebesar 0,05 ppm, 0,06 ppm, 0,07 ppm.

Pembuatan Larutan Induk Ekstrak *Gracilaria verrucosa*. Sebanyak 1 mg ekstrak rumput laut *G. verrucosa* ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 100 ml dengan metanol lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 µg/ml).

larutan induk masing-masing sampel sebesar 10 ppm dengan melarutkan 1 mg ekstrak pada 10 ml pada metanol PA. Selanjutnya melakukan pengenceran menggunakan pelarut metanol PA dengan membuat variasi konsentrasi yaitu 0,05 ppm, 0,06 ppm, 0,07 ppm pada tiap masing-masing sampel.

Penentuan Panjang Gelombang Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Larutan DPPH konsentrasi 40 µg/ml dihomogenkan dan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman warna ungu DPPH) akibat adanya penambahan larutan uji. Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji tersebut dihitung sebagai persen peredaman¹³.

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan : A Kontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

A Sampel = Absorbansi sampel

Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu meredam proses oksidasi DPPH sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam

persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y).

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari $50 \mu\text{g/ml}$, kuat untuk IC_{50} bernilai $50\text{-}100 \mu\text{g/ml}$, sedang jika IC_{50} bernilai $100\text{-}150 \mu\text{g/ml}$, dan lemah jika IC_{50} bernilai $151\text{-}200 \mu\text{g/ml}$ (Mardawati, 2008).

Pengukuran konsentrasi Ekstrak *G. verrucosa* yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan

Ekstrak *G. verrucosa*. dengan variasi konsentrasi dari masing-masing pelarut diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer Ultra Violet visible (UV-vis). Asam askorbat yang digunakan sebagai larutan standard dibuat variasi konsentrasi $0,05 \text{ ppm}$, $0,06 \text{ ppm}$, $0,07 \text{ ppm}$.

Pengukuran konsentrasi dilakukan dengan memasukkan absorbansi sampel pada kurva standar yang telah diperoleh dari pengukuran absorbansi asam askorbat.

Uji GC-MS

Uji GC-MS pada sampel dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada metode ekstraksi, infudasi, dan microwave yang selanjutnya dilakukan uji di Laboratorium Sentral Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang.

Teknik Analisa Data

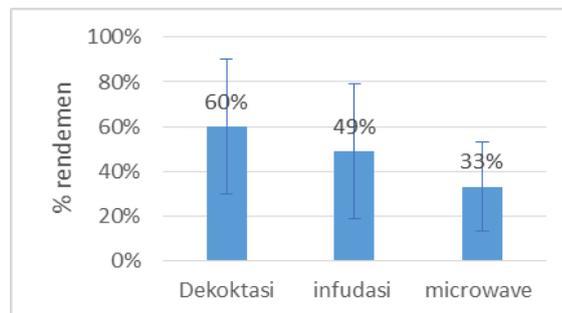
Dalam menganalisa hasil atau data yang diperoleh dengan memasukkan data, setelah itu dilakukan uji normalitas menggunakan metode kolmogrof smirnof dan homogenitas menggunakan levene. Data dinyatakan normal dan homogen bila nilai signifikansi $p > 0,05$.

Selanjutnya, data dianalisis secara statistik parametrik menggunakan One Way ANOVA (Analysis of varians) dilanjutkan dengan Least Significant Difference (LSD). Hasil dinyatakan bermaka apabila $p < 0,05$.

HASIL

Rendemen ekstrak *G. verrucosa* dengan variasi metode

Ekstraksi pada *G. verrucosa* dilakukan dengan menggunakan metode dekoktasi, infudasi, dan microwave. Ekstrak yang telah diperoleh dihitung dengan presentase rendemennya. Hasil rendemen yang diperoleh dari *G. verrucosa* dengan variasi metode adalah :



Gambar 1 Hasil rendemen Ekstrak *G. verrucosa* 1) Dekoktasi 2) Infudasi 3) Microwave

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa rendemen tertinggi didapatkan pada metode ekstraksi dengan menggunakan metode dekoktasi dengan % rendemen 60%.

Hasil uji fitokimia secara kualitatif

Hasil uji fitokimia pada *G. verrucosa* menggunakan variasi metode didapatkan hasil sebagai berikut :



(a) (b) (c) (d) (e)

Gambar 4 Hasil uji skrining uji fitokimia metode dekoktasi pada *G. verrucosa* (a) uji flavonoid (b) uji fenolik (c) uji saponin (d) uji terpenoid (e) uji alkaloid



(a) (b) (c) (d) (e)

Gambar 5 Hasil uji skrining uji fitokimia metode infudasi pada *G. verrucosa* (a) uji flavonoid (b) uji saponin (c) uji fenolik (d) uji terpenoid (e) uji alkaloid



(a) (b) (c) (d) (e)

Gambar 6 Hasil uji skrining uji fitokimia metode *microwave* pada *G. verrucosa* (a) uji flavonoid (b) uji saponin (c) uji fenolik (d) uji terpenoid (e) uji alkaloid

Tabel 1 Hasil skrining fitokimia pada ekstrak *G. verrucosa*

Perlakuan	Flavonoid	Fenolik	Saponin	Terpenoid	Alkaloid
Dekoktasi	+	-	-	-	+
Infudasi	+	-	-	-	+
<i>Microwave</i>	+	-	-	+	-

Berdasarkan skrining fitokimia pada tabel 1 ekstraksi *G. verrucosa*. Didapatkan hasil positif golongan metabolit sekunder flavonoid dan alkaloid pada. Pada ekstraksi *microwave* didapatkan golongan metabolit sekunder flavonoid dan terpenoid. Pada pengujian metabolit sekunder lainnya tidak didapatkan hasil positif.

Penentuan kadar aktivitas antioksidan dari ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Dari percobaan diambil data-data untuk melakukan pengolahan sehingga data tersebut dapat dianalisa. Teknik pengolahan data dilakukan dengan membandingkan

konsentrasi dengan nilai % aktivitas antioksidan masing-masing sampel dalam sebuah regresi. Hasil uji antioksidan menggunakan metode DPPH dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Kadar Antioksidan Ekstraksi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*

Ekstraksi	Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata	SD	% antioksidan
Blanko				
Dekoktasi	0,05	0,722	27,49	27,267
	0,06	0,688	25,276	33,6
	0,07	0,670	21,47	41,2
Blanko				
Infudasi	0,05	0,647	16,04	10,3
	0,06	0,626	17,32	12,1
	0,07	0,607	19,31	15,1
Blanko				
microwave	0,05	0,612	7,52	33,48
	0,06	0,601	3,99	36,5
	0,07	0,589	4,74	39,6

Data pada tabel 2 diregresi dengan variasi konsentrasi sebagai nilai x dan % antioksidan sebagai nilai y sesuai dengan variasi metode. Pada ekstraksi menggunakan metode dekoktasi didapatkan persamaan regresi linier $y = 6,9667x - 7,7777$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9973, maka konsentrasi mempengaruhi nilai absorbansi sebesar 99 %. Pada ekstraksi menggunakan metode infudasi didapatkan persamaan regresi linier $y = 2,4x - 1,9$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9796 maka konsentrasi mempengaruhi nilai absorbansi sebesar 97%. pada ekstraksi menggunakan metode microwave didapatkan persamaan regresi linier $y = 3,06x + 18,167$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,999 maka konsentrasi mempengaruhi nilai absorbansi sebesar 99%.

Hasil uji statistik, pada tabel 2 ekstrak *G. verrucosa* dengan variasi metode didapatkan normal dan homogen ($p > 0.05$). uji One Way ANOVA dengan LSD didapatkan nilai ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan atau ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

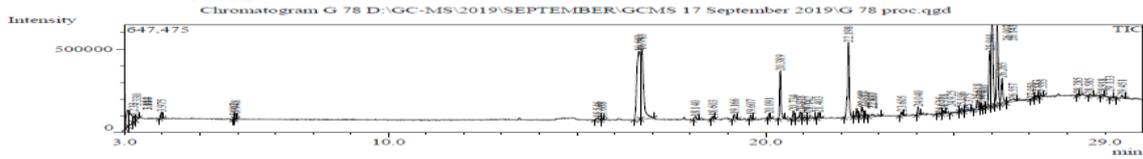
Tabel 3 Nilai IC₅₀ Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*

Ekstraksi	Persamaan regresi linier	Nilai Y	Nilai IC ₅₀
Dekoktasi	$y = 6,9667x - 7,7777$	50	8,29
Infudasi	$y = 2,4x - 1,9$	50	21,62
Microwave	$y = 3,06x + 18,167$	50	10,402

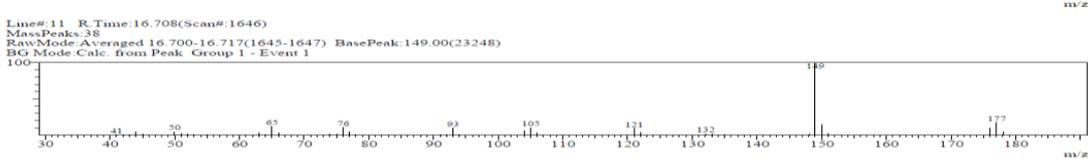
Nilai IC₅₀ merupakan nilai yang dibutuhkan antioksidan sampel dalam mereduksi DPPH dengan nilai 50 disubstitusikan sebagai nilai y, maka akan didapat nilai IC₅₀ pada nilai x. Pada tabel 5.3 didapatkan nilai IC₅₀ pada ketiga sampel ekstrak rumput laut *G. verrucosa* kurang dari 50 yang berarti aktivitas antioksidan pada ketiga sampel dengan menggunakan tiga variasi metode sangat kuat. Pada ekstraksi menggunakan metode dekoktasi meredam 50% radikal bebas pada konsentrasi 8,29 ppm. Pada ekstraksi dengan menggunakan metode infudasi meredam 50% radikal bebas pada konsentrasi 21,62 ppm. Sedangkan, pada ekstraksi dengan menggunakan metode microwave meredam 50% radikal bebas pada konsentrasi 10,402 ppm.

Uji Gas Chromatography-Mass Spectrofotometer (GC-MS)

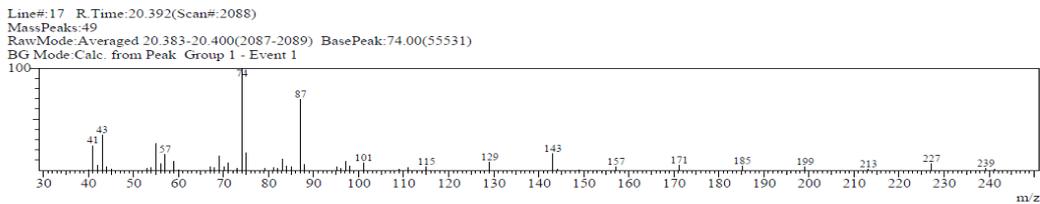
Ekstrak *G. verrucosa* yang diekstrak dengan berbagai variasi metode, dengan menggunakan pelarut air yaitu metode dekoktasi, infudasi, dan microwave. Dengan uji IC50 menunjukkan hasil pada ekstrak *G. verrucosa*. Sehingga untuk mengetahui senyawa potensial tersebut, perlu dilakukan uji GC-MS *G. verrucosa* dengan pelarut air dapat diketahui pada tabel 4 berikut ini



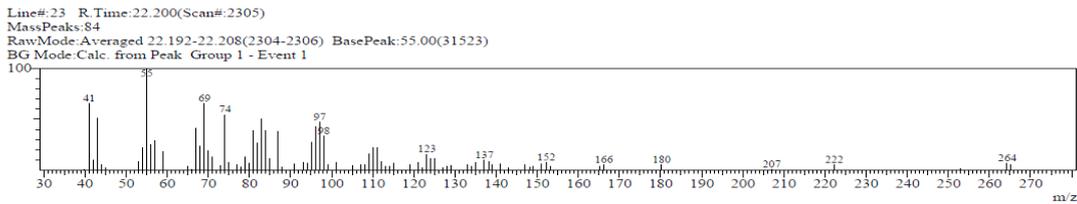
Gambar 7 Kromatogram ekstrak metanol *G. verrucosa*



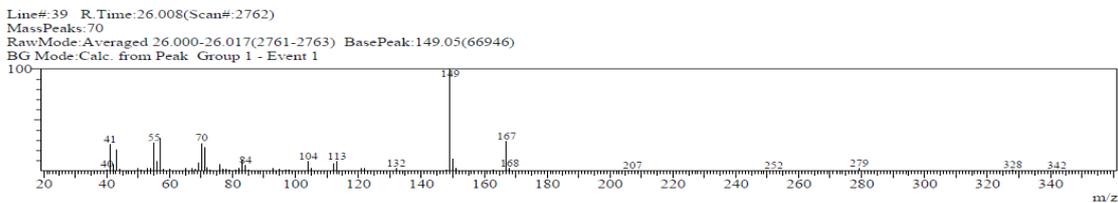
Gambar 8 Spektrum puncak No 11 pada Rumput laut *G. verrucosa*



Gambar 9 Spektrum puncak No 17 pada Rumput laut *G. verrucosa*



Gambar 10 Spektrum puncak No 23 pada Rumput laut *G. verrucosa*



Gambar 11 Spektrum puncak No 39 pada Rumput laut *G. verrucosa*

Tabel 4 Hasil GC-MS dari ekstrak *G. verrucosa* dengan pelarut air

Peak #	R.time	Luas area (%)	Puncak fragmen	Senyawa
11	16.713	13.56	149, 177	1,2-Benzenedicarboxylic Acid, Diethyl ester
17	20.389	4.57	41, 57, 74, 87, 101	9-Octadecenoic Acid, 12-(1-cetylox), Methyl ester
23	22.198	8.44	41, 55, 69,	9-Hexadecenoic Acid, Methyl ester

			74, 97, 98
39	26.007	12.07	41, 113, 149 , <i>1,2 Benzenedicarboxylic Acid, Dioctyl ester</i>
			167

PEMBAHASAN

Rendemen hasil ekstraksi dari *Gracilaria verrucosa* dengan berbagai variasi ekstraksi

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Metode dekoktasi, infudasi, dan microwave merupakan metode yang memiliki perbedaan suhu, dan lama ekstraksi. Hasil ekstrak yang didapat ditimbang untuk mengetahui rendemen.

Rendemen ekstrak *G. verrucosa* pada metode dekoktasi memiliki rendemen tertinggi yaitu 60%, waktu dan proses yang lama dapat mendapatkan zat aktif yang lebih banyak. Perbedaan waktu dapat berpengaruh terhadap hasil yang didapatkan. Semakin tinggi rendemen yang diperoleh maka hasil rendemen juga akan semakin tinggi. Dikarenakan reaksi antara bahan dengan pelarut yang semakin lama sehingga proses penembusan pelarut kedalam bahan semakin baik yang akan menyebabkan semakin banyaknya senyawa yang akan berdifusi keluar sel (Wijaya, Novitasari, & Jubaidah, 2018).

Rendemen ekstrak *G. verrucosa* pada metode microwave memiliki rendemen terendah yaitu 33%. Pengaruh perbedaan waktu yang lebih singkat dan paparan panas yang tidak terlalu tinggi pada metode microwave menyebabkan nilai yang didapatkan pada metode ini juga semakin rendah. Rendemen ekstrak pada metode infudasi memiliki rendemen yang lebih besar yaitu 49%. Hal ini disebabkan karena ekstrak menggunakan metode infudasi memiliki waktu dan paparan panas yang lebih lama. Proses pemanasan dapat membantu mempercepat proses ekstraksi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Setyowati, mengatakan bahwa hal ini terjadi karena semakin tinggi suhu ekstraksi akan menyebabkan gerakan molekul semakin cepat, begitu juga dengan adanya sirkulasi (pergerakan) pelarut (Eko Setyowati & Damayanti, 2015).

Hasil uji fitokimia

Penelitian yang dilakukan oleh (Soamole et al., 2018) didapatkan bahwa rumput laut *G. verrucosa* mengandung senyawa bioaktif seperti : alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan fenolik. Untuk mengetahui kandungan alkaloid pada jenis rumput laut *G. verrucosa* menunjukkan endapan putih menunjukkan hasil positif, yang dapat disimpulkan jika rumput laut *G. verrucosa* mengandung senyawa alkaloid. Hasil pengujian ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh (Widowati et al., 2014) yang mengidentifikasi adanya alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan terpenoid pada tanaman *G. verrucosa*.

Menurut Markham (1982) flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, sehingga flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air. Terlihat perubahan warna larutan menjadi kuning. Hal ini terjadi karena flavonoid termasuk dari senyawa fenol. Bila flavonoid direaksikan dengan basa akan terbentuk warna kuning yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik. Hasil skrining fitokimia yang didapatkan dari sampel *G. verrucosa* didapatkan hasil perubahan warna menjadi kuning. Larutan kuning yang terbentuk diprediksi mengandung senyawa flavonoid, ditemukan secara luas pada tanaman dan dikenal sebagai senyawa yang memiliki efek bioaktif.

Uji Aktivitas Antioksidan

Ketika tumbuhan terkena stres biotik dan abiotik yang menyebabkan adanya peningkatan dari reactive oxygen species (ROS) sehingga terjadi stres oksidatif dari jaringan tumbuhan. Tumbuhan akan melakukan tugasnya yaitu perlawanan terhadap adanya toksik dari luar sebagai bentuk perlindungan dirinya dengan melakukan fungsi fisiologis normalnya dan sebagai reduktor fitokimia untuk merespon adanya tekanan dari lingkungan dengan membentuk suatu kompleks yaitu kompleks enzimatis (Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase dan glutathione reductase) dan non-enzimatis dalam bentuk berat molekul rendah

seperti asam askorbat, glutathion, protein, karotenoid, asam fenolik, flavonoid dan lain-lain dan dalam bentuk metabolit sekunder yang menyebabkan adanya sintesis dan akumulasi potensial antioksidan dalam tumbuhan (Deepak., 2015).

Pengurangan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen adalah metode yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak *G. verrucosa*. Hasil dari penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak *G. verrucosa* digunakan metode DPPH dilakukan dengan variasi konsentrasi 0,05 ppm, 0,06 ppm, 0,07 ppm. Didapatkan perubahan warna dari ungu menjadi ungu muda sampai kuning muda setelah adanya reduksi. Reduksi diukur dengan penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sadeli, 2016).

Nilai IC50 ekstrak *G. verrucosa* dengan menggunakan metode dekoktasi sebesar 8.29 ppm, pada metode infudasi didapatkan 21,62 ppm, dan pada metode menggunakan microwave didapatkan nilai IC50 sebesar 10,402. Ekstrak *G. verrucosa* memiliki nilai IC50 dibawah 200 ppm (Talapessy, Suryanto, & Yudistira, 2013). Hal ini berarti bahwa ekstrak *G. verrucosa* dengan menggunakan variasi metode dekoktasi, infudasi, dan microwave memiliki nilai kemampuan dalam menghambat sebesar 50% maka aktivitas antioksidannya lemah. Jadi dapat dijadikan pedoman untuk potensi antioksidan pada tanaman rumput laut *G. verrucosa*.

Semakin lama waktu dan semakin tinggi suhu maka semakin tinggi pula potensi antioksidan yang dimiliki. Pada penelitian ini terdapat nilai IC50 yang tinggi pada metode menggunakan dekoktasi dan yang paling rendah terdapat pada metode menggunakan infudasi yang mempunyai aktivitas pemanasan yang rendah. Hal ini dapat didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rohadi & Wahjuningsih, 2019) bahwa peningkatan suhu pemanasan mampu meningkatkan nilai total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas penangkapan radikal bebas.

Hasil dari penelitian ini didapatkan nilai ($P < 0,05$) pada metode dekoktasi dan microwave tidak terdapat yang signifikan. Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan. Sedangkan pada metode dekoktasi dengan infudasi dan infudasi dengan microwave didapatkan nilai ($P > 0,05$) terdapat nilai signifikansi. Hal ini menunjukkan potensi perbedaan aktivitas antioksidan.

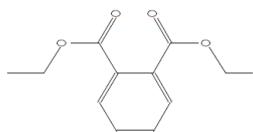
Identifikasi senyawa aktif dengan Gas chromatography-Mass Spectrofotometer (GC-MS)

Ekstrak *G. verrucosa* yang diekstrak dengan berbagai variasi metode dekoktasi, infudasi, dan microwave dengan menggunakan uji IC50 menunjukkan hasil terbaik pada ekstrak *G. verrucosa*. Dengan pelarut air. Sehingga untuk mengetahui senyawa potensial tersebut, perlu dilakukan uji GC-MS.

GC-MS merupakan teknik analisis senyawa aktif yang terdapat pada senyawa kimia. Teknik analisis senyawa ini menggunakan 2 metode yaitu kromatografi gas (GC) dan spektrometri massa (MS). GC digunakan untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan MS untuk menganalisis struktur molekul analit (Chauhan, 2014). Uji GC-MS pada ekstrak dekoktasi *G. verrucosa* terdeteksi 4 peak. Dari 4 peak tersebut didapatkan senyawa yaitu asam Bezenedycarboxylic, asam Octadeceonic, dan asam Hexadexeonic.

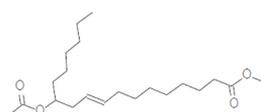
Asam bezenedycarboxylic muncul pada peak 11 dan peak 39 dengan retention time 16,713 dan 26.007. asam bezenedicarboxylic atau biasa disebut dengan phthalic acid merupakan senyawa dikarbosilat aromatik. Phthalic acid tidak berwarna dan berbentuk kristal padat yang larut dalam alkohol dan air. Asam dikarbosilat mempunyai ikatan hidrogen sesamanya dan dapat berikatan secara ikatan hydrogen dengan molekul air, serta mempunyai gugus hidroksil yang bersifat polar. 1,2 bezenedicarboxyl acid merupakan senyawa yang berpotensi antioksidan yang memiliki 6 gugus cincin benzen yang bersifat aromatis (Khotimah., dkk., 2013).

Untuk penelitian kualitatif, bagian ini dapat pula memuat ide-ide peneliti, keterkaitan antara kategori-kategori dan dimensi serta posisi temuan atau penelitian terhadap temuan dan teori sebelumnya.



Gambar 12 1,2- Benzenedicarboxylic Acid

Senyawa asam 9-oktadekenoat atau asam oleat merupakan golongan asam lemak tidak jenuh dan memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan dan antibakteri (Ramasamy et al., 2010). Asam oleat adalah senyawa karbon rantai panjang yang memiliki satu buah ikatan rangkap pada gugus karbon nomor 9. Keberadaan senyawa asam oleat pada ekstrak *G. verrucosa* didapatkan pada peak 17 dengan retention time 20,389. Asam oleat dapat mereduksi radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektron pada ikatan rangkap menjadi senyawa radikal non-rekatif.



Gambar 13 9-Octadecenoic Acid

Senyawa asam hexadekenoat muncul pada peak 23 dengan retention time 22,198. Asam hexadekenoat biasa di sebut dengan asam palmitat. Asam palmitat dikenal dengan saturated fatty acid karena tidak terdapat ikatan rangkap pada atom karbonnya. Memiliki rantai 17 rantai karbon sehingga termasuk ke dalam golongan asam lemak jenuh rantai panjang (Sandita, 2015). Asam palmitat memiliki aktivitas antioksidan yang rendah dan juga pemberian bersama asam palmitat dan asam lemak jenuh ganda mungkin sangat berbahaya (Beeharry et al., 2003). Kerusakan DNA akibat asam palmitat dapat dicegah oleh asam linoleat, yang bertindak sebagai agen pelindung terhadap stres oksidatif. Sehingga aktivitas antioksidannya menjadi lebih rendah.



Gambar 14 9-Hexadecenoic Acid

KESIMPULAN

1. Rendemen ekstrak *G. verrucosa* didapatkan rendemen tertinggi pada metode dekoktasi.
2. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak *G. verrucosa* didapatkan flavonoid, alkaloid, dan terpenoid.
3. Metode dekoktasi menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan metode infudasi dan microwave.
4. Uji GC-MS Ekstrak Dekoktasi *Gracilaria verrucosa* menunjukkan adanya senyawa *bezenedycarcoxylic acid*, *octadeceonic acid*, *hexadeceonic acid*.

DAFTAR RUJUKAN

- Beeharry, N., Lowe, J. E., Hernandez, A. R., Chambers, J. A., Fucassi, F., Cragg, P. J., ... Green, I. C. (2003). Linoleic acid and antioxidants protect against DNA damage and apoptosis induced by palmitic acid. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 530(1–2), 27–33. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(03\)00134-9](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(03)00134-9)
- Bintari, Y. R., Elyani, H., Medicine, F. O., Malang, U. I., & Bioaktif, S. (2017). Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari *Cladophora* sp . Dengan Metode Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE). *Journal of Islamic Medicine Research*, 1(1), 1–11.
- Chauhan, A. (2014). GC-MS Technique and its Analytical Applications in Science and Technology. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 5(6). <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000222>
- Eko Setyowati, W. A., & Damayanti, D. R. (2015). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus Murr*) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Pendidikan Sains IV 2015*.
- Isfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hassanzadeh, A., Heidari, R., & Jamei, R. (2010). Antioxidant and antiradical activities of phenolic extracts from Iranian almond (*Prunus amygdalus L.*) hulls and shells. *Turkish Journal of Biology*, 34(2), 165–173. <https://doi.org/10.3906/biy-0807-21>
- Ramasamy, K., Lim, S. M., Bakar, H. A., Ismail, N., Ismail, M. S., Ali, M. F., ... Cole, A. L. J. (2010). Antimicrobial and cytotoxic activities of Malaysian endophytes. *Phytotherapy Research*, 24(5), 640–643. <https://doi.org/10.1002/ptr.2891>
- Rohadi, & Wahjuningsih, S. B. (2019). PENGARUH SUHU PEMANASAN PADA EKSTRAK TEH (*C. sinensis* Linn.) JENIS TEH PUTIH TERHADAP STABILITAS SIFAT ANTIOKSIDATIFNYA. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 14(1), 41–49.
- Rukmi. (2012). Sistem Budidaya Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* di Pertambakan dengan Perbedaan Waktu Perendaman di Dalam Larutan NPK. *Diponegoro Journal of Marine Research*, 1(1), 90–94. <https://doi.org/10.14710/jmr.v1i1.892>
- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2015). Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149–153.
- Sadeli, R. A. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH Ekstrak Bromelain Buah Nanas. *Fakultas Farmasi*, 6(2), 1689–1699. Retrieved from <http://doi.wiley.com/10.1002/ceas.12013%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/317087330%0Ahttps://repositories.lib.utexas.edu/handle/2152/39127%0Ahttps://cris.brighton.ac.uk/ws/portalfiles/portal/4755978/Julius+Ojebode%27s+Thesis.pdf%0Ausir.salford.a>
- Sandita. (2015). Perbandingan Komposisi Asam Lemak Antara Minyak Belut (. *Jurnal Spesia*, 1(1), 388–396.

- Senja. (2015). THE COMPARISON OF EXTRACTION METHOD AND SOLVENT VARIATION ON YIELD AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra EXTRACT. *Traditional Medicine Journal*, 19(1), 43–48. <https://doi.org/10.14499/mot-TradMedJ19iss1pp>
- Soamole, H. H., Sanger, G., Harikedua, S. D., Dotulong, V., Mewengkang, H. W., & Montolalu, R. I. (2018). KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT SEGAR (*Turbinaria* sp., *Gracilaria* sp., dan *Halimeda macroloba*). *MEDIA TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN*, 6(3), 94. <https://doi.org/10.35800/mthp.6.3.2018.21259>
- Talapessy, S., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ampas Hasil Pengolahan Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 40–44.
- Widowati, I., Lubac, D., Puspita, M., & Bourgougnon, N. (2014). Antibacterial and Antioxidant Properties of The Red Alga *Gracilaria Verrucosa* from The North Coast of Java, Semarang, Indonesia. *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 3(3), 179–185. Retrieved from http://www.mnkjournals.com/ijlrst_files/Download/Vol 3 Issue 3/33-88-26062014 Antibacterial and Antioxidant Properties of The Red Alga Gracilaria verrucosa from The North Coast of Java_ Semarang_ Indonesia.pdf
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.