

1  
2 **Aktivitas Antioksidan Rumput Laut Cokelat: Studi Ekstraksi Bertahap**  
3 **dengan Pelarut Polaritas Berbeda**

4  
5 **Antioxidant Activity of Brown Seaweed: a Sequentially Extraction Study with**  
6 **Different Polarity Solvents**

7  
8 Nabilla Dwi, Putri<sup>1</sup>; Abd., Rohim<sup>1,3\*</sup>; Maylina Ilhami, Khurniyati<sup>1</sup>, Daning Kinanti, Sutama<sup>2</sup>; and Safira,  
9 Rahmadina<sup>1</sup>

10  
11 <sup>1</sup> Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Nahdlatul Ulama Pasuruan, Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia

12 <sup>2</sup> Program Studi Teknik Kimia, Universitas Nahdlatul Ulama Pasuruan, Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia

13 <sup>3</sup> Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Institut Teknologi dan Sains Nahdlatul Ulama Pasuruan, Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia

14  
15  
16  
**Abstrak**

*Sargassum cristaefolium* termasuk kelas rumput laut cokelat (*Phaeophyta*) yang tumbuh melimpah di lautan tropis seperti kepulauan Madura, Indonesia. Berbagai bioaktivitas menguntungkan bagi kesehatan telah dipromosikan oleh kandungan rumput laut cokelat. Pada penelitian ini, *Sargassum cristaefolium* diekstraksi total senyawa-senyawa fitokimia potensial antioksidannya dengan pelarut berbeda polaritas. Metode ekstraksi dikerjakan oleh instrumen *Microwave-assisted extraction* (MAE), menggunakan pelarut polaritas rendah (aseton), polaritas menengah (etanol), dan polar (aquades) secara bertahap, berturut-turut. Pengaturan instrumen MAE adalah 1:20 sampel (g) / pelarut (ml), 5 menit, 50 °C, 700 W, 18,0 bar. Residu masing-masing pelarut pada sampel diuapkan terlebih dahulu sebelum diekstraksi bertahap oleh pelarut yang berbeda. Hasil penelitian memperoleh rendemen senyawa fitokimia tertinggi pada hasil ekstraksi polar (2,33±0,11%). Aktivitas antioksidan primer (IC<sub>50</sub>=0,99 ± 0,01 mg/ml) maupun aktivitas antioksidan preventif (IC<sub>50</sub>= 762,82 ± 30,89 ppm) terkuat ditunjukkan oleh hasil ekstraksi polaritas menengah, yang juga itu memiliki kandungan total fenolik tertinggi (9,05 ± 0,18 mg GAE/g). Antioksidan rumput laut cokelat efektif diekstraksi secara menyeluruh melalui metode ekstraksi bertahap, identifikasi senyawa-senyawa bioaktifnya direkomendasikan pada penelitian berikutnya.

**KATA KUNCI:**

Alga laut, Antioksidatif, Ekstraksi, Senyawa fitokimia, Total fenolik

## Abstract

*Sargassum cristaefolium* belongs to the class of brown seaweed (Phaeophyta) grows abundantly in tropical oceans like Madura Island, Indonesia. Various bioactivities with health benefits have been promoted by brown seaweed contents. Present study, *Sargassum cristaefolium* was extracted for its potential antioxidant phytochemicals with solvents in different polarities. The extraction method was worked on by a Microwave-assisted extraction (MAE) instrument, by using low-polarity (acetone), medium-polarity (ethanol), and polar (aquadest) solvents successively in stages. Microwave instrument settings were 1:20 (g/ml), 5 min, 50 °C, 700 W, 18.0 bar. Each solvent residue in the extracted-sample was evaporated first before being extracted with different solvents in stages, sequentially. The result studies obtained the highest phytochemical compounds yield on the polar extraction ( $2.33 \pm 0.11\%$ ). Both the strongest of the primary antioxidant ( $IC_{50} = 0.99 \pm 0.01$  mg/ml) and preventive antioxidant ( $IC_{50} = 762.82 \pm 30.89$  ppm) activities were shown by the medium-polarity extraction, as well as had the highest total phenolic content ( $9.05 \pm 0.18$  mgGAE/g). Brown seaweed antioxidants were effective for extracted thoroughly by sequential extraction method, identification of its bioactive compounds is recommended in further research.

### KEYWORD:

Antioxidative,  
Extraction,  
Marine algae,  
Phytochemicals compounds  
Total phenolic

17

18

## 1. Pendahuluan

Rumput laut cokelat (*Phaeophyta*), seperti *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu sumber daya laut yang kaya kandungan senyawa-senyawa fitokimia bioaktif. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa rumput laut cokelat memiliki banyak manfaat kesehatan, salah satunya sebagai sumber antioksidan alami, yang dapat melindungi tubuh dari penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas. Antioksidan adalah senyawa bioaktif yang dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh, sehingga mencegah kerusakan sel dan jaringan yang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker, penyakit jantung, dan penuaan dini (Nimse dan Pal, 2015). Diantara berbagai jenis rumput laut, rumput laut cokelat (*Phaeophyta*), seperti *Sargassum cristaefolium*, terkenal karena kandungan senyawa-senyawa fitokimia bioaktifnya yang tinggi, termasuk senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan karotenoid, yang berkontribusi pada aktivitas antioksidannya (Ak dan Turker, 2018; Rohim *et al.*, 2019).

Proses ekstraksi senyawa-senyawa fitokimia bioaktif pada rumput laut merupakan langkah penting yang menentukan kuantitas, kualitas, dan bioaktivitas dari senyawa-senyawa bioaktif yang terekstraksi. Penggunaan pelarut dengan polaritas yang berbeda dalam ekstraksi memungkinkan isolasi berbagai senyawa berdasarkan sifat kelarutannya (Lourenço-Lopes *et al.*, 2023), yakni sesuai dengan prinsip polaritas *Like Dissolves Like* (Dobberpuhl *et al.*, 2022). Ekstraksi bertahap dengan pelarut polaritas rendah atau non-polar hingga polar memungkinkan penarikan senyawa-senyawa fitokimia bioaktif secara lebih menyeluruh. Metode ini diharapkan dapat mengoptimalkan hasil ekstraksi dengan mendapatkan rendemen yang lebih tinggi serta bioaktivitas yang lebih menjanjikan.

Berbagai macam teknologi ekstraksi komponen bioaktif dari bahan alam telah umum digunakan seperti maserasi, soxhletasi, refluks, perkolasi dan infusa, bahkan akhir-akhir ini telah diaplikasikan teknologi mutakhir untuk ekstraksi yaitu ultrasonik, *Pulsed Electric Field* (PEF) dan gelombang mikro (Rohim *et al.*, 2024). Teknologi gelombang mikro yang dikenal sebagai *Microwave-assisted extraction* (MAE) dipilih dalam penelitian ini untuk mengekstraksi senyawa-senyawa fitokimia bioaktif pada rumput laut cokelat. Hal ini berlandaskan oleh mekanisme aksi MAE, MAE bekerja dengan gelombang mikro

48 elektromagnetik (300 MHz - 300 GHz) melalui mekanisme *dipolar rotation* dan *ionic*  
49 *conduction*, yang signifikan mendisintegrasi dinding sel sampel dengan waktu singkat, suhu  
50 rendah, kondisi non-UV dan vakum (Bachtler dan Bart, 2021; Hu *et al.*, 2021). Dengan  
51 demikian, ekstraksi cepat, tingkat ekstraksi dan mutu hasil ekstrak tinggi, serta dapat menjaga  
52 efikasi alami senyawa bioaktif dapat tercapai oleh teknologi MAE.

53 Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi total senyawa-senyawa  
54 fitokimia bioaktif pada *Sargassum cristaefolium* secara bertahap dengan pelarut polaritas  
55 berbeda dan dengan menggunakan teknologi MAE. Hasil ekstraksi dievaluasi aktivitas  
56 antioksidannya secara lengkap, dan dianalisis kandungan senyawa-senyawa bioaktif yang  
57 memungkinkan berkontribusi pada aktivitas antioksidan tersebut.

58

## 59 2. Bahan dan Metode

### 60 2.1. Bahan-bahan kimia

61 Aseton, etanol, aquades, methanol,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , *ferrozine*, asam  
62 etilenadiaminatetraasetat (EDTA), ferric klorida, hidrogen peroksida, vitamin C, deoksiribosa,  
63 buffer fosfat pH 7,4, 2-thiobarbituric acid (TBA), asam trikloroasetat, reagen *Folin-Ciocalteu*,  
64 natrium karbonat, dan asam galat dalam *absolute grade* merupakan bahan-bahan kimia yang  
65 digunakan untuk analisis-analisis pada sampel.

66

### 67 2.2. Proses Ekstraksi

68 Bahan utama rumput laut cokelat spesies *Sargassum cristaefolium* dikumpulkan dari  
69 perairan Kepulauan Madura, Indonesia. Rumput laut ini kemudian dibersihkan, dikeringkan,  
70 dan diserbukkan sebelum digunakan dalam proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan  
71 menggunakan instrumen *Microwave-assisted extraction* (MAE) (Lourenço-Lopes *et al.*, 2023).  
72 Ekstraksi bertahap dikerjakan oleh tiga jenis pelarut dengan polaritas berbeda: polaritas  
73 rendah (aseton), polaritas menengah (etanol), dan polar (aquades), berturut-turut. Setiap  
74 tahap ekstraksi oleh masing-masing pelarut dilakukan menggunakan rasio sampel terhadap  
75 pelarut 1:20 (g/ml), suhu 50°C, daya 700 W, tekanan 180 bar, selama 5 menit. Setelah setiap  
76 tahap ekstraksi dilakukan, residu pelarut dalam serbuk rumput laut-yang terekstraksi  
77 diuapkan terlebih dahulu sebelum dilanjutkan ke tahap ekstraksi berikutnya (oleh pelarut  
78 polaritas yang berbeda). Hasil ekstraksi dari masing-masing tahap dibebaskan dari pelarut  
79 menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* untuk mengasikkan ekstrak murni dengan  
80 polaritas rendah, polaritas menengah, dan polar. Masing-masing ekstrak murni tersebut  
81 disimpan dalam *freezer* kulkas ( $\pm -18^\circ\text{C}$ ) hingga digunakan untuk analisis.

82

### 83 2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan Preventif

84 Antioksidan preventif diuji mengikuti metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC) Assay  
85 (Murugan dan Iyer, 2013), yakni yang berdasarkan prinsip reaksi ion  $\text{Fe}^{2+}$  prooksidan dan  
86 *ferrozine*. Sebanyak 2mL (1:1) larutan sampel dan 0,1 mM  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dihomogenkan  
87 dengan divorteks. Kemudian, ditambahkan 1 ml 0,25 mM *ferrozine* dan diinkubasi (10 menit,  
88 suhu ruang, kondisi gelap). Berikutnya, absorbansi diukur pada  $\lambda$  562nm oleh alat  
89 spektrofotometer. Nilai aktivitas antioksidan dihitung dalam  $\text{IC}_{50}$ , yang menyatakan  
90 konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menginaktivasi 50% ion  $\text{Fe}^{2+}$  prooksidan sehingga  
91 mecegah pembentukan radikal bebas primer.

92

#### 2.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan Primer

Aktivitas antioksidan primer yakni kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas, yang dapat diuji menggunakan metode radikal bebas hidroksil (Utami *et al.*, 2021). Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  larutan sampel dalam *96-well plate* ditambahkan dengan beberapa larutan yaitu 150  $\mu\text{L}$  10 mM ferric klorida, 150  $\mu\text{L}$  EDTA 1mM, 150  $\mu\text{L}$  hidrogen peroksida 20 mM, 150  $\mu\text{L}$  vitamin C 1mM, 150  $\mu\text{L}$  deoksiribosa 30 mM dalam buffer fosfat pH 7,4 hingga volume total 3 mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit (37°C). Berikutnya ditambahkan 0,5 mL TBA 1% dan 0,5 mL asam trikloroasetat 5% pada suhu 80°C selama 30 menit. Setelah dingin, absorbansi dibaca pada  $\lambda$  532nm dengan alat *Microplate reader*. Nilai aktivitas antioksidan dihitung dalam  $\text{IC}_{50}$ , yang menyatakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk meredam 50% radikal bebas hidroksil.

#### 2.5. Analisis Kandungan Total Fenolik

Total senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* dapat dianalisis menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Susilo *et al.*, 2023), hasilnya dikalkulasi dalam mg GAE/g (mg *Gallic Acid Equivalent* per gram sampel). Sebanyak 30  $\mu\text{L}$  reagen Folin-Ciocalteu (1,0 N) dan 60  $\mu\text{L}$  sampel dicampur dalam *96-well plate*, lalu diinkubasi 5 menit. Berikutnya, ditambahkan 150  $\mu\text{L}$  larutan natrium karbonat 20% dan diinkubasi 40 menit, suhu ruang, dan kondisi gelap. Absorbansinya diukur menggunakan alat *Microplate Reader* ( $\lambda$  730nm) setelah disentrifugasi selama 8 menit (1600 $\times$ g). Kandungan total fenolik pada sampel dihitung dengan kurva standar *Gallic acid* (mg GAE/g).

#### 2.6. Analisis Statistika

Data kuantitatif dihitung rata-rata dan simpangan bakunya ( $\pm$ ) dari 3 replikasi. Analisis signifikansi data dikerjakan oleh perangkat lunak Minitab 18, dengan analisis varians (ANOVA) dan uji *Tukey* (BNJ) dilakukan pada  $p < 0,05$ .

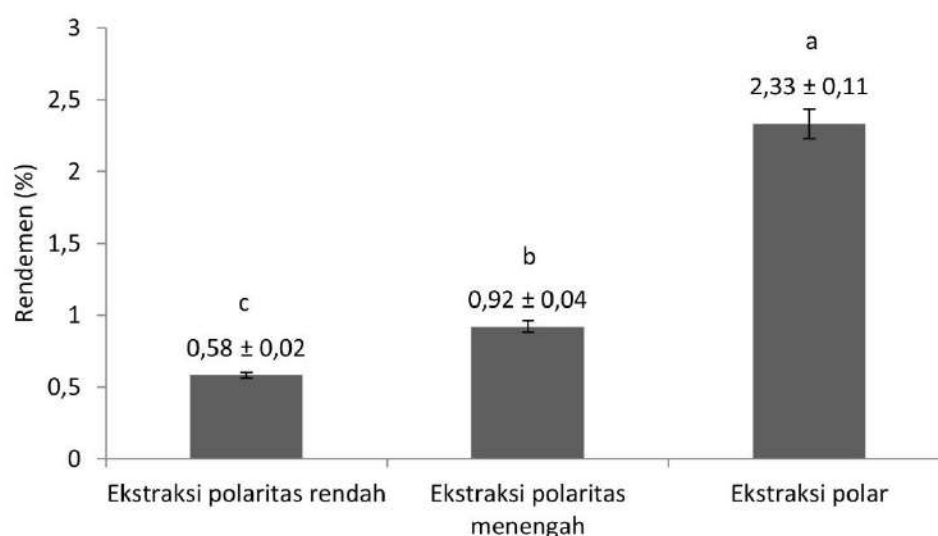
### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Rendemen Hasil Ekstraksi

Proses ekstraksi senyawa-senyawa fitokimia bioaktif dalam *Sargassum cristaefolium* dengan teknologi *Microwave-assisted extraction* (MAE) menggunakan pelarut polaritas berbeda-beda secara bertahap (polaritas rendah, polaritas menengah, dan polar., berturut-turut) menunjukkan variasi rendemen hasil ekstraksinya (Gambar. 1). Rendemen tertinggi signifikan diperoleh dengan hasil ekstraksi polar yang bernilai sebesar 2,33%, diikuti oleh hasil ekstraksi polaritas menengah (0,92%) dan hasil ekstraksi polaritas rendah (0,58%). Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut polar aquades lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa fitokimia polar larut air, terutama senyawa fitokimia golongan hidrokoloid (seperti alginat dan fukoidan) dan polisakarida yang umumnya terdapat dalam jumlah yang lebih besar pada rumput laut cokelat (Indahyani *et al.*, 2019; Lokollo dan Hukubun, 2022).

Sebaliknya, pelarut polaritas menengah hingga non-polar cenderung mengekstraksi senyawa-senyawa fitokimia bioaktif dengan polaritas rendah hingga menengah seperti karotenoid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid. Rendemen yang lebih rendah pada hasil ekstraksi polaritas rendah dan polaritas menengah dapat disebabkan oleh jumlah total senyawa-senyawa fitokimia yang terekstraksinya lebih sedikit, atau oleh karena karakteristik kelarutan senyawa-senyawa fitokimia pada *Sargassum cristaefolium* yang cenderung polar. Hasil ini sejalan dengan hasil eksperimen (Mansur *et al.*, 2019), yang

139 melaporkan bahwa hasil ekstraksi polar cenderung memiliki rendemen lebih tinggi karena  
 140 lebih mampu melarutkan berbagai jenis senyawa-senyawa fitokimia yang lebih polar.  
 141



142 Gambar 1. Rendemen hasil ekstraksi rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* dengan  
 143 pelarut polaritas berbeda-beda, secara bertahap. Nilai rata-rata yang ditandai oleh huruf-  
 144 huruf berbeda menandakan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ).  
 145

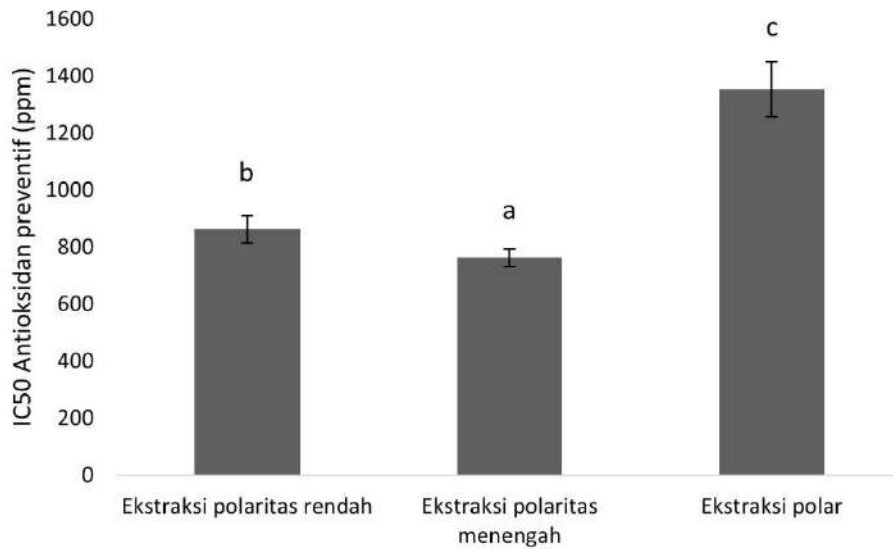
146

### 147 3.2. Aktivitas Antioksidan Preventif

148 Aktivitas antioksidan preventif diukur menggunakan uji kelasi ion  $Fe^{2+}$  prooksidan,  
 149 yang mengindikasikan kemampuan senyawa-senyawa bioaktif untuk mengikat ion logam  
 150 yang berpotensi mengkatalisis reaksi pembentukan radikal bebas (Nimse dan Pal, 2015), atau  
 151 sebagai pencegah terbentuknya radikal bebas.

152 Hasil ekstraksi senyawa-senyawa bioaktif *Sargassum cristaefolium* dengan polaritas  
 153 menengah menunjukkan aktivitas antioksidan preventif terbaik signifikan dengan nilai  $IC_{50}$   
 154 sebesar  $762,82 \pm 30,89$  ppm, diikuti oleh hasil ekstraksi polaritas rendah ( $IC_{50} = 863,38 \pm 47,41$   
 155 ppm) dan hasil ekstraksi polar ( $IC_{50} = 1353,39 \pm 96,38$  ppm) berturut-turut (Gambar. 2).  
 156 Aktivitas pengikatan ion  $Fe^{2+}$  prooksidan yang lebih tinggi pada hasil ekstraksi polaritas  
 157 menengah dapat dikaitkan dengan kehadiran senyawa-senyawa bioaktif tertentu yang  
 158 mampu mengikat ion logam prooksidan, seperti fenolik, flavonoid dan tanin. Senyawa-  
 159 senyawa ini diketahui memiliki afinitas yang kuat terhadap ion logam, sehingga mampu  
 160 mencegah pembentukan radikal bebas melalui reaksi Fenton (Prior *et al.*, 2005). Aktivitas  
 161 antioksidan preventif yang lebih rendah pada hasil ekstraksi polaritas rendah dan polar, ini  
 162 diduga oleh karena kandungan senyawa bioaktif pengikat ion prooksidannya yang lebih  
 163 rendah atau kemampuannya dalam mengkelat ion prooksidan yang lebih lemah. Dengan  
 164 demikian, senyawa-senyawa fitokimia bioaktif dalam *Sargassum cristaefolium* dengan  
 165 aktivitas antioksidan preventif yang lebih kuat dapat lebih banyak terekstraksi oleh pelarut  
 166 polaritas menengah seperti etanol dibandingkan pelarut lainnya.  
 167

168



169  
 170 Gambar 2. Aktivitas antioksidan preventif (kelasi ion  $\text{Fe}^{2+}$  prooksidan) pada hasil ekstraksi  
 171 rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut polaritas berbeda-beda, secara  
 172 bertahap. Nilai rata-rata yang ditandai oleh huruf-huruf berbeda menandakan berbeda  
 173 signifikan ( $p < 0,05$ ).

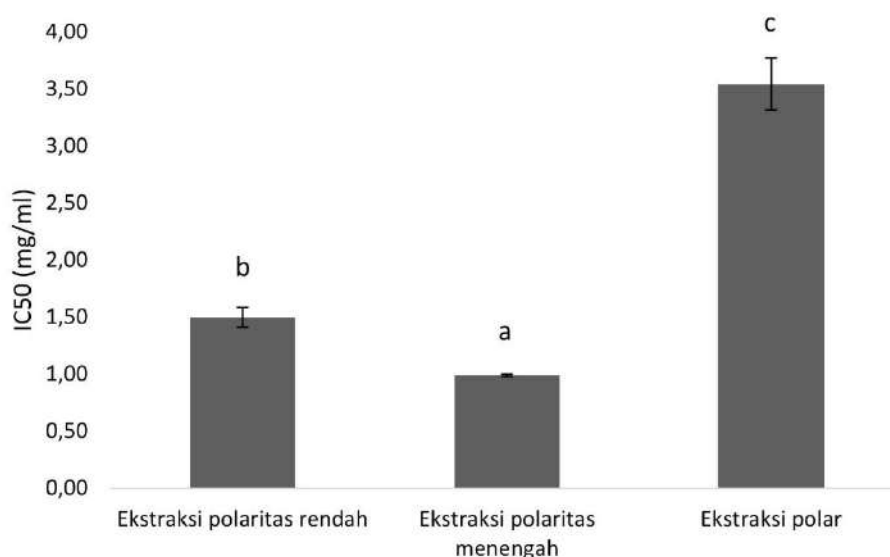
174

### 175 3.3. Aktivitas Antioksidan Primer Terhadap Radikal Bebas Hidroksil

176 Aktivitas antioksidan primer adalah menguji kemampuan senyawa-senyawa fitokimia  
 177 bioaktif dalam meredam radikal bebas, sehingga mencegah terjadinya stress oksidatif yang  
 178 memicu berbagai penyakit serius seperti diabetes, penyakit jantung, penyakit alzheimer,  
 179 kanker, tumor, penyakit Parkinson, dan lain-lain. Dari berbagai jenis radikal bebas yang ada,  
 180 radikal bebas hidroksil merupakan oksidan paling kuat dan dapat mengabstraksi atom  
 181 hidrogen dari setiap ikatan karbon-hidrogen dan mengoksidasi senyawa aktif. Radikal  
 182 hidroksil ini hidroksil merupakan radikal bebas paling reaktif yang telah diketahui karena  
 183 memiliki potensi reduksi 1-elektron tertinggi (+2310 mV), sehingga mampu merusak dengan  
 184 serius sel-sel biologis oleh aktivitas perusakannya yang kuat (Dong *et al.*, 2022). Oleh karena  
 185 itu, hasil ekstraksi *Sargassum cristaefolium* penting untuk dievaluasi kemampuannya dalam  
 186 menstabilkan radikal bebas terkuat yakni radikal hidroksil.

187 Tabel 1, nilai  $\text{IC}_{50}$  aktivitas antioksidan yang lebih rendah menunjukkan kapasitas  
 188 antioksidatifnya yang lebih tinggi. Hasil ekstraksi *Sargassum cristaefolium* dengan polaritas  
 189 menengah menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap radikal hidroksil yang terbaik yaitu  
 190 sebesar  $\text{IC}_{50} = 0,99 \pm 0,01$  mg/ml. Ini berarti bahwa hasil ekstraksi polaritas menengah  
 191 memerlukan konsentrasi yang lebih rendah untuk menstabilkan 50% radikal bebas hidroksil  
 192 dibandingkan dengan hasil ekstraksi lainnya, maka dari itu, aktivitas antioksidannya adalah  
 193 yang terkuat. Hasil ekstraksi polaritas rendah dan polar menunjukkan nilai  $\text{IC}_{50}$  masing-masing  
 194 sebesar  $1,50 \pm 0,09$  mg/ml dan  $3,54 \pm 0,23$  mg/ml, yang mengindikasikan bahwa aktivitas  
 195 antioksidannya terhadap radikal hidroksil adalah lebih rendah dibandingkan hasil ekstraksi  
 196 polaritas menengah. Rendahnya aktivitas antioksidan pada hasil ekstraksi polaritas rendah  
 197 dapat disebabkan oleh rendahnya kandungan senyawa bioaktif dari golongan fenolik, yang  
 198 umumnya memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal yang berlawanan, hasil  
 199 ekstraksi polaritas menengah diasumsikan mengandung senyawa fenolik maupun flavonoid

200 yang lebih tinggi, sehingga dapat berkontribusi terhadap aktivitas antioksidannya yang lebih  
 201 kuat. (Susilo *et al.*, 2023) melaporkan bahwa hasil ekstrak lamun laut *Syringodium isoetifolium*  
 202 yang menunjukkan aktivitas antioksidan terkuat adalah yang memiliki kandungan senyawa-  
 203 senyawa bioaktif terkaya. Dengan demikian, hasil ekstraksi polaritas menengah paling  
 204 potensial sebagai agen antioksidan alami berbahan baku lokal dari rumput laut cokelat  
 205 *Sargassum cristaefolium*.



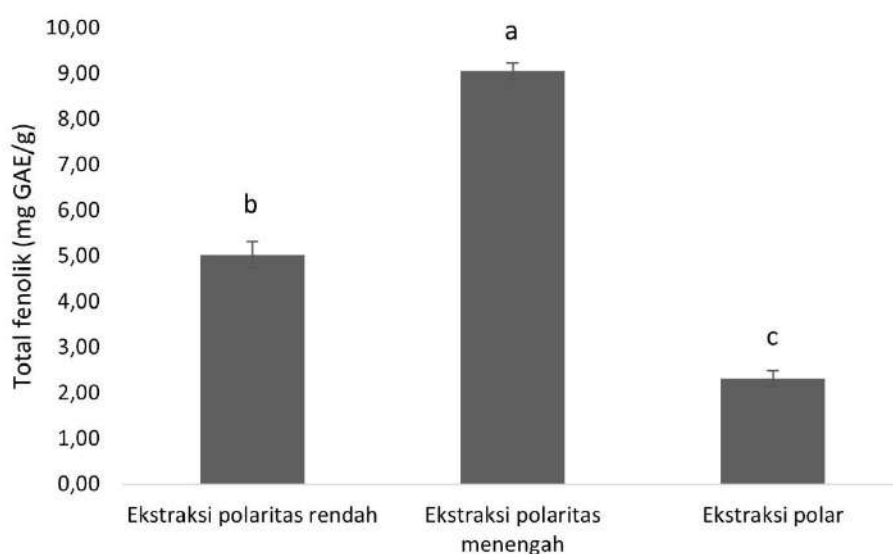
206 Gambar 3. Aktivitas antioksidan primer untuk menstabilkan radikal bebas hidroksil pada hasil  
 207 ekstraksi rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut polaritas berbeda-  
 208 berbeda, secara bertahap. Nilai rata-rata yang ditandai oleh huruf-huruf berbeda menandakan  
 209 berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ).  
 210

#### 211 3.4. Kandungan Total Fenolik

212 Fenolik dikenal sebagai senyawa antioksidan yang efektif, karena kemampuannya  
 213 dalam mendonorkan atom hidrogen dan menstabilkan radikal bebas (Adhikari *et al.*, 2019).  
 214 Senyawa fenolik alami merupakan senyawa yang memiliki karakteristik yaitu cincin aromatik  
 215 yang mengandung sekurang-kurangnya satu gugus hidroksil. Senyawa fenolik yang  
 216 mengandung gugus donor elektron langsung melekat pada cincin aromatik memiliki aktivitas  
 217 antioksidan yang terbaik (Lien *et al.*, 1999). Hasil penelitian ini (Gambar. 4), ekstraksi  
 218 *Sargassum cristaefolium* oleh pelarut polaritas menengah mengandung total fenolik tertinggi  
 219 signifikan ( $9,05 \pm 0,18$  mg GAE/g). Ini konsisten dengan hasil uji aktivitas antioksidan yang  
 220 menunjukkan bahwa ekstraksi polaritas menengah memiliki aktivitas yang paling kuat.  
 221 Kandungan total fenolik pada hasil ekstraksi polaritas rendah yaitu sebesar  $5,02 \pm 0,29$  mg  
 222 GAE/g, sementara hasil ekstraksi polar mengandung total fenolik paling rendah ( $2,31 \pm 0,17$   
 223 mg GAE/g). Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut polaritas menengah lebih efektif dalam  
 224 mengekstraksi senyawa fenolik *Sargassum cristaefolium* yang berperan penting dalam  
 225 aktivitas antioksidan. Hal ini karena menunjukkan korelasi dengan aktivitas antioksidan  
 226 primer maupun antioksidan preventif yang diamati.  
 227

228 Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstraksi secara bertahap menggunakan  
 229 pelarut polaritas berbeda memungkinkan pemisahan komponen bioaktif secara efektif dari  
 230 rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium*. Hasil ekstraksi polaritas menengah  
 231 menunjukkan aktivitas antioksidan terkuat baik dalam uji peredaman radikal hidroksil

232 maupun antioksidan preventif kelasi ion  $\text{Fe}^{2+}$ , yang sejalan dengan tingginya kandungan total  
 233 fenolik.  
 234



235  
 236 Gambar 4. Kandungan total fenolik pada hasil ekstraksi rumput laut cokelat *Sargassum*  
 237 *cristaeifolium* dengan pelarut polaritas berbeda-beda, secara bertahap. Nilai rata-rata yang  
 238 ditandai oleh huruf-huruf berbeda menandakan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ).  
 239

#### 240 4. Kesimpulan

241 Ekstraksi bertahap dengan pelarut polaritas berbeda menggunakan teknologi MAE  
 242 berhasil memisahkan komponen bioaktif rumput laut cokelat *Sargassum cristaeifolium*  
 243 berdasarkan karakteristik kelarutannya. Hasil ekstraksi polaritas menengah memiliki aktivitas  
 244 antioksidan primer dan antioksidan preventif yang terkuat dibandingkan hasil ekstraksi  
 245 polaritas lainnya. Sejalan hal tersebut, ekstraksi polaritas menengah juga mengandung  
 246 senyawa fenolik tertinggi yang berkontribusi penting terhadap aktivitas antioksidatifnya.  
 247 Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk elusidasi struktur molekul antioksidatif secara  
 248 lengkap.  
 249

#### 250 Ucapan Terima Kasih

251 Terimakasih kepada pemberi dana (*funding*) penelitian ini yakni Direktorat Jenderal  
 252 Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia melalui  
 253 skema Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun 2024. Serta terimakasih kepada Laboratorium  
 254 Terpadu Universitas Nahdlatul Ulama Pasuruan untuk pelaksanaan analisis-analisis  
 255 penelitian.  
 256

#### 257 Daftar Pustaka

258 Adhikari, B., Dhungana, S. K., Waqas Ali, M., Adhikari, A., Kim, I. D., & Shin, D. H. (2019).  
 259 Antioxidant activities, polyphenol, flavonoid, and amino acid contents in peanut shell.  
 260 *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(4), 437–442.  
 261 <https://doi.org/10.1016/J.JSSAS.2018.02.004>



- 262 Ak, I., & Turker, G. (2018). Antioxidant activity of five seaweed extracts. *New Knowledge*  
263 *Journal of Science*, 7(2), 149–155.  
264 <https://science.uard.bg/index.php/newknowledge/article/view/374>
- 265 Bachtler, S., & Bart, H. J. (2021). Increase the yield of bioactive compounds from elder bark  
266 and annatto seeds using ultrasound and microwave assisted extraction technologies.  
267 *Food and Bioproducts Processing*, 125, 1–13. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2020.10.009>
- 268 Dobberpuhl, D., Johnson, L., & Mattson, B. (2022). A Colorful Solvent Extraction  
269 Demonstration for Teaching the Concept of “like Dissolves Like.” *Journal of Chemical*  
270 *Education*, 99(9), 3342–3345.  
271 <https://doi.org/10.1021/ACS.JCHEMED.2C00579/ASSET/IMAGES/MEDIUM/ED2C00579>  
272 \_0004.GIF
- 273 Dong, C., Fang, W., Yi, Q., & Zhang, J. (2022). A comprehensive review on reactive oxygen  
274 species (ROS) in advanced oxidation processes (AOPs). *Chemosphere*, 308, 136205.  
275 <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.136205>
- 276 Hu, B., Xi, X., Li, H., Qin, Y., Li, C., Zhang, Z., Liu, Y., Zhang, Q., Liu, A., Liu, S., & Luo, Q. (2021).  
277 A comparison of extraction yield, quality and thermal properties from *Sapindus*  
278 *mukorossi* seed oil between microwave assisted extraction and Soxhlet extraction.  
279 *Industrial Crops and Products*, 161, 113185.  
280 <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.113185>
- 281 Indahyani, D. E., Praharani, D., Barid, I., & Handayani, A. T. W. (2019). Aktivitas Antioksidan  
282 dan Total Polisakarida Ekstrak Rumput Laut Merah, Hijau dan Coklat dari Pantai Jangkar  
283 Situbondo. *STOMATOGNATIC - Jurnal Kedokteran Gigi*, 16(2), 64–69.  
284 <https://doi.org/10.19184/STOMA.V16I2.23094>
- 285 Lien, E. J., Ren, S., Bui, H. H., & Wang, R. (1999). Quantitative structure-activity relationship  
286 analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3–4), 285–294.  
287 [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00190-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00190-7)
- 288 Lokollo, F. F., & Hukubun, R. D. (2022). JENIS ALGA COKLAT PENGHASIL ALGINAT DI PULAU  
289 AMBON. *Jurnal Laut Pulau: Hasil Penelitian Kelautan*, 1(1), 1–10.  
290 <https://doi.org/10.30598/JLPVOL1ISS1PP1-10>
- 291 Lourenço-Lopes, C., Carreira-Casais, A., Carperna, M., Barral-Martinez, M., Chamorro, F.,  
292 Jiménez-López, C., Cassani, L., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2023). Emerging  
293 Technologies to Extract Fucoxanthin from *Undaria pinnatifida*: Microwave vs. Ultrasound  
294 Assisted Extractions. *Marine Drugs* 2023, Vol. 21, Page 282, 21(5), 282.  
295 <https://doi.org/10.3390/MD21050282>
- 296 Mansur, A. R., Song, N. E., Jang, H. W., Lim, T. G., Yoo, M., & Nam, T. G. (2019). Optimizing the  
297 ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of flavonoids in common  
298 buckwheat sprouts. *Food Chemistry*, 293, 438–445.  
299 <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.05.003>
- 300 Murugan, K., & Iyer, V. V. (2013). Differential growth inhibition of cancer cell lines and  
301 antioxidant activity of extracts of red, brown, and green marine algae. *In Vitro Cellular*  
302 *and Developmental Biology - Animal*, 49(5), 324–334. [https://doi.org/10.1007/S11626-](https://doi.org/10.1007/S11626-013-9603-7/FIGURES/4)  
303 [013-9603-7/FIGURES/4](https://doi.org/10.1007/S11626-013-9603-7/FIGURES/4)
- 304 Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction  
305 mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>
- 306 Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of  
307 Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of*

- 308        *Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.  
309        <https://doi.org/10.1021/JF0502698>
- 310        Rohim, A., -, Y., & Estiasih, T. (2019). Senyawa-senyawa bioaktif pada rumput laut cokelat  
311        *sargassum sp.*: Ulasan ilmiah. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 20(2), 115–126.  
312        <https://doi.org/10.21776/UB.JTP.2019.020.02.5>
- 313        Rohim, A., Estiasih, T., Susilo, B., & Nisa, F. C. (2024). Extraction of healthy oils from fish viscera  
314        by conventional and advanced technologies. *Grasas y Aceites*, 75(2), 1999–1999.  
315        <https://doi.org/10.3989/GYA.0751231.1999>
- 316        Susilo, B., Filayati, M. A. J., Hermanto, M. B., Damayanti, R., Yurisdanto, A. A., & Rohim, Abd.  
317        (2023). Dehumidifier drying of seagrass *simplicia* at low temperature for antioxidant and  
318        phenolic preservation. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 9–22.  
319        <https://doi.org/10.21776/UB.JTP.2023.024.01.2>
- 320        Susilo, B., Setyawan, H. Y., Prianti, D. D., Handayani, M. L. W., & Rohim, A. (2023). Extraction  
321        of bioactive components on Indonesian seagrass (*Syringodium isoetifolium*) using green  
322        emerging technology. *Food Science and Technology*, 43, e086722.  
323        <https://doi.org/10.1590/FST.086722>
- 324        Utami, J. P., Wasiaturrahmah, Y., & Putri, D. K. T. (2021). Hydroxyl Radical Scavenging Activity  
325        of *Stachytarpheta jamaecensis* Root Extract using In Vitro Deoxyribose Degradation  
326        Assay. *Majalah Obat Tradisional*, 26(2), 103–110. <https://doi.org/10.22146/MOT.61746>  
327