

BAB I

PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Kanker dan DM merupakan dua dari sepuluh penyakit penyebab kematian tertinggi di dunia sedangkan di Indonesia termasuk dalam lima penyebab kematian tertinggi pada tahun 2021. Sepuluh penyebab kematian tersebut menyumbang lebih dari 50% kematian di seluruh dunia. WHO memprediksikan kasus kanker dan DM di Indonesia akan terus mengalami peningkatan hingga tahun 2040 (WHO^c, 2024; Lubis 2024).

Kanker merupakan hasil interaksi antara faktor genetik seseorang dengan tiga kategori agen eksternal seperti karsinogen fisik (Sinar UV, sinar X, radiasi alfa, beta dan gamma), karsinogen kimiawi (n-nitrosamin, asbestos, benzena, benzin, vinil klorida, kadmium, nikel, arsen, dan aflatoksin) serta karsinogen biologis (bakteri, virus dan parasit) (Blake, 2022; Das et al., 2020; Saini et al., 2020). Kanker dan terapi kanker dapat mempengaruhi berbagai macam penurunan kondisi kesehatan ataupun menimbulkan berbagai penyakit komplikasi lainnya seperti DM dan sebaliknya DM melalui mekanisme hiperglikemia, hiperinsulinemia, dan terapi DM dapat meningkatkan kemungkinan timbulnya berbagai jenis kanker yang berbeda (Shahid et al., 2021; Zhu & Shen, 2022). Penyakit DM memiliki hubungan dengan peningkatan prevalensi, peningkatan perkembangan, dan peningkatan agresivitas kanker. Hal ini berhubungan dengan efek fisiologi hiperglikemia pada pasien DM yang akan berdampak pada progresi sel tumor, salah satunya melalui jalur insulin/insulin-like growth receptor-1 (IGF-1R), sehingga penderita DM memiliki ancaman komplikasi kanker lebih tinggi daripada orang tanpa penyakit DM. Genetik, obesitas, inflamasi dan stress oksidatif merupakan faktor silang yang mempengaruhi kanker dan DM (Ma et al., 2023). Berdasarkan penjelasan tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa kanker dan DM merupakan dua penyakit yang saling berkorelasi, sehingga perlu dilakukan kontrol dan terapi terhadap kanker dan DM secara bersamaan.

Berbagai macam senyawa kimia sintetis terus dikembangkan untuk keperluan terapi kanker dan DM tersebut. Senyawa kimia sintetis tersebut dibuat ke dalam bentuk sediaan obat-obatan dan telah sering digunakan untuk keperluan terapi kanker dan DM. Obat-obatan noninsulin yang telah sering digunakan untuk keperluan terapi DM terbagi menjadi beberapa kelompok obat yaitu biguanida, tiazolidindion, sulfonilurea, glinida, inhibitor alfa glukosidase, inhibitor dipeptidil peptidase-4, inhibitor sodium glukosa kotransporter, dan antagonis reseptor *glucagon-like peptide-1* (Sibony et al., 2023). Obat-obatan yang telah sering digunakan untuk keperluan terapi kanker terbagi menjadi beberapa kelompok obat yaitu antimetabolit, agen alkilasi, antibiotik antitumor, agen antimitotik, agen hormonal, antagonis kinase dan transduksi sinyal, inhibitor angiogenesis, inhibitor proteasom, dan imunoterapi (Basak et al, 2021). Obat-obatan sintetis tersebut memiliki berbagai macam efek samping, sehingga hal inilah yang mendasari eksplorasi senyawa analog obat yang berasal dari bahan alam lebih dikembangkan dengan harapan tidak memiliki efek samping yang dimiliki oleh obat-obatan sintetis tersebut.

Potensi biota laut Indonesia sangat besar, sehingga mendorong para ilmuwan dan produsen analog obat terapi kanker dan DM untuk lebih melihat laut sebagai sumber senyawa yang memiliki bioaktivitas antikanker dan antidiabetes yang potensial. Contoh sumber daya alam laut Indonesia yang potensial adalah rumput laut. Indonesia kaya akan keberagaman jenis rumput lautnya. Terdapat sekurang-kurangnya 325 spesies rumput laut yang telah teridentifikasi di Indonesia yang terdiri atas 103 spesies rumput laut hijau (chlorophyta), 167 spesies rumput laut merah (rhodophyta) dan 55 spesies rumput laut coklat (phaeophyta) (Basyuni et al., 2024). Berdasarkan salah satu data statistik, pemanfaatan rumput laut hijau, merah dan coklat di Indonesia sebagai sumber senyawa bioaktif berturut-turut sekitar 30%, 60% dan 10% (Widyartini et al., 2023). Hal inilah yang mendasari dilakukannya eksplorasi lebih lanjut pada kelompok rumput laut coklat. *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. merupakan dua spesies rumput laut coklat yang memiliki kelimpahannya >30% di laut Indonesia, yang potensinya belum dimanfaatkan secara maksimal (Gazali et al, 2018).

Padina sp. dan *Sargassum* sp. mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, fenolik, flavonoid, dan saponin (Akbar et al, 2021; Akbar et al., 2022). Fenolik dan flavonoid merupakan kelompok metabolit sekunder terbanyak yang terkandung dalam *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. (Manteu et al, 2018). Hal tersebutlah yang mendasari kemungkinan bahwa kelompok fenolik dan flavonoid memiliki korelasi dengan berbagai jenis potensi bioaktivitas yang dimiliki oleh *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. Kelompok fenolik dan flavonoid pada rumput laut secara umum telah banyak dilaporkan memiliki bioaktivitas antioksidan (Michalak et al., 2022). Kelompok fenolik dan flavonoid khususnya pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. telah dilaporkan memiliki bioaktivitas sebagai antikanker (Djamaluddin et al, 2019; El-Hakeem et al., 2024). Bioaktivitas antidiabetes pada rumput laut secara umum juga telah banyak dilaporkan, namun belum cukup data penelitian yang mengeksplorasi bioaktivitas antidiabetes tersebut khususnya pada *Padina* sp. (Gunathilaka et al, 2020). Kelompok fenolik dan flavonoid secara umum telah banyak dilaporkan memiliki bioaktivitas inhibitor tirosinase, namun belum cukup data penelitian yang mengeksplorasi bioaktivitas inhibitor tirosinase tersebut khususnya pada *Padina* sp. (Dolorosa et al., 2019; Zolghadria et al., 2019).

Inhibitor tirosinase merupakan salah satu mekanisme yang dapat mereduksi proses pembentukan melanin. Melanin merupakan pigmen warna pada tubuh manusia. Pada keadaan tertentu produksi melanin dapat menjadi tidak stabil dan dapat memicu terjadinya kanker kulit (melanoma). Penghambatan yang sesuai terhadap melanogenesis dapat bermanfaat baik terhadap pencegahan pencoklatan kulit maupun secara tidak langsung terhadap pencegahan penyakit kanker kulit (Pereira, 2018).

Berdasarkan beberapa studi literatur yang telah disebutkan sebelumnya, terdapat kemiripan pada setiap penelitian-penelitian tersebut yaitu belum disebutkannya korelasi langsung antara keberadaan kelompok fenolik dan flavonoid pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. terhadap setiap bioaktivitas yang dimilikinya serta belum ditemukannya data penelitian *in silico* yang memadai untuk mendukung hasil penelitian *in vitro* yang telah banyak dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu,

perlu dilakukan analisis *in silico* seperti *docking* molekuler untuk melengkapi dan mendukung hasil analisis *in vitro* *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. nantinya.

1.2 Tinjauan Pustaka

1.2.1 Kanker

Kanker merupakan sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel tubuh tertentu yang tidak terkendali dan berakibat merusak sel serta jaringan tubuh lainnya, bahkan sering berakhir dengan kematian. Kanker juga disebut sebagai penyakit keganasan, dan sel kanker disebut juga sebagai sel ganas. Semua sel tubuh dapat terkena kanker, kecuali rambut, gigi dan kuku (Alves et al., 2018). Kanker merupakan penyebab utama kematian kedua secara global, terhitung sekitar 9,6 juta kematian atau satu dari enam kematian pada tahun 2020. Kanker yang sering dijumpai secara global pada pria adalah kanker paru, lambung, hepar, kolorektal, esofagus, dan prostat, sedangkan pada wanita adalah kanker payudara, paru, lambung, kolorektal, dan serviks (WHO^a, 2020). Angka kejadian penyakit kanker di Indonesia berada pada urutan 8 di Asia Tenggara, sedangkan di Asia urutan ke-23. Angka kejadian tertinggi di Indonesia untuk laki-laki adalah kanker paru dan kanker hati, sedangkan untuk perempuan adalah kanker payudara dan kanker leher rahim (Kemkes, 2019).

Apabila penyakit ini dapat dideteksi pada tahap awal, maka lebih daripada separuh penyakit kanker dapat dicegah, bahkan dapat disembuhkan. Hasil diagnosis kanker menyatakan bahwa 80% penderita kanker ditemukan pada stadium lanjut yaitu stadium 3 dan stadium 4. Pada tahap tersebut kanker sudah menyebar ke bagian-bagian lain di dalam tubuh sehingga semakin kecil peluang untuk sembuh dan pulih. Keadaan di atas menjadi salah satu penyebab meningkatnya penyakit kanker di Indonesia (WHO^a, 2020).

WHO menyatakan bahwa sepertiga sampai setengah dari semua jenis kanker dapat dicegah, sepertiga dapat disembuhkan bila ditemukan pada stadium dini. Oleh karena itu, upaya mencegah kanker dengan menemukan kanker pada stadium dini merupakan upaya yang penting karena disamping membebaskan masyarakat dari penderitaan kanker juga menekan biaya pengobatan kanker yang mahal. Jika pencegahan kanker dilakukan oleh masing-masing individu, maka hal tersebut akan berdampak besar dalam mengurangi angka kejadian kanker di dunia.

Ada lima kelompok besar yang digunakan untuk mengklasifikasikan kanker yaitu karsinoma, sarkoma, limfoma, adenoma, dan leukemia. Karsinoma ialah kanker yang berasal dari kulit atau jaringan yang menutupi organ internal. Sarkoma ialah kanker yang berasal dari tulang, tulang rawan, lemak, otot, pembuluh darah, atau jaringan ikat. Limfoma ialah kanker yang berasal dari kelenjar getah bening dan jaringan sistem kekebalan tubuh. Adenoma ialah kanker yang berasal dari tiroid, kelenjar pituitari, kelenjar adrenal, dan jaringan kelenjar lainnya. Leukemia ialah kanker yang berasal dari jaringan pembentuk darah seperti sumsum tulang dan sering menumpuk dalam aliran darah (National Cancer Institute, 2020).

Pembentukan kanker merupakan suatu proses bertingkat yang membutuhkan waktu lama atau biasa disebut teori inisiasi-promosi pada karsinogenesis. Sel-sel kanker terbentuk dari sel-sel normal dalam suatu proses kompleks yang disebut

transformasi yang terdiri atas tahap inisiasi dan promosi. Teori inisiasi-promosi menyatakan bahwa langkah pertama karsinogenesis adalah mutasi menetap dari DNA sel selama transkripsi DNA. Agar kanker dapat terbentuk dari kejadian awal tersebut atau mutasi menetap tersebut, maka harus ada interaksi yang berlangsung lama bagi sel tersebut dengan berbagai zat promotor. Zat-zat promotor adalah zat yang merangsang reproduksi dan pembelahan sel. Banyaknya penyebab inisiasi, adanya berbagai promotor, faktor keturunan, umur, dan lingkungan berperan dalam pembentukan kanker. Pada tahap inisiasi atau pengenalan terjadi suatu perubahan menetap tertentu dalam bahan genetik sel yang memancing sel menjadi ganas. Perubahan dalam bahan genetik sel ini disebabkan oleh suatu agen yang disebut karsinogen, yang bisa berupa bahan kimia, virus, radiasi, atau sinar ultraviolet matahari, namun tidak semua sel memiliki kepekaan yang sama terhadap suatu karsinogen. Promosi merupakan proses induksi tumor pada sel yang sebelumnya telah diinisiasi atau diinduksi oleh zat kimia, bahkan gangguan fisik menahun juga dapat membuat sel menjadi lebih peka untuk mengalami suatu keganasan. Pada tahap promosi, suatu sel yang telah mengalami inisiasi akan berubah menjadi ganas. Sel yang belum melewati tahap inisiasi tidak akan terpengaruh oleh promosi. Oleh karena itu diperlukan beberapa faktor untuk terjadinya keganasan yaitu gabungan dari sel yang peka dan suatu karsinogen (Alves et al., 2018).

Karsinogen secara umum dapat diartikan sebagai penyebab yang dapat merangsang pembentukan kanker. Beberapa karsinogen yang diduga dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker adalah senyawa kimia seperti zat pewarna, zat pengawet, bahan tambahan pada makanan dan minuman. Faktor fisika seperti bom atom dan radioterapi agresif (radiasi sinar pengion). Beberapa jenis virus berhubungan erat dengan perubahan sel normal menjadi sel kanker. Jenis virus ini disebut virus penyebab kanker atau virus onkogenik. Beberapa penelitian diketahui bahwa pemberian hormon tertentu secara berlebihan dapat menimbulkan kanker pada organ tubuh yang dipengaruhi (Alves et al., 2018).

Beberapa usaha pengobatan terhadap kanker telah dilakukan secara intensif, yaitu dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi. Kemoterapi merupakan pilihan pengobatan yang paling memungkinkan untuk pengobatan kanker pada stadium lanjut. Kemoterapi merupakan cara pengobatan dengan menggunakan senyawa kimia yang bekerja langsung pada sel kanker. Beberapa agen kemoterapi yang sering digunakan dalam pengobatan kanker adalah Adriamycin (doxorubicin), Aredia (pamidronate disodium), Cytosan (cyclophosphamide), Ellence (epirubicin), Fareston (toremifene), Tamoxifen (Nolvadex), Taxol (paclitaxel), dan Taxotere (docetaxel). Kegagalan yang sering terjadi dalam usaha pengobatan kanker, utamanya melalui kemoterapi, lebih dikarenakan rendahnya selektifitas obat-obat anti kanker dan sensitivitas sel kanker itu sendiri terhadap agen kemoterapi. Usaha penemuan obat baru yang aman dan selektif terhadap pengobatan dan pencegahan kanker dengan mengetahui pengaruh molekuler terhadap sel kanker perlu untuk dilakukan (Alves et al., 2018).

Pendekatan terapi kanker dapat dilakukan dengan menghambat perkembangan sel kanker tersebut baik melalui pemacuan apoptosis maupun penghambatan daur sel yang dapat teramati secara *in vitro*. Proses terbentuknya sel

kanker umumnya disebabkan oleh tidak terkendalinya proliferasi sel, maka pengembangan obat-obat antikanker dapat diarahkan pada regulasi daur sel dan kontrol *checkpoint* (Saphiro & Harper, 1999), faktor pertumbuhan dan signal faktor pertumbuhan (Gibbs, 2000), penghambatan angiogenesis (Keshet & Bens, 1999), dan pemacuan apoptosis (Fisher, 1994).

Salah satu strategi pengembangan obat antikanker adalah penemuan senyawa baru yang mendasarkan target aksinya pada gen-gen yang mengatur pertumbuhan, diferensiasi, dan kematian sel. Pengembangan obat antikanker dengan didasarkan pada regulasi siklus sel yang diarahkan pada penghambatan terjadinya proses pembelahan sel, sehingga senyawa ataupun protein yang diberikan kepada penderita dapat mencegah terjadinya sintesis DNA dan mitosis. Pada berbagai kasus kanker, sering ditandai dengan hilangnya pRb, inaktivasi p16INK4, amplifikasi Cdk-4 dan meningkatnya ekspresi siklin D1 yang akan memacu proliferasi sel kanker. Strategi pengembangan obat antikanker pada proses ini dapat diarahkan untuk menghambat siklin D1, aktivasi dan meningkatkan ekspresi p16INK4 (Saphiro & Harper, 1999). Sel kanker dapat dihambat pertumbuhannya pada fase G2M pada siklus sel. Sel mengalami pertumbuhan dan sintesis protein pada fase G2 sehingga cukup untuk kelangsungan hidup dua sel yang akan terbentuk dan siap untuk masuk ke fase M dan mengalami pembelahan menjadi dua sel yang identik. Penghambatan sel pada fase G2M ini dikaitkan dengan peningkatan ekspresi protein p21 Waf/CIP. Protein tersebut merupakan inhibitor siklus sel yang berperan penting pada regulasi siklus sel. Peningkatan ekspresi protein p21 tersebut terkait erat dengan terjadinya apoptosis pada sel. Ekspresi protein p21 dapat terjadi baik tergantung maupun tidak tergantung pada perubahan ekspresi protein p53 (Harper et al., 1993; Michieli et al., 1994; Zeng et al., 1996).

Kematian sel merupakan proses normal yang berfungsi untuk perbaikan jaringan dan penghilangan sel yang rusak yang mungkin berbahaya bagi tubuh. Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram atau program bunuh diri sel yang memerlukan mRNA dan sintesis protein tertentu (Alves et al., 2018). Apoptosis dapat dipacu melalui jalur ekstrinsik dan intrinsik yang melibatkan protein intraseluler kaspase. Hal tersebut mendorong untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekspresi protein-protein yang terkait dengan regulasi siklus sel maupun apoptosis.

Perkembangan penelitian mengenai pengobatan kanker berupaya untuk meningkatkan selektifitas dan keamanannya serta mengurangi efek samping pada sel normal. Peningkatan ilmu pengetahuan terkait mekanisme molekuler dan patofisiologi kanker manusia mendorong pengembangan obat antikanker pada target molekuler sehingga diharapkan dapat menghasilkan obat antikanker dengan efektifitas yang lebih besar dan toksisitas yang lebih rendah (Gibbs, 2000). Identifikasi agen antikanker selain didasarkan pada kajian etnobotani dan fitokimia tetapi juga berbasis uji sitotoksik secara *in vitro* dan *in vivo*. Kelemahan uji sitotoksik yang belum dapat menggambarkan kompleksitas kanker pada manusia dapat diatasi dengan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya biologi molekuler (Gibbs, 2000) sehingga penelitian dapat diarahkan target molekuler yang spesifik seperti sinyal transduksi, regulasi siklus sel, apoptosis, dan angiogenesis (Hanahan & Wienberg, 2000).

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antikanker suatu senyawa atau bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker. Informasi yang didapat secara *in vitro* dapat menggambarkan efek *in vivo* dari obat sitotoksik yang sama. Metode MTT assay merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk uji sitotoksik. Metode ini mengukur proliferasi sel secara kolorimetrik dan telah diadopsi sebagai alat tes kolorimetri cepat untuk kelangsungan hidup sel (MTT assay) dan dapat mengidentifikasi selektivitas senyawa uji berdasarkan respon sitotoksik dan resistensi pada berbagai jenis sel kanker (Djamaluddin et al., 2019).

Uji sitotoksik secara *in vitro* dapat dilanjutkan pada pengamatan seluler dan level molekuler untuk mengetahui target molekuler efek sitotoksik tersebut. Pengamatan perubahan dapat diarahkan pada target molekuler yang spesifik seperti sinyal transduksi, regulasi siklus sel, apoptosis, dan angiogenesis. Adanya perubahan morfologi karakteristik dan fragmentasi DNA menunjukkan aktivitas antiproliferatif (Ueda et al., 2002).

Penelusuran mekanisme molekuler dapat dilakukan dengan mengamati level ekspresi protein-protein tertentu (Kuo et al., 2005; Malikova et al., 2006). Regulasi siklus sel berdasarkan aktivasi siklin dan *cyclin-dependent kinases* (CDKs) yang menginisiasi perpindahan sel dari fase G1 ke fase S dan dari fase G2 berlanjut ke mitosis. Kanker sering kali disebabkan aktivitas CDKs yang tidak terkontrol oleh inhibitor siklus sel seperti p21 (Malikova et al., 2006). Pengamatan ekspresi protein regulator siklus sel merupakan salah satu penelusuran mekanisme molekuler yang spesifik. Induksi apoptosis pada sel tumor dinilai sangat berguna dalam terapi dan pencegahan kanker. Berbagai bahan alam telah terbukti memiliki kemampuan menginduksi apoptosis pada sel kanker yang berasal dari manusia (Alves et al., 2018).

Potensi antikanker rumput laut telah dipelajari secara luas dalam beberapa tahun terakhir karena adanya komponen bioaktif seperti polisakarida, fenolik, flavonoid, alkaloid, dan protein tertentu. Ye et al. (2008) telah mengisolasi fraksi polisakarida sulfat yaitu SP-1, SP-2 dan SP-3, dari *Sargassum pallidum* dan diuji secara *in vitro*, hasilnya menunjukkan sitotoksitas yang signifikan terhadap sel A549, sel HepG2 dan sel MGC-803. Polisakarida lain seperti fukoidan ScF2 200 µg/mL memiliki aktivitas antiproliferasi sebesar 26% terhadap sel kanker DLD-1 (Vishchuk et al., 2013). Fenolik merupakan metabolit sekunder rumput laut yang tersusun dari cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil seperti flavonoid, lignan, tannin, dan florotanin. Kelompok fenolik tersebut dapat berpengaruh secara *in vivo* pada berbagai mekanisme antikanker (Kong, 2009). Senyawa florotanin dari *Sargassum* dan *Padina* seperti dioxinodehydroeckol dapat menginduksi apoptosis pada sel MCF-7, MDA-MB-231 dan meningkatkan aktivitas jalur kaspase 3 dan 9, Bax, p53, PARP melalui regulasi NF-κB dan Bcl2 (Li et al., 2011).

Beberapa spesies *Padina* telah dilaporkan memiliki potensi antikanker melalui uji pendahuluan BSLT. Penelitian-penelitian terkait terdahulu seperti ekstrak etanol *Padina* sp. memiliki LC₅₀ sebesar 12,45 ppm, ekstrak etanol *Padina australis* memiliki LC₅₀ sebesar 177,83 ppm, fukoidan pada *Padina* sp. memiliki LC₅₀ sebesar 145,586 ppm, ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksana pada *Padina australis* memiliki LC₅₀

berturut-turut sebesar 785,03; 73,3; dan 300 ppm, serta ekstrak metanol pada *Padina gymnospora* memiliki LC_{50} sebesar 1000 ppm (Nickson, 2023; Saptari, 2015).

Kejadian kanker sering dikaitkan dengan riwayat DM. Terutama pada pasien usia lanjut (Giovanucci, 2001). Hubungan antara kanker dan DM telah menjadi perhatian luas dan menarik minat para ahli. Pada penelitian Vigneri et al. (2009) mengatakan terdapat hubungan antara DM dengan beberapa jenis kanker, meskipun tidak semua penelitian menemukan hubungan tersebut. Masih diperlukan penelitian lebih lanjut karena DM bukanlah penyakit yang berdiri sendiri, tetapi lebih pada kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia (Vigneri et al., 2009). Prevalensi DM di dunia saat ini diperkirakan mencapai 171 juta orang, dan akan meningkat menjadi 2 kali lipat yaitu 366 juta pada tahun 2030. Sepuluh negara dengan penderita DM terbanyak adalah India, Cina, Amerika, Indonesia, Jepang, Pakistan, Rusia, Brazil, Italia dan Banglades. WHO memperkirakan Indonesia akan menempati urutan ke-4 dari seluruh negara di dunia dengan jumlah penderita DM mencapai 12,4 juta orang pada tahun 2025, artinya naik menjadi 2 kali lipat dibanding tahun 1995 (WHO^b, 2020).

1.2.2 Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit tidak mampu mengendalikan jumlah gula, atau glukosa dalam aliran darah. Hal tersebut menyebabkan hiperglikemia, suatu keadaan gula darah tinggi yang sudah membahayakan. Faktor utama pada DM ialah insulin, suatu hormon yang dihasilkan oleh kelompok sel beta pada pankreas. Insulin memberi sinyal kepada sel tubuh agar menyerap glukosa. Insulin bekerja dengan hormon pankreas lain yang disebut glukagon untuk mengendalikan jumlah glukosa dalam darah. Apabila tubuh menghasilkan lebih sedikit insulin atau jika sel tubuh tidak menanggapi insulin dengan tepat terjadilah DM (WHO^b, 2020). Penyebab DM sampai sekarang belum diketahui dengan pasti tetapi umumnya diketahui kekurangan insulin adalah penyebab utama dan faktor herediter memegang peranan penting.

Menurut International Diabetes Federation (IDF), sebanyak 285 juta orang di seluruh dunia menderita diabetes. Angka ini dikemukakan pada 20th World Diabetes Congress di Montreal, Canada. Di Asia Tenggara sebanyak 59 juta orang menderita diabetes. Menurut WHO, Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dalam jumlah penderita DM. Berdasarkan berbagai penelitian epidemiologis di Indonesia didapatkan prevalensi sebesar 1,5-2,3% pada penduduk usia >15 tahun (WHO^b, 2020).

American Diabetes Association (ADA) memperkenalkan sistem klasifikasi berbasis etiologi dan kriteria diagnosa untuk diabetes yang diperbaharui. Pada DM tipe I terdapat ketidakmampuan pankreas menghasilkan insulin karena hancurnya sel-sel beta pulau Langerhans. Hal ini menimbulkan hiperglikemia puasa dan hiperglikemia postprandial. Dengan tingginya konsentrasi glukosa dalam darah, maka akan muncul glukosuria (glukosa dalam darah) dan ekskresi tersebut akan disertai pengeluaran cairan dan elektrolit yang berlebihan (diuresis osmotik) sehingga pasien akan mengalami peningkatan dalam berkemih (poliuria) dan rasa haus (polidipsia). Defisiensi insulin juga mengganggu metabolisme protein dan lemak sehingga terjadi

penurunan berat badan dan akan muncul gejala peningkatan selera makan (polifagia). Akibat yang lain yaitu terjadinya proses glikogenolisis (pemecahan glukosa yang disimpan) dan glukogenesis tanpa hambatan sehingga efeknya berupa pemecahan lemak dan terjadi peningkatan keton yang dapat mengganggu keseimbangan asam basa dan mengarah terjadinya ketoasidosis. Pada DM Tipe II mengalami dua masalah yaitu resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Untuk mengatasi resistensi insulin dan mencegah terbentuknya glukosa dalam darah yang berlebihan maka harus dilakukan peningkatan jumlah insulin yang disekresikan, namun demikian jika sel-sel beta tidak mampu mengimbangnya maka kadar glukosa akan meningkat dan terjadilah DM tipe II (ADA, 2020).

Pengurangan hiperglikemia postprandial adalah salah satu intervensi terapeutik utama untuk mengobati DM tipe 2 (Hinnen, 2015). Hiperglikemia postprandial dapat dikurangi dengan menghambat enzim penghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase dan α -glukosidase. Alfa amilase dan α -glukosidase adalah enzim glikosida hidrolase penting yang terlibat dalam pencernaan karbohidrat, dan enzim tersebut bertindak secara sinergis untuk mencerna pati dalam tubuh manusia. Alfa amilase memecah pati besar yang tidak larut dengan menghidrolisis ikatan alfa, sedangkan α -glukosidase mengkatalisis langkah akhir pencernaan pati dan disakarida menjadi subunit glukosa. Oleh karena itu, penghambatan enzim tersebut menyebabkan penurunan kadar glukosa darah postprandial dan penghambat enzim ini bertindak sebagai target potensial untuk pengembangan obat antidiabetes (Nair et al., 2013). Selain enzim penghidrolisis karbohidrat, penghambatan enzim seperti aldose reduktase, enzim pengubah angiotensin, dipeptidyl peptidase-4 (Dey et al., 2014), dan protein tirosin fosfatase 1B juga dapat diterapkan pada strategi pengembangan terapi untuk mengobati DM tipe 2 (Deacon, 2019). Aldosa reduktase adalah enzim metabolik kunci yang terlibat dalam jalur poliol yang mengubah glukosa menjadi sorbitol dengan adanya NADPH sebagai kofaktor. Hiperglikemia pada DM tipe 2 menghasilkan produksi sorbitol yang berlebihan melalui jalur poliol. Akumulasi sorbitol intraseluler yang tinggi menyebabkan perkembangan katarak dan neuropati diabetik (Tang et al., 2012). Oleh karena itu, inhibitor aldose reduktase dapat mencegah pembentukan sorbitol melalui jalur poliol dan mengurangi komplikasi diabetes jangka panjang.

Enzim pengubah angiotensin terlibat dengan sistem renin-angiotensin-aldosteron yang mengubah angiotensin 1 menjadi angiotensin II. Angiotensin II adalah vasokonstriktor kuat, dan merangsang sekresi aldosteron oleh korteks adrenal dan meningkatkan penyerapan natrium dan air. Aktivasi sistem renin-angiotensin-aldosteron meningkatkan tekanan darah, yang menyebabkan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular pada pasien DM tipe 2 (Amann et al., 2003). Oleh karena itu, inhibitor enzim pengubah angiotensin memiliki kemampuan untuk menurunkan tekanan darah, sehingga membantu mengurangi komplikasi diabetes jangka panjang. Demikian pula, dipeptidyl peptidase-4 adalah enzim yang terlibat dalam metabolisme glukosa dan membantu mengurangi kadar glukosa seperti peptida-1 (GLP-1). GLP-1 adalah hormon usus yang terlibat dalam penurunan kadar glukosa darah dengan merangsang sekresi insulin selama kondisi hiperglikemik pada pasien dengan DM tipe 2, sedangkan efek GLP-1 pada sekresi insulin semakin

berkurang setelah pasien menjadi euglikemik (Deacon, 2019). Oleh karena itu, inhibitor dipeptidyl peptidase-4 meningkatkan kadar GLP-1 yang merangsang sekresi insulin, sehingga membantu mempertahankan kondisi hiperglikemik pada pasien DM tipe 2.

Protein tirosin fosfatase 1B (PTP 1B) merupakan enzim lain yang terlibat dalam jalur pensinyalan insulin dan terletak di permukaan sitoplasma retikulum endoplasma (Abdelsalam et al., 2019). Enzim PTP 1B merupakan regulator negatif dari kaskade fosforilasi tirosin yang terlibat langsung dengan jalur pensinyalan insulin. Pengikatan insulin pada reseptor insulin menyebabkan perubahan struktural pada reseptor melalui autofosforilasi residu tirosin di dalam sel, yang selanjutnya mengaktifkan jalur yang berbeda untuk meningkatkan pengambilan glukosa ke sel. Selama proses ini, enzim PTP 1B mengubah fosforilasi reseptor insulin dan melawan sinyal insulin. Oleh karena itu, penghambatan enzim ini menyebabkan penurunan kadar glukosa darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin sehingga inhibitor protein tirosin fosfatase 1B dapat digunakan sebagai target potensial untuk pengobatan DM tipe 2 (Bakke & Haj, 2016). Hiperglikemia kronis pada pasien diabetes mengarah pada pembentukan produk akhir glikasi lanjut yang terkait dengan patogenesis komplikasi vaskular pada diabetes, gagal ginjal, penyakit Alzheimer, penuaan, dan penyakit kronis lainnya. Pembentukan produk akhir glikasi lanjutan adalah proses yang kompleks, yang melibatkan reaksi nonenzimatik antara gugus karbonil dari molekul glukosa dan gugus amino bebas yang mengarah pada pembentukan basa Schiff dan produk Amadori yang stabil melalui reaksi *reversible*. Penataan lebih lanjut dari basis Schiff dan produk Amadori mengarah pada pembentukan produk akhir glikasi lanjut melalui reaksi *irreversible* (Singh et al., 2014). Oleh karena itu, senyawa alami yang menghambat pembentukan produk akhir glikasi lanjut dapat digunakan untuk menekan komplikasi diabetes yang terkait dengan akumulasi produk akhir glikasi lanjutan.

Berbagai macam senyawa kimia sintesis terus dikembangkan untuk keperluan terapi sel kanker dan DM, namun memiliki berbagai macam efek samping, sehingga obat dari bahan alam lebih dikembangkan dengan harapan kurang atau tidak memiliki efek samping tersebut. Potensi antidiabetes rumput laut telah dipelajari secara luas karena adanya komponen bioaktif. Floroglusinol dan florotanin merupakan jenis kelompok senyawa bioaktif tersebut. Florotanin telah diidentifikasi sebagai sumber potensial untuk pengobatan beberapa penyakit manusia termasuk DM tipe 2. Florotanin dalam spesies rumput laut coklat yang berbeda memiliki aksi antidiabetes yang signifikan melalui beberapa mekanisme (Chin et al., 2014). Selain aktivitas antidiabetes secara *in vitro*, potensi antidiabetes secara *in vivo* dievaluasi menggunakan model hewan untuk mengkonfirmasi efek hipoglikemik dengan mekanisme yang berbeda (Yang et al., 2019).

Sebagian besar rumput laut coklat yang termasuk dalam genus *Ecklonia* dan famili Lessoniaceae telah dilaporkan menunjukkan aktivitas antidiabetes terutama melalui aksi penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase karena adanya florotanin yang berbeda seperti eckol, dieckol, 6,6'-bieckol, florofukofuroeckol-A, floroglusinol, dan 7-floroeckol. Ekstrak metanol *Ecklonia cava* menunjukkan aktivitas antidiabetes yang kuat melalui aksi penghambatan pada enzim α -glukosidase (IC₅₀:

10,7 μM) dibandingkan dengan Acarbose standar karena adanya senyawa florotanin, yaitu dieckol, fukodifloroetol G, 6,6'bieckol, 7-floroeckol, dan florofukofuroeckol-A. Florotanin serupa diisolasi dari ekstrak metanol *Ecklonia stolonifera* dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase yang dikaitkan dengan kehadiran florofukofuroeckol-A, dieckol dan 7-floroeckol (Lee & Jeon, 2013). Pada florotannin yang telah diisolasi, florofukofuroeckol-A (IC_{50} : 1,37 μM) dan dieckol (IC_{50} : 1,61 μM) ditemukan sebagai yang paling efektif terhadap enzim α -glukosidase dibandingkan dengan obat referensi Acarbose (IC_{50} : 51,65 μM). Florotanin eckol (IC_{50} : 11,16 μM) yang diisolasi dari *Ecklonia maxima* menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang kuat dibandingkan dengan floroglusinol (IC_{50} : 1991 μM). Demikian pula, fucofuroeckol-A dan dioksinodehidroeckol yang diisolasi dari *Ecklonia bicyclis* juga dilaporkan memiliki efek penghambatan pada enzim α -amilase dan α -glukosidase (Abdelsalam et al., 2019). Selain itu, penurunan yang signifikan dari tingkat glukosa darah postprandial oleh florotanin terisolasi, dieckol dan difloretohidroksikarmalol pada kelompok tikus normal dan diabetes yang diinduksi (Lee & Jeon, 2013).

Florotanin yang terdapat dalam *Sargassum hystrix* telah digunakan untuk menentukan efek hipoglikemia melalui aktivitas penghambatan enzim hidrolisis karbohidrat. *Sargassum hystrix* menunjukkan aksi penghambatan yang kuat pada α -amilase (IC_{50} : 0,58 mg/mL; IC_{50} Acarbose: 0,53 mg/mL dan IC_{50} floroglusinol: 0,56 mg/mL) dan α -glukosidase (IC_{50} : 0,59 mg/mL; IC_{50} Acarbose: 0,61 mg/mL dan IC_{50} floroglusinol: 0,56 mg/mL), enzim dibandingkan dengan Acarbose standar dan floroglusinol (Husni et al., 2018). Aktivitas antidiabetes dari *Sargassum hystrix* telah dikonfirmasi menggunakan tikus yang diinduksi streptozotocin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Sargassum hystrix* telah menurunkan kadar glukosa darah preprandial (186,4 mg/mL) dan postprandial (186,9 mg/mL) secara signifikan pada kelompok tikus diabetes pada konsentrasi 300 mg/kg dibandingkan dengan obat referensi glibenklamid pada dosis 5 mg/kg kadar glukosa preprandial (195,6 mg/mL) dan kadar glukosa postprandial (104,8 mg/mL) tanpa efek pada berat badan tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin (Gotama et al., 2018). Demikian pula, rumput laut *Sargassum polycystum* yang dapat dimakan telah dipelajari untuk mengevaluasi efek hipoglikemik tikus DM tipe 2 yang diinduksi streptozotocin. Ekstrak etanol (150 mg/kg) dan ekstrak air (300 mg/kg). *Sargassum polycystum* secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes sebesar 27,8% dan 35,2% dibandingkan dengan tikus diabetes yang diobati dengan 250 mg/kg metformin (84,76%). Selain itu, dibandingkan dengan histopatologi pankreas pada kelompok kontrol diabetes, atrofi dan kelainan inti dan sitoplasma sel pankreas telah ditekan secara signifikan dengan pengobatan ekstrak etanol (150 mg/kg), ekstrak air (300 mg/kg) dan metformin (Motshakeri et al., 2014).

Padina boergesenii dan *Padina tetrastromatica* telah menunjukkan aktivitas antidiabetes *in vivo* pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin. Pemberian oral ekstrak air *P. boergesenii* meningkatkan aktivitas enzim glikolisis dan menurunkan aktivitas enzim glukoneogenesis pada tikus diabetes dibandingkan dengan pengobatan glibenklamid (Senthilkumar et al., 2014).

Potensi besar biota laut Indonesia telah mendorong para ilmuwan dan produsen senyawa antidiabetes dan antikanker dari dunia untuk lebih melihat laut

sebagai sumber potensial. Rumput laut merupakan salah satu sumber daya alam laut yang potensial di Indonesia (Gazali et al., 2018). Kelimpahan rumput laut jenis *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. mencapai 33,33% di laut Indonesia, namun potensinya belum dimanfaatkan secara maksimal (Salosso & Yudiana, 2018).

1.2.3 Rumput Laut *Padina* sp. & *Sargassum* sp.

Rumput laut atau alga tidak memperlihatkan adanya perbedaan antara akar, batang dan daun secara morfologi. Secara keseluruhan tanaman ini mempunyai morfologi yang mirip walaupun sebenarnya berbeda. Bentuk-bentuk tersebut sebenarnya hanyalah talus belaka. Alga merupakan tumbuhan talus yang berhabitat di air, tempat yang basah atau tempat yang lembab. Selnya selalu jelas mempunyai inti dan plastida serta di dalam plastida terdapat zat-zat warna derivat klorofil, yaitu klorofil a dan b atau keduanya. Selain derivat klorofil terdapat pula zat warna lain dan zat warna lain inilah yang justru kadang lebih menonjol dan menyebabkan alga tertentu diberi nama menurut warna tersebut. Zat-zat warna tersebut berupa fikosianin (warna hijau), fukosantin (warna pirang) dan fikoeritrin (warna merah). Selain itu dapat pula ditemukan zat-zat warna xantofil dan karoten (Subagio & Sofiandi, 2019).

Alga atau ganggang merupakan kelompok thallophyta yang berklorofil. Berdasarkan ukuran tubuhnya alga terbagi menjadi dua golongan besar yaitu makroalga (bentuk dan ukuran makroskopik) dan mikroalga (bentuk dan ukuran mikroskopik). Bagian-bagian alga secara umum terdiri atas *holdfast* (bagian dasar alga untuk menempel pada substrat) dan talus (bentuk percabangan alga). Alga memperoleh atau menyerap makanan melalui sel-sel yang terdapat pada talus. Nutrisi terbawa oleh arus air yang menerpa alga akan diserap sehingga alga dapat tumbuh dan berkembangbiak. Perkembangbiakan alga dapat melalui dua cara yaitu generatif dan vegetatif (Subagio & Sofiandi, 2019).

Alga pada dasarnya dibedakan menjadi 3 divisi utama berdasarkan kandungan zat warna (pigmen) yang dominan pada alga tersebut yaitu rhodophyta (alga merah), phaeophyta (alga coklat) dan chlorophyta (alga hijau) (Subagio & Sofiandi, 2019). Pada penelitian ini dikhususkan pada alga coklat dengan alasan yang telah disebutkan sebelumnya.

Terdapat 8 marga atau genus alga coklat di Indonesia diantaranya *Cystoseira*, *Dictyopteris*, *Dictyota*, *Hormophysa*, *Hydroclathrus*, *Padina*, *Sargassum*, dan *Turbinaria*. Beberapa diantaranya telah dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan obat-obatan (Subagio & Sofiandi, 2019). Pada penelitian ini dikhususkan pada alga coklat *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. dengan alasan yang telah disebutkan sebelumnya.

Padina sp. memiliki distribusi yang sangat luas dan dapat ditemukan pada terumbu karang bagian dalam, tengah maupun pada bagian luar (Ansari et al., 2019). Berbagai spesies *Padina* sp. ditemukan di perairan jernih hingga kedalaman 15-20 m. *Padina* sp. tumbuh menempel pada substrat padat atau secara epifit pada beberapa

rumput laut besar seperti *Sargassum* sp. *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. lebih berlimpah selama musim kemarau. *Padina* sp. tersebar dengan baik di seluruh daerah tropis dan sangat mudah dikenali karena kemiripan strukturnya dengan ekor merak (Geraldino et al., 2005). *Padina* sp. secara geografis tersebar di Amerika Selatan dan Asia Tenggara serta daerah tropis hingga perairan beriklim sedang. Ada sekitar 43 spesies *Padina* yang diakui sejauh ini (Subramanian et al., 2015).

Padina mengandung kadar abu yang tinggi (30-48%), karbohidrat (25-39%) dan total serat makanan (27-39% pada basis kering), 5-7% protein, 1,6-1,8% lipid (Subramanian et al., 2015). Asam lemak yang mengandung 14-22 atom karbon juga telah diidentifikasi dari berbagai spesies *Padina* (Kamenarskaa et al., 2002). *Padina* telah dilaporkan mengandung 19 jenis terpen dan 5 jenis sterol (El-Shoubaky & Salem, 2014).

Beberapa spesies *Padina* telah digunakan secara tradisional sebagai sumber makanan di bagian pesisir dunia, umumnya dikenal sebagai manisan seperti gelatin (Mansilla & Avila, 2011). *Padina* juga dilaporkan sebagai pengganti garam untuk pasien tekanan darah tinggi (Robledo & Freile, 1997) dan untuk pengobatan beberapa penyakit lain seperti gondok dan skrofula (Novaczek & Athy, 2001).

Berbagai kegunaan lain *Padina* seperti pada kosmetik untuk perlindungan dari radiasi dan penggunaan farmakologis sebagai antioksidan, antibiotik, antiinflamasi, hipoalergenik, antibakteri, dan antidiabetes (Holdt & Kraan, 2011). Makroalga yang termasuk dalam genus *Padina* menghasilkan senyawa antibakteri yang penting untuk menghambat pertumbuhan berbagai patogen pada manusia dan hewan lainnya. *Padina* memiliki potensi besar untuk menghasilkan senyawa antibakteri baru secara tunggal atau berasosiasi dengan bakteri antagonis (Ismail, 2016). Senyawa antioksidan pada *Padina* diproduksi di jaringan tubuhnya sebagai respon terhadap kondisi lingkungan tempat tinggalnya yang merugikan (Matanjud et al., 2002). Ekstrak *Padina* dapat digunakan untuk pengobatan hepatotoksitas karena bersifat hepatoprotektif, hipolipidemik, antioksidan, dan antiinflamasi (Ahmed et al., 2016).

Aplikasi ekstrak *Padina* menunjukkan kematian hama nimfa yang signifikan. Ekstrak *Padina* juga dapat mengontrol periode kawin, fekunditas dan daya tetas hama. Oleh karena itu penggunaan *Padina* sebagai bioinsektisida ramah lingkungan dapat menjadi alternatif pengendalian hama yang baik untuk melindungi berbagai tanaman ekonomis penting (Asaraja & Sahayaraj, 2013).

Padina juga dapat digunakan sebagai pupuk organik. Ekstrak air *Padina* kaya akan makronutrien seperti nitrogen (N), fosfor (P) dan kalium (K) yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (25). Konsentrasi ekstrak *Padina* yang lebih rendah mempengaruhi tingkat perkecambahan, pembelahan sel dan pola protein, bila diterapkan sebagai biostimulan. Rumput laut dapat dimanfaatkan sebagai pupuk bioorganik ramah lingkungan untuk merangsang pertumbuhan berbagai tanaman ekonomis penting dibandingkan dengan menggunakan pupuk kimia sintesis yang berbahaya bagi lingkungan karena dapat mengalami pembesaran biologis. Penggunaan pertanian modern dalam hubungannya dengan praktik pertanian tradisional adalah solusi berkelanjutan untuk masa depan. Disarankan oleh berbagai pekerja bahwa pupuk cair rumput laut coklat dapat digunakan pada konsentrasi rendah untuk peningkatan perkecambahan biji (El-Sheekh et al., 2016).

Padina telah dilaporkan memiliki potensi penyerapan yang tinggi terhadap berbagai polutan pada biomassa segar dan keringnya. *Padina* merupakan indikator yang baik untuk dinamika dalam berbagai faktor seperti cahaya, suhu, nutrisi dan banyak kontaminan lainnya di lingkungan perairan. *Padina* menunjukkan penurunan laju pertumbuhan spesifik dan kandungan klorofil dengan meningkatnya konsentrasi Cd yang menunjukkan adanya pencemaran Cd. *Padina* secara ekologis penting karena dapat dianggap sebagai indikator biologis untuk pencemaran lingkungan dan dalam remediasi ekosistem laut pesisir (Saleh, 2016).

Sargassum sp. memiliki sebaran yang luas dan bervariasi. Alga jenis ini termasuk tumbuhan yang dominan dan terdistribusi di seluruh perairan Indonesia. *Sargassum* sp. dapat tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu. Pada umumnya *Sargassum* sp. menghuni perairan dangkal dan terumbu karang. Beberapa spesies *Sargassum* di Indonesia yang telah teridentifikasi diantaranya *Sargassum duplicatum*, *S. polycystum*, *S. binder*, *S. crassifolium*, *S. echinocarpum*, *S. mollerii*, *S. gracillimum*, *S. sinereum*, *S. hystri*, *S. siliquosum*, *S. fenitan*, *S. filipendula*, *S. polyceratium*, dan *S. vulgare* yang dapat dibedakan dari bentuk morfologi dengan kadar kandungan bahan utama yang berbeda seperti protein, vitamin C, tanin, dan iodin (Subagio & Sofiandi, 2019).

Komposisi kimia dan pigmen yang terdapat pada alga coklat merupakan hasil dari fotosintesis yang jumlahnya sangat bervariasi, tergantung pada jenis, masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuh. Senyawa kimia terbanyak yang terdapat pada alga coklat adalah alginat, dalam jumlah sedikit terdapat pula laminaran, fukoidon, selulosa, manitol, dan senyawa bioaktif lainnya. *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. memiliki senyawa bioaktif diantaranya alkaloid, saponin, fenol, fukosianin, dan fukosantin (Subagio & Sofiandi, 2019).

Padina sp. dan *Sargassum* sp. mengandung sejumlah senyawa bioaktif terutama polifenol. Senyawa bioaktif tersebut dapat bertindak sebagai antibakteri, antiinflamasi, analgesik, antioksidan, antidiabetes, antikanker, dan inhibitor tirosinase yang potensial (Santoso et al., 2013).

Pigmen karotenoid dari *Sargassum* sp. dapat dijadikan sebagai bahan sediaan obat antibakteri. Jenis pigmen yang teridentifikasi pada ekstrak pigmen total alga coklat *Sargassum polycystum* menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan metode spektrofotometer yaitu β -karoten, feofitin, klorofil a, dan lutein dengan pengembang petroleum eter dan aseton. Jenis pigmen yang ditemukan dari ekstrak hasil pemisahan beda pelarut yaitu β -karoten, xantofil (zeaxantin dan lutein), klorofil a dan klorofil c. Pigmen total dan pigmen ekinenon memiliki aktivitas antibakteri pada 4 bakteri uji dari 15 bakteri yang diujikan yaitu *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella paratiph* dan *Staphylococcus aureus* (Paransa et al., 2015).

Suatu penelitian telah melaporkan bahwa *Sargassum ilicifolium* yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang baik. Hal ini disebabkan oleh ekstrak metanol *Sargassum ilicifolium* mampu menghambat mediator kimia yang berperan dalam proses inflamasi seperti bradikinin (Simpi et al., 2013).

Fukoidan dan fukan sulfat (galaktofukan) yang diekstraksi dari *Sargassum* telah dilaporkan berpotensi dalam proses antiinflamasi karena mampu menghambat

migrasi leukosit ke daerah yang mengalami inflamasi. Selain itu, fukoidan tidak hanya mengurangi IL-1 β dan TNF- α pada kultur sel tetapi turut berperan dalam mengurangi transkrip mRNA dari sitokin proinflamasi (Jaswir & Monsur, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Hong et al. (2011) yaitu percobaan ekstrak *Sargassum* sebagai antipiretik, analgesic dan antiinflamasi pada tikus. Berdasarkan penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum swartzii* secara signifikan meningkatkan waktu reaksi tikus pada plat panas hingga 30 menit pada dosis 500 mg/kg BB dibandingkan dengan sebelum pemberian obat terhadap tikus. Hal tersebut menunjukkan efek analgesik bekerja pada dosis tersebut.

Manfaat dan aplikasi dari senyawa-senyawa yang terkandung pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. untuk bidang obat secara umum telah dipaparkan pada tinjauan sebelumnya. Di samping kegunaan tersebut, senyawa-senyawa pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. juga terdapat dalam bidang kosmetik. Bidang kosmetik yang dimaksud seperti senyawa-senyawa yang dapat berperan untuk melindungi kulit dari paparan radiasi atau biasa disebut tabir surya dan sekaligus sebagai pencerah kulit (Holdt & Kraan, 2011). Salah satu mekanisme tabir surya dan pencerah kulit tersebut adalah inhibitor tirosinase.

1.2.4 Inhibitor Tirosinase

Enzim tirosinase banyak ditemukan pada mamalia, buah-buahan dan juga di dalam proses pencoklatan fungi secara enzimatik (Chang, 2009). Tirosinase yang juga dikenal sebagai polifenol pengoksidase merupakan suatu enzim yang mengandung tembaga dan memiliki campuran fungsi oksidase yang dapat didistribusikan secara luas dalam mikroorganisme, hewan dan tanaman. Tirosinase atau fenol oksidase adalah enzim utama yang terlibat dalam sintesis melanin (Likhitwitayawuid, 2008).

Melanin merupakan pigmen warna pada kulit, rambut, lapisan koroid mata, dan sel-sel tumor tertentu. Pigmen melanin yang diproduksi pada sel melanosit terdiri dari dua jenis, yaitu eumelanin (pigmen coklat-hitam) dan feomelanin (pigmen kuning-merah). Biosintesis melanin terjadi di dalam melanosoma, di bawah pengaruh genetik dan dapat dipengaruhi pula oleh stimulus dari luar seperti sinar matahari. Sintesis ini dikontrol oleh sekumpulan enzim yang disebut dengan *tyrosinase-related proteins* (TRPs) yang terdapat pada membran melanosomal (Likhitwitayawuid, 2008). Pada keadaan normal produksi pigmen melanin stabil, akan tetapi pada keadaan tertentu produksi melanin berubah, misalnya karena terkena sinar matahari, perubahan hormonal, pengaruh rokok, dan alkohol. Produksi melanin yang tidak terkendali dapat pula memicu terjadinya melanoma atau kanker kulit. Proses pembentukan melanin (melanogenesis) pada tubuh manusia dapat direduksi dengan beberapa mekanisme, seperti antioksidan, inhibitor enzim tirosinase dan aktivitas hormonal. Penghambatan yang sesuai terhadap melanogenesis tersebut dapat bermanfaat baik terhadap pencegahan pencoklatan kulit maupun terhadap pencegahan penyakit kanker kulit (Pereira, 2018). Alasan tersebut mendukung dilakukannya eksplorasi tambahan terhadap *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. sebagai bahan baku krim tabir surya atau pencerah kulit.

Inhibitor terhadap enzim tirosinase untuk mengatur metabolisme pigmentasi telah menarik banyak perhatian, diantaranya adalah inhibitor tirosinase yang diperoleh dari senyawa metabolit sekunder pada tumbuh-tumbuhan. Enzim tirosinase mengkatalisis dua reaksi berbeda yang menggunakan oksigen yaitu o-hidrosilasi tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin atau DOPA (o-difenol) yang dikenal dengan nama monofenolase dan oksidasi dari DOPA menjadi dopakuinon (o-kuinon) yang disebut difenolase, sebelum menjadi eumelanin atau feomelanin (Pereira, 2018).

Beberapa senyawa bahan alam seperti kelompok senyawa flavonoid, benzaldehida, turunan benzoat, lemak, steroid rantai panjang, stilben, dan kumarin telah dilaporkan dapat menghambat enzim tirosinase (Chang, 2009). Mekanisme tipe hambatan yang terjadi umumnya mengarah kepada inhibitor kompetitif, dan nonkompetitif, beberapa senyawa dari bahan alam yang dapat menghambat enzim tirosinase diantaranya kuersetin (golongan flavonol), streppogenin (golongan flavanon), dihidromorin (golongan flavanol), calycosin (golongan isoflavon), 2,4,2',4'-tetrahidrokalkon dan likokalkon (golongan kalkon), kloroparin (golongan stilben). Flavonoid mampu menghambat enzim tirosinase karena memiliki kemiripan struktur dengan substrat L-tirosin dan L-DOPA, besarnya kekuatan inhibisi flavonoid dipengaruhi oleh besarnya kekuatan mereduksi/derajat oksidasi dari gugus fungsi hidroksil (OH) dan karbonil (C=O).

Patel et al. (2020) telah merangkum beberapa spesies *Padina* dan *Sargassum* yang memiliki bioaktivitas sebagai inhibitor tirosinase. Spesies-spesies yang telah dilaporkan tersebut seperti, *S. polycystum*, *S. silquastrum*, *S. plagyophyllum*, *P. tenuis*, dan *P. boergesenii*. Mekanisme penghambatan tirosinase dalam upaya menekan produksi melanin pada tubuh manusia seringkali dikaitkan dengan mekanisme antioksidan yang saling bersinergi satu sama lain untuk mencegah pencoklatan pada kulit manusia sehingga inhibitor tirosinase dan antioksidan seringkali menjadi parameter keberhasilan suatu produk pada bidang kosmetik khususnya pada produk tabir surya dan pencerah kulit.

1.2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda bahkan mencegah proses oksidasi atau kerusakan makromolekul lainnya. Makromolekul tersebut merupakan metabolit yang tidak stabil dalam tubuh makhluk hidup, sehingga dengan bantuan antioksidan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif yang seringkali menjadi penyebab proses patofisiologis dan secara tidak langsung antioksidan dapat meningkatkan manfaat kesehatan (Amorati & Valgimigli, 2018). Antioksidan alami terdapat dalam tubuh manusia, akan tetapi produksinya kurang dapat mengimbangi radikal bebas yang harus distabilkan, sehingga diperlukan antioksidan eksogen yang berasal dari makanan dan tanaman obat seperti sayuran, buah-buahan, rempah-rempah, dan obat tradisional (Xu et al., 2017). Senyawa bioaktif yang memiliki efek antioksidan pada makanan dan tanaman obat ditemukan sebagai kelompok senyawa fenolik, flavonoid, karotenoid, dan vitamin (Cömert & Gökmen, 2018).

Antioksidan bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas atau sering disebut *reactive oxygen spesies* (ROS) yang diproduksi secara terus menerus dalam

tubuh manusia. Beberapa contoh ROS yaitu oksigen singlet, superoksida, hidrogen peroksida, peroksinitrit, radikal hidroksil, dan peroksil semuanya berpotensi membahayakan makromolekul penting dalam tubuh manusia (Gulcin, 2020). Produksi ROS yang berlebihan dan tidak terkendali disebut stres oksidatif, yang dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh manusia, seperti perubahan fungsi sel yang terkait dengan beberapa kondisi seperti peradangan kronis, asma, penyakit neurodegeneratif dan kardiovaskular, penuaan dini, serta kanker (Pisoschi & Pop, 2015). Hal tersebutlah yang mendorong peningkatan konsumsi antioksidan melalui makanan dan menjadi pendorong dilakukannya berbagai penelitian terkait pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai senyawa bioaktif yang diekstraksi atau diisolasi dari berbagai makanan dan sumber bahan alam lainnya. Penelitian terkait pengujian antioksidan dilakukan secara sinergis baik *in vitro* maupun *in vivo* serta didukung secara *in silico*. Pengujian antioksidan secara *in vitro* yang umum digunakan yaitu DPPH dan ABTS (Abramović et al., 2018).

1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) dianggap sebagai radikal bebas yang stabil berdasarkan delokalisasi elektronnya yang mencegah molekul mengalami dimerisasi seperti yang terjadi pada sebagian besar radikal bebas lainnya. Konfigurasi tersebut menghasilkan warna ungu dengan pita serapan dalam larutan metanol atau etanol berpusat pada panjang gelombang sekitar 515 nm. Ketika suatu senyawa antioksidan yang dapat menyumbangkan hidrogen dicampur dengan larutan DPPH maka zat tersebut menghasilkan bentuk tereduksi DPPH yang ditandai dengan hilangnya warna ungu menjadi kekuningan hingga jernih. Pada metode DPPH diperoleh nilai IC_{50} yang menunjukkan kemampuan antioksidan suatu sampel. Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas pada pengujian ini yaitu DPPH. Semakin rendah nilai tersebut maka semakin kuat kategori antioksidan suatu sampel dan sebaliknya (Blois, 1958).

2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) didasarkan pada tingkat reduksi kation radikal ABTS dalam media campuran yang cenderung bersifat polar. Konfigurasi kation radikal ABTS menghasilkan warna hijau dengan pita serapan berpusat pada panjang gelombang sekitar 600-800 nm. Ketika suatu senyawa antioksidan yang dapat menyumbangkan elektron dicampur dengan larutan kation radikal ABTS maka zat tersebut menghasilkan bentuk tereduksi kation radikal ABTS yang ditandai dengan hilangnya warna hijau menjadi larutan jernih. Pada metode ABTS diperoleh nilai IC_{50} yang menunjukkan kemampuan antioksidan suatu sampel. Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas pada pengujian ini yaitu ABTS. Semakin rendah nilai tersebut maka semakin kuat kategori antioksidan suatu sampel dan sebaliknya (Nowak et al., 2018).

Metode pengujian antioksidan DPPH dan ABTS merupakan dua metode yang cepat, sederhana, murah, dan banyak digunakan untuk menilai bioaktivitas antioksidan yang dimiliki suatu sampel. Berdasarkan hal tersebut, maka pada penelitian ini digunakan kedua metode tersebut untuk menentukan nilai IC_{50} pada setiap sampel.

Beberapa peneliti telah melaporkan bioaktivitas berbagai spesies *Padina* sebagai antioksidan. Beberapa jenis ekstrak dan senyawa yang telah dilaporkan memiliki bioaktivitas antioksidan tersebut yaitu, ekstrak metanol *P. antillarum* (Chew et

al., 2008), ekstrak dietil eter *P. boergesenii* (Karthikeyan et al., 2010), ekstrak metanol *P. gymnospora* (Chakraborty & Joseph, 2018), ekstrak air (Baliano et al., 2016), ekstrak aseton (Shanmuganathan & Pandima-Devi, 2016), senyawa alginat dari *P. pavonica* (Ammar et al., 2018), ekstrak metanol *P. sanctae-crucis* (Nogueira et al., 2017), dan senyawa fukoidan dari *P. tetrastromatica* (Antony & Chakraborty, 2019).

Beberapa peneliti telah melaporkan bioaktivitas berbagai spesies *Sargassum* sebagai antioksidan. Catarino et al. (2023) telah merangkum berbagai macam spesies *Sargassum* yang telah dilaporkan memiliki bioaktivitas antioksidan seperti, ekstrak metanol 80%, etanol 80% dan air pada *S. acinarium*, ekstrak etanol, etanol 50% dan air pada *S. angustifolium*, *S. aquifolium* dan *S. asperifolium*, *S. boveanum*, ekstrak air dan etanol pada *S. cinctum*, ekstrak etanol, metanol dan air pada *S. coriifolium*, ekstrak etanol pada *S. crassifolium* dan *S. cristaeifolium*, ekstrak etanol, metanol dan etil asetat pada *S. duplicatum*, ekstrak DCM:Metanol (2:1) pada *S. furcatum*, ekstrak metanol 70%, metanol 80% dan metanol pada *S. horneri*, ekstrak etanol 70%, metanol 80% dan air panas pada *S. linearifolium*, ekstrak etanol 70% pada *S. miyabei*, ekstrak metanol 50%, metanol 80%, etanol 80%, aseton 80%, dan air pada *S. muticum*, ekstrak etanol 75% pada *S. naozhouense*, ekstrak etanol, etanol 50% dan air pada *S. oligocystum*, ekstrak etanol 70% pada *S. podocanthum*, ekstrak etanol 70%, etanol, metanol, aseton, kloroform, n-heksana, dan air pada *S. polycystum*, ekstrak etanol 70% pada *S. serrifolium*, ekstrak air dan metanol pada *S. tenerrium*, ekstrak etanol 70% dan metanol pada *S. thunbergii*, ekstrak etanol 70% dan etanol pada *S. vestitum*, ekstrak aseton 70%, aseton, metanol, air, dan air panas pada *S. vulgare*, ekstrak etanol 40%, etanol 60%, etanol, metanol, etil asetat, n-heksana, dan air pada *S. wightii*.

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka masalah yang akan dijawab dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. bagaimana analisis metabolit sekunder khususnya fenolik dan flavonoid pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp?
2. bagaimana potensi bioaktivitas antioksidan, antikanker, antidiabetes, dan inhibitor tirosinase pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp?
3. bagaimana analisis *docking* molekuler bioaktivitas *Padina* sp. dan *Sargassum* sp?
4. bagaimana korelasi antara analisis fenolik dan flavonoid terhadap bioaktivitas antioksidan, antikanker, antidiabetes, dan inhibitor tirosinase pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengekstraksi metabolit sekunder metode maserasi bertingkat menggunakan n-heksana, etil asetat dan metanol, melakukan analisis skrining fitokimia serta menganalisis total fenolik dan flavonoid pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp.
2. menganalisis nilai IC₅₀ antioksidan metode DPPH dan ABTS, LC₅₀ toksisitas metode BSLT, IC₅₀ antidiabetes metode inhibitor α -amilase dan α -glukosidase,

IC₅₀ tirosinase metode inhibitor monofenolase dan difenolase untuk setiap ekstrak *Padina* sp. dan *Sargassum* sp.

3. menganalisis metabolit sekunder metode GC-MS dan menganalisis interaksi antara senyawa bioaktif *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. dengan molekul target bioaktivitas menggunakan metode *docking* molekuler.
4. menentukan korelasi antara hasil analisis fenolik dan flavonoid terhadap bioaktivitas antioksidan, antikanker, antidiabetes, dan inhibitor tirosinase pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan pemahaman yang lebih baik mengenai senyawa bioaktif metabolit sekunder dari rumput laut *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. yang dapat digunakan sebagai bahan dasar analog obat antikanker dan antidiabetes serta bahan dasar krim tabir surya atau pencerah kulit. Sehingga hasil penelitian tersebut dapat dikembangkan dan dimanfaatkan oleh industri obat dan kosmetik dalam negeri untuk membuat produk yang akan mendorong kemandirian bangsa dalam menghasilkan produk farmakologis dan kosmetik dari kelimpahan serta keanekaragaman hayati lokal yang ramah lingkungan dan dapat diperbaharui.

1.6 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup pada penelitian ini adalah pengambilan sampel *Padina* sp. dan *Sargassum* sp., preparasi, ekstraksi, skrining fitokimia, analisis total fenolik dan flavonoid, analisis antioksidan, analisis toksisitas, analisis antidiabetes, analisis inhibitor tirosinase, analisis korelasi fenolik dan flavonoid terhadap bioaktivitas tersebut, analisis GC-MS, serta analisis *docking* molekuler.

1.7 Kebaruan Penelitian

Kebaruan pada penelitian adalah sebagai berikut:

1. analisis korelasi antara total fenolik dan flavonoid terhadap bioaktivitas antioksidan, antikanker, antidiabetes, dan inhibitor tirosinase pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp.
2. analisis *docking* molekuler untuk beberapa senyawa bioaktif pada *Padina* sp. dan *Sargassum* sp terhadap bioaktivitas tertentu.

BAB II

ANTIOKSIDAN EKTSTRAK N-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN METANOL *Padina* sp. DENGAN METODE DPPH

2.1 Abstrak

Padina sp. merupakan rumput laut yang memiliki kelimpahan tinggi di perairan Indonesia, namun pemanfaatan senyawa bioaktifnya belum optimal. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan metabolit sekunder *Padina* sp. di perairan Sulawesi Selatan. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol, kemudian dilanjutkan dengan pemekatan/pengeringan sampel menggunakan metode penguapan. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan uji fitokimia, penentuan kadar fenolik dan flavonoid, serta uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol dari *Padina* sp. mengandung fenolik dan flavonoid dengan kadar 103,04; 124,51; 111,73 mg KE/g sampel dan 1,15; 7,12; 3,63 mg EAG/g sampel. Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut 117,36; 115,71; 116,83 ppm. Nilai IC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. termasuk dalam kategori sedang untuk aktivitas antioksidan.

2.2 Pendahuluan

Rumput laut *Padina* sp. memiliki kelimpahan sebesar 33,33% di perairan Indonesia, namun pemanfaatannya belum optimal. *Padina* sp. mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, steroid, fenolik, flavonoid, dan saponin. Fenolik merupakan metabolit sekunder terbesar yang terdapat pada *Padina* sp. yaitu sebesar 17% sedangkan flavonoid sebesar 2% (Salosso & Yudiana, 2018). Fenolik dan flavonoid memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki berbagai tujuan aplikasi dalam bidang kesehatan dan pengobatan (Junopia et al., 2020).

Senyawa antioksidan fenolik dan flavonoid dapat diekstraksi menggunakan beberapa pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda-beda. Pelarut yang biasanya digunakan untuk mengekstrak fenolik dan flavonoid dalam suatu bahan adalah n-heksana, etil asetat dan metanol (Hidayati et al., 2019). Senyawa antioksidan fenolik dan flavonoid dapat melawan radikal bebas dalam tubuh manusia. Senyawa ini bekerja dengan cara mendonorkan hidrogen atau elektron bebas kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak merusak komponen sel dan secara tidak langsung dapat mencegah kerusakan biologis seperti kanker, diabetes dan penyakit degeneratif lainnya (Al-Enazia et al., 2018). Metode pengujian antioksidan dapat menggunakan metode spektrofotometri. Metode pengujian antioksidan yang paling banyak digunakan adalah metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) karena cepat dan memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi (Shah & Modi, 2015). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar fenolik, kadar flavonoid dan nilai IC_{50} antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol pada *Padina* sp.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Ekstraksi

Rumput laut *Padina* sp. segar yang diperoleh dari pulau Selayar, Sulawesi Selatan dicuci dan dibilas dengan akuades hingga bersih (5 kali pencucian). Kemudian dikeringkan pada suhu kamar. *Padina* sp. yang kering digiling hingga diperoleh serbuk *Padina* sp. Kemudian diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan n-heksana kemudian etil asetat kemudian metanol (5-10 kali maserasi). Kemudian ekstrak disaring dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental/kering n-heksana, etil asetat dan metanol.

2.3.2 Uji Fitokimia

Pada ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, fenolik, flavonoid, dan saponin dengan menggunakan prosedur standar Harborne (Harborne, 1973).

2.3.3 Penentuan Total Fenolik

Penentuan total fenolik dilakukan dengan metode spektrofotometri. Sampel ditimbang sebanyak 0,05 g, kemudian dilarutkan dalam 10 mL akuades panas ($\pm 80^{\circ}\text{C}$). Setelah itu didiamkan selama 10 menit, selanjutnya disaring sehingga diperoleh filtrat sampel dan diencerkan bila diperlukan. Sampel sebanyak 5 mL ditambahkan 0,25 mL pereaksi folin-ciocalteau 50%, kemudian ditambahkan 0,5 mL Na_2CO_3 jenuh, kemudian didiamkan selama 30 menit. Setelah itu, absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum (743 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Asam galat digunakan sebagai standar sedangkan akuades digunakan sebagai blanko (Singleton & Rossi, 1965). Total fenolik dihitung dengan menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva standar asam galat.

2.3.4 Penentuan Total Flavonoid

Penentuan total flavonoid dilakukan dengan metode spektrofotometri. Sampel ditimbang sebanyak 0,02 g, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol. Kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat sampel dan diencerkan jika diperlukan. Sampel sebanyak 0,5 mL ditambahkan ke dalam 3 mL metanol, kemudian ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10% dan 0,2 mL CH_3COOK 1 M. Kemudian volumenya dicukupkan hingga 10 mL dengan menambahkan 6,1 mL akuades. Setelah itu, absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum (434 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kuersetin digunakan sebagai standar sedangkan metanol digunakan sebagai blanko (Chanwitheesuk et al., 2004). Total flavonoid dihitung dengan menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva standar kuersetin.

2.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode Brand-Williams et al. termodifikasi. Sampel ditimbang sebanyak 0,005 g, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol hingga diperoleh konsentrasi sampel 500 ppm. Kemudian sampel 500 ppm dipipet sebanyak 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; dan 0,4 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda untuk variasi konsentrasi 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; dan 40,0 ppm, kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM. Kemudian masing-masing campuran dicukupkan hingga 5 mL dengan metanol. Campuran didiamkan pada suhu ruang dan kondisi gelap selama 30 menit. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (515 nm). 1 mL DPPH + 4 mL metanol digunakan sebagai kontrol sedangkan metanol digunakan sebagai blanko (Brand-Williams et al., 1995). Persentase aktivitas antioksidan atau persentase penghambatan dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (2.1)$$

dimana, A adalah absorbansi. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva antara konsentrasi dan persentase aktivitas antioksidan.

2.4 Hasil dan Pembahasan

2.4.1 Ekstraksi Dan Uji Fitokimia

Proses ekstraksi diawali dengan pencucian dan pembilasan sampel *Padina* sp. menggunakan air mengalir dan aquades untuk menghilangkan pengotor seperti pasir, garam dan kontaminan makro lainnya. Kemudian sampel dikeringkan untuk mengurangi atau menghilangkan air sehingga sampel lebih mudah digiling. Sampel yang berbentuk serbuk akan memudahkan proses ekstraksi karena luas permukaan sampel lebih besar sehingga kontak antara sampel dengan pelarut menjadi lebih maksimal. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi bertingkat sehingga senyawa yang terekstraksi dapat dipisahkan dengan mudah berdasarkan perbedaan kepolarannya. Maserasi diawali dengan menggunakan pelarut nonpolar yaitu n-heksana (10 × 24 jam remaserasi). Filtrat dari masing-masing remaserasi n-heksana yang digabung kemudian disebut maserat n-heksana. Kemudian ampas sampel hasil maserasi n-heksana dikeringkan pada suhu ruang, kemudian maserasi dilanjutkan menggunakan pelarut semipolar yaitu etil asetat (10 × 24 jam remaserasi). Filtrat dari masing-masing remaserasi etil asetat digabungkan kemudian disebut maserat etil asetat. Kemudian ampas sampel dari maserasi etil asetat dikeringkan pada suhu kamar, kemudian maserasi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut semipolar yang cenderung polar yaitu metanol (remaserasi 5 × 24 jam). Filtrat dari masing-masing remaserasi metanol yang digabungkan kemudian disebut maserat metanol. Maserat n-heksana, etil asetat dan metanol kemudian diuapkan hingga kental atau kering sehingga diperoleh ekstrak kering n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. Kemudian dihitung rendemen yang dihasilkan untuk masing-masing ekstrak dan

diperoleh rendemen total sekitar 5,51%. Rendemen masing-masing ekstrak terlihat pada **Tabel 2.1**. Rendemen terendah terdapat pada ekstrak n-heksana yang menunjukkan bahwa senyawa yang bersifat nonpolar pada *Padina* sp. paling sedikit dibandingkan dua ekstrak lainnya, sedangkan rendemen ekstrak etil asetat dan metanol menunjukkan bahwa lebih banyaknya senyawa bersifat semipolar cenderung polar yang terkandung pada *Padina* sp.

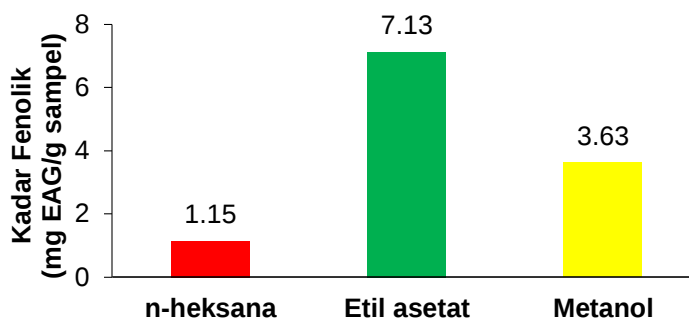
Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. masing-masing diuji fitokimianya untuk mengetahui adanya golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, fenolik, flavonoid, dan saponin. Hasil uji fitokimia masing-masing ekstrak terlihat pada **Tabel 2.1**. Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendorff dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga. Uji flavonoid dilakukan menggunakan pereaksi $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih. Uji steroid dilakukan menggunakan pereaksi Liebermann-Bouchard dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna biru kehijauan. Uji saponin dilakukan dengan menambahkan sedikit akuades ke dalam ekstrak kemudian dikocok kuat-kuat dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang dapat bertahan selama 30 detik. Uji fenolik dilakukan menggunakan pereaksi FeCl_3 dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna hijau (Harborne, 1973).

Table 2.1 Uji fitokimia dan rendemen ekstrak *Padina* sp.

Uji	Hasil		
	n-heksana	Etil asetat	Metanol
Alkaloid	+	+	-
Steroid	+	+	-
Fenolik	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Saponin	-	-	+
Rendemen	0.18%	0.65%	4.68%

2.4.2 Penentuan Total Fenolik

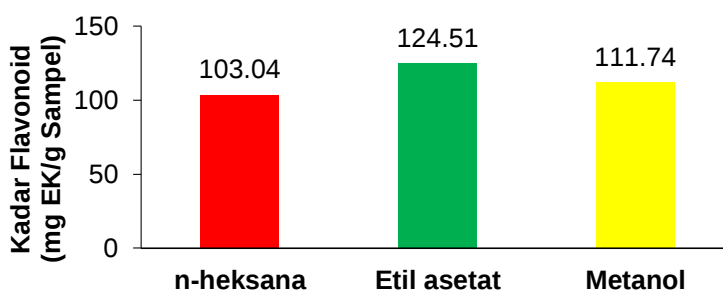
Penentuan total fenolik dilakukan untuk mengetahui korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kadar total fenolik dalam suatu sampel karena senyawa golongan fenolik selama ini telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Huyut et al., 2017). Hasil penentuan kadar total fenolik ekstrak *Padina* sp. terlihat pada **Gambar 2.1**. Total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat kemudian metanol kemudian n-heksana karena senyawa golongan fenolik cenderung bersifat semipolar-polar, sehingga senyawa fenolik lebih banyak terekstrak pada pelarut semipolar-polar yaitu etil asetat dan metanol. Kadar total fenolik pada ekstrak etil asetat lebih tinggi dibandingkan pada metanol karena maserasi yang dilakukan merupakan maserasi bertingkat dan pelarut yang digunakan terlebih dahulu adalah etil asetat, sehingga senyawa fenolik telah terekstrak lebih banyak pada pelarut etil asetat dan sisanya pada pelarut metanol.



Gambar 2.1 Total fenolik ekstrak *Padina* sp.

2.4.3 Penentuan Total Flavonoid

Penentuan total flavonoid dilakukan untuk mengetahui korelasi antara aktivitas antioksidan dengan total flavonoid dalam suatu sampel karena senyawa golongan flavonoid selama ini telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Huyut et al., 2017). Hasil penentuan total flavonoid ekstrak *Padina* sp. terlihat pada **Gambar 2.2**. Total flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat kemudian metanol kemudian n-heksana karena senyawa golongan flavonoid cenderung bersifat semipolar-polar, sehingga senyawa flavonoid lebih banyak terekstrak pada pelarut semipolar-polar yaitu etil asetat dan metanol. Total flavonoid pada ekstrak etil asetat lebih tinggi dibandingkan metanol karena maserasi yang dilakukan merupakan maserasi bertingkat dan pelarut yang digunakan terlebih dahulu adalah etil asetat, sehingga sebagian besar senyawa flavonoid telah terekstrak lebih banyak pada pelarut etil asetat dan sisanya pada pelarut metanol.

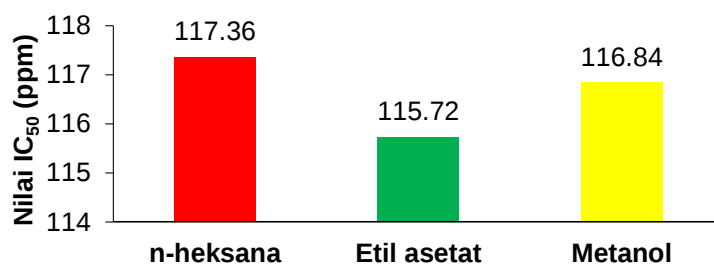


Gambar 2.2 Total flavonoid ekstrak *Padina* sp.

2.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak *Padina* sp. dilakukan menggunakan metode DPPH. DPPH merupakan molekul yang akan menerima hidrogen atau elektron bebas dari substrat atau senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel sehingga menjadi molekul diamagnetik yang stabil. Bentuk DPPH non radikal yang stabil ditandai dengan perubahan warna larutan secara simultan dari ungu menjadi kuning pucat (Junopia et al., 2020). Nilai IC_{50} ekstrak antioksidan *Padina* sp. terlihat pada **Gambar 2.3**. Nilai IC_{50}

antioksidan merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi suatu ekstrak sampel atau senyawa yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Semakin rendah nilai IC_{50} suatu ekstrak sampel atau senyawa, maka semakin kuat aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol *Padina* sp. termasuk dalam kategori antioksidan yang sama, yaitu kategori antioksidan sedang. Urutan nilai IC_{50} dari yang paling rendah adalah ekstrak etil asetat lalu metanol lalu n-heksana. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan metanol lalu n-heksana. Hal ini didukung oleh data uji fitokimia serta data total fenolik dan flavonoid masing-masing ekstrak *Padina* sp. Data total fenolik dan flavonoid juga menunjukkan urutan yang sama terkait kadarnya dari yang tertinggi adalah etil asetat lalu metanol lalu n-heksana. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara total fenolik dan flavonoid dengan bioaktivitas antioksidan suatu sampel. Berdasarkan analisis data-data tersebut dapat disimpulkan bahwa total fenolik dan flavonoid berbanding lurus dengan bioaktivitas antioksidan pada sampel *Padina* sp.



Gambar 2.3 Nilai IC_{50} antioksidan ekstrak *Padina* sp.

2.5 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. mengandung senyawa fenolik dan flavonoid dengan kadar berturut-turut sebesar 1,15; 7,12; 3,63 mg EAG/g sampel dan 103,04; 124,51; 111,73 mg EK/g sampel. Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 117,36; 115,71; 116,83 ppm. Nilai IC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol *Padina* sp. termasuk dalam kategori sedang untuk aktivitas antioksidan.

2.6 Daftar Pustaka

- Al-Enazia, N.M., Amani, S.A., Mohamed, E.Z., Saleh, I.A., 2018. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. Saudi Pharm J. 26(1), 44-52. doi: 10.1016/j.jsps.2017.11.001.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E & Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 28(1), 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Chanwitheesuk, A., Aphiwat, T. & Nuansri, R., 2004. Screening of antioxidant activity

- and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. Elsevier Food Chemistry 92(3), 491-497. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.07.035.
- Harborne, J.B., 1973. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. New York: Chapman and Hall, London.
- Hidayati, J.R., Ervia, Y., Delianis, P., Zaenal, A., & Diah, T.O., 2019. Antioxidant activities, total phenolic compound and pigment contents of tropical *Sargassum* sp. extract, macerated in different solvents polarity. Jurnal Kelautan Tropis 22(1), 73-80. doi: 10.14710/jkt.v22i1.4404.
- Huyut, Z., Şükrü, B. & Elhami, G., 2017. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. Biochem Res Int 7616791, 1-10. doi: 10.1155/2017/7616791.
- Junopia, A.C., Hasnah, N. & Seniwari, D., 2020. Effectiveness of brown algae (*Padina australis*) extract as antioxidant agent. JPCS 1463(1). doi: 10.1088/1742-6596/1463/1/012012.
- Salosso, Y. & Yudiana, J., 2018. Diversity of brown macroalgae in Kupang Bay Waters and alginate content potential and its phytochemistry. AACL Bioflux 11(3), 598-605.
- Shah, P. & Modi, H.A., 2015. Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. IJRASET 3(6), 636-641.
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A.J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic 16, 144-158.