

Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol *Sargassum sp.*

Hafida Salma, Sri Sedjati, Ali Ridlo

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof.H.Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia
*Corresponding author, e-mail : hafidasalma21@gmail.com

ABSTRAK : *Sargassum sp.* adalah salah satu jenis rumput laut paling banyak di Indonesia dan memiliki manfaat sebagai antioksidan, obat penyakit jantung, stroke, dll. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum sp.* Sampel diambil dari Pantai Sundak, Gunung Kidul, Yogyakarta. Metode yang digunakan adalah eksploratif deskriptif. Sampel dikeringkan dalam suhu ruangan selama 7 hari dan dimaserasi dengan pelarut metanol, lalu dievaporasi dengan *rotary evaporator*. Ekstrak metanol di fraksinasi menggunakan etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan 2 metode, yaitu metode penangkapan radikal bebas DPPH dan total kapasitas antioksidan fosfomolibdat. Vitamin C digunakan sebagai standar penangkapan radikal bebas DPPH dan total kapasitas antioksidan fosfomolibdat. Kadar total fenolat diuji menggunakan larutan *Folin-Ciocalteu* dengan standar asam galat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar total fenolat fraksi etil asetat *Sargassum sp.* sebesar 64,42 mg GAE/g sampel. Aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH memiliki nilai IC_{50} 1.289 ppm, vitamin C memiliki IC_{50} sebesar 122,71 ppm, sedangkan total kapasitas antioksidan adalah 39,52 mg AAE/g sampel. Kesimpulannya, yaitu kandungan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum sp.* dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH diduga sangat lemah dan kandungan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode fosfomolibdat diduga tinggi.

Kata Kunci: *Sargassum sp.*; Antioksidan; DPPH; Total Kapasitas Antioksidan (TAC)

Antioxidant activity of ethyl acetate fraction from methanol extract of Sargassum sp.

ABSTRACT : *Sargassum sp.* is one of the many types of seaweed in Indonesia and has benefits as an antioxidant, a drug for heart disease, stroke, etc. This study aims to determine the antioxidant content of ethyl acetate fraction of methanol extract of *Sargassum sp.* Samples were taken from Sundak, Gunung Kidul, Yogyakarta. The method used is descriptive explorative. Samples were dried at room temperature for 7 days and macerated with methanol, then evaporated at a rotary evaporator. The methanol extract fractionation using ethyl acetate. Testing the antioxidant activity using two methods, the method of catching free radicals DPPH and total antioxidant capacity fosfomolibdat. Vitamin C is used as a standard arrest DPPH free radical and total antioxidant capacity fosfomolibdat. Levels of total phenolics were tested using the *Folin-Ciocalteu* solution with gallic acid standard. The results showed that levels of total phenolic fraction of ethyl acetate *Sargassum sp.* amounting to 64,42 mg GAE/g sample. The antioxidant activity with catching free radicals DPPH methods have IC_{50} values 1.289 ppm, vitamin C has an IC_{50} of 122,71 ppm, while the total antioxidant capacity was 39,52 mg AAE/g sample. In conclusion, the content of the antioxidant activity of ethyl acetate fraction of methanol extract of *Sargassum sp.* with catching free radicals DPPH methods allegedly extremely weak and the content of the antioxidant activity using methods fosfomolibdat predictably high.

Keywords: *Sargassum sp.*; antioxidant; DPPH; Total Antioxidant Capacity (TAC)

PENDAHULUAN

Sargassum mengandung senyawa fenolat, klorofil a, klorofil c dan karoten yang berfungsi sebagai antioksidan. Zat antioksidan dalam *Sargassum* menjadi mekanisme pertahanan terhadap

stres oksidatif atau keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya (Radhika *et al.*, 2013). Penyakit degeneratif telah menjadi penyebab kematian terbesar yang tidak terlepas dari pola hidup manusia. Penyakit degeneratif muncul karena adanya kerusakan sel akibat reaktivitas senyawa radikal bebas (Indriyawati, 2015). Zat antioksidan yang mempengaruhi radikal bebas memainkan peran penting untuk mencegah penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes mellitus dan komplikasinya, penyakit jantung, pembuluh darah dan stroke (Sudhakar *et al.*, 2013). Mekanismenya dengan memperlambat proses oksidasi, menghentikan rantai reaksi oksidatif dengan donasi elektron, atom hidrogen dan adisi pada radikal peroksi sebelum atau sesudah terjadi oksidasi parsial (Cahyadi, 2008).

Manusia dapat memproduksi antioksidan dengan sendiri melalui proses kimia, tetapi manusia tidak memiliki cadangan antioksidan dalam jumlah yang lebih, sehingga apabila terbentuk radikal bebas maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (antioksidan yang bersumber dari luar tubuh), contohnya rumput laut yang merupakan cara alternatif untuk memproduksi antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2016). Penelitian antioksidan dalam fraksi etil asetat sudah banyak dilakukan antara lain, *Gracilaria verrucosa* dari Kabupaten Mangkang, Jawa Tengah, Semarang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 172,67 ppm (Widowati *et al.*, 2014). *Sargassum crassifolium* dari Pantai Batu Karas, Ciamis memiliki nilai IC₅₀ sebesar 86,07 ppm. Sehingga diperlukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dalam fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum* sp. Berbagai upaya harus dilakukan demi memanfaatkan kelimpahan *Sargassum* yang ada di perairan Indonesia.

MATERI DAN METODE

Rumput laut coklat *Sargassum* sp. diambil, kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sedimen dan epifit yang menempel. *Sargassum* sp. dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung, setelah kering di haluskan sampai menjadi serbuk dan di masukkan ke dalam plastik *ziplock* dengan diisi silika gel.

Ekstraksi dengan metanol berdasarkan metode Podungge *et al.* (2018), yaitu: serbuk *Sargassum* sp. sebanyak 250 g direndam dalam pelarut metanol sebanyak 350 ml selama 3x24 jam sampai didapat filtrat dan residu, ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 42 untuk mendapatkan filtrat. Residu diekstraksi kembali dengan pelarut yang sama sampai warna ekstraknya bening. Hasil filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental dan dihitung persentase rendemen.

$$\text{Rendemen\%} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Sampel Awal}} \times 100\%$$

Fraksinasi etil asetat dilakukan berdasarkan metode Al-Mola (2009), ekstrak *Sargassum* sp. ditambah 240 mL metanol, 480 mL kloroform, dan 180 mL akuabides, kemudian dihomogenkan dan didiamkan pada suhu ruang selama ±24 jam, setelah terbentuk 2 lapisan, lapisan kloroform yang berada di atas dipisahkan menggunakan corong pisah dan ditambahkan 300 mL etil asetat, lalu didiamkan selama 24 jam. Lapisan atas yang didapat, yaitu fraksi etil asetat dipisahkan dengan corong pisah dan diuapkan dengan *rotary evaporator*, setelah itu di *freeze dryer*.

Asam galat dibuat dengan seri konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Kurva asam galat dibuat untuk menghitung kandungan senyawa fenolat dengan persamaan regresinya. Sebanyak 5 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam 2 ml etanol p.a kemudian ditambahkan 5 ml akuades dan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* 50% dan diinkubasi selama 5 menit dan selanjutnya ditambahkan Na₂CO₃ 5% sebanyak 1 ml. Larutan dihomogenkan dan diinkubasi pada kondisi yang gelap selama 1 jam. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Nilai total fenolat yang didapatkan dinyatakan dalam mg *Galic Acid Equivalent* (GAE)/g sampel dengan rumus perhitungan sebagai berikut (Yangthong *et al.*, 2009):

$$\text{Total Fenolat} = \frac{\frac{(a \times V \text{ total})}{1000} \text{ ml}}{G}$$

Keterangan : a :Konsentrasi asam galat dalam sampel uji (mg/L); V :Volume total larutan uji (mL); G :Berat ekstrak yang digunakan (g); 1000 :Faktor konversi terhadap volume total larutan (mL)

Ekstrak dengan konsentrasi (25, 50, 100 dan 200 ppm) diambil sebanyak 0,2 ml, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah dibungkus aluminium foil, kemudian ditambahkan 4 ml larutan DPPH. Larutan dikocok sampai homogen dan dibiarkan selama 30 menit dalam suhu ruang. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Nilai persentase inhibisi (penghambatan) yang diwakili oleh nilai % inhibisi dihitung dengan rumus, sebagai berikut: (Banerjee *et al.*, 2005).

$$\text{Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Ekstrak})}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100$$

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus, yaitu dengan memasukkan persamaan regresi yang diperoleh dari hasil grafik histogram. Kapasitas antioksidan dapat ditentukan dengan menggunakan metode fosfomolibdat dengan kurva standar asam askorbat atau Vit. C dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 150 ppm.

Fraksi etil asetat *Sargassum sp.* di timbang sebanyak 0,023 g dan di campur dengan pelarut metanol sebanyak 25 ml, kemudian dibuat 3 ml reagen (berupa campuran 0,6 M asam sulfat, 28 mM natrium fosfat dan 4 mM amonium molibdat dengan perbandingan 150:7:1), setelah reagen tercampur kemudian dihomogenkan dengan fraksi etil asetat *Sargassum sp.* dan diinkubasi selama 90 menit pada suhu 5°C, setelah campuran didinginkan lalu di vortex, absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 695 nm. Nilai total kapasitas antioksidan yang di dapatkan dinyatakan dalam mg *Ascorbic Acid Equivalent* (AAE)/g sampel, total kapasitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus, sebagai berikut: Patel *et al.*, (2016).

$$\text{Total Kapasitas Antioksidan} = \frac{(a \times V \text{ total}) \text{ ml}}{G \times 1000}$$

Keterangan : a :Konsentrasi Vit. C dalam sampel uji (mg/L); V :Volume total larutan uji (mL); G : Berat ekstrak yang digunakan (g); 1000 :Faktor konversi terhadap volume total larutan (mL)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Total Fenolat Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Metanol *Sargassum sp.*

Kandungan total fenolat fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum sp.* mempunyai nilai sebesar 64,42 mg GAE/g sampel. Pengukuran total fenolat fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum sp.* didasarkan pada kurva standar menggunakan asam galat. Asam galat dijadikan sebagai pembanding dalam uji total fenol karena pada umumnya tumbuhan mengandung asam galat. Dilihat dari hasil absorbansi ekstrak maka diperoleh hasil total kandungan fenolat, yaitu sebesar 64,42 mg GAE/g sampel termasuk tinggi bila dibandingkan dengan penelitian Sedjati *et al.*, (2017), sebesar 57,97 mg GAE/g kandungan totalnya lebih rendah. Kandungan fenolat yang tinggi berarti menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi, dan sebaliknya jika kandungan fenolat rendah berarti menunjukkan bahwa rumput laut tersebut memiliki potensi fenolat yang rendah juga.

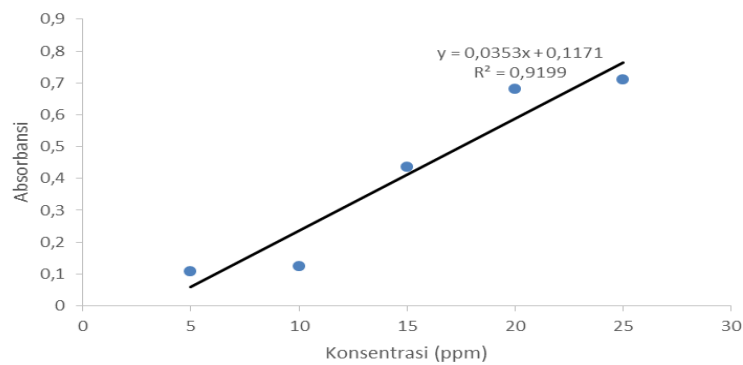
Ekstrak etil asetat dapat menghasilkan kandungan fenolat paling tinggi, dimana etil asetat lebih efektif melarutkan senyawa fenolat daripada metanol dan n-heksan. Etil asetat merupakan salah satu pelarut yang sering digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolat (Mardawati *et al.*, 2008). Nilai total fenolat memiliki peran yang penting terhadap aktivitas antioksidan dan ekstrak etil asetat memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang kuat (Widowati *et al.*, 2014).

Aktivitas Antioksidan Penangkapan Radikal Bebas DPPH

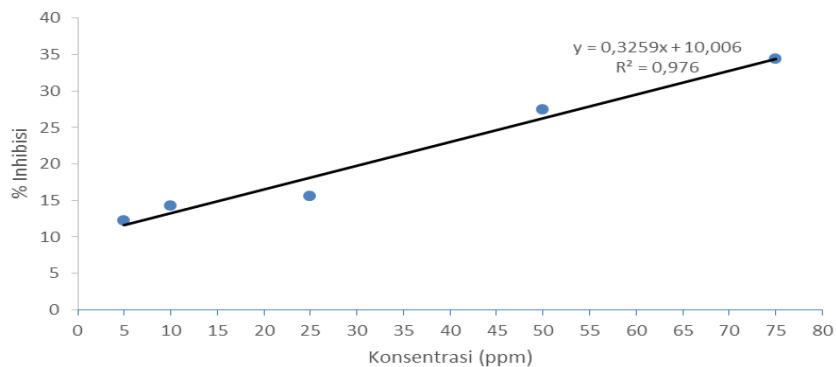
Hasil kandungan aktivitas antioksidan penangkapan radikal bebas DPPH yang diperoleh pada penelitian ini, yaitu IC₅₀ sebesar 1.289 ppm yang termasuk sangat lemah bila dibandingkan dengan penelitian (Widowati *et al.*, 2014), *Gracilaria verrucosa* dari Kabupaten Mangkang, Jawa

Tengah, Semarang memiliki nilai IC_{50} sebesar 172,67 ppm yang tergolong tinggi. Hasil IC_{50} pada kontrol positif yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan ini menggunakan standar asam askorbat atau vitamin C, yaitu sebesar 122,71 ppm. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm dan sangat lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm (Sandhiutami *et al.*, 2010). Lemahnya kandungan antioksidan dalam fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum* sp. ini bisa diakibatkan karena suhu saat proses pengeringan dapat menyebabkan kandungan antioksidan berkurang.

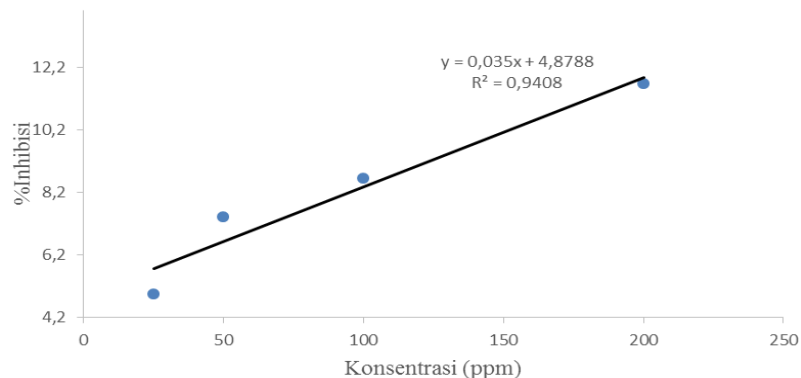
Rendahnya antioksidan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor lainnya, seperti zat pengotor, parameter lingkungan lokasi pengambilan sampel dan jenis sampel, seperti kedalaman, suhu dan salinitas cahaya matahari akan mempengaruhi kandungan antioksidannya. Proses biosintesis senyawa antioksidan akan menghasilkan senyawa yang optimal apabila kondisi lingkungan juga mendukung (Wikanta *et al.*, 2005).



Gambar 1. Grafik Standar Asam Galat



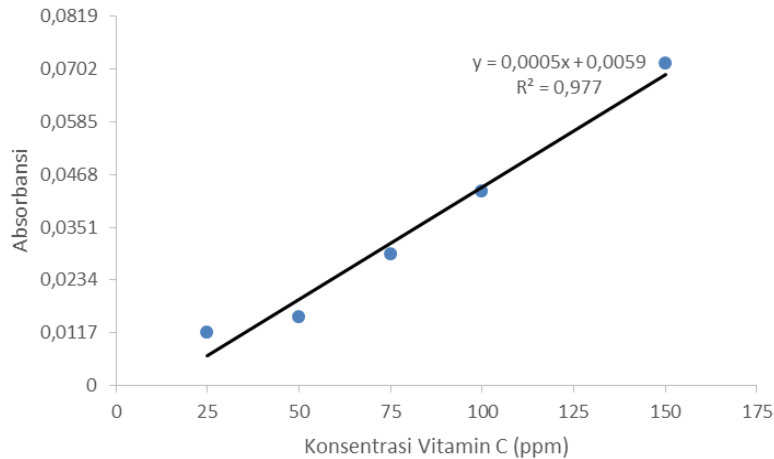
Gambar 2. Grafik % Inhibisi Standar Vit. C



Gambar 3. % Inhibisi Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Metanol *Sargassum* sp.

Uji Total Kapasitas Antioksidan Menggunakan Metode Fosfomolibdat

Total kapasitas antioksidan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum* sp. sebesar 39,52 mg AAE/g sampel, seperti yang dilakukan oleh Rode dan Sabale (2018) dengan total kapasitas antioksidan sebesar 0,31 mg AAE/g sampel dari ekstrak metanol *Gracilaria* yang diambil di pantai Kunakeshwar, India. Penelitian dari Salamah dan Farahan (2014) dengan total kapasitas antioksidan sebesar 43,198 mg AAE/g sampel yang diambil dari daerah Karangmalang, Yogyakarta.



Gambar 4. Grafik Standar Vit. C Metode Fosfomolibdat

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum* sp. diprediksi mempunyai aktivitas penangkal radikal bebas sangat lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 1.289 ppm. Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol *Sargassum* sp. mempunyai total kapasitas antioksidan sebesar 39,52 mg AAE/g sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Mola, H.F. 2009. Antibacterial activity of crude extracts and phlorotannin isolated from the Diatom *Cymbella* spp. *Journal of Pharmacy Research*, 2(1):304-308
- Banerjee, A., Dasgupta, N. & De, B. 2005. In Vitro Study Of Antioxidant Activity of syzigium Cumini Fruit. *Journal Food Chemistry*, 90(4):727-733
- Cahyadi, W. 2008. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara, Jakarta, 400 p.
- Indriyawati, N. 2015. Senyawa Fenolik dan Alginat dari Ganggang Coklat *Sargassaceae* Indo-Pasifik: Ekstraksi, Pemurnian, Kuantifikasi dan Aktivitas Senyawanya. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015*. Malang, pp. 276-287
- Mardawati, E., Filianty, F. & Marta, H. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Jurnal Industri Teknologi Pertanian*, 2(3)
- Patel, P., Sunkara, R., Walker, L.T., & Verghese, M. 2016. Effect of Drying Techniques on Antioxidant Capacity of Guava Fruit. *Food and Nutrition Sciences*, (7):544-554.
- Podungge, A., Damongilala, L.J., & Mewengkang, H.W. 2018. Kandungan Antioksidan pada Rumpun Laut *Eucheumas Spinosum* yang Diekstrak dengan Metanol dan Etanol. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(1):197-201.
- Radhika, D., Veerabahu, C. & Priya, C. 2013. Invitro Studies on Antioxidant and Haemagglutination Activity of Some Selected Seaweeds. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(1):152-155

-
- Rode, S.P. & Sabale, A.B.. 2018. Antioxidant Activity of Some Green and Red Seaweeds From West Coast of Maharashtra, India. *International Research Journal Of Pharmacy*, 9(6):108-112
- Salamah, N. & Farahana, L. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urb) dengan Metode Fosfomolibdat. *Pharmaziana*, 4(1):23-30.
- Sandhiutami, N.M.D., Ngatidjan & Kristin. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* LAM.) Secara in Vitro dan in Vivo pada Tikus yang diberi Beban Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 15(1):18–28.
- Sayuti, K. & Yenrina, R. 2016. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang. Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI)., 104 p.
- 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):124-130.
- Sudhakar, M.P., Ananthalakshmi, J.S. and Nair, B.B., 2013. Extraction, purification and study on antioxidant properties of fucoxanthin from brown seaweeds. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(7):169-175
- Widowati, I., Lubac, D., Puspita, M. & Bourgougnon, N. 2014. Antibacterial and Antioxidant Properties of the Red Algae *Gracilaria verrucosa* From the North Coast of Java, Semarang, Indonesia. *International Journal of Latest Reserch in Science and Technology*, 3 (3):179–185
- Wikanta, T., Januar, H.I., & Nursid, M. 2005. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, dan Sitoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhodomyenia palmate*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11(4):41–49
- Yangthong, M., Towatana, N.H. & Phromkunthong, W.. 2009. Antioxidant Activities of Four Edible Seaweeds From the Southern Coast of Thailand. *Journal of Plant Food Human Nutrition*, 20(2):230-237