

Identifikasi Komposisi Pigmen, Isolasi, dan Aktivitas Antioksidan β Karoten pada Rumput Laut Merah *Gracilaria gigas* Hasil Budidaya

Federika Kondororik¹, Martanto Martosupono¹, AB Susanto²

¹Program Studi Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana
Jln. Diponegoro No.52-60, Salatiga

²Magister Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Email: federikakondororik@gmail.com

Abstrak

Tujuan penelitian untuk mengetahui kandungan pigmen alami dan uji antioksidan β -karoten pada sampel rumput laut *Gracilaria gigas* Harvey hasil budidaya pada pantai Jepara, Semarang, Jawa Tengah. Sampel rumput laut diekstrak dengan menggunakan aseton : methanol 7:3 (v/v). Untuk identifikasi jenis pigmen metode yang digunakan yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), sedangkan untuk uji antioksidan β -karoten menggunakan uji DPPH (2,2-Diphently-1-picrylhydrazyl radical) dan untuk melihat % penghambatan dengan menggunakan nilai IC_{50} . Hasil KLT sampel menunjukkan terdapat 8 spot warna pada plat silica gel yaitu : Karotenoid, Feofitin a, Klorofil a dan b, dan Santofil. Untuk analisis dengan menggunakan KCKT terdapat 11 puncak dan pigmen yang berhasil diidentifikasi antara lain : β , ϵ -karotenoid, Fukosantin, Seperti Klorofil a dan Klorofil a. Nilai IC_{50} untuk uji antioksidan β -karoten murni sampel *Gracilaria gigas* Harvey sebesar 54981,44 μ g/ml, hal tersebut menunjukkan bahwa β -karoten pada sampel berpotensi untuk menghambat 50% radikal bebas.

Kata kunci—*Gracilaria gigas* Harvey , Rumput Laut Merah, KCKT, KLT, β -karoten, Uji Antioksidan

PENDAHULUAN

Mengapa keberadaan rumput laut sangat penting? mungkin bagi sebagian besar orang tidak menyadari betapa pentingnya peranan rumput laut baik secara ekologi maupun komersial. Rumput laut merupakan produsen utama dalam ikatan rantai makanan pada ekosistem laut, kaya akan mineral, dan merupakan penyedia material mentah yang nantinya akan digunakan dalam industri farmasi maupun kosmetik. Rumput laut juga merupakan produk serbaguna yang secara luas digunakan dalam industri makanan yang secara langsung dapat dikonsumsi oleh manusia. Cina dan Jepang merupakan dua negara utama dalam hal budidaya, konsumsi dan konsumen rumput laut di dunia. Negara-negara di wilayah samudera Hindia seperti, Malaysia, Singapura, Indonesia, Thailand, dan Korea rumput laut dimanfaatkan sebagai salad, jelly dan sup [1,2,3]

Rumput laut sendiri menjadi komoditas yang bernilai ekonomis, hal ini dikarenakan rumput laut dimanfaatkan dalam dunia ilmu pengetahuan, sebagai sumber senyawa biokatif dengan struktur dan aktivitas biologi yang berbeda, selain itu rumput laut sendiri merupakan sumber antioksidan yang sangat potensial. Antioksidan memainkan peranan penting dalam menghambat radikal dan menyediakan perlindungan bagi manusia, untuk melawan infeksi dan penyakit degeneratif. Beberapa jenis rumput laut telah diteliti dan dilaporkan memiliki potensi sebagai antioksidan yang baik. Kandungan nutrisi yang terkandung dalam rumput laut berbeda-beda, hal ini tergantung pada tempat hidup, tingkat kematangan dan kondisi lingkungan tempat rumput laut hidup [4-6]

Rumput laut juga kaya akan senyawa metabolisme sekunder antara lain: karotenoid, terpenoid, santofil, klorofil, asam lemak jenuh dan tak jenuh, asam amino, dan senyawa antioksidan seperti: polifenol, alkaloid, laminaran, galaktosid, gliserol, dan fukoidan. Senyawa bioaktif tersebut dapat berperan dalam industri farmasi untuk obat-obatan, dan senyawa bioaktif yang sering digunakan untuk penelitian beberapa penyakit misalnya, kanker, AIDS (*Acquired Immune-Deficiency Syndrom*), peradangan, nyeri pada persendian, infeksi virus, bakteri dan jamur [7,8,9] Kandungan gizi yang dimiliki oleh rumput laut secara keseluruhan antara lain: karbohidrat, protein, lemak, garam natrium, kalium, vitamin A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, dan C, β -karoten dan mineral, seperti kalium, fosfor, natrium, zat besi dan yodium [6]

Gracilaria gigas Harvey merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*rhodophyta*), berukuran makro dan dapat ditemukan di daerah sublitoral sampai laut dalam. Rumput laut merah banyak dimanfaatkan karena memiliki potensi sebagai penghasil agar-agar yang dimanfaatkan dalam industri makanan, es krim, jely, sup dan kosmetik [6,10]

Jenis karotenoid yang dominan pada rumput laut adalah: β -karoten, α -karoten, zeaxanthin, dan lutein, yang memiliki peranan penting bagi kesehatan manusia. β -karoten merupakan provitamin A yang akan diubah menjadi vitamin A oleh tubuh, α -karoten juga dapat berperan sebagai provitamin A yang bisa mencegah radikal bebas, sehingga akan mengurangi kerusakan hati, paru-paru dan kulit. Selain itu karotenoid terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat [11,12,13].

Berdasarkan uraian diatas tentang potensi kesehatan yang dimiliki oleh rumput laut maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi pigmen alami, mengisolasi pigmen β -karoten serta melihat potensi aktivitas antioksidan dari *Gracilaria gigas* hasil budidaya.

METODE PENELITIAN

Rumput laut yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis *Gracilaria gigas* berdasarkan hasil identifikasi rumput laut yang dilakukan oleh LIPI Oceanografi, Jakarta pada 2015. Sampel rumput laut merah segar *Gracilaria gigas* merupakan hasil budidaya yang diperoleh dari Jepara, Semarang, Jawa Tengah. Rumput laut yang sudah diambil diawetkan dengan menggunakan es untuk dibawa ke Laboratorium *Carotenoid and Antioxidant Research Center* (CARC). Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga. Sampel disimpan didalam *freezer* sebelum diekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam penelitian adalah aseton, heksan, gas N₂, CaCO₃, asetonitril, methanol dan silika gel.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: gelas beker, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, labu ukur, blender, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) SHIMADZU LC-20AB yang dilengkapi dengan Photo Diode Array (PDA), Spektrofotometer UV-tampak berkas ganda CARY 50, Evaporator.

Ekstraksi pigmen pada *Gracilaria gigas* Harvey

Ekstraksi pigmen dilakukan dengan menggunakan metode yang telah dimodifikasi. Untuk analisis komposisi pigmen dan isolasi β -karoten digunakan sampel sebanyak 200 g. Sampel dipotong kecil-kecil dilarutkan dengan aseton : methanol 7:3 v/v, kemudian ditambahkan CaCO₃. Sampel diblender atau dihaluskan menggunakan mortal, lalu sampel disaring menggunakan kertas saring. Hasil filtrasi ditampung dan residunya diaduk dalam aseton : methanol sampai semua pigmen terangkat. Selanjutnya hasil maserasi dipartisi dengan menggunakan heksan dan dipekatkan dengan menggunakan evaporator. Hasil ekstrak pekat yang diperoleh disimpan didalam botol sampel kemudian dikeringkan dengan menggunakan N₂ [14].

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel hasil ekstraksi dilarutkan dalam aseton 100 %. Sebanyak 10 μ L larutan tersebut ditotolkan pada silika gel 60 F245(Merck) yang merupakan fase diam, sedangkan fase gerak

yang digunakan adalah larutan aseton:eter:heksan dengan perbandingan 2:3:6 (v/v/v). Pola pemisahan pigmen yang terbentuk digambar dan dihitung nilai Rfnya [15]

Kromatografi Kolom

Untuk purifikasi β -karoten menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak, aseton : heksan dengan perbandingan 1: 4 (v/v). sampel dilarutkan dengan menggunakan fase gerak kemudian sampel secara perlahan diteteskan melalui dinding kolom dan fase gerak diatur. Fase gerak ditambahkan secara kontinyu sampai terjadi pemisahan yang sempurna pada kolom. Selanjutnya setelah proses kolom selesai, eluen akan ditampung pada botol sampel.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Analisis ekstrak kasar pigmen kering dilarutkan dengan menggunakan pelarut fase gerak metanol:asetonitril (7:3 v/v). Pigmen kemudian dianalisis komposisinya dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) LC-20AD (*Shimadzu, Kyoto*) yang dilengkapi dengan detektor PDA, pada panjang gelombang 250-800 nm. Kolom KCKT yang digunakan RP-C 18 ODS Simpack (4,6 mm *i.d* \times 25 cm, 5 μ m) dilengkapi dengan *guard coloum*. Analisa pigmen dilakukan berdasarkan metode Hegazi et al yang telah dimodifikasi [16]. Elusi pigmen dilakukan dengan kecepatan alir 1 mL/min pada suhu 30°C menggunakan sistem elusi gradien dari campuran pelarut methanol : aseton nitril dengan perbandingan (7:3 v/v). Ekstrak kasar pigmen kering dilarutkan dalam methanol : aseton nitril 10 mL (7:3 v/v) dan difiltrasi menggunakan membran filter (0,2 μ m, Nilon), kemudian sebanyak 20 μ L ekstrak pigmen diinjeksikan ke KCKT.

Uji Antioksidan dengan metode DPPH (2,2-Diphently-1-picrylhydrazyl radical)

Hasil isolasi β -karoten rumput laut *Gracillaria gigas* kemudian akan diuji potensi aktivitas antioksidannya. Uji antioksidan dimulai dengan pembuatan seri konsentrasi dari, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000, 12000, 16000 dan 18000 μ g/ml. Setelah pembuatan seri konsentrasi, selanjutnya membuat konsentrasi sampel β -karoten, hasil ekstrak kolom sampel β -karoten sebesar 24300 μ g/ml dilarutkan dengan metanol, selanjutnya pembuatan seri konsentrasi sampel yang terdiri dari 41, 82, 165, 329, 658 dan 1317 μ l. Setiap sampel diberikan konsentrasi DPPH sebanyak 3 ml (1:3) of 2,2-Diphently-1-picrylhydrazyl radical 0,1 mM. Selanjutnya untuk menyatukan sampel dan DPPH di vorteks selama 1 menit dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu, pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 517 nm, dengan blanko metanol. Untuk pengukuran menggunakan Spektrofotometer U-1240 Shimadzu mini UV, Persen penghambatan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{Abs. blanko} \times \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. Blanko}} \times 100\%$$

Kurva Inhibition Concentration (IC₅₀) dibuat dengan nilai % penghambatan sebagai sumbu Y dan seri konsentrasi sebagai sumbu X. Nilai Inhibition Concentration (IC₅₀) diperoleh pada 50% penghambatan, dengan memasukkan nilainya pada persamaan regresi linier yang didapat dari kurva [17]

Analisis data

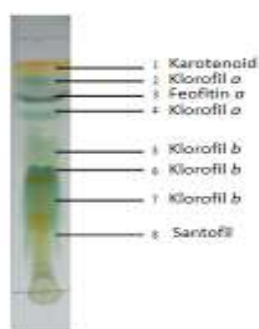
Data aktivitas dianalisis dengan uji *t* dengan menggunakan Microsoft Excel 2010. Data ditampilkan berupa nilai dengan standar deviasinya. Data kromatogram HPLC diolah dengan software OriginPro 8.0.0 SR2b87, Matlab. untuk mengidentifikasi hasil puncak kromatogram KCKT menggunakan referensi [18, 19].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Pigmen dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi komposisi pigmen selanjutnya dengan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan plat *silica gel* 60 F254 sebagai fase diam/normal dan fase geraknya adalah aseton:dietileter:heksane (2:3:6 v/v). Proses kerja kromatografi lapis tipis ini adalah, *silica gel* dapat membentuk ikatan hidrogen pada permukaannya, karena pada permukaan *silica gel* terdapat gugus hidroksil dan *silica gel* sendiri bersifat sangat polar. Jika fase gerak yang digunakan sifatnya non-polar, maka pada saat *silica gel* yang sudah ditotol dengan pigmen dimasukkan kedalam fase gerak, maka senyawa yang bersifat polar akan semakin lama bertahan pada fase stasioner, sedangkan senyawa yang bersifat sedikit atau non polar akan terbawa keluar dengan cepat.

Dari hasil KLT pada sampel ditemukan 8 spot warna seperti, dengan pelarut aseton:dietileter:heksane (2:3:6 v/v), seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pemisahan Pigmen dengan metode KLT pada sampel *Gracilaria gigas*

Untuk mengidentifikasi pigmen yang terlandung dalam sampel dianalisis menggunakan faktor reterdasi atau *retardation factor* (Rf). Untuk menghitung nilai Rf pada hasil KLT diperoleh dari perbandingan jarak yang ditempuh oleh pigmen dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut.

Tabel 1. Nilai Rf pigmen pada *G. gigas* dengan pelarut dengan pelarut aseton:dietil eter: heksan (2:3:6) v/v/v

Sampel	Spot	Nilai Rf	Warna	Jenis Pigment
<i>Gracilaria Gigas</i> Harvey	1	0,97	Orange	Karotenoid
	2	0,90	Hijau biru	Klorofil <i>a</i>
	3	0,81	Abu-abu	Feofitin <i>a</i>
	4	0,73	Hijau biru	Klorofil <i>a</i>
	5	0,61	Hijau kuning	Klorofil <i>b</i>
	6	0,49	Hijau kuning	Klorofil <i>b</i>
	7	0,38	Hijau kuning	Klorofil <i>b</i>
	8	0,22	Orage	Santofil

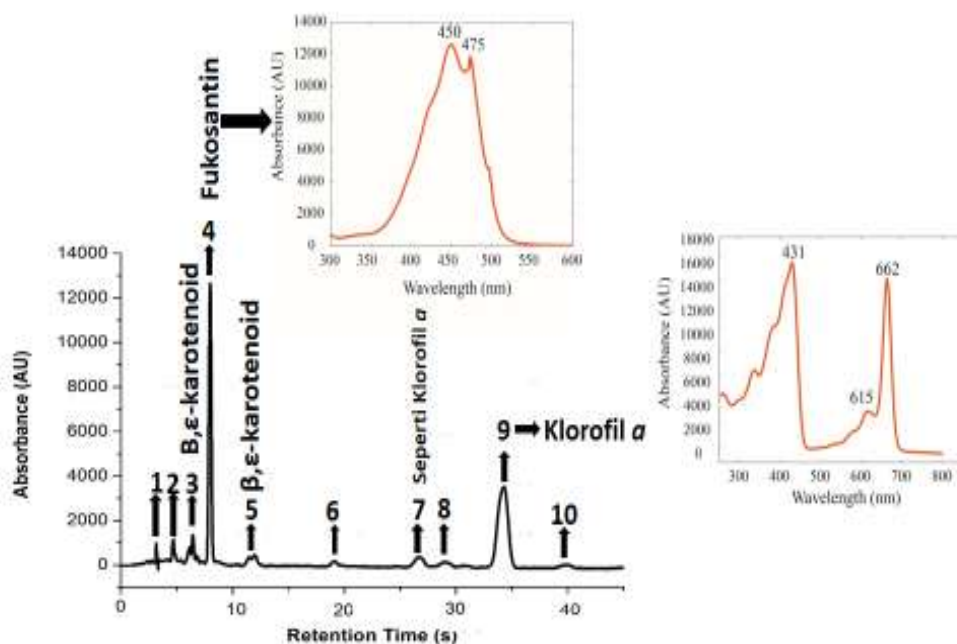
Hasil peneitian ini menunjukkan kisaran nilai Rf yang berbeda-beda, hasil penelitian ini menunjukkan kisaran Rf karotenoid 0,97, Rf feofotin *a* 0,81, Rf Klorofil *a* 0,90-0,73 dan Rf Klorofil *b* 0,61-0,38, Rf santofil 0,22. Hasil ini juga didukung oleh penelitian-penelitian yang lakukan dan memiliki kisaran nilai Rf karoten (orange) 0,87-0,93 sedangkan santofil (kuning) 0,26-0,34 dan (orange) 0,17-0,23 memiliki kecenderungan yang sama dengan nilai Rf karoten 0,91-0,94 dan santofil 0,20-0,26 menggunakan fase diam yang sama sedangkan fase gerak yang digunakan adalah aseton:metanol:isopropil alkohol (v/v/v). Selain itu hasil tersebut bila

dibandingkan dengan penelitian serupa yang dilakukan oleh, Britton et al dengan hasil nilai Rf karoten 0,88 dan santofil 0,10-0,30 dalam pelarut aseton : heksan dengan perbandingan 5 : 95 (v/v). Meskipun fase gerak yang digunakan memiliki komposisi yang berbeda, namun dominansi sifat non-polar pada toluen dan heksan sama-sama kuat. Kisaran nilai Rf feofitin *a* (abu-abu) 0,74-0,82; klorofil *a* (hijau biru) 0,57-0,64; klorofil *b* (hijau kuning) 0,48-0,56 memiliki kecenderungan yang sama dengan hasil penelitian lain yang memiliki nilai Rf feofitin *a* 0,76-0,89; klorofil *a* 0,40-0,63; klorofil *b* 0,30-0,57 [15, 18, 20].

Identifikasi Pigmen dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Untuk memperkuat hasil KLT, selanjutnya untuk mengidentifikasi pigmen dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan *photodiode detector array* (PDA). Metode ini memiliki hasil yang lebih akurat jika dibandingkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Analisis KCKT pada panjang gelombang 450 nm berhasil mengidentifikasi 11 puncak pada sampel *Gracilaria gigas* Harvey. Dari hasil analisis KCKT pada sampel *Gracilaria Gigas* Harvey. Hasil identifikasi pigmen dari *Gracilaria gigas* Harvey dengan menggunakan KCKT, mendapatkan hasil pigmen yang berhasil diidentifikasi yaitu dari golongan Klorofil dan karotenoid dari golongan santofil.

Klorofil yaitu pada panjang gelombang 409-460 dan 620-666 sedangkan untuk kisaran panjang gelombang karotenoid berkisar antara 400-550 [19,21]. Hasil data kromatogram dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2 Profil Kromatogram ekstrak kasar sampel *Gracilaria gigas* Harvey, dengan pelarut aseton:metanol 7/3 v/v. Terdapat 5 puncak yang berhasil dianalisis dan puncak yaitu : β,ε-karoten, Fukosantin dan Klorofil *a*. Fukosantin dan Klorofil *a* merupakan puncak yang paling dominan

Berdasarkan data kromatogram KCKT pada Gambar 2, menunjukkan terdapat 11 puncak dan 5 puncak diantaranya berhasil diidentifikasi yaitu, β,ε- karotenoid, fukosantin, seperti klorofil *a* dan Klorofil *a*. Puncak yang berhasil diidentifikasi adalah β,ε-karoten yang muncul pada puncak 3 dan 5 dengan dengan panjang gelombang 420, 443,472 nm dan 415, 441, 468 nm. Panjang gelombang ini dapat disesuaikan dengan referensi dari Jeffry et al dan Britton et al dengan panjang gelombang 424,448,476 nm [18,19].

Dari hasil kromatogram KCKT puncak fukosantin ditemukan pada waktu tambat 9 menit, dengan panjang gelombang 450, 475 nm, panjang gelombang ini dapat disesuaikan dengan referensi yang menyatakan panjang gelombang fukosantin berada pada 446-468 nm dan 448-4470 nm. Fukosantin adalah karotenoid dari golongan santofil yang merupakan turunan karoten teroksidasi yang sebagian besar mempunyai gugus, hidroksil, metoksil, karboksil, keto atau apoksi [19,22,23]. Fukosantin sendiri merupakan karotenoid yang banyak memiliki manfaat kesehatan yaitu dapat berperan sebagai anti inflamatori, anti kanker dan anti obesitas [24-26]

Tabel 2. Waktu Retensi, Panjang Gelombang, dan Jenis Pigmen Fotosintesis pada *Gracilaria Gigas*

Peak	Waktu tambat (menit)	λ Max Hasil	Pigmen	Pigmen
1	3,5	270		Tidak teridentifikasi
2	4,9	421, 446	Gol. Karotenoid	Tidak teridentifikasi
3	7	420, 443, 472	Seperti β, ϵ -karotenoid	
4	9	450, 475	Fukosantin	
5	13	415, 441, 468	Seperti β, ϵ -karotenoid	[20]
6	21	397, 452		Tidak teridentifikasi
7	30	429, 610, 663	Seperti Klorofil <i>a</i>	[20]
8	32,5	418		Tidak teridentifikasi
9	39	431, 615, 662	Klorofil <i>a</i>	[20]
10	50	441, 468, 478		Tidak teridentifikasi

Klorofil *a* ditemukan pada waktu tambat 39 menit, dengan panjang gelombang 431,615,662 nm. Panjang gelombang ini dapat disesuaikan dengan referensi dalam Jeffry *et al* [19] yaitu 430, 616, 662 nm. Pada umumnya alga merah mengandung klorofil *a*, sedikit karotenoid dan kromoprotein yang dikenal dengan pikobilin protein. Klorofil *a* sendiri pada rumput laut merah sebagai penangkap cahaya yang utama dalam proses fotosintesis. (14, 16, 27). Karotenoid transfer energi ke pusat reaksi [28-30]. Kestabilan karotenoid sangat dipengaruhi oleh cahaya, oksigen, pH, suhu, air, dan enzim. Karotenoid juga akan mudah rusak dengan adanya oksigen, karena strukturnya yang berupa ikatan rangkap terkonjugasi. Selain itu klorofil secara kimiawi tidak stabil terhadap asam dan basa, oksidasi, cahaya, dan kecenderungan untuk berinteraksi dengan molekul lain dilingkungan [31]

Sebagai organisme fotosintetik proses pertumbuhan rumput laut merah sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat tumbuhnya. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan rumput laut merah antara lain baik yang alami maupun budidaya, intensitas cahaya, salinitas dan suhu [32-33]

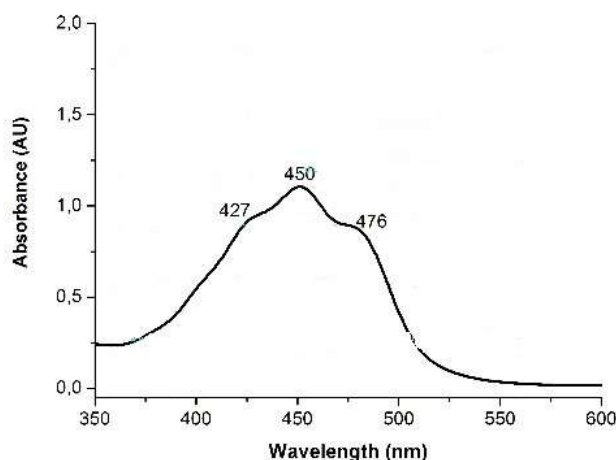
Analisis pigmen dengan KCKT tidak hanya untuk mengidentifikasi jenis pigmen saja, tetapi juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis kepolaran pigmen tersebut. Dalam penelitian ini pigmen dengan kepolaran yang lebih rendah akan terelusi terlebih dahulu, fase terbalik dengan menggunakan aseton. Dalam penelitian ini pigmen dengan kepolaran yang lebih tinggi akan terelusi lebih lama dibandingkan dengan pigmen yang memiliki kepolaran yang rendah. Seperti pada penelitian ini *Gracilaria gigas*, karoten yang mempunyai kepolaran rendah muncul pada menit ke 7, sedangkan klorofil *a* muncul pada menit ke 39. Pada umumnya karotenoid dan klorofil di alam saling memiliki interaksi yang sangat kuat. Karotenoid berperan sebagai fotoprotektor untuk melindungi klorofil dalam menjalankan tugasnya melakukan proses fotosintesis [16, 31]

Penelitian ini dapat dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Purba 2013, pada rumput laut *Gracilaria foliifera* budidaya menunjukkan hasil yang berbeda misalnya pada hasil KCKT pada *Gracilaria foliifera*, yang budidaya ditemukan 22 puncak dengan 11 jenis pigmen,

hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan pada *Gracilaria gigas* hasil budidaya, yang mendapatkan 10 puncak dengan 5 jenis pigmen yang berhasil diidentifikasi. Raikar *et al*, yang menyatakan bahwa variasi jenis pigmen fotosintesis, tergantung pada beberapa faktor lingkungan antara lain suhu, habitat, kemampuan adaptasi terhadap cahaya, dan kedalaman laut. Sedangkan untuk untuk puncak-puncak yang tidak berhasil diidentifikasi hal ini menunjukkan telah terjadi proses degradasi pada sampel atau mengalami degradasi pada saat proses pengangkutan dari tempat budidaya atau dalam proses ekstrak sampel [27, 34]

Isolasi & Aktivitas Antioksidan β-karoten

Isolasi kandungan β-karoten dilakukan dengan menggunakan metode Isolasi kolom dengan pelarut heksane : aseton 80:20 v/v. Seperti pada Gambar 3, merupakan hasil gambar isolasi β-karoten pada spektrofotometer UV-VIS



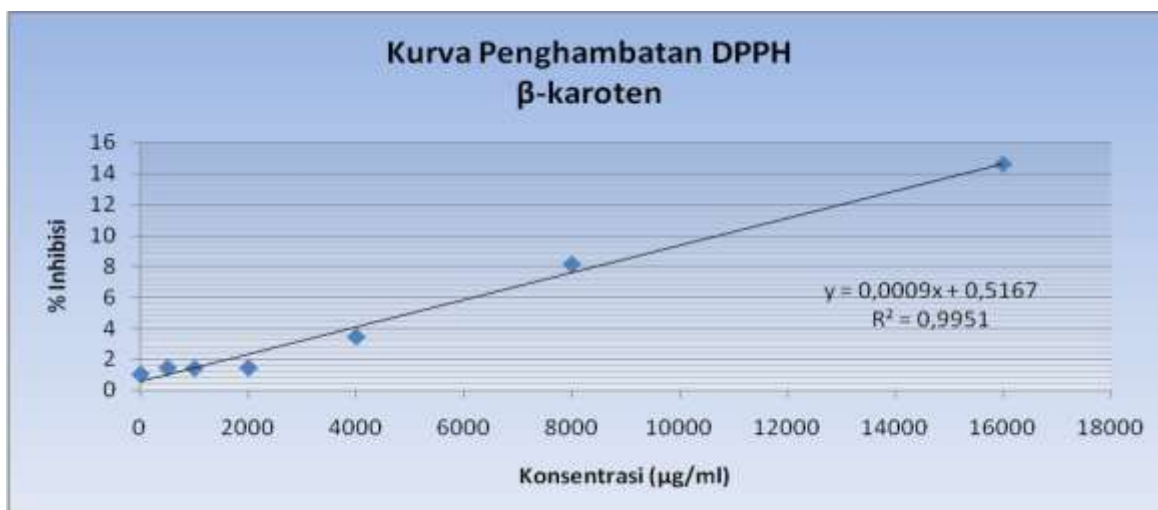
Gambar 3 Hasil Spektrofotometer UV-VIS β-karoten hasil isolasi

Gambar 3, merupakan hasil pola spektra isolasi β-karoten yang dilarutkan dalam heksane 100 %. Pola spektra hasil isolasi β-karoten pada *Gracilaria gigas* adalah 450 nm yang mana hasilnya sama dengan referensi panjang gelombang β-karoten maksimal antara 425, 450, 478 [14]. Untuk analisis antiosidan menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphently-1-picrylhydrazyl radical*). Uji antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada prinsip penangkapan molekul hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH. Antioksidan yang sudah memberikan proton atau hidrogen kepada DPPH selanjutnya akan memecahkan rantai radikal bebas tersebut menjadi tidak radikal. Antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen penghambatan. Parameter yang digunakan adalah *efficient concetration* (EC₅₀) dan *inhibition concentration* (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang mampu menangkap radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai EC₅₀ dan IC₅₀, maka semakin besar potensinya sebagai antioksidan [35].

Tabel 3 Data % Penghambatan hasil isolasi β-karoten *Gracilaria gigas* budidaya

Konsentrasi (µg/ml)	A _{517nm}	A _{fk}	A _{count}	% inhibisi
0	0.726	0	0.726	
500	0.721	0.002	0.7185	1.033058
1000	0.718	0.002	0.7155	1.446281
2000	0.712	0.003	0.7085	2.410468
4000	0.704	0.003	0.701	3.443526
8000	0.671	0.004	0.667	8.126722
16000	0.632	0.012	0.62	14.60055

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga sangat tidak stabil. Untuk membuat molekul ini stabil diperlukan donor yang dapat menyumbangkan molekul donor agar radikal tersebut menjadi stabil tetapi konsekuensi yang harus ditanggung oleh molekul pendonor adalah molekul ini menjadi radikal baru yang memerlukan donor dari molekul disekelilingnya sehingga terjadi perpindahan elektron ini terjadi secara kontinyu [36].



Gambar 4 Kurva hubungan antara % penghambatan dan konsentrasi sampel konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$).

Besarnya nilai antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} hasil uji antioksidan β -karoten dari sampel *Gracilaria gigas* Harvey, sebesar 54981,44 $\mu\text{g/ml}$ atau 54981,44 ppm, hasil ini dapat dibandingkan dengan uji antioksidan pada marker β -karoten yang mempunyai nilai IC_{50} sebesar 565,76 ppm [14, 18]. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan antioksidan β -karoten dari sampel *Gracilaria gigas* Harvey tidak seefisien jika dibandingkan dengan marker β -karoten, tetapi dapat bermanfaat dalam menangkalkan radikal bebas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi sampel sebesar 54981,44 $\mu\text{g/ml}$ memiliki arti bahwa pada konsentrasi ini, sampel sudah memiliki potensi sebesar 50% untuk menangkap radikal bebas.

SIMPULAN

Pigmen ekstrak kasar sampel *Gracilaria gigas* hasil budidaya dengan menggunakan KLT adalah, Karotenoid, Klorofil *a*, Feofitin *a*, Klorofil *b*, dan santofil. Sedangkandari hasil KCKT yaitu β , ϵ -karoten, fukosantin, seperti klorofil *a* dan Klorofil *a*. Uji antioksidan pada sampel menunjukkan bahwa sampel dapat berperan sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 54981,44 $\mu\text{g/ml}$ artinya dengan konsentrasi tersebut sampel dapat menghambat radikal bebas sebesar 50 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Departemen Pendidikan Nasional yang telah memberikan beasiswa melalui Program Beasiswa Unggulan kepada Federika Kondororik, melalui Program Pascasarjana Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

DAFTAR PUSTAKA

1. Chapman, V. J., 1970, *Seaweed and Their Uses*, Chapman & Hall. London, 334.
 2. McHug, J. D., 2003, A Guide to the Seaweed Industry, FAO Fisheries Technical Papers Rome-Italy, 9-25104-958-0(441), 105.
 3. Kilinc, B., Semra, C., Gamze, T., and Hatice, T., Edis, K., 2013, Seaweeds for Food and Industrial Applications. *Food Industry*. Hal 735-748.
 4. Ito, K., and Hori, K., 1989, Seaweed: chemical composition and potential food uses. *Food Review International*, Vol 5, Hal 101-144.
 5. Yasantha, A., Kim, K.N., and Jeon, Y.J., 2006, Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown algae *Ecklonia cava*. *Food Chemistry Toxicology*, Vol 44, Hal 1065–1074
 6. Anggadiredja, J., Achmad, Z., Purwanto, H., Sri Istini., 2008, *Rumput Laut : Pembudidayaan, pengolahan & pemasaran komoditas perikanan potensial*. Jakarta, Penebar Swadaya.
 7. Burtin, Patricia., 2003, Nutritional Value of Seaweed. *Electronic Journal of Environmental. Agricultural and Food Chemistry*. No. 2, Vol. 4, 498-503. https://www.researchgate.net/publication/228554296_Nutritional_value_of_seaweeds
 8. De Almeida, Cythia, L. F., Heloína de S F., Gedson R de M. L., Camila de A. M., Narlize S. L., Petronia F de Athayde-Filho., Luis C. Rodrigues., Marina de Fatima V. de Souza., Jose M. Barbosa-Filho., and Leonia M. Batista, 2011, *Bioactivities from Marine Algae of the Genus Gracilaria*. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol 12, Hal 4550-4573.
 9. Cristaki., Eferpi., Eleftherios Bonos., Ilias Giannenas, and Panagiota Florou-Peneria, 2013, Functional Properties of Carotenoids Originating from Algae. *Journal Science Food Agricultural*, Vol 93, Hal 5-11.
 10. Herring, P.J., Campbell, A.K., Withfield, M., and Maddock, L, 1990, *Light and Life in the Sea*. Cambridge University Press, Australia.
 11. Bjornland, Terje, 1976, Carotenoids in Red Algae. *Phytochemistry*, Vol 15, Hal 291-296
 12. Britton, G., Jensen, S.L., and Pfander H, 1995, *Carotenoids Volume IA :Isolation and Analysis*. Birkhauser Verlag, Switzerland
 13. Nomoru, T., Kikuchi, M., Kubodera, A., and Kawayaki, Y, 1997, Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Biochemistry and Molecular Biology International*, Vol 42, Ed, 2, Hal 361-370.
 14. Gross, J., 1991, *Pigments in Vegetables : in Chlorophylls and carotenoids*, Van Nostrand Reinhold, New York.
 15. Wang, B. J., Yu, Z. R., and Hwang, L. S, 1995, Quantitative Analysis of Chlorophyll and their Derivates by Thin Layer Chromatography. *Journal of Agriculture*, Vol 33, Ed 5, Hal 550-560
 16. Hegazi, M. M., Perez-Ruzafa, A., Luiz. A, and Maria E. C, 1998, Separation and Identification of chlorophyll and carotenoid from *Caulepra prolifera*, *Jania rubens*, *Padina pavonica* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography A*, Hal 153-158.
 17. Banerjee, A. N., Dasgupta., and De., B, 2005, In Vitro Study of Antioxidant Activity of *syzigiumcumini* Fruit. *Journal Food Chemistry*, Vol 90, Hal 727-733.
 18. Britton, G., Jensen, S.L., and Pfander H, 1995, *Spectroscopy*. Eds. Carotenoids. Basal: Birkhauser, Vol 1, Ed 8.
 19. Jeffrey, S. W., Mantoura, R. F. C, and Wright, S. W, 1997, *Phytoplankton Pigment in Oceanography: Guidelines to Modern Method*, UNESCO Publishing, Paris.
 20. Heriyanto., Limantara, L, 2006, Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan *Taliputri Cuscuta australis* R.Br. dan *Cassytha filiformis* L. *Journal Makara Sains*, Vol 10, Ed 2, Hal 69-75
-

21. Roy., Suzanne., Carole, A. L., Einar, S. E, and Geir., J, 2011, *Phytoplankton Pigments Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography*. Cambriidge University Press, New York.
 22. DeQuiros, ARB., and Costa, HS, 2006, Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol 19, Hal 97-111.
 23. Pe´rez-Rodri´guez, L, 2009, Carotenoids in evolutionary ecology: reevaluating the antioxidant role. *BioEssays*, Vol 31, Hal 1116-1126.
 24. Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Funayama, K., and Miyashita, K, 2005, Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol 332, Hal 392-397.
 25. Jaswir, I., Dedi, N., Reno, F.H., and Fitri, O, 2011, Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. A review. *Journal of Medical Plants Research*, Vol 5, Ed 33, Hal 7119-7131.
 26. Peng, J., Yuan, JP., Wu, CF., and Wang, JH, 2011, Fucoxanthin, a Marine Carotenoid Present in Brown Seaweeds and Diatoms: Metabolism and Bioactivities Relevant to Human Health. *Marine Drugs*, Vol 9, Hal 1806-1828.
 27. Purba, E. R., 2013. Identifikasi Pigmen, Aktivitas Antioksidan, dan Analisis Proksimat *Gracilaria foliifera* (Forsskal) Borgesen pada Tanaman Alami dan Budidaya. *Tesis*. Program Pascasarjana, Univ, Kristen Satya Wacana, Salatiga, Jawa Tengah.
 28. Vechetel, B. W., and Ruppel, H. G, 1992, Lipid Bodies in Eremosphaera Viridis De Bary (Chlorophyceae). *Plant and Cell Physiology*, Vol 31, Hal 41-48.
 29. Mimura, M., and Katoh, T, 1991, Carotenoids in Photosynthesis: absorption, transfer and dissipation of light energy. *Pure & Applied Chemistry*, Vol 63, Ed 1, Hal 123-130.
 30. Rodriguez-Amaya, D.B, and Kimaru, M, 2004, *HarvestPlus handbook for Carotenoid Analysis*. Harvest Plus, Washington DC.
 31. Ndiha, A. B. B., 2010. Identifikasi, Aktivitas Antioksidan, dan Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Pigmen *Eucheuma cottonii*. *Tesis*. Program Pascasarjana, Univ, Kristen Satya Wacana, Salatiga, Jawa Tengah.
 32. Mostaert, A.S., Karsten, U, and King, R.J, 1995, Physiological respons of *Caloglossa leprieurii* (Ceramiales Rhodophyta) to Salinity Stress. *Phycological Research*, Vol 43, Hal 215-222.
 33. Suparmi., Prasetyo, B., and Limantara., 2007, Fotodegradasi Pigmen Bixin dari Biji Kesumba (*Bixa Orellana*) Potensi sebagai Pewarna Makanan. Prosiding Seminar Nasional Pigmen “ *Back to Nature*”, Salatiga 24 Agustus 2007.
 34. Raikar, S.V., Lima, M., and Fujita, Y., 2011, Effect of Temperature, Salinity and Light Intensity on Growth of *Gracilaria* spp. (Graciales, Rhodophyta) from Japan, Malaysia and India. *International Journal of Molecular Sains*, Vol 30, Ed 2, Hal 94-104.
 35. Prakash, A., Fred, R., and Eugene., M, 2001, Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories, Analytical Progress*, Vol 19, Ed 2
- Windono, T., Hendrajaya, K., Nurfatmawati, H., Soraya F., 2001, Uji Perendaman Radikal Bebas terhadap DPPH Dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis liniferol*) Probolinggo Biru dan Bali, *Artikel hasil penelitian Artocarpus*, Vol. 1 Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya 34-43.7.
-