

Aktivitas Antioksidan Bubuk *Sargassum hystrix* Selama Penyimpanan pada Suhu Berbeda

The Effect of Storage Temperature on Antioxidant Activity of *Sargassum hystrix* Powder

Pingkan Mayestika Afgangiani, Amir Husni*, Siti Ari Budhiyanti

Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora Gedung A4, Bulaksumur, Yogyakarta 55281, Indonesia

*Penulis korespondensi: Amir Husni, *E-mail*: a-husni@ugm.ac.id

Tanggal submisi: 19 Januari 2017; Tanggal penerimaan: 7 Mei 2019

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan bubuk *Sargassum hystrix*. Sampel berasal dari Pantai Sepanjang Gunung Kidul, Yogyakarta yang telah dikeringkan dan dibuat dalam bentuk bubuk kemudian diberikan perlakuan penyimpanan yaitu suhu kamar (17-33 °C), pendinginan (4 °C), dan pembekuan (-18 °C) selama 2 bulan dan selanjutnya diuji kadar air, total fenol, aktivitas antioksidan (DPPH dan FIC) setiap 2 minggu sekali, serta analisis senyawa menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) yang dilakukan sebelum dan setelah disimpan selama 2 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar air semakin meningkat seiring dengan lama penyimpanan (8,55-14,27%), sedang total fenol semakin menurun (175,73 mg GAE/g ekstrak menjadi terendah 4,73 mg GAE/g ekstrak). Hasil uji DPPH menunjukkan bahwa *S. hystrix* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 0,45 mg/mL dan pada suhu pendinginan memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu 3,18 mg/mL. Pada pengujian FIC menunjukkan bahwa *S. hystrix* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 1,44 mg/mL dan penyimpanan pada suhu pembekuan memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu 15,36 mg/mL. Hasil analisis GC-MS pada sampel sebelum dilakukan penyimpanan terdeteksi 8 senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, namun setelah disimpan selama 2 bulan, senyawa yang terdeteksi memiliki aktivitas antioksidan pada suhu kamar sebanyak 4 senyawa, pendinginan sebanyak 3 senyawa, dan pembekuan sebanyak 8 senyawa.

Kata kunci: Antioksidan; DPPH; FIC; suhu penyimpanan; *Sargassum hystrix*

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of storage temperature on the antioxidant activity of *Sargassum hystrix*. Samples were collected from Sepanjang Beach Gunung Kidul, Yogyakarta, and dried, pulverized, and then stored for two months at room temperature (17-33 °C), refrigerator (4 °C) and freezer (-18°C). Furthermore, the samples were tested every two weeks to determine their water content, total phenol, DPPH, and FIC. Also, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis was performed for two months before and after storage. The results showed that the water content increased after treatments, along with storage time which ranges from 8.55 to 14.27 %. Total phenol before storage was 175.73 mg GAE/g extract, and freezing has the highest total phenol levels after storage which was 22.07 mg GAE/g extract. Also, DPPH testing showed *S. hystrix* has an IC_{50} value of 0.45 mg/mL, and refrigeration has the lowest IC_{50} value of 3.18 mg/mL. FIC test showed IC_{50} value of 1.44 mg/mL, and freezing has the lowest FIC IC_{50} value of 15.36 mg/mL. In addition, GC-MS sample analysis before storage detected 8 compounds with antioxidant activity of 86.96 %. After two months, they were detected at room temperature, refrigerator, and freezing which are 4, 3, and 8 compounds respectively.

Keywords: Antioxidant; DPPH; FIC; storage temperature; *Sargassum hystrix*

PENDAHULUAN

Dewasa ini telah terjadi perubahan pola hidup dan pola makan di masyarakat sehingga mengakibatkan terjadinya berbagai kasus penyakit sebagai dampak dari terbentuknya radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh (Sen dkk., 2010). Senyawa radikal bebas merupakan salah satu penyebab kerusakan DNA dan juga dapat menyebabkan pemicu kerusakan saraf dan otak, peradangan, pengapuran tulang, gangguan pencernaan, gangguan hati, serta meningkatkan LDL (Khaira, 2010). Oleh sebab itu, tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang diharapkan dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas.

Sudah banyak penelitian mengenai alga sebagai sumber antioksidan. Salah satunya yaitu alga cokelat genus *Sargassum*. Penelitian mengenai antioksidan pada *Sargassum* telah banyak dilakukan seperti *S. duplicatum* (Septiana dan Asnani, 2013), *S. polycystum* (Cahyaningrum dkk., 2016), *S. cristaefolium* (Lailiyah dkk., 2014), *S. siliquastrum* (Kim dkk., 2005), dan *S. vulgare* (Sarojini dkk., 2013). Penelitian Budhiyanti dkk. (2011) menunjukkan bahwa *Sargassum hystrix* dari Gunung Kidul memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari spesies lain.

Senyawa antioksidan pada rumput laut sangat sensitif terhadap suhu dan cahaya. Penelitian Husni dkk. (2014) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan *Sargassum* sp. cenderung menurun seiring meningkatnya suhu dan waktu pengeringan. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh yang besar antara suhu dengan aktivitas senyawa antioksidan. Oleh sebab itu suhu penyimpanan perlu dikontrol dengan baik agar dapat menyimpan rumput laut dengan tetap mempertahankan aktivitas antioksidannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan *S. hystrix*, sehingga akan diketahui suhu yang sesuai untuk menyimpan bubuk *S. hystrix*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan utama yang digunakan yaitu *S. hystrix* dari Pantai Sepanjang Gunung Kidul dipanen pada bulan Januari 2016. Bahan yang lain meliputi etanol (MEDSIS), asam galat, HCl (Merck KGaA, USA), kertas Whatmann, Folin Ciocalteu, Na₂CO₃, DPPH, EDTA, FeCl₂, asam askorbat (Merck KGaA, USA), ferozine (Aldrich, Jerman), dan akuabides.

Alat

Peralatan-peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender (Miyako, Jepang), stirrer, magnet stirrer, gunting, Erlenmeyer (Iwaki Pyrex, Jepang), evaporator, botol kaca, *micropipette*, *96-wellmicroplate*, *microtube* (Eppendorf, Jerman), *vortex*, refrigerator (Sanyo, Jepang), *freeze dryer* (Lyovac GT 2, Jerman), GC-MS Shimadzu (Shimadzu, Jepang), dan *freezer* (Sanyo, Jepang).

Preparasi Sampel

Sampel *S. hystrix* dikeringanginkan hingga kering. Kemudian dipotong kecil-kecil kemudian diblender hingga menjadi bubuk. Sampel dalam bubuk dikemas menggunakan plastik PE dan disegel menggunakan *sealer*. Sebagian sampel diuji kadar air (BSN, 2006), total fenolat (Kang dkk., 2010), aktivitas antioksidan (Zubia dkk., 2009 dan Budhiyanti dkk., 2011) dan analisis senyawa menggunakan GC-MS, sedangkan sampel lain disimpan pada suhu kamar (17-33 °C), refrigerator (4 °C), dan *freezer* (-18,2 °C) selama 2 bulan dan diuji kadar total fenol, aktivitas antioksidan dan analisis senyawa setiap 2 minggu sekali

Ekstraksi Polifenol

Untuk mendapatkan ekstrak polifenol, ekstraksi rumput laut dilakukan menggunakan metode Kang dkk. (2010) yang dimodifikasi pelarutnya. Sampel kering diambil sebanyak 50 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 486,68 mL etanol 96% dengan pH 4 (diatur dengan penambahan HCl 1 N) dan dilakukan pengadukan selama 3 jam. Setelah itu diendapkan selama 96 jam dan disaring dengan kertas Whatmann no 1. Filtrat diambil dan diuapkan dengan *rotary evaporator* (40-60 °C, 150 rpm), lalu dikeringbekukan dan dihitung rendemennya.

Analisis Kandungan Total Fenolat

Kandungan total fenolat dianalisis menggunakan metode Kang dkk. (2010). Kurva standar dibuat dari asam galat dengan konsentrasi 6,2; 12,5; 25; 50; 100; 200 µg/L. Sampel ekstrak diambil sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 1 mL etanol. Masing-masing larutan standar dan ekstrak diambil 10 µL dan dimasukkan ke dalam *microplate* 96 well. Selanjutnya ditambahkan 50 µL Folin Ciocalteu dan diinkubasi 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 40 µL Na₂CO₃ 7,5% dan diinkubasi 2 jam di ruang gelap pada suhu ruang. Lalu ditera dengan ELISA reader pada panjang gelombang 750 nm.

Aktivitas Antioksidan dengan *Radical Scavenging Activity (RSA) DPPH*

Aktivitas antioksidan dengan metode RSA DPPH sebagaimana dijelaskan oleh Zubia dkk. (2009). Ekstrak dibuat variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 mg/mL dan blanko berupa etanol. Selanjutnya, masing-masing konsentrasi diambil 22 µL dan dimasukkan ke *microplate*. Larutan ditambahkan 200 µL DPPH (25 mg/L) dan diinkubasi 2 jam diruang gelap pada suhu ruang dan ditera menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 515 nm. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan Persamaan 1.

$$FIC = \frac{1 - (\text{abs sampel} - \text{abs blanko})}{\text{abs kontrol}} \times 100\% \quad (1)$$

Aktivitas Antioksidan dengan *Ferrous Ion Chelating (FIC)*

Analisis aktivitas antioksidan dengan metode ini sebagaimana dijelaskan oleh Budhiyanti dkk. (2011). Ekstrak dibuat variasi konsentrasi 0,125; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/mL. Masing-masing konsentrasi diambil 1 mL dan ditambah FeCl₂ 2 mM sebanyak 0,05 mL, ferozine 5 mM sebanyak 0,2 mL dan akuabides sebanyak 2,75 mL. Larutan diinkubasi 10 menit dalam ruang gelap pada suhu ruang dan ditera menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 562 nm. Blanko dibuat dari FeCl₂ diganti dengan akuabides dan kontrol negatif dibuat dengan mengganti ekstrak menjadi akuabides. Aktivitas antioksidan dihitung dengan Persamaan 2.

$$FIC = \frac{1 - (\text{abs sampel} - \text{abs blanko})}{\text{abs kontrol}} \times 100\% \quad (2)$$

Analisis Senyawa dengan GC-MS

Analisis senyawa yang ada dalam ekstrak dilakukan dengan menggunakan GC-MS-QP2010S SHIMADZU, dilengkapi kolom AGILENT HP IMS dengan panjang 30 m, ID 0,25 mm, dan film 0,25 µm serta *flame thermionic detector* (FTD). Sampel terlebih dahulu dilarutkan ke dalam pelarut organik sebanyak 50 µL. GC MS dilakukan dengan cara menyuntikan sampel sebanyak 10 µL ke dalam kolom GC MS. Suhu saat injeksi adalah 70°C dan naik sebanyak 10°C tiap menit dengan suhu akhir 320 °C. Gas helium (99,99%) digunakan sebagai gas injeksi dengan kecepatan alir 1 mL/min.

Analisis Data

Data yang didapat akan diolah dengan *analysis of variance* (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Jika hasil menunjukkan beda nyata, dilakukan uji lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT)

untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan (Gomez dan Gomez, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen ekstrak yang dihasilkan selama penyimpanan pada 3 suhu penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1. Rendemen yang didapatkan pada ketiga perlakuan terlihat bahwa ketiganya mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Awal penyimpanan, sampel pada suhu kamar masih dapat mempertahankan rendemennya, namun seiring lama penyimpanan, suhu kamar memiliki rendemen terendah. Menurut Maulida dan Guntarti (2015), nilai rendemen yang tinggi menunjukkan proses ekstraksi senyawa aktif berlangsung efektif. Uji sidik ragam menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh suhu dan waktu penyimpanan dengan rendemen yang dihasilkan. Penyimpanan pada minggu kedua hingga kedelapan menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh antara suhu penyimpanan dengan rendemen ekstrak. Sedangkan uji statistik pada ketiga perlakuan selama penyimpanan terdapat beda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa lama penyimpanan mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Rendemen yang semakin kecil menandakan bahwa terjadi degradasi pada senyawa aktif pada sampel (Pustiari dkk., 2014).

Tabel 1. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap rendemen bubuk *S. hystrix*

Minggu ke-	Rendemen (%) pada suhu		
	Kamar	Pendinginan	Pembekuan
0	3,28 ± 0,3 ^{a,z}	3,28 ± 0,3 ^{a,x}	3,28 ± 0,3 ^{a,y}
2	3,43 ± 1,4 ^{a,y}	2,33 ± 0,2 ^{a,x}	2,06 ± 0,3 ^{a,xy}
4	3,05 ± 0,2 ^{a,y}	2,03 ± 0,2 ^{a,x}	2,55 ± 0,8 ^{a,xy}
6	2,92 ± 0,2 ^{a,y}	5,69 ± 1,2 ^{a,y}	2,60 ± 0,2 ^{a,xy}
8	1,19 ± 0,2 ^{a,x}	1,64 ± 0,1 ^{a,x}	1,38 ± 0,2 ^{a,x}

Keterangan: setiap nilai yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris (a,b,c) dan kolom (x,y,z) menunjukkan tidak beda nyata (α=0,05)

Kadar Air

Hasil pengukuran kadar air selama penyimpanan pada ketiga suhu penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar air *S. hystrix* kering didapatkan sebesar 15,22%. Namun, kadar air yang dihasilkan masih lebih tinggi daripada *S. polycystum* yaitu 2,05% (Cahyaningrum dkk., 2016) dan lebih rendah dari *Padina* sp. yaitu 21,80% (Husni dkk., 2014). Hasil uji

Tabel 2. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kadar air bubuk *S. hystrix*

Minggu ke-	Kadar air (%) pada suhu		
	Kamar	Pendinginan	Pembekuan
0	8,54 ± 0,4 ^{a,w}	8,54 ± 0,4 ^{a,x}	8,54 ± 0,4 ^{a,x}
2	16,18 ± 0,3 ^{b,z}	11,52 ± 0,4 ^{a,y}	16,38 ± 1,1 ^{b,z}
4	13,80 ± 1,8 ^{b,x}	7,53 ± 0,4 ^{a,x}	12,80 ± 1,3 ^{b,y}
6	15,02 ± 0,7 ^{c,yz}	8,8 ± 1,4 ^{a,x}	12,63 ± 0,7 ^{b,y}
8	14,27 ± 0,8 ^{c,xy}	8,55 ± 0,1 ^{a,x}	13,10 ± 0,5 ^{b,y}

Keterangan: setiap nilai yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris (a,b,c) dan kolom (w,x,y,z) menunjukkan tidak beda nyata ($\alpha = 0,05$)

sidik ragam dan pengujian DMRT terlihat bahwa suhu dan waktu penyimpanan memberikan pengaruh pada kadar air sampel bubuk. Hal ini diduga karena pada suhu kamar terjadi proses transpirasi dan penyerapan air di udara oleh sampel dan kenaikan suhu dari tempat penyimpanan menuju tempat analisis kadar air pun cenderung akan memberikan pengaruh berupa penyerapan air, sehingga kadar air meningkat (Asgar dan Rahayu, 2014).

Kadar Total Fenolat

Kandungan total fenolat yang terdapat dalam ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pengujian, dapat diketahui bahwa semakin lama waktu penyimpanan, total fenolat yang terkandung pun menurun. Penurunan yang terjadi yaitu sebesar 170,27 mg GAE/g ekstrak dari sebelum disimpan hingga penyimpanan minggu kedelapan pada suhu kamar, sedangkan pada suhu pendinginan hanya sebesar 162,63 mg GAE/g ekstrak dan suhu pembekuan sebesar

Tabel 3. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kadar total fenolat (mg GAE/g ekstrak) bubuk *S. hystrix* selama penyimpanan 2 bulan

Minggu ke-	Suhu		
	Kamar	Pendinginan	Pembekuan
0	175,73 ± 20,4 ^{a,z}	175,73 ± 20,4 ^{a,z}	175,73 ± 20,4 ^{a,z}
2	62,40 ± 6,9 ^{a,y}	78,73 ± 0,6 ^{a,y}	108,00 ± 22,2 ^{a,y}
4	24,20 ± 3,6 ^{a,x}	54,40 ± 0,4 ^{a,x}	49,70 ± 4,7 ^{a,x}
6	9,80 ± 6,4 ^{a,x}	29,13 ± 9,3 ^{a,x}	22,07 ± 0,1 ^{a,x}
8	4,73 ± 3,7 ^{a,x}	13,10 ± 5,4 ^{a,x}	22,07 ± 2,5 ^{b,x}

Keterangan: setiap nilai yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris (a,b,c) dan kolom (x,y,z) menunjukkan tidak beda nyata ($\alpha = 0,05$)

151,66 mg GAE/g ekstrak. Hal tersebut berlaku pada ketiga suhu penyimpanan yang digunakan. Pengujian sidik ragam dan DMRT menunjukkan bahwa suhu dan waktu penyimpanan memberikan pengaruh pada kadar total fenolat.

Penelitian Reblova (2012) menyebutkan bahwa kenaikan suhu dapat mempengaruhi kadar fenolat dalam bahan. Semakin tinggi suhu penyimpanan, kadar fenolat semakin rendah. Suhu kamar memiliki suhu tertinggi daripada suhu penyimpanan lain (pendinginan dan pembekuan). Penelitian yang dilakukan oleh Nurhayati dkk. (2012) menunjukkan bahwa penyimpanan dapat menyebabkan perubahan pada fenolat sampel. Penyimpanan dengan suhu pembekuan (*freezer*) memiliki kandungan total fenolat tertinggi sampai penyimpanan minggu kedelapan. Penelitian Zavala dkk. (2004) pun menyatakan bahwa penyimpanan strawberi pada suhu pembekuan (0 °C) dapat mempertahankan kandungan senyawa fenolat sampai penyimpanan 13 hari. Penelitian Monica dkk. (2009) menjelaskan bahwa suhu yang tinggi akan merusak ikatan pada senyawa antioksidan (*chain-breaking activity*) sehingga aktivitas antioksidan menjadi menurun akibat ketidakstabilan dalam senyawa.

Analisis Aktivitas Antioksidan

Uji DPPH

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada suatu sampel. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan IC_{50} . IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50 %. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Hasil perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil perhitungan IC_{50} didapatkan bahwa terjadi peningkatan nilai IC_{50} pada semua perlakuan suhu penyimpanan seiring dengan lama waktu penyimpanan. Pengujian sidik ragam dan DMRT menunjukkan bahwa suhu dan waktu penyimpanan memberikan pengaruh pada nilai IC_{50} sampel. Analisis statistika pada ketiga penyimpanan terdapat beda nyata pada setiap 2 minggu pengecekan. Namun, ketiga suhu penyimpanan tidak berbeda nyata sampai penyimpanan minggu keenam. Hal ini menunjukkan bahwa lama penyimpanan pada ketiga suhu penyimpanan selama enam minggu tidak memberikan pengaruh pada aktivitas antioksidan. Setelah disimpan hingga minggu kedelapan, terlihat bahwa adanya beda nyata atau aktivitas antioksidan mengalami penurunan. Hal ini sejalan dengan penelitian

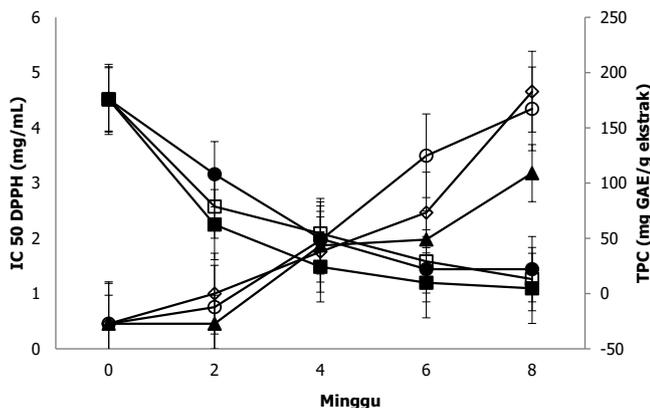
Tabel 4. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap nilai IC₅₀ RSA DPPH (mg/mL) bubuk *S. hystrix* selama penyimpanan 2 bulan

Minggu ke-	Suhu		
	Kamar	Pendinginan	Pembekuan
0	0,45 ± 0,3 ^{b,y}	0,45 ± 0,3 ^{b,xyz}	0,45 ± 0,3 ^{b,xy}
2	0,75 ± 0,2 ^{a,xy}	0,45 ± 0,0 ^{b,xy}	0,99 ± 0,0 ^{ab,x}
4	1,96 ± 0,9 ^{b,y}	1,87 ± 0,1 ^{a,x}	1,76 ± 0,3 ^{a,y}
6	3,49 ± 0,1 ^{b,x}	1,98 ± 0,5 ^{b,z}	2,47 ± 0,2 ^{a,z}
8	4,34 ± 0,9 ^{b,yz}	3,18 ± 0,2 ^{a,yz}	4,65 ± 0,23 ^{b,z}

Keterangan: setiap nilai yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris (a,b,c) dan kolom (x,y,z) menunjukkan tidak beda nyata (α=0,05)

Cuong dkk. (2015) mengenai lama penyimpanan 6 spesies *Sargassum* dari Nhatrang Bay, Vietnam bahwa semakin lama waktu penyimpanan, maka aktivitas antioksidannya semakin menurun. Penelitian Juniarka dkk. (2011) pun menunjukkan bahwa adanya penurunan aktivitas antioksidan pada ekstrak rosella yang disimpan pada suhu 0-5 °C selama 30 hari. Penelitian Monica dkk. (2009) menjelaskan bahwa kerusakan antioksidan akibat suhu tinggi yaitu suhu yang tinggi akan merusak ikatan pada senyawa antioksidan (*chain-breaking activity*) sehingga senyawa antioksidan menjadi menurun akibat ketidakstabilan dalam senyawa.

Hubungan TPC dengan nilai IC₅₀ RSA DPPH dapat dilihat pada Gambar 1. Koefisien determinasi (R²) terlihat memiliki nilai sebesar 0,77 – 0,97, yang berarti bahwa kadar fenolik memiliki pengaruh pada aktivitas antioksidan DPPH sebesar 77,20 – 96,50%. Korelasi



Gambar 1. Kurva hubungan antara kadar total fenolat (■: suhu kamar; □: suhu pendinginan; ●: suhu pembekuan) dengan aktivitas antioksidan (IC₅₀ RSA DPPH= ○: suhu kamar; ▲: suhu pendinginan; ◇: suhu pembekuan) bubuk *Sargassum hystrix* selama penyimpanan

antara kadar total fenol dengan aktivitas antioksidan DPPH ($p < 0,05$) didapatkan bahwa kadar total fenol dengan aktivitas antioksidan DPPH memiliki korelasi yang signifikan, nilai korelasi (R) sebesar 0,79 – 0,81. Nilai korelasi (R) semakin mendekati 1, maka hubungan antara kedua faktor semakin erat. Hal ini menunjukkan bahwa total fenol mempengaruhi aktivitas antioksidan DPPH dengan korelasi antar keduanya yang kuat.

Uji Ferrous Ion Chelating (FIC)

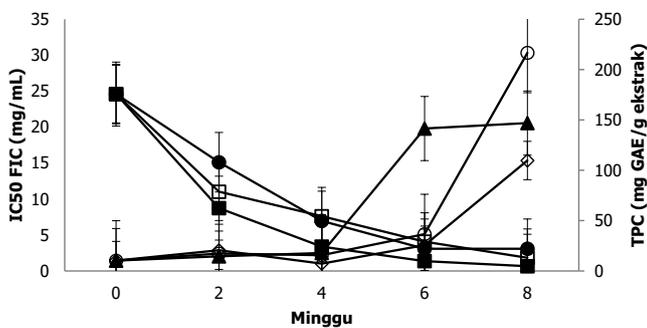
Salah satu mekanisme antioksidatif yaitu pengkelatan logam. Beberapa senyawa pada bahan alami mengandung flavonoid dan fenol yang memiliki kemampuan untuk mengkelat logam Fe⁺ (Ebrahimzadeh dkk., 2008). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian FIC adalah dengan IC₅₀. Nilai IC₅₀ pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil pengujian FIC didapat bahwa nilai IC₅₀ meningkat seiring dengan lama penyimpanan dan hal tersebut terjadi pada ketiga perlakuan suhu penyimpanan. Penyimpanan suhu kamar memiliki nilai IC₅₀ yang tinggi hingga penyimpanan minggu kedelapan. Hasil analisis sidik ragam dan DMRT menunjukkan bahwa adanya pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap nilai IC₅₀ FIC. Analisis statistika pada ketiga penyimpanan terdapat beda nyata pada setiap 2 minggu pengecekan. Namun, pada minggu kedelapan tidak ada beda nyata antar suhu penyimpanan. Analisis statistika pada aktivitas pengkelatan logam pada masing-masing suhu penyimpanan berbeda nyata dengan lama penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan akan berubah seiring dengan lamanya penyimpanan. Suhu tinggi dapat merusak kestabilan antioksidan, sehingga akan menghambat proses pengkelatan logam.

Tabel 5. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀ FIC, mg/mL) bubuk *S. hystrix* selama penyimpanan 2 bulan

Minggu ke-	Suhu		
	Kamar	Pendinginan	Pembekuan
0	1,44 ± 0,2 ^{a,x}	1,44 ± 0,2 ^{a,w}	1,44 ± 0,2 ^{a,x}
2	2,42 ± 0,6 ^{a,x}	2,04 ± 0,8 ^{a,wx}	2,88 ± 0,2 ^{b,y}
4	2,19 ± 1,8 ^{c,x}	2,5 ± 0,07 ^{b,x}	1,02 ± 0,4 ^{a,w}
6	5,13 ± 0,4 ^{b,x}	19,8 ± 0,34 ^{b,z}	3,58 ± 0,9 ^{b,x}
8	30,33 ± 3,6 ^{a,y}	20,56 ± 0,9 ^{a,y}	15,36 ± 2,6 ^{a,w}

Keterangan: setiap nilai yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris (a,b,c) dan kolom (w,x,y,z) menunjukkan tidak beda nyata (α=0,05)



Gambar 2. Kurva hubungan antara kadar total fenolat (■: suhu kamar; □: suhu pendinginan; ●: suhu pembekuan) dengan aktivitas antioksidan (IC₅₀ FIC= ○: suhu kamar; ▲: suhu pendinginan; ◇: suhu pembekuan) bubuk *Sargassum hystrix* selama penyimpanan

Ebrahimzadeh dkk. (2008) mengatakan bahwa kemampuan pengkelatan logam memiliki korelasi langsung dengan komponen aktif seperti total fenol. Hal ini dapat terlihat pada Gambar 2. Koefisien determinasi (R²) terlihat memiliki nilai sebesar 0,57 – 0,88, yang berarti bahwa kadar fenolat memiliki pengaruh pada aktivitas antioksidan FIC sebesar 57,202 – 88,40%. dan sisanya dipengaruhi oleh senyawa lain. Korelasi antara kadar total fenolat dengan aktivitas antioksidan FIC ($p < 0,05$) didapatkan bahwa kadar total fenol dengan aktivitas antioksidan FIC memiliki korelasi yang signifikan, nilai korelasi (R) sebesar 0,49 – 0,73. Nilai korelasi (R) semakin mendekati 1, maka hubungan antara kedua faktor semakin erat. Hal ini menunjukkan bahwa total fenol mempengaruhi aktivitas antioksidan FIC dengan korelasi antar keduanya yang kuat. Hossain dkk. (2014) juga menjelaskan bahwa senyawa fitokimia terutama senyawa fenolik seperti flavonoid, asam fenolat, dan tannin memiliki peran yang sangat penting dalam pengkelatan logam, seperti pada *S. polycystum*, *S. duplicatum*, dan *S. cristaefolium*.

Analisis GC-MS

Hasil analisis *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) menunjukkan bahwa senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan pada ekstrak *S. hystrix* sebelum dilakukan penyimpanan terdapat 10 senyawa yaitu *Hexadecanoic acid*, *Decanoic Acid*, *Palmitic acid*, *Dodecanoic acid*, *9,12-Octadecadienoic acid*, *Tetradecanoic acid*, *Myristic acid*, *Octadecanoic acid*, *9-Octadecenoic acid*, dan *Cis-13-Octadecenoic acid*. Senyawa yang teridentifikasi dan mempunyai aktivitas antioksidan untuk penyimpanan suhu kamar adalah *Hexadecanoic acid*, *Tridecanoic acid*, vitamin E dan *Ethyl oleate*. sedang untuk penyimpanan suhu pendinginan yaitu *Oxirane*, *Octadecanoid acid*,

Hexadecanoic acid dan *Stigmast-5-en-3-ol*. Kemudian senyawa yang teridentifikasi pada penyimpanan dengan suhu pembekuan dan mempunyai aktivitas antioksidan yaitu *Hexadecanoic acid*, *Farnesol*, *Ergosta-5,7,24(28)-trienol*, *Cholesta-4-dien-3-ol*, *Hexadecene*, Vitamin E, *Benzoic acid*, dan *2-Hexyl-1-octanol*. Hal ini menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu beku lebih baik dalam mempertahankan aktivitas antioksidan dibanding suhu dingin maupun suhu kamar. Cao dkk. (2007) melaporkan bahwa penyimpanan suhu 1 °C dapat mempertahankan aktivitas antioksidan lebih baik daripada suhu 20 °C.

KESIMPULAN

Suhu penyimpanan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan bubuk *S. hystrix* ditandai dengan nilai sebelum dan sesudah penyimpanan untuk total fenolat 175,73 ± 20,40 mg GAE/g ekstrak menjadi 4,73 ± 3,70 – 22,07 ± 2,50 mg GAE/g ekstrak, nilai IC₅₀ RSA 0,45 ± 0,25 mg/mL menjadi 3,18 ± 0,20 – 4,65 ± 0,23 mg/mL, nilai IC₅₀ FIC 1,44 ± 0,20 menjadi 15,36 ± 2,60 – 30,33 ± 3,60 mg/mL. Dari analisis GC-MS diperoleh senyawa antioksidan sebelum disimpan sebanyak 10 senyawa dan setelah disimpan delapan minggu pada suhu kamar sebanyak 3 senyawa, suhu pendinginan sebanyak 4 senyawa, dan suhu pembekuan sebanyak 8 senyawa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana berkat dukungan dana dari Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia melalui skim Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang diselenggarakan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada Tahun 2014 dengan Nomor: LPPM-UGM/430/LIT/2014, tanggal 3 Maret 2014.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik atau kepentingan dengan pihak lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Asgar, A., & Rahayu, S.T. (2014). Pengaruh suhu penyimpanan dan waktu pengkondisian untuk mempertahankan kualitas kentang kultivar Margahayu. *Berita Biologi*, 13: 283–293. <http://dx.doi.org/10.14203/beritabiologi.v13i3.672>

- BSN (Badan Standarisasi Nasional). (2006). Cara Uji Kimia-Bagian 2: Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan. SNI-01-2354.2-2006. Standar Nasional Indonesia (SNI).
- Budhiyanti, S.A., Raharjo, S., Marseno, D.W., dan Lelana, I.Y.B. (2011). Free radical scavenging, metal chelating, and singlet oxygen quenching activity of fractionated brown seaweed *Sargassum hystrix* extract. *Journal of Biological Sciences*, 3: 1–11. <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2011.288.298>
- Cahyaningrum, K., Husni, A., & Budhiyanti, S.A. (2016). Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut cokelat (*Sargassum polycystum*). *Agritech*, 36: 137-144. <https://doi.org/10.22146/agritech.12857>
- Cao, S.F., Zheng, Y.H., Yang, Z.F., Li, N., Ma, S.J., Tang, S.S., & Zhang, J.H. (2007). Effects of storage temperature on antioxidant composition and anti-oxidant activity of loquat fruit. *Acta Horticulturae*, 750: 471–47. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.750.75
- Cuong, D.X., Boi, V.N., Van, T.R.T., & Hau, L.N. (2015). Effect of storage time on phlorotannin content and antioxidant activity of six *Sargassum* species from Nathrang Bay, Vietnam. *Journal of Application and Phycology*, 2: 567–572. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0600-y>
- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., & Bekhradnia, A.R. (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 7: 3188–3192. DOI: 10.3923/pjbs.2009.934.938
- Gomez, K.A. & Gomez A.A. (1984). *Statistical Procedures for Agricultural Research*. John Wiley and Sons. Canada.
- Hossain, M.D., Sarwar, M.S., Dewan, S.M.R., Hossain, M.S., Shahid-Ud-Daula, A.F.M. & Islam, M.S. (2014). Investigation of total phenolic content and antioxidant activities of *Azadirachta indica* roots. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4: 97–102.
- Husni, A., Putra, D.R., & Lelana, I.Y.B. (2014). Aktivitas antioksidan *Padina* sp. pada berbagai suhu dan lama pengeringan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 9: 165–173. <http://dx.doi.org/10.15578/jpbkp.v9i2.109>
- Juniarka, I.G.A., Lukitaningsih, E., & Noegrohati, S. (2011). Analisis aktivitas antioksidan dan kandungan antosianin total ekstrak dan liposom kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Majalah Obat Tradisional*, 16: 115–123.
- Kang, C., Jin, Y.B., Lee, H., Cha, M., Sohn, E., Moon, J., Park, C., Chun, S., Jung, E.S., Hong, J.S., Kim, S.B., Kim, J.S., & Kim, E. (2010). Brown alga *Ecklonia cava* attenuates type 1 diabetes by activating AMPK and akt signaling pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.004>
- Khaira, K. (2010). Menangkal radikal bebas dengan antioksidan. *Jurnal Saintek*, 2: 183-187.
- Kim, S., Woo, S., Yun, H., Yum, E., Choi, E., Do, J.R., Jo, J.H., Kim, D., Lee, S., & Lee, T.K. (2005). Total phenolic contents and biological activities of Korean seaweed extracts. *Food Science and Biotechnology*, 14: 798-802
- Lailiyah, A., Adi, T.K., Hakim, A., & Yusnawan, E. (2014). Kapasitas antioksidan dan kandungan total senyawa fenolik ekstrak kasar alga coklat *Sargassum cristaefolium* dari Pantai Sumenep Madura. *Alchemy*, 3: 18–30. DOI: 10.18860/al.v0i0.2902
- Maulida, R., & Guntarti, A. (2015). Pengaruh ukuran partikel beras hitam (*Oryza sativa* L.) terhadap rendemen ekstrak dan kandungan total antosianin. *Pharmaciana*, 5: 9–6. <http://dx.doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2281>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical Diphenyl Picryl Hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.
- Monica, A., Madrau, Piscopo, A., Sanguetti, A.M., Caro, A.D., Poina, M., Romeo, F.V., & Piga, A. (2009). Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of Apricots. *Europe Food Research Technology*, 228: 441–448. DOI: 10.1007/s00217-008-0951-6
- Nurhayati, Siadi, K., & Harjono. (2012). Pengaruh konsentrasi Natrium Benzoat dan lama penyimpanan pada kadar fenolat total pasta tomat. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 1: 159–163.
- Pustiari, P.A., Leliqia, N.P.E., & Wijayanti, N.P.A.D. (2014). Penentuan rendemen antosianin total ekstrak kulit buah Manggis (*Garcinia mangostana*, L) dengan pengeringan oven. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3: 9-12.
- Reblova, Z. (2012). Effect of temperature on the antioxidant activity of phenolic acids. *Czech Journal of Food Science*, 30: 171-177. DOI: 10.17221/57/2011-CJFS
- Sarojini, Y.B., Sujatha, & Lakshinarayana, K. (2013). Total phenol content and antioxidant activities of ethanolic extracts of two marine brown macroalgae. *International Journal of Current Science*, 8: 4–49.
- Sen, S., Raja, C., Sridhar, C., & Reddy, Y.S.R. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3: 91-100.
- Septiana, A.T., & Asnani, A. (2013). Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 14: 79-86. <https://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/view/396/757>
- Zavala, J.F.A., Wang, S.Y., Wang, C.Y., & Agular, G.A.G. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensm.-Wiss. U.-Technology*, 37: 687–695. DOI: 10.1016/j.lwt.2004.03.002
- Zubia, M., Fabre, M.S., Kerjean, V., Lann, K.L., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M., & Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*, 116: 693–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.025>