

**AKTIVITAS ANTIFOTOOKSIDASI DAN PENGHAMBAT
PEMBENTUKAN AGES (*ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS*)
DARI FRAKSI ALGA *Padina australis***

Syutria Trifosa Kondo¹⁾, Edi Suryanto²⁾, Max Runtuwene²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA Unsrat Manado, 95115

²⁾Jurusan Kimia FMIPA Unsrat Manado, 95115

ABSTRACT

This study aims to assess the anti photooxidation activity and inhibition of AGEs (Advanced Glycation End-Products) activity from fraction of Padina australis algae. This research has started by extracting powder Padina australis algae with maseration method using 75% methanol solvent. Futhermore, extract has fractionated by conventional column chromatography with the solvent of methanol and aquades. The fractions have tested by determine the total phenolic content, antioxidant, anti photooxidation and inhibitory of AGEs (Advanced Glycation End-Products) activity. The results show that the fraction of F4 has the highest phenolic total content, antioxidant, anti photooxidation, and inhibition of AGEs activity followed by the fractions of F2, F1, F3, and F5. The inhibition of AGEs (Advanced Glycation End-Products) activity in each fraction was analyzed by using UV-Vis spectrophotometer. Based on this research, it can be concluded that F4 has anti photooxidation activity and inhibiting of AGEs (Advanced Glycation End-Products) activity.

Keywords: *Algae, Padina australis, anti photooxidation, AGEs in vitro*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari aktivitas antifotooksidasi dan penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) dari Fraksi Alga *Padina australis*. Penelitian ini dimulai dengan mengekstraksi serbuk alga *Padina australis* menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol 75%. Kemudian, ekstrak difraksinasi menggunakan kromatografi kolom konvensional dengan pelarut metanol dan aquades. Hasil fraksi dikelompokkan menjadi 5 fraksi berdasarkan perbedaan warna. Fraksi-fraksi tersebut dilakukan pengujian untuk menentukan kandungan total fenolik, aktivitas antioksidan, antifotooksidasi, serta aktivitas penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*). Hasilnya menunjukkan bahwa fraksi F4 memiliki kandungan total fenolik, aktivitas antioksidan, antifotooksidasi, dan penghambat pembentukan AGEs tertinggi diikuti F2, F3, F1, dan F5. Aktivitas penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) pada masing-masing fraksi dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa F4 memiliki aktivitas antifotooksidasi dan penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*).

Kata Kunci : *Alga, Padina australis, antifotooksidasi, AGEs in vitro*

PENDAHULUAN

Seiring dengan berkembangnya waktu, arus globalisasi, serta aktivitas manusia yang buruk menyebabkan udara menjadi tercemar. Pencemaran udara atau polusi bersumber dari asap kendaraan, pabrik, limbah industri, penebangan pohon secara liar, dan sebagainya. Pencemaran udara ini menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas adalah oksidan yang sangat reaktif, karena radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbitalnya (Suryanto, 2012). Apabila udara yang telah tercemar dihirup oleh manusia akan diubah menjadi senyawa yang sangat reaktif atau yang dikenal dengan spesies oksigen reaktif (SOR). SOR dapat dengan mudah terbentuk di dalam tubuh dengan adanya bantuan cahaya atau reaksi fotooksidasi.

Reaksi fotooksidasi dapat berpengaruh terhadap bahan alam, karena cahaya dapat mengaktivasi oksigen triplet dan mengubahnya menjadi oksigen singlet. Oksigen singlet adalah suatu jenis spesies oksigen reaktif (SOR) yang non radikal elektrofilik. Apabila oksigen singlet bereaksi dengan asam lemak tak jenuh yang terdapat dalam bahan alam akan menghasilkan hidroperoksida terkonjugasi dan hidroperoksida non terkonjugasi. Efek dari reaksi fotooksidasi dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti pigmentasi, katarak, penuaan kulit, dan kanker (Davies *et al.*, 2001).

Berdasarkan penelitian secara *in vivo* menyatakan bahwa dalam kondisi patologis,

keseimbangan normal antara produksi spesies oksigen reaktif (SOR) dengan kemampuan pertahanan antioksidan memiliki gangguan sehingga memutuskan rantai reduksi oksidasi normal dan mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan atau yang dikenal dengan stres oksidatif (Suryanto, 2012). Stres oksidatif dapat menyebabkan pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) yang dapat memicu patogenesis penyakit diabetes, alzheimer, stroke, jantung koroner, osteoporosis, bahkan kanker (Ganeshan *et al.*, 2015). Untuk mencegah penyakit-penyakit tersebut dibutuhkan suatu senyawa antioksidan.

Senyawa antioksidan dapat diperoleh dari bahan alam, contohnya biota laut. Alga *Padina australis* termasuk salah satu jenis rumput laut coklat yang memiliki senyawa seperti fikosantin, xantofil, dan klorofil yang berpotensi sebagai antioksidan (Santoso *et al.*, 2004). Alga *Padina australis* banyak terdapat di perairan laut Sulawesi, Indonesia. Beberapa penelitian terdahulu menyatakan bahwa alga *Padina australis* memiliki aktivitas antibakteri (Jeong *et al.*, 2011), antikanker (Irwandi *et al.*, 2011). Sehingga menarik peneliti untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antifotooksidasi dan analisis untuk menghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) secara *in vitro* dari fraksi alga *Padina australis*.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antifotooksidasi dan penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) dari fraksi alga *Padina australis*.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah alga *Padina australis* yang diambil dari perairan desa Tongkaina, Manado, Sulawesi Utara. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari asam klorida pekat, asam linoleat, aquades, etanol p.a, eritrosin, Folin-Ciocalteu 50%, gel silika, larutan glukosa, larutan penyanggapH 7, larutan natrium azida, potasium hidroksida, protein *Bovine Serum Albumin*, *tween 20*, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, dan 2,4-dinitrofenilhidrazin. Alat yang digunakan berupa alat-alat gelas, aluminium foil, batang pengaduk, *blender*, botol vial, cawan petri, corong pisah, kertas saring, kompor listrik, kotak cahaya, oven, pipet tetes, pipet mikro, *rotary evaporator*, sinar tampak 45 watt (Philips Helix), spektrofotometer uv-vis (Shimadzu), tabung reaksi, *vortex*, termometer, dan timbangan analitik.

Persiapan Sampel

Alga *Padina australis* dibersihkan dengan air yang mengalir, kemudian dikeringkan. Setelah itu, dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan *blender* dan ditimbang sebanyak 50 g.

Ekstraksi

Sampel diekstraksi menggunakan pelarut metanol 75%. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 50 g sampel dimasukkan dalam labu distilat, ditambahkan pelarut metanol sebanyak 75 mL ditambah dengan 25 mL aquades. Setelah itu, erlenmeyer digoyangkan agar tercampur sampel dan pelarutnya dan didiamkan selama 12 jam. Kemudian, ekstrak disaring dan diuapkan untuk

menghilangkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah itu, dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak alga *Padina australis*.

Fraksinasi

Ekstrak selanjutnya dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom, dengan berdiameter 2 cm dan panjang gelombang 50 cm. Fase diam yang digunakan silika gel G-60 dan fase gerak yang digunakan pelarut metanol 100 mL. Sebelum dimasukkan ke dalam kolom, maka silika gel diaktifkan terlebih dahulu dengan dipanaskan pada suhu 110°C selama 30 menit. Setiap 2 mL fraksi-fraksi yang didapat pada pemisahan ditampung dalam kolektor fraksi. Setiap fraksi diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 280 nm.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Fraksi kemudian ditentukan kandungan total fenolik dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Jeong *et al.*, 2004). Sebanyak 0,1 μ g/mL larutan fraksi 1000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex selama 2 menit, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya di baca pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai ekivalen asam galat mg/kg ekstrak.

Penentuan Penangkal Radikal Bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas menurut Burda dan Olezek (2001).

Sebanyak 0,1 mL masing- masing ekstrak kental ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,2% dalam etanol dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrometer UV-Vis. Aktivasi penangkal radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Aktivitas penangkal radikal bebas (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}}\right) \times 100\%$$

Penentuan Aktivitas Antifotooksidasi Terhadap Asam Linoleat

Emulsi dibuat stok 1,5 g asam linoleat ditambah 6 mL aquades, *distirer* selama 5 menit, lalu ditambah 2,5 g *tween* 20 kemudian *distirer* kembali selama 10 menit. Diambil 1 g dari stok tersebut, dan ditambah 5 mL aquades *distirer* selama 2 menit, selanjutnya ditambah 5 mL aquades sebanyak 4 kali penambahan sehingga total *distirer* 10 menit. Pengaruh masing-masing fraksi terhadap oksidasi oksigen singlet diuji dalam asam linoleat yang mengandung 5 µg/mL eritrosin dalam emulsi sebagai sensitizer.

Efek fraksi terhadap fotooksidasi asam linoleat menggunakan konsentrasi 500 µg/mL. Sampel dari campuran tersebut diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam botol serum berukuran 10 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Analisis hidroperoksida diena terkonjugasi dilakukan selama 4 jam

penyinaran. Pengukuran nilai hidroperoksida diena terkonjugasi dimulai dengan memipet sampel emulsi 30 mL. Sampel tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 3 mL metanol *absolute*. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 234 nm. Setelah diketahui absorbansi, dengan rumus Lambert-Beer ($A = \epsilon bc$) maka dapat dicari konsentrasi hidroperoksida diena terkonjugasi karena diketahui:

$$\epsilon = 26\ 000\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}\ \text{untuk linoleat hidroperoksida (Frankel et al, 1994).}$$

$$b = 1\ \text{cm}$$

Penghambatan Pembentukan AGES (Advanced Glycation End-Products) secara In Vitro

Penghambatan pembentukan AGES dilakukan menggunakan metode Peng *et al.*, (2008) dengan sedikit modifikasi. Dibuat larutan BSA sebanyak 1,5 g dalam 10 mL larutan penyangga/*buffer phosphate* pH 7, glukosa sebanyak 2,82 dalam 15 ml *buffer phosphate* pH 7, natrium azida 0,002 g dalam 10 ml *buffer phosphate* pH 7, 120 ml larutan *phosphate* pH 7 dan 2000 ppm untuk masing-masing fraksi.

Setelah itu, diambil 1 mL dari masing-masing larutan BSA, glukosa, natrium azida, dan *buffer phosphate* pH 7 sebagai kontrol. Lalu, sebanyak 1 mL dari masing-masing sampel ditambahkan dengan 1 mL dari masing-masing larutan BSA, glukosa, natrium azida, dan *buffer phosphate* pH 7 untuk diinkubasi pada suhu 60°C selama 21 hari.

Sebelum dianalisis dilakukan pengenceran dengan mengambil sebanyak 0,01 masing-masing sampel dilarutkan ke dalam 10 mL larutan *buffer phosphate* pH 7. Lalu, dianalisis menggunakan metode

Lappin (1951) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,25 mL masing-masing sampel ditambahkan 0,25 mL larutan DNPH (2,4-dinitrophenylhidrazine) dan 1 tetes HCl pekat. Campuran dipanaskan selama 30 menit pada suhu 50°C dan didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 2 mL larutan KOH 1 N, digojok sampai homogen dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 480 nm. Setelah itu masukkan ke rumus :

$$\% \text{ Inhibisi AGES} = \left[1 - \left(\frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \right] \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses ekstraksi maserasi serbuk alga *Padina australis* menghasilkan berat ekstrak sebanyak 3,965 g dengan ekstrak berwarna coklat dan diperoleh nilai rendemennya sebesar 7,93%. Sebanyak 2 g ekstrak difraksinasi dengan cara kromatografi kolom konvensional. Adapun alasan pada kromatografi kolom konvensional digunakan silika gel karena kolom yang dibentuk dengan silika gel memiliki tekstur dan struktur yang lebih padat dan menyatu. Sementara itu, fase gerak yang digunakan sifatnya polarnya yaitu metanol dan air. Hal ini dikarenakan pelarut polar merupakan pelarut yang lebih optimal dibandingkan pelarut lainnya dalam mengisolasi senyawa yang terdapat pada alga *Padina australis* (Limantara *et al.*, 2011).

Pada proses fraksinasi menggunakan metanol, eluet yang didapat mengalami perubahan warna dari bening menjadi kuning. Begitu juga pada saat ditambahkan pelarut aquades. Hal ini menunjukkan bahwa analit yang terdapat pada fraksi telah terabsorpsi dengan baik oleh bantuan pelarut

(absorben). Hasil fraksi kemudian dikelompokkan berdasarkan warna dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporatory*. Sehingga, diperoleh rendemen dari tiap 5 fraksi yang dapat dilihat dalam tabel 2.

Tabel 2. Rendemen Dari Fraksi Alga *Padina australis*

Sampel	Rendemen (%)	Warna
F1	6,035	Kekuningan Kuning Keruh
F2	8,795	Kekuningan
F3	3,950	Agak Keruh
F4	14,425	Kuning Jernih
F5	3,420	Bening Kekuningan

Berdasarkan tabel 2, dapat dilihat bahwa setiap fraksi memiliki rendemen yang berbeda-beda. F4 memiliki rendemen yang tertinggi dengan warna kuning jernih. Hal ini mengindikasikan bahwa F4 memiliki banyak senyawa yang telah terabsorpsi. Begitupun sebaliknya F5 memiliki nilai rendemen yang terendah. Hal ini dikarenakan senyawa yang diabsorpsi oleh F5 cenderung lebih sedikit dan menghasilkan warna bening. Semakin terang warna yang dihasilkan maka semakin polar dan pekat, fraksi yang diperoleh dan sebaliknya semakin pudar warna yang dihasilkan seperti F5 maka fraksi yang dihasilkan kurang polar dan encer.

Kandungan Total Fenolik

Fraksi alga *Padina australis* yaitu F1, F2, F3, F4, dan F5 dibuat larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Kemudian dilakukan penentuan kandungan total fenolik dengan menggunakan metode Folin

Ciocelteu (Jeong *et al.*, 2004). Kandungan total senyawa fenolik dari alga *Padina australis* dengan konsentrasi 1000 µg/mL dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Total Fenolik dari Fraksi Alga *Padina australis*

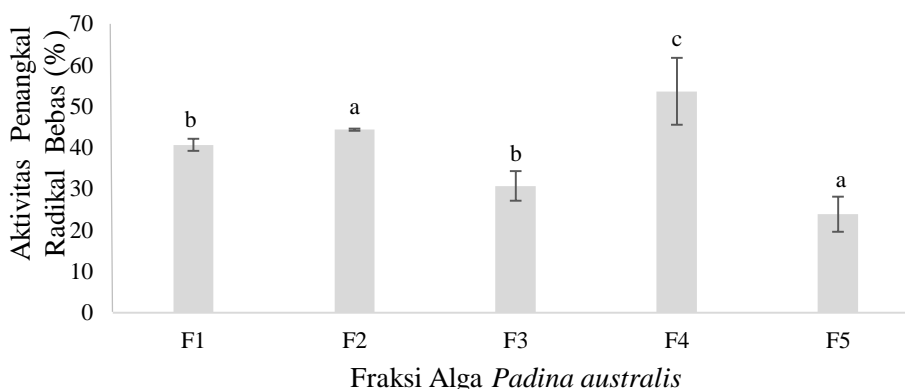
Sampel	Total Fenolik (µg/mL)
F1	17,14±0,02 ^b
F2	24,81±0,01 ^a
F3	14,70±0,03 ^b
F4	25,10±0,01 ^a
F5	9,08±0,01 ^c

Berdasarkan Tabel 3, dapat dilihat bahwa kandungan total fenolik yang dihasilkan secara berturut dari yang tertinggi hingga terendah adalah F4 sebesar 25,10 µg/mL, F2 sebesar 24,81, F1 sebesar 17,14, F3 sebesar 14,70, dan F5 sebesar 9,08 µg/mL. Dan hasil uji lanjut Duncan terhadap total fenol masing-masing fraksi diketahui bahwa F4 dan F2 memiliki kandungan total fenolik yang sama dan berbeda nyata dengan sampel F1, F3, dan F5 yang juga memiliki kandungan total fenolik yang sama. Sampel F4 memiliki nilai kandungan fenolik yang tertinggi. Hal ini dikarenakan adanya korelasi antara hasil fraksinasi dengan kandungan total fenolik yang menyebabkan

semakin banyak senyawa yang terabsorpsi pada pelarut maka akan semakin pekat atau jernih warna yang akan dihasilkan dan semakin banyak rendemen yang dihasilkan. Begitupun sebaliknya semakin sedikit senyawa yang terabsorpsi pada pelarut maka akan semakin encer atau jernih warna yang akan dihasilkan dan semakin sedikit pula rendemen yang didapatkan.

Aktivitas Penangkal Radikal Bebas (DPPH)

Aktivitas penangkal radikal bebas dari fraksi alga *Padina australis* dianalisis dengan menggunakan pengujian penangkal radikal bebas atau metode DPPH Burda *et al.*, (2001). Metode DPPH merupakan salah satu dari metode penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan reagen DPPH (1,1-diphenyl-2-picilyhydrazyl). Rumput laut memiliki kemampuan dalam mensintesis senyawa antioksidan sebagai suatu sistem pertahanan dari paparan radikal bebas (Budhiyanti *et al.*, 2012). Nursid *et al.*, (2013) mengatakan bahwa alga *Padina australis* memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan alga coklat lainnya. Hasil presentasi aktivitas penangkal radikal bebas dari fraksi alga *Padina australis* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas (DPPH) dari Fraksi Alga *Padina australis*.

Berdasarkan Gambar 2, dapat dilihat bahwa sampel F4 yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya. Hal ini dikarenakan nilai absorbansi yang dimiliki oleh F4 sangat rendah sehingga berpengaruh pada presentase aktivitas penangkal radikal bebas (DPPH). Semakin rendah nilai absorbansi sampel maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dari sampel tersebut. Begitupun sebaliknya semakin tinggi nilai absorbansi sampel maka semakin rendah aktivitas antioksidan dari sampel tersebut.

Hasil uji Duncan juga menunjukkan bahwa F4 memiliki aktivitas antioksidan yang tertinggi. Diikuti F2, F1, F3, dan F5. Hal ini dikarenakan adanya komponen struktural yang terdapat pada alga seperti asam-asam lemak yang tidak mengalami kerusakan oksidatif yang disebabkan radikal bebas (Kelman *et al.*, 2012). Kemampuan rumput laut dalam mensintesis senyawa antioksidan sebagai suatu sistem pertahanan dari paparan radikal bebas dapat merefleksikan kemampuan adaptasi rumput laut terhadap radiasi sinar matahari (Budhiyanti *et al.*, 2012).

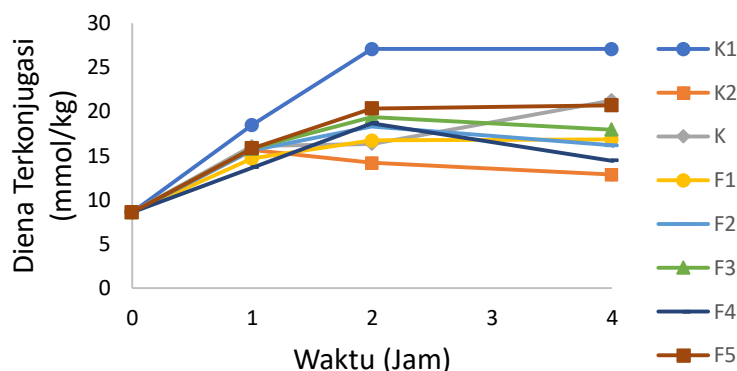
Hasil aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan kandungan fenolik. Hal ini dikarenakan kemampuan penangkapan radikal bebas (DPPH) yang dipengaruhi oleh gugus OH yang terdapat dalam senyawa fenolik (Nakiboglu *et al.*, 2007). Semakin banyak gugus hidroksil yang tersubstitusi dalam molekul maka kemampuan penangkal radikal bebasnya semakin kuat

karena semakin banyak atom hidrogen yang dapat didonorkan (Yu Lin *et al.*, 2009).

Aktivitas Antifotooksidasi Terhadap Asam Linoleat

Aktivitas antifotooksidasi dilakukan dengan mengukur aktivitas antioksidan pada sistem emulsi dengan metode diena terkonjugasi. Prinsip dari metode diena terkonjugasi adalah mengukur hidroperoksida diena terkonjugasi dari emulsi (o/w) 10 persen yang telah diinduksi sinar tampak 25 watt selama 4 jam. Diena terkonjugasi merupakan proses fotooksidasi pada asam linoleat dengan menggunakan eritrosin sebagai fotosensitiser. Proses ini menyebabkan terjadinya pergeseran posisi sebuah ikatan rangkap, dimana ikatan rangkap pada asam lemak atau asam linoleat memperlemah ikatan C-H pada atom karbon yang berdekatan dengan ikatan rangkap tersebut sehingga pelepasan H menjadi lebih mudah (Ruharjo, 2006).

Berdasarkan penelitian ini, eritrosin pada emulsi berfungsi sebagai inisiator terjadinya oksidasi. Sensitiser dapat menyerap energi cahaya dan mentransfer kelebihan energinya ke oksigen triplet membentuk oksigen singlet sehingga dapat menyebabkan oksigen singlet bereaksi dengan ikatan rangkap yang kaya elektron seperti pada asam lemak tak jenuh dalam hal ini asam linoleat sehingga menyebabkan asam linoleat lebih mudah untuk teroksidasi (Suryanto, 2012). Aktivitas antifotooksidasi dari fraksi alga *Padina australis* konsentrasi 500 µg/mL dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kandungan Diena Terkonjugasi dari Fraksi Alga *Padina australis* (Ket. K1 = kontrol yang dichayakan; K2 = kontrol yang tidak dichayakan; K= kontrol yang berisi hanya emulsi dan dichayakan)

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat bahwa kandungan diena terkonjugasi dari fraksi alga *Padina australis* menurun dibandingkan dengan K1. Semakin meningkatnya nilai kandungan diena terkonjugasi yang diperoleh maka semakin tinggi terjadinya reaksi fotooksidasi terhadap asam linoleat. Dan juga semakin lama dichayakan maka semakin tinggi nilai diena terkonjugasi yang akan diperoleh. Diena terkonjugasi merupakan awal proses oksidasi asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat maupun asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acids*), dimana terjadinya pergeseran posisi sebuah ikatan rangkap. Struktur 1,4-pentadiena didalam asam linoleat membuatnya menjadi sangat mudah mengalami oksidasi. Adanya ikatan ganda pada asam lemak memperlemah ikatan C-H pada atom karbon yang dekat dengan ikatan ganda tersebut sehingga pelepasan H lebih mudah (Ruharjo, 2006).

Fraksi alga *Padina australis* pada konsentrasi 500 µg/mL memberikan efek penstabil oksigen singlet atau aktivitas antifotooksidasi terhadap asam linoleat yang berbeda-beda. F4 menunjukkan kandungan

diena terkonjugasi terendah. Hal ini mengindikasikan bahwa F4 memiliki aktivitas antifotooksidasi yang lebih tinggi dibandingkan fraksi lainnya. Diikuti F2, F1, F3 dan F5 yang juga memiliki aktivitas antifotooksidasi yang sama. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa fraksi alga *Padina australis* memiliki kemampuan yang dapat melindungi lipid dalam sistem emulsi.

Tabel 4. Slop Diena Terkonjugasi dari Fraksi Alga *Padina australis*

Sampel	Slop
K1	0,03 ± 0,01 ^c
K2	0,01 ± 0,01 ^a
K	0,04 ± 0,01 ^d
F1	0,02 ± 0,01 ^b
F2	0,02 ± 0,01 ^b
F3	0,03 ± 0,01 ^c
F4	0,01 ± 0,01 ^a
F5	0,04 ± 0,01 ^d

Tabel 4 dan hasil uji Duncan juga menunjukkan bahwa sampel F4 memiliki perbedaan yang sangat nyata terhadap sampel F2, F1, F3 dan F5 (lampiran 8). Perbedaan yang dimaksud adalah aktivitas antifotooksidasi. Urutan aktivitas

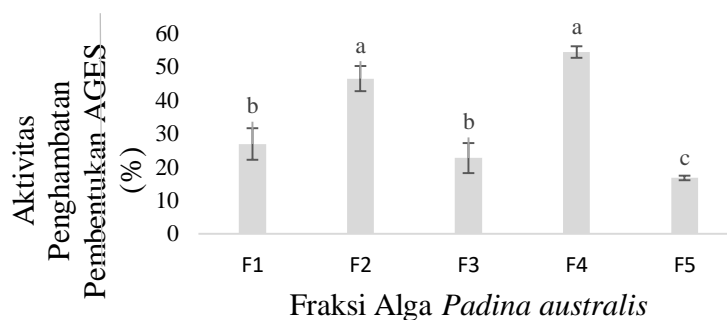
antifotooksidasi dalam fraksi secara berturut F4 > F2 > F1 > F3 > F5. K2 dan F4 memiliki kemampuan yang sama dalam melindungi lipid. Sehingga angka peroksida yang diperoleh F4 sangat rendah bahkan mendekati nilai absorbansi kontrol tanpa cahaya (K2). Sedangkan, F1 dan F2 memiliki aktivitas yang sama begitupun F3 dan F5. Berbanding terbalik dengan K1 dan K yang memiliki angka peroksida yang sangat tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa K1 dan K kurang memiliki kemampuan dalam melindungi lipid karena lipid telah mengalami oksidasi dengan bantuan cahaya.

F4 memiliki aktivitas antifotooksidasi paling tinggi. Hal ini dikarenakan antioksidan memiliki pengaruh dalam sistem emulsi karena antioksidan lipofilik bersifat cukup aktif pada permukaan yang berada pada droplet emulsi dan terorientasi pada interfasa minyak-air sehingga akan menghambat minyak dari proses oksidasi (Fatimah, 2008). Semakin tinggi konsentrasi antioksidan pada antar permukaan minyak-air maka aktivitasnya melindungi minyak terhadap oksidasi akan menjadi lebih baik (Huang *et al.*, 1996). Sehingga hasil aktivitas antifotooksidasi yang didapatkan

berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan.

Aktivitas Penghambat Pembentukan AGES (*Advanced Glycation End-Products*) secara *In Vitro*

Dalam penelitian ini, penentuan aktivitas penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) dilakukan dengan menggunakan metode Peng dan Zheng *et al.*, (2008) yang dimodifikasi dengan metode Lappin *et al.*, (1951) pada fraksi alga *Padina australis*. Pada proses pengujian digunakan protein *Bovine Serum Albumin* (BSA). Penentuan karbonil Lappin *et al.*, (1951) dilakukan untuk mempercepat reaksi Maillard dengan penambahan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH). Penambahan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) dengan BSA akan membentuk gugus keton atau aldehid (Yuichiro *et al.*, 2010). Gugus keton atau aldehid yang terbentuk akan memicu terjadinya reaksi glikasi yang akan membentuk AGEs. Sehingga, diharapkan dengan adanya penambahan fraksi alga *Padina australis* dapat menghambat pembentukan AGEs. Aktivitas penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*) dari fraksi alga *Padina australis* dengan konsentrasi 2000 µg/mL dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Aktivitas Penghambat Pembentukan AGEs (*Advance Glycation End-Products*) dari Fraksi Alga *Padina australis*.

Gambar 4 menunjukkan bahwa sampel F4 memiliki aktivitas penghambat pembentukan AGEs yang tertinggi. Hal ini dikarenakan adanya aktivitas penangkal radikal bebas (DPPH) atau antioksidan yang tinggi atau sangat kuat. Sehingga dapat menghambat terjadinya oksidasi radikal bebas yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif akan membentuk AGEs (*Advanced Glycation End-Products*).

Hasil uji statistik juga menunjukkan bahwa fraksi alga *Padina australis* memberikan perbedaan sangat nyata dalam proses penghambat pembentukan *Advanced Glycation End-Products* (AGEs) (lampiran 8). Perbedaan yang dimaksud adalah aktivitas penghambat pembentukan AGEs. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa F4 memiliki aktivitas yang tertinggi. Diikuti F2, F1, F3 dan F5. Hal ini mengindikasikan adanya korelasi antara hasil fraksinasi, kandungan senyawa fenolik, serta aktivitas penangkal radikal. Semakin tinggi nilai rendemen yang didapatkan dari hasil fraksinasi serta warna yang jernih atau pekat yang didapatkan oleh fraksi. Maka semakin tinggi pula kandungan total fenolik, aktivitas penangkal radikal bebas, serta aktivitas penghambat pembentukan AGEs. Begitupun sebaliknya, semakin rendah nilai rendemen yang didapatkan dari hasil fraksinasi serta warna yang encer atau bening seperti yang didapatkan oleh F5. Maka semakin rendah pula kandungan total fenolik, aktivitas penangkal radikal bebas, serta aktivitas penghambat pembentukan AGEs.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa fraksi alga *Padina*

australis memiliki aktivitas antifotooksidasi dan penghambat pembentukan AGEs (*Advanced Glycation End-Products*).

DAFTAR PUSTAKA

- Burda S. & Oleszek W. 2001. Antioxidant And Anti- in Northern Kyushu, Japan. *Jpn. J. Cancer Res.* 79, Radical Activities Of Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **49** :2774-2779.
- Budhiyanti, S.A., Raharjo, Marseno, D.W., and Lelana, Y.B. 2012. Antioxidant Activity Of Brown Algae *Sargassum* Species Extract From The Coastline Of Java Island. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences.* **3** : 337–346.
- Davies, K.J. dan Goldberg, A.L. 1987. Protein Damaged by Oxygen Radicals Are Rapidly Degraded in Extracts of Red Blood Cells. *Journal of Biological Chemistry.* **262**: 8227–8234.
- Frankel, E.N., & W. E. Neff. 1979. Analysis of Autoxidised Fats by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. IV. Soybean Oil Methyl Esters. *Lipids.* **14**: 39-46.
- Ganeshan, S., A. Balasubramaniam., & V, Perumal. 2015. Phlorotannins From Brown Algae : Inhibition Of AGEs Formation In High Glucose Induced *Caenorhabditis elegans*. *Indian Journal of Experimental Biology.* **53** :371-379.
- Huang, S. W., E. N. Frankel, K. Schwarz, R. Aeschbach & J. B. German. 1996. Antioxidant Activity of Camosic Acid and Methyl Ca,osate in Bulk Oils and Oil-in-Water Emulsions. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*. **44** : 2951-2956.
- Irwandi, J., N.Dedi, M.S.Hamzah,&M.Kazuo. 2011. Isolation of Fucoxanthin And Fatty Acids Analysis Of *Padina australis* And Cytotoxic Effect Of Fucoxanthin On Human Long Cancer (H1299) Cell Lines. *Full Length Research Paper*. **10**: 18855-18862.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U. dan Lee, S.C. 2004. Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52**: 3389-3393.
- Kelman, D., Posner, E. K., McDermid, K. J., Tabandera, N. K., Wright, P. R., & Wright, A. D. 2012. Antioxidant Activity of Hawaiian Marine Algae. *Marine Drugs Journal*. **10** : 403–416.
- Lappin, G., & L, Clark. 1951. Colorimetric Method For Determination of Traces of Carbonyl Compounds. *Analytical Chemistry*. **23**: 541-542.
- Limantara, L., & Heriyanto. 2011. Optimasi Proses Ekstraksi Fukonsantin Rumput Laut Coklat *Padina australis* Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar. *Jurnal Ilmu Kelautan*. **2** : 86-94.
- Nakiboglu, M., Urek, R. O., & Kayali, H. A. 2007. Antioxidant Capacities Of Endemic *Sideritis Sipylea* And *Origanum Sipyleum* From Turkey. **104** : 630-635.
- Nursid, M., Wikanta, T., & Susilowati, R. 2013. Aktivitas Antioksidan, Sitotoksisitas Dan Kandungan Fukosantin Ekstrak Rumput Laut Coklat Dari Pantai Binuangeun Banten. *JPB Kelautan Dan Perikanan*. **1**: 73-84.
- Peng, X., Z, Zheng., K. W. Cheng., F. Shan., G. X. Ren., F. Chen., & M. Wang. 2008. Inhibitory Effect Of Mung Bean Extract And It's Constituent's Vitexin And Isovitexin On The Formation Of Advanced Glycation Ends Product. *Food Chemistry Journal*. **106** : 475-500.
- Ruharjo, S. 2006. *Kerusakan Oksidatif pada Makanan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Santoso, J., Y. S. Yoshie., &T. Suzuki. 2004. Anti-Oxidant Activity Of Methanol Extracts From Indonesian Seaweeds In An Oil Emulsion Model. *Fisheries Science Journal*. **70** : 183-188.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Yu Lin, H. K, Lin, Y. H., & Chiang, W. 2009. Antioxidative Effect and Active Components From Leaves Of Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Journal Of Agriculture And Food Chemistry*. **57** : 6623-6629.
- Zheng, W.,& S. Y. Wang. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal Agriculture, Food Chemistry*. **49**: 5165-5170.