

KANDUNGAN FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii*

(Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Seaweed *Kappaphycus alvarezii* Extracted with Methanol)

Puji L. Lantah¹, Lita A.D.Y. Montolalu², Albert R. Reo²

¹) Mahasiswa pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK Unsrat Manado

²) Staf pengajar pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK Unsrat Manado

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the phytochemical content and antioxidant activity of *Kappaphycus alvarezii* seaweed extracted with methanol solvent. The extract was obtained by maceration of dried seaweed. Phytochemical tests were performed to determine the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids and steroids. *Kappaphycus alvarezii* seaweed antioxidant activity was tested by DPPH method (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). A phytochemical test revealed that there was not any alkaloids, flavonoids, saponins, steroids and triterpenoids content in methanol extract *Kappaphycus alvarezii*. The antioxidant activity by DPPH method showed the high IC₅₀ value (163.82 ppm) It is indicated that the antioxidant activity of *Kappaphycus alvarezii* of dried seaweed extracted with methanol was very weak. The negative result from phytochemical test was speculated caused by the drying process of seaweed samples, the type of seaweed itself, and the insufficiency of desalting process. The unsaturated fatty acids was suspected to act as antioxidant in this type of seaweed.

Keyword: *Kappaphycus alvarezii*, phytochemical, antioxidant activity, DPPH.

ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang diekstraksi dengan pelarut metanol. Ekstrak diperoleh dengan cara maserasi terhadap rumput laut kering. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid. Aktivitas antioksidan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* diuji dengan metode DPPH (1-1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hasil penelitian memperlihatkan tidak terdeteksinya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid pada ekstrak metanol *Kappaphycus alvarezii*. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 163.82 ppm Hal ini menunjukkan bahwa adanya aktivitas antioksidan yang sangat lemah dari rumput laut *Kappaphycus alvarezii* kering yang diekstraksi dengan metanol. Tidak terdeteksinya kandungan fitokimia diduga karena sampel rumput laut dikeringkan dengan sinar matahari langsung, jenis rumput laut ini tidak memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan proses *desalting* yang tidak maksimal. Aktivitas antioksidan yang sangat lemah dari rumput laut ini diduga berasal dari kandungan asam lemak tak jenuh.

Kata Kunci: *Kappaphycus alvarezii*, fitokimia, aktivitas antioksidan, DPPH.

PENDAHULUAN

Fenomena pangan fungsional telah melahirkan paradigma baru bagi perkembangan ilmu dan teknologi pangan, yaitu dilakukannya berbagai modifikasi produk olahan pangan menuju sifat fungsional. Pangan fungsional adalah pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih komponen bioaktif seperti fitokimia, asam lemak tak jenuh, serat dan lain-lain yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan antara lain memperkuat daya tahan tubuh, mengatur ritme kondisi fisik, memperlambat penuaan, dan membantu mencegah penyakit (Badan POM, 2001; Wija-

ya, 2002 dalam Suarni & Yasin, 2011). Manfaat tersebut berasal dari komponen aktif yang terkandung dalam pangan fungsional tetapi tidak dikemas dalam bentuk kapsul, tablet, atau bubuk (Putranto, 2015).

Beberapa jenis rumput laut merupakan sumber potensial pangan fungsional yang dapat dimanfaatkan untuk kesehatan karena mengandung senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologis (zat bioaktif). Senyawa aktif biologis itu merupakan metabolit sekunder yang meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, tannin, dan saponin. Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam rumput laut dapat diketahui dengan suatu metode pendekatan yang dapat memberikan informasi adanya senyawa metabolit sekunder.

Salah satu yang dapat digunakan adalah metode uji fitokimia (Setyowati, *dkk.*, 2014).

Kappaphycus alvarezii merupakan salah satu jenis rumput laut (alga) yang banyak dikembangkan di daerah tropis seperti Indonesia, khususnya di Sulawesi Utara. Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* telah teridentifikasi dapat meningkatkan daya tahan tubuh, anti kanker, mencegah penuaan dini, menjaga kehalusan kulit. Selain itu, rumput laut ini juga teridentifikasi mengandung senyawa antioksidan (Seksi & Serat, 2012). Dari manfaat-manfaat tersebut maka rumput laut *Kappaphycus alvarezii* sangat potensial dimanfaatkan sebagai pangan fungsional.

Penelitian tentang rumput laut *Kappaphycus alvarezii* masih banyak berfokus pada kandungan kappa karaginan. Untuk itu penelitian ini dilakukan berfokus pada kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* ekstrak metanol khususnya yang berasal dari Sulawesi Utara, sehingga diperoleh informasi yang dapat menjadi data dasar dalam upaya pemanfaatan rumput laut sebagai sumber pangan fungsional dan antioksidan untuk obat dan industri makanan.

METODOLOGI PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 5 bulan, yakni bulan Februari–Juni 2017 di Lab. Pengendalian Mutu Hasil Perikanan, Lab. Biomolekuler dan Farmasitika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado untuk proses ekstraksi. Untuk analisa fitokimia dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan di Lab. Aplikasi Kimia dan Pelayanan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjajaran Bandung dan Lab. Kimia Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi.

Alat dan Bahan

Evaporator, neraca analitik, inkubator, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis, kertas saring Whatman no. 42, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan baku penelitian berupa *Kappaphycus alvarezii* kering yang didapat dari distributor rumput laut UD. Sumber Rejeki di Kelurahan Mahawu, Kecamatan Tuminting, Kota Manado. Bahan-bahan lain seperti metanol teknis, H₂SO₄, pereaksi dragendorff, pereaksi wegner, kloroform, FeCl₃, anhidra asetat, HCl 2N,

serbuk magnesium, metanol p.a, akuades, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), dan vit. C.

Prosedur Penelitian

Prosedur Persiapan Sampel *Kappaphycus alvarezii*

Rumput laut diperoleh dari UD. Sumber Rejeki di Kel. Mahawu, Kec. Tuminting, Kota Manado dalam keadaan kering kemudian ditimbang, dicuci, dikeringkan dan dipotong kecil-kecil (simplisia).

Proses Ekstraksi

Simplisia ditimbang sebanyak 350 gram lalu maserasi dengan metanol 1:4 (w/v) selama 3x24 jam pada suhu kamar hingga filtrat mendekati bening. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring Whatman no. 42 sehingga dihasilkan filtrat dan residu.

Filtrat dievaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak kental hasil evaporasi kemudian dilakukan proses desalting dengan teknik dekantasi, yakni dengan cara mencampur ekstrak kental dengan metanol p.a kemudian garam akan mengendap. Lakukan berulang-ulang hingga warna putih yang menunjukkan adanya garam pada pelarut hilang. Ekstrak tersebut dievaporasi kembali menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstraksi sampel dilakukan dengan mengacu pada penelitian Faskalia & Wibowo (2014) dan Suryaningrum *dkk.*, (2006).

Uji Rendemen (AOAC, 1995)

Rendemen diperoleh dari perbandingan berat ekstrak dengan berat sampel awal. Persentase rendemen dari sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sampel awal}} \times 100\%$$

Analisis Fitokimia (Harborne, 1987)

Uji flavonoid

Timbang sampel lalu ekstraksi dengan metanol, saring dengan kapas dan dipindahkan ke tabung lain (ekstrak metanol). Untuk pengujian menggunakan pereaksi HCl pekat, ekstrak metanol sampel ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes. Kocok kuat ekstrak tersebut lalu tambahkan Mg serbuk dan kocok kuat sekali lagi. Sampel positif mengandung flavonoid dengan pereaksi HCl pekat apabila terdapat buih-buih dan larutan berubah menjadi warna jingga.

Untuk pengujian digunakan pereaksi H₂SO₄ 2N, ekstrak metanol sampel ditambah 2 tetes H₂SO₄ 2N lalu kocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid dengan menggunakan pereaksi H₂SO₄ 2N bila terdapat perubahan warna kuning, merah atau cokelat yang sangat mencolok.

Uji Alkaloid

Timbang sampel kemudian ekstraksi dengan kloroform amoniakal. Saring dengan kapas dan pindahkan ke tabung A dan B. Pada masing-masing tabung A dan B tambahkan pereaksi *Dragendorff* dan pereaksi *Wagner*. Sampel pada tabung A positif mengandung alkaloid jika terdapat endapan berwarna kemerahan dan pada tabung B terdapat endapan kecokelatan.

Uji Saponin

Timbang sampel kemudian ekstraksi dengan kloroform amoniakal. Saring dengan kapas dan pindahkan ke tabung lain. Kocok kuat sampel tersebut dan diamkan selama 2 menit, kemudian tambahkan HCl 2N sebanyak 2 tetes. Kocok kuat lagi dan lihat apakah terbentuk buih-buih setelah didiamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung saponin bila terdapat buih-buih dengan intensitas yang banyak dan konsisten selama 10 menit.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Timbang sampel kemudian ekstraksi dengan etanol. Saring menggunakan kapas lalu panaskan hingga kering. Ekstraksi lagi dengan kloroform dan air (1:1). Ekstrak kloroform tersebut diteteskan pada plat tetes sebanyak 2 tetes dan biarkan sampai kering. Tambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1 tetes dan asam asetat anhidrat sebanyak 1 tetes. Sampel positif mengandung triterpenoid apabila mengalami perubahan warna merah atau cokelat dan positif mengandung steroid apabila mengalami perubahan warna biru, ungu atau hijau.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Blois, 1958)

Buat larutan DPPH 4x10⁻⁴M dan masukkan ke dalam vial dan tutup dengan rapat. Lapsi permukaan vial dengan alumunium foil agar terhindar dari cahaya. Kemudian buat larutan sampel 1000 ppm yakni dengan melarutkan sampel dengan pelarut metanol.

Untuk pengujian sampel, masukkan berturut-turut larutan stock dan metanol sesuai dengan volume yang tertera pada tabel 1. Pada

masing-masing tabung reaksi (A-H) dan tambahkan larutan DPPH sebanyak 1 ml ke masing-masing tabung reaksi tersebut lalu biarkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur menggunakan spektrometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Kemampuan untuk meredam radikal bebas DPPH (inhibisi) dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\% h = \frac{Ab-As}{Ab} \times 100\%$$

%h = % inhibisi (hambatan radikal bebas)
 Ab = Absorbansi blanko
 As = Absorbansi sampel

Nilai konsentrasi penghambatan radikal bebas sebanyak 50% (IC50) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi y=ax +b.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak

Rendemen rumput laut ekstrak metanol yang diperoleh adalah 0,034%, dimana filtrat cair yang diperoleh adalah 4,2 liter dan setelah dievaporasi diperoleh berat sampel 12 gram. Nurhayati, *dkk.* (2009) dalam Romansyah (2012) menyatakan persentase rendemen yang rendah menunjukkan komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya juga rendah dan sebaliknya. Penelitian yang dilakukan Suryaningrum, *dkk.* (2006) rumput laut segar yang kemudian dikeringkan mengalami penurunan persentase rendemen yang cukup tajam, yakni 5,79% menjadi 1,03% (turun sebesar 82%), dimana pada penelitian tersebut juga diperoleh rumput laut segar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Aktivitas antioksidan tersebut berasal dari kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel rumput laut itu sendiri.

Proses desalting diduga juga mempengaruhi dimana senyawa bioaktif dalam rendemen ekstrak ikut terbuang ketika penghilangan garam, sehingga persentase rendemen ekstrak menurun. Setelah proses desalting, rendemen yang diperoleh menjadi semakin rendah, yang menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh mengandung lebih banyak garam anorganik yang tidak larut dari pada senyawa yang dapat larut (Suryaningrum, 2006).

Senyawa Fitokimia

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol rumput laut *Kappaphycus alvarezii*.

No.	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
-----	--------------------	------------	-----------

1.	Flavonoid	Pereaksi HCl pekat + Mg	-
		Pereaksi H ₂ SO ₄ 2 N	-
2.	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	-
		Pereaksi Wagner	-
3.	Saponin	Pereaksi HCl	-
4.	Triterpenoid / Steroid	Pereaksi LB	-

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid dan steroid tidak terdeteksi dalam ekstrak metanol rumput laut.

Tidak terdeteksinya zat bioaktif pada ekstrak rumput laut dalam penelitian ini diduga akibat pengeringan di bawah sinar matahari. Menurut (Suryaningrum, dkk., 2006), panas dan sinar matahari dapat merusak kandungan bioaktif dalam ekstrak sampel. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang diperoleh Sharo, dkk. (2013), senyawa fitokimia rumput laut yang dikeringkan dengan cara dijemur dan diekstrak dengan pelarut etanol positif mengandung senyawa triterpenoid dan tidak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid. Menurut Robinson (1995) dalam Eleanore (2013) alkaloid memiliki sifat fisik kurang tahan panas.

Kadar garam dalam sampel juga diduga mempengaruhi hasil uji fitokimia. Hal ini disebabkan oleh proses desalting yang tidak maksimal. Teknik desalting yang tidak maksimal tersebut dapat mempengaruhi hasil analisa karena garam dapat bereaksi dengan senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel. Menurut Suryaningrum, dkk. (2006) adanya garam anorganik dalam jumlah besar akan memberikan hasil bioassay yang salah.

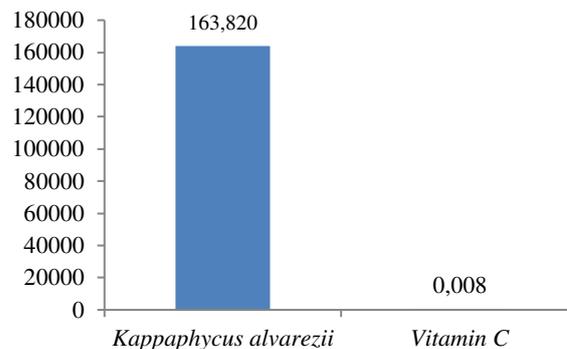
Pada penelitian yang dilakukan oleh Tanod & Amelia (2016), aktivitas antioksidan rumput laut yang dikeringkan dengan panas matahari selama 3 hari diperoleh sangat lemah dibanding dengan dikeringkan menggunakan oven selama 1 hari karena suhu oven bersifat lebih stabil dibandingkan dengan suhu sinar matahari yang sangat bervariasi (35-47°C). Dari penelitian tersebut diduga senyawa fitokimia yang berperan sebagai antioksidan telah rusak karena intensitas cahaya yang tinggi dan waktu radiasi cahaya yang lama.

Kandungan fitokimia yang diperoleh dari penelitian ini juga dipengaruhi oleh jenis rumput laut itu sendiri. Kandungan fitokimia berbeda-beda pada tiap jenis rumput laut. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Maharany, dkk. (2017) rumput laut jenis *Padina australis* lebih banyak mengandung senyawa fitokimia (positif flavonoid, fenol hidrokuinon,

triterpenoid, tanin dan saponin) dibandingkan dengan *Kappaphycus alvarezii* (positif flavonoid, fenol hidrokuinon, dan triterpenoid).

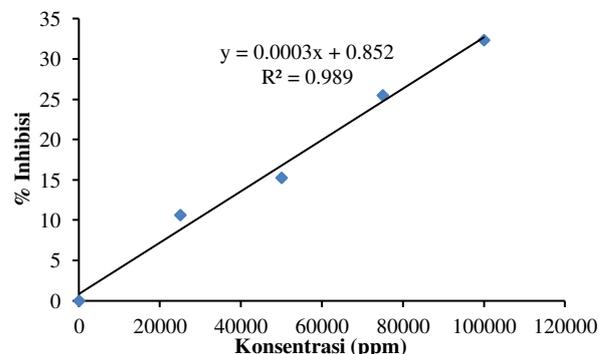
Aktivitas Antioksidan

Pada penelitian ini diperoleh nilai IC₅₀ dari sampel rumput laut adalah sebesar 163.819,99 ppm dan nilai IC₅₀ kontrol positif Vitamin C adalah sebesar 7,99 ppm (gambar 1).



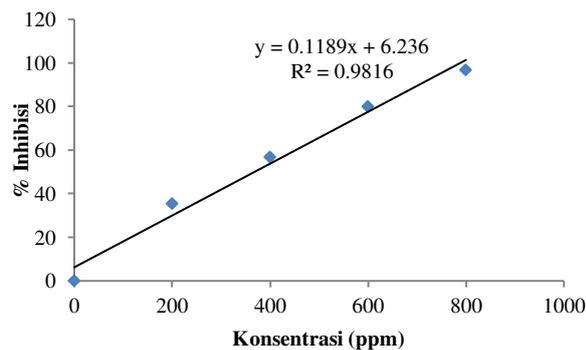
Gambar 1. Aktivitas antioksidan IC₅₀ *Kappaphycus alvarezii* dan Vitamin C.

Kurva daya hambat antioksidan ekstrak metanol rumput laut dan kontrol positif vitamin C terhadap senyawa DPPH dapat dilihat pada gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 2. Kurva daya hambat ekstrak metanol rumput laut *Kappaphycus alvarezii* terhadap senyawa DPPH.

Menurut Molyneux (2004), semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm (IC₅₀<50 ppm), kuat (50<IC₅₀<100 ppm), sedang (100<IC₅₀<150 ppm), lemah (150 ppm<IC₅₀<200 ppm), dan sangat lemah IC₅₀> 200 ppm). Dari hasil pengujian ini menunjukkan bahwa sampel rumput laut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah karena menunjukkan IC₅₀>200 ppm dibandingkan dengan kontrol positif Vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena menunjukkan IC₅₀< 50 ppm.



Gambar 3. Kurva daya hambat antioksidan kontrol vitamin C terhadap senyawa DPPH.

Nilai IC_{50} rumput laut yang diperoleh sangat kecil dibandingkan dengan vitamin C ini disebabkan karena ekstrak yang diuji masih berupa campuran beberapa senyawa, dan vitamin C sudah berupa senyawa murni yang bertindak sebagai antioksidan.

Hasil aktivitas antioksidan IC_{50} yang didapat dari penelitian ini sangat rendah diduga karena adanya pengaruh rumput laut yang diperoleh sudah dalam keadaan kering. Rumput laut tersebut dikeringkan menggunakan panas dan cahaya matahari. Menurut Suryaningrum, dkk. (2006) zat bioaktif yang merupakan sumber antioksidan ini mudah rusak bila terkena panas dan cahaya matahari ketika pengeringan.

Menurut Suresh *et al.* (2007) rumput laut diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik. Senyawa fenolik merupakan salah satu kandungan rumput laut yang berperan sebagai antioksidan. Senyawa fenolik merupakan salah satu kandungan rumput laut yang berperan sebagai antioksidan. Ekstraksi pada suhu di atas $60^{\circ}C$ dapat menurunkan senyawa fenolik pada *Kappaphycus alvarezii* (Sari dkk., 2013). Ketidakstabilan fenolik pada suhu tinggi tersebut diperkirakan dapat menyebabkan aktivitas antioksidan melemah (Liazid *et al.*, 2007).

Konsentrasi pelarut juga mempengaruhi aktivitas antioksidan sampel. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Damongilala dkk. (2013) antioksidan terbaik didapat dari *Euचेuma spinosum* segar yang dimaserasi menggunakan pelarut metanol dengan konsentrasi 60%. Penelitian yang dilakukan juga oleh Dotulong (2014), kemampuan menghambat radikal bebas DPPH tertinggi pada jenis alga *Caulerpa sertularoides*, *Laurencia tronoi* dan *Padina australis* terdapat pada ekstrak metanol 50%. Menurut Fathurrachaman (2014) konsentrasi pelarut yang digunakan memiliki polaritas yang

berbeda-beda dan berhubungan dengan kandungan metabolit sekunder yang tersaring pada proses ekstraksi. Adanya kandungan metabolit sekunder dapat berpengaruh pada aktivitas antioksidan dari sampel tersebut.

Salah satu senyawa fitokimia yakni flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai gugus fenol yang lebih kompleks dengan derajat hidroksilasi yang lebih tinggi. Keberadaan gugus hidroksil pada senyawa fenol dan flavonoid menimbulkan aktivitas antioksidan. Hal ini dapat disebabkan karena atom oksigen pada gugus hidroksil mempunyai pasangan elektron bebas yang cukup untuk menghambat reaktivitas atom reaktif penyusun senyawa radikal bebas (Egwaikhide & Gimba 2007 dalam Eleanore, 2013).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kental rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang diperoleh adalah sebanyak 12 gram dan rendemen 0,034%.
2. Kandungan fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid tidak terdeteksi pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* ekstrak metanol.
3. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* ekstrak metanol sangat lemah dimana $IC_{50} > 200$ ppm yakni 163.819,99 ppm, dimana IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan bahwa sampel rumput laut tidak dijemur di bawah sinar matahari, karena akan merusak senyawa bioaktif di dalamnya. Selain itu perlu dilakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut, tingkat konsentrasi pelarut dan metode ekstraksi yang berbeda sehingga dapat memperoleh senyawa-senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan yang maksimal dari rumput laut *Kappaphycus alvarezii* agar dapat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM. 2001. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Tentang

- Pengawasan Klaim Dalam Label dan Iklan Pangan Olahan.
- Suarni., Yasin, M. 2011. Jagung sebagai Sumber Pangan Fungsional Iptek Tanaman Pangan Vol. 6 No. 1. 2011.
- Putranto, U.D. 2015. Pangan Fungsional dari Jamur Tiram. Penyuluhan Jamur Pangan di Desa Argo Peni, Kecamatan Ayah, Kabupaten Kebumen. Universitas Jenderal Soedirman. Purwakarta.
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, Mulyani, B., Rahmawati, C.P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. Prodi Pendidikan Kimia Jurusan FMIPA FKIP Universitas Surakarta.
- Sukei dan Sirat, W. D. 2012. Antioksidan dalam Bakso Rumput Laut Merah *Euचेuma cottonii*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November (ITS) Surabaya. Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 1, No. 1, (2012) 1-4.
- Faskalia dan Wibowo, A. M. 2014. Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas, Antioksidan dan Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol pada Akar dan Kulit Batang Soma (*Ploiarium alternifolium*). Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura. Jkk, Tahun 2014, Volum 3(3), Halaman 1-6 ISSN 23031077. Pontianak.
- Suryaningrum, D., Wikanta, T. dan Kristiana, H. 2006. Uji Senyawa Antioksidan dari Rumput Laut *Halymenia harveyana* dan *Eucheuma cottonii*. Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 1 (1):51-63.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. Washington.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis. Tumbuhan. Terjemahan Kosasih P dan Iwang SJ., ITB Bandung.
- Blois, M.S. 1958. *Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical*. *Natural*. 181, 1199-1200.
- Maulana. A. 2012. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Eucheuma spinosum*. Skripsi. Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Damar, A.R., M.R.J. Runtuwene dan D. Silvia. 2014. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch). Jurnal Ilmiah Farmasi FMIPA UNSRAT, Manado. Vol.3(4):11-21.
- Sharo, N.M., Ningsih, R.N., Nasichuddin, A., dan Hanapi, A. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* leach. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim. Alchemy, Vol. 2 No. 3, Hal. 170-177. Malang.
- Eleanore, Y. 2013. Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) Menggunakan Metode DPPH. Skripsi. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tanod, W.A., Amelia, R. 2016. Kandungan Antioksidan Alga Merah *Eucheuma Cottonii* dengan Metode Pengerangan Yang Berbeda. Jurnal. Sekolah Tinggi Perikanan dan Kelautan (STPL) Palu "Kauderni": Journal Of Fisheries, Marine And Aquatic Science" Volume 1, Nomor 1.
- Maharany, F., Nurjanah., Suwandi, R., Anwar, E. dan Hidayat, T. 2017. Kandungan Senyawa Bioaktif Rumput Laut *Padina australis* dan *Eucheuma cottonii* Sebagai Bahan Baku Krim Tabir Surya. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. JPHP Volume 20 Nomor 1.
- Molyneux, P. 2004. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. *Science Technology*, 26 (2):211-219.
- Suresh K.K., Canusan.K., Subba R.P.V (2008). *Antioxidant Potential Of Solvent Extract Of Kappaphycus alvarezii (Doty) Doty-An Edible Seaweed*. *Food Chemistry* 107, 289-295.
- Sari, B.L., Susanti, N., dan Sutanto. 2015. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Alga Merah *Eucheuma spinosum*. Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan. Jurnal. Vol. 2 No. 1. Pharm Sci Res ISSN 2407-2354. Bogor.
- Liazid, A., Palma, M., Brigui, J., & Barroso, C. G, 2007, *Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction*. *Journal Chromatography A*, 1140, 29-34.
- Damoninglala, L., Widjanarko, S.B., Zubaidah, E., Runtuwene, M.R.J. 2013. *Antioxidant Activity Against Methanol Extraction of Eucheuma cottonii and Eucheuma spinosum Collected From North Sulawesi Waters, Indonesia*. *Food Science and Quality Management*. ISSN 2224-6088 (Paper) ISSN 2225-0557 (Online). Vol.17.
- Dotulong, V. 2014. Aktifitas Antioksidan Alga Laut *Caulerpa sertularoides*, *Laurencia tranoi*, *Padina australis*, Isolasi dan Elusidasi Senyawa Aktif Pada Fraksi n-Heksana *Laurencia tranoi*. Disertasi. Program Studi Ilmu Pertanian Minat Teknologi Hasil Perikanan. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Fathurrachman, D.A. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Program Studi Farmasi.UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Gunawan, E.R., Suhendra, D. 2012. Screening dan Analisis Kadar Omega-3 Dari Rumput Laut Pulau Lombok NTB. Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram.. Jurnal Molekul, Vol. 7. No. 2. November, 2012:95-104. Mataram.
- Richard, D., Kefi, K., Bausero, P., Visioli, F. Poly Unsaturated Fatty Acid as Antioxidants. *Laboratory of Micronutrients and Cardiovascular Disease. Pharmacol Res*. 2008 Jun;57(6):451-5.

