

OPTIMALISASI PEMANFAATAN DAUN LAMUN *THALASSIA HEMPRICHII* SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI

Optimization use of Seagrass Leafs Thalassia hemprichii *As Natural Antioxidant Source*

Riki Tristanto¹⁾, Megawati Arsita Putri²⁾, Anggun P. Situmorang³⁾ dan Suryanti⁴⁾

¹⁾ Program Studi Oseanografi FPIK Universitas Diponegoro

²⁾ Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perairan FPIK Universitas Diponegoro

³⁾ Program Studi Budidaya Perairan FPIK Universitas Diponegoro

⁴⁾ Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan FPIK Universitas Diponegoro

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang

Email : rikitrizanto@gmail.com

Diserahkan tanggal 1 Juli 2014, Diterima tanggal 22 Juli 2014

ABSTRAK

Padang lamun merupakan kekayaan sumberdaya laut, salah satu ekosistem yang terdapat di wilayah pesisir, mampu menghasilkan metabolit sekunder yang beragam, dan salah satu tumbuhan air yang mempunyai manfaat penting sebagai sumber antioksidan alami yaitu lamun (*seagrass*). Lamun merupakan tumbuhan berbunga (*Angiospermae*) yang dapat menyesuaikan dirinya untuk hidup di dalam air laut. *Thalassia hemprichii* sering dijumpai di daerah Pantai Utara Jawa dan Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi antioksidan yang terkandung di daun lamun *Thalassia hemprichii*. Ekstraksi menggunakan maserasi dengan cara sampel direndam dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol selama masing-masing 1x24 jam setelah itu diuapkan dengan *vacuum rotary evaporimeter* hingga didapatkan ekstrak kasar, kemudian ekstrak diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode *diphenilpicrylhydrazil* (DPPH). Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan kemampuan sampel yang digunakan dalam mereduksi radikal bebas stabil *diphenilpicrylhydrazil* (DPPH). Satu mililiter *diphenilpicrylhydrazil* (DPPH) sebagai kontrol positif ditimbang lalu ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:3. Selanjutnya 2 mg DPPH diencerkan dengan 50 mL metanol dan ditambahkan sebanyak masing-masing 1 mL ke dalam 3 mL metanol dengan konsentrasi 75 ppm, 125 ppm dan 175 ppm. DPPH campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran nilai absorban menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Uji aktivitas antioksidan pada daun Lamun *Thalassia hemprichii* diperoleh nilai IC50 sebesar 25,98344501. Nilai ini menunjukkan bahwa sampel yang diuji mampu menghambat radikal bebas dengan sangat kuat. Sampel mengandung potensi yang besar dalam pemanfaatannya sebagai sumber antioksidan alami

Kata kunci : Ekstraksi, Maserasi, Antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Seagrass is a wealth of marine resources, one of the ecosystems found in coastal areas, able to produce a variety of secondary metabolites, and one water plant that has important benefits that can replace natural source of antioxidants that seagrass (seagrass). Seagrasses are flowering plants (Angiospermae) who can adjust himself to life in the sea water. The purpose of this study was to determine the antioxidant potential in seagrass leaves. Extraction using maceration with the way the samples were stored by using the solvent n-hexane, ethyl acetate and methanol for each 1x24 hours after it evaporated with a vacuum rotary evaporimeter to obtain a crude extract, then extract tested by using antioxidant aktivitas diphenilpicrylhydrazil (DPPH). Antioxidant activity test carried out by the ability of the samples used in reducing the stable free radical diphenilpicrylhydrazil (DPPH). Three milliliters diphenilpicrylhydrazil (DPPH) as a positive control was weighed and added to methanol with a ratio of 1:3. An additional 2 mg of DPPH was diluted with 50 mL of methanol and added at each 1 mL to 3 mL of methanol at a concentration of 75 ppm, 125 ppm and 175 ppm. DPPH mixture is homogenized and rested for 30 minutes. Antioxidant activity assay on leaf Seagrass Thalassia hemprichii showed that the IC50 value of 25.98344501. This value indicates that the samples tested were able to inhibit the free radicals are very strong. Samples containing great potential in the utilization as a source of natural antioxidants

Keywords : Extraction, Maceration, Antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Pola hidup manusia saat ini ternyata menjadi salah satu sumber radikal bebas yang berperan dalam timbulnya berbagai penyakit. Menurut Sofia (2005), menyatakan bahwa radikal

bebas merupakan spesies kimia yang memiliki elektron bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif.

Radikal bebas tipe turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh. Oksigen reaktif ini mencakup superoksida (O₂), hidroksil (OH), peroksil (ROO), hidrogen

peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (O_2), oksida nitrit (NO), peroksinitrit (ONOO) dan asam hipoklorit (HOCl) (Badarinath *et al.*, 2010).

Radikal bebas mampu bereaksi dengan protein, lipida, karbohidrat, maupun *deoxyribose nucleic acid* (DNA). Reaksi antara radikal bebas dan molekul tersebut berujung pada timbulnya suatu penyakit seperti peradangan, penuaan dini, kanker, jantung koroner, dan penyakit degeneratif lainnya. (Lim *et al.*, 2002)

Menurut Kuncahyo dan Sunardi (2007), antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Kemudian, Meenakshi *et al.* (2009) menggolongkan antioksidan menjadi dua jenis berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan buatan (sintetik) dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik yang secara umum lebih sering digunakan adalah *butylated hydroxyl anysol* (BHA), *butylated hydroxyl toluene* (BHT), *Propyl gallate* (PG), dan *butylated hydroxyl quione* (BHQ). Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan.

Salah satu tumbuhan air yang mempunyai manfaat penting yang dapat mengganti sumber antioksidan alami yaitu lamun (*seagrass*). Lamun merupakan tumbuhan berbunga (Angiospermae) yang dapat menyesuaikan dirinya untuk hidup di dalam air laut. Menurut Kurniawan (2010), lamun di dunia terdiri dari dua famili, 12 genus dengan 49 spesies. Dari 12 genus tersebut, tujuh genus diantaranya hidup di perairan tropis, yaitu *Enhalus*, *Thalassia*, *Thalassodendron*, *Halophila*, *Halodule*, *Cymodocea* dan *Syringodium*. Penelitian terhadap aktivitas antioksidan pada lamun sudah mulai dilakukan pada beberapa spesies lamun, diantaranya *Posidonia oceanic* oleh Sureda *et al.* (2008) dan *Enhalus acoroides* oleh Kannan *et al.* (2010).

Lamun dugong (*Thalassia hemprichii*) memiliki jumlah yang cukup berlimpah dan sering dominan pada padang lamun campuran. Lebar kisaran vertikal intertidalnya mendekati 25 m. Daun lamun dugong bercabang dua, tidak terpisah, berbentuk pita dan bertepi rata dengan ujung daun membulat serta memiliki akar yang berbuku-buku yang pendek (Setyawan *et al.*, 2009).

Fungsi lamun tidak banyak dipahami, banyak padang lamun yang rusak oleh berbagai aktivitas manusia. Padang lamun di Indonesia mengalami penyusutan luasan 30-40% dari luas keseluruhannya yang diakibatkan oleh aktivitas manusia secara langsung (Nontji, 2009).

METODE PENELITIAN

Tahapan Penelitian

Mempersiapkan sampel daun lamun jenis *Thalassia hemprichii*. Metode yang dilakukan untuk mendapatkan bahan antioksidan alami dari daun lamun yaitu dengan metode maserasi. Metode maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara merendam sampel dalam pelarut dengan atau tanpa pengadukan. Metode maserasi bertujuan untuk mengekstrak sampel yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam pelarut, tidak mengandung benzoin dan lilin.

Metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu bahan yaitu dengan menggunakan radikal

bebas stabil *diphenilpycrylhydrazil* (DPPH). Metode DPPH banyak dipilih karena mudah, cepat, peka dan hanya membutuhkan sedikit ekstrak sampel (Hanani *et al.*, 2005). Senyawa DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan cara mendelokalisasi elektron bebas pada suatu molekul sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas yang lain. Proses delokalisasi ini ditunjukkan dengan adanya warna ungu (violet) pekat yang dapat dikarakterisasi pada pita absorbansi dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 517 nm (Molyneux, 2004). Pada metode ini, larutan DPPH yang berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *diphenilpycrylhydrazine* yang bersifat non-radikal.

Teknik Pengumpulan Data

Pengambilan daun lamun *Thalassia hemprichii* dilakukan di Pulau Panjang, Jepara. Lamun yang telah dikumpulkan segera dibersihkan dengan air laut untuk menghilangkan kotoran-kotoran dan dibersihkan kembali dengan air tawar untuk menghilangkan garam-garam yang masih menempel. Sampel segar dimasukkan dalam kantong plastik kemudian disimpan dalam *cool-box*. Pengeringan dilakukan dengan menjemur lamun *Thalassia hemprichii* segar dengan alat STD di Universitas Soegijapranoto (Unika) Semarang sampai kering kemudian diblender hingga halus, dilanjutkan dengan pengayakan untuk mengecilkan ukuran menjadi serbuk dan mempermudah pelepasan zataktif pada saat proses Ekstraksi.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan kemampuan sampel yang digunakan dalam mereduksi radikal bebas stabil DPPH. Satu mililiter *diphenilpycrylhydrazil* (DPPH) sebagai kontrol positif ditimbang lalu ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:3. Selanjutnya 2 mg DPPH diencerkan dengan 50 mL metanol dan ditambahkan sebanyak masing-masing 1 mL ke dalam 3 mL metanol dengan konsentrasi 75 ppm, 125 ppm dan 175 ppm. DPPH campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Besarnya konsentrasi ekstrak larutan uji untuk merendam 50% aktivitas radikal bebas ditentukan dengan nilai IC50. Nilai IC50 dihitung dari persentase penghambatan serapan larutan ekstrak dengan menggunakan persamaan yang diperoleh dari kurva regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Lamun *Thalassia hemprichii*

Ekstraksi Daun Lamun *Thalassia hemprichii* dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi, yaitu dengan melakukan perendaman sampel dalam pelarut. Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain (Rahayu, 2009). Maserasi dilakukan dengan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan metanol (polar). Metode maserasi memiliki keunggulan yaitu hanya

melakukan perendaman sampel dengan pelarut dan perlatan yang sederhana (Andayani *et al.*, 2008).

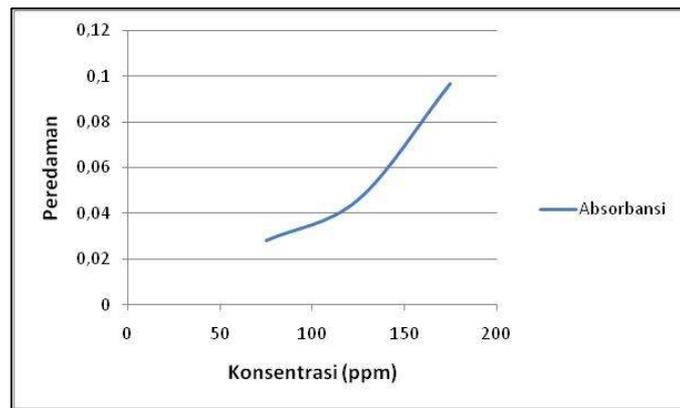
Ekstraksi sampel daun Lamun *Thalassia hemprichii* dengan menggunakan pelarut n-heksana menunjukkan warna kuning dengan residu berwarna hijau. Ekstraksi sampel dengan menambahkan larutan etil asetat memperlihatkan warna hijau setelah dimaserasi selama 24 jam atau satu hari. Sedangkan pada ekstraksi sampel dan larutan metanol menunjukkan warna hijau yang lebih pekat dibandingkan dengan ekstraksi pada larutan etil asetat karena metanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada dalam sampel, baik bersifat polar maupun non polar. Semua filtrat dari hasil ekstraksi diuapkan pada suhu dan tekanan rendah dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kasar.

Aktivitas Antioksidan Lamun *Thalassia hemprichii*

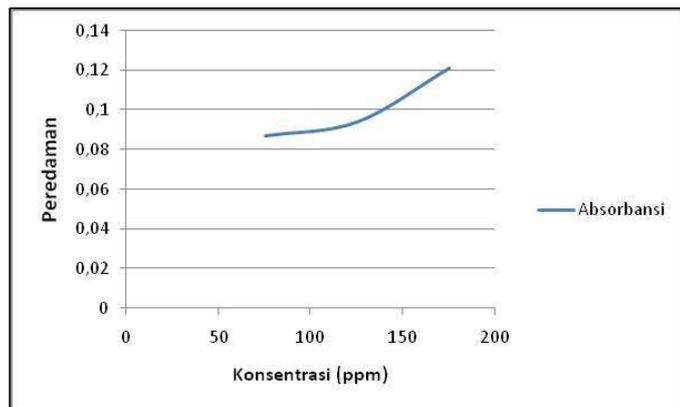
Uji Aktivitas Antioksidan pada daun lamun *Thalassia hemprichii* dilakukan dengan menggunakan metode *diphenylpicrylhydrazil* (DPPH) *free radical scavenging assay*. Metode dengan DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Radikal bebas DPPH akan bereaksi dengan senyawa antioksidan pada sampel, sehingga akan terjadi penghambatan terhadap radikal bebas oleh senyawa tersebut.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH diinterpretasikan dalam parameter IC50 atau konsentrasi penghambatan 50. Konsentrasi larutan sampel akan menyebabkan terjadinya reduksi oleh adanya aktivitas DPPH sebesar 50%.

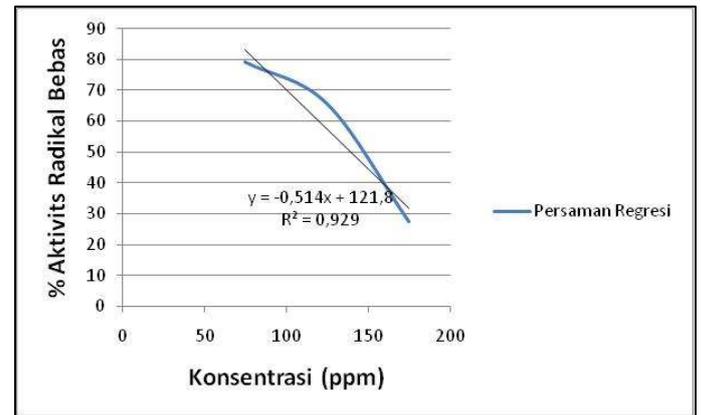
Grafik 1 dan Grafik 2 memperlihatkan bahwa dengan semakin tinggi nilai konsentrasi ekstrak sampel maka semakin tinggi nilai peredaman terhadap aktivitas radikal bebas. Nilai peredaman ini diperoleh dari besarnya absorbansi dikurangkan dengan nilai absorbansi kontrol positif, yaitu larutan DPPH ditambah larutan metanol dengan absorbansi 0,134. Peredaman terhadap radikal bebas akan semakin bertambah jika konsentrasi ekstrak sampel bertambah pula. Dengan kata lain bahwa konsentrasi yang tinggi menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antioksidan atau peningkatan penghambatan radikal bebas.



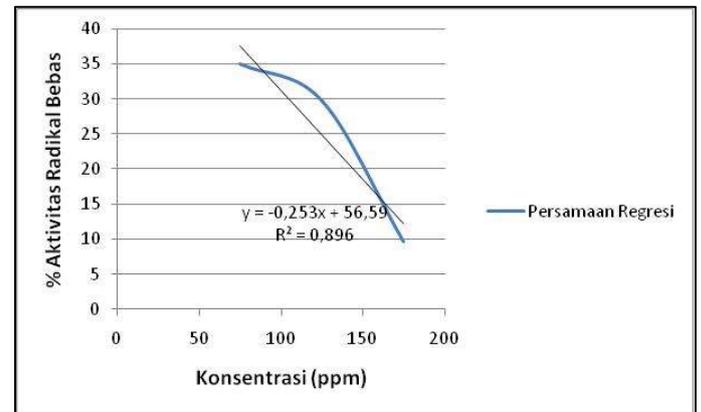
Grafik 1. Grafik Nilai Absorbansi Ekstrak n-heksana Daun Lamun *Thalassia hemprichii*



Grafik 2. Grafik Nilai Absorbansi Ekstrak Etil Asetat Daun Lamun *Thalassia hemprichii*



Grafik 3. Grafik % Radikal Bebas Ekstrak n-heksana Daun Lamun *Thalassia hemprichii*



Grafik 4. Grafik % Radikal Bebas Ekstrak Etil Asetat Daun Lamun *Thalassia hemprichii*

Grafik 3 dan Grafik 4 menunjukkan adanya penurunan aktivitas radikal bebas mengikuti peningkatan konsentrasi ekstrak sampel. Aktivitas radikal memperlihatkan bahwa nilai persentase absorbansi terhadap senyawa kontrol positif akan semakin rendah jika mengalami peningkatan kemampuan peredaman radikal bebas DPPH. Menurut Amrun dan Umiyah (2005), adanya penurunan absorbansi menunjukkan peningkatan kemampuan peredaman radikal bebas DPPH. Berdasarkan Grafik 3 dan Grafik 4 bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin kecil % aktivitas radikal bebas atau semakin besar % peredaman radikal bebas DPPH. Menurut Hanani (2005), aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak dinyatakan dalam persentase peredaman terhadap radikal bebas DPPH. Sehingga dapat diartikan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak mengakibatkan aktivitas antioksidan semakin besar atau persentase absorbansi semakin kecil.

Tabel 1. Tabel Nilai IC50 atau Inhibition Concentration 50 Ekstrak Daun Lamun *Thalassia hemprichii*

Ekstrak Sampel	Konsentrasi (ppm)	Persamaan Grafik	Nilai IC50
n-heksana	75	$y = -0,51x + 121,83$	139,50
	125		
	175		
Etil Asetat	75	$y = -0,25x + 56,59$	25,98
	125		
	175		
Metanol	75	-	-
	125		
	175		

Berdasarkan tabel 1, dapat diketahui bahwa nilai IC50 atau inhibition concentration 50% pada masing-masing ekstrak sampel mengalami perbedaan. Pelarut n-heksana memiliki sifat nonpolar sedangkan pelarut etil asetat bersifat semipolar. Pengujian terhadap ekstrak metanol berpotensi memiliki nilai kesalahan yang besar karena proses penguapan melalui *vacuum rotary evaporimeter* mendapatkan ekstrak kasar yang masih mengandung pelarut metanol.

Nilai Inhibisi pada tabel 1, menunjukkan bahwa penggunaan pelarut mempengaruhi terhadap penghambatan radikal bebas. Nilai IC50 pada ekstrak sampel etil asetat lebih kecil atau penghambat radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan ekstrak sampel etil asetat. Pelarut etil asetat bersifat semipolar. Perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi lamun memberikan pengaruh yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Anwariyah, 2011). Menurut Ismail *et al.* (2002), aktivitas antioksidan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan karena senyawa dengan polaritas yang berbeda menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang berbeda pula. Faktor lain yang dapat mempengaruhi tingkat aktivitas antioksidan adalah pH ekstraksi.

Penelitian daun lamun *Thalassia hemprichii* menghasilkan nilai inhibisi 50% sebesar 139,50 pada ekstrak sampel n-heksana dan 25,98 pada ekstrak sampel etil asetat. Nilai IC50 diprediksi memiliki nilai IC50 lebih rendah dibandingkan dua pelarut diatas karena memiliki kemampuan melarutkan senyawa polar maupun nonpolar. Nilai IC50 pada penelitian daun lamun *Thalassia hemprichii* berada angka dibawah 50, sehingga dapat digolongkan sebagai antioksidan sangat kuat. Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC50 < 50 ppm. Semakin kecil nilai IC50 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan semakin tinggi. Menurut Molyneux (2004), semakin kecil nilai IC50 maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Nilai IC50 pada pelarut n-heksana memiliki nilai IC50 diantara 100 dan 150, sehingga dapat digolongkan kedalam aktivitas antioksidan sedang. Molyneux (2004) menggolongkan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh, yaitu sangat kuat (IC50 < 50 ppm), kuat (50 ppm < IC50 > 100 ppm), sedang (100 ppm < IC50 > 150 ppm), lemah (150 ppm < IC50 > 200 ppm), dan sangat lemah (IC50 > 200 ppm).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun Lamun *Thalassia hemprichii* dengan metode DPPH dapat ditarik kesimpulan bahwa kemampuan meredam radikal bebas DPPH tergantung jenis pelarut. Daun Lamun *Thalassia hemprichii* digolongkan sebagai antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai IC50 < 50 ppm

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ir. Irwani, M.Phil, selaku Pembantu Dekan III FPIK Undip; Laboratorium *Natural Product* Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang; Balai Pengujian Informasi dan Konstruksi (BPIK) Semarang; Faishal Hilmi yang telah memberikan saran dan masukan; serta orang tua dan teman-teman yang telah mendukung dan memberikan do'a demi keberjalanan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Lisawati, Y., Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1): 1-9.
- Darwis, D. 2001. *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. FMIPA Universitas Andalas Padang
- Hanani, E., A. M. Abdul., dan S. Ryany. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* SP Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, II (3). Halaman 130
- Lanyon, J.M., C.J. Limpus and H. Marsh 1989. *Dugong and turtles : grazers in the sea grass system. In : Biology of sea grass : a treatise on the biology of sea grass with special responses to the Australian region* (A.W.D. Larkum, A. J. McComb and S.A. Shepepedek. Elwsevier S)
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journals of Science and Technology*. 26:211-219.
- Rahayu, S. S. 2009. Ekstraksi. <http://www.chem-is-try.org/> [8 Februari 2011]
- Ravikumar, S., Thajuddin, N, P. Suganthi, S. Jacob Inbaneson and Vinodkumar, 2008. *Bioactive potential of seagrass bacteria against human bacterial pathogens. Journal of Environmental Biology* 31 387-389

