

Antioxidant activity of Sumbawa red seaweed (*Eucheuma cottonii*) extract and lemon peel (*Citrus limon* L) extract combination

Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa dan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* L)

Dwi Kurniawati Sambodo

Program Studi D3 Farmasi, Stikes Surya Global Yogyakarta
Corresponding author. Email: antarezaman@gmail.com

Abstract

Background: High exposure of free radicals have negative impact on the health and aesthetics of the skin, especially facial skin, especially when directly exposed without any protection. The human body needs antioxidants in sufficient quantities to reduce the negative effects of free radicals. *Eucheuma cottonii* and *Citrus limon* L have potential bioactive compounds as antioxidants.

Objective: This study was conducted to determine the antioxidant activity of combination *Eucheuma cottonii* Sumbawa methanol extract and *Citrus limon* peel methanol extract.

Method: Red seaweed and lemon peel were extracted using maceration method with methanol as solvent. Antioxidant activity test used DPPH method with DPPH color reduction and IC₅₀ parameters.

Results: Methanol extract of EC, CLI, and their combination have antioxidant activity as indicated by the fading color of DPPH solution. The highest IC₅₀ was obtained by methanol extract of lemon peel, and the lowest was achieved by combination 1:2. Combination Index of combination both extract have synergistic effect for 1:1, and 1:2, and intermediate antagonist for 2:1.

Conclusion: The combination of Sumbawa *Eucheuma cottonii* extract and *Citrus limon* L peel extract has antioxidant activity, with a synergistic effect (1:1, 1:2) and intermediate antagonistic effects (2:1).

Keywords : antioxidant activity, *Eucheuma cottonii* L, *Citrus limon* L, DPPH, IC₅₀

Intisari

Latar belakang: Tingginya paparan radikal bebas saat ini berdampak negatif pada kesehatan dan estetika kulit, terutama kulit wajah, terutama saat langsung terpapar tanpa adanya pelindung. Tubuh manusia membutuhkan antioksidan dalam jumlah yang cukup agar dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. *Eucheuma cottonii* dan *Citrus limon* L memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan.

Tujuan: Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol *Eucheuma cottonii* Sumbawa (EMEC) dan ekstrak metanol kulit *Citrus limon* L (EMCL).

Metode: Rumput laut merah dan kulit jeruk lemon dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan parameter peredaman warna DPPH dan IC₅₀.

Hasil: Ekstrak metanol tunggal EC, CL, dan kombinasi EMEC:EMCL memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan memudarnya warna larutan DPPH. IC₅₀ tertinggi diperoleh dari ekstrak tunggal kulit jeruk lemon dan yang terendah dari kombinasi EMEC dan EMCL dengan perbandingan 1:2. *Combination Index* EMECS : EMCLI (1:1; 2:1; 1:2) berturut-turut menunjukkan efek sinergis; antagonis menengah; dan sinergis untuk kombinasi kedua ekstrak tersebut.

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak *Eucheuma cottonii* Sumbawa dan ekstrak metanol *Citrus limon* L memiliki aktivitas antioksidan, yang memiliki efek sinergis dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan efek antagonis menengah dengan perbandingan 2:1.

Kata kunci : aktivitas antioksidan, *Eucheuma cottonii*, *Citrus limon* L, DPPH, IC₅₀

1. Pendahuluan

Tingginya paparan radikal bebas saat ini berdampak negatif pada kesehatan dan estetika kulit, terutama kulit wajah karena langsung terpapar dengan lingkungan tanpa adanya pelindung seperti bagian tubuh lainnya (Winarsi, 2007). Radikal bebas dalam tubuh paling banyak berasal dari oksigen yang disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS), terbentuk karena stress oksidatif dan sangat penting dalam proses penuaan (Wlaschek, *et al.*, 2001). Pada negara maju ataupun berkembang, angka harapan hidup semakin meningkat. Di Amerika Serikat, diperkirakan 31% populasi berusia 55 tahun atau lebih tua pada tahun 2030 (Yaar & Gilchrest, 2007) dan jumlah penduduk usia lanjut akan menjadi dua kali lipat atau tiga kali lipat selama awal kuartal pertama pada abad ke-21 (Smith, *et al.*, 2001). Di Indonesia, menurut data Badan Pusat Statistik, pada periode tahun 2000-2005, angka harapan hidup penduduk Indonesia laki-laki dan perempuan adalah 67,8 tahun, sedangkan pada periode 2020-2025 meningkat menjadi 73,6 tahun (Badan Pusat Statistik, 2012). Hal ini mendorong semakin meningkatnya ketertarikan dan kepedulian orang terhadap usaha-usaha memperlambat proses penuaan (Yaar & Gilchrest, 2007).

Tubuh manusia membutuhkan substansi yang penting yaitu antioksidan dalam jumlah yang cukup agar dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. Antioksidan yang terkandung dalam rumput laut dapat dimanfaatkan untuk menangkal radikal bebas. Rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) mengandung pigmen fotosintesis dan pigmen lainnya yaitu α -karoten, β -karoten, fikofibilin, neoxantin, dan zeaxantin yang memiliki potensi antioksidan. Diketahui bahwa IC_{50} karagenan kappa dari *Eucheuma cottonii* $0,112 \pm 0,003$ mg/mL terhadap radikal superoksida, $0,335 \pm 0,016$ mg/mL terhadap radikal hidroksil, dan $0,323 \pm 0,011$ mg/mL terhadap lipid peroksida (Rocha De Souza, *et al.*, 2007).

Hasil penelitian Chew, *et al.* (2008) juga membuktikan bahwa ekstrak metanol 50% *Eucheuma cottonii* menunjukkan aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar $11,87 \pm 5,7$ mg/mL. Dolorosa, *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa bubuk *Eucheuma cottonii* mengandung vitamin C 15,95 mg/kg dan vitamin E 0,23 mg/kg dengan nilai IC_{50} 130,62 ppm. Jeruk lemon juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung vitamin C, asam sitrat, minyak atsiri, bioflavanoid, polifenol, kumarin, flavanoid, dan minyak-minyak volatil pada kulitnya seperti limonen ($\pm 70\%$), α -terpinen, α -pinen, β -pinen, serta kumarin dan polifenol (Prabajati, *et al.*, 2017). Penelitian Krisnawan, *et al.* (2017) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah lemon Australia (EC_{50} 269,38 bpj) memiliki potensi antioksidan lebih tinggi dari pada lemon lokal (EC_{50} 1002,57 bpj). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol rumput laut merah Sumbawa dan ekstrak kulit buah jeruk lemon dan diharapkan dapat bekerja sinergis dalam menangkal radikal bebas yang bersifat degeneratif dan menyebabkan berbagai masalah kelainan kulit.

2. Metodologi penelitian

2.1 Penyiapan sampel

Rumput laut merah diperoleh dari Kecamatan Moyo Hilir Kabupaten Sumbawa NTB dan lemon diperoleh dari supermarket.

2.2 Ekstraksi rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*)

Sampel *E. cottonii* diperoleh sudah dalam keadaan kering, kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang masih tersisa. Sampel yang akan digunakan dikering anginkan dan dipotong untuk mempermudah proses ekstraksi. Sebanyak 500 gram sampel dimaserasi menggunakan 3 L pelarut metanol sambil diaduk setiap hari selama 5 hari dalam wadah kaca tertutup dan terlindung cahaya matahari. Kemudian sari metanol disaring menggunakan kertas saring dan disimpan sebagai maserat pertama. Residu yang didapatkan diremaserasi dengan pelarut yang sama selama 5 hari sehingga didapatkan maserat kedua. Maserat pertama dan kedua di campur dan diuapkan dengan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental rumput laut (Zulkarya & Hastuti, 2018).

2.3 Ekstraksi kulit buah jeruk lemon

Ekstrak kulit buah diperoleh dengan cara pemisahan kulit dari daging buah, pengeringan kulit buah dengan diangin-anginkan, pengecilan ukuran, pengayakan, kemudian dilakukan ekstraksi dengan cara metode maserasi. Ekstraksi maserasi kinetik dilakukan selama 1 jam dengan pelarut metanol kemudian didiamkan selama 24 jam dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Hasil dari ekstraksi dipisahkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* (Krisnawan, *et al.*, 2017).

2.4 Uji aktivitas antioksidan

Pengujian kualitatif dilakukan menggunakan reaksi warna dengan pembuatan beberapa konsentrasi larutan uji yang akan direaksikan dengan larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dalam metanol yang berwarna ungu. Kemampuan ekstrak meredam radikal bebas DPPH dilihat dari warna larutan yang berubah dari ungu menjadi semakin memudar. Uji kuantitatif metode DPPH dengan metode spektrofotometri visibel menggunakan parameter IC_{50} yaitu konsentrasi yang efektif untuk menghambat atau meredam 50% jumlah radikal bebas. Metode spektrofotometri visibel terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal DPPH dan penentuan waktu reaksi. Kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm yang akan direaksikan dengan larutan DPPH. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dan perhitungan persen peredaman. Dari hasil uji diperoleh persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan persentase peredaman terhadap DPPH, kemudian ditentukan nilai IC_{50} . Analisis aktivitas antioksidan kombinasi kedua ekstrak menggunakan perangkat lunak CompuSyn dengan nilai *Combination Index* sebagai parameter analisis.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Hasil

3.1.1. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan

Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan ekstrak metanol tunggal rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa, ekstrak metanol tunggal kulit jeruk lemon (*Citrus limon* L), kombinasi ekstrak metanol rumput laut merah Sumbawa dan ekstrak metanol kulit jeruk lemon dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2 dilakukan dengan penambahan larutan radikal DPPH ke dalam larutan uji, kemudian dilihat perubahan warna yang terjadi.

3.1.2. Hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan (IC_{50})

Hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan ekstrak metanol tunggal rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa, ekstrak metanol tunggal kulit jeruk lemon (*Citrus limon* L), kombinasi ekstrak metanol rumput laut merah Sumbawa dan ekstrak metanol kulit jeruk lemon dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2 dihasilkan dari pengukuran radikal bebas DPPH dengan spektrofotometer *visible*. Data hasil aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas antioksidan

Kelompok	IC_{50} (ppm)
Ekstrak metanol EC (Tunggal)	942,438
Ekstrak metanol CL (Tunggal)	472,335
Kombinasi ekstrak metanol EC dan CL (1:1)	436,607
Kombinasi ekstrak metanol EC dan CL (2:1)	500,094
Kombinasi ekstrak metanol EC dan CL (1:2)	345,514

Keterangan :

EC : *Eucheuma cottonii*, CL : *Citrus limon* L

3.1.3. Hasil analisis aktivitas antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa dan ekstrak metanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* L) menggunakan perangkat lunak CompuSyn dengan nilai *Combination Index* sebagai parameter analisis. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis aktivitas antioksidan

EMEC : EMCLI	CI	Deskripsi
1 : 1	0,596	Sinergis
2 : 1	1,432	Antagonis menengah
1 : 2	0,469	Sinergis

Keterangan

EMEC : Ekstrak Metanol *Eucheuma cottonii*, EMCL : Ekstrak Metanol *Citrus limon* L, CI : *Combination Index* MMGB

3.2 Pembahasan

Ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak perbandingan konsentrasi ekstrak rumput laut merah (*Eucheuma cottonii*) Sumbawa dan kulit buah jeruk lemon (*Citrus limon* L) dengan variasi konsentrasi berturut-turut sebesar 1:1, 2:1, dan 1:2 dengan uji kualitatif memiliki aktivitas

antioksidan yang dapat dilihat dari semakin berkurangnya warna ungu dari larutan DPPH yang sudah ditambahkan dalam sampel. Hal tersebut terjadi karena adanya reaksi antara atom hidrogen yang lepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning (Handayani, *et al.*, 2018).

Menurut Matuszewska, *et al.* (2018), semakin kecil IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} yaitu konsentrasi larutan uji yang dapat memberikan peredaman peredaman terhadap DPPH sebesar 50%, dimana nilai ini digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan peredaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol tunggal, dan kombinasi EMEC:EMCL (1:1, 2:1, 1:2) memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda satu dengan lainnya. Kombinasi EMEC : EMCL (1:2) memiliki aktivitas antioksidan paling besar sebesar 345,514 ppm, diikuti dengan kombinasi ekstrak 1:1 sebesar 436,607 ppm, ekstrak tunggal CL sebesar 472,335 ppm, kombinasi ekstrak 2:1 sebesar 500,094, sedangkan yang memiliki aktivitas antioksidan paling rendah adalah ekstrak tunggal EC sebesar 942,438 ppm. Hal ini semakin besar konsentrasi CL dalam kombinasi maka semakin besar aktivitas antioksidannya, sebaliknya semakin besar konsentrasi EC dalam kombinasi maka semakin kecil antioksidan yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan perbandingan bahwa CL tunggal memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan EC tunggal.

Berdasarkan analisis aktivitas antioksidan menggunakan perangkat lunak CompuSyn, EMEC dan EMCL (1:1, 1:2) memberikan efek sinergis bila dikombinasikan. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi keduanya meningkatkan aktivitas antioksidan dari salah 1 atau kedua ekstrak yang dikombinasikan. Kombinasi EMEC dan EMCL (1:2) memberikan efek antagonis menengah yang menunjukkan bahwa kombinasi keduanya memberikan efek penurunan antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH. Efek sinergis dan antagonis menengah yang terjadi diduga karena adanya interaksi antara senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Menurut Hidayat, *et al.* (2014), pada tanaman obat selain zat aktif sebagai komponen utama yang paling berpengaruh, masih terdapat senyawa-senyawa sampingan lain yang mungkin dapat mempengaruhi respon yang diharapkan.

4. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak *Eucheuma cottonii* Sumbawa dan ekstrak metanol *Citrus limon* L memiliki aktivitas antioksidan, yang memiliki efek sinergis dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan efek antagonis menengah dengan perbandingan 2:1.

Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada LLDIKTI yang telah membiayai penelitian ini dan STIKES Surya Global Yogyakarta yang telah mendukung penelitian ini.

Daftar pustaka

- Chew, Y. L., Lim, Y. Y., Omar, M., & Khoo, K. S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1067–1072.
- Dolorosa MT, Nurjanah, Purwaningsih S, A. E. dan H. T. (2017). Kandungan senyawa bioaktif bubuk rumput laut *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit. *Jphpi*, 20(3), 633–644.
- Handayani, G. N., Umar, I., & Ismail, I. (2018). Formulasi dan uji efektivitas antioksidan krim ekstrak etanol daun Botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Kesehatan*, 11(2), 86.
- Hidayat, M., Soeng, S., Prahastuti, S., Patricia, T.H. dan Yonathan, K. . (2014). Aktivitas antioksidan dan antitrigliserida ekstrak tunggal kedelai, daun Jati Belanda serta kombinasinya. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*, 16(2), 89–94.
- Krisnawan, A. H., Budiono, R., Sari, D. R., & Salim, W. (2017). Potensi antioksidan ekstrak kulit dan perasan daging buah lemon (*Citrus lemon*) lokal dan impor. *Prosiding seminar nasional 2017 Fakultas Pertanian UMJ "Pertanian dan tanaman herbal berkelanjutan di Indonesia,"* 30–34.
- Matuszewska, A., Jaszek, M., Stefaniuk, D., Ciszewski, T., & Matuszewski, Ł. (2018). Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus *Cerrena unicolor*. *PLoS ONE*, 13(6), 1–14.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(November 2003), 211–219.
- Prabajati, R., Hernawan, I., & Hendarti, H. T. (2017). Effects of citrus limon essential oil (*Citrus limon* L.) on cytomorphometric changes of *Candida albicans*. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 50(1), 43.
- Rocha De Souza, M. C., Marques, C. T., Guerra Dore, C. M., Ferreira Da Silva, F. R., Oliveira Rocha, H. A., & Leite, E. L. (2007). Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 19(2), 153–160.
- Smith, E. S., Fleischer, A. B., & Feldman, S. R. (2001). Demographics of aging and skin disease. *Clinics in Geriatric Medicine*, 17(4), 631–641. [https://doi.org/10.1016/S0749-0690\(05\)70090-2](https://doi.org/10.1016/S0749-0690(05)70090-2)
- Badan Pusat Statistik (2012). Statistik Indonesia 2011.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan alami dan radikal bebas: Potensi dan aplikasi*.
- Wlaschek, M., Tantcheva-poor, I., Naderi, L., Ma, W., Schneider, L. A., Razi-wolf, Z., Schuller, J., Scharffetter-kochanek, K. (2001). Solar UV irradiation and dermal photoaging. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 63(1–3), 41–51.
- Yaar, M., & Gilchrist, B. A. (2007). Photoageing: Mechanism, prevention and therapy. *British Journal of Dermatology*, 157(5), 874–887.
- Zulkarya, L. G., & Hastuti, E. D. (2018). Formulasi sediaan krim ekstrak etanol rumput laut coklat (*Padina australis*) dan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 81–87.