

AKTIVITAS ANTI OKSIDAN EKSTRAK 96% *Sargassum polycystum* METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) DENGAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Pramudita Riwanti^{1*}, Astrid Kusuma¹, Rina Andayani¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah, Surabaya

*pramudita.riwanti@hangtuah.ac.id, astrid.kusuma@hangtuah.ac.id,
rina.andayani@hangtuah.ac.id

Submitted: 11-09-21

Revised: 17-09-21

Accepted: 30-09-21

ABSTRAK

S. polycystum merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum*. *Sargassum polycystum* yang digunakan diperoleh dari Dusun Jeruk Porot, Desa Cabbia, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% rumput laut coklat *S. polycystum* menggunakan konsentrasi 156, 490, 501 dan 840 µg/ml. Kontrol positif yang digunakan adalah Vitamin C. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% *S. polycystum* dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl Hidrazil) dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% rumput laut coklat *S. polycystum* mempunyai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 492,9732 µg/ml, sedangkan vitamin C memiliki nilai IC₅₀ 2,9498 µg/ml sehingga ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* memiliki aktivitas antioksidan yang lemah bila dibandingkan dengan Vitamin C.

Kata kunci : Antioksidan, *Sargassum polycystum*, DPPH

ABSTRACT

S. polycystum is a plant that has potential as an antioxidant. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the 96% ethanol extract of *Sargassum polycystum*. *Sargassum polycystum* was obtained from Jeruk Porot Hamlet, Cabbia Village, Talango District, Sumenep Regency, Madura and extracted by maceration method using 96% ethanol as solvent. Furthermore, the antioxidant activity test of 96% ethanol extract of brown seaweed *S. polycystum* using concentrations of 156, 490, 501 and 840 µg/ml. The positive control used was ascorbic acid. Antioxidant activity test of 96% ethanol extract of *S. polycystum* was carried out using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl Hidrazil) method with UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 516 nm. The results showed that 96% ethanol extract of brown seaweed *S. polycystum* had antioxidant activity as indicated by an IC₅₀ value of 492,9732 µg/ml, while vitamin C had an IC₅₀ value of 2.9498 µg/ml so that 96% ethanol extract of *Sargassum polycystum* had weak antioxidant activity compared to ascorbic acid.

Keywords : Antioxidant, *Sargassum polycystum*, DPPH

PENDAHULUAN

Sargassum polycystum merupakan spesies rumput laut yang tergolong dalam alga cokelat (Phaeophyceae)[1]. Alga cokelat memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder khususnya senyawa fenolik dengan kadar tinggi yang bioaktivitas antioksidan sangat kuat, selain itu memiliki kandungan senyawa golongan terpenoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan[2], [3]. Alga coklat juga diketahui memiliki komponen aktif fenol, flavonoid dan triterpenoid[4]. Ekstrak etanol 96% *S. polycystum* mengandung senyawa golongan alkaloid, glikosida, steroid/triterpenoid, saponin, flavanoid, polifenol, dan tannin[5]. Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan yang dihasilkan oleh Phaeophyceae[6]. Alga coklat juga memiliki kandungan karotenoid, laminarin, alginate, fukoidan, florotanin dan senyawa fenolik sebagai sumber antioksidan[7].

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron (*electron donor*) kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas tersebut dapat terhambat. Senyawa ini memiliki berat molekul yang kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal[8].

Senyawa fenol dapat mengurangi atau menghambat radikal bebas melalui transfer atom hydrogen dari gugus hidroksil dengan mekanisme reaksi mendonorkan atom hydrogen sebagai kation dari fenol ke radikal bebas[8]. Gugus hidroksil (-OH) merupakan donor hydrogen dan elektron sehingga jumlah dan posisinya mempengaruhi aktivitas antioksidan dari senyawa fenol.

Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan nilai *inhibition concentration* 50 atau dikenal dengan nama IC₅₀. IC₅₀ menunjukkan besarnya konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Berdasarkan nilai IC₅₀, aktivitas antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan kuat ataupun lemah. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar sifat antioksidannya. Dalam penelitian ini, akan dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* dengan metode DPPH menggunakan instrumen *Spektrofotometer Ultraviolet-Visible* (UV-Vis). Metode (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) atau DPPH merupakan metode uji antioksidan berdasarkan transfer electron. Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka[6]. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi antioksidan dari ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas: beaker glass, gelas ukur, labu ukur, pipet volume, pipet ukur, corong, neraca analitik, rotary evaporator dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 2700

Sampel dalam penelitian ini menggunakan alga coklat *Sargassum polycystum* yang diperoleh dari Sumenep, Madura. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 96% pa Merck, DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl Hidrazil) Sigma, asam askorbat (Merck), $AlCl_3$ (Merck).

Preparasi Sampel

Sargassum polycystum yang diperoleh dilakukan sortasi kering (dibersihkan dari kotoran) kemudian dicuci bersih dengan air mengalir. Kemudian sampel dikeringkan dengan oven pada suhu $40^{\circ}C$ kemudian dihaluskan menjadi serbuk simplisia menggunakan blender.

Ekstraksi *S. polycystum*

Serbuk simplisia yang diperoleh diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan (1:4). Maserasi dilakukan 1x24 jam lalu disaring. Residu dimaserasi ulang selama 24 jam kemudian disaring sampai didapatkan total 3x maserasi. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

Uji Aktivitas Antioksidan

A. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan cara menimbang DPPH sejumlah 50,0 mg dan kemudian dilarutkan dengan 100,0 ml etanol 96% di labu ukur hingga didapatkan larutan dengan kadar 500 ppm. Kemudian larutan tersebut di pipet 1,0 mL di adkan hingga 25,0 mL hingga didapatkan larutan dengan kadar 20 ppm[2].

B. Pengukuran Serapan Larutan Blank^o DPPH

Larutan DPPH dipipet sebanyak 2,0 mL kemudian ditambahkan larutan buffer asetat pH 5,5 sebanyak 2,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan etanol 96% sampai volume 5,0 mL dalam labu ukur. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm.

C. Pembuatan Kontrol Positif Vitamin C

Vitamin C dibuat dengan cara menimbang sebanyak 50,0 mg Vitamin C, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 250,0 ml hingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 200 ppm. Selanjutnya dari larutan tersebut diencerkan menjadi larutan dengan konsentrasi 1, ppm, 2 ppm, 4 ppm dan 6 ppm, 8 ppm.

D. Pengukuran Daya Antioksidan Vitamin C

Vitamin C dengan konsentrasi yang telah dibuat 1,2,4,6 dan 8 ppm, masing-masing dipipet sebanyak 2,0 mL lalu ditambahkan sejumlah 2,0 mL buffer asetat dan 1,0 ml DPPH. Kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

E. Pengukuran Aktivitas Pengikatan DPPH

Ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* dibuat konsentrasi 100-1000 ppm Masing-masing dipipet sebanyak 2,0 mL, ditambahkan 2,0 mL buffer asetat dan 1,0 mL larutan pereaksi DPPH pada labu ukur. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap selama 30 menit, kemudian absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Peredaman} = (A \text{ blanko} - A \text{ sampel}) / A \text{ blanko} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* dengan rendemen sebesar 3,1314%. Ekstrak tersebut ditentukan aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) karena metode ini adalah metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka[9]. Pengukuran dengan metode ini memiliki prinsip adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampur dengan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan dan memiliki kemampuan dalam mendonorkan hydrogen sehingga mampu meredam radikal bebas.

Pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga akan didapatkan nilai absorbansi yang nantinya dapat dihitung nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai besaran konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas akan semakin tinggi[9]. Nilai IC₅₀ untuk ekstrak dapat dilihat pada table 1.

Pada pengujian ini menggunakan sampel ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* yang berasal dari Madura. Larutan ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* dibaca pada panjang gelombang 516 nm. Kontrol positif yang digunakan yaitu vitamin C karena memiliki gugus hidroksi bebas yang dapat bertindak sebagai penangkap radikal bebas serta adanya gugus polihidroksi yang juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan[10]. Tujuan digunakan kontrol positif adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak etanol 96% *S. polycystum* bila dibandingkan dengan vitamin C. Apabila nilai IC₅₀ yang didapatkan oleh sampel sama atau mendekati nilai IC₅₀ dari kontrol positif maka dapat diartikan bahwa sampel

memiliki potensi sebagai salah satu alternative antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC₅₀ untuk kontrol positif vitamin C dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% *Sargassum polycystum*

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Persamaan (y=bx+a)	IC ₅₀ (µg/ml)
Blanko	0,0750		
156	0,0590	y = 0,0820x + 9,5762 r =0,9750	492,9732
490	0,0640		
501	0,0400		
840	0,0170		

Tabel 2 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Persamaan (y=bx+a)	IC ₅₀ (µg/ml)
Blanko	0,0940	y = -20,7333x + 111,16, r=0,9698	2,9498
1,014	0,015		
2,028	0,020		
4,056	0,117		

Suatu zat memiliki sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 µg/mL dimana zat tersebut kurang aktif namun masih memiliki potensi sebagai zat antioksidan. Berdasarkan perhitungan, diperoleh nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 2,94 µg/mL sedangkan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* adalah sebesar 492,97 µg/mL sehingga ekstrak etanol 96% *S.poycystum* memiliki aktivitas antioksidan yang lemah bila dibandingkan dengan kontrol positif yaitu vitamin C[9]. Penelitian serupa yang dilakukan juga mendapatkan nilai IC₅₀ *S.poycystum* sebesar 624,76 µg/mL [11].

Golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu flavonoid, yang merupakan kelompok fenolik terbesar dan terdapat luas pada tanaman. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena pada strukturnya memiliki gugus hidroksil yang mampu mendonorkan atom hydrogen ke radikal bebas dan menstabilkan[12]. Flavonoid menunjukkan efektivitas dan interaksi pada berbagai jalur untuk menghambat penyakit, utamanya sebagai antioksidan[11]

Lemahnya aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Kemungkinan pertama adalah senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan menurun dengan adanya gugus glikosida[13].

Ekstrak yang masih belum murni juga dapat memberikan aktivitas yang lemah karena masih terdiri dari berbagai macam komponen senyawa[14].

Faktor lainnya yaitu adanya golongan senyawa metabolit sekunder steroid dan terpenoid pada alga coklat *S. polycystum* sesuai dengan hasil skrining[5]. Golongan senyawa steroid dan terpenoid tidak dapat mendonorkan atom hidrogen untuk meredam radikal DPPH[6].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% *Sargassum polycystum* memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 492,97 µg/mL bila dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,94 µg/mL

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Kadi, "Beberapa catatan kehadiran marga *Sargassum* di perairan Indonesia," *Oseana*, 2005.
- [2] S. Sedjati, E. Supriyantini, A. Ridlo, N. Soenardjo, and V. Y. Santi, "Kandungan Pigmen, Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan *Sargassum* sp.," *J. Kelaut. Trop.*, 2018, doi: 10.14710/jkt.v21i2.3329.
- [3] Chalvin S. Pakidi dan Hidayat Suryanto Suwoyo, "Potensi dan Pemanfaatan Bahan Aktif Alga Cokelat *Sargassum* Sp," *Octopus*, 2016.
- [4] Nurjanah, M. Nurilmala, E. Anwar, N. Luthfiyana, and T. Hidayat, "Identification of bioactive compounds of seaweed *sargassum* sp. and *eucheuma cottonii* doty as a raw sunscreen cream," 2017.
- [5] P. Riwanti and F. Izazih, "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% *Sargassum polycystum* dan Profile dengan Spektrofotometri Infrared," *Acta Holistica Pharm.*, 2019.
- [6] F. J. Sami, N. H. Soekamto, F. Firdaus, and J. Latip, "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA EKSTRAK ALGA COKLAT *Sargassum polycystum* DAN *Turbinaria deccurens* ASAL PULAU DUTUNGAN SULAWESI SELATAN TERHADAP RADIKAL DPPH," *J. Kim. Ris.*, 2019, doi: 10.20473/jkr.v4i1.10903.
- [7] S. H. Manteu, Nurjanah, and T. Nurhayati, "Karakteristik Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum* dan *Padina minor*) Dari Perairan Pohuwato Provinsi Gorontalo," *Jphi*, 2018.
- [8] N. Francenia Santos-Sánchez, R. Salas-Coronado, C. Villanueva-Cañongo, and B. Hernández-Carlos, "Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism," in *Antioxidants*, 2019.
- [9] P. Molyneux, "The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity," *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2004, doi: 10.1287/isre.6.2.144.
- [10] J. S. Kim, "Radical scavenging capacity and antioxidant activity of the E vitamers fraction in rice bran," *J. Food Sci.*, 2005, doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb07127.x.
- [11] A. Arsianti *et al.*, "Phytochemical composition and evaluation of marine algal *Sargassum polycystum* for antioxidant activity and in vitro cytotoxicity on hela cells," *Pharmacogn. J.*, 2020, doi: 10.5530/pj.2020.12.14.

- [12] P. Karak, "Biological Activities of Flavonoids: an Overview," *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2019.
- [13] J. B. Harborne, "Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro," *Penerbit ITB, Bandung*, 1987.
- [14] F. J. Sami and S. Rahimah, "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL BUNGA BROKOLI (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) DENGAN METODE DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan METODE ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)," *J. Fitofarmaka Indones.*, 2016, doi: 10.33096/jffi.v2i2.179.

Pemilihan Panjang Gelombang Maksimal

