

Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh. dari Pantai Ujung Genteng

¹Defran Munandar Pratama, ²Kiki Mulkiya Yuliatwati, ³Reza Abdul Kodir
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116
e-mail: ¹defranmp93@gmail.com, ²qqmulkiya@gmail.com,
³Reza.Abdul.Kodir@gmail.com

Abstrak. *Sargassum duplicatum* mengandung komponen bioaktif yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol rumput laut *S. duplicatum* serta mengidentifikasi salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Ekstraksi dilakukan dengan metode refluks. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Parameter untuk menginterpretasikan aktivitas antioksidan adalah dengan nilai IC₅₀ (Inhibitor Concentration). Hasil pengujian menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 14,351 µg/ml. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC). Kemudian dilakukan pemantauan menggunakan KLT terhadap fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol dengan fase gerak toluen : kloroform : metanol (7:3:1). Isolasi dilakukan dengan KLT-preparatif pada fase diam silika gel GF254 dan fase gerak toluen : kloroform : metanol (7:3:1) sehingga dihasilkan isolat. Isolat yang diperoleh diuji kemurnian dengan KLT pengembang tunggal dan 2 dimensi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Isolat dikarakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil karakterisasi isolat menunjukkan adanya serapan pada dua panjang gelombang yaitu pada 372 nm (pita 1) dan 259 nm (pita 2). Karakterisasi menggunakan penampak bercak DPPH 0,2% menunjukkan bahwa isolat adalah senyawa yang bereaksi positif dengan DPPH. Diduga bahwa isolat yang diperoleh memiliki aktivitas antioksidan dan diduga merupakan flavonoid jenis flavonol.

Kata Kunci : Ekstraksi, Antioksidan, Rumput laut (*Sargassum duplicatum*), Spektrofotometer UV-Vis

A. Pendahuluan

Rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang penting, serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia. Tumbuhan ini bernilai ekonomi tinggi dalam bidang industri makanan maupun bukan makanan (industri kosmetik, tekstil, dan farmasi), untuk memenuhi permintaan dalam negeri maupun luar negeri (Indriani dan Sumiarsih, 1992).

Salah satu spesies rumput laut *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh banyak dimanfaatkan penduduk pantai untuk sayur dan lalapan. Manfaat rumput laut sebagai bahan pangan sudah lama diketahui. Secara umum, *S. duplicatum* merupakan salah satu rumput laut yang sangat potensial sedangkan pemanfaatannya masih belum banyak dilakukan.

Akhir-akhir ini penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan. Antioksidan diketahui dapat menghambat kerja radikal bebas. Sebagai salah satu upaya untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam laut Indonesia, maka dalam penelitian ini dilakukan pengujian sebagai tahap awal mengukur potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanol rumput laut *S. duplicatum*.

Tujuan dari penelitian ini adalah menetapkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol *S. duplicatum* melalui metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-picrylhidrazil), serta mengisolasi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dalam ekstrak *S. duplicatum*. Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah agar pemanfaatan *S. duplicatum* dapat lebih optimal dan menjadi pedoman untuk penelitian selanjutnya.

B. Landasan Teori

Botani Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J.G. Agardh)

Rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang penting, serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia. Karakteristik biologi rumput laut *S. duplicatum* (alga coklat) hidup dan tumbuh di daerah pesisir pantai dengan substrat batu karang.



Gambar. 1 Rumput laut (*Sargassum duplicatum* J.G. Agardh)

Ciri-ciri umum dari *Sargassum* ini adalah bentuk thallus umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*), ukuran panjang umumnya mencapai 3-7 meter dan warna thallus umumnya coklat (Aslan, 1991). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh 3 sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Dawes, 1981; Tjitrosoepomo, 2005).

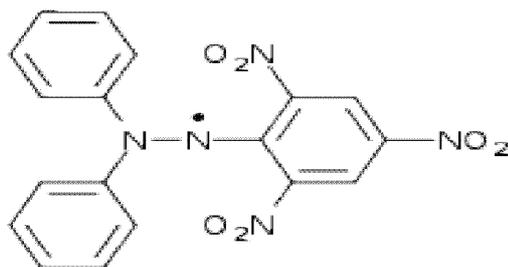
Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (donor elektron). Secara biologis antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan salah satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007: 77-79).

Antioksidan penting untuk kesehatan dan kecantikan serta mempertahankan mutu produk pangan. Di bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah dan penuaan dini (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah.

Radikal Bebas DPPH

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH).



Gambar 2 Struktur DPPH (*1,1-difenil-2-picrylhidrazil*) (Koleva dkk., 2002: 17)

C. Hasil Dan Pembahasan

Berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, hiperkolesterolemia disebabkan karena radikal bebas. Antioksidan dapat berperan dalam meredam radikal bebas. Hasil penapisan fitokimia simplisia rumput laut *S. duplicatum* mengandung golongan alkaloid, flavonoid, monoterpen dan sesquiterpen, steroid dan triterpenoid, polifenolat dan saponin.

Ekstraksi dan Pemekatan Ekstrak

Proses ekstraksi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan metode refluks. Ekstraksi dengan metode refluks dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 95%, dengan penggantian pelarut setiap 3 jam untuk menghindari terjadinya kejenuhan pada pelarut sehingga penarikan senyawa-senyawa yang terdapat di dalam sampel akan lebih maksimal. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* dengan suhu 40°C, kemudian dilanjutkan dengan penguapan pada *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak pekat yang diperoleh sebesar 36,69 gram. Rendemen ekstrak yang diperoleh rumput laut *S. duplicatum* sebesar 4,7%.

Uji Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *S. duplicatum*

Aktivitas antioksidan suatu sampel dapat digambarkan melalui IC_{50} . Dari hasil pengujian ekstraksi refluks (ER) menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 14,351 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Dari nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa ER memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dari pada EM. Hal ini bisa terjadi karena senyawa yang terdapat dalam rumput laut merupakan salah satu senyawa yang tahan terhadap panas, sehingga ketika dilakukan ekstraksi secara refluks maka senyawa-senyawa yang terkandung di dalam rumput laut *S. duplicatum* tidak akan hilang.

Tabel 1 Pengukuran nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

No	Nilai IC_{50}	Keterangan
1	($IC_{50} < 50$ ppm)	Sangat kuat
2	(50 ppm < $IC_{50} < 100$ ppm)	Kuat
3	(100 ppm < $IC_{50} < 150$ ppm)	Sedang
4	(150 ppm < $IC_{50} < 200$ ppm)	Lemah
5	($IC_{50} > 200$ ppm)	Sangat lemah

Fraksinasi

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel sesuai dengan kemiripan sifat. Dalam penelitian ini, fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu metanol, n-heksan dan etil asetat. Tujuannya adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol rumput laut sesuai dengan sifat kepolarannya sehingga komponennya lebih sederhana dan mempermudah proses selanjutnya.

Tabel 2 Bobot fraksi ekstrak etanol *S.duplicatum*

Fraksi	Hasil (mg)
metanol	725
n-heksan	121,8
etil asetat	126

Dari **Tabel 2** dapat dilihat bahwa fraksi metanol menghasilkan perolehan rendemen lebih banyak dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Hal ini bisa disebabkan karena senyawa yang terkandung pada ekstrak sebagian besar merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga lebih mudah tertarik oleh pelarut metanol.

Pemantauan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Pemantauan KLT dilakukan terhadap fraksi metanol, n-heksan dan etil asetat dilakukan dengan menggunakan plat KLT silika gel GF₂₅₄ dengan eluen toluen : kloroform : metanol (7:3:1). Dari hasil pemantauan dapat dilihat bahwa kromatogram masing-masing fraksi yang disemprot dengan DPPH 0,2% memberikan warna kuning dengan latar belakang ungu.



Gambar 4 Uji kualitatif aktivitas antioksidan dengan KLT, FD silika gel GF₂₅₄, FG toluen : kloroform : metanol (7:3:1) dengan penampak bercak DPPH 0,2%.

KLT-Preparatif dan Uji Kemurnian

Pemurnian dilakukan secara KLT preparatif menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak toluen : kloroform : metanol (7:3:1). Pita yang mengandung senyawa antioksidan akan memberikan warna kuning dengan latar belakang ungu. Pita berwarna kuning dengan latar belakang ungu tersebut digunakan sebagai acuan dalam pengerakan. Pita yang menunjukkan positif antioksidan, dikerok dan diekstraksi dengan metanol kemudian disaring. Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya menggunakan KLT pengembang tunggal dengan pengembang toluen : kloroform : metanol (7:3:1)

serta KLT dua dimensi dengan eluen yang berbeda sifat kepolarannya yaitu toluen : kloroform (7:3) dan kloroform : metanol (3:1). Tujuannya yaitu untuk melihat kemurnian isolat secara kualitatif. Jika isolat sudah murni maka akan menghasilkan 1 bercak. Kromatogram yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Deteksi bercak dilakukan dengan lampu UV 254 nm dan lampu UV 366 nm.

Karakterisasi Isolat

Isolat dikarakterisasi secara KLT dan secara spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil yang diperoleh pada spektrofotometri UV-Vis terdapat dua pita. Serapan spektrum UV-Vis pita satu sebesar 372 nm dan pita dua 259 nm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid jenis flavonol. Menurut Markham, K. R. (1988;39) menyatakan bahwa rentang serapan spektrum UV-Vis flavonoid jenis flavonol pita satu berada pada panjang gelombang 350-385 nm dan pita dua berada pada panjang gelombang 250-280 nm.

D. Kesimpulan

Hasil pengujian nilai IC_{50} ekstraksi refluks yang diperoleh sebesar 14,351 $\mu\text{g/ml}$. Dengan demikian hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak refluks tergolong antioksidan sangat kuat. Isolat yang diperoleh dari ekstrak etil asetat rumput laut *S. duplicatum* adalah senyawa antioksidan yang diduga merupakan senyawa flavonol aglikon yang mempunyai OH bebas pada C-3.

Daftar Pustaka

- Anih A., H.A. Hidayat, I. Rosliana. (2010). *Penentuan Kadar Besi (Fe) Dalam Sampel Air Limbah Dengan Metode Spektrofotometer UV-VIS*, Universitas Pendidikan Indonesia.
- Ansel, H.C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi 4, terjemahan Farida Ibrahim, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Atmadja, W.S., A. Kadi, Sulistidjo, dan Rachmaniar. 1996. *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S. (1997). *Dasar-Dasar Kimia Organik*, terjemahan Maun, S., Anas K, Sally, T.S., Binarupa Aksara, Jakarta.
- Fransworth. R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences* vol 55(3) American Pharmaceutical Association.
- Indriani, H. dan E. Sumiarsih. 1992. *Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Khopkar, S.M. (2010). *Konsep Dasar Kimia Analitik* Diterjemahkan oleh: Saptorahardjo. Penerbit UI-Press. Jakarta.
- Markham, K. R. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Penerbit ITB, Bandung. 1988; 39.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity Medallion Laboratories : Analithycal Progress*. A publication of Medallion Labs : 1-4.
- Stahl, E. (1985), *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung.

Stoecker, W. F. dan J. W. Jones, Alih bahasa Ir. Supratman Hara, 1996. *Refrigerasi dan Pengkondisian Udara*. Edisi kedua, Erlangga, Jakarta.

Sulistiyowati, H. 2003. Struktur komunitas seaweed (rumput laut) di Pantai Pasir Putih Kabupaten Situbondo. *Jurnal Ilmu Dasar* 4 (1): 58-61.

Molyneux, (2003). *The Use of Stable Free Radical Diphenilpicrylhydrazyl(DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, (Polymer Chemistry). Macrophile Associates, 9 Salisbuti.

Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi Dalam Kesehatan*. Kanisius, Yogyakarta

