

**SENYAWA FENOLIK DAN ALGINAT DARI GANGGANG COKLAT
SARGASSACEAE INDO-PASIFIK: EKSTRAKSI, PEMURNIAN,
KUANTIFIKASI DAN AKTIVITAS SENYAWANYA.
Phenolic Compounds and Alginates from Brown Algae Sargassaceae Indo-Pacific:
Extraction, Purification, Quantification and Their Activity.**

Novi Indriyawati S.Kel

Program Studi Manajemen Sumberdaya Pantai (MSDP), Fakultas Ilmu Kelautan UNDIP
Desa Buddagan Kab Pamekasan Madura.

Email: novi_indriyawati@yahoo.co.id

Top of Form

Abstract

The isolation of molecules antioxidant activity has become the subject of intensive research because of the growing demand for food and pharmaceutical industries to develop carcinogenic compounds anti-aging, anti-inflammatory, anti-tumor and natural that provide measurable health benefits. The genus *Sargassum*, a kind of brown algae is a tropical and sub-tropical in subtidal and intertidal zones, comprising 150 species. In this study we used five species of brown algae, *Sargassum duplicatum*, *Sargassum aquifolium*, *Sargassum polycystum*, *echinocarpum*, *Sargassum* and *Cystoseira* sp. In general, in this study the highest content of phenolic compounds is measured to the crude extract, then the aqueous phase (AQ), and lowest in the content of ethyl acetate phase (AE). More were observed phenolic compound, the radical scavenging activity and content of the alginate. The extraction is done using a solvent mixture ethanol: water with different proportions 50:50 to 75:25. The highest value of alginates was observed in *Sargassum echinocarpum* (24% DM) and *Sargassum polycystum* (17% DM), and finally *Sargassum duplicatum* (14% DM) has little alginates.

Keywords: brown algae, fenol compounds, antioxidant, alginate

PENDAHULUAN

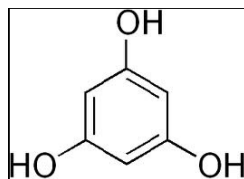
Selama beberapa dekade gaya hidup modern kita telah menghasilkan perubahan kimia lingkungan di mana kita hidup. Terutama konsentrasi toksik yang meningkat dalam makanan, udara dan air (Santoso, 2009). Selain itu, penyakit kronis sering berhubungan dengan konsentrasi bahan kimia beracun yang menyebabkan peradangan dan stres oksidatif. Namun, banyak orang menggunakan obat-obatan atau antibodi untuk melawan stres oksidatif dan tetap sehat, tetapi obat tersebut dapat berfungsi sebagai racun yang mengendap dalam tubuh kita.

Isolasi molekul dengan aktivitas antioksidan telah menjadi subjek penelitian intensif karena meningkatnya permintaan untuk industri makanan dan farmasi untuk mengembangkan anti-penuaan senyawa karsinogenik, anti-inflamasi, dan anti-tumor, yang memiliki manfaat kesehatan yang terukur.

Berdasarkan habitatnya, makroalga tropis dalam bertahan hidup mengembangkan sistem pertahanan untuk melawan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan oleh stres oksidatif akibat radiasi UV misalnya dikenal intens di lingkungan tropis (Stigeretal, 2004; Zubiaetal, 2007; Matanjunetal, 2008; LeLann, 2008). Senyawa fenolik merupakan molekul yang diketahui bertindak sebagai pertahanan alga coklat (Nagai dan Yokimoto, 2003). Banyak studi *in vitro* telah menunjukkan manfaat polifenol (Phlorotannin) alga coklat dan merah sebagai antioksidan alami (Marfaing 2007; Koivikko, 2008; LeLannetal, 2008; Zubiaetal, 2009; Stiger-Pouvreau *et al*, 2014).

Phlorotannin adalah kelompok senyawa fenolik disintesis oleh polimerisasi monomer phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene, Gambar 1) melalui asetat-malonat dalam rumput laut (Ragan dan Glombitza, 1986; Arnold dan Targett, 2000; Stiger-Pouvreau *et al*, 2014). Berdasarkan pada struktur kimianya, Phlorotannin diklasifikasikan menjadi empat kelompok berdasarkan jenis ikatan molekulnya (Stiger 2014). Pada alga coklat, polimer phloroglucinol disebut fucols, fuhalols, phlorethols (Ulusan Ragan dan Glombitza, 1986) dan carmalols Eckols (Heo dan Jeon, 2009; Jungetal, 2009).

Koivikko (2008) menunjukkan bahwa Phlorotannin memiliki peran penting dalam integritas struktural dari dinding sel-sel reproduksi rumput laut.



Gambar 1: Struktur phloroglucinol

Purifikasi senyawa fenolik memiliki banyak aktivitas senyawa seperti antioksidan (Cerantola *et al*, 2006; De la Cobaetal, 2009; Perez-Rodriguez *et al*, 2001), anti-radikal (Parys *et al*, 2010; Pouvreaueetal, 2008), perlindungan terhadap UV (Carreto dan Carina, 2011; De la Cobaetal, 2009; Hwang *et al*, 2006), khelasilogam (Connan dan Stengel, 2011), dananti-fouling (Lee *et al*, 2007; Mokrinietal, 2008; Nagayamaetal, 2002).

Saat ini, industri menggunakan antioksidan sintetis seperti BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) dan Propylaeagallate, yang diatur secara ketat di banyak negara karena berisiko terhadap kesehatan, dan dapat menyebabkan karsinogenik (Nawaly, 2013).

Selain senyawa fenolik, polisakarida juga melimpah pada dinding sel ganggang coklat, seperti alginat. Alginat merupakan komponen struktural utama dari dinding sel ganggang coklat, terutama terdiri dari asam β -D-manuronat dan asam α -L-gluronat (Zubia, 2007). Polisakarida bertindak sebagai pertahanan dan fleksibilitas pada dinding, dan juga membantu menjaga keseimbangan ion dan mencegah pengeringan. Dalam industri makanan, senyawa tersebut digunakan sebagaipengental dan agenpembentuk gel (Balboa *et al*, 2013).

Data perbandingan tentang kandungan senyawa polisakarida dalam ganggang coklat (Holdt dan Kraan, 2011; O'Sullivanetal, 2010; Zvyagintsevaetal, 2003), komposisi, sifat fungsional dan antioksidan telah dilaporkan (Cofrades *et al*, 2010; Elleuch *et al*, 2011; Rupe Saura-Calixto dan tanah, 2001). Efek positif dari rumput laut kasar dan fraksi halus pada saluran pencernaan (Jiménez-Sánchez-Muniz Escrig & 2000) dikonfirmasi secara *in vitro* (Rupérez dan Toledano, 2003) dan tikus (Gudiel-Urbano & Goni, 2002), babi, domba dan sapi (O'Sullivan *et al*, 2010).

Banyak penelitian mengacu pada pencarian molekul antioksidan dari ganggang laut dari lingkungan beriklim sedang. Namun, sedikit penelitian yang meneliti aktivitas antioksidan molekul dari ganggang di daerah tropis. Kami ingin mempelajari potensi antioksidan dari ganggang atau rumput laut di daerah tropis, terutama menemukan spesies rumput laut dari Indonesia untuk mengisolasi senyawa antioksidan.

Sargassum adalah genus dari ganggang coklat yang banyak ditemukan di daerah tropis dan sub-tropis pada daerah subtidal dan intertidal, terdapat 150 spesies di daerah tropis (Olabbarría *et al*, 2009). Faktanya, masih sedikit penelitian tentang aktivitas antioksidan rumput laut dari Indonesia khususnya mengenai spesies *Sargassum*. Kamitelah memilih jenis makroalga coklat untuk mencari aplikasi yang potensial, dengan demikian dapat

meningkatkan pengembangan spesies Indonesia. Kami berharap bisa menemukan aplikasi baru untuk meningkatkan dan mengembangkan pengolahan rumput laut di Indonesia.

Banyak rumput laut yang masih dimanfaatkan secara tradisional di Indonesia, terutama oleh warga pesisir. Rumput laut merupakan sumber bahan baku untuk mengekstrak zat tertentu (misalnya, fenol dan komposisi polisakarida), yang dibutuhkan oleh industri makanan, farmasi, pertanian, dan menjadi salah satu produk penting komersial (Supriyono, 2007).

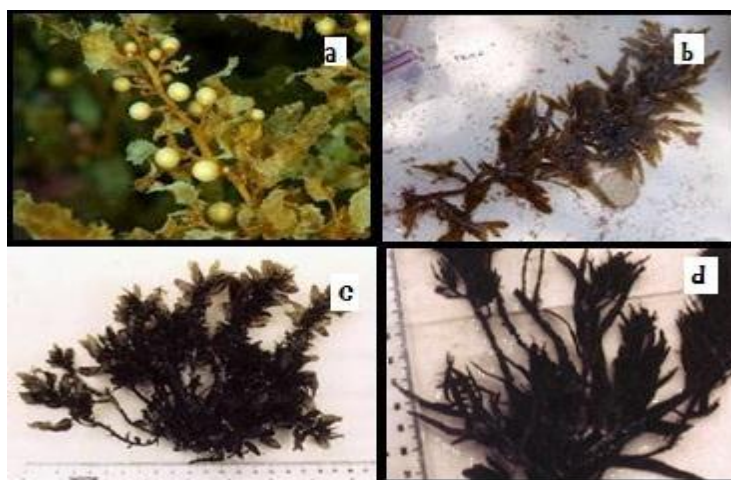
Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengekstrak dan menghitung senyawa fenolik dan aktivitas senyawa yang terkait pada rumput laut coklat dari *Sargassaceae* yang berasal dari perairan Indo-Pasifik. Sehingga hal tersebut dapat meningkatkan pengembangan rumput laut coklat sebagai bahan makanan (hewan atau manusia) atau kosmetik.

METODE PENELITIAN

Bahan biologis: Deskripsi spesies yang digunakan

Untuk studi ini, memilih empat spesies rumput laut coklat dari famili *Sargassaceae* (*Fucales*). Rumput laut tersebut diambil dari perairan Sulawesi Selatan di Indonesia (*Sargassum Duplicatum*), dan laut Pasifik Fiji (*Sargassum polycystum*) dan Nouvelle Caledonie (*Cystoseira* sp dan *Sargassum aquifolium*) (Gambar 1). Rumput laut tersebut merupakan spesies iklim tropis. Hidup di zona intertidal sehingga terpapar oleh radiasi sinar UV yang tinggi sepanjang tahun, dan cenderung memiliki mekanisme pertahanan yang efektif.



Gambar 2: *Sargassum duplicatum* (a), *Sargassum aquifolium*(b), *Sargassum polycystum* (c) *Cystoseira* sp(d).

Metode

1. Ekstraksi Senyawa Fenolik

Setelah pengumpulan sampel dari lapangan, rumput laut dibilas dengan air laut, kemudian dengan air suling, dibekukan kemudian diliofilisasi. Bubuk sampel kemudian diperoleh setelah penggilingan rumput laut dengan blender sampai menjadi bubuk halus. Senyawa fenolik diekstrak berdasarkan protokol ekstraksi dari Lee Lannetal. (2008) dan disesuaikan dengan industri, dengan menggunakan pelarut non-toksik, etanol.

Penelitian ini, menguji dua rasio campuran ethanol-air 50:50 dan 75:25 (v:v). 15g bahan kering ditempatkan dalam 150 ml pelarut dalam bejana air dengan pemanasan suhu 40°C dan 200 rpm selama 2 jam. Dua replika ekstraksi dibuat untuk masing-masing spesies. Kemudian, ekstrak disentrifugasi pada 4000 rpm selama 5 menit dan disaring dengan kapas pada gelas erlenmeyer. Ekstrak diuapkan menggunakan evaporator rotatif (Laborata efisien

4000, Heidolph) di bawah vakum sampai volume sekitar 50 mL ekstrak. Massa kering (MS) dari ekstrak dimasukkan ke dalam 3 tabung kecil (*aliquot*) masing-masing 500 μ L (Lampiran 1).

2. Purifikasi Senyawa Fenolik

Purifikasi dari ekstrak kasar dilakukan dengan proses pemisahan pemisahan cairan-cairan dan presipitasi (Lampiran 1). Tujuan dari semi-purifikasi berdasarkan polaritas molekul, yaitu untuk memisahkan fraksi kurang atau lebih polar dan yang mengandung jumlah besar atau kecil senyawa fenolik. Heksana dan diklorometana (DCM) digunakan sebagai pelarut untuk memisahkan senyawa polar terhadap senyawa kurang polar. Terakhir, etil asetat dan air yang digunakan untuk memisahkan jenis molekul polar terhadap senyawa yang sangat polar, termasuk senyawa fenolik. Dengan demikian, faseetil asetat(AE), kaya dengan senyawa fenolik, yang diuapkan sampai kering dengan menggunakan evaporator rotatif sebelum dimasukkan dalam air deionisasi dan ditempatkan di dalam freezer. Massa kering (MS) dari masing-masing fraksi (fase cair dan asetat etil) ditempatkan ke dalam 3 tabung kecil (*aliquot*) masing-masing 500 μ L (Lampiran 1).

3. Pengujian Senyawa fenolik dengan metode *Folin Ciocalteu*

Kandungan senyawa penyerap UV dalam berbagai sampel telah diuji dengan metoda *Folin Ciocalteu* yang dilakukan oleh Le Lann et al. (2008). Tes tersebut mengukur polifenol pada mikropelat dan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*, yang terdiri dari campuran asam fosfotungstat dan asam fosfomolibdat, berwarna kuning. Memasukan senyawa fenolik dan setelah reaksi panas pewarnaan biru muncul. Intensitas warna sebanding dengan konsentrasi senyawa fenolik yang ditambahkan ke dalam campuran. Sebuah standar digunakan sebagai acuan, dibuat dari larutan phloroglucinol 1 g/L dalam konsentrasi berkisar 0-50 μ g.m/L. Sampel yang akan diuji (ekstrak kasar dan fraksi murni) diencerkan dengan air suling untuk mendapatkan konsentrasi yang berada pada kisaran standar .

4. Mengukur Aktivitas Anti-Radikal dengan Metode DPPH

Kami mengukur aktivitas anti-radikal dari ekstrak kasar dan fraksi yang dimurnikan menggunakan uji 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), sebagai protokol dari Fukumoto & Mazza (2000) dan Le Lannetal (2008).

Penelitian ini menggunakan 22 μ L dari ekstrak kasar, fraksi atau kontrol positif ditambahkan 200 μ L larutan DPPH. Campuran dibiarkan selama satu jam dalam ruangan gelap. Absorbansi kemudian diukur pada 540nm dengan alat pembaca untuk mikropelat (Labsystems Multiskan MS). Semua pengukuran tersebut dilakukan sebanyak tiga rangkap. Aktivitas antioksidan kemudian dinyatakan sebagai persen inhibisi DPPH (% Penghambat) menggunakan perhitungan sebagai berikut:

$$\%inhibition = \frac{A_{temoin} - A_{echantilon}}{A_{temoin}} \times 100\%$$

Ketika hubungan antara persen penghambat dan konsentrasi sampel linear antara 30 dan 70% dari persen penghambat, maka memungkinkan untuk menghitung konsentrasi efektif untuk menetralkan 50% dari radikal DPPH (IC50) (Lampiran 2).

5. Ekstraksi Alginat

Untuk ekstraksi alginat, hanya spesies *Sargassum* yang digunakan: *Sargassum duplicatum*, *Sargssum polycystum* dan *Sargassum echinocarpum* (Gambar 3).



Gambar 3: *Sargassum duplicatum* (a), *Sargassum polycystum* (b), *Sargassum echinocarpum* (c).

Penelitian ini mengikuti metode dari Perez (1992) Zubia (2000). Yaitu 10g massa kering rumput laut, dikocok selama 12 jam pada 500mL formalin 1% setelah dicuci dengan H₂SO₄ 0,2N selama 4 jam pada suhu 25 °C. Rumput laut dicuci dua kali dalam air suling, sebelum ekstraksi di Na₂CO₃ selama 12 jam pada 25°C, kemudian disaring dan diendapkan dalam etanol 95%, dan akhirnya menimbang berat kering alginat.

Analisis Data Statistik

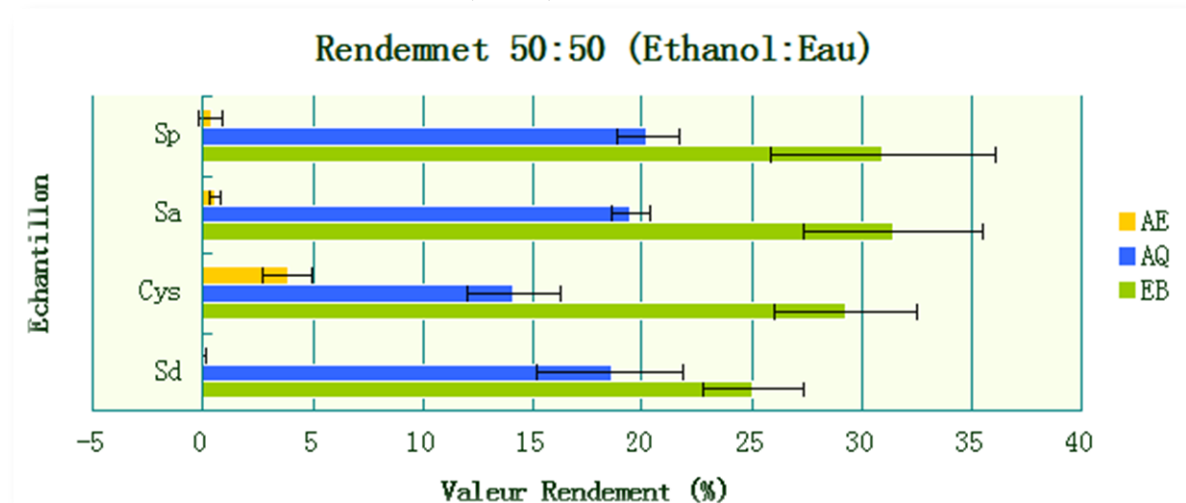
Semua analisa statistik dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS 16.0. Analisis varians (ANOVA) digunakan untuk membandingkan tingkat senyawa fenolik dan aktivitas anti-radikal yang bereaksi terhadap spesies yang diteliti dan juga pada spesies yang sama antara ekstrak kasar dan fraksi purifikasi. Untuk kelayakan ANOVA, data ditransformasikan ($p > 0,05$) bila diperlukan. Uji pasca-hoc (LSD) dilakukan ketika ANOVA signifikan ($p < 0,05$).

HASIL PENELITIAN

Hasil Ekstraksi dan Purifikasi Sesuai dengan Campuran Pelarut dan Spesies yang Digunakan

Hasil ekstraksi dan purifikasi dihitung berdasarkan massa kering yang digunakan pada saat pertama kali, disajikan pada Gambar 5 dan 6. Gambar tersebut menunjukkan perkiraan relatif dari fraksi yang diperoleh dan nilai hilangnya molekul selama ekstraksi dan purifikasi. Dua tipe larutan Ethanol: air yang diuji yaitu 50:50 dan 75:25.

Rendemen Ekstraksi Etanol: eau (50:50)



Gambar 5. Rendemen disajikan dengan nilai (rata-rata ± SD) untuk ekstrak kasar (EB), fase cair (AQ), dan fase asetat etil (AE) pada 4 spesies *Sargassaceae* tropis, *Sargassum duplicatum* (Sd), *Cystoseira* sp (Cys), *Sargassum aquifolium* (Sa), *Sargassum polycystum* (Sp). Hasil tersebut dinyatakan sebagai persentase.

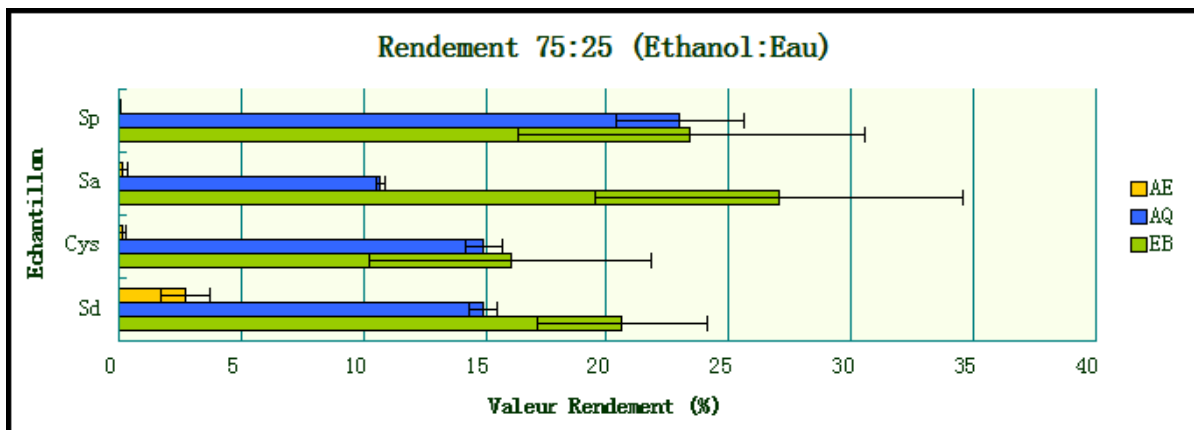
Rendemen dirata-rata untuk mendapatkan nilai ekstrak kasar, fase cair dan fase asetat etil berbeda berdasarkan spesies yang diuji. Hilangnya sejumlah senyawa setelah purifikasi cairan-cairan menggunakan heksana dan DCM terlihat pada semua spesies. Penggunaan pelarut non-polar tersebut menyebabkan hilangnya senyawa tertentu (lipid, gula, garam) yang pada awalnya terdapat dalam ekstrak kasar.

Rendemen ekstraksi yaitu sekitar 25% pada empat spesies (Gambar 5). Rendemen yang dihasilkan oleh fase cair pada penelitian ini sangat menarik. Namun, metode purifikasi pada fase AE (fase yang mengandung banyak senyawa fenolik) tidak menghasilkan rendemen yang besar. Diantara 4 spesies yang diuji, metode purifikasi mendapatkan rendemen 4,8% untuk fraksi atau fase AE pada spesies *Cystoseira* sp.

Pada spesies *Sargassum duplicatum*, rendemen yang dihasilkan berbeda secara signifikan (ANOVA, $p=0,011$). Berdasarkan uji post-hoc, LSD Fisher, rendemen ekstrak kasar dan fase cair tidak berbeda nyata ($p=0,872$).

Untuk spesies *Cystoseira* sp, *Sargassum aquifolium* dan *Sargassum polycystum*, rendemen yang dihasilkan berbeda secara signifikan antara ekstrak kasar, fase cair dan fase asetat etil (ANOVA, $p=0,000$).

Rendemen ekstraksi ethanol : air (75:25)



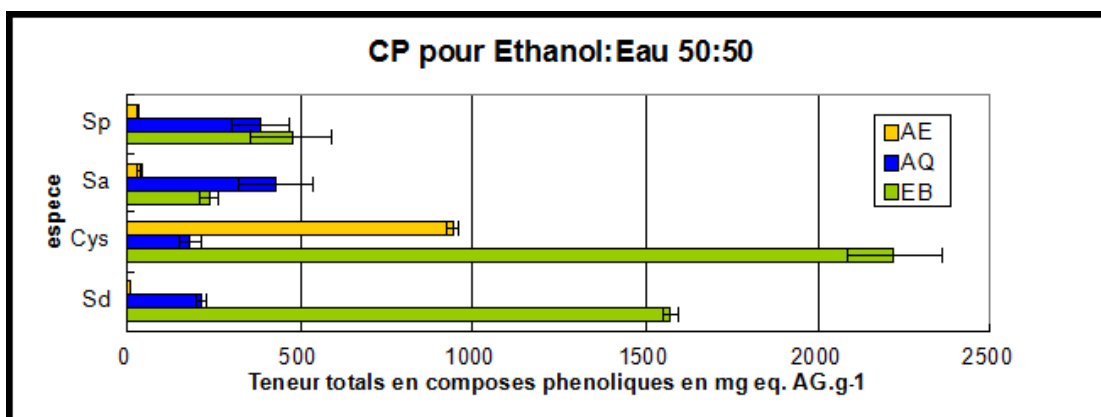
Gambar 6. Rendemen disajikan dengan nilai (rata-rata \pm SD) untuk ekstrak kasar (EB), fase cair (AQ), dan fase asetat etil (AE) pada 4 spesies *Sargassaceae* tropis, *Sargassum duplicatum* (Sd), *Cystoseira* sp (Cys), *Sargassum aquifolium* (Sa), *Sargassum polycystum* (Sp). Hasil tersebut dinyatakan sebagai persentase.

Rata-rata rendemen pada ekstraksi dan purifikasi menunjukkan nilai yang berbeda pada spesies yang diuji. Secara umum, rendemen maksimum diperoleh oleh fase purifikasi. *Sargassum aquifolium* merupakan spesies yang menghasilkan rendemen maksimum pada fase AE (Gambar 6).

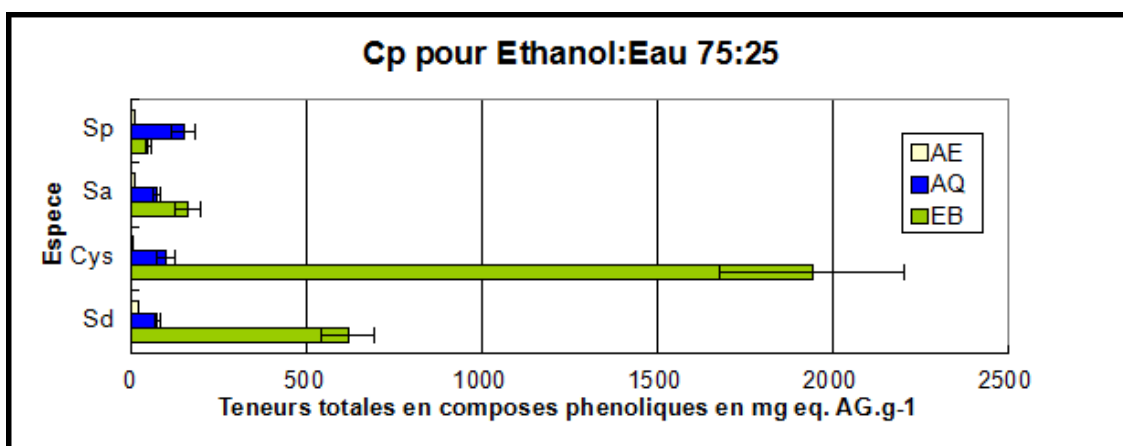
Rendemen pada *Sargassum duplicatum* berbeda secara signifikan (ANOVA, $p=0,000$). Pada *Cystoseira* sp, hasil berbeda secara signifikan (ANOVA, $p=0,002$), tetapi menurut tes post-hoc, Fisher LSD, ekstrak kasar dan fase cair tidak berbeda nyata ($p=0,930$).

Kandungan senyawa fenolik

Pengujian senyawa fenolik dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* dan hasilnya dihitung berdasarkan pada berat kering untuk menentukan kadar senyawa fenolik dalam ekstrak kasar dan pada setiap fraksi purifikasi (Gambar 7 dan 8). Dua jenis larutan etanol: air diuji seperti yang dijelaskan dalam paragraf sebelumnya: 50:50 dan 75:25.



Gambar 7. Kandungan total senyawafenolik disajikan dalam mgeq. AG/g ekstrak kasar kering(EB), fase cair (AQ), dan fase asetat etil (AE) pada empat spesies *Sargassaceae* tropis, *Sargassum duplicatum* (Sd), *Cystoseira* sp (Cys), *Sargassum aquifolium* (Sa), *Sargassum polycystum* (Sp). Nilai rata-rata direpresentasikan dengan standar deviasi.



Gambar 8: Kandungan totalsenyawafenolik disajikan dalam mgeq. AG/g ekstrak kasar kering (EB), fase cair (AQ), dan fase asetat etil (AE) pada empat spesies *Sargassaceae* tropis, *Sargassum duplicatum* (Sd), *Cystoseira* sp (Cys), *Sargassum aquifolium* (Sa), *Sargassum polycystum* (Sp). Nilai rata-rata direpresentasikan dengan standar deviasi.

Secara umum, dalam penelitian ini kandungan fenolik tertinggi dihasilkan oleh ekstrak kasar, kemudian fase cair (AQ), dan nilai terendah dihasilkan oleh fase asetat etil (AE). Hasil penelitian ini tidak sama dari penelitian sebelumnya dimana kandungan tertinggi senyawa fenolik biasanya dihasilkan oleh fase asetat etil. Hasil tersebut didukung oleh penelitian lain (Santoso 2009; Heno 2013, 2013 Diouron; Stiger 2014 *et al*) yang menunjukkan bahwa asetat etil merupakan salah satu pelarut yang paling umum digunakan untuk ekstraksi senyawa fenolik. Dalam kasus ini, hanya sedikit kandungan senyawa fenolik dalam fraksi AE, tetapi faseasetat etil memiliki aktivitas antiradikal kuat daripada ekstrak kasar dan fasecair. Menurut Fercoq (2013) itu benar karena studi sebelumnya ada yang menunjukkan konsentrasi fenol (CP) yang paling tinggi pada fase cair daripada fase asetat etil. Kandungan fenol (CP) dan aktivitas aniradicalaire dipengaruhi oleh perlakuan yang berbeda (Le Lann *et al*, 2008; Santoso 2009).

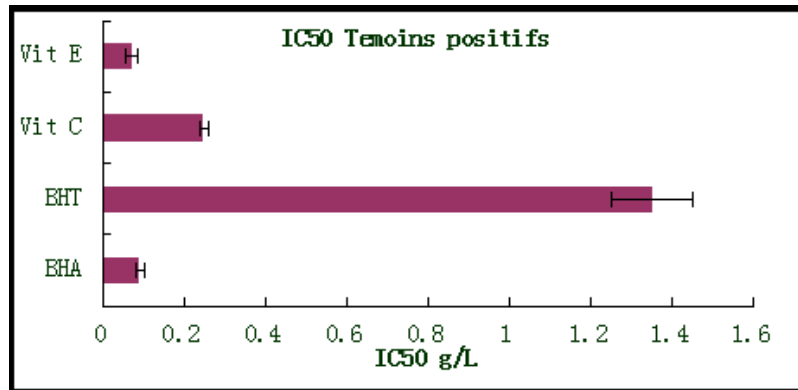
Kandunagn fenol (CP) tertinggi diperoleh pada ekstrak kasar *Cystoseira* sp. Untuk kedua jenis larutan etanol: air 50:50 dan 75:25, hasil yang lebih baik pada rasio 50:50 daripada pelarut 75:25, sedangkan nilai terendah dihasilkan oleh ekstrak kasar spesies *Sargassum duplicatum* (19,9±8,4 mgeqAG/gMS.) dengan pelarut etanol: air 75:25. Menurut Sasmito 2013 kandunagn fenol *Sargassum* sp dengan pelarut etanol sekitar 27.786±0,95 sampai 0,99±36.544. Kemudian, kandungan-kandungan fenol dari *Sargassum* sp15.60

menurut (Heo, 2003) lebih rendah dari hasil penelitian ini. Kandungan fenol dari ekstrak kasar *Sargassum duplicatum* lebih tinggi setelah *Cystoseira* sp $1.572,43 \pm 22,7$ mgeq. AG/gMS. Hasil tersebut didukung oleh penelitian lain (Casal *et al*, 2008; Stengel *et al*, 2011; Budhiyanti *et al*, 2012; Stiger *et al*, 2014).

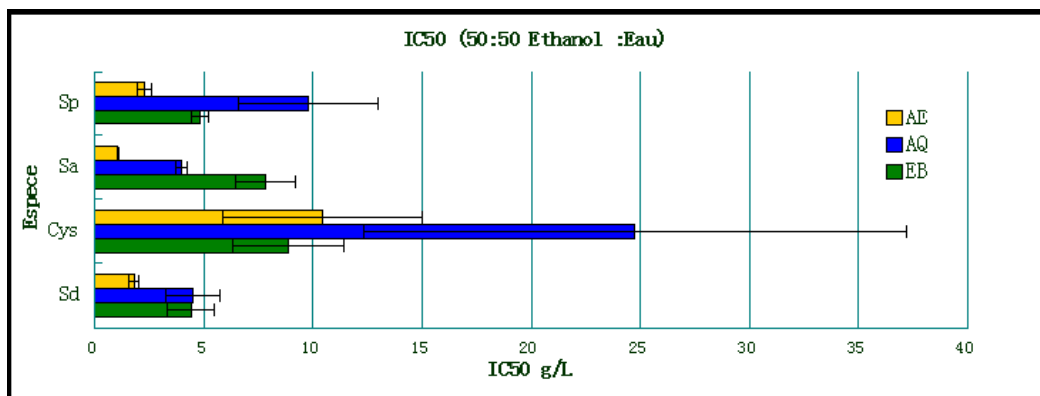
Sargassum sp sebagai spesies yang memiliki fotoproteksi dan hidup pada daerah intertidal sehingga dapat beradaptasi secara fisiologis yang efektif untuk bertahan pada suhu tinggi, phlorataninns (senyawa fenolik) adalah metabolit sekunder dari spesies tersebut (Ragan dan Glombitza, 1986; Arnold dan Targett, 2000; etalStiger, 2004; Plouguerné *et al*, 2006; Cornishetal, 2010; Stengel, 2011; LeLann, 2012), dan senyawa tersebut memiliki peran penting dalam pertahanan hidup rumput laut dan merupakan komponen penting dari dinding sel (Amsler&Fairhead, 2005; Schoenwaelder 2002; Schoenwaelder dan Clayton, 1998).

Aktivitas antioksidan

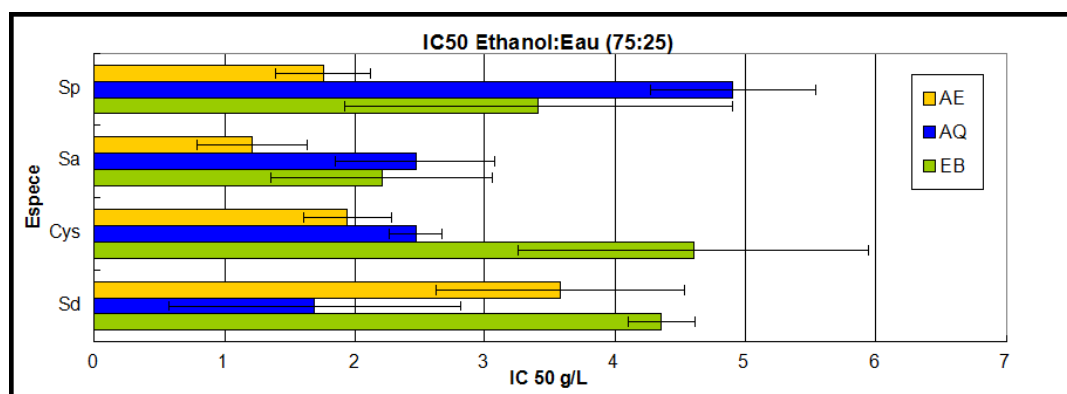
Pengujian aktivitas anti-oksidan dengan menggunakan tes DPPH, dan hasilnya disajikan berdasarkan nilai IC50 untuk kontrol positif, ekstrak kasar, dan fraksi purifikasi (Gambar 9, 10, dan 11).



Gambar 9: Aktivitas antioksidan pada uji DPPH dinyatakan sebagai IC50 (konsentrasi antioksidan yang dapat menghambat 50% dari radikal bebas) dengan satuan g/L dari kontrol positif (BHA, BHT, VitC, VitE).



Gambar 10: Aktivitas antioksidan DPPH dinyatakan sebagai IC50 (konsentrasi antioksidan yang dapat menghambat 50% dari radikal bebas) dengan satuan g/L dari ekstrak kasar (EB), fase cair (AQ), dan fase asetat etil (EA) pada empat spesies *Sargassaceae* tropis, *Sargassum duplicatum* (Sd), *Cystoseira* sp (Cys), *Sargassum aquifolium* (Sa), *Sargassum polycystum* (Sp). Nilai rata-rata disajikan dengan nilai standar deviasi.



Gambar 11: Aktivitas antioksi dan DPPH dinyatakan sebagai IC50 (konsentrasi antioksidan yang dapat menghambat 50% dari radikal bebas) dengan satuan g/L dari ekstrak kasar(EB), fase cair (AQ), dan fase asetat etil (EA) pada empat spesies *Sargassaceae* tropis, *Sargassum duplicatum*(Sd), *Cystoseirasp*(Cys), *Sargassum aquifolium* (Sa), *Sargassum polycystum* (Sp). Nilai rata-rata disajikan dengan nilai standar deviasi.

Pada penelitian ini, *Sargassum aquifolium* diuji dengan pelarut etanol: air 50:50 dan memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ($1,02 \pm 0,03\text{g/l}$) daripada spesies yang lain, serta dengan pelarut 75:25 ($1,209 \pm 0,42\text{g/l}$), kemudian *Sargassum duplicatum* pada pelarut 50:50 ($1,77 \pm 0,23\text{g/l}$). Rumput laut jenis *Sargassaceae* berdasarkan uji DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan relatif tinggi dengan nilai IC50 sekitar $6,64\text{-}7,14\text{mg.m/L}$ (Zubia *et al*, 2007). Hasil tersebut juga didukung oleh penelitian lain (Anggadiredja *et al*, 1997;. Matsukawa *et al*, 1997; Yanetal, 1998; Limetal, 2002;. Santoso *et al*, 2004;. Heo *et al*, 2005;. Kim *et al*, 2005; Taman *et al*, 2005;. Connan *et al*, 2006;. Mori *et al*, 2003;. Wei *et al*, 2003).

Secara umum, aktivitas anti-radikal atau antioksidan tertinggi dihasilkan oleh fase Asetat Etil dan dalam penelitian, menunjukkan bahwa aktivitas anti-radikal tertinggi terdapat pada fase Asetat Etil dengan pelarut etanol: air 50:50. Begitu pula hasil penelitian dari Heno (2013) dan Diouron (2013).

Ekstraksi alginat

Tabel 1 Kandungan alginat.

No	Spesies	Alginate %
1	<i>Sargassum duplicatum</i>	14
2	<i>Sargassum polycystum</i>	17
3	<i>Sargassum echinocarpum</i>	24

Dalam penelitian ini, kandungan alginat tiga spesies *Sargassum* sp adalah sekitar 14-24% massa kering, dengan nilai tertinggi pada spesies *Sargassum echinocarpum* (24%). Menurut Zubia (2007) kandungan alginat *Sargassum* berkisar 6-12,4%, yang berarti bahwa kandungan alginat dalam penelitian ini lebih tinggi. Dalam studi lain menunjukkan kandungan alginat rumput laut sekitar 6-21,1% (Zubia *et al*, 2007)

Kandungan alginat dipengaruhi oleh faktor abiotik dan biotik (Draget, 2005; Zubia, 2007; Stengel, 2011) perlakuan (Vauchel *et al*, 2008). Variasi nilai alginat pada *Sargassum* sp dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Aponte dkk, Otaola, 1983; Kaliaperumal *et al*, 1989; Ragaza dan Hurtado, 1999). Dalam studi lain menunjukkan kandungan alginat pada rumput laut sekitar 6-21,1% (Zubia *et al*, 2007).

PENUTUP

Kesimpulan

Kandungan tertinggi senyawa fenol terdapat pada ekstrak kasar rumput laut *Cystoseira* dengan pelarut etanol: air 50:50. Kandungan fenol terendah terdapat pada fase asetatetil pada spesies yang sama dengan pelarut 75:25. Tinggi rendahnya kandungan senyawa fenolik disebabkan oleh beberapa faktor, salah satu faktornya adalah pelarut. Telah diamati bahwa ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak kasar, fase cair dan fase asetatetil dengan analisis ANOVA, tetapi ada juga yang berbeda tidak signifikan. Sebagian besar hasil menunjukkan signifikan antara fraksi yang berbeda.

Aktivitas anti-radikal atau antioksidan tertinggi ditemukan pada fase asetatetil *Sargassum aquifolium* dengan pelarut etanol: air 50:50, sehingga kita dapat mengatakan bahwa proporsi menggunakan pelarut etanol: air 50: 50 adalah lebih daripada larutan 75:25.

Jumlah alginat pada spesies *Sargassum* adalah sekitar 14,24%, yang artinya bahwa *Sargassum* sp mengandung banyak alginat. Studi lain menunjukkan bahwa kandungan alginat pada *Sargassaceae* sekitar 6-12,1%. Konten alginat dalam industri biasanya sekitar 13-38% (Zubia, 2007).

Saran

Untuk studi berikutnya, perlu adanya verifikasi terhadap kandungan fenol pada fase asetatetil karena fase tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi daripada fase yang lain. Sehingga kita dapat meningkatkan pengembangan rumput laut yang memiliki kandungan senyawa fenolik dengan aktivitas anti-radikal untuk aplikasi industri, kosmetik, makanan dan kesehatan. Di Indonesia, rumput laut digunakan hanya untuk makanan, dan masih sedikit penggunaan komposisi fenolik dalam makanan, farmasi, dll.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggadiredja J, Andyani R, Hayati, Muawanah. 1997. Antioxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from Seribu Islands. *J Appl Phycol* 9:477–479
- Amsler, C. D, & Fairhead, V. A. 2005. Defensive and sensory chemical ecology of brown algae. In J. A. Callow (Ed.), *Advances in botanical research* (pp. 1–91). Academic Press.
- Arnold, T.M. and N.M. Targett, 2000. Evidence for metabolic turnover of polyphenolics in tropical brown algae. *J. Chem. Ecol.*, 26: 1393-1408. DOI: 10.1023/A: 1005588023887
- Budhiyanti, S.A, Sri Raharjo, Djagal W. Marseno and Iwan Y.B. Lelana, 2011. Free radical scavenging, metal chelating and singlet oxygen quenching activity of fractionated brown seaweed *Sargassum hystrix* Extract. *J. Biol. Sci.*, 11: 288-298. DOI: 10.3923/jbs.2011.288.298.
- Carreto JI, Carignan MO. Mycosporine-like amino acids: relevant secondary metabolites. chemical and ecological aspects. *Mar Drugs* 2011; 9: 387–446.
- Cerantola S, Breton F, Ar Gall E, Deslandes E. 2006. Co-occurrence and antioxidant activities of fucol and fucophlorethol classes of polymeric phenols in *Fucus spiralis*. *Bot Mar* ;49:347–51.
- Connan, S., F. Delisle, E. Deslandes and E. Ar Gall, 2006. Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in phaeophyceae of temperate waters. *Bot. Mar.*, 49: 34-46. DOI: 10.1515/BOT.2006.005
- Connan, S., F. Goulard, V. Stiger, E. Deslandes and E.A. Gall, 2004. Interspecific and temporal variation in phlorotannin levels in an assemblage of brown algae. *Bot. Mar.*, 47: 410-416. DOI: 10.1515/BOT.2004.057

- Connan S, Stengel DB. Impacts of ambient salinity and copper on brown algae: 2. interactive effects on phenolic pool and assessment of metal binding capacity of phlorotannin. *Aquat Toxicol* 2011; 14:1–13.
- Draget, K.I. et al. 2005. Alginate from algae, Polysaccharides and polyamide in the food on. Patent. *WILEY-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weinheim*. ISBN 3-527-31345-1.
- de la Coba F, Aguilera J, Figueroa FL, de Galvez MV, Herrera E. 2009. Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *J Appl Phycol* 2009; 21:161–9.
- Fercoq, F. Rapport de stage de M1 de 2012-2013. Etude de la teneur de l'activité antiradicalaire et de la structure des composés phénoliques de *Fucus spiralis*.
- Gudiel-Urbano, M., & Goni, I. 2002. Effect of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats. *Nutrition Research*, 22, 323–331.
- Heno, par sophie. 2013. Evaluation de l'activité photoprotectrice des macroalgues marines et caractérisation structurale des principales fractions moléculaires impliquées.
- Heo SJ, Jeon YJ. 2009. Evaluation of diphlorethohydroxycarmalol isolated from *Ishige okamurae* for radical scavenging activity and its protective effect against H₂O₂-induced cell damage. *Process Biochem* ; 44:412–8.
- Holdt, S. L., & Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23, 543–597.
- Hwang H, Chen T, Nines RG, Shin HC, Stoner GD. 2006. Photochemoprevention of UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by brown algae polyphenols. *Int J Cancer*; 119:2742–9.
- Jung WK, Heo SJ, Jeon YJ, Lee CM, Park YM, Byun HG, et al. Inhibitory effects and molecular mechanism of dieckol isolated from marine brown alga on COX-2 and iNOS in microglial cells. *J Agric Food Chem* 2009;57: 4439–46.
- Jimenez-Escrig, A., & Sanchez-Muniz, F. J. (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 20, 585–598.
- Kim J-D, Lee C-G. Systematic optimization of microalgae for bioactive compound production. *Biotechnol Bioprocess Eng* 2005; 10: 418–24.
- Koivikko, R., Loponen, J., Pihlaja, K. & Jormalainen, V. (2007) High-performance liquid chromatographic analysis of phlorotannins from the brown alga *Fucus vesiculosus*. *Phytochemical Analysis*, 18, 326-332.
- Le Diouron. G. 2013. Rapport de stage M2. Le Développement de nouveaux ingrédients actifs à partir de végétaux marins modèles.
- Le Lann, K., Connan, S., & Stiger-Pouvreau, V. (2012). Phenology, TPC and size-fractioning phenolics variability in temperate Sargassaceae (Phaeophyceae, Fucales) from Western Brittany: native vs. Introduced species. *Marine Environmental Research*, 80, 1–11.
- Le Lann, K., Jégou, C., & Stiger-Pouvreau, V. (2008). Effect of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassacean species: comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. *Phycological Research*, 56, 238–245.
- Marfaing H. 2007. Les algues ont-elles une place en nutrition ? *Article de Synthèse. Phytothérapie* (2007) Numéro Hors-Série: HS2–HS5.
- Matanjun, P, S. Mohamed, N.M. Mustapha, K. Muhammad and C.H. Ming, 2008. Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *J. Applied Phycol.*, 20:367-373. DOI: 10.1007/s10811-007-9264-6.

- Matsukawa, R., Z. Dubinsky, E. Kishimoto, K. Masaki, Y. Masuda, T. Takeuchi, M. Chihara, Y. Yamamoto, E. Niki & I. Karube (1997): A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 9: 29–35, 1997. 29.
- Mori J, Matsunaga T, Takahashi S, Hasegawa C, Saito H 2003. Inhibitory activity on lipid peroxidation of extracts from marine brown alga. *Phytother Res* 17:549–551
- Nagai, T. T Yukimoto. 2003. Preparation and functional properties of beverages made from sea algae. *Food chem.* 81 : 327-332.
- Plouguerné, E., Le Lann, K., Connan, S., Jechoux, G., Deslandes, E., & Stiger-Pouvreau, V. (2006). Spatial and seasonal variation in density, reproductive status, length and phenolic content of the invasive brown macroalga *Sargassum muticum* (Tendo) Fensholt along the coast of Western Brittany (France). *Aquatic Botany*, 85.337–334.
- Ragan, M. A., & Glombitza, K.-W. (1986). Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Phycological Research*, 4, 129–241.
- Santoso. 2009. La teneur de composés phénoliques de l'algue verte *Caulerpa racemosa* et l'activité antioxydante. *Journaux national de marin*. Vol-2.
- Stengel, D. B., Connan, S. & Popper, Z. A. (2011) Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*, 29, 483-501.
- Stiger, V., Deslandes, E. & Payri, C. E. (2004) Phenolic contents of two brown algae, *Turbinaria omata* and *Sargassum mangarevense* on Tahiti (French Polynesia): interspecific, ontogenic and spatio-temporal variations. *Botanica Marina*, 47, 402-409.
- Stiger-Pouvreau, V., Jégou, C., Cérantola, S., Guérard, F., Le Lann, K., 2014. Phlorotannins in Sargassaceae Species from Brittany (France), in : *Advances in Botanical Research*. Elsevier, pp. 379-411.
- Zubia M, Payri C, Deslandes E. Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornata* (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia). *J Appl Phycol* 2008;20:1033–43.