

# Studi Pencegahan Penuaan Dini Kulit Dari Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Padina Australis*) Hauck Melalui Penghambatan Aktivitas Enzim Kolagenase

Wirasti<sup>1</sup>, Slamet<sup>2</sup>, Khusna Santika Rahmasari<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Progam Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan (UMPP), Jl. Raya Ambo kembang No 8 Pekalongan Jawa Tengah Indonesia  
Email: [wirasti.kharis@gmail.com](mailto:wirasti.kharis@gmail.com)

## Abstract

One of the causes of anti aging of the skin is a decrease in the amount of collagen due to excessive activity of the collagenase enzyme due to intrinsic and extrinsic influences so that the skin becomes dull, dry, and rough. One of the causes of extrinsic factors that often occurs is exposure to UV rays. For this, compounds from natural ingredients are needed, especially Brown Seaweed *Padina australis* Hauck, which contains carotenoids as antioxidant compounds and reduces the activity of premature skin aging by inhibiting the activity of the collagenase enzyme.

This research aimed to test *Padina australis* Hauck extract as an inhibitor of collagenase enzyme activity and antioxidants. The research stages include (1) taking samples of *Padina australis* brown seaweed at Gunung Kidul Beach, Yogyakarta, (2) sample preparation, namely washing, drying, and baking powder), (3) making extracts using the maceration method using ethanol solvent and evaporating into a thick extract, (4) Testing the activity of the extract against the collagenase enzyme using a colorimetric method using a microplate rider, (5) analyzing the fucoxanthin compound content compared to the fucoxanthin standard using HPLC, (6) Testing *Padina australis* extract for antioxidants using the BCB method, (6) Data analysis, Results The research obtained was dry *simplicia* with a water content of 6.58%. The yield of the thick extract produced was 6.56%. The level of fucoxanthin contained in the extract is 46.4185 mg/1000 grams of extract, the inhibition of collagenase enzyme activity 50% (IC<sub>50</sub>) is 68.81 µg/mL, and the antioxidant power of the extract using the Beta Caroten Bleaching (BCB) method is (25.75 ± 4.40) µg /mL higher than IC<sub>50</sub> BHT by (12.06 ± 1.78) µg /mL. This research concludes that *Padina australis* extract has strong inhibitory power against the activity of the Collagenase enzyme and the antioxidant power of the BCB method is in the very strong category.

**Keywords:** Brown Seaweed, *Padina australis*, Early Aging, Collagenase Enzyme, Inhibition

## Abstrak

Penuaan dini kulit salah satunya disebabkan menurunnya jumlah kolagen akibat aktivitas enzim kolagenase yang berlebihan dikarenakan pengaruh intrinsik dan ekstrinsik, sehingga kulit menjadi kusam, kering, dan terasa kasar. Salah satu penyebab faktor ekstrinsik yang sering terjadi disebabkan karena paparan sinar UV. Untuk hal tersebut diperlukan senyawa dari bahan alam khususnya Rumput Laut Coklat *Padina australis* Hauck yang mengandung karotenoid sebagai senyawa antioksidan dan menurunkan aktivitas penuaan dini kulit melalui penghambatan aktivitas enzim kolagenase. Tujuan penelitian ini adalah menguji ekstrak *Padina australis* Hauck sebagai penghambat aktivitas enzim kolagenase dan antioksidan. Tahapan penelitian meliputi (1) pengambilan sampel rumput laut coklat *Padina australis* di Pantai Gunung Kidul Yogyakarta, (2) Preparasi sampel yaitu pencucian, pengeringan dan pembuatan serbuk), (3) pembuatan ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan penguapan menjadi ekstrak kental, (4) Pengujian aktivitas ekstrak terhadap enzim kolagenase metode kolorimetri menggunakan microplate rider, (5) analisis kandungan senyawa fukosantin dibandingkan dengan standar fukosantin menggunakan HPLC, (6) Pengujian ekstrak *Padina australis* terhadap antioksidan menggunakan metode BCB, (6) Analisis data, Hasil penelitian yang diperoleh adalah *simplicia* kering dengan kadar air 6,58%. Rendemen ekstrak kental yang dihasilkan sebesar 6,56%. Kadar yang telah fukosantin yang terdapat dalam ekstrak adalah 46,4185 mg/1000 gram ekstrak, penghambatan aktivitas enzim kolagenase 50% (IC<sub>50</sub>) sebesar 68,81 µg/mL, serta besarnya daya antioksidan ekstrak menggunakan metode *Beta Caroten Bleaching* (BCB) adalah (25,75±4,40) µg/mL lebih tinggi dibandingkan IC<sub>50</sub> BHT sebesar (12,06±1,78) µg/mL. Kesimpulan penelitian ini bahwa ekstrak *Padina australis* mempunyai daya penghambatan terhadap aktivitas enzim Kolagenase kuat dan daya antioksidan metode BCB kategori sangat kuat.

**Kata Kunci:** Rumput laut coklat, *Padina caustralis*, Penuaan dini, Enzim kolagenase, Penghambatan

## 1. PENDAHULUAN

*Aging* atau penuaan dini salah satu ditandai adanya pengerutan kulit (wrinkle)(Chen *et al.*, 2021) Wrinkle disebabkan oleh radikal bebas yang menyebabkan berbagai kerusakan pada kulit, seperti kerusakan enzim-enzim yang bekerja mempertahankan fungsi sel, kerusakan protein dan asam amino yang merupakan struktur utama kolagen dan elastin (2)(3). Karena itu serat-seratnya menjadi kaku, tidak lentur dan kehilangan elastisitasnya (2). Bahan kimia alami seperti golongan terpen terutama karotenoid dari rumput laut coklat terbukti efektif (4) dan memiliki efek jangka panjang yang bermanfaat terutama terhadap kerusakan pada kulit yang dihasilkan oleh radikal bebas sinar UV(5), walaupun masih terbatas penelitiannya. Beberapa penelitian rumput laut coklat telah dilakukan antara lain oleh : (6) menemukan bahwa Fukosantin merupakan karotenoid laut terbesar terdapat pada *brown algae* (rumput laut coklat), seperti *Undaria pinnatifida* atau *Laminaria japonica*, dan *Hijikia fusiformis*, dan Sreekala *et al* (7) menemukannya pada *Padina australis*, *Hormophysa triquetra*, *Turbinaria decurrens*. Sedangkan, Nurrochmad *et al* (8) meneliti ekstrak dan fraksi dari *Turbinaria decurrens* Bory sebagai antioksidan dengan nilai  $63,75 \pm 4,087 \mu\text{g/mL}$  dan dan penghambatan terhadap enzim kolagenase sebesar  $96,22 \pm 1,22\%$ . Dikarenakan hal tersebut diatas maka peneliti menyusun rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimanakah nilai penghambatan aktivitas ekstrak *Padina australis* Hauck terhadap enzim kolagenase dan berapakah nilai penghambatan 50% (IC50) sebagai antioksidan ekstrak rumput laut coklat *Padina australis* Hauck dengan metode Beta Caroten Beacing (BCB)

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas, vial atau botol kaca, kain saring, *vacum rotary evaporator* (HEIDOLP), mikropipet, cawan porselen, penangas air, oven, inkubator dan *Microplate rider*

(SHIMADZU). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rumput Laut Coklat *Padina australis*, etanol pa, Kit enzim kolagenase, BHT, Beta caroten twen, kloroform, asam oleat, DMSO, Metanol pa.

### 2.2. Pengambilan Sampel

Rumput laut coklat *Padina australis* Hauck diperoleh dari sepanjang Pantai Gunung Kidul Yogyakarta. Pengambilan dilakukan ketika air laut surut pada waktu malam hari pukul 20.00 – 03.00 dan pukul 09.00 – 11.00 WIB. Selajutnya dilakukan identifikasi tanaman.

### 2.3. Preparasi Sampel

*Padina australis* Hauck yang telah di panen dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan bahan organik asing. Sampel segera di bersihkan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan garam. Rumput laut yang telah bersih segera di keringkan menggunakan oven suhu  $40-50^{\circ}\text{C}$  sampai kering. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan dengan cara di haluskan menggunakan blender, diayak dengan pengayak nomor MESH 40.

### 2.4. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 500 g sampel masing-masing dimaserasi dengan etanol pa sebanyak 2,5 liter selama 7 hari dengan minimal 3 kali pengadukan setiap harinya. Setelah itu larutan disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Ampas diremaserasi menggunakan pelarut yang sama sebanyak 500 mL. Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$ . Ekstrak cair hasil evaporasi kemudian diuapkan kembali dengan menggunakan oven pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  untuk mendapatkan ekstrak kental

### 2.5. Analisis Kandungan Senyawa menggunakan HPLC

Setelah penyaringan dengan membran filter ukuran  $0,45 \mu\text{m}$ , sampel ( $20 \mu\text{L}$ ) diinjeksikan ke HPLC merk Hitachi L2420 Elite LaChrom, detektor yang digunakan adalah UV-Vis Detector L2420, fase diam

5C18-MS-H, ukuran kolom 4.6 ID X 250 mm, Fase gerak menggunakan asetonitril-metanol, laju alir 1 mL/menit, dan suhu kolom 30°C. Fukosantin dideteksi pada panjang gelombang 450 nm.

## 2.6. Pengujian Aktivitas Penghambatan Ekstrak Terhadap Enzim Kolagenase

Dua puluh mikroliter (20 µl) ekstrak etanol *Padina australis* dilarutkan dengan 50 µl larutan bufer (50 mM HEPES, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 0,05% Brij-35 dan 1 mM DTNB dalam DMSO). Dua puluh mikroliter (20 µl) enzim MMP-1 (*E.coli* recombinant human MMP-1 catalytic domain, 153 mU/ µl) ditambahkan pada masing-masing sumuran (*well*) untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kontrol inhibitor, NNGH (*N-isobutyl-N-(4-methoxyphenylsulfonyl)glycylhydroxamic acid*, 1,3 µM) digunakan sebagai pembanding. Substrat (*thiopeptide*, *Ac-PLG-[2-mercapto-4-methyl-pentanoyl]-LG-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>*, 100 µM) sebanyak 10 µl ditambahkan pada masing-masing sumuran (*well*) dan diukur absorbansinya pada 410 nm setelah 10 menit. Untuk kedua protokol diatas, kemiringan aktivitas untuk sampel diuji terhadap kontrol (tanpa sampel) dihitung dalam persen dan penghambatan persentase yang diperoleh mengurangi nilai konsentrasi 100. Penghambatan 50% (IC<sub>50</sub>) adalah konsentrasi yang diuji sampel yang dapat menghambat aktivitas enzim sebesar 50%.

## 2.7. Pengujian Ekstrak *Padina australis* sebagai Antioksidan Metode BCB

Dua ratus mikroliter (200µl) larutan beta karoten ditambahkan 20µl ekstrak dicampur kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C. Absorbansi diukur selama 120 menit setiap interval 30 menit pada panjang gelombang 450 nm. Jumlah persentase aktivitas antioksidan dihitung dari perbedaan kecepatan degradasi sampel dengan kontrol. Konsentrasi efektif 50% (IC<sub>50</sub>) diketahui dari kemampuan sampel untuk melindungi larutan beta karoten dari degradasi. Indikasi tingginya aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan rendahnya konsentrasi sampel untuk mencegah

degradasi, indikasi tingginya aktivitas antioksidan dengan rendahnya konsentrasi sampel uji. Butylated hydroxytoluene (BHT) digunakan sebagai kontrol positif, BHT diketahui antioksidan spesial untuk melindungi lipid oksidasi (Nurrochmad *et al.*, 2018)

## 3. PEMBAHASAN

Sampel Rumput Laut Coklat Mengambil Rumput Laut Coklat *Padina Australis* di sepanjang pantai di Gunung Kidul. Kegiatan di lakukan sendiri di waktu siang, dan di bantu penduduk di Pantai Krakal. Hasil pengambilan sampel Rumput Laut dapat ditampilkan pada Gambar 1 :



Gambar 1. Sampel Rumput Laut

Hasil : Didapatkan rumput laut sebanyak 38 kg Preparasi sampel yaitu pencucian, pengeringan dan pembuatan serbuk) Sortasi Basah, Pencucian, Pengeringan, sortasi kering. Pengeringan di lakukan di Badan Pengelolaan Jamu dan Saitifikasi (BPJS) kota Pekalongan. Didapatkan rumput laut kering 2,3 kg kadar air 6,58% . Pembuatan serbuk: 0,5 kg simplisia kering di lakukan pengecilan partikel menggunakan blender simplisia, selanjutnya pengayakan di ayakan 40 MESH. Hasil uji organoleptik ekstrak *Padina australis* dapat ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak *Padina australis*

Pengamatan	Karakteristik
Bau	Khas ekstrak agak bau amis
Warna	Hijau tua kekuningan
Rasa	Hambar (agak asin)
konsistensi	Kental

### 3.1. Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol pa dan penguapan menjadi

**ekstrak kental**

Ekstraksi Padina selama 8 hari menggunakan 500 gram serbuk ditambah dengan etanol pa 3 Liter dilanjutkan penguapan menggunakan rotary evaporator dilanjutkan penguapan di dalam blower dan ruang tertutup. Dihasilkan ekstrak sebanyak 32,8 gram ekstrak kental., Rendemen ekstrak yang didapatkan sebesar 6,56%. Hasil tersebut sesuai dengan Penelitian yang telah dilakukan oleh (Nursid *et al.*, 2013) yang menyatakan bahwa rendemen ekstrak Padina sp dibawah 10% . Uji Aktivitas Enzim Kolagenasi menggunakan kit collagenase dilakukan di Lab Biofarmasetika dan Farmakologi Prodi Farmasi UMPP. Nilai Absorbansi ekstrak *Padina australis* terhadap enzim kolagenase di baca pada panjang gelombang 375 nm. Hasil dari pembacaan absorbansi ekstrak *Padina australis* di baca Nilai absorbansi yang didapatkan dihitung pada alat *microplate rider* pada kadar 10, 20, 40, 80, 100 µg/mL. Perhitungan aktivitas kolagenase menggunakan rumus pada Gambar 2 serta hasil konsentrasi % penghambatan ditampilkam pada Tabel 2.

$$= \frac{\% \text{ Inhibisi}}{\text{Aktivitas Enzim} - \text{Aktivitas Inhibitor}} \times 100$$

**Gambar 2.** Rumus aktivitas kolagenase

**Tabel 2.** Konsentrasi vs aktivitas enzim Kolagenase

Kadar (µg/mL)	% Penghambatan
10	6,154
20	22,689
40	44,851
80	54,527
100	65,972

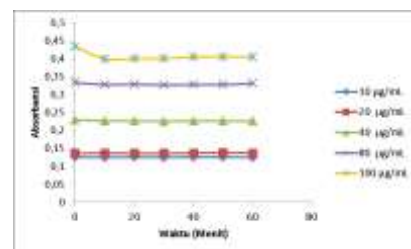
Prosen inhibisi dihitung dari aktivitas enzim pada sampel dikurangkan dengan aktivitas inhibitor dibagi dengan aktivitas enzim pada sampel dikalikan seratus menghasilkan data pada Tabel 3:

**Tabel 3.** Hasil Kadar vs % Penghambatan

Kadar (µg/mL)	% Penghambatan
10	6,154
20	22,689
40	44,851

80	54,527
100	65,972

Data pada Tabel 3 dibuat kurva untuk mendapatkan prosen penghambatan 50 (IC<sub>50</sub>). Persamaan kurva yang didapatkan  $y = 0,5932x + 9,1797$  R<sup>2</sup> 0,8999, diperoleh IC<sub>50</sub> sebesar 68,81 µg/mL. Kolagenase diketahui merupakan enzim yang mempunyai respon besar pada dehidrasi dan pengerutan permukaan kulit. (Lourenço-Lopes *et al.*, 2020). Pada penelitian uji penghambatan aktivitas kolagenase ini dihasilkan terjadi penghambatan enzim kolagenase pada ekstrak etanol Padina australis (yang mengandung fukosantin dibandingkan dengan kontrol dan pembanding positif. Hasil pengujian menggambarkan perbandingan absorbansi kontrol, pembanding 1,10 Phenanthroline dan ekstrak etanol Padina australis 10, 20, 40, 80, dan µg/mL terdapat pada Gambar 3 :



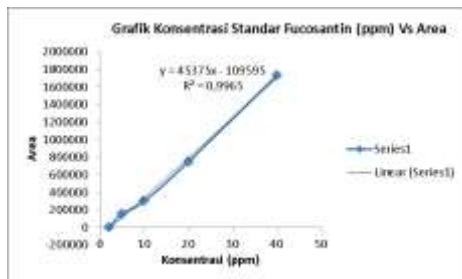
**Gambar 3.** Aktivitas Ekstrak Dalam Penghambatan Enzim Kolagenase

Aktivitas ekstrak dalam penghambatan aktivitas enzim terlihat dari Gambar 3, semakin tinggi nilai absorbansi maka semakin kuat ekstrak dalam menghambat aktivitas enzim. Ekstrak dengan konsentrasi 100 µg/mL terpatap paling atas.

**3.2. Analisis kandungan senyawa fukosantin dibandingkan dengan standar fukosantin menggunakan HPLC**

Analisis kandungan fukosantin dalam ekstrak dibandingkan dengan standar fukosantin menggunakan High Performance Liquid Chromatografi (HPLC) Hitachi L-2420 Elite LaChrom, detector yang digunakan adalah UV-Vis Detector L2420, fase diam 5C<sub>18</sub>-MS-II, ukuran kolom 4.61D X 250 mm. Fase gerak asetonitril:metanol (70:30), laju air

1 ml/menit, dan volume injeksi 20 µl, waktu tambat (Retention Time) 4 – 5 menit, pada panjang gelombang 450 nm. Didapatkan kurva standar fukosantin yang ditampilkan pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Kurva Baku standar Fukosantin

Hasil kromatogram ekstrak *Padina australis* ditampilkan pada Tabel 4:

**Tabel 4.** Uji HPLC Hasil Ekstrak *Padina*

No	Sampel	Rt	Area	Rata-Rata Konsentrasi
1	80 ppm	4,41	406616	9,283
		4,4	391666	8,873
		4,83	432585	9,775

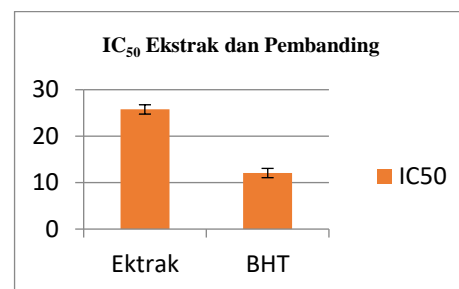
Hasil perhitungan di dapatkan kadar fukosantin pada 1000 gram ekstrak adalah 46,4185 mg/1000gram ekstrak atau mempunyai rendemen 4,64% Hasil ini lebih rendah dari penelitian Nursid, dkk (2013) yang menyebutkan kandungan fukosantin *P. Australis* 6,9 mg/g, hal ini dikarenakan perbedaan kondisi maserasi dan isolasi. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol pa sebagai pelarut maserasi dan dilakukan pada kondisi laboratorium pada umumnya atau tidak pada keadaan gelap. Walaupun begitu kondisi lain tetap dikendalikan sebagai contoh pengendalian suhu penyimpanan dan mengurangi terkenanya sinar matahari.

### 3.3. Pengujian ekstrak *Padina australis* terhadap antioksidan menggunakan metode BCB

Kemampuan antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dikaitkan dengan kemampuan antioksidan tersebut sebagai donor proton. (Liang *et al.*, 2023) Berbagai senyawa fenolik dapat berperan terhadap

kapasitas penangkapan radikal bebas dengan kapasitas yang berbeda-beda. Jumlah proton hidrogen yang dapat didonorkan dipengaruhi jumlah dan posisi gugus hidroksil aromatik atau hidroksil dari komponen fenolik. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan (Pangestuti *et al.*, 2021). Untuk menjadi stabil, radikal memerlukan elektron dari molekul donor ke molekul radikal agar radikal tersebut menjadi stabil. Akibat reaksi tersebut, molekul donor menjadi radikal baru yang tidak stabil dan memerlukan elektron dari molekul di sekitarnya untuk menjadi stabil, demikian seterusnya sehingga terjadi reaksi berantai perpindahan elektron-elektron (Arguelles, 2021).

Pada metode *betacaroten bleaching* (BCB) efek hambatan ekstrak *Padina australis* terhadap pemucatan betakaroten dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil pengujian menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak (25,75±4,40) µg/mL lebih tinggi dari perbandingan BHT yang memiliki IC<sub>50</sub> sebesar (12,06±1,78) µg/mL. Semakin tinggi nilai IC<sub>50</sub> maka kemampuan untuk menangkap radikal bebas semakin kecil, sebaliknya nilai IC<sub>50</sub> yang rendah menunjukkan kemampuan untuk menangkap radikal bebas semakin besar. Pada penelitian ini pemberian ekstrak dalam jumlah tertentu tetap dapat berfungsi sebagai senyawa penangkap radikal bebas, meskipun tidak seefisien BHT.



**Gambar 5.** Daya antioksidan Ekstrak dan Perbandingan menggunakan Metode *Beta Caroten Bleaching* (BCB)

## KESIMPULAN

Ekstrak *Padina australis* mempunyai daya penghambatan terhadap aktivitas enzim

Kolagenase kuat dan daya antioksidan metode BCB kategori sangat kuat.

### Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PD Dikti atas pemberian hibah DRTM Untuk Penelitian Dosen Pemula.

### Daftar Pustaka

- Arguelles, E., 2021, Evaluation of Antioxidant Capacity, Tyrosinase Inhibition, and Antibacterial Activities of Brown Seaweed, *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh 1820 for ..., *J. Fish. Environ.*, 45, 64–78.
- Chen, S.-J., Hseu, Y.-C., Gowrisankar, Y.V., Chung, Y.-T., Zhang, Y.-Z., Way, T.-D., and Yang, H.-L., 2021, The anti-melanogenic effects of 3-O-ethyl ascorbic acid via Nrf2-mediated  $\alpha$ -MSH inhibition in UVA-irradiated keratinocytes and autophagy induction in melanocytes., *Free Radic. Biol. Med.*, 173, 151–169.
- Liang, D., Liu, C., Li, Y., Wu, C., Chen, Y., Tan, M., and Su, W., 2023, Engineering fucoxanthin-loaded probiotics' membrane vesicles for the dietary intervention of colitis, *Biomaterials*, 297, .
- Lourenço-Lopes, C., Fraga-Corral, M., Jimenez-Lopez, C., and ..., 2020, Metabolites from macroalgae and its applications in the cosmetic industry: A circular economy approach, *Resources*, .
- Nurrochmad, A., Wirasti, W., Dirman, A., Lukitaningsih, E., Rahmawati, A., and Fakhruddin, N., 2018, Effects of Antioxidant, Anti-Collagenase, Anti-Elastase, Anti-Tyrosinase of The Extract and Fraction From *Turbinaria decurrens* Bory., *Indones. J. Pharm.*, 29, 188.
- Nursid, M., Wikanta, T., and Susilowati, R., 2013, Kandungan fukosantin ekstrak rumput laut coklat dari pantai Binuangeun , Banten, *JPB Kelaut. dan Perikan.*, 8, 73–84.
- Pangestuti, R., Shin, K.H., and Kim, S.K., 2021, Anti-photoaging and potential skin health benefits of seaweeds, *Mar. Drugs*, .