

**UJI BIOAKTIVITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT**  
*Sargassum cristaefolium*  
**SEBAGAI AGEN ANTI-UV ALAMI**

**Brigitta Amara Fanny D.G, Sunarpi, Eka S. Prasedya, dan Ahmad Jupri**

Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Mataram, Jln. Majapahit No. 62, Mataram

[Brigittageraldine28@gmail.com](mailto:Brigittageraldine28@gmail.com)

**ABSTRAK**

Kulit merupakan bagian tubuh manusia yang berada dibagian terluar dan merupakan bagian yang paling sering terpapar oleh radiasi sinar ultraviolet (UV) maupun polusi. Efek radiasi UV pada kulit sangat berbahaya karena dapat menyebabkan timbulnya perubahan warna kulit, *sunburn* dan kanker kulit. Munculnya berbagai jenis tabir surya sintetis dapat membantu mengurangi efek yang ditimbulkan radiasi UV terhadap kulit. Namun, penggunaan tabir surya sintetis secara berlebihan justru dapat menimbulkan efek samping berupa alergi dan iritasi pada kulit. Rumput laut dilaporkan memiliki kapasitas fotoprotektif terhadap sinar UV. Maka dari itu, dilakukanlah penelitian ini untuk menguji bioaktivitas ekstrak rumput laut *Sargassum cristaefolium* (SC) sebagai agen anti-UV alami. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Pusat Unggulan Biosains dan Bioteknologi, FMIPA, Universitas Mataram dari bulan Maret hingga Juni 2018. Ekstrak SC yang diperoleh diketahui mengandung beberapa jenis senyawa bioaktif seperti asam palmitat, asam enoat, hexylene glycol, dan myristic acid. Uji *In Vitro* yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol SC memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dan hanya mampu menigkat 4-12% senyawa radikal bebas dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 566.8 µg/ml. Hasil yang berbeda diperoleh pada saat melakukan uji kapasitas fotoprotektif ekstrak SC terhadap sel hela yang dipaparkan oleh sinar UVA secara langsung. Hasil analisis yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak SC mampu melindungi sekitar 60-86% sel dari kerusakan akibat radiasi UVA. Berdasarkan pengujian ini dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol *S. cristaefolium* memiliki aktivitas positif sebagai agen fotoprotektif dan antioksidan.

**Kata Kunci** : *Sargassum cristaefolium*, anti-UV, agen fotoprotektif, Fitokimia, Hela.

**ABSTRACT**

Skin is a part of the human body that always exposed by the ultraviolet radiations and pollutions. The ultraviolet radiations on skin caused tanning, aging, frackles and sunburn. Moreover, the high level exposure may caused skin cancer. The appearence of the sintetical sunscreen nowadays can help to retain the negative effect of the UV radiations on skin. However, it may also caused a negative side effect like an allergic reactions, irritations and cancer itself. Seaweeds has been reported to have a photoprotective activity against UV radiations. Therefore, this research are very important to do as it aims to study the bioactivity of *Sargassum cristaefolium* (SC) extract as a natural source of photoprotective agents. This research has been conducted in Biosciences and Biotechnology Research Center, Faculty Of Mathematic and Natural Sciences, Mataram University since March 2018. The ethanolic extract of *Sargassum cristaefolium* positively contains palmitic acid, enoic acid, hexylene glycol, and myristic acid. The antioxidant test shows that ethanolic SC extract has a low mount of antioxidant activity by fasten 4-12% free radicals with 566.8 µg/ml IC<sub>50</sub>. However, it also has a high number of protections on hela cell during UVA exposure by protecting 60-86% of the cell.

**Key words** : *Sargassum cristaefolium*, anti-UV, photoprotective agent, phytochemistry, Hela

## A. Pendahuluan

Sinar matahari dapat memberikan pengaruh negatif bagi manusia apabila terpapar secara berlebihan. Sinar UVA tidak dapat di absorpsi oleh ozon dapat mempenetrasi kulit lebih dalam dan merusak lapisan kolagen. UVA juga mampu menyebabkan terjadinya *tanning* atau pencoklatan pada kulit akibat terbentuknya melanosom (Anggraini dkk., 2013). Selain itu, UVA juga dapat menekan fungsi kekebalan tubuh karena mampu diabsorpsi oleh molekul DNA. Hal ini menyebabkan terjadinya penuaan dini, eritema, pigmentasi dan mengurangnya elastisitas kulit. UVA mampu menyebabkan kerusakan pada kulit akibat adanya senyawa oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*) (Kockler dkk., 2012). Sinar UVB juga bertanggung jawab terhadap proses *tanning*, pembentukan katarak dan foto karsinogenik yang dapat menyebabkan terjadinya kanker (Anggraini, dkk., 2013). Sedangkan, sinar UVC merupakan sinar yang seluruh radiasinya dapat diabsorpsi oleh ozon. Meskipun radiasi UVC tidak pernah sampai ke bumi, radiasi UVC tetap dapat menyebabkan terjadinya kerusakan kulit secara prematur. Hal ini terjadi karena UVC memiliki aktivitas mutagenik dan karsinogenik. Munculnya berbagai jenis tabir surya sintetis dapat membantu mengatasi efek membahayakan dari radiasi UV terhadap kulit. Selain dapat mengurangi efek membahayakan dari radiasi UV terhadap kulit, tabir surya sintetis juga dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti alergi, iritasi bahkan kanker itu sendiri.

Hingga saat ini, perkembangan riset dan inovasi untuk mengeksplorasi beberapa jenis senyawa alami yang dapat digunakan sebagai *base* pembuatan krim tabir surya masih terus dilakukan. Senyawa-senyawa yang dikembangkan biasanya berasal dari berbagai jenis organisme di alam, mulai dari tanaman terrestrial hingga ke biota laut lain seperti lamun, mikroalga dan makroalga. Makroalga sendiri, terutama alga coklat telah dilaporkan memiliki kapasitas fotoprotektif karena mengandung beberapa senyawa seperti phlorotannin, fucoidan, flavonoid dan golongan fenolik lain. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji bioaktivitas ekstrak rumput laut *Sargassum cristaefolium* sebagai agen fotoprotektif terhadap sinar UV. *S.cristaefolium* dipilih karena jenis ini sangatlah melimpah di Pulau Lombok dan merupakan jenis alga coklat yang belum diudidayakan karena belum diketahui pemanfaatannya.

## B. Metode Penelitian

### 1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah plastik klip, oven, amplop coklat, ayakan, ember, flask T-25, mikropipet 1000µl, mikropipet 100µl, mikropipet 10µl, *blue tip*, *yellow tip*, *microtip*, dish 35 mm, dish 60 mm, *Laminar Air Flow*, inkubator CO<sub>2</sub>, lateks, *rotatory evaporator*, neraca analitik, gelas beker 1000 ml, gelas beker 2000 ml, gelas ukur 1000 ml, kertas saring, kertas label, gelas ukur 50 ml, corong plastik, toples kaca 5 L, *hot plate*, blender, *wrapping plastic*, spektrofotometer UV-VIS, *log book*, aluminium foil, kertas koran, erlenmeyer 2000 ml, erlenmeyer 150 ml, erlenmeyer 100 ml, gelas beker 50 ml, *sprayer*, mikroskop *inverted*, mikroskop *fluorescence*, cryovial, kamera, tissue, kapas, *marker*, *autoclave*, lemari es, *sentrifugator*, PH-meter, vortex, eppendorf 1 ml, rak eppendorf, *magnetic stirrer*, *aspirator*, *hand counter*, *hemocytometer*, *falcon tube*, tangki *liquid nitrogen*, *timer*, alat GC-MS dan lampu UV.

### 2. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sargassum cristaefolium.*, *aquadest*, *aquabidest* etanol 96%, etanol 70%, etanol absolut, kultur sel Hela, media padat DMEM, media kultur lengkap, n-glutamin, DMSO, n-heksan, *aquabidest*, NaHCO<sub>3</sub>, HEPES, 1% *penicillin-streptomycin*, N<sub>2</sub>(l), *Fetal Bovine Serum* (FBS), PBS, PI, tripsin-EDTA, DPPH, dan n-glutamin.

### 3. Prosedur Penelitian

#### a. Ekstraksi

Sampel *S. cristaefolium* yang dikoleksi dari Pantai Batu Layar, Kabupaten Lombok Utara, dikering anginkan lalu di oven dalam suhu 60°C untuk menghilangkan kadar air hingga mencapai berat konstan. Sampel selanjutnya dimaserasi dalam etanol 96% (1:5). Hasil maserasi kemudian diuapkan dengan *rotatory evaporator*. Jumlah total rendemen yang dihasilkan dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Yanuarti *et al.*, 2017) :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

**b. Analisis Fitokimia dengan GC-MS**

Dilarutkan 5 mg ekstrak etanol SC kedalam 1 ml etanol absolute, divortex hingga homogeny. Larutan ekstrak selanjutnya dianalisis dengan mesin GC-MS di Laboratorium Kimia Analitik, FMIPA, Universitas Mataram.

**c. Analisis Serapan Gelombang UV Ekstrak SC dengan Spektrofotometer UV-VIS**

Dilarutkan 5 mg ekstrak SC kedalam 1 ml etanol absolute. Dibuat seri pengenceran ekstrak dengan konsentrasi 30 µg/ml dan 100 µg/ml. dianalisis daya absorbansinya pada rentang panjang gelombang 320-700 nm. Spektra yang terbentuk diamati dan dicatat panjang gelombang serta absorbansi pada puncak yang terbentuk (Anam, 2015).

**d. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Dibuat stock larutan ekstrak SC dan larutan asam askorbat (kontrol positif) sebesar 0.1%. Dibuat seri pengenceran larutan sebanyak 2.5 ml untuk masing-masing konsentrasi 30, 100, dan 150 µg/ml. Masing-masing 2.5 ml larutan yang dibuat ditambahkan dengan 1 ml DPPH hingga mencapai volume total 3.5 ml. Kemudian, inkubasi selama 30 menit dalam suhu ruang. Gunakan 2.5 ml etanol dan 1 ml larutan DPPH sebagai kontrol negative (blangko). Dibaca serapan DPPH pada gelombang 511 nm. Kuatnya aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan mencari nilai presentase pengikatan (%AA) dengan menggunakan rumus berikut (Suhaling, 2017) :

$$\%AA = \left( \frac{\text{Absorbansi blangko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi Blangko}} \right) \times 100 \%$$

**e. Uji Aktivitas Fotoprotektif Ekstrak SC terhadap Sel Hela**

Sel Hela dikultur pada media DMEM yang telah dicampurkan dengan ekstrak etanol SC dengan konsentrasi 30µg/ml dan 100 µg/ml. selanjutnya, sel yang telah dikultur pada media ekstrak SC dipaparkan dengan sinar UV dan diinkubasi selama 24 jam. Sel selanjutnya diwarnai dengan PI dan DAPI

untuk membandingkan jumlah total sel yang mengalami kematian dengan jumlah total sel yang masih hidup. Nilai ini digunakan untuk mengukur kapasitas fotoprotektif ekstrak SC dengan menentukan nilai *Dead Cell Percentages* (DCP) yang dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Presentase sel mati} = \frac{\text{Jumlah Total Sel Berwarna Merah}}{\text{Jumlah Total Sel (Biru)}} \times 100\%$$

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

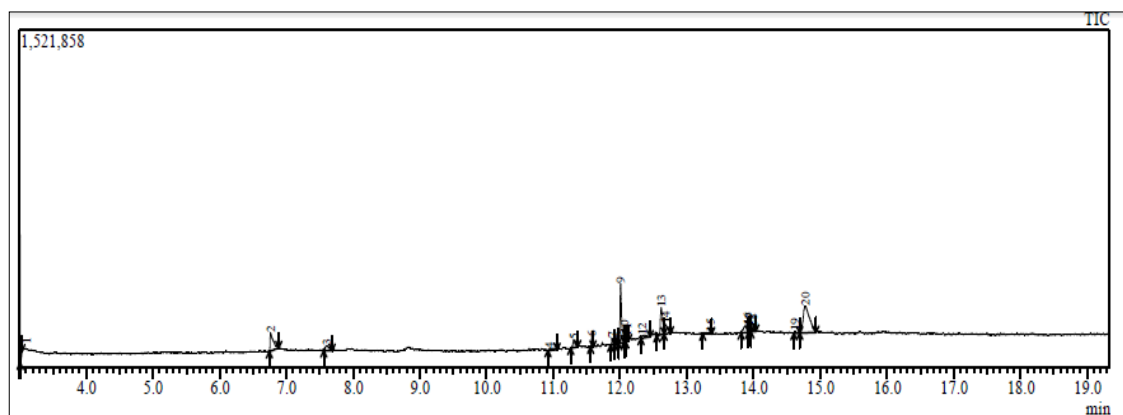
### 1. Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

Hasil ekstraksi *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari 620,2 gr sampel kering setelah di evaporasi adalah sebesar 58,2 gram. Dari total 620,2 gram sampel yang diekstraksi dan 58,2 gram ekstrak kental yang dihasilkan diperoleh nilai total rendemen sebesar 9,354%. Secara fisik, ekstrak kental *S.cristaefolium* yang diperoleh berwarna hijau pekat kehitaman dengan tekstur yang lembut (bergranula).

Metode maserasi digunakan dalam penelitian ini karena tidak melibatkan proses pemanasan sehingga kandungan senyawa kimiawi yang terdapat didalam sampel tidak mengalami perubahan kadar maupun struktur. Pelarut etanol 96% dipilih sebagai pelarut maserasi karena merupakan pelarut yang paling *universal* dan dapat menarik hampir seluruh jenis senyawa polar dan ampifatik yang terdapat didalam sampel. Hal ini terjadi karena dalam metode maserasi, senyawa bioaktif dari sampel ditarik berdasarkan prinsip *Solve Dissolve Like* dimana pelarut akan melarutkan senyawa yang sejenis. Prinsip penarikan senyawa bioaktif dari dalam sel pada metode maserasi ini terjadi karena adanya perbedaan gradient konsentrasi. Sel-sel dalam sampel *S. cristaefolium* memiliki konsentrasi dan komponen yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan etanol. Maka dari itu, ketika direndam dalam etanol, senyawa bioaktif yang terdapat didalam sel akan terdesak keluar dan melarut didalam etanol. Selain itu, etanol juga memiliki titik didih yang tidak terlalu tinggi yang berkisar antara 45-78°C dan tidak mendekati titik didih air. Hal ini menyebabkan proses evaporasi akan berjalan lebih mudah.

## 2. Analisis Fitokimia Ekstrak SC dengan GC-MS

Hasil analisis GC-MS pada ekstrak *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh adalah sebagai berikut :



**Gambar C.1.** Kromatogram Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat bahwa ekstrak etanol *S. cristaefolium* mengandung 20 jenis senyawa organik dengan tR (*Time Retention*) yang berbeda-beda dan relatif dekat. Dari ke-20 jenis senyawa yang diperoleh, terdapat tiga jenis senyawa organik yang mendominasi dan ditandai dengan munculnya puncak tertinggi pada nomor 9, 13 dan 20. Senyawa pada puncak nomor 9 terbaca dengan tR (*Time Retention*) sebesar 12,009 menit. Puncak nomor 13 dengan tR 12,617 menit dan puncak nomor 20 dengan tR 14.776 menit. Jenis-jenis senyawa yang berada pada tiap puncak ditentukan melalui analisis spektra massa dalam alat GC-MS. Senyawa yang telah teridentifikasi dan membentuk puncak dideteksi dengan menentukan nilai m/z senyawa dalam sampel dan dibandingkan dengan nilai m/z senyawa yang ada didalam *database* alat GC-MS.

Spektra massa senyawa pada puncak no. 9 memiliki nilai m/z yang similar dengan spektra massa asam palmitat dalam *database* GC-MS sehingga dapat dipastikan bahwa jenis senyawa yang berada pada puncak no. 9 ialah asam palmitat dengan berat molekul sebesar 256 g/mol.

Asam palmitat merupakan jenis senyawa lemak jenuh yang biasanya ditemukan pada tumbuhan maupun hewan. Tanaman terrestrial yang menjadi sumber utama penghasil asam palmitat ialah tanaman kelapa. Alvarez dan Rodriguez pada tahun 2000 menyatakan bahwa kadar asam palmitat yang tinggi pada suatu bahan organik dapat menyediakan perlindungan yang baik terhadap paparan radiasi UV dan polusi. Hal ini dikarenakan asam palmitat memiliki struktur kimai dan fisika yang unik dengan ikatan rangkap yang dapat menyerap radiasi UV (Grollier dan Plessis, 1988). Menurut Rosen, 2003 senyawa yang digunakan sebagai agen tabir surya haruslah bersifat stabil secara kimiawi dan termal. Kemudian, tidak bersifat toksik, tidak volatile, tidak terserap kedalam kulit, tidak berwarna dan berubah warna.

Selanjutnya, spektra massa senyawa pada puncak no. 13 menunjukkan adanya similaritas dengan spektra massa yang dimiliki oleh senyawa asam enoat dengan berat molekul sebesar 282 g/mol pada *database* GC-MS. Asam oleat merupakan asam lemak tak jenuh yang secara komersial sering digunakan sebagai *lotion* dan pelarut *pharmaceutical* (Stedman, 1995). Selain itu, asam oleat juga biasa digunakan dalam proses industri surfactan dan sabun. Kemudian, spektra masa pada puncak nomor 20 terbaca sebagai Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)- (CAS) Lanol dengan berat molekul sebesar 368. Senyawa ini juga biasa dikenal dengan nama Coprostanone Senyawa ini biasa digunakan sebagai biomarker presentase *human faecal* di lingkungan sekitar. Selain itu, senyawa ini tidak dapat larut dalam air dan mengandung hydroxylated chloestane. Senyawa ini memiliki gugus hidroksil (-OH) yang dapat berikatan dengan struktur asam lemak lain dengan struktur kimia sebagai berikut ([www.hmdb.ca](http://www.hmdb.ca))

Selain ketiga senyawa utama diatas, hasil analisis GC-MS juga menunjukkan adanya senyawa jenis lain seperti Hexylene glycol (2,4-pentanediol, 2-methyl- (CAS) 2-methyl-2,4-pentranediol) pada puncak nomor 2 dengan BM (berat molekul) sebesar 118 g/mol. Kadar hexylene glycol dalam ekstrak etanol *S.cristaefolium* yang dianalisis adalah sebesar 8,34%. Hexylene glycol merupakan senyawa yang memiliki viskositas tinggi dan kemampuan penguapan yang rendah. Selain itu, senyawa ini juga dapat larut dalam pelarut yang bersifat polar maupun non-polar. Hexylene glycol dapat berikatan dengan struktur sekunder protein baik

pada alpha heliks maupun beta sheet (Anand, 2002). Senyawa ini biasa digunakan sebagai bahan baku aktif pembuatan produk kosmetik (Sun *et al.*, 1996), produk-produk *Skin care*, dan sabun. Hexylene glycol memiliki nilai absorbansi maksimal pada spektral UVB sebesar 298-306 nm dalam pelarut triethanolamine salicylate (Louise, 1987).

Myristic acid (Tetradecanoic acid) pada puncak nomor 5 ditemukan sebesar 3,55% dengan BM sebesar 228 g/mol dalam ekstrak etanol *S.cristaefolium*. Senyawa ini merupakan jenis asam lemak jenuh dengan 14 rantai karbon. Myristic acid biasanya digunakan sebagai bahan baku pembuatan sabun dan kosmetik (Dorland, 2008) serta bahan baku pembuatan cita rasa dalam makanan.

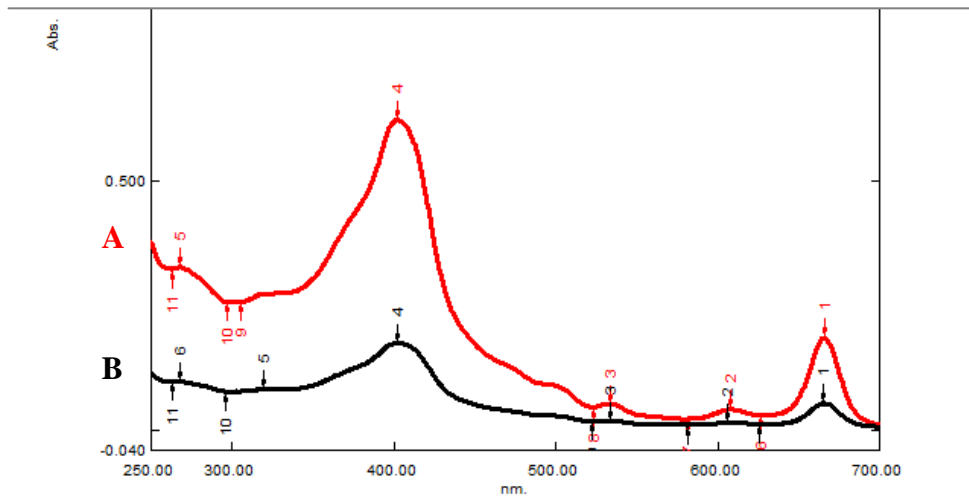
Analisis GC-MS tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum cristaefolium* yang diujikan lebih banyak mengandung senyawa yang termasuk kedalam jenis *polyunsaturated fatty acid* (PUFAs). Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Van Ginneken *et al.*, 2011 yang menyebutkan bahwa alga coklat memiliki kandungan lipid total yang sangat rendah dengan kandungan polimer asam lemak tak jenuh (PUFAs) yang sangat melimpah. Asam lemak merupakan suatu konstituen pembentuk lipid yang dibedakan menjadi asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh.

### **3. Analisis Nilai Absorbansi UV Ekstrak SC dengan Spektrofotometri UV-VIS**

Spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet serta sinar tampak yang diabsorpsi oleh sampel secara kuantitatif. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar menuju ke tingkat energi yang lebih tinggi. Ketika suatu atom atau molekul dalam sampel menyerap cahaya maka energi tersebut akan menyebabkan tereaksinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi yang terjadi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap (Dachriyanus, 2004).



Hasil analisis serapan sinar UV pada ekstrak kental *S. cristaefolium* dengan konsentrasi 100µl dan 30 µl yang dilakukan dengan rentang panjang gelombang 280-800 nm. Rentang gelombang ini dipilih karena aktivitas serapan ekstrak *S. cristaefolium* belum diketahui region aktivitasnya. Hasil analisis dapat dilihat dengan terbentuknya spektra sebagai berikut :



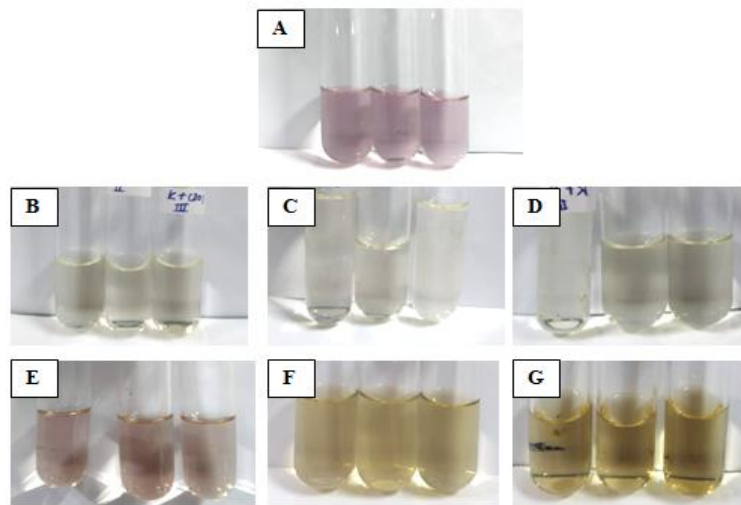
**Gambar C.2.** Hasil Analisis Absorbansi Ekstrak *S. cristaefolium* pada region gelombang UV (A: 100µg/ml dan B: 30µg/ml)

Ekstrak *S. cristaefolium* dengan konsentrasi 30 µg dan 100 µg memiliki daya serapan yang lemah di region gelombang UV A (320-400 nm). Hal ini ditandai dengan munculnya puncak serapan gelombang di akhir rentang 400 nm hingga 402 nm dengan kemampuan absorbansi sebesar 0,035 untuk konsentrasi 30 µg/ml. Ekstrak *S. cristaefolium* pada konsentrasi 100 µg juga menunjukkan adanya kemampuan serapan yang lemah dalam region gelombang UV A dengan munculnya puncak tertinggi di akhir rentang 400-403 nm dengan kemampuan absorbansi sebesar 0,624. Absorbansi ekstrak *S. cristaefolium* pada konsentrasi 100 µg memiliki nilai yang lebih besar bila dibandingkan dengan nilai absorbansi pada konsentrasi 30 µg. Hal tersebut mengartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *S. cristaefolium* yang digunakan maka akan semakin tinggi pula kemampuannya meng-eksitasi elektron yang berasal dari sinar UV pada alat spektrofotometri. Hal ini menyebabkan pembacaan *peak* yang dihasilkan juga akan lebih tinggi pada ekstrak dengan konsentrasi yang lebih besar bila dibandingkan dengan ekstrak yang konsentrasinya rendah. Meskipun demikian, nilai absorbansi

kedua konsentrasi ekstrak *S. cristaefolium* pada region gelombang ultraviolet ini dapat dikatakan cukup lemah. Hal ini kemungkinan terjadi karena kadar senyawa yang berpotensi sebagai penyerap sinar UV seperti asam palmitat, asam enoat, hexylene glycol, dan myristic acid dalam ekstrak *S. cristaefolium* memiliki kadar yang rendah, sehingga aktivitasnya dalam menyerap sinar UV juga menjadi lebih lemah.

#### 4. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak SC

Pada penelitian ini, uji aktivitas antioksidan ekstrak SC dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Secara kuantitatif larutan ekstrak *S. cristaefolium* yang telah dilarutkan dalam etanol direaksikan dalam suhu ruang dengan DPPH. Selanjutnya, reaksi antioksidan yang terjadi dibaca pada panjang gelombang 511 nm. Panjang gelombang ini digunakan karena dapat membuat senyawa radikal bebas DPPH terbaca secara maksimal. Uji pendahuluan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan kontrol positif dan negatif. Kontrol negatif yang digunakan berupa 2,5 ml etanol yang ditambahkan dengan 1 ml DPPH. Sedangkan, untuk kontrol positif sendiri digunakan asam askrobat dengan konsentrasi 30, 100 dan 150  $\mu\text{g/ml}$  dalam 1 ml DPPH. Perubahan warna yang terjadi dapat dilihat sebagai berikut :



**Gambar C.2.** Hasil Uji Kualitatif Antioksidan (A: Kontrol Negatif; B: Kontrol Positif 30 $\mu\text{g}$ ; C: Kontrol Positif 100  $\mu\text{g}$ ; D: Kontrol Positif 150; E: Ekstrak SC 30  $\mu\text{g}$ ; F: Ekstrak SC 30  $\mu\text{g}$ ; G: Ekstrak SC 150  $\mu\text{g}$ )

Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan apabila direaksikan dengan larutan senyawa radikal DPPH akan berubah warna menjadi kekuningan hingga bening. Hal ini terjadi karena senyawa antioksidan memiliki kemampuan untuk mengikat elektron dari senyawa radikal bebas. Ketika elektron dari radikal bebas terikat pada senyawa antioksidan, maka jumlah radikal reaktif akan berkurang. Berkurangnya konsentrasi senyawa radikal akan diikuti dengan terjadinya pemucatan warna larutan. Perubahan warna pada larutan terjadi karena adanya aktivitas donasi atom hidrogen atau elektron. Tingkat perubahan warna yang terjadi sebanding dengan jumlah donasi elektron dan diikuti dengan penurunan nilai absorbansi (Dris dan Jain, 2004). Semakin kecil nilai absorbansi yang terbaca pada alat spektrofotometer, maka semakin kuat aktivitas antioksidan suatu senyawa.

Selanjutnya, estimasi kemampuan aktivitas antioksidan dari senyawa ekstrak *S. cristaefolium* dan asam askorbat dalam menangkap senyawa radikal bebas secara kuantitatif diujikan dengan membaca nilai absorbansi ekstrak pada panjang gelombang 511 nm. Asam askorbat atau biasa dikenal dengan sebutan vitamin C merupakan senyawa antioksidan yang paling kuat dan dijadikan sebagai larutan pembanding dalam uji kuantitatif. Adapun hasil analisis aktivitas antioksidan *S. cristaefolium* dan asam askorbat pada panjang gelombang 518 nm adalah sebagai berikut :

**Tabel C.1.** Hasil Analisis Nilai Absorbansi, IC<sub>50</sub> dan Persamaan Linier Ekstrak *S. cristaefolium*

No	Konsentrasi	Absorbansi	%AA	Persamaan Garis	IC <sub>50</sub>
1	30 µg/ml	0.145	4.185022	y= 0.074x+3.229	56,68
2	100 µg/ml	0.121	13.65639		
3	150 µg/ml	0.132	12.55507		

**Tabel C.2.** Hasil Analisis Nilai Absorbansi, IC<sub>50</sub> dan Persamaan Linier Asam Askorbat

No	Konsentrasi	Absorbansi	%AA	Persamaan Garis	IC <sub>50</sub>
1	30 µg/ml	0.022	85.24229	y=0.038X + 84.01	568.6
2	100 µg/ml	0.019	87.6652		
3	150 µg/ml	0.015	89.86784		

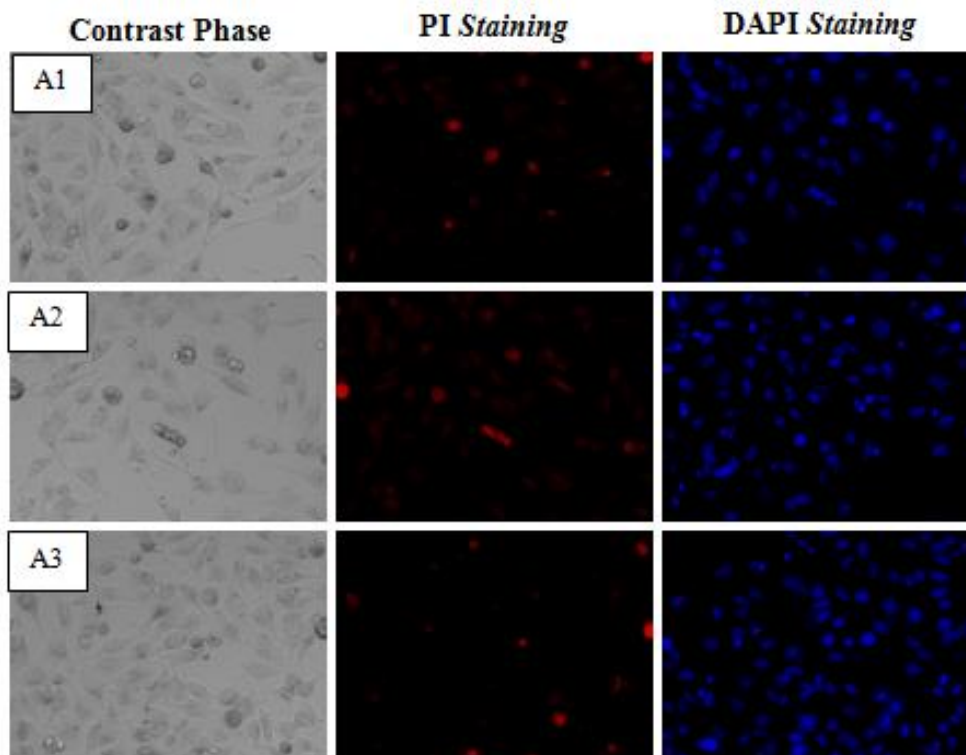
Bila dibandingkan, nilai absorbansi dan persen pengikatan senyawa DPPH pada asam askorbat dengan ekstrak *S. cristaefolium* dapat dikatakan memiliki perbedaan yang cukup jauh. Bahkan dapat dikatakan lebih rendah dalam rentang konsentrasi yang sama. Hal ini sangat berbeda dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Lailiyah *et al.*, 2014 yang menyatakan bahwa ekstrak n-heksana dan ekstrak methanol *S. cristaefolium* memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menangkis senyawa radikal bebas hingga 74,98% dan 80,78%.

Perbedaan hasil pengujian aktivitas antioksidan ini kemungkinan terjadi karena adanya perbedaan jenis pelarut yang digunakan pada saat maserasi. Puspita, 2017 menyatakan bahwa untuk melakukan suatu proses ekstraksi, senyawa yang ditargetkan perlu dipertimbangkan terlebih dahulu, untuk dapat memilih metode ekstraksi dan jenis pelarut yang tepat agar senyawa yang ditargetkan dapat diperoleh dan diuji aktivitasnya. Lailiyah *et al.*, 2014 dan Wang *et al.*, 2015 melaporkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak *S. cristaefolium* berasal dari beberapa jenis senyawa seperti fucoidan, phlorotanin, flavonoid dan senyawa golongan fenolik lain yang mampu berperan sebagai donor elektron bagi senyawa radikal. Penelitian yang dilakukan oleh Lailiyah *et al.*, 2014 menargetkan aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik. Pelarut methanol mampu menarik sekitar 74,63 mg GAE/gr senyawa fenolik dari total berat kering alga dengan aktivitas antioksidan sebesar 74,98%. Sedangkan, n-heksan mampu menarik sekitar 35,85 mg GAE/gr senyawa fenolik dari total berat kering *S. cristaefolium* dengan aktivitas antioksidan sebesar 80,78%. Pendapat ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Puspita, 2017 yang menyatakan bahwa metanol mampu menarik  $6.6 \pm 0.2^a$  senyawa polifenol. Sedangkan, etanol hanya mampu menarik polifenol dengan jumlah yang lebih

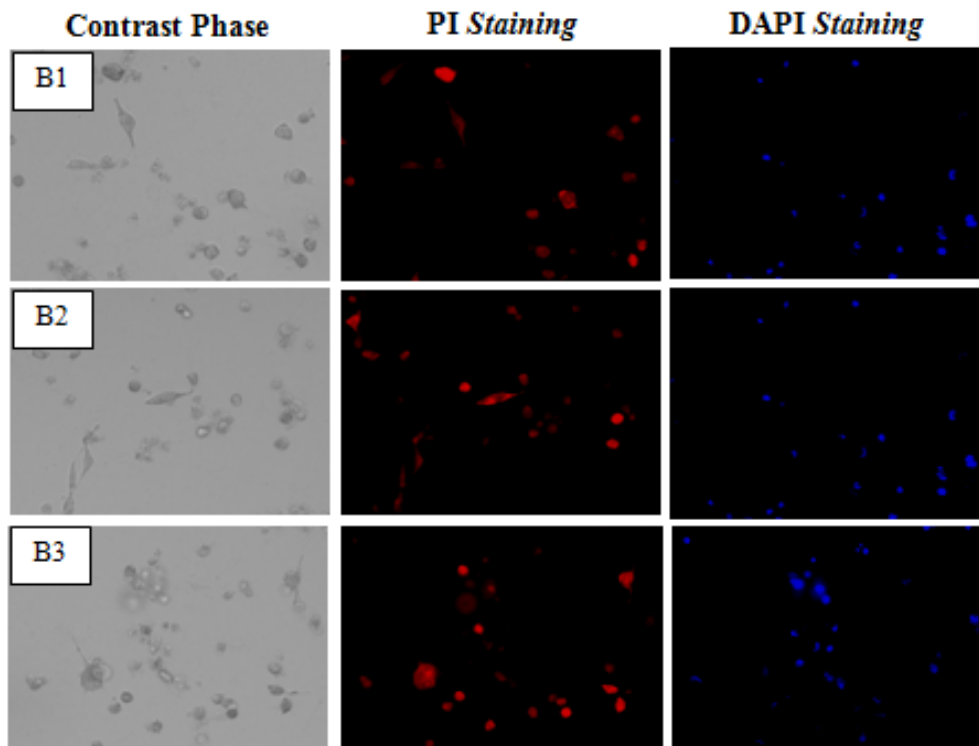
rendah yaitu sebesar  $4.0 \pm 0.6^b$  dari total berat kering alga. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang baik apabila memiliki nilai  $IC_{50}$  dibawah 200 ppm (Blouis, 1958). Dari analisis yang dilakukan, ekstrak *S. cristaefolium* memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 566.8  $\mu\text{g/ml}$  atau setara dengan 567 ppm. Sedangkan, asam askorbat memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 89.5  $\mu\text{g/ml}$  atau setara dengan 89.5 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak SC kurang efektif digunakan sebagai agen antioksidan.

## 5. Uji Aktivitas Fotoprotektif Ekstrak SC Terhadap Sel Hela

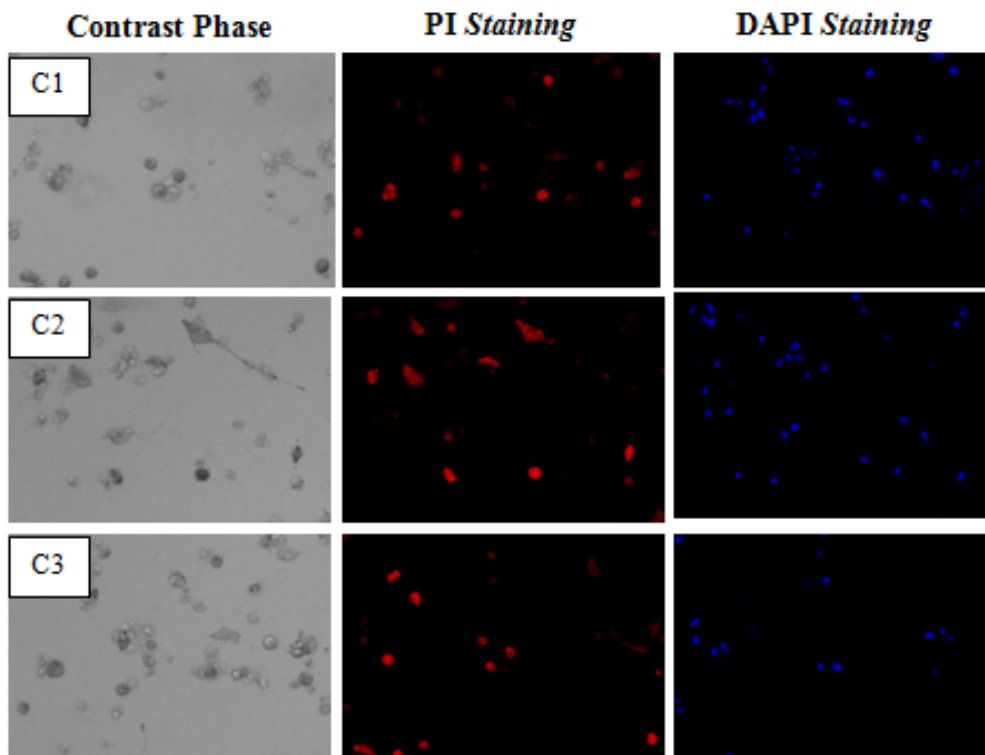
Estimasi kemampuan perlindungan ekstrak *S. cristaefolium* terhadap sel Hela secara *in vitro* dianalisis dengan melakukan perhitungan *dead cell percentages*. Kultur sel Hela yang akan diujikan dengan ekstrak *S. cristaefolium* harus mencapai confluency 80-90% atau setara dengan  $15 \times 10^4$  sel /dish terlebih dahulu. Hal ini dilakukan untuk mempermudah proses perhitungan sel sekaligus mengestimasi waktu pembelahan sel. Hasil uji *in vitro* aktivitas fotoprotektif ekstrak *S. cristaefolium* yang telah dilakukan dapat dilihat sebagai berikut :



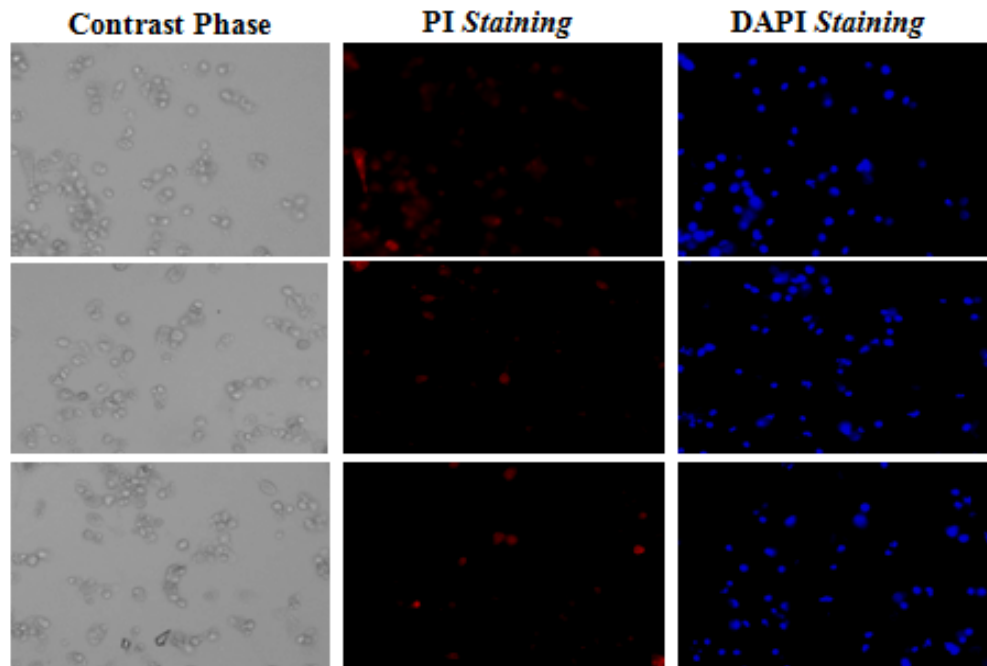
**Gambar C.3.** Kontrol Negatif Tanpa Paparan UVA (A1 : Ulangan 1; A2: Ulangan 2; A3 Ulangan 3)



**Gambar C.4.** Kontrol Negatif dengan Paparan UVA (B1 : Ulangan 1; B2: Ulangan 2; B3 Ulangan 3)



**Gambar C.5.** Hasil UV-Assay Ekstrak SC 30  $\mu\text{g/ml}$  Terhadap Sel Hela (C1 : Ulangan 1; C2: Ulangan 2; C3 Ulangan 3)



**Gambar C.6.** Hasil UV-Assay Ekstrak SC 100 µg/ml Terhadap Sel Hela  
(C1 : Ulangan 1; C2: Ulangan 2; C3 Ulangan 3)

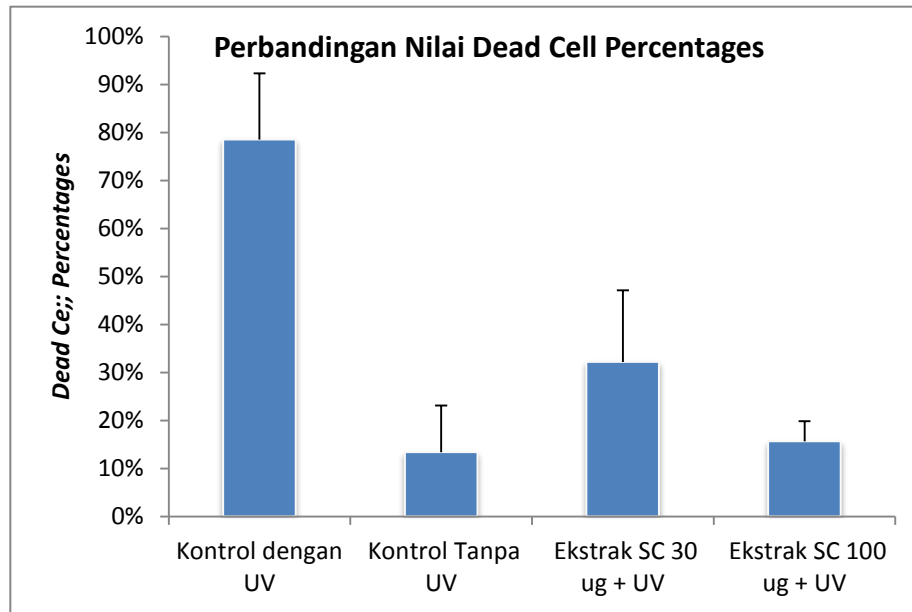
Pada saat observasi mikroskopik, sel yang mengalami kematian atau apoptosis akan tercatat merah oleh pewarna PI. Sedangkan, sel yang masih hidup maupun yang telah mengalami apoptosis (jumlah total sel) keduanya dapat tercatat oleh pewarna DAPI dan tervisualisasi sebagai warna biru. Larutan pewarna PI hanya dapat mewarnai DNA sel yang telah mengalami kematian karena membran sel dan membran inti sel telah mengalami kerusakan. Hal ini terjadi karena, molekul zat pewarna PI sangatlah besar dengan berat molekul 668.3946 g/mol. Hal ini menyebabkan partikel pewarna PI tidak dapat berdifusi langsung melewati membran sel Hela yang masih hidup akibat adanya sifat selektif permeabel. Secara morfologi, sel yang telah mengalami apoptosis dan tercatat dengan pewarna PI memiliki bentuk yang membulat, berwarna merah terang dan melayang-layang dalam medium. Sedangkan, pewarna DAPI (*4'6-diamidino-2-phenylindole*) memiliki ukuran partikel dan berat molekul yang lebih kecil yaitu, 277.33 g/mol. Ukuran partikelnya yang relatif lebih kecil membuat DAPI bersifat lebih fleksibel sehingga dapat berdifusi masuk ke dalam dan mewarnai DNA/RNA sel yang masih hidup maupun yang telah mengalami apoptosis. Oleh karena itu, pewarnaan sel dengan DAPI digunakan untuk membandingkan jumlah total sel dengan jumlah sel yang telah mengalami apoptosis dan tercatat oleh PI. Dengan melakukan observasi mikroskopik

setelah pengecatan sel, ditemukan adanya perbedaan confluency sel pada saat sebelum dipapar UV ( $15 \times 10^4$  sel/dish) dengan nilai confluency sel setelah dipaparkan UV.

Kemampuan ekstrak *S. cristaefolium* sebagai agen fotoprotektif dihitung dengan menentukan besarnya nilai *dead cell percentages* yang merupakan perbandingan dari jumlah total sel merah dan sel biru. Nilai *Dead Cell Percentages* menggambarkan seberapa besar aktivitas perlindungan ekstrak *S. cristaefolium* terhadap sel hela. Dari perhitungan yang telah dilakukan, nilai *dead cell percentages* (DCP) yang diperoleh pada kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan ekstrak dan dipaparkan dengan UV secara langsung adalah sebesar 79%. Artinya, sel yang mampu bertahan hidup dalam kondisi terpapar UV tanpa adanya perlakuan hanya 21% saja. Sedangkan, kontrol negatif sel yang tidak diberikan perlakuan ekstrak dan tidak dipaparkan dengan UV memiliki nilai DCP yang lebih rendah yaitu sebesar 13% dan 87% sel lainnya mampu bertahan hidup. Kemudian, sel yang diberikan perlakuan ekstrak *S. cristaefolium* 30  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol negatif yang dipaparkan dengan sinar UVA secara langsung. Total 31% dari keseluruhan jumlah sel mengalami kematian dibawah paparan sinar UVA dan 69% mampu bertahan hidup.

Hal berbeda terjadi pada kelompok sel yang diberikan perlakuan dengan konsentrasi ekstrak SC sebesar 100  $\mu\text{g/ml}$ . Terdapat 14% sel mengalami kematian dibawah paparan sinar UVA, dengan 86% sel yang mampu bertahan hidup. Jika dibandingkan, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak *S. cristaefolium* 30  $\mu\text{g/ml}$  memberikan perlindungan yang lebih lemah. Meskipun demikian, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol *S. cristaefolium* memiliki aktivitas positif sebagai agen fotoprotektif. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dikatakan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Puspita, 2017 yang menyatakan bahwa alga coklat memiliki aktivitas fotoprotektif yang kuat ketika dipaparkan oleh sinar UV. Secara diagramatis, perbandingan nilai *Dead Cell Percentages* yang diperoleh pada tiap-tiap perlakuan dapat dilihat sebagai berikut :





**Gambar C.7.** Perbandingan Nilai DCP yang diperoleh pada tiap Perlakuan

Secara umum, senyawa yang memiliki aktivitas fotoprotektif dapat bekerja melalui dua mekanisme perlindungan yang berbeda, ada yang menyerap radiasi sinar UV dan ada yang memantulkannya kembali ke lingkungan. Mekanisme pemantulan sinar UV kembali ke lingkungan kurang lebih bekerja dengan cara yang sama seperti mekanisme yang terjadi pada saat reaksi didalam spektrofotometer UV-VIS dimana ekstrak *S. cristaefolium* mengikat energi dari sinar UV dan membuatnya tereksitasi ke tingkat energi terluar. Hal inilah yang menyebabkan radiasi UV tidak diserap oleh sel dan dipantulkan kembali ke lingkungan dan tidak mengalami apoptosis. Kemungkinan lainnya adalah, senyawa dalam ekstrak *S. cristaefolium* menyerap radiasi sinar UV dan menghambat terjadinya kerusakan DNA. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak *S. cristaefolium* seperti asam palmitat, asam enoat, hexylene glycol, dan myristic acid yang rata-rata memiliki struktur dengan bangun sikloheksana dan ikatan rangkap terkonjugasi. Kedua jenis struktur tersebut merupakan jenis struktur yang sangat peka terhadap sinar ultraviolet dan mampu menyerap radiasinya. Adanya bentuk senyawa yang mampu menyerap radiasi sinar ultraviolet dan melapisi sel Hela pada media dapat menyebabkan sel menjadi lebih aman. Hal ini terjadi karena ikatan rangkap terkonjugasi dari basa nitrogen (purin dan pirimidin) dalam DNA sel tidak lagi menyerap radiasi UV dan mengalami mutasi.

Pecorino, 2012 menyatakan bahwa ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur cincin basa nitrogen DNA dapat menyerap radiasi UV. Radiasi UV yang diserap oleh basa nitrogen tersebut akan menyebabkan terjadinya pembentukan *cyclobutane pyrimidine* (dimer) atau ikatan *pyrimidine* dengan *pyrimidine*. Ikatan ini, nantinya akan memicu timbulnya ikatan lain dalam skala yang lebih besar yaitu, ikatan antar helix DNA. Hal inilah yang menyebabkan DNA polymerase tidak dapat membaca DNA dengan benar dan terjadilah kesalahan pembacaan DNA (*miss reading*) yang berujung pada peristiwa mutasi genetik. Mutasi genetik dapat memicu terjadinya berbagai jenis kanker, salah satunya adalah kanker kulit. Maka dari itu, dengan adanya senyawa lain yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, sel akan dapat terlindungi karena senyawa dengan struktur ikatan rangkap terkonjugasi dapat menyerap radiasi UV dan melindungi sel.

#### **D. Kesimpulan**

Ekstrak etanol *S. cristaefolium* mengandung beberapa jenis senyawa seperti asam palmitat, asam enoat, hexylene glycol, dan myristic acid yang berpotensi sebagai agen fotoprotektif. Ekstrak etanol *S.cristaefolium* mampu melindungi sekitar 60-86% sel hela dari efek radiasi UVA secara *In vitro*. Ekstrak ini bekerja lebih baik pada konsentrasi 100 µg/ml dibandingkan dengan konsentrasi 30 µg/ml. Hal ini berbanding lurus dengan hasil pengujian efek antioksidan ekstrak *S. cristaefolium* yang juga mampu mengikat 4-12% senyawa radikal bebas DPPH dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 566.8µg/ml.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Alvarez, A..M.R., Rodriguez, M.L.G., 2000, Lipids in Pharmaceutical and Cosmetics Preparations, *Grasas Aceites*, 51(1): 74-96
- Anam, Khoirul, 2015, *Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (Eucheuma cottonii) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS dan FTIR*, Skripsi, Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Anand, K., 2002. An Overview On 2-methyl-2,3-pentanediol in Crystallization and in Crystals Of Biological Macromolecules, *Acta Cryst*, 58: 1722-1728
- Anggraini, Dian Triani, Joshita Djajadisasstra, Hayun, 2013, Uji Stabilitas Fisik dan Penentuan Nilai SPF Secara *In Vitro* dari Krim Tabir Surya yang Mengandung Butil Metoksidibenzoilmetan dan Oktil Metoksinamat dengan Penambahan Titanium Dioksida, *Universitas Indonesia*, [Naskah Publikasi]
- Anonim, 2005, Human Metabolome Database (HMDB), (<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0000207>) diakses pada pukul 14:30 WITA pada tanggal 15/05/2018
- Blouis, M. S., 1958, *Antioxidant Determinations By The Use Of a Stable Free Radical*, *Nature*, 1199-1200.
- Dorland, W.A.N., 2008, *Dorland's Pocket Medical Dictionary* (28<sup>th</sup> ed.), Philadelphia, Saunders
- Dris, R. & Jain, S.M., *Production Practices and Quality Assessment Of Food Corps : Quality Handling and Evaluation*, New York, Kluwer Academic Publisher.
- Grollier, J.F., Plessis, S., 1988, Use Of Coffe Bwan Oil As a Sun Filter, *L'oreal, US Patent* 4793990
- Kockler, Jutta; Michael, Oelgemolle; Sherryl, Robertson; Beverley, D. Glass, 2012, Photostability Of Sunscreens, *Journal Of Photochemistry and Photobiology*, 13(1) : 91-110.
- Lailiyah, Ahwalui, *et al.*, 2014. Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* dari Pantai Sumenep Madura, *Alchemy*, 3(1): 18-30
- Louise, E., Agrapidis-Paloympis, dan Robert A. Nash, 1978. The Effect Of Solvents On The Ultraviolet Absorbance Of Sunscreens, *J. Soc. Cosmet. Chem*, 38: 209-221
- Pecorino, Lauren, 2012, *Molecular Biology Of Cancer, Mechanisms, Targets and Therapeutics : Third Edition*, UK, Oxford University Press.
- Puspita, Maya, 2017. *Enzyme-assisted Extraction Of Phlorotannins From Sargassum and Biological Activities*, Tesis, *Doctoral Program Of Coastal Research Management*, Diponegoro University.

- Rosen, C.F., 2003. Topical and Systemic Photoprotection, *Dermatol*, 16(1) : 8-15
- Stedman, 1995, *Stedman's Medical Dictionary 26<sup>th</sup> Edition*, Baltimore, Williams & Wilkins.
- Suhaling, Sukmawati, 2010. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kacang Merah (Phaseolus vulgaris L.) dengan Metode DPPH*, Skripsi, Program Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Sun, Ying, *et al.*, 1999. Composition Base For Tropical Therapeutic and Cosmetic Preparations, *Johnson & Johnson Consumer Product Inc., United States Patent 5993787*
- Wang, C.-Y., Wu, T.-C., Hsieh, S.-L., Tsai, Y.-H., Yeh, C.-W. And Huang, C.-Y., 2015, Antioxidant Activity and Growth Inhibition Of Human Colon Cancer Cells By Crude and Purified Fucooidan Preparations Extracted From *Sargassum Cristaeifolium*, *J Food Drug Anal*, 23: 766–777
- Yanuarti, Rini; Nurjanah; Effionora, Anwar; Ginanjar, Pratama, 2017, Kandungan Senyawa Penangkal Sinar Ultra Violet dari Ekstrak Rumput Laut *Euclima cottonii* dan *Turbinaria conoides*, *Biosfera*, 34(2) : 51-58