

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL ALGA
Ulva lactuca MENGGUNAKAN METODE DPPH
(1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl)**

Gia Aprilia Kartini Ulaan¹⁾, Adithya Yudistira¹⁾, Henki Rotinsulu¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Ulva lactuca Algae habitat was found in shallow marine waters and its morphology is thin and flat thallus. *Ulva lactuca* Algae, known as sea lettuce, contains a lot of chlorophyll in its cells. Chlorophyll has the ability as a free radical scavenger and also has antioxidant activity. Antioxidants are compounds that could inhibit oxidation reactions by binding to free radicals and highly reactive molecules. This study was conducted to determine the antioxidant activity of ethanol extract of Algae *Ulva lactuca* obtained from the Lembeh Strait, Bitung City. *Ulva lactuca* Algae was extracted by maceration method using ethanol solvent. Testing of antioxidant activity was carried out using the DPPH method, which was measured using a UV-VIS spectrophotometer. The results showed that the ethanol extracts of *Ulva lactuca* Algae had antioxidant activity with a percentage value of 51.63% at a concentration of 100 mg/L.

Keywords : *Ulva lactuca* Algae, Antioxidants, Ethanol, DPPH

ABSTRAK

Habitat tumbuhan Alga *Ulva lactuca* terdapat di air laut dan morfologinya berupa *thallus* tipis dan gepeng. Alga *Ulva lactuca* yang dikenal dengan selada laut, banyak mengandung klorofil dalam sel-selnya. Klorofil memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan juga memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol Alga *Ulva lactuca* yang diperoleh dari Peraian Selat Lembeh, Kota Bitung. Alga *Ulva lactuca* diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH yang diukur menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol Alga *Ulva lactuca* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai presentase sebesar 51,63% pada konsentrasi 100 mg/L.

Kata kunci : Alga *Ulva lactuca*, Antioksidan, Etanol, DPPH

PENDAHULUAN

Alga makro atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut merupakan salah satu potensi biota laut perairan Indonesia. Saat ini sudah ditemukan 555 jenis alga yang berdasarkan kandungan pigmennya dikelompokkan menjadi 4 kelas, yakni : *Rhodophyceae*, *Phaeophyceae*, *Chlorophyceae*, *Cyanophyceae* (Anggadiredja *et al.*, 2006).

Pada tahun 1980-an dan 1990-an, banyak zat bioaktif ditemukan dari bakteri laut, invertebrata, dan alga. Beberapa zat aktif yang diisolasi dari rumput laut, seperti polisakarida, asam lemak, protein, fenolik, terpena. Menunjukkan signifikan aktivitas antitumor, antibakteri, antivirus, dan antioksidatif (Li *et al.*, 2018).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif serta kanker (Sutrisna, 2013).

Radikal bebas dapat terbentuk dari proses metabolisme dalam tubuh serta pengaruh eksternal. Faktor eksternal seperti, kondisi lingkungan serta pola hidup yang tidak sehat dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Terdapat beberapa jenis antioksidan enzimatis yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Paparan radikal bebas yang berlebihan dapat menimbulkan kondisi stres oksidatif. Untuk mencegah adanya stres oksidatif tubuh memerlukan asupan makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan (Trilaksani, 2003).

Habitat tumbuhan Alga *Ulva lactuca* terdapat di air laut dan morfologinya berupa *thallus* tipis dan gepeng seperti pedang yang terdiri atas 2 lapis sel. Tidak ada diferensiasi jaringan dan seluruh sel memiliki bentuk yang kurang lebih identik, kecuali pada sel-sel basal yang mengalami elongasi membentuk rhizoid penempel. Masing-masing sel pada spesies ini terdiri atas sebuah nukleus, dengan kloroplas berbentuk cangkir, dan sebuah pirenoid (Guiry, 2007).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa alga mengandung zat gizi utama seperti karbohidrat, protein dan lemak juga mengandung zat gizi spesifik seperti mineral. Karbohidrat yang terkandung pada alga yaitu selulosa dan hemiselulosa yang merupakan gizi yang tidak dapat dicerna seluruhnya oleh enzim dalam tubuh (Haryanti *et al.*, 2008).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 sampai bulan Februari 2019 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia serta Laboratorium Analisis Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium yang akan menguji komponen ekstrak dari etanol alga *Ulva lactuca* sebagai antioksidan.

Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, mikro pipet, corong, spatula, oven, rak tabung reaksi, wadah botol air kemasan 600 mL, *vortex* (Benchmark), alat-alat *pyrex*, timbangan digital (AE ADAM), spektrofotometer UV-Vis (UV-1800).

Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah alga *Ulva lactuca*, aluminium foil, kertas saring, *tissue*, vitamin C (p.a), serbuk DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), etanol 96%.

Pengambilan Sampel

Sampel alga *Ulva lactuca* diambil dari Perairan Selat Lembeh, Kota Bitung, Provinsi Sulawesi Utara. Sampel diambil dibawah ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Preparasi Sampel

Sampel alga *Ulva lactuca* yang sudah di ambil dibersihkan dan dipotong kecil-kecil lalu di masukan kedalam wadah botol, sampel yang di dalam botol di isi dengan etanol 96% selanjutnya sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Ekstraksi Sampel

Sampel alga *Ulva lactuca* sebanyak 230 gr dimasukkan kedalam wadah botol diekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 kali 24 jam sambil sesekali dikocok. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Kemudian

hasil filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C sampai etanol menguap.

Pembuatan Larutan Stok

Diambil 100 mg ekstrak alga *Ulva lactuca* dilarutkan dalam etanol 96% sampai 100 mL. Kemudian dilakukan pengenceran dengan masing-masing konsentrasi 100, 75, 50 dan 25 mg/L. Dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Hasil V_1 yang didapatkan dari masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan dengan etanol 96% hingga mencapai tanda batas 10 mL, selanjutnya ditutup menggunakan *aluminium foil*.

Pembuatan Larutan DPPH

Diambil 4 mg DPPH dilarutkan dalam etanol 96% sampai 100 mL. Kemudian larutan stok DPPH dilakukan pengujian kontrol, di uji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan Larutan Vitamin C (p.a)

Diambil 10 mg vitamin C (p.a) kemudian dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 10 mL. Kemudian buat larutan dengan konsentrasi 100, 75, 50 dan 25 mg/L. Masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan etanol 96% sampai tanda batas 10 mL dan dibuat sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah pengujian sampel dan pengujian kontrol dilanjutkan pengujian vitamin C (p.a) pada masing-masing konsentrasi sampel vitamin C (p.a) dipipet sebanyak 2 mL dimasukan kedalam tabung reaksi dan di tambahkan 2 mL larutan DPPH. Selanjutnya

divortex selama 5 detik dan diinkubasi selama 30 menit. Sampel diuji pada

spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Diambil 2 mL ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* dengan konsentrasi 100, 75, 50, dan 25 mg/L dan ditambahkan 2 mL DPPH pada masing-masing konsentrasi lalu divortex selama 5 detik. Berubahnya warna menjadi kuning menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas, selanjutnya sampel diinkubasi selama 30 menit.

Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Kemudian diamati perbandingan dengan vitamin C (p.a) sebagai standar. Aktivitas penangkapan

radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas, di uji pada spektrofotometer UV-Vis. Data persen inhibisi ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* dan Vitamin C (p.a) sebagai pembanding disajikan pada Tabel 1 berikut ini

Tabel 1. Hasil perbandingan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* dengan vitamin C (p.a).

Konsentrasi	Pengulangan			Rata-Rata
	I	II	III	
	Ekstrak Vit. C	Ekstrak Vit.C	Ekstrak Vit. C	
25 mg/L	47,10 %	47,00 %	47,00 %	47,03 %
	69,50 %	70,10 %	76,80 %	72,13 %
50 mg/L	47,90 %	48,30 %	47,10 %	47,76 %
	89,10 %	90,20 %	90,80 %	90,03 %
75 mg/L	49,70 %	47,90 %	47,40 %	48,33 %
	91,00 %	90,90 %	91,00 %	90,96 %
100 mg/L	55,90 %	50,30 %	48,70 %	51,63 %
	91,00 %	90,40 %	91,00 %	90,80 %

Pembahasan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat, serta hanya memerlukan sedikit sampel. Mekanisme kerja dalam metode DPPH yaitu di mana senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari warna ungu ke kuning yang kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani *et al.*, 2005).

DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Elektron yang tidak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorbansi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 517$ nm dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika electron tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Radikal bebas DPPH stabil dengan absorpsi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan dapat direduksi oleh senyawa antioksidan (Praptiwi, 2006). Panjang gelombang serapan maksimum (λ maks) 517 nm larutan DPPH dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang antara 400 sampai 800 nm. Hasil yang didapatkan absorbansi kontrol adalah 0,822.

Metode ekstraksi *U. lactuca* menggunakan maserasi. Metode maserasi adalah metode penyarian dengan menggunakan perendaman dan pengadukan. Dasar pemilihan metode ini adalah karena metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa yang terkandung di dalam ganggang hijau yang akan diidentifikasi tidak rusak (Harborne, 1996).

Ekstraksi dengan cara maserasi adalah metode sederhana yang paling banyak digunakan dan sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Ekstraksi alga *Ulva lactuca* merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014).

Pada analisis ini, sampel alga diekstraksi menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol karena merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik, baik senyawa polar maupun non polar. Selain itu etanol juga mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak. Konsentrasi ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* yang digunakan adalah 100, 75, 50, dan 25 mg/L. Masing-masing konsentrasi dicampurkan dengan larutan DPPH. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap dengan suhu 37⁰C. Setelah sampel diinkubasi, kemudian masing-masing ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pada tiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai persen inhibisi pada ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* memiliki aktivitas antioksidan penangkal radikal bebas dan mengalami peningkatan dari konsentrasi terendah 25 mg/L dengan nilai 47,03% sampai pada konsentrasi tertinggi 100 mg/L mendapatkan nilai hasil rata-rata 51,63%. Untuk hasil pengujian perbandingan ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* dengan vitamin C mendapatkan hasil aktivitas antioksidan vitamin C lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol alga *Ulva lactuca*.

Pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif adalah vitamin C dimana sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, aktivitas antioksidannya sangat tinggi, mudah diperoleh dan vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain. Vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Isnindar, 2011). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat inhibisi akan naik. Absorbansi sampel turun karena elektron pada DPPH menjadi berpasangan dengan elektron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning bening. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Green (2004) bahwa nilai tingkat inhibisi meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak alga *Ulva lactuca* dari Peraian Selat Lembeh Kota Bitung, memiliki aktivitas antioksidan pada setiap konsentrasi dan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi 100 mg/L dengan nilai persen inhibisi rata-rata 51,63%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol alga *Ulva lactuca* dengan konsentrasi lebih besar dari 100 mg/L dan pengujian aktivitas antioksidan metode lain seperti metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) kemudian membandingkan hasilnya dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggadiredja, J, Irawati, S, Kusmiyati. 2006. *Rumput Laut : Pembudidayaan, Pengolahan, dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Green, R.J. 2004. Antioxxidan activity of peanut plant Tissues. North caroline state university departemen of food science, Raleigh.
- Guiry, M.D. 2007. Seasonal Growth and Phenotypic Variation in Poryphyra Linearis (Rhodophyta) populations on The West Coast of Ireland. *Journal of Phycology*. **43** (3) : 90-100.

- Hanani E, Mun'im B, Sekarini R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam spons *Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. **2** (3) : 127-133.
- Harborne, J. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Haryanti, M.A., Darmanti, S., Izzati, M. 2008. Kapasitas Penyerapan dan Penyimpanan Air pada Berbagai Ukuran Potgan Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* sebagai Bahan Dasar Pupuk Organik. *Jurnal BIOMA*. Semarang: Lab. Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Diponegoro. **10** (1) : 1-6.
- Isnindar. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diopyroskaki Thunb*) dengan Metode DPPH. *Majalah Obat Tradisional*. **16** (3) : 157-164.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. **7** (2) : 361-367.
- Praptiwi, M. Harapini, I. Astuti. 2006. Nilai Peroksida Blume, (M. Roemer) Merr., Biodiversitas. **7** (3): 242-244.
- Sutrisna. 2013. *Penyakit Degeneratif*. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan : Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran terhadap Kesehatan*. Graduate Program/S3. Institut Pertanian Bogor.
- Yuhernita, Juniarti. 2011. Analisa Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara, Sains*. **15** (1): 48-52.
- Yong Li, Siqi Sun, Xiaowei Pu, Yuzhe Yang, Fei Zhu, Shouyu Zhang, Nianjun Xu. 2018. Evaluation of Antimicrobial Activities of Seaweed Resources from Zhejiang Coast, China. *Sustainability*. **10** (7).