

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK GANGGANG HIJAU (*Ulva lactuca* L.) DENGAN VARIASI KONSENTRASI PELARUT ETANOL 60%, 75%, DAN 96% MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Desti Kameliani, Nina Salamah, Any Guntarti*
Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

*Email: any_guntarti@yahoo.co.id

Artikel diterima: 10 Juli 2020; Disetujui: 17 September 2020

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i2.534>

ABSTRAK

Radikal bebas memberikan efek negatif yaitu mempercepat terjadinya penuaan dini akibat stress oksidatif yang berperan dalam proses penuaan. Penelitian sebelumnya ekstrak etanol ganggang hijau *Spyrogyra* dan *Ulva lactuca* L. memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Tujuan penelitian adalah mengetahui potensi ekstrak ganggang hijau (*Ulva lactuca* L.) dengan variasi konsentrasi pelarut sebagai antioksidan dengan metode DPPH serta mengetahui harga IC₅₀ ekstrak etanol yang dibandingkan dengan asam galat. Ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 60%, 75%, dan 96% kemudian dilakukan uji kualitatif kandungan senyawa aktif ekstrak *U. lactuca* L. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol *U. lactuca* L. spektrofotometri menggunakan pereaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) untuk mendapatkan persen penghambatan radikal bebas. Hasil dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan taraf kepercayaan 95% (p=0,05). Hasil analisis bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% *U. lactuca* L. lebih besar daripada ekstrak etanol 60% dan 75%. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 60%, 75%, dan 96%, nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 441,70 mg/ml ; 242,10 mg/ml dan 2,04 mg/ml. Nilai IC₅₀ standar asam galat adalah $3,92 \times 10^{-3}$ mg/ml. Berdasarkan uji aktivitas antioksidan yang dilakukan, kesimpulan bahwa asam galat memiliki kekuatan antioksidan yang kuat, sedangkan ketiga ekstrak etanol 60%, 75% dan 96% *U. lactuca* L. memiliki kekuatan antioksidan yang sangat lemah.

Kata kunci: ekstrak etanol *Ulva lactuca* L., fenolik, antioksidan, DPPH.

ABSTRACT

*Free radicals give a negative effect. According to earlier research, *Spyrogyra* and *Ulva lactuca* L. have an anti-oxidant activity. This research aim to knowing the extract potential of green algae (*Ulva lactuca*) with variety concentration solvent as anti-oxidant by DPPH method, and finding the price of IC₅₀ ethanol extract which compared with Galat acid. Extraction technic was maseration with ethanol solvent 60%,75%, and 96% which is implemented a qualitative test of extract active compound of *U. lactuca* Antioxidant activity of *U. lactuca* extract measured with spektrofotometri by using DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) method to get*

percentation of free radical resistor. The analytical result using SPSS, statistically got 95% credibility (p=0,05). This research showed that activity of antioxidant ethanol extract 96% of U. lactuca was higher than ethanol extract 60% and 75%. Activity of antioxidant ethanol extract 60%,75%, and 96% which confirmed by value of IC₅₀ continously are 441,70 mg/ml ; 242,10 mg/ml dan 2,04 mg/ml. Whereas the value of IC₅₀ galat acid standard is 3,92 x 10⁻³mg/ml. Based on tests of conducted antioxidant activity, the gallic acid has a strong antioxidant power, U. lactuca have a very weak antioxidant power

Keyword: ethanol extract of *Ulva lactuca* L., phenolic, antioxidant, DPPH.

PENDAHULUAN

Penuaan adalah suatu proses biologis kompleks sebagai hasil dari penuaan intrinsik (dari dalam tubuh seperti genetik) dan penuaan ekstrinsik (dari lingkungan). Faktor ekstrinsik yang paling berpengaruh dalam proses penuaan adalah radikal bebas (Nana et al., 2012). Radikal bebas dapat memberikan efek negatif yaitu mempercepat terjadinya penuaan dini akibat terjadinya stress oksidatif yang berperan penting dalam proses penuaan (Putrawan et al., 2014).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi (Renee et al., 2014). Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Cheng et al., 2016).Kekhawatiran

akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Ipandi et al., 2016).

Hampir di setiap tanaman memiliki aktivitas antioksidan, tidak terkecuali tanaman yang hidup di laut seperti ganggang. Di dalam ganggang hijau (*Ulva lactuca* L.) mengandung senyawa melatonin. Melatonin berfungsi sebagai antioksidan, yaitu melalui aksi penangkapan radikal bebas secara langsung dan meningkatkan enzim antioksidan (Lobo et al, 2010). Komponen fenolik dapat menghambat oksidasi lipid dengan menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas (Septiana and Ari asnani, 2012).

Perlu penggunaan metode pengukuran antioksidan yang tepat.

Metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Rivai *et al.*, 2013).

Dalam proses ekstraksi suatu bahan tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya: jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi, dan suhu (Senja *et al.*, 2014). Perbedaan konsentrasi etanol akan mempengaruhi banyaknya fenolik yang terlarut selama proses ekstraksi (Yuli *et al.*, 2013). Tingginya konsentrasi pelarut etanol menunjukkan turunya polaritas pelarut (Mardaningsih *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini, konsentrasi etanol 60%, 75%, dan 96% pada proses ekstraksi senyawa aktif dari *U. lactuca* L. dilakukan untuk

mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut etanol terhadap aktivitas antioksidan dengan menangkalkan radikal bebas DPPH. Nilai aktivitas antioksidan akan dinyatakan dengan IC₅₀ yang merupakan konsentrasi penghambatan radikal bebas sebanyak 50%.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak: Ekstrak secara maserasi, ditimbang sejumlah serbuk 100 g, ditambahkan etanol dengan variasi konsentrasi yaitu 60%, 75%, dan 96% direndam dalam cairan penyari dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur kamar (Anonim, 2008). Maserat disaring, diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, ekstrak kental selanjutnya ditimbang dan dihitung rendemennya.

Penetapan Susut Pengerinan Serbuk :Sebanyak 1 gram serbuk kering *U. lactuca* L. dimasukkan ke dalam *Halogen Moisture Analyzer* selama 15 menit pada temperatur 105°C (Anonim, 2008)

Penetapan Kadar Air Ekstrak: Penetapan kadar air ekstrak

dilakukan menggunakan alat destilasi toluen (Anonim, 2008).

Uji kualitatif

Uji polifenol : Sebanyak 1 ml sampel uji ditambahkan FeCl₃ 3 tetes.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji pendahuluan : Larutan sampel ditambah dengan pereaksi DPPH 0,15 mM. Jika terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning maka sampel positif dapat menangkap radikal bebas.

Uji Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas DPPH: Penentuan waktu operasional : Larutan uji dan larutan Asam galat masing-masing sebanyak 1,0 ml ditambah dengan 1,0 ml DPPH 0,15 mM. Diamati absorbansinya selama 90 menit pada panjang gelombang 517 nm (Kelly, G.S., 2011).

Analisis Hasil Penelitian

Persen penghambatan radikal bebas dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_c: Absorbansi kontrol negatif

A_s: Absorbansi sampel

Berdasarkan data-data yang diperoleh dibuat persamaan garis regresi. Berdasarkan persamaan regresi selanjutnya ditentukan besar konsentrasi penghambatan radikal 50% (IC₅₀).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan Susut Pengerinan Serbuk *U. lactuca* L.

Penetapan susut pengerinan serbuk *U. lactuca* L. ini dilakukan dengan menggunakan alat *Halogen Moisturizer Analyzer*. Susut pengerinan serbuk sebesar 6,47 ± 0,28%. Nilai tersebut kurang dari batas maksimum yang ditetapkan Farmakope Herbal yaitu kurang dari 10%. Susut pengerinan perlu dilakukan untuk mengetahui kadar air dan senyawa menguap lainnya dalam serbuk simplisia yang telah dikeringkan dan untuk memastikan simplisia aman dari tumbuhnya kapang dan jamur yang dapat menurunkan kualitas simplisia (Anonim, 2008).

Dari hasil di atas menunjukkan bahwa susut pengerinan dari serbuk simplisia *U. lactuca* L. adalah kurang dari 10%, sehingga dapat dikatakan

bahwa simplisia tersebut memenuhi syarat. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk ganggang hijau dapat dilihat pada tabel I.

Tabel 1. Hasil penetapan *moisture content* dari serbuk *U. lactuca L.*

Replikasi	Suhu (°C)	Bobot (gram)	Susut pengeringan (%)	$\bar{X} \pm LE$ (%)	CV(%)
1	105	1,041	6,63	6,47 ± 0,28	3,16
2	105	1,025	6,24		
3	105	1,026	6,54		

Pembuatan Ekstrak Etanol *U. lactuca L.*

Pembuatan ekstrak etanol *U. lactuca L.* dengan metode maserasi. Etanol yang digunakan dengan variasi konsentrasi yaitu 60%, 75% dan 96%. Variasi konsentrasi bertujuan untuk mengetahui banyaknya zat yang tersari dalam

ganggang hijau. Hasil rendemen ekstrak etanol *U. lactuca L.* dapat dilihat pada Tabel II.

Penetapan Kadar Air Ekstrak *U. lactuca L.*

Penetapan kadar air dengan destilasi toluen (Anonim, 2008). Hasil penetapan kadar air ekstrak dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak dari *U. lactuca L.*

Simplisia	Konsentrasi pelarut etanol	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Ganggang hijau	60%	100,0065	16,5126	16,51
	75%	100,0248	17,4567	17,45
	96%	100,0108	13,1759	13,17

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak *U. lactuca L.*

Sampel uji	Kadar Air (%)		$\bar{X} \pm SD$ (%)	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2		
Ekstrak etanol 60%	7,38	7,58	7,48 ± 0,14	1,89
Ekstrak etanol 75%	8,65	8,77	8,71 ± 0,08	0,97
Ekstrak etanol 96%	6,96	7,06	7,01 ± 0,07	1,01






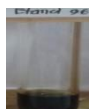
Hasil penetapan kadar air untuk ekstrak etanol 60%, 75%, dan 96% berturut-turut adalah 7,48 ± 0,14%; 8,71 ± 0,08%; dan 7,01 ±

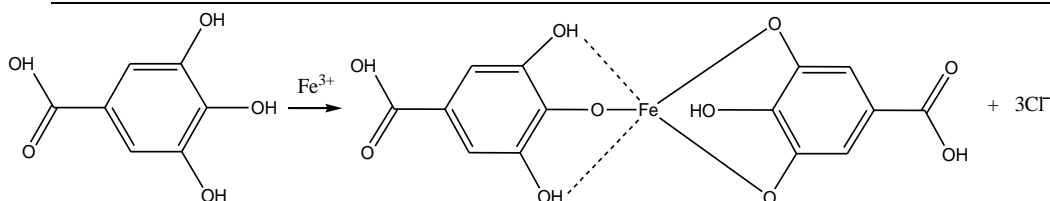
0,07%. Berdasarkan hasil penetapan kadar air diperoleh, memenuhi persyaratan yaitu > dari 10% (Anonim, 2008). Ada hubungan

antara rendemen dan kadar air. Rendemen ekstrak etanol 96% lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol 60% dan 75%, hal ini mungkin disebabkan karena kadar air pada ekstrak etanol 96% yang lebih

rendah. Dengan rendahnya kadar air pada ekstrak, menyebabkan kadar senyawa aktif di dalam ekstrak etanol 96% lebih banyak (Badarinath *et al.*, 2010).

Tabel 4. Hasil Uji Senyawa Polifenol dengan FeCl₃

Sampel	Sebelum penambahan FeCl ₃	Sesudah penambahan FeCl ₃	Keterangan hasil
Ekstrak etanol 60%			Hasil positif. Terbentuk warna hijau kehitaman
Ekstrak etanol 75%			Hasil positif. Terbentuk warna hijau kehitaman
Ekstrak etanol 96%			Hasil positif. Terbentuk warna hijau kehitaman



Gambar 1. Reaksi Uji Polifenol dengan FeCl₃ (Kelly *et al.*, 2011)

Uji Kualitatif Senyawa Aktif pada Ekstrak *U. lactuca* L.

Uji kualitatif dilakukan untuk memastikan adanya kandungan senyawa-senyawa di dalam ekstrak etanol 60%, 75%, dan 96% *U. lactuca* L. Uji tabung untuk kandungan polifenol dan identifikasi asam galat disajikan pada Tabel IV.

Ganggang hijau diketahui dapat menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antikanker, antimikroba terhadap bakteri, virus dan jamur, sebagai pupuk organik dan berpotensi untuk bioremediasi (Nurhaeni *et al.*, 2014). Pada uji

kandungan kimia ekstrak *U. lactuca* L. dengan pelarut etanol 60%, 75%, dan 96%, dilakukan uji tabung Hasil uji tabung menunjukkan bahwa ekstrak etanol *U. lactuca* L. mengandung senyawa fenolik dan alkaloid yang mempunyai aktifitas sebagai antioksidan juga (Isnindar *et al.*, 2011)

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Operating time (OT) ditetapkan untuk mengetahui waktu pengukuran yang tepat pada saat reaksi berjalan stabil. Penentuan *Operating time* dilakukan terhadap salah satu konsentrasi dari semua larutan sampel baik standar asam galat maupun sampel ekstrak dalam waktu 90 menit. Hasil *operating time* untuk standar asam galat adalah pada menit ke 41-51. Sedangkan absorbansi sampel ekstrak etanol 60% berlangsung stabil pada menit ke 37-90, ekstrak etanol 75% pada menit ke 26-51, dan ekstrak etanol 96% pada menit ke 26-60.









Panjang gelombang serapan maksimum ditetapkan sebelum penetapan aktivitas antioksidan baik

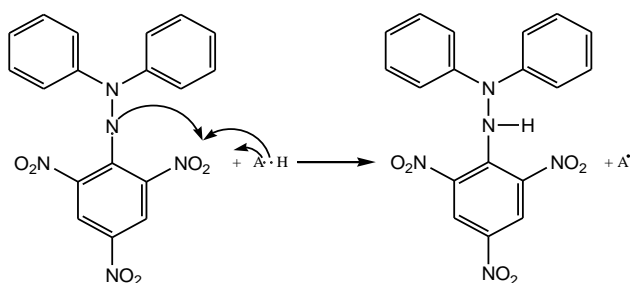
standar maupun sampel Secara teoritis, panjang gelombang serapan maksimum untuk DPPH adalah 517 nm, sehingga dilihat dari hasil penelitian, panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan panjang gelombang serapan maksimum teoritis.

Nilai IC_{50} ditentukan dari persamaan garis regresi linear yang dibuat dengan hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen penghambatan radikal DPPH. Semakin besar harga IC_{50} maka semakin kecil aktivitas penghambatan radikal bebas (Rivai *et al.*, 2013). Dari hasil tersebut, ketiga ekstrak etanol *U. lactuca* L. menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah karena mempunyai nilai IC_{50} lebih dari 500 ppm (Antonius *et al.*, 2015)

Hasil pengujian aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH oleh asam galat dan larutan ekstrak etanol etanol variasi konsentrasi dengan menggunakan parameter IC_{50} , disajikan pada Tabel VII

Tabel 5. Hasil uji pendahuluan aktivitas antioksidan dengan pemadaman warna ungu dari DPPH

Sampel	DPPH sebelum ditambah sampel	DPPH sesudah ditambah sampel	Keterangan hasil
Asam galat			Hasil positif.
Ekstrak etanol 60%			Hasil positif.
Ekstrak etanol 75%			Hasil positif.
Ekstrak etanol 96%			Hasil Posistif



Gambar 3. Reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan (Dehpour, 2009)

Tabel 5. Nilai IC₅₀ pada asam galat, ekstrak etanol, 60%, 75%, dan 95%

No	Sampel	IC ₅₀ (X ± LE) mg/ml	CV (%)
1	Asam galat	3,92.10 ⁻³ ± 3,50x10 ⁻⁶	0,31
2	Ekstrak Etanol 60%	441,70 ± 1,11	0,88
3	Ekstrak Etanol 75%	242,10 ± 1,41	2,04
4	Ekstrak Etanol 95%	2,04 ± 0,02	4,38

Menurut Jun, *et al* (2003) tingkat kekuatan antioksidan adalah kuat (IC₅₀ <50 ppm), aktif (IC₅₀ 50-100 ppm), sedang (IC₅₀ 101-250 ppm), lemah (IC₅₀ 250-500 ppm), dan

sangat lemah (IC₅₀ >500 ppm). Aktivitas antioksidan asam galat memiliki nilai IC₅₀ yang lebih kecil dari ketiga ekstrak etanol ganggang hijau yaitu 3,92x10⁻³mg/ml (3,92

ppm). Hal ini menunjukkan bahwa asam galat sebagai pembanding positif memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada ekstrak etanol 60%, 75%, dan 96% dan tergolong kuat dalam menghambat radikal bebas (Rahmawati *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol *U. lactuca* L. dengan konsentrasi pelarut etanol 60%, 75%, dan 96% memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan nilai IC₅₀ pada posisi lemah

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2009, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I, Departemen Kesehatan Indonesia.
- Antonius, P., Rumengan., Desy A., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga *Dictyosphaeria cavernosa* dari Perairan Teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 2(2).
- Badarinath A., Rao K., Chetty CS., Ramkanth S., Rajan T., and Gnanaprakash KA., 2010, review on In-Vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations, *International Journal of PharmaTech Research*, 1276-1285.
- Isnindar, Setyowati, R., dan Wahyono, S., 2011, Aktivitas Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* L.F) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrihidrazil), *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157-164.
- Cheng, S.H., Khoo, H.E., Ismail, A., Abdul-Hamid, A., and Barakatun-Nisak, 2016, M.Y. Influence Of Extraction Solvents On *Cosmos Caudatus* Leaf Antioxidant Properties, *Iranian Journal of Science and Technology*. 40.
- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N. S., and Mohammad, N.S., 2010, *Antioksidant Activity of Methanol Extract of Ferula Assafoetida and Its Essential Oil Composition. Grasas Aceite*, 60(4), 405-412.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., Prayitno, B., 2016, Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leukosyke capitellata* Wedd.), *Pharmasiencie*, 3(1): 93-100.
- Kelly, G.S., 2011, Quersetin, *Alternative Medicine Review*. 16(2):172-194
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010, Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods : Impact On Human Health, *Pharmacogn Rev.* 4(8): 118-126.
- Mardaningsih, Fitri, Andriani M.A.M., Kawiji, 2012, Pengaruh Konsentrasi Etanol dan suhu Spray Dryer terhadap Karakteristik Bubuk Klorofil Daun Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dengan

- Menggunakan Binder Maltodekstrin. *Jurnal Teknosains Pangan*, 1(1): 110-107.
- Nana, F.W., Hilou, A., Millogo, J.F., Nacoulma, O.G., (2012), Phytochemical Composition, Antioxidant and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. Extracts, *Pharmaceuticals*. 5(6), 613-628.
- Nurhaeni, F., Lestari, T., Wahyuono, S., Rohman, A., 2014, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Kandungan Totalnya, *Media Farmasi*, 11(2): 167-178.
- Putrawan, Bahriul, Nurdin, Rahman., Anang, Wahid, 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil., *J. Akad. Kim*, 3(3): 143-149, ISSN 2302-6030.
- Rahmawati, Rahman, S., Wati, A., Herman, H., Arsyad, F., 2014, Test of Antioxidant Activity Leaves of *Scaevola tacadda* (Gaertn) Roxb. Using DPPH(1-1-Difenil-2-Pikrilhidrazil), *International Research Journal of Pharmacy*, 5.
- Renee, L.B., Kubola, J., Siriamornpun, S., Herald, T.J., and Shi, Y.C., 2014, Wheat bran particles size influence on phytochemical extracibility and antioxidant properties. *Jurnal Food Chemistry*, 152: 483-490.
- Rivai, Harrizul, Ernira W.S., dan Rusdi, 2013, Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annova muricata* L.), *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 18(1): 35-42.
- Senja, R.Y., Elisa I., Akhmad K.N., dan Erna P.S., 2014, Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata* f. *Rubra*). *Traditional Medicine Journal*, 19(1):43-48.
- Septiana, A.T., dan Ari Asnani, 2012, Kajian Sifat fisikokimia Ekstrak rumput Laut coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut Metode Ekstraksi, *Agrointek Volume 6*, No 1, Universitas Jendral soedirman, Purwokerto.
- Yuliarti, Wulan, Dewi K., Enny F., 2013, Isolasi Identifikasi dan Uji Antioksidan Asam Fenolat Dalam Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). *Chem Info*, 1(1) : 294-304.