

## Pengaruh Konsentrasi Asam Klorida Terhadap Kadar Polifenol dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Metanol *Sargassum oligocystum*

Etik Wahyuningsih<sup>1)</sup>, Rachma Nurhayati<sup>2\*)</sup>, Astrid Kusuma Putri<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya, Indonesia

<sup>2)</sup>Program Studi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

<sup>3)</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah Surabaya, Indonesia

\*Corresponding author: rachma.nurhayati@iik.ac.id

### ABSTRAK

*Sargassum oligocystum* merupakan salah satu spesies alga coklat yang banyak memiliki aktivitas biologis. Tujuan penelitian ini yaitu untuk analisis kandungan polifenol dan aktivitas antioksidan dengan pelarut metanol pada variasi konsentrasi asam. Penambahan asam klorida dalam pelarut metanol pada berbagai konsentrasi 0,1 N; 0,2 N, 0,3 N dalam *Sargassum oligocystum* menunjukkan adanya peningkatan kandungan polifenol masing-masing 2,82 mg GEA/g; 3,27 mg GEA/g dan 3,88 mg GAE/g. Peningkatan kadar polifenol sebanding dengan peningkatan aktivitas antioksidan masing-masing adalah 0,92 mg; 0,55 mg dan 0,29 mg. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil ekstraksi pelarut metanol dengan variasi asam klorida pada *Sargassum oligocystum* mengandung polifenol dan aktivitas antioksidan yang meningkat dengan meningkatnya konsentrasi asam.

**Kata kunci:** Aktivitas antioksidan; asam klorida; *Sargassum oligocystum*; ekstrak metanol; polifenol

## The Effect of Chloride Acid Concentration to The Phenolic Compound and The Antioxidant Activity in Methanol Extract of *Sargassum oligocystum*

### ABSTRACT

*Sargassum oligocystum* is a species of brown algae that has many biological activities. The aim of this research is to analyze the polyphenol compound and antioxidant activity with methanol solvent at varying acid concentrations. Addition of hydrochloric acid in methanol solvent at various concentrations of 0.1 N; 0.2 N, 0.3 N in *Sargassum oligocystum* showed an increase in polyphenol compound, 2.82 mg GEA/g; 3.27 mg GEA/g and 3.88 mg GAE/g, respectively. The increase in polyphenol compound is proportional to the increase in antioxidant activity, 0.92 mg; 0.55 mg and 0.29 mg, respectively. The results showed that methanol extraction with variations of hydrochloric acid in *Sargassum oligocystum* contained polyphenols and antioxidant activity which increased with increasing acid concentration.

**Keywords:** Antioxidant activity; chloride acid; methanolic extract; phenolic compound; *Sargassum oligocystum*

(Article History: Received 19-02-2024; Accepted 29-04-2024; Published 29-04-2024)

## PENDAHULUAN

*Sargassum sp.* adalah jenis rumput laut yang merupakan salah satu hasil komoditas Indonesia yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan oleh industri kosmetik, nutrasetikal dan industri farmasi (Puspita et al., 2020). *Sargassum sp.* banyak ditemukan di perairan Indonesia khususnya di wilayah yang berbatasan langsung dengan Samudra Pasifik dan Samudra Hindia, mengandung banyak komponen bioaktif yang memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikoagulan, antivirus, antitumor dan imunomodulator yang dapat diaplikasikan sebagai bahan baku obat (Farvin & Jacobsen, 2013; Sanjeewa et al., 2018; Zhao et al., 2017). Salah satu spesies rumput laut yang banyak tumbuh di perairan Bali adalah *Sargassum oligosystem* (alga coklat) yang mengandung komponen bioaktif antara lain karotenoid, lipid, klorofil, peptida, flavonoid dan polifenol. Polifenol dalam *Sargassum oligosystem* menjadi salah satu senyawa yang memiliki peran penting dalam menghasilkan aktivitas antioksidan karena memiliki gugus hidroksi dan mampu mendonorkan hidrogen (Wiryato, 2015). Dibandingkan dengan antioksidan sintesis, *Sargassum sp.* memiliki nilai *radical scavenging activity* (RAS) yang lebih baik (Li et al., 2017).

Eksplorasi tentang *Sargassum oligocystum* di Indonesia masih jarang diteliti meskipun diketahui banyak mengandung komponen bioaktif sebagai alternatif potensial yang dapat diaplikasikan di bidang farmasi. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa *Sargassum oligosystem* mengandung total fenol 30,94 mg dan memiliki aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  28,5  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian tersebut menggunakan ekstraksi metode ultrasonik dengan menggunakan pelarut metanol dan asam klorida (HCl) 0,1 N (DLR Arguelles, 2018; Arguelles et al., 2017; Arguelles et al., 2019; Arguelles, 2022). HCl merupakan asam organik yang bersifat polar yang jika dikombinasi dalam air dapat melarutkan zat yang dapat larut dalam pelarut polar namun dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan degradasi dari bahan aktif yang tidak stabil terhadap asam sehingga menurunkan kandungan bahan aktif. Ekstraksi maserasi merupakan metode pilihan jika senyawa aktif tidak stabil terhadap suhu pemanasan maupun gelombang ultrasonik.

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian ekstraksi pada *Sargassum oligosystem* menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dengan penambahan variasi konsentrasi HCl terhadap kadar polifenol dan aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini dilakukan tiga tahap yaitu uji skrining fitokimia, uji polifenol dan aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sargassum oligocystum* dengan variasi penambahan HCl.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sargassum oligocystum* yang berasal dari perairan Bali, Metanol pro analisis (merck), HCl pro analisis (Merck), Aquadest, Flouroglusinol (Sigma Aldrich), DPPH (sigma Aldrich),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck), Reagen Folin & Ciocalteu's fenol (sigma Aldrich), Kloroform (Merck), Aseton (Merck), Asam format

(Merck), NaOH (Merck), Etil asetat (Merck), Heksane p.a (Merck), Kiesel gel GF 254 (Merck), Ammoniak p.a (Merck). Rotary evaporator (Heidolph), Spektrofotometer UV-Vis (Agilent), Oven (Nuve), Hot plate (nuve), Sentrifuse (Hettich).

## **Prosedur Penelitian**

### **Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan digunakan sebagai bahan uji. *Sargasum oligocystum* yang diambil dari pantai perairan Bali dilakukan determinasi pada Lembaga Penelitian Biologi Universitas Airlangga Surabaya.

### **Preparasi Ekstrak**

Ekstraksi dilakukan pada sampel basah sebanyak 10 gram, kemudian direndam dengan 50 ml metanol pada berbagai HCl 0,1 N, 0,2 N dan 0,3 N (10:1). Maserasi dilakukan 24 jam kemudian larutan disaring dengan kertas Watman no 42. Filtrat diambil dan diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 60°C (Septiana & Asnani, 2013).

### **Skrining Fitokimia**

#### **Identifikasi golongan polifenol**

Ekstrak seberat 0,3 g ditambah dengan 10 ml aquades panas kemudian diaduk dan didiamkan pada temperatur ruang. Setelah itu ditambahkan 3-4 tetes 10 % NaCl kemudian diaduk dan disaring. 1 ml filtrat ditambahkan 0,5 ml reagen Folin & ciocalteu's fenol kemudian didiamkan 5 menit lalu ditambah 2 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10% dan diamkan 10 menit. Adanya polifenol ditunjukkan dengan timbulnya warna biru pada larutan (Harborne, 1984).

#### **Identifikasi golongan flavonoid**

Ekstrak sampel 0,2 g dilarutkan dengan 10 ml etanol 96%. Ekstrak etanol kemudian ditotolkan pada plate KLT dengan menggunakan fase gerak kloroform: aseton : asam format (6:6:1) dengan penanda noda uap ammonia. Adanya flavonoid ditunjukkan adanya noda berwarna kuning intensif dengan penampak noda ammonia (Harborne, 2000).

#### **Identifikasi golongan terpenoid**

Ekstrak sebanyak 0,3 g dilarutkan dalam n-heksan diaduk sampai larut kemudian ditotolkan pada fase diam Kiesel gel GF 254 dan diamati dengan KLT dengan fase gerak n-heksana - etil asetat (4 : 1) dengan penampak noda anisaldehyd asam sulfat. Timbulnya warna merah ungu atau ungu menunjukkan adanya terpenoid/steroid (Harborne, 1984).

#### **Identifikasi golongan alkaloid**

Ekstrak sebanyak 0,3 g dilarutkan dalam etanol dan HCl 2N dan dipanaskan 2-3 menit, kemudian ditambahkan 0,3 gram NaCl. Hasil kemudian diekstraksi dengan kloroform kemudian ditotolkan pada fase diam Kiesel gel GF 254 dan diamati dengan KLT dengan fase gerak kloroform - etil asetat (1 : 1) dengan penampak noda pereaksi Drogendorf. Timbulnya warna jingga menunjukkan adanya alkaloid (Harborne, 1984).

### **Aktivitas Antioksidan**

Uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1 pycrylhydracyl*) dilakukan menggunakan modifikasi metode Zhang *et al.* (2015). Blanko yang digunakan adalah etanol dan asam askorbat sebagai kontrol dan diamati dengan menggunakan metode

spektrofotometri pada panjang gelombang 515 nm. Nilai aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas penangkalan radikal bebas (\%)} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Absorban Kontrol}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Tanaman

Determinasi sampel dilakukan di Lembaga Penelitian Biologi, Universitas Airlangga Surabaya pada tahun 2023. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel merupakan *Sargassum oligocystum* Montagne, 1845, famili *sargassaceae*, genus *Sargassum*.

### Skrining Fitokimia

Dari penelitian ini dilakukan skrining fitokimia dan didapatkan hasil bahwa *Sargassum oligocystum* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder polifenol, terpenoid dan flavonoid, namun tidak terdeteksi alkaloid. Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak *Sargassum oligosystem* pada berbagai konsentrasi HCl

Kandungan Kimia	Hasil (+) literatur	Hasil Uji	Ekstrak		
			Metanol - HCl 0,1 N	Metanol - HCl 0,2 N	Metanol - HCl 0,3 N
Polifenol	Terbentuk warna biru pada larutan sampel	Terbentuk warna biru	+	+	+
Terpenoid	Terbentuk warna merah ungu atau ungu pada noda sampel	Noda berwarna ungu	+	+	+
Flavonoid	Terbentuk warna kuning intensif pada noda sampel	Noda berwarna kuning	+	+	+
Alkaloid	Terbentuk warna jingga intensif pada noda sampel	tidak ada noda warna jingga	-	-	-

### Penetapan Kadar Polifenol

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi *Sargassum oligocystum* dengan pelarut metanol pada berbagai variasi konsentrasi HCl 0,1 N; 0,2 N dan 0,3 N. Dari hasil penelitian diperoleh kadar polifenol yang meningkat dengan meningkatnya konsentrasi HCl yaitu 2,82 mg GAE/g ± [1,3 %], 3,27 mg GAE/g ± [1,7 %] dan 3,88 mg GAE/g ± [2,7 %]. Dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan metanol dengan penambahan HCl, ekstraksi dengan pelarut metanol saja menunjukkan hasil yang lebih rendah yaitu 1,61 mg GAE/g ± [0,3 %]. Hal ini disebabkan HCl dapat meningkatkan kelarutan sehingga meningkatkan kadar polifenol. Hasil analisis kadar polifenol dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Penetapan kadar polifenol pada ekstrak *Sargassum oligosystem* pada berbagai konsentrasi HCl

Konsentrasi HCl (N)	Kadar polifenol (mg GAE/g)
	Rerata± SD
0,1	2,82 ± [1,3 %]
0,2	3,27 ± [1,7 %]
0,3	3,88 ± [2,7 %]

Hasil kadar polifenol pada ekstrak *Sargassum oligocystum* ini lebih tinggi dari kandungan polifenol pada *Sargassum honeri* yaitu 0,41 % ± 0,01% dan *Sargassum thunbergii* yaitu 0,290 % ± 0,01% (Zhao *et al.*, 2017). Tinggi rendahnya kadar polifenol dalam sampel tergantung pada beberapa faktor antara lain jenis rumput laut, umur, iklim serta suhu (Djapiala *et al.*, 2013).

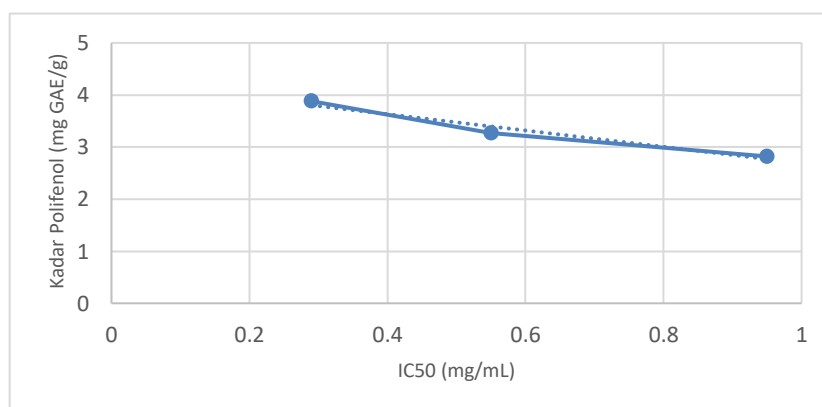
### Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dengan variasi konsentrasi HCl dalam penelitian ini diuji menggunakan metode DPPH. Hasil analisis IC<sub>50</sub> aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH *Sargassum oligocystum* dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak *Sargassum oligosystem* pada berbagai konsentrasi HCl

Konsentrasi HCl (N)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
	Rerata± SD
0,1	0,92 ± [0,0 %]
0,2	0,55 ± [ 1,8 %]
0,3	0,29 ± [3,5 %]

Dari data hasil penelitian diperoleh bahwa semakin tinggi konsentrasi HCl maka aktivitas antioksidan juga semakin besar. Hal ini disebabkan karena penambahan HCl dengan konsentrasi yang semakin tinggi dapat meningkatkan kadar polifenol yang telah dibuktikan pada penetapan kadar polifenol dalam penelitian ini. Seperti yang diketahui bahwa polifenol sebagai salah satu senyawa penting yang berperan dalam aktivitas antioksidan. Hubungan antara kadar polifenol dan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan semakin tinggi kadar polifenol maka aktivitas antioksidan juga meningkat.

**Gambar 1.** Hubungan Kadar Polifenol dan Aktivitas Antioksidan

Apabila dibandingkan dengan penelitian Arguelles (2022) yang menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan penambahan HCl 0,1 N maka nilai IC<sub>50</sub> pada penelitian ini lebih tinggi dengan ekstraksi menggunakan maserasi dengan peningkatan konsentrasi HCl.

### KESIMPULAN

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak metanol *Sargassum oligocystum* yang diperoleh dari perairan Bali menunjukkan positif terdeteksi polifenol, flavonoid, dan terpenoid namun tidak terdeteksi adanya alkaloid. Kadar polifenol pada ekstrak dalam variasi konsentrasi asam klorida yang terkandung masing-masing adalah sebesar 2,82 mg GAE/g ± [1,3 %], 3,27 mg GAE/g ± [1,7 %] dan 3,88 mg GAE/g ± [2,7 %] sedangkan aktivitas antioksidannya mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH pada konsentrasi masing-masing 0,92 mg; 0,55 mg dan 0,29 mg. Hasil penelitian kadar polifenol dan aktivitas antioksidan menunjukkan makin tinggi kandungan polifenol memiliki aktivitas antioksidan semakin tinggi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arguelles, E.D.L.R. (2018). Proximate analysis, antibacterial activity, total phenolic content and antioxidant capacity of a green microalga *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.* 20(1), 150-158.
- Arguelles, E.D.L.R., Laurena, A., & Martinez-Goss, M.R. (2017). Antibacterial Activity, Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of a Green Microalga *Desmodesmus* sp. (U-AU2) from Los Banos Laguna. *Journal of Nature Studies*, 16(2), 1-13. <https://www.researchgate.net/publication/321796303>.
- Arguelles, E.D.L.R. (2022). Chemical composition and In vitro study of antioxidant and antibacterial activities of *Sargassum oligocystum* Montagne (Sargassaceae, Ochrophyta). *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 2022(4). <https://doi.org/10.35495/ajab.2021.05.209>.
- Arguelles, E.D.L.R., Monsalud, R.G., & Sapin, A.B. (2019). Chemical composition and In vitro antioxidant and antibacterial activities of *Sargassum vulgare* C. Agardh from Lobo, Batangas, Philippines. *J. ISSAAS*, 25(1):112-122.
- Djapiala, F.Y., Montolalu, L.A.D.Y., & Mentang, F. (2013). Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut *Caulerpa racemosa* yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(2), 1-5. DOI: 10.35800/mthp.1.2.2013.1859.
- Farvin, K.H.S., & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1670-1681. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.078>
- Harborne J.B. (2000). Advances in Flavonoid Research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 482-504.
- Harborne, J.B. (1984). *Phytochemical Methods*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-5570-7>
- Li, Y., Fu, X., Duan, D., Liu, X., Xu, J., & Gao, X. (2017). Extraction and Identification of Phlorotannins from the Brown Alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell. *Marine Drugs*, 15(2), 49-49(1). <https://doi.org/10.3390/md15020049>.

- Puspita, M., Setyawidati, N.A.R., Stiger-Pouvreau, V., Vandanon, L., Widowati, I., Radjasa, O.K., Bedoux, G., & Bourgougnon, N. (2020). Indonesian Sargassum species bioprospecting: potential applications of bioactive compounds and challenge for sustainable development. *Advances in Botanical Research*, 95, 113–161. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.12.002>
- Sanjeewa, K.K.A., Kang, N., Ahn, G., Jee, Y., Tae-Kim, Y., & Jin Jeon, Y. (2018). Bioactive potentials of sulfated polysaccharides isolated from brown seaweed Sargassum spp in related to human health applications: A review. *Food Hydrocolloids*, 81(2), 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.040>
- Septiana, A.T., & Asnani, A. (2013). Antioxidan activity of Sargassum duplicatum seaweed extract. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 14(2), 79–86.
- Wiryo, J. (2015). Beberapa Jenis Makroalga yang Ditemukan di Zona Pasang Surut Pantai Pandawa Badung Bali. Universitas Udayana, Bali.
- Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, D. D., Tang, Y., Chen, P. X., Liu, R., Liu, Q., & Tsao, R. (2015). Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chemistry*, 172, 862–872. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144>
- Zhao, G., Zhang, R., Liu, L., Deng, Y., Wei, Z., Zhang, Y., Ma, Y., & Zhang, M. (2017). Different thermal drying methods affect the phenolic profiles, their bioaccessibility and antioxidant activity in *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk berries. *LWT*, 79, 260–266. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.039>