

## Identifikasi Aktivitas Antioksidan Dari Purifikasi Ekstrak Rengkam (*Sargassum Polycystum C. Agardh*) Secara In Vitro Dengan Metode Dpph (2,2 Diphenyl -1- Picrylhydrazyl)

Moch. Hidayat Turohman<sup>1</sup>, Dachriyanus<sup>2</sup>, Diani Mega Sari<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Institut Kesehatan Mitra Bunda

Email: [dachriyanus@phar.unand.ac.id](mailto:dachriyanus@phar.unand.ac.id)

### ABSTRAK

Rengkam (*Sargassum polycystum C. Agardh*) merupakan salah satu jenis alga coklat yang diketahui mengandung senyawa fenolik, salah satunya *phloroglucinol* yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan *phloroglucinol* pada hasil purifikasi ekstrak Rengkam serta menentukan aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (2,2- *diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Sampel Rengkam diperoleh dari wilayah perairan Belakang Padang, Batam, kemudian diekstraksi menggunakan tiga konsentrasi pelarut etanol yaitu 50%, 70%, dan 96%, lalu dimurnikan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan eluen *n-heksan:aseton* (6:4). Identifikasi senyawa dilakukan melalui uji KLT dengan standar *phloroglucinol* dan analisis spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas antioksidan diuji secara *in vitro* berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang dihitung dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persen inhibisi radikal bebas DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa purifikasi ekstrak Rengkam mengandung *phloroglucinol* dan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 468,44 ppm. Nilai tersebut tergolong dalam kategori sangat lemah karena melebihi batas 250 ppm. Dengan demikian, meskipun mengandung *phloroglucinol*, aktivitas antioksidan dari ekstrak Rengkam (*Sargassum polycystum C. Agardh*) hasil purifikasi masih tergolong rendah.

**Kata Kunci:** Rengkam, (*Sargassum polycystum C. Agardh*), *Phloroglucinol*, Purifikasi, DPPH,  $IC_{50}$ .

### ABSTRACT

*Rengkam (Sargassum polycystum C. Agardh) is a brown algae known to contain phenolic compounds such as phloroglucinol, which has potential as a natural antioxidant. This study aimed to identify the presence of phloroglucinol in the purified extract of Rengkam and to determine its antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The Rengkam samples were collected from the coastal area of Belakang Padang, Batam, then extracted using three ethanol solvent concentrations of 50%, 70%, and 96%, and purified through column chromatography with n-hexane:acetone (6:4) as the eluent. The identification of compounds was conducted using Thin Layer Chromatography (TLC) with phloroglucinol as a standard and analyzed by UV-Vis spectrophotometry. Antioxidant activity was evaluated in vitro based on the  $IC_{50}$  value obtained from the linear regression between sample concentration and the percentage of DPPH radical inhibition. The results showed that the purified Rengkam extract contained phloroglucinol and exhibited antioxidant activity with an  $IC_{50}$  value of 468.44*

ppm. This value is classified as very weak, as it exceeds the threshold of 250 ppm. Therefore, although the purified extract of Rengkam (*Sargassum polycystum* C. Agardh) contains phloroglucinol, its antioxidant activity remains relatively low.

**Keywords:** Rengkam, (*Sargassum polycystum* C. Agardh), Phloroglucinol, Purification, DPPH, IC<sub>50</sub>.

## PENDAHULUAN

Rengkam merupakan spesies rumput laut yang memiliki peranan signifikan sebagai komoditas utama dalam industri perikanan Indonesia. Dilihat dari warna talusnya, rumput laut dikategorikan menjadi tiga jenis, yaitu alga merah (*Rhodophyta*), alga hijau (*Chlorophyta*), dan alga coklat (*Phaeophyta*). Penanaman rumput laut di Indonesia dilaporkan mengalami pertumbuhan, dari kurang dari 4 juta ton pada tahun 2010 hingga lebih dari 11 juta ton antara tahun 2015 dan 2018. Rumput laut memiliki peluang yang menjanjikan dalam industri makanan serta sektor non-makanan, seperti produk kosmetik, tekstil, dan obat-obatan (Nuraini *et al.*, 2021).

*Phloroglucinol* merupakan turunan multifungsi pada alga. Dalam dunia kesehatan, alga coklat (*Phaeophyta*) mengandung salah satu senyawa aktif, yaitu *phloroglucinol*, yang digunakan untuk mengobati batuk, asma, kelelahan, nyeri perut, ambeien, migrain, serta dalam program diet dan perawatan kulit. *Phloroglucinol* memiliki berbagai khasiat, antara lain meredakan peradangan, berfungsi sebagai pengencer darah, dan membantu mencegah kanker (Bare *et al.*, 2022).

Selain mengandung senyawa aktif, alga coklat juga kaya akan senyawa bioaktif seperti *alginat*, *fucoidan*, *fucoxanthin*, dan *phlorotannin*. Senyawa-senyawa ini digunakan dalam produk kecantikan, termasuk untuk pemutihan kulit, pencegahan penuaan, pengurangan kerutan, pencegahan alergi, serta sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang secara alami ada dalam tubuh manusia dan berperan memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas. Dengan cara ini, antioksidan dapat menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil. Dalam hal kesehatan, antioksidan memiliki peran penting sebagai agen antiinflamasi, antitumor, antitrombogenik, dan antiosteoporosis. Salah satu cara kerja antioksidan adalah dengan menangkap radikal bebas (Anugrah *et al.*, 2021).

Aktivitas antioksidan dianalisis berdasarkan nilai persentase inhibisi (IC<sub>50</sub>) terhadap 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenolik dari ekstrak etanol *S. polycystum* adalah 12,85 mg setara asam galat (GAE)/g, yang menghasilkan aktivitas 3 antioksidan yang kuat dengan nilai konsentrasi inhibisi (IC<sub>50</sub>) sebesar 98,903 µg/mL (< 100 µg/mL) terhadap radikal bebas. Selain itu, ekstrak metanol *Sargassum sp.* yang memiliki kandungan fenolik 57,97 mg GAE/g juga menunjukkan sifat sebagai antioksidan yang kuat dengan (IC<sub>50</sub>) sebesar 69,27 µg/mL (Sedjati *et al.*, 2024).

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat kualitatif dan kuantitatif dengan jenis eksperimental laboratorium, dimana faktor yang diteliti adalah purifikasi ekstrak rengkam (*Sargassum polycystum C. Agardh*). Pengujian yang dilakukan adalah identifikasi aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl).

Alat yang digunakan yaitu rotary evaporator, kolom kromatografi, labu bersumbat, water bath, cawan porselin dan penjepit, oven, tanur, tabung dan rak tabung reaksi, pipet pasteur/pipet tetes, sentrifugasi dan tabung sentrifugasi, vortex, pipet mikro, pipet volume, spektrofotometer UV-Vis, kuvet, timbangan analitik, spatel, batang pengaduk, wadah/vial, dan alat penunjang lainnya.

Bahan yang digunakan yaitu sampel tanaman Rengkam, pelarut etanol (50%, 70%, 96%), silica gel, n-heksan, aseton, aquadest, kloroform, kertas saring, logam magesium (Mg), asam klorida (HCl), asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), reagen mayer, arang aktif (C), asam anhidrat ((CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O), ferri klorida (FeCl<sub>3</sub>), standar phloroglucinol, metanol p.a, reagen follin ciocalteu, natrium karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), standar DPPH, serbuk vitamin c, dan alumunium foil.

Sampel Rengkam diambil dari perairan Belakang Padang, Batam, Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Sampel Rengkam (*Sargassum polycystum C. Agardh*) dikumpulkan dari perairan Belakang Padang, Batam, kemudian dideterminasi untuk memastikan kebenaran spesies. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan tiga variasi konsentrasi pelarut etanol, yaitu 50%, 70%, dan 96%. Hasil ekstrak kemudian disaring, diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan proses purifikasi menggunakan metode kromatografi kolom dengan eluen campuran n-heksan:aseton (6:4) untuk memisahkan senyawa aktif yang diinginkan.

Identifikasi senyawa dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan standar *phloroglucinol* untuk melihat kesamaan nilai *R<sub>f</sub>*, serta dikonfirmasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) pada panjang gelombang 517 nm. Sampel dan perbandingan (vitamin C) diukur absorbansinya, kemudian dihitung persen inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub> melalui persamaan regresi linier antara konsentrasi dan persen inhibisi radikal bebas. Nilai IC<sub>50</sub> digunakan sebagai indikator kekuatan aktivitas antioksidan dari ekstrak hasil purifikasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Ekstrak Phloroglucinol Tanaman Renggam

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Maserasi

Sampel Tanaman	Pelaru t	Berat Samp el	Berat Ekstra k	Rendeme n (%)
Tanaman Renggam ( <i>Sargassum</i> <i>Polycystum C.</i> <i>Agardh</i> )	Etanol 50%	2000 gram	9,09 gram	0,4545%
Tanaman Renggam ( <i>Sargassum</i> <i>Polycystum C.</i> <i>Agardh</i> )	Etanol 70%	2000 gram	17,5 gram	0,875%
Tanaman Renggam ( <i>Sargassum</i> <i>Polycystum C.</i> <i>Agardh</i> )	Etanol 96%	2000 gram	30,8 gram	1,54%

Rendemen dari ketiga konsentrasi pelarut belum memenuhi kualitas yang diharapkan. Belum ada literatur yang menetapkan standar rendemen untuk alga cokelat *Sargassum polycystum* C. Agardh. Rendemen yang tidak sesuai kemungkinan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti suhu pemanasan, lokasi sampel, dan faktor eksternal lainnya (Sasongko *et al.*, 2024).

## B. Purifikasi Ekstrak dan Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak yang digunakan berasal dari pelarut etanol 96% karena hanya konsentrasi ini yang menghasilkan minimal 20 gram ekstrak untuk dilakukan proses purifikasi menggunakan kromatografi kolom *silica gel*. Pemilihan pelarut mempertimbangkan kepolaran, di mana campuran n-heksana dan aseton (6:4) bersifat semipolar dan mampu menarik senyawa polar maupun nonpolar (Sukmanastiti *et al.*, 2024).

**Tabel 4.2 Hasil KLT *Phloroglucinol***

Pengaliran	Jarak Senyawa	Jarak Pelarut	Hasil Rf
Vial I	3 cm	5,5 cm	0,54
Vial II	2,8 cm	5,5 cm	0,50
Vial III	2,9 cm	5,5 cm	0,52

**Tabel 4.3 Hasil Rendemen *Phloroglucinol***


Sampel Tanaman	Pelarut	Berat Sampel	Berat Ekstrak	Rendemen (%)
Tanaman Rengkam ( <i>Sargassum Polycystum</i> C. Agardh)	N-heksan dan Aseton	20 gram	0,75 gram	3,75%

Evaporasi dilakukan pada vial yang diperkirakan mengandung *phloroglucinol* hingga membentuk pasta (Renhoran *et al.*, 2017). Rendemen ekstrak terpurifikasi dari *Sargassum*

*polycystum C. Agardh* adalah 3,75%, berasal dari senyawa aktif yang berhasil ditarik selama ekstraksi cair-cair.

### C. Hasil Standarisasi Ekstrak Terpurifikasi

**Tabel 4.4 Hasil Standarisasi Ekstrak Terpurifikasi**

Gambar	Keterangan	Hasil
	Nama Lokal	Purifikasi Ekstrak Rengkam E96%
	Nama Ilmiah	<i>Sargassum polycystum C. Agardh</i> (Purifikasi Ekstrak Rengkam E96%)
	Bagian Pemanfaatan Tanaman	Seluruh bagian dari Tanaman (Daun, Biji, Batang, Akar)
	Bentuk	Pasta
	Bau	Amis
	Warna	Cokelat Kehitaman

### D. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Terpurifikasi

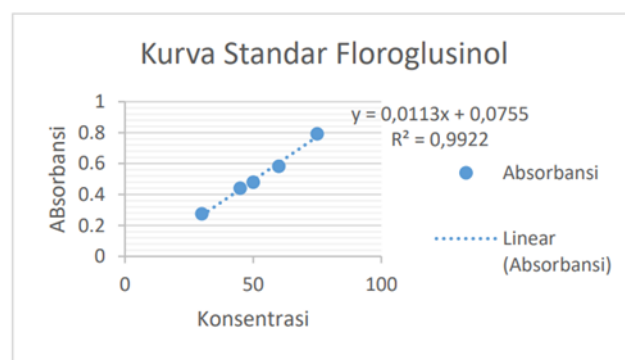
**Tabel 4.5 Hasil Skrining Fitokimia**

Metabolit Sekunder	Pereaksi/ Reagen	Hasil Uji	Ket (+/-)
Flavonoid	Mg serbuk + HCl	Orange/ Merah	(-)
Saponin	Uji Busa	Berbusa	(+)
Alkaloid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Reagen Mayer	Kabut Putih	(+)
Steroid	C + ((CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O) + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Biru/ Ungu	(-)

Triterpenoid	C + ((CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O) + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Merah	(+)
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	Biru/ Ungu	(+)

Senyawa fenolik diketahui merupakan salah satu antioksidan paling efektif pada alga cokelat. Variasi hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti lokasi tumbuh, ketinggian, suhu, intensitas cahaya matahari, curah hujan, iklim, maupun kondisi tanah, yang berpengaruh terhadap pembentukan metabolit primer dan sekunder. Faktor-faktor tersebut dapat memengaruhi metabolit sekunder baik secara kualitatif maupun kuantitatif, sehingga aktivitas bioaktif tanaman dapat bervariasi (Hadji Djafar *et al.*, 2024).

## E. Analisis Kandungan Total Fenol



**Gambar 4.1** Grafik Kurva Standar Phloroglucinol

Kandungan total fenol yang diperoleh sebesar 271,328 mg PGE/g ekstrak. Nilai ini jauh lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian (Cahyaningrum *et al.*, 2016) pada *Sargassum sp.*, yaitu sebesar  $0,61 \pm 0,27$  mg PGE/g.

**Tabel 4.4 Hasil Kadar Total Fenol**

Sampel	Rata-Rata Abs. Sampel	Kadar Total Fenol
--------	--------------------------	-------------------------

Purifikasi Ekstrak Rengkam		
( <i>Sargassum polycystum</i> C. Agardh) E96%	0,691	271,328 mg PGE/g

Penentuan kadar total fenol dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu, yang bekerja melalui reduksi gugus hidroksil fenol oleh reagen Folin-Ciocalteu hingga membentuk kompleks berwarna biru. Intensitas warna biru ini sebanding dengan konsentrasi fenolik. Reaksi berlangsung dalam suasana basa yang dibantu oleh Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, sementara reagen Folin-Ciocalteu (asam fosfomolibdat-fosfotungstat) akan direduksi oleh fenol membentuk kompleks biru sebagai indikator kadar fenolik (Dotulong et al., 2024; Priyanti et al., 2024).

**F. Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH**

**Tabel 4.8 Hasil Uji Antioksidan Baku Pembading Vitamin C**

Kons. (ppm)	Abs.1	Abs.2	Abs.3	Rata-Rata	Abs. Blanko	% Inhibisi	IC50 (ppm)
1	0,494	0,494	0,494	0,494		25,152	
2	0,360	0,360	0,360	0,360	0,660	45,455	3,289
2,5	0,359	0,359	0,359	0,359		45,606	
5	0,199	0,199	0,199	0,199		61,818	

**Tabel 4.9 Hasil Uji Antioksidan Baku Sampel Phloroglucinol**

Kons. (ppm)	Abs.1	Abs.2	Abs.3	Rata-Rata	Abs. Blanko	% Inhibisi	IC50 (ppm)
1	0,688	0,688	0,688	0,688		0,030	
2	0,573	0,573	0,574	0,573	0,710	0,192	468,44
2,5	0,459	0,459	0,459	0,459		0,353	
5	0,369	0,369	0,369	0,369		0,480	

Berdasarkan Tabel 4.8, didapati adanya hubungan terbalik antara konsentrasi ekstrak dan absorbansi. Secara spesifik, peningkatan konsentrasi ekstrak sampel menyebabkan penurunan nilai absorbansi. Penurunan absorbansi ini merupakan indikasi langsung dari peningkatan

persen inhibisi, menunjukkan bahwa radikal bebas yang dihambat menjadi lebih banyak seiring dosis ekstrak yang lebih tinggi (Mutmainnah *et al.*, 2024).

Berdasarkan Tabel 4.9, hasil pengukuran Purifikasi Ekstrak Rengkam (*Sargassum polycystum* C. Agardh) E96% pada konsentrasi 1; 2; 2,5; dan 5 ppm menunjukkan rata-rata absorbansi masing-masing sebesar 0,688; 0,573; 0,459; dan 0,369. Dari data tersebut dihitung persentase inhibisi berturut-turut sebesar 0,030; 0,192; 0,353; dan 0,480, kemudian diplot dalam grafik untuk memperoleh persamaan garis lurus. Nilai  $IC_{50}$  ditentukan dari titik potong kurva dengan garis yang menunjukkan 50% penghambatan (Manao *et al.*, 2024).

Purifikasi Ekstrak Rengkam (*Sargassum polycystum* C. Agardh) E96% memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 468,44 ppm, menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah, sejalan dengan penelitian sebelumnya. Tingginya  $IC_{50}$  dipengaruhi oleh rendahnya kandungan senyawa bioaktif serta faktor pelarut, metode ekstraksi, dan kondisi lingkungan. Proses pengolahan yang tidak optimal serta faktor teknis pada uji DPPH juga dapat menurunkan efektivitas antioksidan. Selain itu, komponen lain dalam ekstrak dapat menyebabkan interferensi atau interaksi antagonis, sehingga aktivitas antioksidan tampak lebih rendah.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Purifikasi ekstrak Rengkam (*Sargassum polycystum* C. Agardh) terdeteksi mengandung senyawa *Phloroglucinol* sebesar 271,328 mg PGE/g yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 468,44 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anugrah P.M.D.Kamoda1, Maria Nindatu2, I. (2021). Uji aktivitas antioksidan alga cokelat *saragassum sp.* dengan metode 1,1- difenil-2-pikrihidrasil (dpph). *Patimura Medical Review*, 3(April), 60–72
- Bare, Y. (2022). *Interaction Phloroglucinol as inflammation therapy through Cyclooxygenase-2 (COX-2) gene inhibition.* *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 8(1), 14–21. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v8i1.3162>
- Cahyaningrum, K., Husni, A., & Budhiyanti, S. A. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum*) (*Antioxidant Activity of Brown Seaweed (Sargassum polycystum) Extracts*). *Jurnal Agritech*, 36(02), 137. <https://doi.org/10.22146/agritech.12857>

- Dotulong, V., Mentang, F., Harikedua, S. D., & Damongilala, L. J. (2024). Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Buah Mangrove *Sonneratia alba* yang Dikeringkan dalam Kabinet Dryer. *Media Teknologi Hasil Perikanan, Sinta 3*, 64–69. <https://doi.org/10.35800/mthp.11.2.2023.53748>
- Hadji Djafar, A. P., Singkoh, M. F. O., & Rondonuwu, S. (2024). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Alga Coklat Padina australis Hauck dari Perairan Likupang Timur, Sulawesi Utara. *Bios Logos, 14*(2), 21–28.
- Manao, M., Malem Br Karo, R., Studi Farmasi Klinis, P., Kedokteran, F., & Gigi Dan Ilmu Kesehatan, K. (2024). *Jambura Journal Of Health Science And Research Uji Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Kerai Payung (Filicium Decipiens) Antioxidant Activity Test Of The Ethyl Acetate Fraction Of Methanol Extract Of Kerai Payung (Filicium D. 306–318.* <https://ejournal.ung.ac.id/index.php/jjhsr/index>
- Mutmainnah, P. A., Ariansyah, A., Ruslan, R., Agustina, S., & Annafi, N. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Laut *Sargasum Sp.* Menggunakan Metode DPPH. *Oryza ( Jurnal Pendidikan Biologi )*, 13(2), 297–303. <https://doi.org/10.33627/oz.v13i2.2707>
- Nuraini, D., Amin Alamsjah, M., Eka Saputra, dan, Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, P., Timur, J., Kelautan, D., Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, F., Koresponding, I., & Perikanan dan Kelautan, F. (2021). Aplikasi Ekstrak Pigmen Fukosantin dari *Sargassum sp.* terhadap Kualitas Fisik Sediaan Pewarna Pipi (*Blusher*) *Application of Fucoxanthin Pigment Extract from Sargassum sp. on the Physical Quality of Blusher Preparation. Journal of Marine and Coastal Science*, 10(2), 74–84. <https://e-journal.unair.ac.id/JMCS>
- Renhoran, M., Noviendri, D., Setyaningsih, I., & Uju, U. (2017). *Extraction and Purification of Fucoxanthin from Sargassum sp. as Anti-acne. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 370. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18105>
- Sasongko, G. H., Hardianti, A. N., Roshiyana, D. C., Irawan, D. A., & Putrida, S. (2024). *Specific And Non-Specific Parameter Test of Etanol Extract of Meniran Herb (Phyllanthus niruri Linn). IKIFA Journal of Pharmacy*, 3(2), 29–42. <https://epik.ikifa.ac.id/index.php/jfi/article/view/157>

- Sedjati, S., Trianto, A., Jessica, S., Larasati, H., & Haqqu, A. A. (2024). Metabolit *Sargassum* sp . sebagai Agen Antioksidan dan Fotoprotektif Radiasi Ultraviolet. 27(November), 487–498
- Sukmanastiti, M., Saputri, A. D. S., & Sa'ad, M. (2024). Pengujian Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Terpurifikasi Kuliat Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Pharmacy Medical Journal*, 7(1), 33–41.