

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TABIR SURYA FRAKSI DARI EKSTRAK LAMUN (*Syringodium Isoetifolium*)

Marvin E. Wala¹⁾, Edy Suryanto¹⁾, Defny S. Wewengkang¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

ABSTRACT

the research aims to determine antioxidant and sunscreen activities of the fraction of lamun extract. Lamun was extracted for 2 hours used ethanol 80% and was fractination used n-hexane, ethyl acetate, n-butanol, aquades, and ethanol. The total fenolic compounds analisis, flavonoid, determination of free radical scavenger activity used DPPH method and sunblock activity was done by determine the SPF used in vitro test. The results showed that the lamun fraction with solvents n-hexane, n-butanol, ethanol, ethyl acetate contain fenolic and flavonoid compounds. Lamun fractinationed by ethyl acetate has the highest antioxidant activity value to wit 81,23%, fractination by n-hexane is 23,3%, ethanol extract is 18,12%, fractination by n-butanol is 8,37%, fractination by etanol is 5,86%, and fractination by aquades is 3,81%. The highest calculation results of SPF value contained in partextract by ethyl acetate to wit 14,84%. The results conclude that the lamun fractination by ethyl acetate has fenolic and flavonoid compounds and has the ability as antioxidant and sun block.

key words: seagrass, fractination, phenolic, flavonoid, antioxidant, sunscreen

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini yaitu menentukan aktivitas antioksidan dan tabir surya dari lamun (*syringodium isoetifolium*). lamun diekstraksi selama 2 jam menggunakan pelarut etanol 80% dan difraksinasi dengan n-heksan, etil asetat, n-butanol, akuades dan etanol. analisis kandungan total fenolik ,flavonoid, penentuan aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan metode DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhidrazil) dan aktivitas tabir surya dilakukan dengan menentukan SPF secara in vitro. hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa fraksinasi lamun dengan pelarut n-heksan, n-butanol, etanol, etil asetat mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. ekstrak lamun yang difraksinasi etil asetat memiliki nilai aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu 81,23%, fraksi n-heksan 23,3%, ekstrak etanol 18,12%, fraksi n-butanol 8,37%, fraksi etanol 5,86% dan fraksi akuades 3,81%. hasil perhitungan nilai SPF yang paling tinggi terdapat pada fraksi etil asetat yaitu 14,84%. Hasil penelitian menyimpulkan fraksi etil asetat lamun memiliki kandungan fenolik, flavonoid dan memiliki kemampuan untuk berperan sebagai antioksidan sekaligus tabir surya.

kata kunci : lamun, fraksinasi, fenolik, flavonoid, antioksidan,tabir surya

PENDAHULUAN

Saat ini masyarakat Indonesia mulai kembali pada upaya pemanfaatan kekayaan alam yang dijadikan tanaman obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Beberapa alasan tanaman obat dikembangkan adalah harganya relatif lebih murah dan efek samping yang lebih sedikit dibanding obat-obatan sintesis yang beredar saat ini. Di Indonesia, beberapa organisme laut, seperti karang, sponge, alga dan lamun sering menjadi bahan penelitian untuk menemukan bahan baku obat baru. Namun diantara organisme tersebut, lamun masih tergolong baru dalam pengembangan bahan baku obat baru ini.

Beberapa kandungan lamun antara lain karbohidrat, protein, lemak, fenol hidroquinon, steroid, triterpenoid dan flavonoid. Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar dan selain itu juga terdapat beberapa jenis fenol lainnya seperti fenol monosiklik sederhana, fenilpropanoid dan kuinon fenolik. Gugus aromatik yang dimiliki oleh senyawa fenol dapat menyerap kuat pada spectrum sinar UV. Salah satu manfaat dari flavonoid yaitu sebagai antioksidan. Antioksidan ialah molekul yang dengan mudah dapat memberikan elektronnya ke molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan molekul radikal bebas dan mencegah proses oksidasi yang tidak diinginkan dalam sel (Zheng dan Wang, 2001).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa lamun memiliki kandungan senyawa flavonoid yang dikenal berpotensi sebagai antikanker (Ren *et al.*, 2003). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak

lamun memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Nurfadilah, 2013).

Selain itu Ukthy (2011) juga telah meneliti bahwa kandungan fitokimia pada lamun dengan jenis *Syngodium isoetifolium* menunjukkan adanya flavonoid, fenol, hidroquinon yang berpotensi sebagai antioksidan. Berdasarkan kajian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang fraksi aktif yang terkandung dalam lamun sebagai antioksidan dan bahan aktif tabir surya.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Sam Ratulangi Manado dengan waktu pelaksanaan penelitian selama 3 bulan yaitu bulan Maret sampai Mei 2015

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (iwaki *pyrex*), ayakan berukuran 60 *mesh*, batang pengaduk, pipet, kertas saring, penjepit tabung reaksi, dan botol, Erlenmeyer, corong pisah, botol kaca transparan, mikropipet, tabung reaksi, alat refluks, vortex, neraca elektrik, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu *type* 1601), rotary evaporator Yela N-1000, etil asetat, n-heksan, butanol, natrium karbonat, reagen Folin-Ciocalteu, 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Persiapan Sampel

Lamun diambil dan dikering-anginkan. Kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan berukuran 60 *mesh* hingga berbentuk serbuk untuk analisis lebih lanjut.

Pembuatan Ekstrak

Lamun diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80%. Ekstaksi dilakukan dengan cara refluks. Sebanyak 150 g lamun dimasukkan dalam labu destilat, ditambahkan pelarut etanol 1500 mL hingga sampel terendam semuanya, lalu dipanaskan selama 2 jam pada suhu 78-90°C. Filtrat disaring lalu diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator, lalu dikeringkan sampai kering hingga diperoleh ekstrak kasar lamun.

Fraksinasi Ekstrak

Sebanyak 5 g ekstrak kental dilarutkan dalam 25 mL aie. Larutan selanjutnya difraksinasi dengan menambahkan 50 mL n-heksan. Dikocok dalam labu pemisah dan didiamkan selama 10-15 menit hingga terdapat dua lapisan (air pada lapisan bawah dan n-heksan pada lapisan atas). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Proses penambahan n-heksan pada lapisan bawah (air) yang sudah dipisahkan diulangi dua kali. Lapisan atas (n-heksan) yang terbentuk selama tiga kali fraksinasi digabungkan dan disebut sebagai fraksi n-heksan (FH). Bagian air sisa dari proses fraksinasi n-heksan kemudian difraksi lebih lanjut dengan etil asetat dan dilanjutkan dengan n-butanol. Proses yang terjadi sama dengan proses fraksinasi dengan pelarut n-heksan. Lapisan etil asetat yang nantinya akan terbentuk selama tiga kali fraksinasi digabungkan dan disebut fraksi etil asetat (FEA), begitu pula dengan lapisan n-butanol yang disebut sebagai fraksi n-butanol (FB) dan sisa lapisan akuades disebut sebagai fraksi akuades (FA). Hasil

fraksinasi yaitu FH, FEA, FB, FA diuapkan pelarutnya dan dikeringkan dalam oven hingga diperoleh ekstrak kering, kemudian ekstrak FA dilarutkan dalam etanol dan disebut fraksi etanol (FE) lalu dikeringkan

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Fraksi kemudian ditentukan kandungan total fenolik dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Jeong *et al.*, 2004). Sebanyak 0,1 mL masing-masing fraksi 1000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex selama 2 menit, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya di baca pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat mg/kg ekstrak.

Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak lamun ditentukan menurut metode Meda *et al.* (2005). Sebanyak 2 mL larutan ekstrak 1 mg/mL dimasukan dalam tabung reaksi lalu ditambah dengan 2 mL AlCl₃ 2% yang telah dilarutkan dalam etanol, kemudian divortex. Absorbansi ekstrak dibaca pada spektrofotometer visibel dengan panjang gelombang 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuesertin/kg ekstrak

Penentuan Penangkal Radikal Bebas DPPH (Burda dan Olezek, 2001)

Sebanyak 0,5 mL masing- masing ekstrak kental ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 93 µm dalam etanol dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrometer UV-Vis. Aktivasi penangkal radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\text{aktivitas penangkal radikal bebas (\%)} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan nilai SPF secara in vitro

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan dengan menentukan nilai SPF secara in vitro dengan metode spektrofotometri (Sayre *et al.*, 1979). Fraksi diencerkan dengan konsentrasi 200 ppm. Dibuat kurva serapan uji kuvet 1 cm, dengan panjang gelombang antara 290 dan 360 nm, digunakan etanol sebagai blanko. Serapan larutan uji menunjukkan pengaruh zat yang menyerap maupun yang memantulkan sinar UV dalam larutan. Kemudian dibaca absorbansi setiap interval 5 dari panjang gelombang 290 nm sampai panjang gelombang 320 nm. Untuk menghitung nilai SPF digunakan rumus:

$$SPF = CF + \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{absorbansi}(\lambda)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan rendemen

Lamun diekstraksi dengan pelarut etanol 80% dengan metode refluks yang umum untuk mengekstraksi sampel tumbuhan. Lamun ditimbang sebanyak 150 g lalu direfluks dengan menggunakan pelarut etanol 80% selama 2 jam pada suhu 78-90 °C, sampel disaring menggunakan vacuum. Kemudian filtratnya dievaporasi untuk memisahkan ekstrak dan pelarutnya. Ekstrak yang telah terpisah dari pelarut dikeringkan dalam oven pada suhu 40 °C sampai ekstrak kering. Setelah kering ekstrak dikeruk dan ditempatkan dalam wadah.

Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi 150 g lamun dengan pelarut etanol 80% sebanyak 1500 mL dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen hasil ekstrak kering lamun

Massa (g)		Rendemen (%)
Sampel serbuk	Ekstrak kering	
150	9,61	6,40
150	9,95	6,63

Fraksinasi

Ekstrak kering yang diperoleh difraksinasi menggunakan 5 pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya, yaitu n-heksana, etil asetat, butanol, etanol, dan akuades, sehingga diperoleh fraksi n-heksan, etil asetat, butanol, etanol dan akuades.

Rendemen yang diperoleh dari hasil fraksinasi 5 g sampel yang disuspensi dengan 25 mL akuades dan 50 mL pelarut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rendemen hasil fraksinasi dari ekstrak lamun

Fraksi	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
n-heksan	1,21	24,2
Etil Asetat	0,05	1
Butanol	0,25	5
Etanol	0,34	6,8
Akuades	1,07	21,4

Berdasarkan tabel 3, dapat diketahui bahwa fraksi n-heksan mempunyai rendemen paling tinggi diikuti oleh fraksi akuades, etanol, butanol dan etil asetat. Hasil perolehan rendemen berturut-turut adalah 24,2; 1; 5; 6,8 dan 21,40%. Tingginya rendemen fraksi n-heksan mungkin disebabkan adanya komponen-komponen lemak dan klorofil yang terdapat pada lamun. N-heksan merupakan pelarut non polar yang mampu melarutkan senyawa-senyawa yang tak larut air seperti lipida, klorofil, minyak atsiri, karotenoid dan lilin (Merck Index, 2001)

Kandungan total fenolik dan flavonoid

Penentuan kandungan total fenolik dan flavonoid dilakukan untuk mengetahui potensi antioksidan dalam suatu ekstrak (Pratt and Hudson, 1990). Dalam penelitian ini, kandungan total fenolik dan flavonoid dilihat berdasarkan perbedaan pelarut hasil fraksinasi, yaitu n-heksan, etil asetat, butanol, etanol dan akuades.

Tabel 4. Kandungan total fenolik dan flavonoid fraksi lamun

Fraksi	Fenolik (µg/mL)	Flavonoid (µg/mL)
Ekstrak Etanol Lamun	5.61	9.59
n-heksan	16.01	17.62
Etil asetat	78.05	34.57
Etanol	49.18	2.00
Butanol	4.59	1.35
Akuades	TT	0.76

Pada fraksi etil asetat menghasilkan intensitas warna biru yang pekat. Hal ini menegaskan bahwa senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak lamun lebih mudah larut dalam pelarut polar, yang kemudian dipartisi dengan pelarut non polar.

Hasil kandungan total untuk senyawa flavonoid fraksi etil asetat, n-heksan, ekstrak etanol lamun, fraksi etanol, butanol dan aquades berturut-turut adalah 34,57; 17,62; 9,59; 2,00; 1,35 dan 0,76. Kandungan flavonoid tertinggi dimiliki fraksi etil asetat yang diikuti oleh fraksi n-heksan, ekstrak etanol lamun, fraksi etanol, butanol, dan aquades. Hasil ini menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif antara kandungan total fenol dengan kandungan flavonoid. Menurut Larson (1988), komponen fenolik seperti flavonoid yang dikenal sebagai antioksidan primer dari tanaman bersifat polar. Berdasarkan pengamatan dalam beberapa laporan (Tian dan White, 1994; Su *et al.*, 2000; Shan *et al.*, 2005) bahwa pelarut polar seperti metanol dan etanol

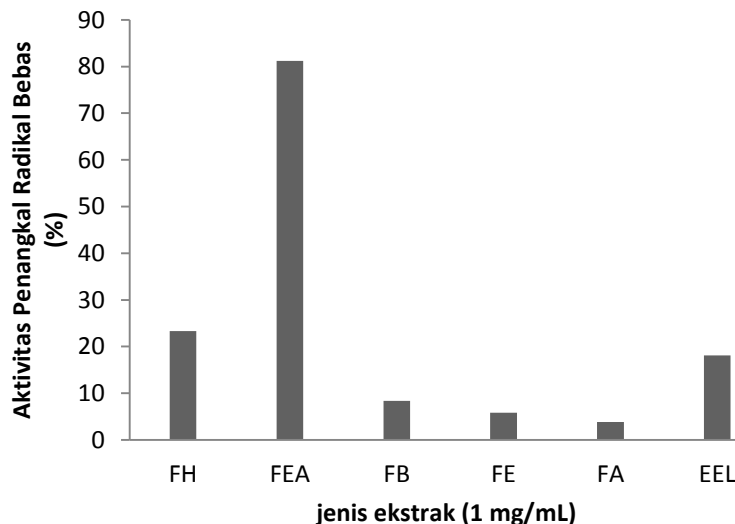
merupakan pelarut yang sangat luas digunakan dan efektif untuk ekstraksi antioksidan dari bahan alam

Aktivitas penangkal radikal bebas dengan

DPPH

Aktivitas antioksidan dari ekstrak lamun dilakukan dengan metode penangkal radikal bebas DPPH. Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Proses penangkapan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hydrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hydrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Pokorny *et al.*, 2001)

Aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan uji DPPH pada konsentrasi 1000 mg/mL dapat dilihat pada gambar 2 dibawah :



Gambar 2. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH. keterangan : fraksi n-heksan (FH); fraksi etil asetat (FEA); fraksi butanol (FB); fraksi etanol (FE); fraksi akuades (FA); ekstrak etanol lamun (EEL)

Berdasarkan hasil yang didapat, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat dalam fraksi etil asetat .Hal ini membuktikan bahwa pelarut partisi etil asetat paling efektif dalam mengikat senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan yang terdapat pada ekstrak lamun.

Aktivitas penangkap radikal bebas tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat sebesar 81,23% diikuti berturut-turut fraksi n-heksana, ekstrak etanol lamun, fraksi butanol, fraksi etanol dan fraksi aquades yaitu sebesar 23,3; 18,12; 8,37; 5,86 dan 3,81%.

Nilai SPF (*Sun Protection Factor*)

Hasil pengukuran nilai SPF dari ekstrak lamun dengan menggunakan 4 macam

fraksi menghasilkan nilai SPF yang dapat dilihat dalam tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan nilai SPF ekstrak lamun

Fraksi (µg/ml)	Nilai SPF
Ekstrak Etanol Lamun	1,59
n-heksan	4,90
Etil Asetat	14,84
Butanol	0,41
Etanol	9,94
Akuades	TT

Keterangan : tidak terdeteksi (TT)

FDA mengharuskan semua tabir surya mengandung SPF. SPF adalah ukuran kemampuan tabir surya untuk mencegah kerusakan kulit. Kisaran SPF dimulai dari 2 sampai lebih dari 50. Tabir surya dianjurkan dengan paling rendah SPF 15. Tabir surya dengan SPF menyatakan lamanya kulit seseorang berada di bawah sinar matahari tanpa mengalami luka bakar, sedangkan angka SPF menyatakan berapa kali daya tahan alami kulit seseorang dilipat gandakan sehingga aman di bawah matahari tanpa terkena luka bakar (Wilkinson, 1982)

Berdasarkan hasil penelitian diatas, fraksi etil asetat mempunyai nilai SPF tertinggi dari semua sampel yang ada, yaitu 14,84 kemudian diikuti oleh fraksi etanol dengan nilai SPF sebesar 9,94. Kemudian diikuti fraksi n-heksan, ekstrak etanol lamun dan fraksi butanol yang masing-masing memiliki nilai SPF sebesar 4,9, 1,59 dan 0,41. Hal ini menyatakan bahwa senyawa yang ada pada lamun yang difraksinasi menggunakan pelarut non polar lebih bekerja maksimal sebagai tabir surya

dibandingkan pelarut semi polar dan polar. Sehingga penelitian ini menyatakan ekstrak lamun memiliki potensi tabir surya yang baik dengan menggunakan pelarut etanol yang difraksinasi pelarut etil asetat.

PENUTUP

Kesimpulan

1. Fraksi etil asetat lamun mempunyai kandungan total fenolik dan flavonoid paling tinggi diikuti fraksi n-heksan, etanol, ekstrak etanol lamun, butanol, akuades.

2. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi daripada fraksi heksana, fraksi butanol, fraksi etanol, fraksi akuades, dan Ekstrak etanol lamun yang dilakukan dengan pengujian penangkalan radikal bebas DPPH sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas tabir surya paling tinggi daripada fraksi n-heksan, ekstrak etanol lamun, fraksi butanol, dan fraksi etanol yang diukur dengan nilai *sun protector factor* SPF.

DAFTAR PUSTAKA

- Jeong-Beeman, M., Bowden, E.M., Haberman, J., Frymiare, J.L, Arambel-Liu, S., Greenblatt, R., Reber, P.J., & Kounios, J. 2004. Neural activity observed in people solving verbal problems with insight. *Public Library of Science - Biology*.
- Larson, R. K., 1988. On the Double Object Construction. *Linguistic Inquiry* 19: 335-391

- Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honeys as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91, 571-577.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spemonde. [skripsi]. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Philips, C.R. and E.G. Menez. 1988. *Seagrass*. Smith Sonian. Institutions Press. Washington DC.
- Pokorny J, and Korczak, J. 2001. Preparation of natural antioxidant. In: M. Gordon (Ed.), *Antioxidant In Food*. CRC Press. New York, Washington D.C. 311-330
- Pratt, D.E and Hudson, B.J.F. 1990. Natural Antioxidant not Exploited Commercially. In: B.J.F Hudson (Ed.). *Food Antioxidant*. Elsevier, London. 171-191.
- Ren, W., Z. Qiao., H. Wang., L. Zhu and L. Zhang. 2003. Flavonoid: promising anticancer agents. *Med. Res. Review* 2: 519-534.
- Sayre, R. M., J. R. Adams, and W. P. Wergin. 1979. Bacterial parasite of a cladoceran: Morphology, development in vivo, and taxonomic relationships with *Pasteuria ramosa*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 29: 252-262
- Tian, L.L., and White, P.J. 1994. Antioxidant Activity of Oat Extract in Soybean and Cotton Seed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71: 1079-1086
- Ukthy N. 2011. *Kandungan Senyawa Fitokimia , Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Lamun*. Bogor: Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan.
- Wilkinson J.B. 1982. *Harry's Cosmeticology*, 7th Edition, Chemical Publishing, New York.
- Zheng W. dan Wang S. Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric., FoodChem.* 49: 5165-5170