

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAN ETIL
ASETAT *Gracilaria* sp. MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-
pikrilhidrazil)**

(SKRIPSI)

Oleh

PUZA WIDIYA NINGSIH

2117061007



**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAN ETIL ASETAT *Gracilaria* sp. MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-difenil-1- *pikrilhidrazil*)

Oleh

PUZA WIDIYA NINGSIH

Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil dan memiliki elektron yang tidak berpasangan. Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan dari luar dapat diperoleh dalam bentuk sintetik dan alami. Adanya dampak negatif pada antioksidan sintetik membuat penelitian antioksidan alami semakin berkembang. Salah satu tanaman yang dapat diteliti sebagai antioksidan alami adalah *Gracilaria* sp. yang merupakan, salah satu jenis alga yang memiliki potensi sebagai antibakteri, antijamur dan antioksidan. Penelitian ini menggunakan pelarut ekstraksi metanol dan etil asetat karena polaritas yang berbeda, penggunaan pelarut dengan polaritas yang berbeda akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *Gracilaria* sp. dan mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol dan etil asetat *Gracilaria* sp. menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Kemudian, diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Data dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linear untuk menemukan IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan *Gracilaria* sp. mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, dan steroid. Aktivitas antioksidan *Gracilaria* sp. ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 158,91, tergolong lemah. Sementara itu, ekstrak etil asetat memiliki nilai IC_{50} sebesar 252,07 yang tergolong kedalam kategori sangat lemah.

Kata Kunci: Antioksidan, Radikal bebas, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)
Gracilaria sp.

ABSTRACT

TEST OF ACTIVITY ANTIOXIDANT EXTRACT METHANOL AND ETHYL ACETATE *Gracilaria* sp. USING THE METHOD DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

By

PUZA WIDIYA NINGSIH

Free radicals are unstable molecules and have unpaired electrons. Antioxidants are compounds that have the ability to inhibit oxidation reactions by binding free radicals and highly reactive molecules. External antioxidants can be obtained in synthetic and natural form. The negative impact of synthetic antioxidants has made research on natural antioxidants increasingly developed. One plant that can be studied as a natural antioxidant is *Gracilaria* sp. which is a type of algae that has potential as an antibacterial, antifungal and antioxidant. This research uses methanol and ethyl acetate extraction solvents because of different polarities, the use of solvents with different polarities will affect the extraction results. The aim of this research is to determine the secondary metabolite compounds contained in *Gracilaria* sp. and determine the antioxidant activity of methanol and ethyl acetate extracts of *Gracilaria* sp. using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Then, it was measured using a Spectrophotometer UV-Vis at a maximum wavelength of 517 nm. Data were analyzed using a linear regression equation to find IC₅₀. The results showed that *Gracilaria* sp. contains alkaloids, flavonoid, tannin, saponin, phenol and steroid. Antioxidant activity of *Gracilaria* sp. methanol extract with an IC₅₀ value of 158.91, classified as weak. Meanwhile, ethyl acetate extract has an IC₅₀ value of 252.07 which is classified as very weak.

Keywords: Antioxidants, Free radicals, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) *Gracilaria* sp.

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAN ETIL
ASETAT *Gracilaria* sp. MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-
pikrilhidrazil)**

Oleh

**PUZA WIDIYA NINGSIH
2117061007**

(SKRIPSI)

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

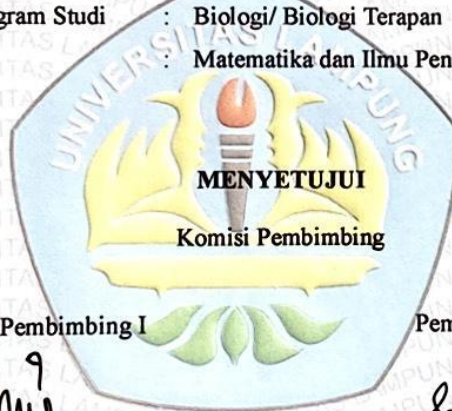
Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
METANOL dan ETIL ASETAT *Gracilaria* sp.
MENGUNAKAN METODE DPPH (2,2-
difenil-1-pikrilhidrazil)
Nama Mahasiswa : Puza Widiya Ningsih
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117061007
Jurusan/Program Studi : Biologi/ Biologi Terapan
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Nuring Nurcahyani, M.Sc.
NIP 196603051991032001

Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed.
NIP 196405171988032001

Ketua Jurusan

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.



Sekretaris : Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed.



Anggota : Drs. M Kanedi, M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Ing. Heri Satria, S.Si., M.Si.

0012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Maret 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Puza Widiya Ningsih
NPM : 2117061007
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

**“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAN ETIL
ASETAT *Gracilaria* sp. MENGGUNAKAN METODE DPPH
(2,2-difenil-1- pikrilhidrazil)”**

Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku.

Jika kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan gelar sarjana maupun hukum.

Bandar Lampung, 12 Maret 2025



Puza Widiya Ningsih
NPM. 2117061007

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Puza Widiya Ningsih lahir di Lampung Barat pada tanggal 31 Desember 2002 dan merupakan anak pertama dari dua bersaudara, putri dari pasangan Bapak Aceng Supriyadi dan Ibu Nining Rukmaningsih. Mempunyai seorang adik yang bernama Angga Purnama Saputra. Penulis beralamat lengkap di pekon Tribudimakmur, Kecamatan Kebun Tebu, Kabupaten Lampung Barat. Riwayat pendidikan dimulai dari Taman Kanak-Kanak Harapan Bangsa pada tahun 2007 sampai dengan 2009, kemudian melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 02 Tribudisyukur dan lulus pada tahun 2015. Setelah itu, penulis melanjutkan Pendidikan Menengah Pertama Negeri 02 Kebun Tebu dan lulus pada tahun 2018. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas Negeri 01 Kebun Tebu, Jurusan Ilmu Pengetahuan Alam, dan lulus pada tahun 2021. Pada tahun yang sama penulis berhasil diterima sebagai mahasiswa Program studi S1 Biologi Terapan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNPTN). Selama menempuh pendidikan di kampus penulis aktif organisasi kampus. Organisasi yang diikuti oleh penulis yaitu Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang kaderisasi (periode 2021-2023) dan juga menjadi anggota bidang isu dan pergerakan di Badan Eksekutif Mahasiswa FMIPA Unila (periode 2022-2023). Selain itu, penulis juga melaksanakan kuliah praktik di Universitas YARSI, Cempaka Putih, Jakarta Pusat, pada bulan Januari sampai dengan Februari 2024.

PERSEMBAHAN

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas rahmat dan karunia-Nya yang senantiasa menyertai setiap langkah saya, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Dengan penuh rasa syukur, penghargaan, dan ketulusan, saya mempersembahkan karya ini kepada:

Kedua orang tua tercinta, Bapak Aceng Supriyadi dan Ibu Nining Rukmaningsih. Terima kasih atas cinta, doa, pengorbanan, serta perjuangan yang tiada henti.

Skripsi ini adalah wujud kecil dari segala harapan dan kerja keras dalam mengantarkan saya menuju gelar Sarjana Sains (S.Si.). Segala pencapaian ini tidak akan terwujud tanpa dukungan serta kasih sayang yang berikan sepanjang perjalanan hidup saya.

Adik tersayang kehadiranmu selalu menjadi penyemangat untuk terus belajar, berkembang, dan berusaha menjadi pribadi yang lebih baik. Semoga keberhasilan ini dapat menjadi inspirasi dan motivasi untuk terus meraih impian.

Orang-orang yang telah hadir yang telah memberi pelajaran berharga, baik dalam perjalanan akademik maupun kehidupan. Kehadiran, dukungan, serta pengalaman menjadi bagian tak ternilai dalam proses ini.

Almamater tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

*“Mengalir bagaikan air, tetap bergerak maju tanpa terhenti,
menyesuaikan diri dengan setiap rintangan, namun tetap mencapai
tujuan.”*

*“Jangan pernah menunggu, Waktunya tidak pernah tepat.”
(Napoleon Hill)*

*“Tidak semua bisa dimiliki, Tapi semuanya bisa disyukuri”
(Q.s Saba:13)*

"Semua ada waktunya" (Bapak)

SANWACANA

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Segala puji dan syukur kehadiran Allah Swt. yang mana atas limpahan rahmat dan ridho-Nya, penulis diberikan kemudahan serta kelancaran dalam melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL dan ETIL ASETAT *Gracilaria* sp. MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)”** dengan baik dan tepat waktu, yang merupakan bagian dari HETI Project Riset Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat menyelesaikan studi di Program Studi S1 Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Proses penyusunan skripsi ini menjadi perjalanan penuh tantangan dan pembelajaran bagi penulis, baik dalam menuntut ilmu maupun dalam penerapannya melalui penelitian dan karya ilmiah. Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada:

1. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing satu yang telah memberikan ilmu, bimbingan dengan tulus, motivasi, mengayomi, tempat bercerita dan berkeluh kesah, memberikan masukan yang membangun dengan penuh kesabaran kepada penulis.
2. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing dua yang telah memberikan arahan, saran, dan masukan, serta memberikan dukungan pendanaan selama menjalankan penelitian.

3. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. Dosen Penguji yang selalu menambahkan pemahaman, memberikan arahan, kritik, dan masukan yang berharga dalam proses penyusunan skripsi ini.
4. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., LP.M. selaku rektor Universitas Lampung.
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. Selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. Selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Terapan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik penulis yang telah memberikan arahan dan bantuannya kepada penulis selama berada di bangku perkuliahan.
9. Pintu surgaku, Ibunda Nining Rukmaningsih yang selalu memberikan do'a, nasihat, motivasi, kasih sayang yang menjadi alasan bagi penulis untuk tidak pernah lelah berjuang, hingga penulis dapat menyelesaikan studinya sampai sarjana.
10. Cinta pertamaku, Ayahanda Aceng Supriyadi. Beliau sangat berperan penting dalam penyelesaian studi penulis, atas do'a, motivasi, dan dukungan secara finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya hingga sarjana.
11. Adik tersayang Angga Purnama Saputra yang selalu mendukung sampai detik ini dan menyemangati di kala menghadapi masa sulit, dan kasih sayang yang tidak pernah putus.
12. Kakek dan nenek yang sangat ingin melihat penulis sampai ke jenjang sarjana, mereka tak hentinya mengingatkan penulis untuk selalu rajin dan tekun selama menjalankan studi ini, sehingga perkataan beliau selalu membuat penulis semangat selama menjalani setiap prosesnya.
13. Kepada Ammanda Sadiva, Andila Agustina, Lisa Sunia dan Devanka Shalsabila Savira selaku teman seperjuangan selama pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi berlangsung.

14. Teman-teman satu angkatan Biologi Terapan 21 yang sampai saat ini masih berjuang bersama dan selalu memotivasi dalam perkuliahan.
15. Terimakasih kepada diri sendiri yang telah bertahan dan berjuang tanpa mengenal lelah, dan tetap bertahan hingga titik ini. Perjalanan ini penuh dengan tantangan, tetapi saya berhasil membuktikan bahwa kerja keras dan ketekunan selalu membuahkan hasil. Semoga pencapaian ini menjadi awal dari langkah yang lebih besar di masa depan.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini jauh dari kata sempurna, masih banyak kesalahan dan kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak agar menjadi evaluasi dan perbaikan kedepannya sehingga laporan ini dapat berguna dan dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 12 Maret 2025

Penulis

Puza Widiya Ningsih

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN.....	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	vii
RIWAYAT HIDUP.....	viii
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO	x
SANWACANA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Manfaat	4
1.4 Kerangka pikir.....	4
1.5 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kajian Teori Rumput Laut <i>Gracilaria</i> sp.	6

2.1.1	Klasifikasi Rumput Laut <i>Gracilaria</i> sp.	6
2.1.3	Kandungan <i>Gracilaria</i> sp.....	8
2.2	Uji Fitokimia	10
2.3	Radikal Bebas.....	10
2.3.1	Pembentukan Radikal Bebas.....	11
2.3.2	Radikal Bebas Internal	11
2.3.3	Radikal Bebas Eksternal	12
2.3.4	Manfaat Radikal Bebas	13
2.4	Vitamin C	13
2.5	Antioksidan	14
2.5.1	Manfaat Antioksidan	14
2.5.2	Mekanisme Kerja Antioksidan.....	15
2.5.3	Jenis Antioksidan	15
2.5.4	Uji Aktivitas Antioksidan.....	16
III.	METODE KERJA	20
3.1	Waktu dan Tempat.....	20
3.2	Metode Penelitian.....	20
3.3	Alat dan Bahan.....	20
3.4	Prosedur Kerja.....	21
3.4.1	Pengumpulan Bahan.....	21
3.4.2	Pembuatan Simplisia.....	21
3.4.3	Pembuatan Ekstrak Metanol dan Etil Asetat Rumput Laut <i>Gracilaria</i> sp.....	22
3.4.4	Skrining Fitokimia	23
3.4.5	Metode DPPH (2,2 dipenyl-1-picrylhydrazyl).....	25
3.5	Analisis Data	27
3.6	Diagram Alir Penelitian.....	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil	29
4.1.1 Hasil Determinasi	29
4.1.2 Hasil Ekstraksi	29
4.1.3 Hasil Skrining Fitokimia	30
4.1.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	31
4.2 Pembahasan	37
4.2.1 Ekstraksi	37
4.2.2 Uji Fitokimia	38
4.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan	42
V. KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Proses Pengenceran Sampel Uji Dengan DPPH	26
Tabel 2. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan.....	28
Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.....	30
Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp.	31
Tabel 5. Absorbansi Konsentrasi Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp. ke-1	33
Tabel 6. Absorbansi Konsentrasi Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp. ke-2	33
Tabel 7. Absorbansi Konsentrasi Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp. ke-3	34
Tabel 8. Nilai Rata-Rata IC ₅₀ Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	34
Tabel 9. Absorbansi Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp. ke-1	35
Tabel 10. Absorbansi Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp. ke-2	35
Tabel 11. Absorbansi Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp. ke-3	35
Tabel 12. Nilai Rata-Rata IC ₅₀ Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp.....	36
Tabel 13. Absorbansi Konsentrasi Vitamin C	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumput Laut <i>Gracilaria</i> sp.....	7
Gambar 2. Diagram Alir Penelitian.....	28
Gambar 3. Hasil Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.	30
Gambar 4. Hasil Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp.....	30
Gambar 5. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol <i>Gracilaria</i> sp.....	32
Gambar 6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp.	32
Gambar 7. Reaksi Antara DPPH dan Atom H yang Berasal Dari Antioksidan	44
Gambar 8. Surat Keterangan Hasil Determinasi <i>Gracilaria</i> sp.	55
Gambar 9. Proses Pencucian <i>Gracilaria</i> sp.	56
Gambar 10. Pengeringan <i>Gracilaria</i> sp.	56
Gambar 11. Persiapan Simplisia <i>Gracilaria</i> sp.....	56
Gambar 12. Proses Maserasi Selama 3X 24 Jam.....	56
Gambar 13. Proses Penyaringan	57
Gambar 14. Proses Evaporasi	57
Gambar 15. Hasil Ekstrak	57
Gambar 16. Uji Alkaloid Dragendrof.....	58
Gambar 17. Uji Alkalod Mayer.....	58
Gambar 18. Uji Alkaloid Bouchardat.....	58
Gambar 19. Uji Flavonoid.....	58
Gambar 20. Uji Saponin.....	59
Gambar 21. Uji Tanin.....	59
Gambar 22. Uji Terpenoid.....	59
Gambar 23. Uji Fenol.....	59

Gambar 24. Uji Steroid	59
Gambar 25. Ekstrak Metanol dan Etil Asetat <i>Gracilaria</i> sp.	60
Gambar 26. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).....	60
Gambar 27. Pengujian Aktivitas Antioksidan	60
Gambar 28. Inkubasi Selama 30 Menit.....	61
Gambar 29. Amati Perubahan Warna	61
Gambar 30. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan Spectrofotometer UV-Vis.....	61
Gambar 31. Kurva Regresi Linier Ekstrak Metanol ke-1	62
Gambar 32. Kurva Regresi Linier Ekstrak Metanol ke-2	62
Gambar 33. Kurva Regresi Linier Ekstrak Metanol ke-3	62
Gambar 34 .Kurva Regresi Linier Ekstrak Etil Asetat ke-1	63
Gambar 35 .Kurva Regresi Linier Ekstrak Etil Asetat ke-2.....	63
Gambar 36. Kurva Regresi Linier Ekstrak Etil Asetat ke-3.....	63
Gambar 37. Kurva Regresi Linier Vitamin C	64

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas *Reaktif Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Radikal bebas memiliki peran penting dalam kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif dan mencari pasangan dengan menyerang dan mengikat elektron molekul di sekitarnya, seperti DNA, lipid, atau protein. Hal tersebut disebabkan karena kurangnya antioksidan yang masuk kedalam tubuh (Fadlillah dan Dewi, 2024).

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (faktor internal) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran), protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas juga dapat diperoleh dari luar (faktor eksternal) yang berasal dari radiasi sinar UV, polusi udara, asap kendaraan, alkohol atau asap rokok. Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh dengan jumlah banyak dapat merusak sel target seperti lemak, protein, karbohidrat dan DNA sehingga dapat memicu penyakit. Berbagai jenis penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas seperti stroke, diabetes melitus, penyakit jantung, kanker, dan gejala penuaan (Fakriah *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, diperlukan zat penting seperti antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas.

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia, memiliki lebih dari 17.000 pulau, dan wilayah maritimnya mencakup sekitar 5,8 juta km², yang setara dengan 70% dari total wilayah Indonesia (Ali *et al.*, 2021). Selain wilayahnya yang luas Indonesia juga kaya akan keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Saat ini obat tradisional semakin banyak diminati oleh masyarakat karena mudah ditemukan, harganya terjangkau dan memiliki efek samping yang rendah. Masyarakat Indonesia sudah memanfaatkan tanaman obat secara empiris untuk mengobati berbagai macam penyakit. Berbagai macam tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri, antijamur, dan antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menahan atau mencegah reaksi oksidasi dari radikal bebas. Antioksidan dapat berperan dalam menghambat atau memperlambat kerusakan sel, sebagian besar karena sifat penangkal radikal bebasnya. Tubuh manusia memiliki antioksidan alami dari enzim-enzim seperti katalase, *superoksida dismutase* (SOD), *glutathione peroksidase*, dan *glutathione S-transferase* (Pratama dan Busman, 2020). Namun, antioksidan alami tubuh belum dapat sepenuhnya melindungi kerusakan sel yang disebabkan oleh oksidasi dari luar, karena itulah tubuh manusia memerlukan antioksidan tambahan dari luar seperti sayuran, buah-buahan, dan rempah-rempah. Tumbuhan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena mengandung senyawa metabolit sekunder.

Salah satu tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder adalah rumput laut. Sekitar 8,6% dari biota laut di perairan Indonesia terdiri dari rumput laut, yang merupakan salah satu sumber daya hayati yang sangat banyak (Herliany, 2023). Rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang mempunyai keunggulan yang sangat luas seperti digunakan untuk bahan makanan, industri farmasi, industri kosmetik, industri tekstil, dan obat-obatan. Salah satu rumput laut yang dapat dimanfaatkan adalah rumput laut merah *Gracilaria* sp. Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput

laut merah *Gracilaria* sp. mengandung senyawa metabolit sekunder yang paling banyak dibandingkan dengan rumput laut hijau dan coklat. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak *Gracilaria* sp. adalah golongan flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan polifenol yang berfungsi sebagai antibakteri, antijamur, dan antioksidan (Bhernama, 2020).

Menurut data penelitian (Insani *et al.*, 2022), ekstrak *Gracilaria* sp. memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} > 50-100$ ppm, 101-250 ppm kuat, lemah 251-500 ppm dan sangat lemah > 500 ppm. Ekstrak ini mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan fenol hidrokuinon, saponin dan steroid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Berdasarkan data penelitian tersebut, rumput laut *Gracilaria* sp. memiliki aktifitas antioksidan yang dapat menghambat terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol dan etil asetat rumput laut *Gracilaria* sp. kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan etil asetat rumput laut *Gracilaria* sp. dan dapat dijadikan upaya untuk menangkal radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *Gracilaria* sp.
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol dan etil asetat *Gracilaria* sp. menggunakan metode DPPH.

1.3 Manfaat

Manfaat dari penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Dapat dijadikan sebagai bahan untuk memperluas wawasan dan informasi ilmiah tentang pemanfaatan *Gracilaria* sp. yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai antioksidan
2. Dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dari *Gracilaria* sp.

1.4 Kerangka pikir

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, membuatnya sangat reaktif dalam mencari pasangan elektron untuk menjadi stabil. Radikal bebas dapat terbentuk secara alami dalam tubuh manusia melalui proses normal metabolisme, seperti dalam respirasi seluler atau pembakaran makanan untuk energi. Namun, radikal bebas juga dapat dihasilkan oleh faktor eksternal seperti polusi udara, paparan sinar UV, dan asap rokok. Radikal bebas dapat merusak DNA, protein, dan lipid dalam sel-sel tubuh, yang dapat menyebabkan berbagai penyakit dan masalah pada kesehatan. Oleh karena itu, diperlukannya aktivitas antioksidan yang dapat membantu menangkal radikal bebas di dalam tubuh, salah satunya yaitu *Gracilaria* sp.

Tumbuhan merupakan penghasil metabolit sekunder tertinggi. *Gracilaria* sp. dikenal sebagai penghasil metabolit primer dan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri, antijamur dan antioksidan yang berkontribusi terhadap aktivitas farmakologis. Namun, senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *Gracilaria* sp. belum diketahui. Sehingga perlu dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa yang terkandung dalam tanaman ini. Informasi mengenai aktivitas antioksidan *Gracilaria* sp. perlu ketahui. Dalam penelitian ini, metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena mudah, murah, dan efektif untuk mengukur aktivitas antioksidan

dengan cara menilai penurunan absorbansi larutan DPPH setelah penambahan ekstrak.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Pelarut metanol lebih efektif dalam menarik senyawa yang terkandung dalam *Gracilaria* sp.
2. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori Rumput Laut *Gracilaria* sp.

2.1.1 Klasifikasi Rumput Laut *Gracilaria* sp.

Klasifikasi rumput laut *Gracilaria* sp. menurut (Prescott, 1954) adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae
Divisi : Rhodophyta
Kelas : Florideophyceae
Bangsa : Gracilariales
Suku : Gracilariaceae
Marga : *Gracilaria*
Jenis : *Gracilaria* sp.

2.1.2 Morfologi Rumput Laut *Gracilaria* sp.

Rumput laut adalah tumbuhan laut yang biasa dikenal sebagai makroalga. Rumput laut ini dikenal luas karena potensinya sebagai bahan baku industri, khususnya untuk produksi agar-agar yang digunakan dalam berbagai produk, seperti makanan, obat-obatan, dan kosmetik. Terdapat beberapa spesies rumput laut, termasuk *Chlorophyceae* (alga hijau), *Rhodophyceae* (alga merah), dan *Phaeophyceae* (alga cokelat), yang merupakan salah satu komoditas

ekspor laut yang sangat menjanjikan bagi perekonomian Indonesia. Jenis rumput laut ini dapat tumbuh baik di perairan laut maupun payau, jadi sangat cocok untuk dibudidayakan di tambak (Tarigan, 2020).

Gracilaria sp. termasuk dalam kelas alga merah (*Rhodophyta*) (Othman *et al.*, 2018). Umumnya memiliki ciri-ciri seperti berbentuk silindris atau sedikit pipih dengan ujung talus yang meruncing, serta panjang talus yang berkisar antara 3,4 hingga 8 cm. Salah satu ciri utama *Gracilaria* sp. adalah tidak memiliki bentuk sehingga struktur tubuhnya tidak dapat dibedakan antara batang, akar, dan daun. Semua bagian tubuhnya berbentuk talus, yang merupakan struktur sederhana namun efisien. Talus berfungsi secara menyeluruh dalam melakukan proses fotosintesis, penyerapan nutrisi, dan reproduksi, sehingga memungkinkan rumput laut ini untuk bertahan hidup di berbagai kondisi perairan. Permukaan talus *Gracilaria* sp. bervariasi, ada yang halus atau berbintil-bintil, tergantung kondisi lingkungan di mana rumput laut ini tumbuh (Winarsih *et al.*, 2011). Rumput laut *Gracilaria* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rumput Laut *Gracilaria* sp.

Pertumbuhan rumput laut *Gracilaria* sp. sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Biasanya berada di perairan dengan jarak antara 300-1000 meter dari pantai, pada suhu air antara 20 °C hingga 28°C, dengan salinitas air berkisar 15-50 g/L merupakan kondisi optimal bagi

pertumbuhan rumput laut. Pada kondisi ideal, talus dapat tumbuh lebih cepat dan memiliki struktur yang lebih tebal. Sebaliknya, dilingkungan dengan kondisi kurang ideal, talus akan lebih kecil dan pertumbuhannya terhambat. Kemampuan adaptasi morfologi ini membuat *Gracilaria* sp. menjadi spesies yang cocok untuk dibudidayakan di berbagai perairan. (Hernato *et al.*, 2015).

2.1.3 Kandungan *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. dikenal sebagai salah satu jenis rumput laut yang kaya akan nutrisi dan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Kandungan utamanya meliputi karbohidrat, protein dan lemak, yang sebagian besar merupakan senyawa garam natrium dan kalium. Selain itu, rumput laut juga mengandung vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B6, B12, dan C, betakaroten, serta mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), besi (Fe), dan iodin (I). kandungan mineral ini dapat menjadikan sebagai sumber nutrisi yang baik untuk menjaga kesehatan tulang dan sistem kekebalan tubuh. Selain itu, senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Gracilaria* sp. memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Insani *et al.*, 2022).

Beberapa jenis rumput laut diketahui memiliki kandungan vitamin dan mineral penting, seperti kalsium, zat besi dan protein yang cukup tinggi, karena itu, rumput laut menjadi sangat baik untuk konsumsi harian karena berperan dalam menjaga dan mengatur metabolisme tubuh. Karbohidrat yang terkandung dalam rumput laut juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri, serta menghasilkan fitokimia aktif secara biologis seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid, tanin, dan fenol. Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki rumput laut, khususnya fenol pada alga merah terbukti memiliki manfaat sebagai antibakteri, antiinflamasi, antivirus, dan anti karsinogenik (Insani *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian Soamole *et al* (2018) diketahui bahwa ekstrak *Gracilaria* sp. mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin yang memiliki potensi sebagai antioksidan, karena memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas. Flavonoid dapat menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan elektron atau hidrogen, serta mengikat ion logam transisi seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu) yang berperan dalam pembentukan radikal hidroksil melalui reaksi fenton yang sangat reaktif dan berbahaya bagi sel (Kamilatussaniah *et al.*, 2015). Sebagai polifenol, senyawa tanin berfungsi untuk menghambat peroksidasi lipid, suatu proses oksidatif yang merusak membran sel, dan mengikat radikal bebas sehingga mengurangi kerusakan seluler. Karena struktur hidroksilnya reaktif, fenol mampu menangkap radikal bebas dan melindungi DNA, lipid, dan protein dari oksidasi (Wardani *et al.*, 2020)

Sementara itu, alkaloid memiliki kemampuan untuk meningkatkan fungsi enzim antioksidan alami dalam tubuh, seperti katalase dan superoksida dismutase, yang membantu menjaga keseimbangan redoks dan melindungi sel dari kerusakan stres oksidatif. Terpenoid juga berfungsi sebagai antioksidan dengan mencegah pembentukan radikal bebas dan meningkatkan aktivitas enzim pertahanan alami dalam tubuh (Kamilatussaniah *et al.*, 2015). Oleh karena itu, *Gracilaria* sp. dianggap sebagai antioksidan karena kandungan senyawa metabolit sekundernya. mampu melawan kerusakan oksidatif melalui berbagai mekanisme, sehingga berpotensi melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas.

2.2 Uji Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu yang mempelajari sifat dan hubungan senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Sebagian besar senyawa fitokimia mengalami proses metabolik yang sama oleh enzim yang juga bertanggung jawab untuk metabolisme makanan dan obat-obatan. Ilmu fitokimia menjelaskan tentang fungsi, struktur dan jumlah dari bahan kimia terutama senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan, serta pembentukan senyawa tersebut di alam (Julianto, 2019).

Uji fitokimia adalah suatu pengujian untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman yang meliputi pengujian senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, dan terpenoid. Uji kandungan fitokimia dilakukan dengan cara menganalisis fitokimia secara kualitatif. Uji tersebut dapat digunakan untuk menunjukkan ada atau tidaknya kandungan senyawa kimia tertentu pada tumbuhan yang berkaitan dengan aktivitas biologisnya untuk membantu memudahkan langkah-langkah farmakologi dan mendukung perkembangan ilmu kesehatan (Indriani *et al.*, 2023).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan merupakan molekul perantara yang berperan penting dalam proses alami tubuh. Radikal bebas bersifat sangat tidak stabil dan cenderung mudah berinteraksi dengan senyawa lain. Molekul ini berupaya menangkap elektron dari molekul lain untuk mencapai kestabilan sehingga jika tidak terkontrol maka akan terjadi reaksi berantai yang pada akhirnya dapat mengakibatkan kerusakan sel (Suryani *et al.*, 2023). Sumber radikal bebas bisa berasal dari luar tubuh maupun dihasilkan secara internal di dalam tubuh manusia.

2.3.1 Pembentukan Radikal Bebas

Radikal bebas terbentuk melalui tiga tahap yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Inisiasi merupakan proses awal pembentukan radikal bebas. Pada tahap ini molekul stabil kehilangan satu elektron, umumnya akibat paparan radiasi, polusi, atau reaksi biokimia dalam tubuh. Contoh utamanya adalah pembentukan radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dari oksigen molekuler. Kedua, proses propagasi terjadi saat jumlah total radikal bebas bertambah. Pada tahap propagasi, radikal bebas yang telah terbentuk akan bereaksi dengan molekul stabil lainnya, sehingga menyebabkan molekul tersebut kehilangan elektronnya dan berubah menjadi radikal bebas yang baru. Reaksi ini menyebabkan reaksi berantai, di mana radikal baru yang terbentuk terus merusak molekul lain. proses terminasi terjadi ketika penurunan jumlah radikal bebas, seperti ketika dua molekul radikal bebas bergantung membentuk molekul yang stabil. Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh manusia melalui metabolisme sel, peradangan, paparan radiasi dan bahan kimia pada makanan, dan polusi lingkungan (Simanjuntak dan Zulham, 2020).

2.3.2 Radikal Bebas Internal

Terbentuknya radikal bebas dalam tubuh merupakan suatu proses yang berkelanjutan dan tidak bisa dihindari. Sebagian besar radikal bebas terbentuk ketika metabolisme dan reproduksi energi berupa *Reactive oxygen species* (ROS) adalah molekul yang memiliki ukuran sangat kecil dan bersifat sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan. Istilah ROS tidak hanya mengacu pada oksigen radikal, tetapi mengacu juga pada oksigen non radikal (Rasool dan Amin, 2020). Ada tiga jenis *Reaktif oksigen spesies* (ROS) yang merupakan oksidan utama, yaitu oksigen superoksida (O_2), mungkin dikenal sebagai ion superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2).

Hidrogen peroksida (H_2O_2) adalah senyawa kimia yang terdiri dari dua atom hidrogen dan dua atom. Sedangkan *hydroxyl radical* ($\cdot OH$) adalah jenis radikal hidroksil yang memiliki satu atom oksigen dan satu atom hidrogen yang sangat reaktif. Superoksida dihasilkan dari reaksi oksigen dengan suatu senyawa kimia lain, dengan menambahkan satu elektron ke molekul oksigen. Proses ini dilakukan oleh enzim oksidase yang terdapat didalam membran dan organel-organel sel, terutama di dalam mitokondria. Elektron dalam keadaan normal digunakan untuk mereduksi oksigen menjadi air saat proses transpor elektron di mitokondria, namun sekitar 1-3% dari keseluruhan elektron tersebut mengalami kebocoran dan terbentuklah superoksida. Superoksida diubah menjadi hidrogen peroksida dengan bantuan superoksida dismutase (Demirci *et al.*, 2022).

2.3.3 Radikal Bebas Eksternal

Radikal bebas eksternal adalah senyawa reaktif yang dihasilkan dari beberapa faktor dari luar tubuh dan dapat masuk ke dalam tubuh melalui paparan radiasi, polusi udara, asap rokok serta bahan kimia beracun dari lingkungan seperti pestisida dan logam berat. Faktor-faktor tersebut dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh, memicu stres oksidatif, dan dapat memicu berbagai penyakit degeneratif (Irianti dan Nuranto, 2021)

Rokok mengandung banyak radikal bebas seperti superoksida dan *nitric oxide* (NO). Paparan ozon dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan merangsang myeloperoksidase sehingga superoksida terbentuk lebih banyak. Radiasi ionisasi dengan adanya oksigen dapat mengubah *hydroxyl radical* dan superoksida menjadi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida dapat bereaksi dengan logam seperti zat besi dan tembaga melalui reaksi fenton dan menghasilkan lebih banyak *hydroxyl radical* (Rasool dan Amin, 2020).

2.3.4 Manfaat Radikal Bebas

Radikal bebas memiliki peran penting dalam tubuh manusia, khususnya dapat mengatur aliran darah di dalam arteri, merupakan bagian dari sistem imun untuk melawan infeksi dan benda asing, sekaligus dapat digunakan untuk membunuh sel kanker. *Nitric oxide* dibentuk dari asam amino L-arginin oleh sel endotel pembuluh darah, fagosit, dan sel-sel lainnya. *Nitric oxide* yang terkandung dalam pembuluh darah berfungsi untuk mengatur tekanan darah, sedangkan *nitric oxide* yang terkandung dalam sel fagosit berfungsi membunuh parasit (Rasool dan Amin, 2020).

2.4 Vitamin C

Vitamin C atau biasa dikenal sebagai asam askorbat merupakan salah satu vitamin esensial yang larut dalam air yang memiliki peran penting dalam melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif. Asam askorbat memiliki kemampuan reduksinya yang kuat dan berfungsi sebagai reaksi-reaksi hidroksilasi dan antioksidan. Vitamin ini merupakan senyawa organik Dengan struktur kimia yang mirip dengan glukosa sehingga berperan sebagai antioksidan yang kuat dalam tubuh. Beberapa turunan vitamin C, seperti asam eritrobik dan askorbil palmitat biasa dimanfaatkan sebagai antioksidan. Vitamin ini memiliki banyak peran dalam tubuh, termasuk sebagai koenzim atau kofaktor. Sebagian besar vitamin C berasal dari tumbuh-tumbuhan, buah-buahan dan lain sebagainya (Leo dan Daulay, 2022).

Aktivitas vitamin C sebagai antioksidan ditunjukkan oleh kemampuannya sebagai penghambat radikal bebas. Karena sifatnya yang larut dalam air, vitamin C dapat mengeliminasi radikal peroksil dalam cairan sebelum merusak lipid. Vitamin C bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas yang dapat merusak sel dan jaringan dalam tubuh. Dalam tubuh, vitamin C mampu

meregenerasi antioksidan lain, seperti vitamin E kembali ke bentuk aktifnya setelah teroksidasi (Irianti dan Nuranto, 2021).

2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif (Andarina dan Djauhari, 2017). Senyawa kimia dan reaksi yang dapat menghasilkan spesies oksigen yang potensial bersifat toksik dapat dinamakan pro-oksidan. Sebaliknya, senyawa dan reaksi yang mengeluarkan spesies oksigen tersebut, menekan pembentukannya atau melawan kerjanya disebut antioksidan.

Dalam sebuah sel normal terdapat keseimbangan oksidan dan antioksidan yang tepat. Meskipun demikian, keseimbangan ini dapat bergeser ke arah pro-oksidan ketika produksi spesies oksigen tersebut sangat meningkat atau ketika kadar antioksidan menurun. Keadaan ini dinamakan "stress oksidatif" dan dapat mengakibatkan kerusakan sel yang berat jika stress tersebut masif atau berlangsung lama. Enzim yang bersifat antioksidan mengeluarkan atau menyingkirkan superoksidan dan hidrogen peroksida. Vitamin E, vitamin C, dan mungkin karotenoid, biasanya disebut sebagai vitamin antioksidan, dapat menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Irianti dan Nuranto, 2021).

2.5.1 Manfaat Antioksidan

Antioksidan didalam tubuh berfungsi sebagai sistem pertahanan secara alami untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif (ROS) atau spesies nitrogen reaktif (RNS) dan

juga radikal bebas. Antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi dan mencegah kerusakan sel dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Produksi ROS yang berlebihan akan mengakibatkan ketidak seimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan sehingga akan timbul stres oksidatif (Andarina dan Djauhari, 2017).

2.5.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Tubuh mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang dilengkapi dengan antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Sistem pertahanan antioksidan memiliki beberapa mekanisme kerja diantaranya yaitu, mempercepat reaksi netralisasi radikal bebas oleh enzim, mereduksi radikal bebas dengan donor elektron dan mengikat ion logam oksidan dengan protein pengikat (Garcia dan Blesso, 2021). Ketika terjadi reaksi oksidasi di dalam tubuh dan menghasilkan radikal bebas (OH), maka antioksidan berperan sebagai penghambat yang mengubah radikal bebas menjadi non radikal. Ketika antioksidan tidak ada di dalam tubuh, maka radikal bebas akan menyerang molekul-molekul lain di sekitarnya. Reaksi ini menghasilkan lebih banyak radikal bebas yang siap menyerang molekul lain. Sehingga membentuk rantai molekul yang berbahaya (Yuslianti, 2018).

2.5.3 Jenis Antioksidan

Secara umum antioksidan dibedakan menjadi dua yaitu, antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh dan antioksidan yang diserap dari luar tubuh. Antioksidan yang diproduksi oleh tubuh terdiri atas tiga enzim yaitu, superoksida dismutase, glutathion peroksidase, katalase, dan non enzim. *Superoksida dismutase* (SOD) berperan dalam melawan radikal bebas pada mitokondria, sitoplasma, dan bakteri aerob dengan mengurangi bentuk radikal bebas superoksida. Superoksida dismutase murni dapat berupa peptida organik yang biasa disebut sebagai agen

anti peradangan. Antioksidan glutathion peroksidase bekerja dengan cara menggerakan H_2O_2 dan lipid peroksida dibantu dengan ion logam-logam transisi (Yuslianti, 2018). Ada dua jenis antioksidan yang biasa dikonsumsi manusia, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada makanan seperti BHA (*Butylated Hydroxyl Anisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) dan propil galat. Namun penggunaan antioksidan sintetis dinyatakan bahwa bersifat toksik dan memberikan dampak negatif pada kesehatan manusia, karena dapat mengganggu fungsi hati, paru, mukosa usus dan menyebabkan keracunan. Hal tersebut dapat terjadi apabila penggunaan dosis antioksidan sintesis melebihi 0,01-0,1% (Dwiloka *et al.*, 2021).

2.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode sebagai berikut:

1. DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*)

DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) merupakan metode untuk mengevaluasi potensi antioksidan dari suatu senyawa, ekstrak atau sumber biologi lainnya. Metode DPPH berdasarkan pada senyawa antioksidan di dalam zat yang mengubah radikal DPPH menjadi molekul DPPH yang lebih stabil dengan transfer elektron (SET) atau transfer atom hidrogen (HAT) (Akar, *et al.*, 2017). Pengukuran DPPH menggunakan spektrofotometer UV-vis dengan absorbansi panjang gelombang 519 nm menyebabkan perubahan menjadi warna ungu menjadi kuning.

2. ABTS (*2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazonline-6-sulfonicacid)-diammonium salt*)

Metode ABTS (*2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazonline-6-sulfonicacid)-diammonium salt*) sering digunakan dalam uji antioksidan yang larut dalam air, larut dalam lemak, senyawa

murni, ekstrak makanan, flavonoid, *hydroxycinnamates*, karotenoid serta antioksidan plasma. Prinsip dari metode ini adalah interaksi antara kation radikal ABTS yang dihasilkan sebelumnya dengan antioksidan. ABTS dapat dioksidasi dengan menggunakan dioksida atau potassium sulfat, reaksi antara ABTS dan potassium sulfat akan menghasilkan warna biru yang ditetapkan dengan absorbansi pada panjang gelombang 645 nm, 734 nm dan 815 nm (Pourmorad, *et al.*, 2006).

3. *Reducing Power*

Metode *reducing power* memiliki prinsip mengukur kemampuan reduksi ion Fe^{3+} pada $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ menjadi Fe^{2+} . Kemampuan mereduksi dilihat melalui pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 700 nm. Peningkatan absorbansi menunjukkan peningkatan daya reduksi. Hasil dari absorbansi dinyatakan sebagai μg asam askorbat/mg ekstrak (Bursal dan Koksul, 2011).

4. FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) merupakan metode untuk menentukan kadar antioksidan dengan prinsip berdasarkan kemampuan suatu zat dalam mereduksi garam *ferric tripyridyltriazine* (Fe^{3+} -TPTZ) yang tidak berwarna menjadi kompleks *ferrous tripyridyltriazine* (Fe^{2+} -TPTZ) berwarna biru yang terbentuk dari reaksi antioksidan donor elektron pada pH 3,6 (Panda, 2012). Ekstrak sampel dicampurkan dengan reagen FRAP lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 593 nm (Gohari, *et al.*, 2011). Metode ini sering digunakan untuk menguji antioksidan pada tumbuhan. FRAP dipilih karena metode serta reagensinya mudah disiapkan, sederhana dan hasilnya cepat (Maryam, *et al.*, 2015).

5. TRAP (*Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter*)

TRAP (*Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter*) adalah teknik yang digunakan untuk mengukur kapasitas total antioksidan

suatu sampel dalam menangkap radikal bebas. Prinsip kerja metode ini adalah berdasarkan pengukuran penggunaan oksigen selama reaksi oksidasi lipid terkontrol yang diinduksi oleh hasil dekomposisi dari AAPH (*2,2'-azobis-(2-methyl-propanimidamide) dihydrochloride*) untuk mengukur aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004).

6. ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Metode *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) adalah teknik yang digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan suatu sampel dalam menetralkan radikal bebas, khususnya radikal peroksil. Dalam metode ini, radikal peroksil dihasilkan dari senyawa AAPH (*2,2'-azobis-2-amidino-propane*), yang kemudian bereaksi dengan molekul fluorescein, menyebabkan penurunan fluoresensi seiring waktu (Pradnya, 2019). Pengujian ORAC biasanya dilakukan dalam buffer fosfat pada pH 7,4, dengan pengukuran fluoresensi menggunakan panjang gelombang eksitasi 485 nm dan emisi 528 nm pada suhu 37°C. Data yang diperoleh dianalisis dengan menghitung area di bawah kurva (AUC) fluoresensi terhadap waktu, yang kemudian dibandingkan dengan standar seperti Trolox untuk menghasilkan nilai ORAC yang dinyatakan dalam mikromol ekuivalen Trolox per gram sampel ($\mu\text{mol TE/g}$) (Nugraheni, *et al.*, 2024).

7. CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) adalah teknik yang digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak. Prinsip dasar metode ini melibatkan reduksi ion tembaga(II) [Cu(II)] menjadi ion tembaga(I) [Cu(I)] oleh senyawa antioksidan dalam sampel yang diuji. Ion Cu(I) yang terbentuk kemudian berinteraksi dengan neokuproin, membentuk kompleks berwarna oranye yang dapat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 450 nm (Wahyuni, 2015)

8. TBA (*Thiobarbituric Acid*)

TBA (*Thiobarbituric Acid*) merupakan metode yang digunakan untuk mengukur tingkat peroksidasi lipid, yaitu proses oksidasi lemak yang menghasilkan senyawa-senyawa seperti malondialdehida (MDA). Dalam konteks uji aktivitas antioksidan, metode TBA menilai kemampuan suatu senyawa atau ekstrak dalam menghambat pembentukan MDA, yang merupakan indikator kerusakan oksidatif pada lipid. Prosedur umum metode TBA melibatkan inkubasi sampel dengan reagen TBA, di mana MDA bereaksi dengan TBA membentuk kompleks berwarna merah muda yang dapat diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang sekitar 532 nm. Intensitas warna yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi MDA dalam sampel; semakin rendah intensitas warna, semakin tinggi aktivitas antioksidan sampel tersebut (Purwanto dan Aprilia, 2022).

III. METODE KERJA

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Tanggal 2 September sampai dengan 26 Oktober 2024 di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental, yang memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol dan etil asetat rumput laut *Gracilaria* sp.

3.3 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur digunakan untuk menyimpan reagen DPPH, timbangan untuk menimbang sampel dan bahan yang akan digunakan, tabung reaksi digunakan untuk memasukkan sampel dan reagen DPPH, rak tabung reaksi untuk menyimpan tabung reaksi, *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dari sampel, sehingga menghasilkan ekstrak, *shaker* berfungsi untuk mengaduk simplisia hingga homogen, saringan untuk menyaring sampel dan bahan yang akan digunakan, corong kaca, kertas saring untuk menyaring filtrat, beaker glass sebagai tempat maserasi sampel, mikropipet untuk mengambil larutan, stopwatch untuk menghitung waktu saat penelitian, blender untuk

menghaluskan sampel, *waterbath* untuk menghasilkan ekstrak kental, spektrofotometer UV- Vis untuk mengukur panjang gelombang, kamera untuk dokumentasi penelitian, label dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel *Gracilaria* sp. pelarut metanol, etil asetat, etanol 70%, aquades, Nystain, HCl, reagen Wagner, reagen Mayer, reagen Dragendorf, NaOH 1N, asam sulfat (H_2SO_4) 2N, serbuk Mg, $FeCl_3$ 1%, kloroform, Vitamin C, DPPH Pa (Merck).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengumpulan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu rumput laut *Gracilaria* sp. yang didapatkan dari Desa Wanayasa, Kecamatan Kramatwatu, Kabupaten Serang, Banten, Indonesia.

3.4.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia melalui beberapa proses yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, penghalusan dan penyaringan. Pertama, pengumpulan bahan baku rumput laut *Gracilaria* sp. kedua, disortasi basah untuk memisahkan bahan-bahan asing yang tidak diinginkan atau berbahaya dalam pembuatan simplisia, seperti kerang pasir. Ketiga, sebanyak 100 kg rumput laut dicuci terlebih dahulu hingga bersih dengan menggunakan air mengalir untuk memisahkan kotoran yang masih menempel pada rumput laut. Keempat, rumput laut dijemur di bawah sinar matahari dan ditutupi kain hitam atau waring agar zat kimia yang terkandung dalam daun tidak rusak akibat paparan sinar matahari langsung, pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi

kadar air dalam tanaman dan pengawetan simplisia supaya dapat bertahan lama dalam masa penyimpanan dengan menghambat proses pembusukan. Kelima, disortasi kering untuk memisahkan rumput laut yang sudah kering dengan kotoran-kotoran lain yang masih tertinggal atau rumput laut yang rusak selama proses pengeringan. Keenam, rumput laut yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dengan kecepatan maksimum dalam waktu 3 menit sampai menjadi bubuk halus, tujuan penghalusan yaitu untuk mempermudah pada saat proses ekstraksi, memperluas permukaan partikel sehingga semakin besar kontak permukaan partikel simplisia dengan pelarut dan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam simplisia sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang lebih banyak dari simplisia. Ketujuh, Simplisia diayak atau disaring menggunakan ayakan (Winato *et al.*, 2019).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Metanol dan Etil Asetat Rumput Laut *Gracilaria* sp.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi atau perendaman. Maserasi adalah cara sederhana untuk mendapatkan hasil yang maksimal dengan menggunakan pelarut dan pengadukan secara berulang pada suhu kamar. Proses ini dimulai dengan memasukkan simplisia ke dalam pelarut. Hal ini memungkinkan pelarut melewati dinding sel dan masukan ke dalam tubuh sel, tempat zat aktif berada (Winata *et al.*, 2023).

Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan penggantian pelarut setiap 24 jam, perbandingan antara serbuk simplisia dan pelarut yaitu (1:10), digunakan dua pelarut untuk maserasi yaitu pelarut metanol dan etil asetat. Masing-masing pelarut digunakan sebanyak 3 liter dibagi menjadi 3 yaitu (1.1.1) 1 Liter pada hari pertama, 1 Liter pada hari kedua dan 1 Liter pada hari ketiga. Sampel rumput laut

Gracilaria sp. yang di gunakan sebanyak 1 kg. Masing-masing pelarut digunakan 500 gram simplisia. Pada pelarut metanol digunakan 500 gram simplisia dan pelarut etil asetat digunakan 500 gram simplisia kemudian, dimasukkan kedalam maserator (beaker glass). Ditambahkan pelarut hingga sampel terendam atau selapis di atas permukaan sampel. Selanjutnya, diaduk menggunakan *shaker* selama 3 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, filtrat pertama disaring, kemudian ampas diremaserasi dengan pelarut yang baru. Di lakukan prosedur yang sama pada hari selanjutnya untuk mendapatkan filtrat II dan III. Filtrat yang diperoleh masih berbentuk ekstrak cair diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu maksimum 50°C, kemudian dilanjutkan dalam *waterbath* hingga menghasilkan ekstrak kental.

3.4.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah suatu uji yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu bahan alam. Skrining fitokimia adalah metode yang dipergunakan untuk menganalisis senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi pendeteksi golongan pada tabung reaksi. Uji fitokimia yang dilakukan berdasarkan penelitian Insani *et al.*, (2022) meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid dan fenol hidrokuinon.

1. Analisis Alkaloid

Sebanyak 0,05 g sampel ekstrak *Gracilaria* sp. dilarutkan dalam 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) 2N. Larutan sampel diletakkan pada plat tetes dan ditetesi pereaksi. Pengujian menggunakan tiga pereaksi alkaloid yaitu Dragendorff, Meyer, dan Wagner. Hasil uji positif apabila terbentuk endapan merah hingga jingga dengan

pereaksi Dragendorff, endapan putih kekuningan dengan dengan pereaksi Meyer, dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

2. Analisis Flavonoid

Sebanyak 0,05 g sampel ekstrak *Gracilaria sp* kemudian ditambah dengan 0,05 mg serbuk Mg. Hasil uji positif apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

3. Analisis Saponin

Sebanyak 0,05 g, sampel ekstrak *Gracilaria sp.* dilakukan pengujian dengan tes foam. Ekstrak dilarutkan kedalam 2 mL aquadest dalam tabung reaksi kemudian larutan dikocok. Terbentuknya busa yang tidak hilang setelah ditambahkan larutan asam menunjukkan adanya senyawa saponin.

4. Analisis Tanin

Sebanyak 0,05 g, sampel ekstrak *Gracilaria sp.* ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1% kemudian diamati. Apabila terbentuk warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin.

5. Steroid atau Terpenoid

Sebanyak 0,05 g, sampel ekstrak *Gracilaria sp.* ditambah dengan 2 mL kloroform kemudian ditetesi asam asetat sebanyak 5 tetes dan asam sulfat pekat (H₂ SO₄) 2N sebanyak 3 tetes. Hasil uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah kecokelatan untuk pertama kali yang kemudian berubah menjadi biru atau hijau. Warna biru atau hijau pada larutan menandakan adanya kandungan steroid sedangkan warna merah kecokelatan menandakan adanya kandungan terpenoid.

6. Fenol

Sebanyak 0,05 g, sampel ekstrak *Gracilaria sp.* kemudian dilarutkan dalam 0,25 mL etanol 70%. Larutan ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 2 tetes. Hasil uji positif apabila terbentuk warna hijau atau hijau biru.

3.4.5 Metode DPPH (2,2 dipenyl-1-picrylhidrazyl)

Metode uji antioksidan terhadap radikal bebas DPPH modifikasi dari beberapa prosedur yang telah dilaporkan oleh Panda (2012).

1. Pembuatan reagen DPPH

DPPH dengan konsentrasi 160 mg/L dibuat dengan menimbang zat tersebut sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 25 mL pelarut asetat di dalam labu ukur. Larutan yang dihasilkan disimpan di ruang gelap dan dilindungi dengan aluminium foil.

2. Pembuatan larutan stock sampel

Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan pelarut hingga volumenya 20 mL. Larutan ekstrak yang tersedia menjadi larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm.

3. Pembuatan larutan kontrol positif (Vitamin C)

Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan 1 ml pelarut. Larutan yang dihasilkan disimpan di ruangan gelap dan dilindungi dengan aluminium foil.

4. Pengukuran sampel

Proses pengenceran sampel disajikan pada Tabel 1. yang dihitung berdasarkan rumus menurut (Nor *et al.*, 2018).

$$M_1.V_1=M_2.V_2$$

Keterangan:

M_1 : Konsentrasi awal

V_1 : Volume awal

M_2 : Konsentrasi akhir

V_2 : Volume akhir

Tabel 1. Proses Pengenceran Sampel Uji Dengan DPPH

Konsentrasi (ppm)	Larutan Ekstrak (μL)	Pelarut (Metanol dan Etil asetat) (μL)	DPPH 160 ppm (μL)
Blanko	0	4000	1000
50	250	3750	1000
100	500	3500	1000
150	750	3250	1000
200	1000	3000	1000
250	1250	2750	1000

Pengenceran sampel uji dengan DPPH dilakukan sesuai dengan Tabel 1. Semua larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit yang dihitung sejak penambahan larutan DPPH pada sampel. Di amati perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH kemudian, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal DPPH (517 nm). Persentasi penghambatan aktivitas antioksidan dapat dihitung melalui rumus (Karundeng dan Aloanis., 2018)

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A^0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A0 : absorbansi blanko (metanol dan etil asetat)

A1 : absorbansi sampel (ekstrak)

IC₅₀ sediaan sampel terhadap larutan DPPH ditentukan dari persamaan regresi linier yang dihasilkan dari pengukuran variasi konsentrasi sampel terhadap larutan DPPH. Persamaan regresi linier, $y = a + bx$, dimana sumbu x adalah konsentrasi sampel

dan sumbu y adalah % inhibisi, maka nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan rumus berikut menurut (Septiani, *et al.*, 2022):

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan:

y : % inhibisi (50)

a : Intercept (Perpotongan garis di sumbu y)

b : Skype (Kemiringan)

x : Konsentrasi

5. Pengujian dilakukan sebanyak triplo (n=3).

3.5 Analisis Data

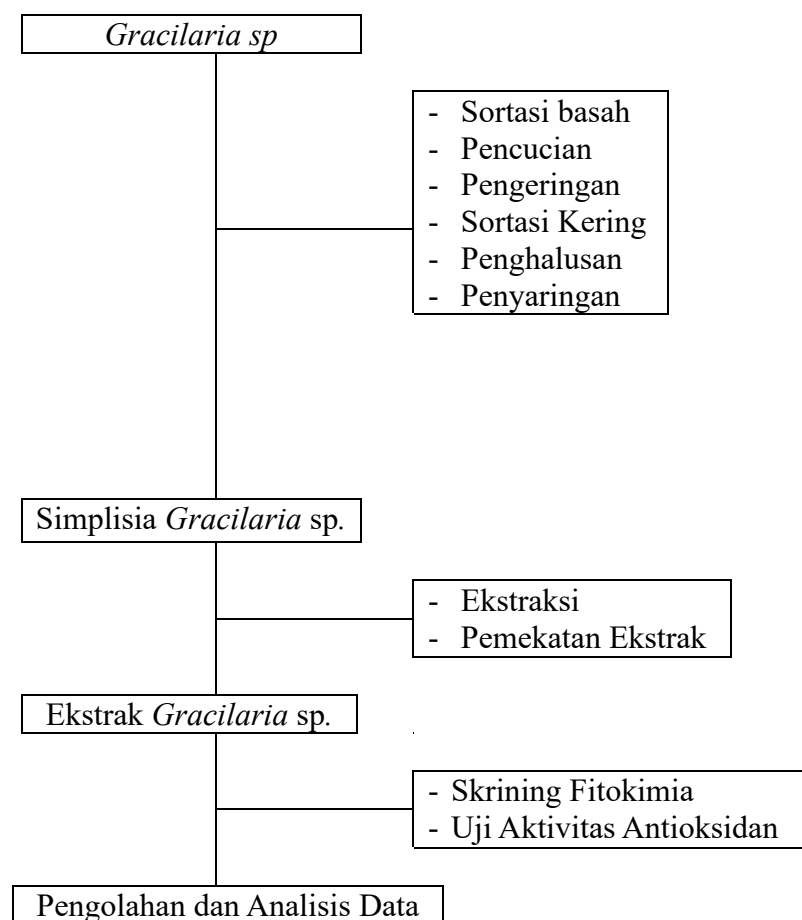
Penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung terhadap sampel *Gracilaria* sp. Data yang diperoleh dari hasil evaluasi dibuat dalam bentuk tabel kemudian dideskripsikan hasilnya, selanjutnya menganalisis dan menghitung persentase peningkatan terhadap aktivitas antioksidan atau (IC_{50}) dalam kemampuannya menangkap radikal bebas dihitung menggunakan persamaan regresi linier. Data hasil pengukuran persen peredaman yang diperoleh dianalisis menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* untuk memperoleh persamaan regresi linier. Perhitungan secara regresi linier dimana y merupakan % peredaman dan x merupakan konsentrasi (ppm) sehingga didapatkan persamaan untuk menghitung nilai IC_{50} dengan rumus $y = bx + a$. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti nilai $y = 50$. Nilai IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang memiliki penghambatan absorbansi DPPH sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC_{50} maka menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Kemudian, hasil IC_{50} akan dicocokkan berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan menurut (Suryani *et al.*, 2023). Tingkat kekuatan antioksidan tersebut dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan

Nilai IC ₅₀	Kategori Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat Lemah

3.6 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir dari penelitian Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Etil asetat dari *Gracilaria* sp. menggunakan metode DPPH(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak metanol dan etil asetat dari *Gracilaria* sp. mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, dan steroid.
2. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol *Gracilaria* sp. memiliki nilai IC_{50} sebesar 158,91 tergolong lemah, dan ekstrak etil asetat *Gracilaria* sp. memiliki nilai IC_{50} sebesar 252,07, dikategorikan sangat lemah.

5.2 Saran

Saran yang diajukan peneliti bagi peneliti selanjutnya adalah

1. Perlu dilakukan perbandingan uji antioksidan menggunakan pelarut lain seperti etanol dan n-heksan untuk menentukan pelarut yang paling efektif.
2. Perlu dilakukan perbandingan uji antioksidan dengan menggunakan metode lain seperti ABTS (2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)-diammonium salt), FRAF (Ferric Reducing Antioxidant Power), TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) dan TBA (Thiobarbituric Acid) untuk mengetahui metode yang lebih efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, I. M., dan Sianturi, D. 2022. Strategi Pertahanan Laut dalam Menghadapi Ancaman Keamanan maritim di Wilayah Laut Indonesia. *Jurnal Education and Development*, 10(2), 372-379.
- Angelina, V., Solehah, K., dan Hasina, R. 2024. Phytocemical Screening Water Extract of Pineapple Skin (*Ananas comosus* (L.) Merr) from East Lombok. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(1b), 250-257.
- Akar, Z., Kucuk, M., dan Dogan, H. 2017. A new colorimetric DPPH scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 32(1), 640-647.
- Andarina, R., dan Djauhari, T. 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), 39-48.
- Bhernama, B. G. 2020. Aktivitas Antibakteri Sabun Padat Yang Mengandung Ekstrak Etanol Rumput Laut *Gracilaria sp* Terhadap Bakteri *Staphylococcus Auereus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 19(1), 34-44.
- Bursal, E., dan Koksall, E. 2011. Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). *Food Research International*, 44(7), 2217-2221.
- Daniel, D., Sitorus, S., dan Magdalena, A. R. 2024. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L) dan Analisis Komposisi Senyawa Yang Terkandung. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 21(2), 67-75

- Demirci, S., Ozkan, G., Avan, A. N., Uzunboy, S., Capanoglu, E., dan Apak, R. 2022. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 209(5), 114-477. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114477>
- Dwiloka, B., Setiani, B. E., dan Karuniasih, D. 2021. The Effect of the Use of Repeated Cooking Oil on Oil Absorption, Peroxide Value and Free Fatty Acid in Cooking Chicken. *Sains Teknologi Manajemen Jurnal (STMJ)*, 1(1), 13– 17.
- Edison, E., Diharmi, A., Ariani, N. M., dan Ilza, M. 2020. Komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar *Sargassum plagyophyllum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 58-66.
- Fadlillah, N. N., dan Dewi, M. L. 2024. Perawatan Kulit dengan Masker Alami Antioksidan untuk Peremajaan Wajah. *Jurnal Riset Farmasi*, 4(1), 7-14.
- Fakriah, Kurniasih, E., Adriana, dan Rusydi. 2019. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi*, 3(1), 1- 6. <https://doi.org/10.30811/vokasi.v3i1.960>
- Garcia, C., dan Blesso, C. N. 2021. Antioxidant properties of anthocyanins and their mechanism of action in atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(2), 152–166. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.040>
- Gohari A.R., Hajimehdipoor, H., Saeidnia S., Ajani Y., dan Hadjiakhoondi, A. 2011. Antioxidant Acitivity of Some Medicinal Species Using FRAP Assay. *Journal of Medicinal Plants*. 10(37), 1-7.
- Herliany, N. E., Utami, M. A. F., Wilopo, M. D., Purnama, D., Johan, Y., Zamdial, Z., dan Permatasari, N. 2023. Komposisi Nutrisi Rumput Laut Coklat (*Phaeophyta*) dan Merah (*Rhodophyta*) Asal Perairan Teluk Sepang Kota Bengkulu. *Jurnal Enggano*, 8(2), 147-153.
- Hernanto, A. D., Rejeki, S., dan Ariyati, R. W. 2015. Pertumbuhan budidaya rumput laut (*Eucheuma cottoni* dan *Gracilaria* sp.) dengan metode long line di perairan pantai Bulu Jepara. *Journal of Aquaculture management and Technology*, 4(2), 60-66.
- Illing, I., Safitri, W., dan Erfiana, 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66-84.

- Indriani, N., Ramandha, M. E. P., dan Kresnapati, I. N. B. A. 2023. Uji Evaluasi Fitokimia Tumbuhan Herbal Berdasarkan Informasi Empiris Pada Masyarakat Lombok. *Jurnal Medical Laboratory*, 2(1), 1–8.
<https://doi.org/10.57213/medlab.v2i1.131>
- Insani, A. N., Hafiludin, H., dan Chandra, A. B. 2022. Pemanfaatan Ekstrak *Gracilaria sp.* dari Perairan Pamekasan sebagai Antioksidan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 3(1), 16–25.
- Irianti, T. T., dan Nuranto, S. 2021. *Antioksidan dan kesehatan*. Ugm Press.
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia*. In Jakarta penerbit buku kedokteran EGC. 53(9), 1-116.
- Julianto, B. S., dan Badrudin. 2014. *Budidaya Rumput Laut Gracilaria sp di Tambak*. ISBN 978-979-1461-37-5.
- Julyasih, K. S. M., dan Putu, N. L. M. 2020. Komponen fitokimia makro alga yang diseleksi dari pantai Sanur Bali. *Jurnal Seminar Nasional Riset Inovatif*, 28–31
- Kamilatussaniah, K., Yuniastuti, A., dan Iswari, R. S. 2015. Pengaruh suplementasi madu kelengkeng terhadap kadar TSA dan MDA tikus putih yang diinduksi timbal (Pb). *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 38(2), 108-114.
- Kartikasari, D., Rahman, I. R., dan Ridha, A. (2022). Uji fitokimia pada daun kesum (*Polygonum minus Huds.*) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 35-42.
- Karundeng, M., dan Aloanis, A. A. 2018. Analisis Pemerangkapan radikal bebas ekstrak etanol buah beringin (*Ficus benjamina* Linn.). *Fullerene Journal of Chemistry*, 3(2), 37-39.
- Kusnadi, Devi Egie T. 2017. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun seledri (*Apium gaveolens* L.) dengan metode refluks. *Pancasakti Science Education Journal*. 2(1): 56-57. DOI: <https://doi.org/10.24905/psej.v2i1.675>
- Leo, R., dan Daulay, A. S. 2022. Penentuan Kadar Vitamin C Pada Minuman Bervitamin Yang Disimpan Pada Berbagai Waktu Dengan Metode

- Spektrofotometri UV. *Journal of Health and Medical Science*, 1(2) 105-115.
- Maryam, S., Muzakkir, B., Nadia, A. 2015. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 1-6.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical *Diphenyl picryl hydrazyl* (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
- Nor, T. A., Indriarini, D., dan Koamesah, S. M. J. 2018. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 6(3), 327-337.
- Nugraheni, T., Putri, A., Sukmawati, A., Khasanah, L., Nisa, L., Wulandari, S., dan Setiawan, I. 2024. Macam-macam metode pengujian aktivitas antioksidan. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 13(1), 39-50.
- Othman, M. N. A., Hassan, R., Harith, M. N., dan Sah, A. S. R. M. 2018.. Morphological characteristics and habitats of red seaweed *Gracilaria* sp.(*Gracilariaceae*, *Rhodophyta*) in Santubong and Asajaya, Sarawak, Malaysia. *Tropical Life Sciences Research*, 29(1), 87–101.
- Panda, S. K. 2012. Assay guided comparison for enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities with special reference to medicinal plants. *Antioxidant enzyme*, 1(4), 382-400.
- Pourmorad, F., Hosseini-mehr, S. J., dan Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medical plants. *African Journal of Biotechnology*;5 (11), 1142-1145.
- Pradnya, E. N. C. 2019. Analisis Aktivitas Antioksidan pada Moluska Menggunakan Metode ORAC. *Jurnal Biologi Tropis*, 17(2), 99-105.
- Pratama, A. N., dan Busman, H. 2020. Potensi antioksidan kedelai (*Glycine max* L) terhadap penangkapan radikal bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 497-504.

- Prasetyo, E., Kharomah, N, Z, W., dan Rahayu, T, P. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 75-82.
- Prescott, G.W. 1945. How To Know Fresh-Water Algae. WM. C Brown Company Publisher Dubuque,IOWA
- Purwaningsih, S., dan Deskawati, E. 2020. Karakteristik dan aktivitas antioksidan rumput laut *Gracilaria* sp. asal Banten. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 503-512.
- Purwanto, U. M. S., dan Aprilia, K. 2022. Antioxidant Activity of Telang (*Clitoria ternatea* L.) Extract in Inhibiting Lipid Peroxidation. *Current Biochemistry*, 9(1), 26-37.
- Putri, I. A dan Mahfur. 2023. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Batang Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research (IJPSCR)*, 1(2), 1-16
- Rasool, S. U. A., dan Amin, S. 2020. Oxidative stress and antioxidants From free radicals to disease pathogenesis. *Frontiers in chemistry*, 1(1), 158-168.
- Riskiana, N. P. Y. C., dan Vifta, R. L. 2021. Kajian pengaruh pelarut terhadap aktivitas antioksidan alga coklat genus *Sargassum* dengan metode DPPH. *Journal of Holistics and Health Sciences*, 3(2), 201-213.
- Rumagit, H. M. 2015. Uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(3), 183-192.
- Safitri, E. R., Kesehatan, F., Mulia, U. S., dan Pramuka, J., 2020. Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Ketepeng Cina (*Senna alata* (L .) Roxb .). 1(1), 10–18.
- Septiani, S., Gatera, V. A., dan Ratnasari, D. 2022. Analisis Antioksidan Pada Minuman Jahe Instan Menggunakan Metode 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *Jurnal Pendidikan dan Konseling (JPDK)*, 4(6), 286-292.

- Simanjuntak, E. J., dan Zulham, Z. 2020. *Superoksida Dismutase (SOD) dan Radikal Bebas. Jurnal Keperawatan Dan Fisioterapi (Jkf)*, 2(2), 124–129. <https://doi.org/10.35451/jkf.v2i2.342>
- Soamole, H. H., Sanger, G., Harikedua, S. D., Dotulong, V., Mewengkang, H., dan Montolalu, R. 2018. Kandungan fitokimia ekstrak etanol rumput laut segar (*Turbinaria sp*, *Gracilaria sp*, dan *Halimeda macroloba*). *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3). 94-98.
- Suryani, N. P. F., Hita, I. P. G. A. P., dan Septiari, I. G. A. A. 2023. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Porang (*Amorphophallus muelleri* B.) dengan Pelarut Ekstraksi Etanol, Etil Asetat dan N-heksana. *Journal Scientific of Mandalika (JSM)*, 4(9), 179–194. <https://doi.org/10.36312/10.36312/vol4iss9pp179-194>
- Susanto, A. B., Siregar, R., Hanisah, H., Faisal, T. M., dan Harahap, A. 2021. Analisis Kesesuaian Kualitas Perairan Lahan Tambak Untuk Budidaya Rumput Laut (*Gracilaria sp.*) di Kecamatan Langsa Barat, Kota Langsa. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 5(3), 655-667.
- Syarifah, A. L., dan Anggraini, F. A. (2024). Antioxidant Activity and Flavonoid Concentration of Simplicia Date Seed Powder Infusion (*Phoenix dactyliferae Semen*). *Journal of Herbal, Clinical and Pharmaceutical Science (HERCLIPS)*, 6(01), 60-72.
- Tarigan, N. 2020. Eksplorasi keanekaragaman makroalga di perairan Londa Lima kabupaten Sumba Timur. *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 5(1), 37-43.
- Wahyuni, I. R. 2015. Validasi Metode Analisis Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak NHeksan, Etil Asetat, Etanol 70% Umbi Talas Ungu (*Colocasia esculenta L. Schott*) Dengan Metode DPPH, CUPRAC, dan FRAP secara Spektrofotometri UV-VIS. *Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*.
- Wardani, Y. K., Kristiani, E. B. E., dan Suchahyo, S. 2020. Korelasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman *Celosia argentea* Linn. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), 136-142.
- Winata, H. S., Andry, M., Nasution, M. A., Rezaldi, F., Shindy, A., dan Sembiring, F. B. 2023. Anti-Inflammatory Activity of Stem Barks Ethanol Extracts

of *Garcinia xanthochymus* on Male White Rats Hanafis. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* (AMS). 9(1), 47–53.

- Winarsih, S., Yulianto, I., dan Purwanti, A. 2011. *Pengelolaan dan Budidaya Rumput Laut di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Winato, B. M., Sanjaya, E., Siregar, L., Fau, S. K. Y. M. V., dan Mutia, M. S. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Biolink (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 6(1), 50-58.
- Wirawan, I. G. P., Sasadara, M. M. V., Wijaya, I. N., dan Krinandika, A. A. K. 2021. DNA barcoding in molecular identification and phylogenetic relationship of beneficial wild Balinese red algae, Bulung sangu (*Gracilaria* sp.). *Bali Medical Journal*, 10(1), 82-88.
- WWF-Indonesia. 2014. *Teknik budidaya rumput laut*. In Seri Panduan Perikanan Skala Kecil.
- Yuslianti, E. R. 2018. *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Deepublish.