

Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Alga Merah *Euचेuma spinosum*

Bina Lohita Sari¹, Nurulia Susanti¹, Sutanto²

¹Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan

²Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Pakuan

Email : binalohitasari@yahoo.co.id

Abstrak

Alga merah (*Euचेuma spinosum*) dari Perairan Bangka Selatan mengandung pigmen merah yang bersifat sebagai antioksidan. Antioksidan alami dari alga diketahui berperan penting dalam melawan berbagai penyakit dan proses penuaan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan fraksi etanol alga *Euचेuma spinosum* dari Perairan Bangka Selatan. Alga dalam keadaan segar (AS), alga kering (AK) dan alga olahan (AO) ditentukan aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Ekstraksi menggunakan etanol 70% dalam suasana asam selama 24 jam dan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak kering difraksinasi dengan etanol-*n*-heksana (2:3) dan fraksi etanol dikeringkan. Skrining fitokimia menunjukkan semua fraksi mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Aktivitas antioksidan paling kuat ditemukan pada fraksi etanol AO dengan nilai IC₅₀ 333,66 µg/mL, AS 418,32 µg/mL dan AK 472,14 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol alga olahan dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami.

Abstract

The red alga, *Euचेuma spinosum* from South Bangka Waters was shown to contain antioxidant activity. Natural antioxidants from algae are known to play an important role against various diseases and aging processes. The study objective was to investigate phytochemical screenings and antioxidant activity of ethanol fractions *Euचेuma spinosum* from south Bangka waters. Antioxidant activities of fresh algae (FA), dry algae (DA), and algae product (AP) were determined with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay. Extraction was conducted using 70% ethanol in acidic environment for 24 hours. Then, the extract was evaporated using rotary evaporator. Dry extract was fractionated with ethanol - n - hexane (2 : 3) and the ethanol fraction was dried. The phytochemical screenings showed that all fractions had flavonoid, alkaloid and triterpenoid compounds. The most potent antioxidant activity was found in the ethanol fraction of AP with IC₅₀ value 333.66 µg/mL, FA 418.32 µg/mL and DA 472.14 µg/mL. Based on the results, it can be concluded that the ethanol fraction of algae product can be used as a antioxidant source.

Keywords : Phytochemical screening, antioxidant activity, *Euचेuma spinosum*

PENDAHULUAN

Habitat alga laut di perairan dapat dipengaruhi oleh paparan sinar ultraviolet dan udara yang mengarah pada pembentukan radikal bebas. Senyawa yang terbentuk bersifat sangat reaktif dan dikenal dengan senyawa oksigen reaktif (SOR) atau *reactive oxygen species* (ROS) yang berbahaya. Pada alga yang sehat, kerusakan oksidatif dalam senyawa yang dikandungnya dapat dikurangi dengan kemampuannya melawan oksidasi, yang mengindikasikan keberadaan sistem pertahanan antioksidan yang melindungi sel (Matanjun *et al.*, 2008). Kerja antioksidan dengan menyumbangkan elektron, dapat menetralkan radikal bebas yang akan mengoksidasi molekul biologis yang menyebabkan kematian sel dan kerusakan jaringan (Ozben, 2007). Antioksidan alami dari alga berperan penting untuk mengobati berbagai penyakit seperti antiinflamasi, antibakteri, antijamur, sitotoksik, antimalarial, antiproliferatif, antikanker dan mencegah proses penuaan (Zubia *et al.*, 2007).

Berbagai metode digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan suatu ekstrak tanaman, makanan atau minuman antara lain ABTS dan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yang menggunakan prosedur spektrofotometri (Gulcin *et al.*, 2010). DPPH adalah suatu radikal bebas yang bereaksi dengan senyawa antioksidan dengan mendonorkan hidrogen. Metode penentuan aktivitas penangkal radikal bebas dengan metode DPPH dapat merubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning pucat (Krishnaiah *et al.*, 2011).

Beberapa alga laut yang mempunyai aktivitas antioksidan antara lain *Ahnfeltiopsis*, *Colpomenia*, *Gracilaria*, *Halymenia*, *Hydroclathrus*, *Laurencia*, *Padina*, *Polysiphonia*, dan *Turbinaria* (Cornish & Garbary, 2010). Di antara tiga spesies alga, Rhodophyta (alga merah) menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan untuk pengobatan di bidang kefarmasian (Smit, 2004). *Eucheuma* sp. dari spesies alga merah, dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus wistar jantan yang diberi dosis 4g/kgBB/hari, 8 g/kgBB/hari dan 12gr/kgBB/hari (Rosalina & Andrew, 2009).

Perairan Bangka Selatan merupakan bagian dari Selat Bangka yang berbatasan dengan Pulau Bangka di sebelah timur, Pulau Sumatera di sebelah barat dan Pulau Jawa di sebelah selatan. Informasi tentang kondisi terumbu karang di sana kondisinya sangat baik (Siringoringo *et al.*, 2006). Potensi alga laut *Eucheuma spinosum* dari Perairan Bangka Selatan belum dimanfaatkan secara optimal. Belum ada kajian ilmiah terkait dengan bahan alami, khususnya aktivitas antioksidan. Oleh karenanya, penelitian tentang potensi senyawa antioksidan rumput laut *Eucheuma spinosum* dari Perairan Bangka Selatan ini diarahkan pada eksplorasi kandungan senyawa dan aktivitas antioksidan sehingga dapat memberi kontribusi positif bagi pengembangan kefarmasian.

METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Maret

sampai Mei 2013 di Laboratorium Farmasi, Universitas Pakuan, Bogor. Alat-alat yang digunakan adalah penganalisa kelembaban (*Moisture balance AND MX-50[®]*), tanur, penguap berputar (*rotary evaporator Ika RV 10[®]*), mikroburet, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan-bahan yang diperlukan adalah rumput laut *Eucheuma spinosum* yang berasal dari Perairan Bangka Selatan, aquadest, vitamin C sebagai kontrol positif, HCl pekat, etanol, metanol p.a, n-heksana p.a, bahan-bahan untuk pengujian fitokimia, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), iodium (I₂) 0,1 N, arsen trioksida (As₂O₃), aquades, dan indikator kanji.

Determinasi tanaman

Dilakukan di Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

Pembuatan simplisia alga

Pembuatan simplisia alga *Eucheuma spinosum* segar dengan cara alga segar dipotong-potong dengan ukuran ± 1 cm. Alga kering dibuat dengan mengeringkan selama 5 hari dengan pemanasan di bawah sinar matahari langsung. Simplisia alga *Eucheuma spinosum* olahan dibuat dengan cara alga basah direndam menggunakan air selama 3 jam, tiap 15 menit air rendaman diganti dan alga digosok-gosok hingga berubah warna dari hijau menjadi putih.

Penetapan kadar air dan kadar abu simplisia

Simplisia segar alga ditentukan kadar air dan kadar abu dengan cara kerja dari Depkes, 2000.

Pembuatan fraksi alga

Dilakukan dengan cara masing-masing alga segar, kering dan olahan dipotong-potong dan diblender kemudian dimaserasi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 10 L. Rumput laut tersebut dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 75 bagian dari alga serta ditambahkan 7,5 ml HCl pekat dan dimaserasi selama 24 jam. Residu sampel dimaserasi ulang dengan 25 bagian sisa etanol 70% sampai 2 kali selama 24 jam dengan serta ditambahkan 2,5 ml HCl pekat. Filtrat yang terkumpul dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak kental dikeringkan dalam penangas air. Masing-masing ekstrak sebanyak 2 g dipartisi 3 kali dengan campuran 100 ml etanol-n-heksan (2:3), kemudian difraksinasi selama 15 menit. Fraksi etanol hasil partisi ditampung dan dikeringkan dengan *rotary evaporator* dan dihitung rendemen ekstrak kering.

Skrining fitokimia

Identifikasi kandungan kimia dalam ekstrak kering fraksi etanol alga basah, kering, dan olahan dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid (Depkes RI, 1979) dan tanin (Sangi *et al.*, 2008).

Analisis kadar asam askorbat alga kering *Eucheuma spinosum*

Menggunakan metode Iodimetri dengan sampel sebanyak 20 g. ditambahkan 2,5 ml H₂SO₄ 0,1 N. Dititrasi dengan larutan I₂ 0,1 N dan indikator kanji 3 tetes sampai warna biru stabil.

Uji aktivitas antioksidan alga kering dengan metode DPPH

Alga kering sebanyak 25 mg dilarutkan dengan metanol p.a sampai 25 ml (1000

µl/ml). Kemudian dibuat deret konsentrasi sampel masing-masing 100, 200, 400 dan 800 µl/mL. Sebagai kontrol positif yaitu vitamin C dengan konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 µl/mL. Ke dalam setiap tabung sampel dan kontrol positif ditambahkan 1 ml larutan DPPH 1 mMol, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga 5 ml, dan dihomogenkan dengan menggunakan sonikator. Larutan blanko, uji dan kontrol positif segera diinkubasi selama 30 menit kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 517 nm. Persen inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Hambatan aktivitas radikal bebas(\%)} = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab : Serapan larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dalam metanol

As : Serapan larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) setelah bereaksi dengan sampel



Gambar 1. Rumput laut *Eucheuma spinosum*
Keterangan: A. Segar, B. Kering, C. Olahan

Nilai IC₅₀ (*inhibition Concentration*) diperoleh dari perpotongan garis antara persen hambatan (sebagai sumbu y) dan konsentrasi (sebagai sumbu x), kemudian dimasukkan ke dalam persamaan $y = a + bx$. Di mana $y = 50$ dan nilai x menunjukkan IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi, penentuan kadar air dan kadar abu

Alga yang digunakan merupakan spesies *Eucheuma spinosum* (Linnaeus) J. Agardh. Alga olahan dicuci hingga berwarna putih untuk menghilangkan epifit, organisme laut dan batuan laut. Simplisia basah, kering dan olahan disajikan pada Gambar 1.

Kadar abu alga kering sebesar 13,66%. Kadar abu dalam alga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa-senyawa anorganik dan garam dalam air tempat tumbuh alga. Alga yang tumbuh di perairan mengandung kadar abu lebih rendah (8,8%) dibandingkan dengan alga yang tumbuh di laut (kurang lebih 22%). Kadar abu berupa total nitrogen, pada alga di perairan lebih tinggi dibandingkan

dengan di laut (Mišurcová, 2011). Nitrogen berhubungan dengan kandungan protein dan asam amino. Alga merah di perairan mengandung kadar abu antara 9,72 -20,53% dengan total nitrogen sebesar 7,82 -26,53%, kadar tersebut lebih sedikit dibanding dengan alga lainnya (Mišurcová *et al.*, 2010). Hasil rendemen dan kadar air fraksi etanol disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen dan kadar air alga *Eucheuma spinosum*

Simplisia	Rendemen (%)	Kadar Air (%)
Alga Segar	3,67	92,97
Alga Kering	12,44	11,57
Alga Olahan	2,81	93,12

Ekstraksi cair-cair dimaksudkan agar senyawa dapat larut dalam satu fase. Penggunaan etanol dalam ekstraksi cair-cair ini dikarenakan etanol merupakan pelarut polar dan tidak toksik dibandingkan dengan metanol, sedangkan penggunaan n-heksan karena n-heksan merupakan pelarut paling

non polar. Fraksi etanol ekstrak kering alga segar, kering dan olahan selanjutnya dikeringkan menggunakan *rotary evaporator*. Berdasarkan hasil partisi didapat ekstrak kering fraksi etanol alga segar 81,62%, alga kering 80,01% dan alga olahan 79,12%.



Gambar 2. Ekstrak etanol alga *Eucheuma spinosum*
Keterangan A. Segar, B. Kering, C. Olahan



Gambar 3. Fraksi etanol alga *Eucheuma spinosum*
Keterangan A. Segar, B. Kering, C. Olahan

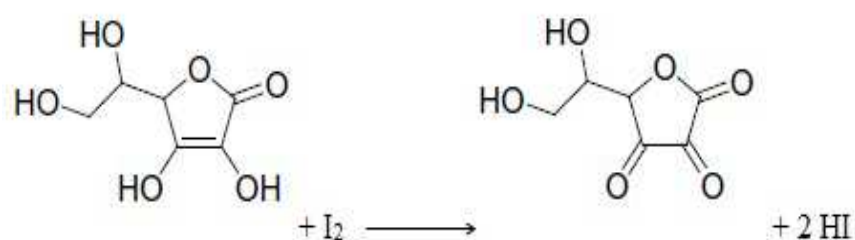
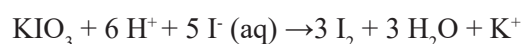
Skrining fitokimia

Skrining fitokimia menunjukkan semua ekstrak kering fraksi etanol mengandung senyawa triterpenoid, Alga mengandung asam amino, serat, asam lemak esensial, mineral, vitamin dan senyawa fenolik (Mišurcová, 2011). Polifenol dapat dibagi menjadi beberapa kelas yaitu asam fenolat, (asam hidroksibenzoat, asam hidroksisinamat), flavonoid (flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, flavanol, antosianin), isoflavonoid (isoflavon, kumestan), stilbena, lignan, dan polimer fenolat (proantosianidin-tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis) (Manach, 2004).

pada alga bermanfaat bagi kesehatan dalam bentuk keseluruhan senyawanya, bukan hanya komponen tunggalnya saja (Machu, *et al.* 2015).

Hasil analisis kadar vitamin C alga kering *Eucheuma spinosum*

Algakering mengandung 20,02 mg/100 g vitamin C. Kandungan vitamin C pada alga golongan Rhodophyceae (3,2-587,2 µg/g) lebih rendah dibandingkan dengan golongan Chlorophyceae (89,6-995,2 µg/g). Kandungan vitamin C pada alga kering dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan vitamin C yang diperlukan tubuh (10 mg per hari), biasanya diperoleh dari buah-buahan dan sayuran (Rahman *et al.*, 2005).



Gambar 4. Reaksi asam askorbat dengan I₂
(Sumber : Soebito, 1991)

Metode analisis yang digunakan adalah titrasi redoks Iodimetri di mana iodium direduksi membentuk ion iodida (I⁻). Kedua reaksi terjadi dalam suasana asam yaitu H₂SO₄.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kering Fraksi Etanol Alga *Eucheuma spinosum*

Aktivitas antioksidan paling kuat ditemukan pada ekstrak kering fraksi

etanol alga olahan dengan nilai IC₅₀ 333,66 µg/mL, alga segar 418,32 µg/mL dan alga kering 472,14 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol alga olahan dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Pelarut yang digunakan yaitu etanol merupakan pelarut polar yang sesuai untuk senyawa antioksidan. Tetapi alga *Eucheuma spinosum* pada penelitian ini mempunyai aktivitas penangkal radikal bebas yang lebih rendah bila dibandingkan

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak kering fraksi etanol alga *Eucheuma spinosum*

Ekstrak kering	Senyawa				
	Steroid	Triterpenoid	Alkaloid	Flavonoid	Tanin
Alga Segar	-	+	+	+	-
Alga Kering	-	+	+	+	-
Alga Olahan	-	+	+	+	-

Keterangan : - : Negatif , + : Positif

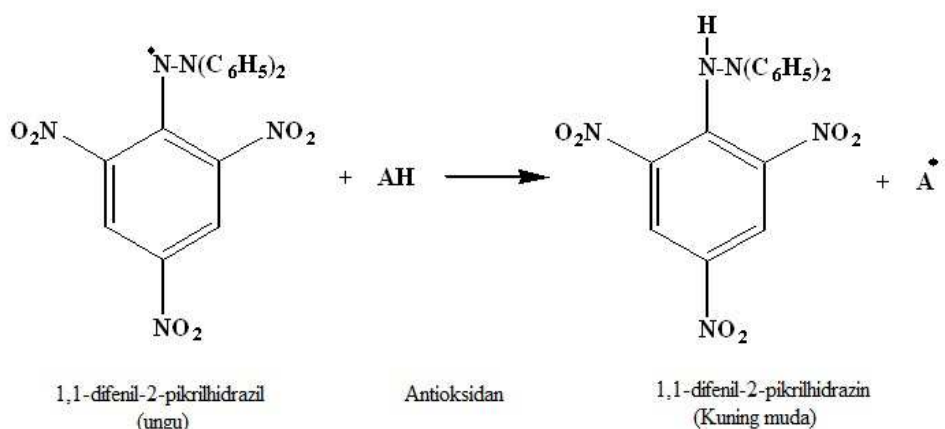
dengan antioksidan sintetik yaitu vitamin C (Bhuvaneswari *et al.*, 2013).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil, bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen. Metode ini didasarkan pada kemampuan menangkal dari DPPH atau melalui kemampuan antioksidan dengan merubah warna dari ungu ke kuning (Krishnaiah, *et al.* 2011). Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH berhubungan dengan kandungan polifenol (Liu *et al.*, 2009). Polifenol seperti tanin

dan flavonoid yang mempunyai kemampuan sebagai astringensia dan pengikat protein, bermanfaat sebagai antioksidan alami yang akan menangkal radikal bebas yang dikeluarkan oleh hasil metabolisme lemak dalam tubuh (Enujiugha, 2010).

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kering fraksi etanol alga *Eucheuma spinosum*

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	12,38
Alga Segar	418,32
Alga Kering	472,14
Alga Olahan	333,66



Gambar 5. Reaksi Senyawa Antioksidan dengan DPPH (Sumber: Haryadi, 2010)

KESIMPULAN

Ekstrak kering fraksi etanol mengandung triterpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Kandungan flavonoid pada fraksi etanol alga segar, kering dan olahan menunjukkan adanya hubungan dalam kemampuannya sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan paling kuat pada fraksi etanol alga olahan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian perlu dilengkapi dengan penetapan kadar polifenol total dan flavonoid total pada alga *Eucheuma spinosum* sehingga dapat diketahui hubungan antara kadar senyawa yang terdapat dalam alga dengan aktivitas antioksidan.

DAFTAR ACUAN

- Bhuvaneswari, S., Murugesan, S., Subha, T. S., Dhamotharan R. and Shettu, N. (2013). *In vitro* antioxidant activity of marine red algae *Chondrococcus hornemanni* and *Spyridia fusiformis*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(3), 82-85
- Cornish, M.L. and Garbary, D.J. (2010). Antioxidants from macroalgae: Potential applications in human health and nutrition. *Algae*, 25, 155–171
- Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 3-30
- Enujiugh, V.N. (2010). The antioxidant and free radical- scavenging capacity of phenolics from african locust bean seeds (*Parkia biglobosa*). *Advances in Food Sciences*. 32 (2), 88-93
- Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arab Journal Chemistry*, 3, 43–53
- Haryadi, D. (2010). *Korelasi rendemen, kadar abu, dan kapasitas antioksidan dengan profil spektrogram FTIR ekstrak pegagan (Centella asiatica (L.) Urban)*. Bogor: Universitas Pakuan
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species *Food Bioprod. Process*, 89, 217–233
- Liu, L., Sun, Y., Laura, T., Liang, X., Ye, H., Zeng, X. (2009). Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. Tseng. *Food Chemistry*, 112, 35–41
- Machu, L., Ladislava, M., Jarmila, V.A., Jana, O., Jiri, M., Jiri, S. and Tunde, J. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*, 20, 1118-1133
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747
- Matanjan, P.; Mohamed, S.; Mustapha, N.M.; Muhammad, K.; Ming, C.H. (2008). Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *Journal of Applied Phycology*, 20, 367–373

- Mišurcová, L., Stanislav K., Bořivoj, K. and Jan, V. C. (2010). Nitrogen content, dietary fiber, and digestibility. *Journal of Food Science*, 28(1), 27–35
- Mišurcová, L. 2011. Chemical composition of seaweeds. In *Handbook of marine macroalgae: Biotechnology and applied phycology*; Kim, S.-K., Ed.; John Wiley & Sons: Chichester, UK. 173–192
- Mussa, S.B., and Intisar, E., S. (2015). Analysis of Vitamin C (ascorbic acid) Contents packed fruit juice by UV-spectrophotometry and Redox Titration Methods. *IOSR Journal of Applied Physics*, 6(5), 46-52
- Ozben, T. (2007). Oxidative stress and apoptosis: Impact on cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 2181–2196
- Rahman M.M., Khan M.M., Murad A.T.M. and S.A. Begum. (2005). Determination of vitamin C content in various fruits and vegetables by UV-spectrophotometric method at Sylhet area, Bangaladish. *Journal of Environmental Sciences*, 11, 190 – 193
- Rosalina, R. dan Andrew, J. (2009). Efek rumput laut *Eucheuma sp* terhadap kadar glukosa darah dan jumlah monosit pada tikus wistar yang diinduksi aloksan. *Laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah*. Semarang: Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Sangi, M. M., R. J., Runtuwene, H. E. I., Simbala, & V. M. A., Makang. (2008). Phytochemical analysis of plant medicine in North Minahasa regency. *Progress chemistry*, 1, 47-53
- Sarojini, Y. and Nittala, S.S. (1999). Vitamin C content of some macroalgae of Visakhapatnam, east coast of India. *Indian Journal of Marine Science*, 28, 408-412
- Siringoringo, R.M., Giyanto, A. Budiyanto, dan H. Sugiarto. (2006). Komposisi dan persentase tutupan karang batu di perairan Lepar-Pongok, Bangka Selatan. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 41,71–84
- Smit, A.J. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *J. Appl. Phycol.*, 16, 245–262.
- Zubia, M., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 19, 449–458