

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum polycystum*)

Antioxidant Activity of Brown Seaweed (*Sargassum polycystum*) Extracts

Kun Cahyaningrum, Amir Husni, Siti Ari Budhiyanti

Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora Gedung A4, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Email: a-husni@ugm.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak polifenol dan florotanin dari rumput laut cokelat *Sargassum polycystum*. Polifenol diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% kemudian diuji kandungan total fenolik, sedangkan florotanin diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol, kloroform, akuades, dan etil asetat kemudian diuji kandungan total florotanin. Setelah memperoleh ekstrak polifenol dan florotanin, kedua senyawa tersebut dipurifikasi dengan kromatografi kolom. Hasil kromatografi kolom dianalisis menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode *radical scavenging activity* (RSA) dan *ferrous ion chelating ability* (FIC) terhadap empat sampel, yaitu ekstrak polifenol, ekstrak florotanin, polifenol, dan florotanin. Kandungan total fenolik yang diperoleh adalah $1,18 \pm 0,67$ mg GAE/g ekstrak kering, sedangkan kandungan total florotanin diperoleh $0,61 \pm 0,27$ mg PGE/g ekstrak kering. Berdasarkan uji RSA dan FIC, florotanin (IC_{50} $1,12 \pm 0,02$ mg/mL dan $1,34 \pm 0,01$ mg/mL) memiliki aktivitas tertinggi diikuti ekstrak florotanin (IC_{50} $1,20 \pm 0,01$ mg/mL dan $1,47 \pm 0,10$ mg/mL), polifenol (IC_{50} $1,23 \pm 0,01$ dan $1,55 \pm 0,02$ mg/mL), dan ekstrak polifenol (IC_{50} $1,27 \pm 0,01$ mg/mL dan $1,63 \pm 0,02$ mg/mL). Hasil analisis kromatografi menunjukkan ekstrak *S. polycystum* mengandung senyawa fenolik relatif seperti senyawa floroglucinol.

Kata kunci: *Sargassum polycystum*, antioksidan, polifenol, florotanin

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine antioxidant activity of polyphenol and phlorotannin extracts from brown algae *Sargassum polycystum*. Polyphenol was extracted with ethanol 96% then tested total phenolic content, while phlorotannin was extracted with methanol, chloroform, aquadest, and ethyl acetate then tested total phlorotannin content. After crude polyphenol and crude phlorotannin extracts were obtained, the studied compounds were extracted using column chromatography. The extracts were then analyzed with HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Antioxidant activity was analyzed by radical scavenging activity (RSA) and ferrous ion chelating ability (FIC) for four samples, crude polyphenol, crude phlorotannin, polyphenol, and phlorotannin. The result of total phenolic content was 1.18 ± 0.67 mg GAE/g dry sample and total phlorotannin content was 0.61 ± 0.27 mg PGE/g dry sample. Based on RSA and FIC analysis, phlorotannin (IC_{50} 1.12 ± 0.02 mg/mL and 1.34 ± 0.01 mg/mL) showed the highest activity followed by crude phlorotannin (IC_{50} 1.20 ± 0.01 mg/mL and 1.47 ± 0.10 mg/mL), polyphenol (IC_{50} 1.23 ± 0.01 and 1.55 ± 0.02 mg/mL), and crude polyphenol (IC_{50} 1.27 ± 0.01 mg/mL and 1.63 ± 0.02 mg/mL). The results of chromatographic analysis showed that *S. polycystum* extract contains phenolic compounds similar to the phloroglucinol.

Keywords: *Sargassum polycystum*, antioxidant, polyphenol, phlorotannin

PENDAHULUAN

Penderita penyakit degeneratif akhir-akhir ini semakin meningkat disebabkan oleh adanya radikal bebas. WHO menyebutkan jumlah penderita kanker di dunia mencapai 14 juta orang pada tahun 2012 (Anonim, 2013), sedangkan jumlah penderita diabetes di dunia mencapai 371 juta orang pada

tahun 2012 (Rosalina, 2013). Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga untuk mencapai kestabilan, radikal bebas bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron (Rohmatussolihat, 2009).

Pencegahan kerusakan akibat radikal bebas pada tubuh manusia dapat dilakukan dengan menghasilkan antioksidan secara endogen dalam sistem pertahanan tubuh. Akan tetapi, kadar antioksidan tersebut saat ini tidak mampu melawan radikal bebas penyebab penyakit salah satunya karena adanya stres oksidatif (Halliwell, 1992), sehingga diperlukan tambahan antioksidan secara eksogen dari luar tubuh. Berdasarkan sumber asupannya, antioksidan eksogen terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetis, namun keamanan mengonsumsi antioksidan sintetis saat ini belum dapat dipastikan, maka perlu dicari sumber-sumber antioksidan alami (Sunarni, 2005). Salah satu sumber antioksidan alami adalah rumput laut cokelat (Ye dkk., 2009; Gamal, 2010). Salah satu spesies rumput laut cokelat yang banyak ditemukan di Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) adalah *Sargassum polycystum*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut cokelat yang diperoleh dari Pantai Poktunggal Kabupaten Gunungkidul DIY.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut cokelat *S. polycystum* yang diperoleh dari pantai Poktunggal Kabupaten Gunungkidul DIY. Bahan lain adalah etanol, metanol, kloroform, etil asetat dan heksan yang diperoleh dari Merck, serta HCl, asam galat, reagen Folin Ciocalteu, Na_2CO_3 , floroglusinol, FeCl_3 , DPPH, FeCl_2 , ferrozine, dan EDTA diperoleh dari Sigma-Aldrich. Peralatan yang digunakan antara lain oven, Erlenmeyer, hot plate stirrer (Thermolyne Nouva Stir Plate), vorteks (Barnstead Thermolyne Type 37600 Mixer), centrifuge (Thermoscientific Legend Micro 17), rotary evaporator (Heidolph Instrument Laborota 4000), freeze dryer (Labconco 040825210 R), mikropipet, microplate 96-well (IWAKI), plat silika (TLC Silica Gel 60 F₂₅₄ E-Merck), kromatografi kolom dan High Performance Liquid Chromatography (Shimadzu SPD-6A).

Koleksi dan Identifikasi Rumput Laut

Rumput laut cokelat diambil dari pantai Poktunggal Kabupaten Gunungkidul DIY pada bulan Maret 2014, kemudian dicuci bersih dan ditimbang berat basah. Selanjutnya, rumput laut tersebut dikeringanginkan dalam ruangan selama 4-5 hari dan diukur kadar airnya dengan metode SNI 01-2354.2-2006 (BSN, 2006). Rumput laut yang sudah kering dipotong 0,5-1 cm lalu dihaluskan, sedangkan beberapa rumput laut segar digunakan untuk identifikasi di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.

Ekstraksi Polifenol

Ekstraksi polifenol dilakukan menggunakan metode Kang dkk. (2010). Serbuk kering sebanyak 200g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya, dilakukan penambahan 1875 mL etanol 96% dengan pH 4 yang diatur menggunakan HCl 1 N. Kemudian dilakukan pengadukan selama 4 jam menggunakan pengaduk, lalu dilakukan pengendapan selama 48 jam. Larutan disaring dengan kertas Whatman nomor 42. Filtrat diambil lalu diuapkan dengan rotary evaporator, kemudian dikeringbekukan dan disimpan pada suhu -20°C sampai analisis berikutnya.

Ekstraksi Florotanin

Ekstrak florotanin kasar diperoleh dari ekstraksi menggunakan metode Al-Mola dkk. (2009). Serbuk kering *S. polycystum* sebanyak 120 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah 360 mL metanol lalu diaduk selama 2 jam kemudian didiamkan selama 48 jam. Berikutnya, sampel disentrifugasi (2500 rpm, 10 menit) kemudian supernatan diambil dan diuapkan dengan rotary evaporator. Setelah itu, residunya ditambah 360 mL metanol, 720 mL kloroform, dan 270 mL akuabides. Larutan tersebut kemudian didiamkan pada suhu ruang selama ± 2 jam, kemudian setelah terbentuk lapisan lipid dan non-lipid, lapisan non-lipid yang berada di atas diambil menggunakan corong pisah, kemudian ditambahkan 450 mL etil asetat lalu didiamkan selama 24 jam kemudian lapisan atas (non-lipid) diambil dengan corong pisah dan diuapkan dengan rotary evaporator, lalu dikeringbekukan.

Analisis Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik dianalisis menggunakan metode Kang dkk. (2010). Kurva standar dibuat dengan larutan asam galat yang dibuat seri pengenceran konsentrasi 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak polifenol kasar sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 1 mL etanol. Masing-masing konsentrasi larutan standar dan ekstrak polifenol kasar diambil 10 μl lalu dimasukkan ke dalam microplate 96-well. Selanjutnya, ke dalam microplate 96-well ditambahkan 50 μl reagen Folin Ciocalteu kemudian diinkubasi selama 5 menit. Berikutnya, ditambahkan 40 μl Na_2CO_3 7,5% lalu diinkubasi selama 2 jam di ruang gelap dengan suhu ruang. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 750 nm. Kurva standar dibuat dengan memplotkan konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) versus absorbansi (nm). Persamaan regresi dari kurva standar adalah $y=ax+b$, $R^2=c$, dimana x merupakan konsentrasi dan y adalah absorbansi. Total fenol dinyatakan dalam mg Gallic Acid Equivalents (GAE) per g ekstrak kering.

Analisis Kandungan Total Florotanin

Kandungan total florotanin dianalisis menggunakan metode Koivikko dkk. (2005). Kurva standar dibuat dengan floroglusinol yang dibuat seri pengenceran 6,25, 12,5, 25, 50, dan 100 µg/mL. Ekstrak florotanin kasar sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 1 mL metanol. Masing-masing larutan standar dan ekstrak florotanin kasar diambil sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* dan 2 mL larutan Na₂CO₃ 20% ke dalam tabung reaksi. Inkubasi dilakukan selama 45 menit di ruang gelap pada suhu ruang. Selanjutnya, larutan disentrifugasi (3000 rpm, 10 menit) kemudian supernatan diambil dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 730 nm. Kurva standar dibuat dengan memplotkan konsentrasi (µg/mL) versus absorbansi (nm). Persamaan regresi dari kurva standar berupa $y=ax+b$, $R^2=c$, dimana x adalah konsentrasi dan y adalah absorbansi. Total florotanin dinyatakan dalam mg *Phloro Glucinol Equivalents* (PGE) per g ekstrak kering.

Purifikasi Ekstrak Polifenol dan Florotanin

Purifikasi ekstrak kasar polifenol dan ekstrak kasar florotanin mengacu pada penelitian Pratiwi (2013) menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam berupa silika gel dan fase gerak campuran etil asetat dan metanol. Masing-masing ekstrak kering beku sebanyak 1,5 g dicampur dengan beberapa tetes metanol hingga menjadi larutan pekat. Ekstrak tersebut kemudian diletakkan di atas fase diam (silika gel), lalu fase gerak dialirkan. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat dan metanol secara gradien dengan komposisi 20:0; 15:5; 10:10; 5:15; dan 0:20. Keran kolom dibuka dengan kecepatan 40 tetes per menit. Fase gerak harus ditambahkan terus-menerus secara perlahan agar fase diam tetap basah dan terjaga kerapatannya. Hasil elusi ditampung pada botol-botol vial lalu dikeringkan dengan gas nitrogen. Dari purifikasi ini diperoleh polifenol dan florotanin sebagai bahan dalam analisis menggunakan HPLC.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH. Uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dilakukan dengan metode Zubia dkk. (2009). Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/mL. Sampel sebanyak 22 µL dimasukkan ke dalam *microplate* 96-well, kemudian ditambah 200 µL larutan DPPH (25 mg/L). Selanjutnya, larutan tersebut diinkubasi selama 2 jam di ruang gelap. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 515 nm menggunakan elisa reader. Blanko yang digunakan adalah etanol, sedangkan kontrol yang digunakan adalah asam askorbat. Nilai aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas penangkapan radikal bebas (\%)} = \frac{(Ab)-(As)}{(Ab)} \times 100 \quad (1)$$

Dimana Ab = absorbansi blanko dan As = absorbansi sampel

Kemampuan Mengikat Ion Fe²⁺

Uji aktivitas pengikatan logam dilakukan dengan mengacu penelitian Budhianty dkk. (2012) dengan cara mencampurkan 1 mL ekstrak dengan 0,05 mL FeCl₂ 2 mM, 0,2 mL *ferrozine* 5 mM, dan 2,75 akuabides. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 10 menit di ruang gelap. Absorbansi dibaca pada gelombang 562 nm. EDTA digunakan sebagai standar dan ekstrak yang diganti akuabides digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan FeCl₂ yang diganti akuabides digunakan sebagai blanko. Besarnya aktivitas pengikatan logam (FIC) dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{FIC} = \frac{(1 - (\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi blanko}))}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \% \quad (2)$$

Analisis Senyawa Polifenol dan Florotanin

Analisis senyawa polifenol dan florotanin hasil purifikasi menggunakan kromatografi kolom dilakukan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Pengujian HPLC dilakukan berdasarkan metode Shibata dkk. (2004) menggunakan kolom C-18 (LC 6-Shimadzu). Sampel dilarutkan dalam metanol sebanyak 20 µL diinjeksikan ke dalam HPLC dan dielusi menggunakan metanol dengan laju alir eluen 1 mL/menit selama 10 menit. Detektor UV diatur pada panjang gelombang 254 nm.

Analisis Data

Data yang diperoleh diplotkan dalam grafik sehingga diperoleh persamaan regresi linier. Berdasarkan persamaan regresi tersebut akan diperoleh nilai IC₅₀. Analisis statistika yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis *one-way of variance* (ANOVA) menggunakan program SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air

Hasil uji kadar air pada rumput laut cokelat diperoleh 6,79±0,12%. Menurut SNI 2690.1-2009 (BSN, 2009), rumput laut kering harus memiliki kadar air maksimal 30%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air rumput laut cokelat yang digunakan pada penelitian ini telah memenuhi Standar Nasional Indonesia.

Kandungan Total Fenolik

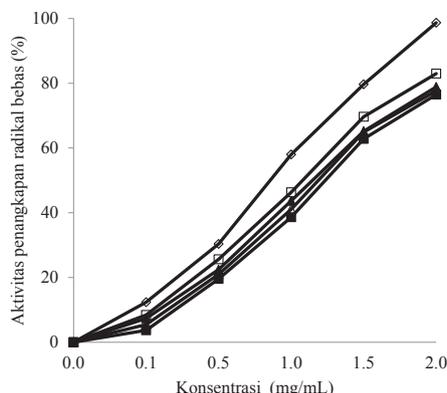
Hasil analisis kandungan total fenolik adalah $1,18 \pm 0,67$ mg GAE/g ekstrak kering. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Zhang dkk. (2007) terhadap kandungan total fenolik *Sargassum horneri* sebesar $0,41 \pm 0,01$ mg GAE/g ekstrak kering dan *Sargassum thunbergii* sebesar $0,29 \pm 0,01$ mg GAE/g ekstrak kering. Namun, kandungan total fenolik tersebut lebih rendah dari *Sargassum marginatum* yang ditunjukkan oleh Tierney dkk. (2010), yaitu sebesar 11 mg GAE/g ekstrak. Tinggi rendahnya kandungan total fenolik dapat dipengaruhi beberapa faktor, yaitu jenis rumput laut, umur, tempat pengambilan, iklim, dan suhu (Djapiala dkk., 2011).

Kandungan Total Florotanin

Hasil analisis kandungan total florotanin adalah $0,61 \pm 0,27$ mg PGE/g ekstrak. Kadar florotanin tersebut jauh lebih rendah dibandingkan dengan *Sargassum* sp. yang diperoleh dari perairan Thailand yaitu sebesar $327,88 \pm 301$ mg TAE/g ekstrak kering (Yangthong dkk., 2009) dan lebih rendah dari *Sargassum echinocarpum* yang diperoleh dari perairan Jawa Timur yaitu sebesar $6,75 \pm 0,21$ mg floroglusinol/g ekstrak (Firdaus, 2011). Tinggi rendahnya kadar florotanin dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti musim, kadar radiasi, ketersediaan nutrisi, dan kepadatan herbivora (Suparmi dan Sahri, 2009).

Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH semakin meningkat. Persentase penangkapan radikal bebas DPPH tertinggi terdapat pada standar asam askorbat diikuti florotanin, ekstrak florotanin, polifenol, ekstrak polifenol. Septiana dan Ari (2013)



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak *S. polycystum* (■ekstrak polifenol, ▲ekstrak florotanin, △polifenol, □florotanin) dan ◇asam askorbat.

menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diuji maka aktivitas penangkapan radikal bebas juga semakin meningkat.

Tabel 1. Nilai IC_{50} aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak *S. polycystum*

Nama sampel	IC_{50} (mg/mL)
Asam askorbat	$0,92 \pm 0,01^a$
Ekstrak polifenol	$1,27 \pm 0,01^e$
Ekstrak florotanin	$1,20 \pm 0,01^c$
Polifenol	$1,23 \pm 0,01^d$
Florotanin	$1,12 \pm 0,02^b$

Nilai yang tertera berupa rerata \pm SD IC_{50} (n=3); notasi huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($\alpha=0,05$)

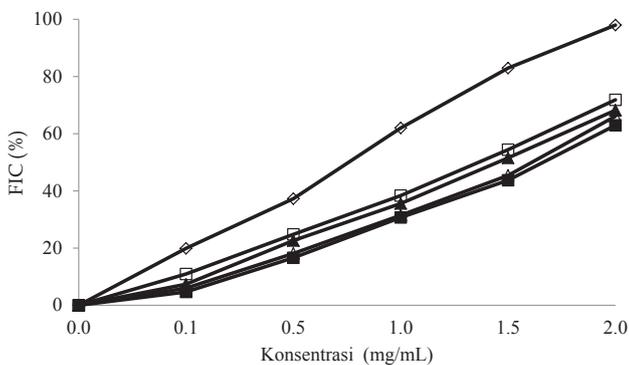
Nilai IC_{50} aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dari kelima sampel uji dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan nilai IC_{50} dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan terbesar terdapat pada asam askorbat, kemudian diikuti florotanin, ekstrak florotanin, polifenol, dan ekstrak polifenol. Nilai IC_{50} asam askorbat berbeda nyata dari semua ekstrak dan nilai IC_{50} asam askorbat tersebut lebih besar dibandingkan dengan penelitian Zubia dkk. (2009). Apabila dibandingkan dengan penelitian Hwang dkk. (2010) dan Boonchum dkk. (2011) yang menunjukkan nilai IC_{50} *S. hemiphyllum* dan *S. binderi* sebesar 1,58 mg/mL dan 45,047 mg/mL, nilai IC_{50} ekstrak polifenol masih lebih baik yaitu sebesar $1,27 \pm 0,01$ mg/mL. Yangthong dkk. (2009) menyebutkan bahwa *Sargassum* sp. yang kandungan total fenoliknya paling tinggi memiliki IC_{50} paling rendah. Nilai IC_{50} ekstrak polifenol lebih tinggi apabila dibandingkan dengan penelitian lain dapat disebabkan oleh kandungan fenol yang lebih tinggi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *S. polycystum* memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat (Blois, 2005).

Polifenol merupakan senyawa yang dihasilkan oleh rumput laut yang digunakan untuk melindungi diri dari sinar matahari (Shibata dkk., 2004). Menurut Firdaus (2011), fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksi dan berkemampuan mendonorkan hidrogennya sehingga terstabilkan oleh resonansi yang terdapat pada struktur fenolik, sehingga senyawa ini dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kadar total fenolik berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan sehingga semakin tinggi kadar fenolik maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Aktivitas antioksidan yang tinggi dapat ditunjukkan oleh nilai IC_{50} yang rendah.

Aktivitas Pengikatan Logam (FIC)

Gambar 2 menunjukkan persentase aktivitas pengikatan logam oleh ekstrak rumput laut cokelat. Semakin tinggi

konsentrasi sampel yang diuji, aktivitas pengikatan logam juga semakin meningkat. Persentase pengikatan logam tertinggi terdapat pada EDTA sebagai standar diikuti florotanin, ekstrak florotanin, polifenol, dan ekstrak polifenol. Nilai IC_{50} dari uji aktivitas pengikatan logam dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai IC_{50} dari kelima sampel uji mulai dari yang terkecil hingga terbesar berturut-turut adalah florotanin, ekstrak florotanin, polifenol, dan ekstrak polifenol. Berdasarkan nilai IC_{50} , dapat diketahui bahwa florotanin memiliki kemampuan terbaik setelah EDTA sebagai standar, sedangkan ekstrak polifenol memiliki kemampuan paling rendah. Hwang dkk. (2010) menunjukkan nilai IC_{50} *S. hemiphyllum* lebih tinggi dibanding rumput laut cokelat pada penelitian ini. Secara umum, ekstrak florotanin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak polifenol, baik pada aktivitas penangkapan radikal DPPH maupun aktivitas pengikatan ion logam. Aulanni'am dkk. (2011) menyebutkan bahwa florotanin bertindak sebagai antioksidan karena florotanin memiliki sistem aromatik dan gugus hidroksil (-OH) lebih dari satu dan tergolong polifenol.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas pengikatan logam (FIC) oleh ekstrak *S. polycystum* (■ ekstrak polifenol, ▲ ekstrak florotanin, Δ polifenol, □ florotanin) dan ◇ EDTA

Tabel 2. Nilai IC_{50} aktivitas pengikatan logam (FIC) ekstrak *S. Polycystum*

Nama sampel	IC_{50} (mg/mL)
EDTA	0,85±0,02 ^a
Ekstrak polifenol	1,63±0,02 ^e
Ekstrak florotanin	1,47±0,10 ^c
Polifenol	1,55±0,02 ^d
Florotanin	1,34±0,01 ^b

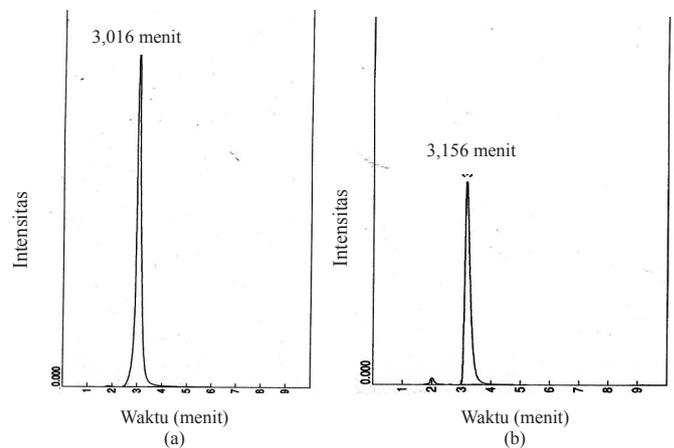
Nilai yang tertera berupa rerata±SD IC_{50} (n=3); notasi huruf berbeda menunjukkan ada beda nyata ($\alpha=0,05$)

Radikal bebas (R) yang bereaksi dengan atom hidrogen florotanin membentuk radikal fenoksil florotanin (FrO). Radikal fenoksil florotanin dapat diserang kembali oleh

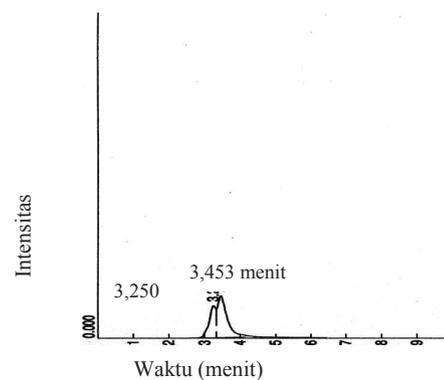
radikal sehingga membentuk radikal fenoksil kedua. Radikal fenoksil florotanin memiliki ikatan rangkap sehingga radikal fenoksil florotanin dapat terdelokalisasi elektronnya. Hasil akhir dari delokalisasi tersebut akan membentuk produk tidak reaktif yang dapat menetralkan efek radikal bebas (Aulanni'am dkk., 2011). Potensi senyawa polifenol dan florotanin pada rumput laut cokelat sebagai antioksidan dapat diamati dari kecenderungan senyawa tersebut mendonorkan hidrogen dan mengikat logam sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas (Rice-Evans dkk., 1997).

Analisis Senyawa Polifenol dan Florotanin

Kromatogram senyawa standar asam galat dan floroglusinol dapat dilihat pada Gambar 3 dan polifenol hasil purifikasi dari ekstrak polifenol rumput laut cokelat terdapat pada Gambar 4. Gambar 3(a) menunjukkan bahwa asam galat menghasilkan puncak tunggal dengan waktu retensi 3,016, sedangkan Gambar 3(b) menunjukkan bahwa floroglusinol menghasilkan puncak tunggal dengan waktu retensi 3,156. Gambar 4 menunjukkan bahwa polifenol menghasilkan dua puncak dengan waktu retensi 3,250 menit dan 3,453

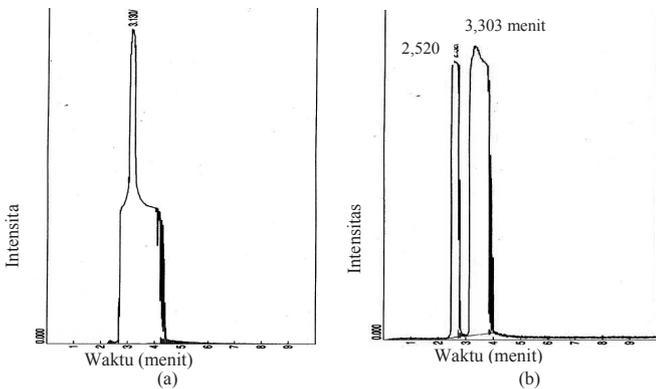


Gambar 3. Kromatogram senyawa standar asam galat (a) dan floroglusinol (b)



Gambar 4. Kromatogram polifenol rumput laut cokelat

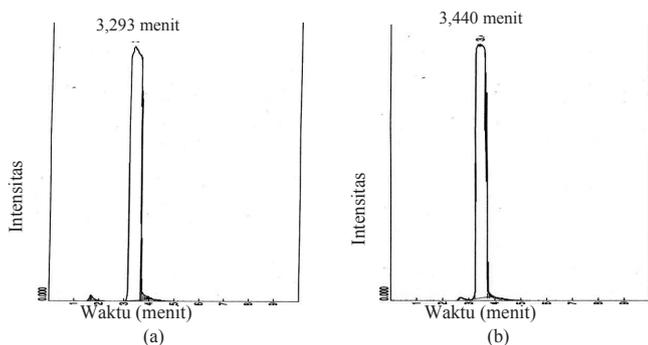
menit. Waktu retensi tersebut belum bisa digunakan untuk memastikan adanya kandungan total fenolik yang sama antara sampel dengan standar, baik dengan senyawa asam galat maupun floroglusinol. Oleh karena itu, dilakukan HPLC dengan teknik *spiking* dengan asam galat dan floroglusinol. Kromatogram polifenol yang di-*spiking* dengan asam galat dan floroglusinol dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kromatogram polifenol rumput laut cokelat yang di-*spiking* dengan asam galat (a) dan floroglusinol (b)

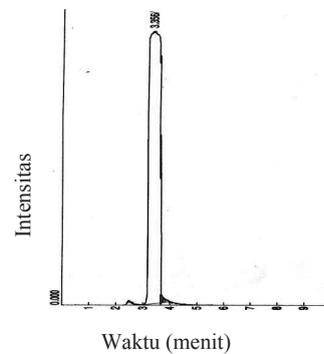
Hasil HPLC *spiking* senyawa polifenol dan asam galat menghasilkan puncak dengan waktu retensi 3,130 menit, sedangkan *spiking* polifenol hasil kolom dan floroglusinol menghasilkan dua puncak dengan waktu retensi 2,550 menit dan 3,303 menit. Asam galat dan floroglusinol memiliki luas area 100%. Hasil HPLC polifenol yang di-*spiking* dengan asam galat menunjukkan luas area 100%, sedangkan polifenol yang di-*spiking* dengan floroglusinol memiliki luas area 27,87% dan 72,13% pada dua puncak yang muncul. Floroglusinol merupakan salah satu florotanin yang ditemukan pada rumput laut cokelat *Ecklonia cava* (Kim dkk., 2004). Kromatogram senyawa standar floroglusinol dan florotanin dari rumput laut cokelat dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6(a) dan 6(b) menunjukkan bahwa floroglusinol dan florotanin menghasilkan puncak tunggal tetapi dengan waktu retensi yang berbeda. Floroglusinol menunjukkan



Gambar 6. Kromatogram senyawa standar floroglusinol (a) dan florotanin dari rumput laut cokelat (b)

waktu retensi 3,293 menit, sedangkan florotanin menunjukkan waktu retensi 3,440 menit. Hasil HPLC *spiking* florotanin dan floroglusinol pada Gambar 7 menghasilkan puncak tunggal dengan waktu retensi 3,356 menit.



Gambar 7. Kromatogram florotanin dari rumput laut cokelat yang di-*spiking* dengan floroglusinol

Suatu senyawa memiliki waktu retensi tersendiri, sehingga apabila memiliki waktu retensi yang berbeda dapat sebagai indikasi bahwa senyawa tersebut juga berbeda. Hasil analisis HPLC dapat diketahui dengan cara membandingkan waktu retensi senyawa yang diekstrak dengan senyawa murninya atau standarnya (Shibata dkk., 2004). Penelitian ini menunjukkan bahwa ketika ekstrak polifenol hasil kolom di-*spiking* dengan senyawa standar asam galat, maka terbentuk puncak tunggal. Sementara itu, ketika ekstrak polifenol hasil kolom di-*spiking* dengan senyawa standar floroglusinol maka membentuk dua puncak. Hal ini menunjukkan senyawa polifenol dan asam galat memiliki waktu retensi yang sama ketika dicampur. Puncak tunggal yang terbentuk pada *spiking* ekstrak florotanin dengan floroglusinol juga menunjukkan waktu retensi yang sama antara kedua senyawa tersebut, oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa ekstrak rumput laut cokelat memiliki kandungan senyawa yang hampir sama dengan floroglusinol yang merupakan monomer dari florotanin. Kim dkk. (2004) telah menemukan floroglusinol yang merupakan salah satu florotanin pada rumput laut cokelat *Ecklonia cava*.

KESIMPULAN

Ekstrak *S. polycystum* yang diperoleh dari pantai Poktunggal Gunungkidul memiliki senyawa fenolik sebesar $1,18 \pm 0,67$ mg GAE/g ekstrak kering dan florotanin sebanyak $0,61 \pm 0,27$ mg PGE/g ekstrak kering. Senyawa florotanin hasil purifikasi dari ekstrak florotanin rumput laut cokelat menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dibanding senyawa dalam ekstrak polifenol tetapi lebih rendah daripada standar (asam askorbat dan EDTA). Hasil analisis HPLC

menunjukkan bahwa dalam ekstrak rumput laut coklat tersebut terdapat senyawa fenolik yang relatif seperti senyawa flogoglusinol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana berkat dukungan dana dari Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia melalui skim Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang diselenggarakan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada Tahun 2014 dengan Nomor: LPPM-UGM/430/LIT/2014, tanggal 3 Maret 2014.

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**: 304-308.
- Anonim (2013). Penderita kanker global capai 14 Juta. http://www.bbc.co.uk/indonesia/majalah/2013/12/131212_ipitek_kanker_global. [25 Oktober 2014].
- Aulannia'am, Roosdiana, A. dan Rahmah, N.L. (2011). Potensi fraksi etanol dan etil asetat rumput laut coklat (*Sargassum duplicatum* Bory) terhadap penurunan kadar malondialdehid dan perbaikan gambaran histologis jejunum usus halus tikus IBD (*Inflammatory Bowel Disease*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan* **4**: 57-64.
- BSN (Badan Standarisasi Nasional) (2006). *Cara Uji Kimia- Bagian 2: Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan*. SNI-01-2354.2-2006. Standar Nasional Indonesia (SNI).
- BSN (Badan Standarisasi Nasional) (2009). *Minuman Susu Fermentasi Berperisa*. SNI-7552-2009. Standar Nasional Indonesia (SNI).
- Blois, M.S. (2005). Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* **181**: 1191-1200.
- Boonchum, W., Peerapornpisal, Y., Kanjanapoth, D., Pekkoh, J., Pumas, C., Jamjai, U., Amornlerdpison, D., Noiraksar, T. dan Vacharapiyasophon, P. (2011). Antioxidant activity of some seaweed from the Gulf of Thailand. *International Journal of Agriculture and Biology* **13**: 95-99.
- Budhiyanti, S.A., Raharjo, S., Marseno, D.W. dan Lelana, I.Y.B. (2012). Antioxidant activity of brown algae *Sargassum species* extract from the Coastline of Java Island. *American Journal of Agriculture and Biological Sciences* **7**: 337-346.
- Djapiala, F.Y., Lita, Montolalu, A.D.Y. dan Mentang, F. (2011). Kandungan total fenol dalam rumput laut *Caulerpa racemosa* yang berpotensi sebagai antioksidan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan* **1**: 5-9.
- Firdaus, M. (2011). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Coklat (Sargassum echinocarpum) sebagai Pencegah Disfungsi Sel Endotelium Aorta Tikus Diabetes Melitus*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gamal, E. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceuthical Journal* **18**: 1-25.
- Halliwell, B. (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of Neurochemistry* **59**: 1609-1623.
- Hwang, P., Chwen-Herg, W., Shu-Yun, G., Shih-Yung, C. dan Deng-Fwu, H. (2010). Antioxidant and immune-stimulating activities of hot-water extract from seaweed *Sargassum hemiphyllum*. *Journal of Marine Science and Technology* **18**: 41-46.
- Kang, C., Yeung, B.J., Hyunkyung, L., Mijin, C., Euntae, S., Jonghyun, M., Cholwoo, P., Soohee, C., Eun-Sun, J., Jeong-Sook, H., Soon, B.K., Jong-Shu, K. dan Euikyung, K. (2010). Brown alga *Ecklonia cava* attenuates type 1 diabetes by activating AMPK and AKT signaling pathways. *Food and Chemical Toxicology* **48**: 509-516.
- Kim, J.A., Lee, J.M., Shin, D.B. dan Lee, N.H. (2004). The antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of phloro-tannins in *Ecklonia cava*. *Food Science and Biotechnology* **13**: 476-480.
- Koivikko, R., Loponen, J., Honkanen T. dan Jormalainen, V. (2005). Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology* **31**: 195-212.
- Pratiwi, T. (2013). *Uji Aktivitas Ekstrak Metanolik Sargassum hystrix dan Euchema denticulum dalam Menghambat α -Amilase dan α -Glukosidase*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. dan Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend Planta Sciences Review* **2**: 152-159.

- Rohmatussolihat (2009). Antioksidan, penyelamat sel-sel tubuh manusia. *BioTrends* **4**: 5-9.
- Rosalina (2013). Ancaman Diabetes di Indonesia Meningkatkan. <http://www.tempoco/read/news/2013/09/05/060510562/Ancaman-Diabetes-di-Indonesia-Meningkat>. [20 Januari 2015].
- Septiana, A.T. dan Ari, A. (2013).Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian* **14**: 79-86.
- Shibata, T., Kawaguchi, S., Hama, Y., Inagaki, M., Yamaguchi, K. dan Nakamura, T. (2004). Local and chemical distribution of phlorotannins in brown algae. *Journal of Applied Phycology* **16**: 291-296.
- Sunarni, T. (2005). Aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas beberapa kecambah dari biji tanaman familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* **2**: 53-61.
- Suparmi dan Sahri, A. (2009). *Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan*. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Tamat, S.R., Wikanta, T. dan Maulina L.S. (2007). Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* **5**: 31-36.
- Tierney, M.S., Croft, A.K. dan Hayes, M. (2010). A review of antihypertensive and antioxidant activities in macroalgae. *Botanica Marina* **53**: 387-408.
- Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, M. dan Phromkunthong, W. (2009). Antioxidant activities of four edible seaweeds from the Southern Coast of Thailand. *Plant Foods Human Nutrition* **64**: 218-223.
- Ye, H., Chunhong, Z., Yi, S., Xin, Z., Jun, L., Qiuhui H. dan Xiaoxiong, Z. (2009). Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. *European Food Research Technology* **230**: 101-109.
- Zhang, W., Xiao-Juan, D., Hai-Lan, H., Yi, Z. dan Bin-Gui, W. (2007). Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao Coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from *Symphyocladia latiuscula* (Rhodomelaceae). *Journal of Applied Phycology* **19**: 97-108.
- Zubia, M., Fabre, M.S., Kerjean, V., Lann, K.L., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M. dan Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany Coasts. *Food Chemistry* **116**: 693-701.