

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN INHIBITOR ALFA GLUKOSIDASE DARI FRAKSI BERBEDA RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum* sp.)**ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ALPHA GLUCOSIDASE INHIBITORS FROM DIFFERENT FRACTIONS OF BROWN SEAWEED (*Sargassum* sp.)**

Andarini Diharmi, Rahel Eriani Maria Manurung, Edison

INFO ARTIKELSubmit: 27-7-2024
Perbaikan: 1-2-2025
Diterima: 9-2-2025**Keywords:**

Extract, fraction, total phenol, n-hexane, secondary metabolic

ABSTRACT

Sargassum sp. is one of the brown seaweed that contains bioactive compounds, antioxidant, and alpha glucosidase inhibitor activity. This research was aimed to determine the yield, secondary metabolic, total phenolic, antioxidant, and alpha glucosidase inhibitor from the extract and fractions of *Sargassum* sp. The research method used was an experiment by extracting *Sargassum* sp with methanol and the extract were fractionated with different polarity solvents (n-hexane, ethyl acetate, and ethanol). Data were analyzed descriptively. The results showed that the yield of the n-hexane, ethanol, and ethyl acetate fractions were 4.15, 4.91, and 4.94%, respectively. The secondary metabolic analysis of methanol extract were alkaloids, steroids/terpenoids, saponins, and phenolic. The secondary metabolites from the n-hexane and ethyl acetate fractions were identified as the same compounds (steroids, saponins and phenols), except for the alkaloids only ethyl acetate fraction. The ethanol and fractions contained only saponins. The total phenolic content of the methanol extract, n-hexane, ethyl acetate, and ethanol fractions were 21161.03, 7854.46, 1626.89, and 80.17 ppm respectively. Antioxidants in methanol extract, n-hexane, ethyl acetate, ethanol fractions using DPPH were 329.42, 466.25, 535.08, and 80.17 ppm respectively. Antioxidants in methanol extract, n-hexane, ethyl acetate, and ethanol fractions using FRAP were 196.15, 294.88, 364.26, and 492.68 ppm respectively. Alpha glucosidase inhibitor in n-hexane fraction with an IC₅₀ value of 538110.9 ppm. The n-hexane fraction showed the highest activity in total phenol, antioxidant, and alpha glucosidase inhibitor.

1. PENDAHULUAN

Rumput laut adalah salah satu sumber daya hayati unggulan yang sangat melimpah di perairan Indonesia. Negara Indonesia mengeksport rumput laut sebanyak 180,6 ribu ton pada tahun 2022 dengan tujuan negara Tiongkok. Rumput laut di Indonesia masih belum diolah lebih lanjut dan ekspor rumput laut di dominasi oleh rumput laut kering sebesar 93,2% (KKP, 2022). Salah satu jenis rumput laut dengan kelimpahan tinggi namun belum dimanfaatkan secara optimal yaitu jenis *Sargassum* sp (Renhoran *et al.*, 2017).

Sargassum sp. merupakan salah satu jenis rumput laut cokelat yang mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu fenolik, flavonoid, tanin, β -karoten, steroid, saponin, dan alkaloid (Mulyadi *et al.* 2019). Menurut Nawaly *et al.* (2013)

senyawa bioaktif seperti fenol, karotenoid, sulfat polisakarida, dan vitamin yang terdapat pada rumput laut dapat berpotensi sebagai antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa atau molekul yang dapat mencegah atau menunda terjadinya radikal bebas (Kochhar & Rossell 1990). Menurut Sadikin (2001) senyawa radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif, penyakit autoimun hingga kanker. Oleh karena itu, tubuh memerlukan substansi penting, yaitu antioksidan yang membantu mencegah atau melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Struktur sel rumput laut diketahui serupa dengan struktur kulit manusia, sehingga dapat diasumsikan senyawa bahan alam yang ditemukan di sel rumput laut dapat bermanfaat bagi kulit. Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan sintetis dan alami.

Antioksidan sintetis memiliki efektivitas tinggi, namun bersifat karsinogenik dan dapat menyebabkan kerusakan hati (Heo *et al.* 2005). Kekurangan antioksidan sintetis menjadikan

Andarini Diharmi, Rahel Eriani Maria Manurung*, Edison
Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Riau*Email: raheleriani@gmail.com

antioksidan alami sebagai pilihan utama dalam menangkal radikal bebas. Antioksidan alami lebih aman digunakan karena tidak mengandung bahan senyawa yang berbahaya, bahan alami dapat diperoleh baik dari tanaman dari darat maupun laut. Menurut Muniarsih dan Rachmaniar (1999) aktivitas antioksidan organisme dari laut lebih tinggi dibandingkan organisme dari darat karena organisme laut mengandung senyawa metabolit sekunder yang lebih tinggi. Salah satu organisme laut yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah rumput laut. Menurut Nagai & Yukimoto (2003) senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan dan terdapat pada rumput laut cokelat.

Pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman dan bahan pangan dapat menggunakan metode *2,2-Diphenyl-1-Pikrihidrazil* (DPPH) (reaksi dengan radikal bebas), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) (reaksi reduksi-oksidasi), dan *Cupricion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC) (Widyastuti 2010). Metode uji aktivitas antioksidan yang berbeda dapat memberikan hasil uji yang beragam dikarenakan adanya pengaruh dari sumber radikal bebas, struktur kimiawi, antioksidan, dan sifat fisiko kimia dari bahan pangan.

Salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan adalah polifenol. Sifat polifenol dapat menghambat kerja enzim penghidrolisis karbohidratik, alfa amilase, dan alfa glukosidase (Apostolidis *et al.* 2011). Inhibitor alfa glukosidase merupakan salah satu agen antidiabetik yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim alfa glukosidase di usus halus dan efektif mengubah karbohidrat menjadi glukosa di dalam sistem pencernaan dan mengurangi peningkatan kadar glukosa *postprandial* pada penderita diabetes (Shinde *et al.* 2008). Inhibitor enzim alfa glukosidase seperti akarbose mampu mengobati penyakit diabetes melitus tipe II namun akarbose dilaporkan menyebabkan berbagai efek samping seperti muntah, mual, kembung, dan nyeri perut (Nakhaee & Sanjari 2013). Masyarakat Indonesia juga masih mengonsumsi karbohidrat dalam jumlah yang besar dan menjadi salah satu faktor penyebab peningkatan jumlah penderita diabetes melitus.

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa senyawa bioaktif memiliki kemampuan sebagai aktivitas antioksidan dan menghambat kerja enzim alfa glukosidase. Kandungan senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara ekstraksi maserasi dan fraksinasi. Fraksinasi merupakan salah satu metode dengan prinsip memisahkan senyawa yang memiliki kepolaran

sesuai dengan sifat kepolaran pelarut yang digunakan dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Lona 2018).

Berdasarkan hal ini, maka penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan inhibitor enzim alfa glukosidase terutama terhadap fraksi rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.) menggunakan tiga pelarut yang berbeda polaritas yaitu heksana, etil asetat, dan etanol perlu dilakukan. Studi pustaka pengujian ini masih belum ditemukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan rendemen, identifikasi senyawa bioaktif secara kualitatif (fitokimia), total fenol, aktivitas antioksidan menggunakan dengan metode DPPH, FRAP dan aktivitas inhibitor alfa glukosidase dari fraksi rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.).

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.) yang diperoleh dari Pantai Sepanjang Gunung Kidul, Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan yaitu pelarut metanol p.a (*Merck*), etil asetat p.a (*Merck*), etanol p.a (*Merck*), larutan kloroform, ammonia, larutan H_2SO_4 pekat, larutan pereaksi mayer dan dragendroff, serbuk Mg, HCl pekat, CH_3COOH pekat, HCl 1 N, $FeCl_3$ 1, reagen *Folin-Ciocalteu* 50%, asam galat, $NaCO_3$ jenuh, serbuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), vitamin C, *buffer fosfat* 0,2 M (pH 6,6), kalium ferisianida 1%, asam trikloroasetat (CCl_3CO_2H) 10%, $FeCl_3$ 0,1%, enzim alfa glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae recombinant* (*Sigma Aldrich*, USA), substrat p-nitrofenil-a-D-glukopiranosida (PNPG) (*Sigma Aldrich*, USA), akarbose (Dexa Medica), sodium karbonat (*Merck*, Jerman), dan *buffer fosfat* 0,1 M (pH 7,0). Bahan habis pakai antara lain, *tissue*, *aluminium foil*, dan kertas label.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, grinder, gunting, wadah, saringan, ayakan 60 mesh, wadah bening untuk maserasi, timbangan analitik, gelas *beaker*, kertas saring, *rotary vacuum evaporator* (BUCHI *Waterbath* B-480), botol bening, corong pisah, pipet tetes, tabung reaksi, *sentrifuge*, *vortex*, spektrofotometer *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis), labu ukur, mikropipet, mikrotip, dan kuvet.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksploratif dengan melakukan percobaan secara

langsung dan dianalisa secara deskriptif yaitu melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder *Sargassum* sp. secara kualitatif, pengujian kadar total fenol, pengujian aktivitas antioksidan serta uji inhibitor alfa glukosidase dari fraksi berbeda rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.).

Preparasi Bahan Baku

Sargassum sp. dicuci dengan air mengalir sebanyak tiga kali untuk menghilangkan benda asing/kotoran yang menempel pada rumput laut. Selanjutnya dilakukan penirisan dan dikeringkan dengan cara dianginkan-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari secara langsung selama 48 jam sampai rumput laut kering. *Sargassum* sp. yang sudah kering dilakukan pengecilan ukuran dengan cara dipotong dan ditepungkan menggunakan blender dan grinder kemudian dilakukan pengayakan dengan ukuran ayakan 60 mesh.

Ekstraksi Tepung *Sargassum* sp.

Prosedur ekstraksi tepung *Sargassum* sp. mengacu pada Alamsyah *et al.* (2014). Tahap pertama adalah mencampurkan sampel sebanyak 900 g dan pelarut metanol dengan perbandingan 1:3 (b/v) dan dibiarkan selama 72 jam disertai pengadukan setiap 10 jam sekali. Setelah proses maserasi selama 72 jam, selanjutnya ekstrak *Sargassum* sp. disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Pelarut diuapkan menggunakan alat *rotary vacum evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental metanol.

Fraksinasi Ekstrak *Sargassum* sp.

Fraksinasi ekstrak kental metanol *Sargassum* sp. menggunakan metode corong pisah dan di fraksinasi dengan pelarut yang berbeda polar yaitu heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Sampel sebanyak 150 ml disuspensikan dengan akuades, kemudian ditambahkan pelarut heksana dengan perbandingan 1:1:1 (v/v/v), dihomogenkan dan dibiarkan sampai memisah selama 15 menit. Didapatkan fraksi heksana (di bagian atas) dan fraksi air (di bagian bawah). Fraksi air yang diperoleh selanjutnya ditambahkan 150 ml pelarut etil asetat, dihomogenkan dan dibiarkan selama 15 menit sampai memisah. Didapatkan fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi air yang didapat ditambah dengan 150 ml pelarut etanol kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 15 menit sampai memisah dan didapatkan fraksi etanol dan fraksi air. Selanjutnya, setiap hasil fraksi yang

didapat, diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator* dengan suhu 40°C sehingga diperoleh masing-masing fraksi heksana, etil asetat, dan etanol *Sargassum* sp.

Perhitungan Rendemen (AOAC 1995)

Rendemen merupakan perbandingan antara berat produk yang dihasilkan dengan berat awal bahan. Rendemen ditentukan terhadap ekstrak kental metanol (berat awal) dan fraksi kental pada pelarut berbeda yaitu heksana, etil asetat, dan etanol (berat akhir). Hasil pembagian berat akhir dan berat awal diinterpretasikan dalam persen (%). Rendemen diperoleh dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat akhir (g)}}{\text{berat awal (g)}} \times 100\%$$

Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder *Sargassum* sp. (Harborne 1996)

a. Alkaloid

Ekstrak sebanyak 50 mg ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml ammonia dan disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diberi 3-5 tetes H₂SO₄ pekat dan dihomogenkan hingga terbentuk dua lapisan dan diperoleh fraksi asam. Fraksi asam diambil dan ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff masing-masing sebanyak 4-5 tetes. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada Pereaksi Mayer dan endapan merah jingga pada Pereaksi Dragendorff

b. Flavonoid

Ekstrak sebanyak 50 mg ditambahkan 100 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit. Ekstrak kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mg HCL pekat dan dihomogenkan. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, jingga atau kuning.

c. Steroid dan terpenoid

Ekstrak sebanyak 50 mg diberi 10 tetes CH₃COOH dan 2 tetes H₂SO₄ pekat. Ekstrak dihomogenkan dan dibiarkan selama beberapa menit. Hasil positif pada uji steroid ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna hijau dan berwarna merah atau cokelat pada uji terpenoid.

d. Saponin

Ekstrak sebanyak 50 mg ditambahkan 10 ml akuades dan dikocok selama 1 menit. Larutan diberi 2 tetes HCL 1 N. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa stabil selama ± 7 menit.

e. Fenolik

Ekstrak sebanyak 50 mg diberi 10 tetes FeCl₃

1%. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau, merah, hitam, ungu atau biru.

Uji Kadar Total Fenol *Sargassum* sp. (Orak 2007)

Uji kadar total fenol *Sargassum* sp. dilakukan dengan menggunakan Reagen *Folin-Ciocalteu* dan asam galat sebagai kontrol positif. Ekstrak sebanyak 10 mg dilarutkan di dalam 10 ml metanol. Larutan diambil sebanyak 0,1 ml ditambahkan 7,9 ml akuades dan 0,5 ml Reagen *Folin-Ciocalteu* pada tabung reaksi. Larutan divortex selama 1 menit. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan Natrium Karbonat 20% sampai tanda batas. Larutan diinkubasi selama 90 menit dan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 775 nm. Pengujian kadar total fenol akan membentuk senyawa kompleks berwarna biru yang disebabkan oleh reaksi antara senyawa fenolik pada sampel dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Nilai kadar total fenol dinyatakan dalam rumus berikut:

$$\text{Kadar total fenol} = \frac{x \cdot v \cdot fp}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan:

x = konsentrasi (ppm)

v = volume larutan ekstrak (ml)

fp = faktor pengenceran larutan sampel

Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (Zhang et al. 2006)

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 50 ml dengan perbandingan 1:1 (b/v) dan diperoleh sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk diencerkan di dalam labu ukur 20 ml dengan konsentrasi 750, 500, 250, 125 dan 62,5 ppm dan ditambahkan masing-masing metanol sampai tanda batas. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan konsentrasi dipipet sebanyak 4,5 ml menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 ml larutan DPPH 100 PPM. Larutan dihomogenisasi dan diinkubasi selama 30 menit dengan suhu ruang di tempat gelap. Nilai absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan ditentukan dari besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persen inhibisi yang dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

A kontrol = absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel = absorbansi sampel

Nilai konsentrasi sampel dan persen inhibisi diplot pada sumbu x dan y untuk memperoleh persamaan regresi linear dengan bentuk persamaan $y = ax + b$. Persamaan ini digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dengan nilai y yaitu 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} .

Uji Antioksidan dengan Metode FRAP (Vijayalakshmi & Kandasamy 2016)

Sampel sebanyak 50 mg dilarutkan ke dalam 5 ml etanol di dalam labu ukur 5 ml sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk diencerkan ke dalam labu ukur 5 ml hingga diperoleh konsentrasi 500, 250, 125, dan 62,5 ppm. Larutan ditambahkan 1 ml *buffer fosfat* 0,2 M (pH 6,6) dan 1 ml kalium ferisianida 1%. Larutan diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah larutan diinkubasi, larutan ditambahkan 1 ml TCA lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1 ml akuades dan 0,5 ml $FeCl_3$ 0,1% kemudian didiamkan selama 10 menit dan dibaca nilai absorbansi dengan panjang gelombang 681 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Hal yang sama dilakukan pada vitamin C sebagai pembanding. Nilai persen inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100 \%$$

A kontrol = absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel = absorbansi sampel

Nilai konsentrasi sampel dan persen inhibisi diplot pada sumbu x dan y untuk memperoleh persamaan regresi linear dengan bentuk persamaan $y = ax + b$. Persamaan ini digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dengan nilai y yaitu 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai nilai IC_{50} .

Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan ulangan sebanyak tiga kali. Data yang diperoleh dari rata-rata dan standar deviasi disajikan dalam bentuk tabel dan gambar yang selanjutnya dianalisa secara deskriptif sehingga dapat dijelaskan dan

ditarik suatu kesimpulan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Rumput Laut Cokelat *Sargassum* sp.

Sargassum sp. memiliki bentuk daun yang lebar dan panjang, *thallus* yang berwarna cokelat, licin, berbentuk silindris dan gepeng serta memiliki banyak percabangan dan setiap percabangan memiliki gelembung udara atau disebut dengan *bladder*. Tepung *Sargassum* sp. yang telah melewati proses pengecilan ukuran mengalami perubahan warna menjadi cokelat gelap dibandingkan dengan *Sargassum* sp. segar yang berwarna cokelat terang. Perubahan warna yang terjadi pada tepung *Sargassum* sp. disebabkan adanya proses *browning* saat penjemuran rumput laut dan terkena panas saat proses pengecilan ukuran menggunakan blender dan grinder.

Ekstrak Metanol *Sargassum* sp.

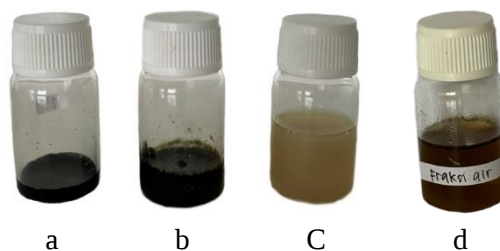
Ekstrak kasar yang diperoleh memiliki karakteristik cair dan berwarna hijau kecokelatan yang berasal dari kandungan pigmen *Sargassum* sp. Prinsip metode maserasi yaitu pelarut akan menyebabkan perbedaan tekanan osmosis diluar sel dan di dalam sel sehingga senyawa aktif yang terdapat pada sel tumbuhan akan terdesak keluar (Dean, 2009). Keunggulan dari metode maserasi berupa cara pengerjaan dan penggunaan peralatan yang sederhana, tidak menyebabkan kerusakan pada senyawa yang termolabil. Namun, waktu pengerjaan metode ini relatif lebih lama dibandingkan metode ekstraksi lainnya (Marjoni, 2016). Hasil maserasi *Sargassum* sp. menggunakan pelarut metanol dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ekstrak kasar metanol

Fraksinasi Ekstrak *Sargassum* sp.

Ekstrak kasar metanol *Sargassum* sp. mengandung seluruh senyawa bioaktif yang bersifat polar, semi polar, dan non polar. Metode ini bertujuan untuk mendapatkan ekstrak senyawa bioaktif yang lebih spesifik berdasarkan tingkat kepolarannya. Hasil fraksinasi *Sargassum* sp. yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil fraksinasi *Sargassum* sp. a) heksana, b) etil asetat, c) etanol, d) air

Gambar 2 menunjukkan bahwa fraksi yang diperoleh berbentuk pasta dan setiap pelarut memiliki warna yang berbeda, dimana fraksi heksana (non polar) dan fraksi etil asetat (semi polar) berwarna hijau pekat sedangkan fraksi etanol (polar) dan fraksi air berwarna kuning kecokelatan. Perbedaan warna ini disebabkan karena pada saat ekstraksi menggunakan pelarut metanol, sehingga senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar telah terekstrak lebih dulu. Fraksi yang diperoleh dalam bentuk pasta mengandung senyawa bioaktif yang memiliki konsentrasi tinggi dan tidak mengandung pelarut dan air.

Rendemen Fraksi *Sargassum* sp.

Rendemen fraksi menggambarkan perbandingan jumlah berat fraksi yang dihasilkan dengan berat ekstrak awal yang digunakan. Perhitungan rendemen dari fraksi heksana, etil asetat, dan etanol disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen fraksi *Sargassum* sp.

No.	Jenis pelarut	Rata-rata rendemen (%)
1.	Heksana	4,15 ± 0,08
2.	Etil asetat	5,81 ± 0,07
3.	Etanol	4,94 ± 0,01

Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen fraksi *Sargassum* sp. dengan jenis pelarut yang berbeda diperoleh fraksi tertinggi yaitu fraksi etil asetat sebesar 5,81%. Hal ini menunjukkan bahwa *Sargassum* sp. mempunyai sifat kepolaran yang mendekati kepolaran dari pelarut etil asetat. Menurut Tensiska *et al.* (2001), pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mampu menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar.

Rendemen fraksi yang diperoleh menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen hasil penelitian Azisari (2021) pada *Sargassum plagyophyllum* yang difraksinasi menggunakan pelarut heksana, etil asetat, dan butanol, dengan rendemen masing-masing 0,60%,

0,55%, dan 0,59%. Selain itu, juga terbukti lebih tinggi dibandingkan penelitian Edison *et al.* (2020) terhadap ekstrak kasar *Sargassum plagyophyllum*, dengan nilai rendemen ekstrak heksana 0,06%, etil asetat 0,28%, dan metanol 0,31%. Hal ini menunjukkan bahwa metode fraksinasi mempengaruhi nilai rendemen karena pemilihan pelarut dengan polaritas berbeda.

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Identifikasi senyawa metabolit sekunder bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi *Sargassum* sp. Hasil pengujian fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia *Sargassum* sp.

Senyawa bioaktif	Sampel			
	Ekstrak metanol	Fraksi heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol
Alkaloid	+	-	+	-
Flavonoid	-	-	-	-
Steroid/terpenoid	+	+	+	-
Saponin	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	-

(+) ada, (-) tidak ada

Hasil uji alkaloid menunjukkan hasil positif pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat karena terdapat endapan berwarna putih saat direaksikan dengan Pereaksi Mayer dan endapan merah saat direaksikan dengan pereaksi Dragendroff. Alkaloid mengandung nitrogen dan memiliki ikatan dengan gugus amida, amina, metoksi, dan fenol yang menyebabkan senyawa ini lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat semi polar. Sifat alkaloid yang semi polar menyebabkan senyawa ini larut dalam pelarut etil asetat (semi polar) namun tidak larut dalam pelarut heksana (non polar).

Hasil uji flavonoid menunjukkan hasil negatif pada seluruh jenis fraksi, karena tidak terjadi perubahan warna menjadi merah, kuning, atau jingga. Hasil ini berbeda dengan penelitian Sukandar *et al.* (2021) yang memperoleh hasil positif pada sampel *Sargassum cinerum*. Perbedaan ini diduga karena jenis *Sargassum* yang diuji berbeda, senyawa flavonoid telah terdegradasi selama proses ekstraksi atau fraksinasi dan tidak terdapat dalam jumlah yang cukup besar untuk terdeteksi secara kualitatif.

Hasil uji steroid/terpenoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak metanol, fraksi heksana, dan

fraksi etil asetat yang ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna hijau saat direaksikan dengan H_2SO_4 serta terbentuknya cincin berwarna cokelat pada terpenoid. Fraksi etanol menunjukkan hasil negatif pada senyawa steroid/terpenoid diduga karena pada saat fraksinasi senyawa steroid/terpenoid telah lebih dulu ditarik oleh pelarut metanol, heksana, dan etil asetat.

Hasil uji saponin pada ekstrak metanol dan semua hasil fraksi ditemukan adanya senyawa saponin yang dapat diketahui dengan terdapatnya busa atau buih yang stabil selama sekitar 7 menit. Hasil ini sejalan dengan pernyataan Marlina (2015) yang menyatakan bahwa saponin berbentuk glikosida sehingga memiliki kemampuan untuk membentuk buih dalam air dan menghasilkan gelembung ketika dikocok dalam air pada konsentrasi rendah.

Hasil uji fenolik menunjukkan hasil positif pada ekstrak metanol, fraksi heksana, dan fraksi etil asetat, ditandai dengan munculnya warna hijau dalam larutan sampel setelah ditetes reagen. Namun, fraksi etanol dan fraksi air menunjukkan hasil negatif karena larutan sampel tidak mengalami perubahan warna. Hal ini diduga karena pada saat fraksinasi, senyawa fenolik telah efektif ditarik oleh pelarut metanol, heksana, dan etil asetat, sehingga senyawa fenolik pada fraksi etanol dan fraksi air tidak dalam jumlah yang cukup besar untuk terdeteksi secara kualitatif.

Kadar Total Fenol

Pengukuran kadar total fenol sangat penting dalam menguji aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kadar total fenol dalam suatu bahan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Djapiala *et al.* 2013). Hasil pengujian kadar total fenol ekstrak dan fraksi *Sargassum* sp. disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki nilai kadar total fenol yang paling tinggi yaitu 21161,03 ppm (2,17%) dan fraksi heksana memiliki nilai kadar total fenol tertinggi diantara fraksi lain yaitu 7854,46 ppm (0,78%). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa fenol yang cenderung bersifat non polar dalam fraksi heksana, dan selama proses fraksinasi, pelarut heksana efektif menarik. Perbedaan nilai kadar total fenol pada masing-masing fraksi tergantung pada polaritas pelarut yang digunakan.

Tabel 3. Kadar total fenol *Sargassum* sp.

Sampel	Hasil (ppm)
Ekstrak metanol	21161,03
Fraksi heksana	7854,46
Fraksi etil asetat	1626,89
Fraksi etanol	80,17

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan *Sargassum* sp. diukur menggunakan nilai IC_{50} yang dihitung dari regresi linear antara konsentrasi ekstrak dengan nilai inhibisi DPPH dan FRAP. Hasil dari analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan FRAP pada fraksi berbeda *Sargassum* sp. disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata nilai IC_{50} antioksidan dari fraksi berbeda *Sargassum* sp.

Sampel	IC_{50} (ppm)	
	DPPH	FRAP
Ekstrak methanol	329,42	196,15
Fraksi heksana	466,25	294,88
Fraksi etil asetat	535,08	364,26
Fraksi etanol	993,65	492,68

Ekstrak metanol menunjukkan nilai aktivitas antioksidan terkuat pada metode DPPH dan FRAP dengan nilai IC_{50} sebesar 329,42 ppm dan 196,15 ppm, sedangkan fraksi heksana menunjukkan nilai aktivitas antioksidan terkuat diantara fraksi yang lain dengan nilai IC_{50} pada metode DPPH sebesar 466,25 ppm dan metode FRAP sebesar 294,88 ppm.

Hasil uji antioksidan pada *Sargassum* sp. menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang lebih kuat pada metode FRAP lebih efektif dibandingkan dengan metode DPPH. Metode FRAP merupakan metode analisis yang biasa digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan dalam mereduksi Fe(III)-TPTZ menjadi Fe(II)-TPTZ dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru. TPTZ sendiri adalah *colorants* dan Fe(III) merupakan radikal bebas. Kekuatan antioksidan yang menggunakan FRAP tidak perlu melibatkan perlakuan *pre-treatment* karena dianggap konstan dan linear dengan hasil pengujian. Hal ini menandakan bahwa metode FRAP lebih unggul karena mampu memberikan informasi tentang kapasitas antioksidan total. Sedangkan metode DPPH hanya memberikan informasi tentang aktivitas antioksidan spesifik terhadap radikal bebas DPPH. Menurut Syarif *et al.* (2015), metode FRAP adalah metode yang cocok digunakan untuk menguji antioksidan pada tumbuhan. Oleh karena itu, metode FRAP dianggap lebih sensitif dan

memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan dengan metode DPPH.

Hasil analisis aktivitas antioksidan dari fraksi yang berbeda menunjukkan fraksi heksana memiliki efektivitas yang lebih baik dalam meredam radikal bebas dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi etanol. *Sargassum* sp. diduga mengandung lebih banyak senyawa bioaktif yang bersifat non polar daripada senyawa polar. Hal ini sesuai dengan hasil pengujian fitokimia dan kadar total fenol, dimana fraksi heksana mengandung beragam jenis senyawa fitokimia dan memiliki nilai kadar total fenol lebih tinggi dibandingkan fraksi lainnya.

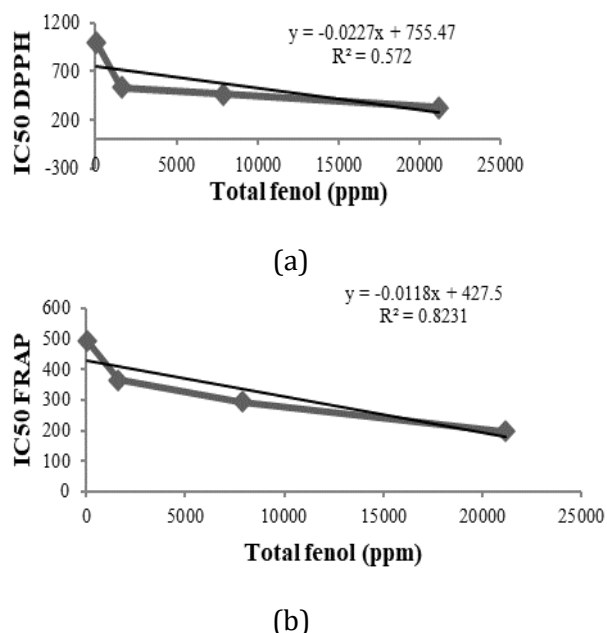
Korelasi Kadar Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan

Menurut Luo *et al.* (2010), total fenolik dari *Sargassum* sp. berkorelasi positif terhadap potensi antioksidan. Umumnya semakin tinggi kadar senyawa fenolik akan menyebabkan aktivitas antioksidan yang dimiliki juga semakin tinggi (Mongkolsilp *et al.* 2004) sehingga nilai antioksidan berbanding lurus dengan kandungan nilai fenolnya. Hubungan antara kadar total fenol dan aktivitas antioksidan pada fraksi *Sargassum* sp. disajikan pada Gambar 3 yang menunjukkan korelasi aktivitas antioksidan dengan senyawa fenolik.

Secara umum telah diketahui bahwa senyawa fenolik (fenol sederhana atau polifenol) berkorelasi tinggi dengan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh suatu ekstrak tumbuhan termasuk di dalam polifenol yaitu flavonoid, antosianin, dan tanin, sedangkan untuk fenol sederhana seperti asam fenolat (Rafi *et al.* 2012). Senyawa fenolik memiliki kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen atau elektron ke radikal bebas untuk membentuk zat antara yang stabil. Senyawa ini mengikat radikal bebas, menguraikan produk oksidasi dan mengkelat ion logam (Diniyah dan Lee 2020). Adanya hidrogen fenol yang dapat menangkap radikal bebas menyebabkan mayoritas senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan (Rafi *et al.* 2012).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada metode DPPH, sebesar 57,2% aktivitas antioksidan disebabkan oleh kelompok senyawa fenol, sedangkan isinya sebesar 42,8% dipengaruhi oleh variabel lain yang belum diketahui. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik memberikan korelasi sedang terhadap aktivitas antiradikal DPPH. Sedangkan pada metode FRAP, sebesar 82,31% aktivitas antioksidan disebabkan oleh senyawa fenol, sedangkan sisanya sebesar 17,69% diduga berasal

dari senyawa lain yang tidak termasuk dalam kelompok senyawa fenolik namun memiliki aktivitas antioksidan (Nur *et al.* 2019).



Gambar 3. Korelasi kadar total fenol dengan aktivitas antioksidan (a) DPPH dan (b) FRAP

Aktivitas Inhibitor Alfa Glukosidase

Enzim alfa glukosidase adalah salah satu jenis enzim hidrolase yang berfungsi dalam reaksi hidrolisis dan bertugas memutuskan ikatan glikosidik pada oligosakarida yang ada di dinding usus halus. Hasil pengujian inhibitor alfa glukosidase pada fraksi *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan bahwa fraksi heksana memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol, yang menandakan bahwa fraksi heksana memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase dibandingkan dengan sampel yang lain. Hal ini sesuai dengan hasil pengujian fitokimia dan kadar total fenol. Senyawa fenolik seperti flavonol efektif dalam menghambat alfa glukosidase (Lee *et al.* 2008).

Data dari Tabel 5 menunjukkan bahwa persentase inhibisi enzim alfa glukosidase mengalami peningkatan saat konsentrasi berada di rentang 312,5 ppm dan 5000 ppm yang menandakan bahwa kemampuan penghambatan enzim alfa glukosidase tergantung pada konsentrasi. Namun, nilai persen inhibisi dari keempat sampel termasuk kategori aktivitas alfa glukosidase yang lemah. Sehingga persentase penghambatan kerja enzim alfa-glukosidase Nilai IC_{50} besar.

Tabel 5. Hasil penghambatan alfa glukosidase

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC_{50} (ppm)
Ekstrak metanol	5000	8,157	$2,62 \times 10^{12}$
	2500	3,059	
	1250	2,039	
	625	1,686	
	312,5	1,294	
Fraksi heksana	5000	23,529	$5,38 \times 10^5$
	2500	20,157	
	1250	15,020	
	625	10,549	
	312,5	8,667	
Fraksi etil asetat	5000	4,353	$3,43 \times 10^{27}$
	2500	3,529	
	1250	3,373	
	625	3,020	
	312,5	1,725	
Fraksi etanol	5000	3,725	$8,74 \times 10^{23}$
	2500	3,137	
	1250	2,627	
	625	2,078	
	312,5	0,824	
Akarbose	10	95,881	0,1898
	5	88,787	
	1	73,227	
	0,5	64,531	
	0,1	38,825	

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi *Sargassum* sp. dengan pelarut berbeda polaritas menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda. Saponin ditemukan pada semua pelarut, fenolik dan steroid/terpenoid ditemukan pada ekstrak metanol, fraksi heksana, dan fraksi etil asetat, alkaloid ditemukan pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat. Fraksi heksana menunjukkan tertinggi pada total fenol (7854,46 ppm), antioksidan dengan metode DPPH (466,25 ppm) dan FRAP (294,88 ppm), dan inhibitor alfa glukosidase (538110,9 ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). 1995. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2022. Siaran Pers Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta: Pusat Data, Statistik, dan Informasi.
- Apostolidis E., Karayannakidis, P. D, Kwon, Y., Lee, C. M, Seeram, N. P. 2011. Seasonal Variation of Phenolic Antioxidant-Mediate α -Glucosidase Inhibition of *Ascomyces nodosum*. Plant Foods and Human Nutrition 66: 313-319.
- Dean, J. R. 2009. Extraction Techniques in Analytical Science. New York: John Wiley And Sons, Inc.
- Djapiala, Y. F., Montolalu, L., Mentang, F. 2013.

- Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut *Caulerpa racemosa* yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan Universitas Sam Ratulangi Manado. 1(2): 1-5.
- Edison., Diharmi, A., Ariani, N. M., Mirna, I. 2020. Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar *Sargassum plagyophyllum*. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 23(1): 58-66
- Harborne, J. B. 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Heo, S. J., Cha, S. H., Lee, K. W., Cho, S. M. K., Jeon, Y. J. 2005. Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island. Algae 20(3): 251-260.
- Kochhar, S. P., Rossel, J. B. 1990. Detection, Estimation, and Evaluation of Antioxidant in Food Systems. United Kingdom: B. J. F. Hudson (Ed), Food Antioxidant.
- Lee, S. S., Lin, H. C., Chen, C. K. 2008. Acylated Flavonol Monorhamnosides, α -Glucosidase Inhibitors from *Fagus hayatae*. Phytochemistry 74: 206-211
- Lona, A. T. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Luo, H. Y., Wang, B., Yu, C., Qu, Y., Su, C. 2010. Evaluation of Antioxidant Activities of Five Selected Brown Seaweeds From China. 5. Journal of Medicinal Plants Research 4(18): 2557-256.
- Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. Jakarta: Trans Info Medika
- Marlina, S. D. 2015. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) Dalam Ekstrak Etanol. [Skripsi]. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNS
- Mulyadi, M., Nur, I., Iba, W. 2019. Uji Fitokimia Ekstrak Bahan Aktif Rumput Laut *Sargassum* sp. Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan 3(1): 22-25.
- Muniarsih, T., Rachmaniar, R. 1999. Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu. Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia. Jakarta: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 151-158.
- Nagai, T., Yukimoto, T. 2003. Preparation and Functional Properties of Beverages Made From Sea Algae. Food Chemistry 81(3): 327-332.
- Nakhaee, A., Sanjari, M. 2013. Evaluation of Effect of Acarbose Consumption on Weight Losing in Non-Diabetic Overweight or Obese Patients in Kerman. J Res Med Sci 18(5): 391-394.
- Nawaly, H., Susanto, A. B., Uktolseja, J. L. A. 2013. Senyawa Bioaktif dari Rumput Laut Sebagai Antioksidan. Seminar Nasional X Pendidikan Biologi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret 10(1): 1-9.
- Nur, S., Sami, F. J., Wilda, R., Awaluddin, A., Afsari MIA. 2019. Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. Jurnal Farmasi Galenika 5(1): 33-42.
- Orak, H. H. 2007. Total Antioxidant Activities, Phenolics, Anthocyanins, Polyphenoloxidase Activities of Selected Red Grape Cultivars and Their Correlations. Scientia Horticulturae 111(3): 235-241.
- Renhoran, M., Noviendri, D., Setyaningsih, I., Uju. 2017. Ekstraksi dan Purifikasi Fukosantin dari *Sargassum* sp. Sebagai *anti-acne*. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 20(2):370-379.
- Sadikin, M. 2001. Pelacakan Dampak Radikal Bebas Terhadap Makromolekul. [Makalah]. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI.
- Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Hu, B., Kumar, S., Placido, J., Zito, S. W. 2008. A-Glucosidase Inhibitory Activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels Seed Kernel In Vitro and In Goto-Kakizaki (GK) rats. Carbohydrate Research 343(7): 1278-1281.
- Sukandar, T. K., Sukmiwati, M., Diharmi, A. 2021. Fraksi Aktif Rumput Laut Cokelat *Sargassum cinerum*. Berkala Perikanan Terubuk 49(3): 1363-1369.
- Vijayalakshmi, M., Kandasamy, R. 2016. Ferric Reducing Antioxidant Power Essay in Plant Extract. Bangladesh Journal of Pharmacology 11(3): 570-572
- Widyastuti, N. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Cuprac, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. [Skripsi]. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D. A., Barrow, C. J. 2006. A simple 96-Well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds. Journal of Applied Phycology 18(3-5): 445-450.