

KAPASITAS ANTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN TOTAL SENYAWA FENOLIK EKSTRAK KASAR ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium* DARI PANTAI SUMENEP MADURA

Ahwalul Lailiyah, Tri Kustono Adi, Abdul Hakim, Eriyanto Yusnawan

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Marine resources are natural resources that have great opportunities to be exploited. One such resource is the sea algae. This study aims to determine the antioxidant capacity and total phenolic content in the extract of the brown algae *Sargassum cristaefolium* collected from Sumenep Madura and to identify the class of compounds in the highest antioxidant capacity extract. Brown algae extraction was conducted by maceration method using two variations of the solvent methanol and n-hexane. Total phenolic content in the crude extract of brown algae was determined using the Folin-Ciocalteu method, while antioxidant capacity was measured using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). Identification of class of compounds is applied using a qualitative test reagents. The results showed that the methanol crude extract had a total phenolic content of 74.63 mg GAE / g sample, higher than n-hexane crude extract (35.85 mg GAE / g sample). Antioxidant capacity of methanol crude extract was 80.78%, higher than the n-hexane extract (74.98%). The second extract has antioxidant capacity were moderate comparing with the powerful antioxidant, ascorbic acid (99.26%) and BHT (99.09%). Identification of the compound using the reagent test showed the presence of compounds of steroids in methanol crude extract.

Key Words: Brown Algae *Sargassum cristaefolium*, Total Fenolic, Folin-Ciocalteu, Antioxidant, DPPH, Steroid, TLC.

ABSTRAK

Sumberdaya kelautan merupakan kekayaan alam yang memiliki peluang besar untuk dimanfaatkan. Salah satu sumber daya alam laut tersebut adalah alga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik total pada ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium* dari pantai Sumenep Madura serta mengetahui golongan senyawa yang memiliki kapasitas antioksidan tertinggi. Ekstraksi alga coklat dilakukan dengan metode maserasi menggunakan dua variasi pelarut yakni metanol dan n-heksana. Kandungan fenolik total ekstrak kasar dalam alga coklat ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu, sedangkan kapasitas antioksidannya diukur menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Identifikasi golongan senyawa dilakukan dengan menggunakan uji reagen secara kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol memiliki kandungan fenolik total sebesar 74,63 mg GAE/g sampel, lebih tinggi daripada ekstrak kasar n-heksana (35,85 mg GAE/g sampel). Kapasitas antioksidan ekstrak kasar metanol sebesar 80,78 %, lebih besar dibandingkan dengan ekstrak n-heksana (74,98 %). Kedua ekstrak tersebut memiliki kapasitas antioksidan yang tergolong sedang, jika dibandingkan dengan antioksidan kuat, asam askorbat (99,26 %) dan BHT (99,09 %). Identifikasi golongan senyawa dengan menggunakan uji reagen pada alga coklat menunjukkan keberadaan senyawa golongan steroid di dalam ekstrak kasar metanol.

Kata Kunci : Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*, Fenolik Total, Folin-Ciocalteu, Antioksidan, DPPH, Steroid, KLT.

I. PENDAHULUAN

Laut adalah lambang dari kesuburan sekaligus kemakmuran (Djamil, 2004). Sumber daya kelautan merupakan kekayaan alam

yang memiliki peluang besar untuk dimanfaatkan oleh manusia. Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia, yang memiliki 17.504 pulau dan garis pantai lebih dari 81.000 Km dengan

luas perairan laut sekitar 5,8 juta Km² (70 % dari total wilayah Indonesia) (Sandrasari, 2008).

Di Indonesia, alga merah terdiri dari 452 jenis alga, dan alga coklat 134 jenis (Moosa, 1999). Menurut Aslan (1998), rumput laut mengandung komponen penting yang dibutuhkan dalam proses fisiologis hewan dan manusia. Rumput laut kaya akan karbohidrat, protein, lipid dan mineral. Temuan terakhir membuktikan bahwa rumput laut berpotensi sebagai antivirus (Manilal, dkk., 2009), antibakteri (Izzati, 2007), antijamur (Khazanda, dkk., 2007) antitumor (Zandi, dkk., 2010) dan antioksidan (Lestario, dkk., 2008).

Manusia sebagai makhluk yang berakal memiliki kewajiban untuk menjaga dan memanfaatkan alam dengan bijaksana. Manusia akan dituntut pengetahuannya untuk menemukan obat-obat bagi penyakit-penyakit yang ada di bumi, antara lain kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya yang disebabkan reaksi radikal bebas di dalam tubuh (Amarowicz dalam Rohman dan Riyanto, 2005).

Radikal bebas adalah atom atau molekul apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan. Radikal bebas dianggap berbahaya karena bersifat tidak stabil dan menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya sehingga menyebabkan terbentuknya radikal baru. Radikal bebas mengganggu keutuhan sel karena dapat bereaksi dengan komponen sel. Pembentukan radikal baru ini dapat menimbulkan kerusakan berbagai komponen sel tubuh seperti DNA, dan juga dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi

lipid. Untuk menghindari timbulnya reaksi tersebut di dalam tubuh, kita membutuhkan suatu senyawa penting yang dapat menghentikan ataupun menghambat reaksi radikal bebas yaitu antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat berasal dari berbagai sumber bahan alam atau dibuat secara sintesis dalam laboratorium. Antioksidan sintetik BHA (Butylated hydroxyanisole), BHT (Butylated hydroxytoluene), PG (Propyl Gallate) dan TBHQ (tert-butyl hydroquinone) sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi. Akan tetapi, tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Antioksidan alami lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh dari pada antioksidan sintesis (Madhavi, dkk., 1996).

Pemanfaatan alga sebagai antioksidan telah dilakukan oleh beberapa peneliti yaitu Omar, dkk., (2007) dalam Hijaz, (2009) meneliti alga coklat jenis *Padina antillarum* dan menghasilkan ekstrak fukoidan (polisakarida kompleks pada dinding sel alga) nilai EC₅₀ sebesar 0,337 µg/mL dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Cristiane, dkk., (2007) meneliti alga coklat jenis *Fucus vesiculosus* yang menghasilkan ekstrak fukoidan

(polisakarida kompleks pada dinding sel alga) dengan nilai EC_{50} sebesar 2,341 $\mu\text{g/mL}$ dan Yan, dkk., (1999) dalam Lestario, dkk., (2008) meneliti alga hijau yang memiliki aktivitas antioksidan kurang dari 20 % dan alga coklat dari spesies *Hijikia fusiformis* yang memiliki aktivitas antioksidan sampai 65 %.

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan asam-asam organik polifungsional. Komponen ini mampu menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas, hal ini dikarenakan adanya gugus hidroksil pada struktur kimianya (Daniels dalam Parwata, dkk., 2009)

Pada umumnya, dalam menentukan kapasitas antioksidan juga ditentukan kandungan fenolik total, seperti yang dilakukan oleh Lestario, dkk., (2008) meneliti alga merah *Gracilaria verrucosa* menghasilkan kadar fenolik total 45,29 mg/g ekstrak, Sreenivasan, dkk., (2007) dalam Lestario, dkk., (2008) meneliti alga merah *Gracilaria changii* menghasilkan kadar fenolik total 5,0 mg/g ekstrak, Ganesan, dkk., (2008) dalam Lestario, dkk., (2008) meneliti *Gracilaria edulis* menghasilkan kadar fenolik total 16,26 mg/g ekstrak, dan Cho, dkk., (2007) dalam Lestario, dkk., (2008) meneliti alga coklat *Sargassum siliquastrum* menghasilkan kadar fenolik total 127,4 mg/g ekstrak.

Penelitian tentang kapasitas antioksidan dan kandungan kadar fenolik total alga coklat jenis *S. cristaefolium* yang berasal dari Sumenep Madura dilakukan untuk mengungkapkan sifat biologis dan medis serta untuk mengoptimalkan

pemanfaatan bahan alam laut Indonesia.

II. METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol p.a, n-heksana p.a, reagen DPPH, etanol p.a, metanol 50 %, NaCO_3 20 %, asam galat, reagen Folin-Ciocalteu, kloroform, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, Vitamin C, BHT (Butylated hydroxytoluene).

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, bola hisap, statif, oven, neraca analitik, mikro pipet, aluminium foil, shaker, vakum buchner, kuvet, rotary evaporator, vaccum desikator, inkubator, multi-well, spektrofotometer UV-Vis Varian Cary, spektronik 20+, salinometer ATAGO PAL-06, dan spektroskopi UV-Vis Varian Carry.

Pelaksanaan Penelitian

Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada alga, sebelumnya cawan yang akan digunakan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar ± 30 menit untuk menghilangkan kadar air cawan. Cawan didinginkan selama ± 10 menit sampai ditimbang, diulang sampai mendapatkan berat cawan konstan. Sebanyak 5 gram sampel alga yang sudah dipotong kecil-kecil dimasukkan dalam cawan porselen dan dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100-105 °C selama ± 15 menit, kemudian sampel didinginkan didesikator sekitar ± 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 15 menit, diulang perlakuan ini sampai tercapai berat konstan.

Dihitung kadar air pada alga menggunakan rumus (AOAC, 1984):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b - c)}{b - a} \times \% 100$$

Dimana :

a= bobot cawan kosong

b= bobot sampel+cawan
sebelum dikeringkan

c= bobot cawan+sampel setelah
dikeringkan

Penentuan Kadar Garam

Alga coklat segar yang baru diambil dari laut ditimbang sebanyak 5 gram dan diekstrak dengan menggunakan akuades 50 mL, dan diaduk selama 10 menit Ekstraksi diulangi sebanyak 3 kali pada sampel agar garam dalam sampel larut dalam akuades. Kemudian disaring menggunakan penyaring vacum buchner agar proses penyaringan lebih maksimal. Ekstrak ditampung dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian diukur kadar garam dalam sampel sebanyak empat kali pengukuran dengan menggunakan alat salinometer Atago PAL-06S refraktometer, yaitu dengan cara mengkalibrasi alat menggunakan blangko akuades, kemudian larutan sampel ditetaskan pada lempengan alat tersebut lalu dilakukan pembacaan. (Sudarmaji, dkk., 1997). Perlakuan ini diulangi kembali untuk serbuk alga kering, namun sebelum dikeringkan alga yang masih segar dicuci terlebih dahulu dengan air

Preparasi Sampel

Alga coklat jenis *S. cristaefolium* dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang terdapat pada sampel, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikering anginkan sampai kering. Kemudian di blender sampai terbentuk serbuk.

Ekstraksi

Ekstraksi pada alga coklat jenis *S. cristaefolium* menggunakan metode maserasi. Serbuk Alga coklat jenis *S. cristaefolium* kering ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian direndam dengan pelarut metanol sebanyak 300 mL. Perendaman dengan pelarut metanol selama 24 jam dan dibantu dengan shaker selama 5 jam dengan kecepatan 150 rpm, setelah itu disaring dengan menggunakan corong buchner vakum. Ampas dimaserasi kembali (3x pengulangan dengan 300 mL). Dilakukan perlakuan yang sama dengan pelarut n-heksana. Pelarut metanol dan n-heksana diuapkan dengan rotary evaporator untuk memekatkan ekstrak kasar, kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam lemari asam untuk menguapkan pelarut yang masih tersisa.

Uji Kapasitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 3 mL, didiamkan \pm 10 menit. Dicari λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk., 2010).

b. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Dibuat larutan ekstrak 200 ppm sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL, kemudian dicari waktu kestabilan setelah inkubasi dan sebelum inkubasi pada rentangan waktu 5 – 60 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur pada λ_{maks} dan

waktu kestabilan yang telah didapatkan.

c. Pengukuran Antioksidan pada Sampel

Sampel ekstrak kasar metanol dan n-heksana masing-masing dilarutkan dalam pelarutnya dengan variasi konsentrasi 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm. Masing-masing konsentrasi dari tiap-tiap ekstrak diambil 4,5 mL dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1,5 mL (perbandingan ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu: larutan DPPH 3:1) dengan konsentrasi 0,2 mM dalam etanol 99 % v/v. Setelah itu diinkubasi suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} yaitu pada 515 nm. Tiap sampel dilakukan pengukuran tiga kali (triplo). Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai % aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan rumus (Arindah, 2010) :

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{A_o - A_c}{A_o} \times 100\%$$

Dimana,

A_o = Absorbansi kontrol

A_c = Absorbansi sampel

Pembanding BHT dan Vitamin C diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan Vitamin C.

Pengukuran Kandungan Senyawa Fenolik Total

a. Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Asam Galat

Pembuatan larutan standar asam galat mula-mula ditimbang 10 mg asam galat dan dilarutkan dalam 10 mL buffer fosfat untuk membuat larutan stok asam galat 1000 ppm.

Kemudian dibuat larutan standar dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm.

Pada masing-masing konsentrasi dipipet 50 μ L ditambah 3000 μ L akuades, kemudian ditambahkan 250 μ L reagen Folin-Ciocalteu lalu di kocok dengan vortek dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya pada larutan ditambahkan natrium karbonat 20 % sebanyak 750 μ L, lalu ditambahkan kembali dengan akuades 950 μ L hingga volume 5000 μ L dan diinkubasi kembali selama 80 menit pada suhu ruang. Kemudian masing-masing konsentrasi dipipet kembali 200 μ L dan dimasukkan ke dalam mikroplate sebanyak tiga kali pengukuran (triplo), lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 655 nm. Sebagai blanko digunakan cara yang sama akan tetapi sampel asam galat diganti dengan buffer fosfat. Selanjutnya dibuat kurva kalibrasi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi asam galat (ppm) dengan nilai absorbansinya.

b. Pengukuran Absorbansi Ekstrak Sampel

Sampel ekstrak pekat metanol dan n-heksana alga dilarutkan dengan pelarutnya, lalu dibuat variasi konsentrasi 400, 600, 800, 1000 ppm. Selanjutnya dipipet masing-masing konsentrasi sebanyak 50 μ L ditambah 3000 μ L akuades, kemudian ditambahkan 250 μ L reagen Folin-Ciocalteu lalu di kocok dengan vortek dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya larutan ditambahkan dengan natrium karbonat 20 % sebanyak 750 μ L, lalu ditambahkan kembali dengan akuades 950 μ L

sampai volume larutan mencapai 5000 μ L dan diinkubasi kembali selama 80 menit pada suhu ruang. Kemudian masing-masing konsentrasi dipipet kembali sebanyak 200 μ L dan dimasukkan kedalam mikroplate, lalu diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 655 nm, kemudian ditentukan kadar fenol dalam ppm.

Identifikasi Golongan Senyawa dengan Uji Fitokimia

a. Triterpenoid dan Stereoid

Ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL kloroform. Kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrida dan 1-2 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila terbentuk cincin warna coklat kecoklatan maka ekstrak sampel mengandung triterpenoid (Ayoola, dkk., 2008). Sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Auterhoff dan Kovar 1987).

b. Flavonoid

Ekstrak ditambahkan dengan air panas 1-2 mL metanol panas dan ditambah sedikit serbuk Mg. Kemudian ditambahkan 2 mL tetes HCl pekat dan dikocok. Jika menunjukkan merah atau jingga maka ekstrak kasar positif mengandung flavonoid (Febriany, 2004).

c. Alkaloid

Ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 0,5 mL tetes reagen Dragendorff, sedangkan tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan

jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

Pemisahan dengan KLT

Pemeriksaan KLT dilakukan terhadap adanya senyawa yang memberikan hasil positif pada pemeriksaan menggunakan uji reagen.

Larutan pengembang dilakukan dengan 5 variasi eluen yaitu campuran kloroform:metanol:air (20:60:4) (Jaya, 2010), n-heksana:etil asetat (7:3) (Handayani, 2008), n-heksana:kloroform (1:1) (Sukadana dkk., 2007), n-heksana:etil asetat (1:1) dan eluen n-heksana:etil asetat: NH_4OH (66:33:11) (Inayah, 2012). n-heksana:etil asetat (7:3)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan air pada sampel kering memiliki nilai yang rendah, hal ini diakibatkan sampel kering kehilangan kandungan air akibat proses pengeringan pada sampel. Menurut Winarno (1992) dalam Harjadi (1993), sampel yang baik disimpan dalam jangka panjang adalah sampel yang memiliki kadar air kurang dari 10 %.

Dari hasil uji kadar garam alga *S. cristaefolium* bahwa konsentrasi kadar garam dalam larutan sampel *S. cristaefolium* segar lebih rendah daripada sampel kering, hal ini dikarenakan garam pada sampel segar masih banyak mengandung air. Hasil uji kadar air dan kadar garam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar air dan Kadar Garam

Kadar garam (%)	Kadar air (%)	S. cristaefolium
3 %	80 %	Segar
40,5%	8,58 %	Kering

Hasil rendemen menunjukkan ekstrak tertinggi didapatkan pada pelarut metanol. Tingginya berat ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut metanol menunjukkan bahwa senyawa-senyawa pada *S. cristaefolium* banyak yang bersifat polar dan tertarik oleh metanol. Metanol merupakan pelarut hidrokarbon yang sangat polar dengan berat molekul rendah. Alkohol dengan berat molekul rendah menggantikan molekul-molekul air dalam jaringan (Hart, 1987 dalam Muawwanah, 1996). Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rendemen

Rendemen (%) (b/b)	Vol. (mL)	Pelarut
5,524	900	Metanol
1,002	900	n-heksana

Sarrgassum merupakan salah satu jenis alga laut dari kelompok alga coklat (*phaeophyceae*) yang mengandung pigmen klorofil dan fukosantin. Klorofil merupakan pigmen fotosintesis yang memberikan warna hijau sedangkan fukosantin memberikan warna coklat atau hijau zaitun (Tjondronegoro, dkk., 1989 dalam Muawwanah, 1996).

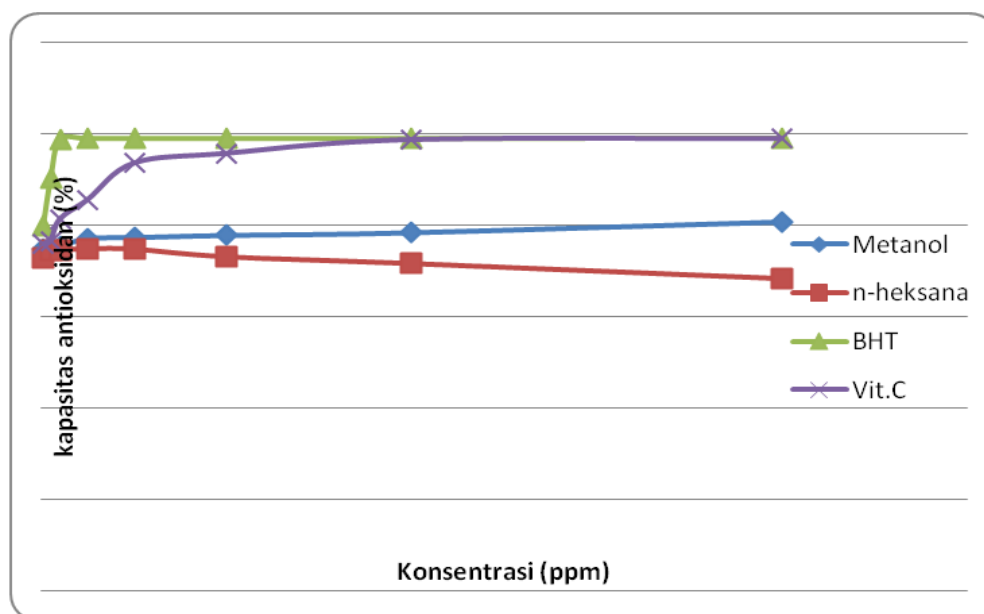
Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol *S. cristaefolium* memiliki nilai kapasitas antioksidan yang tinggi dibandingkan ekstrak n-heksana. Apabila ekstrak metanol dibandingkan dengan kapasitas antioksidan vitamin C dan BHT, aktivitas antioksidan ekstrak *S. cristaefolium* masih lebih rendah. Tetapi pada penelitian ini yang diuji masih berupa ekstrak kasar, sehingga masih ada kemungkinan senyawa

murni yang dikandung memiliki aktivitas peredaman radikal bebas lebih kuat dibandingkan ekstraknya. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hydrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 515 nm (Rahayu, dkk., 2010) Pengujian antioksidan menggunakan inkubasi (37 °C). Suroso (2011), menyatakan bahwa sampel yang diinkubasi akan lebih stabil dan memiliki penurunan absorbansi yang lebih signifikan dibanding sampel yang tidak diinkubasi. Pada suhu ini diduga sampel antioksidan bereaksi dengan baik dengan DPPH. Diduga suhu yang telah terkondisikan ini dapat mempercepat terjadinya reaksi antara sampel antioksidan dengan DPPH.

Tabel 3 Hasil pengukuran % aktivitas antioksidan ekstrak *S. cristaefolium* dan pembanding

Konsentrasi Sampel (ppm)	% Kapasitas Antioksidan (Y)			
	Asam askorbat	BHT	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak metanol
1	80,10	76,04	73,02	74,99
5	90,45	76,65	74,68	75,08
10	98,92	81,47	74,74	75,54
25	99,21	85,71	74,98	77,23
50	99,22	93,73	74,90	77,44
100	99,23	95,87	73,21	77,89
200	99,24	98,87	71,7	78,48
400	99,26	99,09	63,37	80,78



Gambar 1 Grafik aktivitas antioksidan (%) ekstrak *S. cristaefolium* dan Pembanding

Heo, dkk., (2005) melaporkan kapasitas antioksidan ekstrak metanol sampel metanol *S. coreanum* (86,04 %), *S. fulvellum* (67,44 %), *S. horneri* (23,91 %), *S. piluliferum* (93,67 %), *S. siliquastrum* (75,58 %), *S. thunbergii* (97,44 %). Sandrasari (2008), menyatakan bahwa suatu senyawa yang mempunyai kapasitas antioksidan sangat kuat jika menghambat perkembangan radikal bebas lebih dari 80 %, sedang jika menghambat sebesar 50-80 %, dan lemah jika memiliki penghambatan kurang dari 50 %. Kapasitas antioksidan pada ekstrak n-heksana mengalami penurunan kapasitas pada konsentrasi 100–200. Hal ini menandakan kemampuan antioksidan mulai melemah pada konsentrasi yang besar, kemungkinan yang terjadi adalah senyawa yang telah bersifat prooksidan (suatu zat yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif).

Senyawa fenolik pada ekstrak alga coklat diukur dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu pada panjang gelombang 655 nm. Hasil yang diperoleh dinyatakan sebagai ekivalen asam galat (EAG/g sampel). Asam galat merupakan senyawa untuk mengukur kandungan senyawa fenol dalam sampel pada makanan atau minuman. Pengujian ini dilakukan karena senyawa fenolik berkontribusi langsung terhadap kapasitas antioksidan. Nilai absorbansi yang terukur menyatakan intensitas senyawa fenol yang terdapat pada sampel. Semakin besar nilai absorbansi yang dihasilkan maka kandungan senyawa fenol pada ekstrak alga coklat semakin tinggi.

Pengukuran kandungan total senyawa fenol pada ekstrak kasar *S. cristaefolium* menunjukkan bahwa kandungan fenol total tertinggi terdapat pada ekstrak metanol. Hasil pengukuran kadar fenolik total dapat dilihat pada Tabel 4. Heo, dkk., (2005) melaporkan kandungan fenol ekstrak metanol *S. coreanum* (38,11 mg GAE/g), *S. fulvellum* (7,56 mg GAE/g), *S. horneri* (6,81 mg GAE/g), *S. piluliferum* (14,91 mg GAE/g), *S. siliquastrum* (75 mg GAE/g), *S. thunbergii* (23,06 mg GAE/g). Hasil kandungan fenol sampel *S. cres*

taefolium memiliki nilai yang hampir sama dengan sampel *S. siliquastrum*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada sampel *S. cristaefolium* kapasitas antioksidan berbanding lurus dengan total fenol yang dikandungnya.

Tabel 4 Nilai kandungan fenolik total pada ekstrak *S. cristaefolium* dan kapasitas antioksidan.

Sampel	Aktivitas antioksidan (%)	Kandungan fenol total (mg GAE/g sampel)
Ekstrak metanol	80,78	74,63
Ekstrak n-heksana	74,98	35,85

Kutsiyah (2012) juga melaporkan kandungan senyawa fenolik total dan kapasitas antioksidan pada ekstrak metanol *E. spinosum* adalah 82,78 mg GAE/g dan 84,60 %. Hal ini, menunjukkan adanya korelasi antara kapasitas antioksidan dengan kandungan total fenol yang dikandung.

Penelitian Lee, dkk., (2006) menggunakan 25 macam jenis alga merah yang menunjukkan kandungan fenolik total tertinggi diantara 25 macam jenis alga merah tersebut terdapat pada ekstrak metanol dari alga merah *Polysiphonia japonica* yaitu sebesar 176,90 mg/g.

Hasil uji fitokomia ekstrak metanol *S. cristaefolium* pada Tabel 5. Pada penelitian ini ekstrak *S. cristaefolium* yang diduga mengandung steroid yang memiliki aktivitas antioksidan. Uji steroid ekstrak kasar metanol *S. cristaefolium* ditandai dengan perubahan warna kuning kecoklatan menjadi biru kehijauan. Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (senyawa pentaenilik) (Sriwahyuni, 2010). Studi fitokimia dan farmakologi menyatakan bahwa steroid memiliki

aktivitas antioksidan (Abad, dkk., 2011). Beberapa golongan steroid dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mendonorkan atom H terhadap radikal bebas. Senyawaan steroid kebanyakan mengandung gugus -OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga dengan adanya substituen gugus hidroksil yang terikat pada rantai hidrokarbon maka cenderung untuk mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas (Abad, dkk., 2011). Dugaan reaksi yang terjadi antara senyawa steroid dengan DPPH yang berfungsi untuk menghambat radikal bebas dapat ditunjukkan pada Gambar 2.

Hasil pemisahan dengan KLT analitik senyawa steroid ekstrak metanol alga coklat *S. cristaefolium* dilakukan dengan 5 variasi eluen yaitu campuran kloroform:metanol:air (20:60:4) (Jaya, 2010), n-heksana:etil asetat (7:3) (Handayani, 2008), n-heksana:kloroform (1:1) (Sukadana dkk., 2007), n-heksana:etil asetat (1:1) dan eluen n-heksana:etil asetat: NH₄OH (66:33:11) (Inayah, 2012). Diantara 5 variasi eluen tersebut terdapat 1

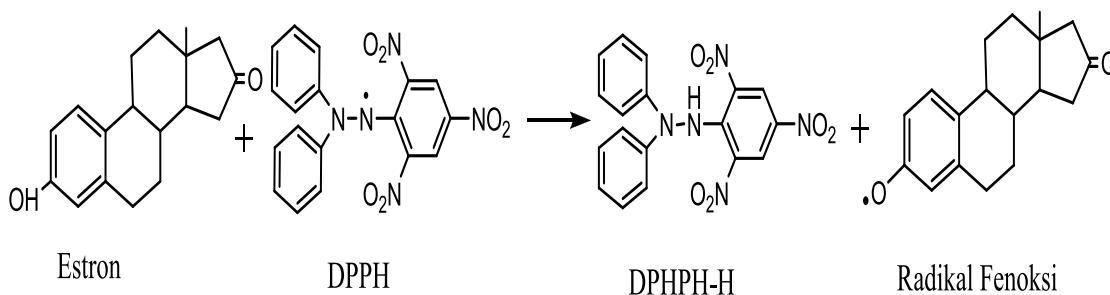
eluen yang mampu menghasilkan pemisahan yang baik yaitu n-heksana:etil asetat (7 : 3), hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik (tidak berekor) dan jumlah noda sebanyak 5 noda yang terpisah di bawah sinar UV. Hasil KLT dari pemisahan steroid ekstrak metanol ini dapat dilihat pada Tabel 6. Noda-noda ini terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya.

Noda yang memiliki nilai Rf yang kecil spot 1 dan 2 diduga cenderung bersifat polar dikarenakan noda tersebut lebih terdistribusi ke fase diam yang cenderung bersifat polar. Noda yang memiliki Rf yang tinggi spot 3, 4 dan 5 cenderung terdistribusi ke dalam fase gerak yang kepolarannya lebih kecil dibandingkan dengan fase diamnya. Kristanti (2008) melaporkan bahwa senyawa steroid setelah disemprot pereaksi Liberman-Burchard pada plat KLT menghasilkan warna biru. Hasil KLT pemisahan senyawa steroid pada *S. cristaefolium* cenderung berwarna biru yang ditunjukkan pada noda nomor 1, 2, 3, dan 5.

Tabel 5. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar metanol *S. cristaefolium*

Uji Fitokimia / Uji Reagen					Ekstrak <i>S. cristaefolium</i> Fraksi
Flavonoid	Alkaloid		Triterpenoid	Steroid	
	Reagen Dragendroff	Reagen Mayer			
-	-	-	+++	-	Metanol
-	-	-	+	-	n-heksana

Keterangan : tanda +++ : terkandung banyak senyawa/terbentuk warna
 tanda + : terkandung senyawa/berwarna pudar
 tanda - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna



Gambar 2 Dugaan reaksi senyawa steroid dengan radikal DPPH (Abad, dkk., 2011)

Tabel 6. Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid ekstrak *S. cristaefolium* menggunakan KLT

Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366 nm		
Setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard	Sebelum disemprot reagen Lieberman-Burchard	Rf tiap noda
Biru	Merah muda	0,14
Biru	Merah muda	0,27
Biru	Hijau kecoklatan	0,34
Hijau	Merah muda	0,48
Biru	Merah mudah	0,61

Noda-noda ini terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya. Noda yang memiliki nilai Rf yang kecil spot 1 dan 2 diduga cenderung bersifat polar dikarenakan noda tersebut lebih terdistribusi ke fase diam yang cenderung bersifat polar. Noda yang memiliki Rf yang tinggi spot 3, 4 dan 5 cenderung terdistribusi ke dalam fase gerak yang kepolarannya lebih kecil dibandingkan dengan fase diamnya.

Kristanti (2008) melaporkan bahwa senyawa steroid setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard pada plat KLT menghasilkan warna biru. Hasil KLT pemisahan senyawa steroid pada *S. cristaefolium* cenderung berwarna biru yang ditunjukkan pada noda nomor 1, 2, 3, dan 5.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kapasitas antioksidan dari ekstrak kasar n-heksana dan metanol alga coklat *Sargassum cristaefolium* masing-masing adalah 74,98 % dan 80,78 %. Kandungan fenolik total dari ekstrak kasar n-heksana dan metanol alga coklat *Sargassum cristaefolium* masing-masing adalah 35,85 mg GAE/gr sampel dan 74,63 mg GAE/gr sampel. Ekstrak kasar metanol memiliki kapasitas antioksidan dan kandungan total fenolik yang tertinggi. Berdasarkan uji reagen, golongan senyawa terkandung di dalam ekstrak kasar metanol menunjukkan golongan steroid. Pemisahan ekstrak metanol dengan KLT menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (7:3) dan

menghasilkan 5 noda (Rf: 0,14;0,27;0,34;0,48;0,61)

SARAN

Saran untuk penelitian, diantaranya diperlukan penelitian lebih lanjut sampai pada tahap pemisahan, pemurnian dan identifikasi agar dapat mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum Muricatum aiton*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Autorhoff, H., dan Kovar, K.A. 1987. *Identitas Obat*. Bandung: ITB
- Djamil, A. 2004. *Al-Quran dan Lautan*. Bandung Penerbit Arasy PT Mizan Pustaka
- Heo, Soo-Jin., Sun-Heui Cha, Ki-Wan Lee, Somi K. Cho1, You-Jin Jeon. 2005. Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. *Journal Alga* Volume 20(3): 251-260 .Faculty of Applied Marine Science, Faculty of Biotechnology, Cheju National University, Jeju 690-756
- Hijaz, M.K. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan dalam Alga Merah Jenis *Euclidean spinosum* dan *gracillaria verrucosa*. *Skripsi*.

- Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Izzati, M. 2007. Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. *Jurnal BIOMA*. Vol. 9, No. 2. 62–67. Jepara: Undip.
- Khazanda, K.A., Wazir, S.T.G., Samina, K., Shahzadi, S. 2007. Antifungal Activity, Elemental Analysis and Determination Of Total Protein Of Seaweed, *Solieria Robusta* (Greville) Kylin From The Coast Of Karachi. *J. Bot.*, 39(3): 931-937, 2007. National Center of Excellence for Analytical Chemistry. Pakistan: University of Sindh.
- Kutsiyah. 2012. Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Total dan Kapasitas Antioksidan Alga Merah *Euclima spinosum* dari pantai Lobuk Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Lee, K.W., Jeon, J.Y., Cha, S.H. dan Heo, S.J. 2006. Antioxidant Activities of Red Algae from Jeju Island. *Journal Algae*. Volume 21(1): 149-156, Faculty of Applied Marine Science. Korea: Cheju National University, Jeju 690-756.
- Lestario. L.N., Sugiarto, S., Timotius. 2008. Aktivitas Antioksidan dari Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa* L.). *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*. Vol.XIX No.2 Th. 2008. Salatiga: Fakultas Sains dan Matematika. Universitas Kristen Satya Wacana.
- Madhavi, D. L, S. S. Dhespande and D.K Salunka, 1996, *Food Antioxidant Technological, Toxicologi and Health Perspectives*. New York: Marcel Dekker Inc
- Manilal. A., Sujith, S., Selvin, J., Kiran, G.S., Shakir, C. 2009. In vivo Antiviral Activity of Polysaccharide from the Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management. *Journal of Fish and Marine Sciences* 1 (4): 278-282. Department of Microbiology. India: Bharathidasan University
- Moosa, M.K. Sumberdaya laut nusantara, keanekaragamanhayati laut dan pelestariannya. Loka karya Keanekaragaman Hayati Laut. Pemanfaatan secara lestari dilandasi penelitian dan penyelamatan. *Widy Graha LIPI*. Jakarta 23 Pebruari 1999
- Muawwanah. 1996. Estraksi Antioksidan dari Alga Laut *Sargassum* sp. dan Efektivitasnya dalam menghambat Awal Emulsi Minyak Ikan. *Skripsi*. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan ITB
- Parwata, I.M.O.A., Wiwik, S.R. dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*. Vol. 3 (1): 7-13. ISSN 1907-9850. Bukit Jimbara: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Rahayu, D.S., Dewi, K., Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH). *Jurnal Kimia*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro
- Rohman, A. dan Riyanto, S. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Secara in vitro. *Majalah Farmasi Indonesia*, 16 (3), 136 – 140. Yogyakarta: Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia

- Farmasi Fakultas Farmasi
Universitas Gadjah Mada
- Sandrasari, D.A., 2008. Kapasitas Antioksidan dan Hubungannya dengan Nilai Total Penol Ekstrak Sayuran *Indigenous*. *Skripsi*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty
- Zandi, K., Saeed, T. Iraj, N., Zahra, R., Forough, Y., Samin, S., Kohzad, S. 2010. In Vitro Antitumor Activity of *Gracilaria corticata* (A Red Alga) Against Jurkat And Molt-4 Human Cancer Cell Lines. *Journal of Biotechnology*. 9(40): 6787-6790. *Bushehr Iran: University of Medical Sciences*.
- Operation of SMB Bioreactor: Production of High Fructose Syrup by Isomerization of Glucose. *Biochemical Engineering Journal*, Vol: 21 No: 111–121.