



Aktivitas antioksidan dengan metode cuprac dan penetapan kadar fenolat total pada ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii*

Antioxidant activity using the cuprac method and determination of total phenolate content in the extract and fraction of macroalgae *Eucheuma cottonii*

Dewi Kurnia^{1*}, Desita Rohmah¹, Vina Juliana Anggraeni¹

¹Prodi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Indonesia

*corresponding author: dewi.kurnia@bku.ac.id

Received: 21st September, 2022 | accepted: 30th October, 2022

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas. Makroalga *Euchemma cottonii* termasuk ke dalam salah satu jenis rumput laut dari kelas *Rhodophyta* yang diduga memiliki aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 450nm serta penetapan kadar total senyawa fenolat pada ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* dengan metode Folin Ciocalteu. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% dan fraksinasi menggunakan metode ECC dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol-air (20% v/v). Hasil pemantauan kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* menunjukkan adanya senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai EC₅₀ untuk ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, etil asetat, metanol-air secara berturut-turut sebesar 89,11; 143,40; 100,02 dan 90,22 µg/ml dengan EC₅₀ vitamin C sebagai pembanding sebesar 6,86 µg/ml. Kadar fenolat total pada ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, etil asetat, metanol-air diketahui secara berturut-turut adalah 2,77; 1,96; 2,76; dan 3,09 mg/GAE per 100 mg ekstrak. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai EC₅₀ 89,11 µg/ml dan kadar fenol total yang tertinggi pada fraksi metanol-air sebesar 3,09 mg/GAE per 100 mg ekstrak. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol makroalga *Eucheuma cottonii* berpotensi untuk digunakan sebagai sumber antioksidan alternatif.

Kata kunci: antioksidan; CUPRAC; *Eucheuma cottonii*; fenol



ABSTRACT

*Antioxidants are compounds that can counteract free radicals. The macroalgae *Euchemma cottonii* belongs to a type of seaweed from the Rhodophyta which is thought to have antioxidant activity. In this study, the antioxidant activity was tested using the CUPRAC method using spectrophotometry at 450 nm and the determination of total phenolic compounds in the extract and macroalgae fraction *Euchemma cottonii* using the Folin Ciocalteu method. The extraction method was carried out using the maceration method with 70% ethanol and fractionation using ECC with n-hexane, ethyl acetate, and methanol-water (20% v/v). The results of TLC monitoring of *Euchemma cottonii* showed the presence of flavonoid compounds, phenols, alkaloids, steroids, and triterpenoids. The results of the antioxidant activity test showed that the EC₅₀ for the ethanol extract and the n-hexane, ethyl acetate, and methanol-water fractions were 89.11; 143.40; 100.02 and 90.22 g/ml respectively with EC₅₀ vitamin C as a comparison of 6,86 g/ml. The results of the determination of the total phenolate content of the ethanol extract and the fractions of n-hexane, ethyl acetate, and methanol-water were 2.77; 1.96; 2.76; and 3.09 mg/GAE per 100 mg extract. The ethanol extract had a strong antioxidant activity with an EC₅₀ 89.11 g/ml and the highest total phenol content was in the methanol-water fraction of 3.09 mg/GAE per 100 mg extract. The results showed that the ethanolic extract of the macroalga *Euchemma cottonii* has the potential as an alternative source of antioxidants.*

Keywords: *antioxidant; CUPRAC; Euchemma cottonii; phenol*

PENDAHULUAN/INTRODUCTION

Indonesia ialah Negara maritim dengan wilayah laut begitu luas pada sumber daya alam yang melimpah. Makroalga atau biasa disebut dengan alga merupakan salah satu contoh sumber daya alam yang memiliki potensi tinggi dari perairan laut (Sharo et al., 2013). Indonesia merupakan penyedia 60-70 % kebutuhan dunia akan makroalga (Fatmawati, 2014).

Alga merupakan organisme yang masuk ke dalam kerajaan protista sehingga mirip dengan tumbuhan. Struktur tubuhnya memiliki talus dan mempunyai pigmen sehingga dapat terjadi fotosintesis. Makroalga banyak memiliki manfaat salah satunya yaitu secara ekonomis dan ekologis bagi masyarakat. Manfaat ekonomis ini

adalah dapat digunakan sebagai bahan baku industri farmasi, bahan pangan, dan bahan untuk laboratorium seperti bahan media untuk perkembangan bakteri dan jamur juga dapat menghasilkan antibiotik. Manfaat ekologis contohnya seperti sebagai penyedia habitat untuk beberapa makhluk seperti moluska, krustasea dan ikan maupun alga lainnya. Makroalga juga dimanfaatkan sebagai agar, sumber alginat dan karagen dan sebagai sumber pangan (Rasmussen & Morrissey, 2007).

Makroalga merupakan sumber polisakarida yang senyawa bioaktif dan mempunyai manfaat di bidang farmasi sebagai antibakteri, (Sridharan & Dhamotharan, 2012), antikanker, antidiabetes (Alicic et al., 2017) dan

antioksidan (Yanuarti, 2017).

Terdapat beberapa jenis makroalga salah satunya yaitu *Euclima cottonii*. Makroalga termasuk ke dalam salah satu jenis rumput laut dari kelas *Rhodophyta* atau alga merah yang mempunyai kandungan senyawa flavonoid, steroid, alkaloid, terpenoid, dan kumarin yang berperan sebagai senyawa antioksidan (Hanapi, 2013; Yanuarti et al., 2017).

Senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat berikatan dengan senyawa radikal yaitu senyawa yang memiliki satu elektron tidak berpasangan pada orbital kulit terluar. Setiap senyawa oksidan juga dapat mengandung oksigen yang dikenal dengan Reactive Oxygen Species (ROS). Secara umum terdapat radikal bebas di luar dan dibutuhkan antioksidan untuk menangkalnya. Efek senyawa bioaktif dalam tubuh yang menyebabkan kerusakan dan bisa mengakibatkan berbagai penyakit seperti kanker, penuaan dini, dan katarak, termasuk peradangan yang ditunjukkan dengan tanda oksidatif. Antioksidan alami yang terdapat dalam tumbuhan umumnya dapat berupa antosianin dan senyawa fenolik seperti fenol sederhana, asam fenolik termasuk turunan senyawa asam benzoat dan asam sinamat (Sedjati et al., 2017).

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC) merupakan pereaksi sangat selektif karena mempunyai nilai

potensial reduksi yang rendah dibanding dengan metode analisis antioksidan lainnya. Menurut (Toga Nugraha, 2017) metode ini lebih disarankan untuk melihat aktivitas antioksidan yang berasal dari senyawa fenolat. Prinsip kerja dari metode ini adalah untuk menentukan adanya aktivitas dan mengukur kapasitas antioksidan dari makroalga *Euclima cottonii*. Keunggulan metode ini dibandingkan metode lain yaitu lebih cepat mengoksidasi tiol jenis antioksidan. Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC serta menetapkan kadar fenol total pada makroalga *Euclima cottonii*.

METODOLOGI/METHODOLOGY

1. Alat

Timbangan analitik, plat silika gel F₂₅₄ alat *rotary vaporator*, lampu UV λ 254 dan 366 nm, tabung reaksi, gelas ukur, corong pisah, labu erlenmeyer, pipet tetes, batang pengaduk, corong gelas, labu bersumbat, pinset, chamber, krus, tang krus, tanur, hot plate, vial.

2. Bahan

Euclima cottonii, silika gel, etanol 70%, metanol, etil asetat, n-heksana, aquadest, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof, buffer ammonium asetat pH 7, aluminium klorida, CaCO₃, H₂SO₄, NaOH, NaCl, kloroform, natrium asetat, FeCl₃, CuCl₂.2H₂O, neocuproine, folin ciocalteu, Na₂CO₃ 1 M, Lieberman-Bouchardat, Sitroborat 10%, asam galat, Vitamin C.

2. Prosedur kerja

1. Determinasi dan preparasi sampel

Sampel makroalga basah yang diperoleh dari Pantai Onaria Lampung Selatan dikirim ke Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi (SITH) ITB untuk dilakukan determinasi. Sampel yang telah dideterminasi dilakukan delignifikasi dengan cara perendaman dengan CaCO_3 dan NaOH. Makroalga hasil delignifikasi dikeringkan dan dihaluskan terlebih dahulu baru kemudian dapat dilakukan ekstraksi.

2. Ekstraksi

Sebanyak 100 g sampel *Eucheuma cottonii* ditimbang dimasukkan ke dalam labu bersumbat lalu tambahkan 500 ml etanol 70% sebagai pelarut. Perendaman dilakukan selama 3x24 jam dengan penggantian pelarut setiap 1x24 jam sekali. Setelah itu ekstrak disaring dan pelarut dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary vaporator*, sehingga hasil akhir didapatkan ekstrak kasar dari *Eucheuma cottonii*.

3. Fraksinasi

Ekstrak kasar difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan tiga jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol-air lalu dilakukan sebanyak tiga kali

pengulangan. Hasil akhir didapat ekstrak dari hasil fraksi 3 yaitu polar, non polar dan semi polar.

3. Pengujian antioksidan

pengujian aktivitas antioksidan *Eucheuma cottonii* dengan dilakukan penyiapan reagen, kemudian pemantauan ekstrak menggunakan metode KLT dengan fase diam silika gel F_{254} dengan fase gerak berbagai pelarut organik yang sesuai, pengujian kuantitatif dilakukan dengan metode CUPRAC menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 450 nm dengan vitamin C sebagai standar pembanding lalu dilihat nilai EC_{50} dan selanjutnya yaitu penetapan kadar fenolat total dengan menggunakan pembanding asam galat .

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi

Determinasi dilakukan bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar dari familia sampai dengan genus tersebut, hal ini mencegah agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel. Makroalga yang digunakan diperoleh dari Pantai Onaria, Ds.Tri Dharmayoga Kec Ketapang Lampung Selatan. Kemudian dilakukan determinasi di Herbarium Bandung SITH ITB (Institusi Teknologi Bandung). Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel merupakan makroalga *Euchemma cottonii*.

2. Preparasi sampel (Proses Delignifikasi)

Sampel yang telah dinyatakan benar merupakan *Eucheuma cottonii* delignifikasi (**Gambar 1**). Perendaman dengan CaCO_3 selama 1x24 jam untuk menghilangkan atau menetralkan kandungan garam yang ada didalam makroalga *Eucheuma cottonii* untuk sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi. Selanjutnya sampel dikering anginkan di bawah sinar matahari. Kemudian dilakukan perendaman kembali dengan NaOH untuk merusak stuktur kristal yang mengikat selulosa dan untuk memecahkan bahan-bahan lignoselulosa yang ada di dinding sel. Adanya ligniselulosa ini dapat mengganggu proses ekstraksi karena menghambat penetrasi pelarut melewati dinding sel. Setelah perendaman selesai, sampel dihaluskan menggunakan alat *grinder* agar mendapatkan sampel kering dengan ukuran partikel kecil. Penghalusansampel kering untuk mempermudah proses ekstraksi dan dapat meningkatkan luas partikel. Semakin besar luas permukaan sentuh antara sampel dan pelarut maka semakin besar pula kemungkinan metabolit sekunder akan tersarikan pada pelarut.



Gambar 1. *Eucheuma cottonii*

3. Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi yang diuji meliputi parameter pengujian kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan susut pengeringan (**Tabel 1**). Hal ini perlu dilakukan untuk mengetahui kualitas dan mutu dari sampel yang akan digunakan pada pengujian selanjutnya.

Tabel 1.
Hasil karakterisasi simplisia

Karakterisasi	Hasil (%)
Kadar abu total	17
Kadar abu tidak larut asam	1
Kadar sari larut air	16
Kadar sari larut etanol	6
Susut pengeringan	7,33

Pengujian kadar abu bertujuan untuk mengetahui senyawa organik yang tidak menguap pada saat pembakaran dan berkaitan dengan mineral internal dan eksternal. Hasil kadar abu total yaitu 17% jumlahnya sangat besar apabila dibandingkan dengan simplisia lain seperti berasal dari

tanaman tingkat tinggi yang biasanya memiliki nilai < 10%. Kadar abu yang tinggi menunjukkan bahwa komposisi mineral yang ada di dalam sampel makroalga *Eucheuma cottonii* cukup tinggi. Hal ini mungkin disebabkan oleh mengingat habitat hidup sampel berasal dari laut dengan kadar salinitas yang cukup tinggi. Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan mengetahui jumlah abu atau mineral yang diperoleh dari faktor eksternal yang bersumber dari pengotor seperti dari pasir atau silikat. Nilai Kadar abu tidak larut asam diketahui sebesar 1% nilai ini sangat kecil dibandingkan dengan kadar abu total karena dapat memungkinkan mineral yang telah jadi abu larut dalam asam.

Penetapan kadar sari larut air bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terlarut dalam air, sedangkan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar yang larut dalam pelarut etanol. Dari kedua parameter uji tersebut diperoleh nilai kadar sari larut air sebesar 17% dan kadar sari larut etanol sebesar 6%. Nilai kadar sari ini menjadi pertimbangan untuk menentukan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi dengan maserasi yaitu menggunakan pelarut etanol 70%. Susut pengeringan dilakukan menggunakan alat *moisture balance*, tujuan dilakukan pengujian ini untuk melihat

kandungan air yang tersisa pada sampel makroalga *Eucheuma cottonii*. Hasil yang didapat yaitu sebesar 7,33% (b/b) dari hasil ini menunjukkan bahwa sampel yang digunakan ini cukup kering dan memenuhi persyaratan karena nilainya <10% (FHI, 2017) .

4. Ekstraksi Makroalga *Eucheuma cottonii*

Ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi cara dingin yang digunakan untuk meminimalisir terjadinya kerusakan senyawa aktif akibat dari pemanasan.. Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan semua zat yang terkandung dalam sampel. Penggunaan pelarut etanol 70% dianggap dapat melarutkan metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel lebih maksimal berdasarkan dari nilai kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Etanol 70% masih mengandung air yang cukup banyak yang membantu proses ekstraksi sehingga sebagian senyawa tersari dalam etanol. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan perbandingan pelarut 1:5, yang bertujuan agar proses penarikan senyawa kimia yang terdapat dalam sampel *Eucheuma cottonii* lebih optimum sehingga dapat menghasilkan lebih rendemen ekstrak yang cukup tinggi. Ekstrak kental diperoleh dengan cara pemekatan *rotary vaporator* pada suhu 50°C. Hasil

rendemen ekstrak yang diperoleh yaitu 27% menunjukkan hasil yang jauh lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yaitu 3,23% (Kurnia, 2022).

5. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode ECC menggunakan beberapa jenis pelarut yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol-air. pelarut n heksana dipilih karena bersifat non polar dan berguna untuk menarik senyawa non polar seperti steroid, terpenoid, pigmen dan lemak. Pelarut etil asetat memiliki sifat semi polar sehingga dapat berguna untuk menarik senyawa semi polar seperti klorofil dan untuk metanol memiliki sifat polar dan berguna untuk menarik senyawa yang bersifat polar. Pemekatan hasil fraksi dilakukan dengan dua cara yaitu dialiri uap nitrogen untuk pelarut polar dan semi polar, dan untuk pelarut polar dilakukan pemekatan menggunakan proses penguapan dengan cawan uap, masing-masing fraksi dilakukan dengan pengerjaan triplo untuk menentukan data yang baik. Pemekatan fraksi tidak dilakukan menggunakan *rotary vaporator* karena untuk menghindari pemanasan yang dapat merusak sampel khususnya pada pelarut non polar dan semi polar. Hasil rendemen yang diperoleh dari n-heksana;etil asetat;metanol-air secara berturut turut adalah sebagai berikut 1,15%; 2,03% dan

91,66% rendemen yang besar dari hasil fraksi adalah metanol-air ini karena dimungkinkan komponen senyawa yang terdapat dalam fraksi metanol-air *Eucheuma cottonii* lebih tertarik kedalam pelarut polar.

6. Pemantauan Ekstrak

Pemantauan ekstrak dilakukan bertujuan untuk melihat senyawa yang terkandung dalam ekstrak, secara kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan mekanisme memisahkan sampel berdasarkan tingkat kepolaran. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel F₂₅₄, sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu tiga pengembang yang memiliki tingkat kepolaran berbeda tujuannya untuk mengetahui golongan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Fase gerak non polar menggunakan pelarut n-heksana:etil asetat (7:3) semi polar menggunakan pelarut kloroform:etil asetat (7:3) dan polar menggunakan etil asetat:asam format:air (8:1:1) Pengamatan dilakukan secara sinar tampak, dibawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Kemudian disemprotkan dengan penampak bercak H₂SO₄ 10%, FeCl₃, Liberman Bouchard, dragendrof, sitroborat dan CUPRAC 0,15%.

Hasil pemantauan ekstrak pada UV 254nm, plat KLT akan berfluoresensi hijau dan bercaknya akan menimbulkan bercak gelap.

Sebaliknya dibawah UV 366 nm memberikan latar yang gelap dengan bercak yang berfluoresensi (Forestryana & Arnida, 2020) Kemudian hasil pemantauan ekstrak dengan penampak bercak universal H₂SO₄ 10% akan menghasilkan bercak berwarna hitam yang akan semakin tampak setelah dipanaskan. Penampak bercak FeCl₃ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa golongan fenolik yang ditunjukkan dengan bercak berwarna hitam pada latar belakang kuning.

Tabel 2.

Identifikasi kandungan golongan senyawa

Gol Senyawa	Fraksi n-heksana	Fraksi EtOAc	Fraksi MeOH-air	Ekstrak EtOH 70%
Flavonoid	+	+	+	+
Alkaloid	+	+	+	+
Fenol	+	+	+	+
Steroid/Terpenoid	+	+	+	+

Penampak bercak Lieberman Bouchard untuk mengetahui adanya senyawa steroid, ditunjukkan dengan bercak hijau dan biru untuk terpenoid ditunjukkan dengan bercak warna orange kemerahan. Penampak bercak Dragendroft untuk mengetahui senyawa alkaloid, ditunjukkan dengan bercak warna coklat kehitaman. Penampak bercak sitroborat untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak yang ditunjukkan dengan bercak berwarna biru kehijauan dibawah sinar UV 366 nm (FHI, 2017). Hasil pemantauan ekstrak pada

palt KLT menggunakan penampak bercak CUPRAC 0,15% menunjukkan hasil positif pada sampel ekstrak N-heksana, etil asetat, metanol-air dan etanol 70%. Berdasarkan hasil data yang diperoleh pada pengembang non polar, semi polar dan polar telah diduga adanya senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan ditandai dengan adanya bercak berwarna coklat pada pita senyawa yang telah dipisahkan menggunakan plat KLT.

Berdasarkan hasil data pemantauan ekstrak makroalga *Eucheuma cottonii* diatas yang didapat pada ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol-air, dan etanol 70% dengan fase gerak non polar menunjukkan positif senyawa golongan fenolat, steroid/terpenoid, flavonoid dan alkaloid. Dan untuk fase gerak semi polar menunjukkan hasil positif senyawa golongan fenol, steroid/terpenoid, flavonoid dan alkaloid untuk fase gerak polar menunjukkan hasil positif pada senyawa golongan flavonoid, terpenoid/steroid dan alkaloid untuk CUPRAC 0,15% menunjukkan hasil positif pada bercak yang berwarna kecoklatan.

7. Aktivitas Antioksidan Metode CUPRAC

Prinsip dari uji aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC yaitu senyawa kompleks bisneokuproin-

tembaga(II) akan mengoksidasi senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi sehingga membentuk kompleks bis-neokuproin-tembaga(I). Reaksi tersebut ditandai dengan warna kompleks larutan dari biru toska menjadi kuning (Maryam et al., 2016).

Tabel 2
Hasil pengukuran EC_{50} pada makroalga *Euचेuma cottonii*

Ekstrak	$EC_{50} \pm SD$ Makroalga <i>Euचेuma cottonii</i>
N-Heksan	143,40 \pm 1,27
Etil Asetat	100,02 \pm 0,55
Metanol-air	90,22 \pm 0,57
Etanol 70 %	89,11 \pm 0,44
Vit-C	6,86 \pm 1,99

Metode CUPRAC dipilih sebagai uji kuantitatif karena mempunyai keunggulan dibandingkan metode uji aktivitas antioksidan lainnya yaitu lebih stabil, sederhana, serta sensitif untuk jenis senyawa antioksidan golongan fenolat dalam ekstrak maupun fraksi. Aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC menunjukkan kemampuan sampel *Euचेuma cottonii* dalam mereduksi logam Cu_2^+ menjadi Cu^+ hasil pengukuran dapat menunjukkan nilai perbandingan jumlah total tembaga yang direduksi oleh *Euचेuma cottonii* melalui transfer elektron. Antioksidan akan mengalami oksidasi sedangkan tembaga akan direduksi (Apak et al., 2004).

Pengujian dilakukan terhadap sampel, fraksi dan pembanding

vitamin C. Vitamin C dan sampel dibuat dalam beberapa seri konsentrasi yang masing-masing ditambahkan dengan CUPRAC lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, dilakukan pengukuran serapan dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 450 nm. Data serapan yang diperoleh dari sampel, fraksi dan standar yang telah direaksikan kemudian dilakukan perhitungan EC_{50} .

Hasil pengukuran CUPRAC terhadap Vitamin C sebagai standar pembanding memiliki nilai EC_{50} sebesar 6,68 μ g/ml ditunjukkan pada **Tabel 3**. Berdasarkan nilai EC_{50} tersebut diketahui untuk ekstrak dan fraksi *Euचेuma cottonii* pada pelarut etanol; n-heksan; etil asetat; metanol-air dan pembanding secara berturut-turut yaitu 89,116; 143,026 ;100,024; 90,228 dengan nilai EC_{50} standar pembanding 6,86 μ g/ml. untuk pelarut etanol 70% dan methanol-air dinyatakan memiliki uji aktivitas antioksidan kuat dimana pada ekstrak makroalga *Euचेuma cottonii* nilai EC_{50} 89,11 μ g/ml (EC_{50} 50-100 bpj) .

Dari pemantauan yang telah dilakukan pada skrining KLT menunjukkan bahwa sampel makroalga *Euचेuma cottonii* memiliki senyawa flavonoid terhadap antioksidan. Flavonoid mempunyai sifat antioksidan karena mengandung gugus hidroksil sehingga dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas.

Umumnya senyawa flavonoid larut dalam pelarut semi polar hingga polar. Tanaman yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker (Gusnedi, 2013)

8. Kadar Fenolat Total

Penetapan kadar fenol total ini bertujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat dalam makroalga *Eucheuma cottonii*. Uji kandungan fenol total dianalisis menggunakan reagen Folin Ciolcalteu, pereaksi merupakan larutan kompleks ion polimerik yang dibentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat yang dapat mengukur semua senyawa fenol dalam sampel uji. Folin Ciolcalteu berwarna kuning dan berubah menjadi warna biru. Semakin pekat intensitas warna biru menandakan semakin tinggi kandungan total fenol dalam ekstrak (Suryanto & Wehantouw, 2009).

Tabel 4 menunjukkan hasil penelitian dengan penambahan Na_2CO_3 yang bertujuan untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin ciolcalteu oleh gugus hidroksil dari fenolik di dalam sampel, Kemudian larutan ditambahkan Na_2CO_3 1M dan diinkubasi selama 15 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Pada pengukuran kadar fenol total digunakan asam galat sebagai standard pengukuran. Asam galat

termasuk golongan asam fenol sederhana yang merupakan turunan dari asam hidrosibenzoat dan memiliki sifat yang stabil.

Tabel 4

Hasil pengukuran absorbansi standar asam galat

No	Konsentrasi	Absorbansi
1	30	0,267
2	40	0,360
3	50	0,468
4	60	0,577
5	70	0,670
6	80	0,772

Tabel 5

Kadar fenolat total

Ekstrak dan Fraksi <i>Eucheuma cottonii</i>	Kadar Fenolat (mg GAE/100 mg ekstrak)
N- Heksana	1,96 ± 0,06
Etil Asetat	2,76 ± 0,08
Metanol-Air	3,09 ± 0,02
Etanol	2,77 ± 1,54

Dari **Tabel 5**, dapat disimpulkan bahwa yang memiliki persentase kadar paling tinggi terdapat pada ekstrak metanol dengan persentase 3,09 mg GAE/100 mg ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fenol yang terdapat pada ekstrak metanol paling banyak dibandingkan ekstrak n-heksan,etil asetat dan etanol.

SIMPULAN/CONCLUSION

Aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi pada sampel makroalga *Eucheuma cottonii* memiliki aktivitas antioksidan. Golongan Senyawa yang terkandung dalam makroalga *Eucheuma cottonii* yaitu alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid dan fenol.

Nilai EC₅₀ yang didapat pada N-heksana, etil asetat, metanol-air, etanol dan vitamin C sebagai pembanding secara berturut-turut yaitu 143,02; 100,02; 90,22; 89,11 dan 6,86 µg/ml. Ekstrak etanol dan fraksi metanol-air memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yaitu nilai EC₅₀ berada pada rentang 50-100 bpj. Pada kadar fenol total ekstrak dan fraksi Etanol, N-heksana, etil asetat dan metanol-air secara berturut-turut yaitu 2,77; 1,96; 2,76, dan 3,09 mg/GAE (gallic acid equivalence) per 100 mg ekstrak.

UCAPAN TERIMA KASIH/ ACKNOWLEDGEMENT

Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat (LPPM) Universitas Bhakti Kencana atas pendanaan penelitian ini melalui Hibah Riset Dasar tahun pendanaan 2022

DAFTAR PUSTAKA/REFERENCES

- Alicic, R. Z., Rooney, M. T., & Tuttle, K. R. (2017). Diabetic kidney disease: Challenges, progress, and possibilities. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(12), 2032–2045. <https://doi.org/10.2215/CJN.11491116>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Farmakope Herbal Indonesia* (II). (2017). Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fathmawati D, Abidin MRP, Roesyadi A. 2014. Studi Kinetika Pembentukan Karaginan Dari Rumpun Laut. *Jurnal Teknik Pomits*. Vol 3(1): 27-32.
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>
- Gusnedi, R. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 2, 76–83.
- Hanapi A, Fasya AG, Mardiyah U, Miftahurrahmah. 2013. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol alga merah *Eucheuma spinosum* dari perairan Wongsorejo Banyuwangi. *Alchemy*. Vol 2(2): 126-137.
- Kurnia, Dewi., Suhardiman, Aris., Nurdiansyah, Hedy., Ghazhali, M., (2022) Antibacterial Activity Of *Eucheuma Cottoni* Extract And Fraction Against Acne-Causing Bacteria. *Jurnal Agrotek UMMAT*, 9(2), 88-94.
- Maryam, S., Pratama, R., Effendi, N., & Naid, T. (2016). ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK DAUN YODIUM (*Jatropha multifida* L.) DENGAN METODE CUPRIC ION REDUCING ANTIOXIDANT CAPACITY (CUPRAC). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1), 90–93. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i1.185>
- Rasmussen, R. S., & Morrissey, M. T. (2007). Marine Biotechnology for Production of Food Ingredients. *Advances in Food and Nutrition Research*, 52(06), 237–292. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(06\)52005-4](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(06)52005-4)
- Sedjati, S., Suryono, S., Santosa, A., Supriyantini, E., & Ridlo, A. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Senyawa Fenolik Makroalga Coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis*,

- 20(2), 124.
<https://doi.org/10.14710/jkt.v20i2.1737>
- Sharo, N. M., Ningsih, R., Hanapi, A., & Nasichuddin, A. (2013). Uji Toksisitas Dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Alchemy*, 2(3).
<https://doi.org/10.18860/al.v0i0.2892>
- Sridharan, M. C., & Dharmotharan, R. (2012). Antibacterial activity of marine brown alga *Turbinaria conoides*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012(4), 2292–2294.
- Suryanto, E., & Wehantouw, F. (2009). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis* F.). *Chemistry Progress*, 2(1), 1–7.
- Toga Nugraha, A. (2017). Profil Senyawa Dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) Dengan Metode Dpph Dan Cuprac. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 13(1), 15–18.
<https://doi.org/10.20885/jif.vol13.iss1.a rt3>
- Yanuarti, R., Nurjanah, N., Anwar, E., & Hidayat, T. (2017). Profil Fenolik dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Rumput Laut *Turbinaria conoides* and *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 230.