

Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal

SWASONO R. TAMAT^{1*}, THAMRIN WIKANTA², LINA S. MAULINA³

¹Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka, BATAN, Kawasan Puspipstek, Serpong, Banten 15310

²Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Jakarta

³Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jakarta 12640

Diterima 8 Januari 2007, disetujui 9 Maret 2007

Abstract: Research on the antioxidative activity and toxicity of the bioactive substance of the green seaweed *Ulva reticulata* Forsskal extract had been carried out. The bioactive substance of the green seaweed *Ulva reticulata* Forsskal was extracted using methanol. The phytochemistry test on the methanol extract showed that the extract contained triterpenoid compound. The methanol extract was then partitioned using n-hexane-water (1:1) and chloroform-water (1:1). Each of the extract was then dried using freeze dryer. The antioxidative activity test of each fraction against free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) showed that the water extract has the highest activity with IC₅₀ of 365,95 µg/ml. The toxicity test of each fraction against brine shrimp *Artemia salina* (Brine Shrimp Lethality Test, BSLT) showed that the chloroform extract showed the highest activity with LC₅₀ of 250,67 µg/ml. The water extract was then fractionated through silica column chromatography. The activity test of each fraction against DPPH and BSLT showed that fraction 1 has the highest activity with LC₅₀ of 100 µg/ml and IC₅₀ of 270,31 µg/ml. Identification using gas chromatography – mass spectrometric method showed that the antioxidative substance presence in the active fraction was probably nonyl phenol (C₁₅H₂₄O).

Key words: antioxidant, toxicity, BSLT, DPPH, *Ulva reticulata* Forsskal

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Manfaat antioksidan bagi kesehatan dan kecantikan, misalnya untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain. Dalam produk pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya⁽¹⁾.

Antioksidan dapat berbentuk gizi seperti vitamin E dan C, non-gizi (pigmen karoten, likopen, flavonoid, dan klorofil), dan enzim (glutation peroksidase, koenzim Q10 atau ubiquinon). Antioksidan dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan preventif (enzim superoksidadismutase,

katalase, dan glutation peroksidase), antioksidan primer (vitamin A, fenolat, flavonoid, katekin, kuersetin), dan antioksidan komplementer (vitamin C, β-karoten, retinoid)⁽²⁾.

Laut dihuni oleh berbagai jenis organisme patogen, oleh karena itu rumput laut berusaha mengembangkan suatu mekanisme pertahanan diri untuk melawan organisme patogen tersebut. Salah satu mekanisme yang umum adalah dengan memproduksi senyawa kimia yang bersifat toksik terhadap predator, di antaranya adalah diproduksinya senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri. Senyawa aktif tersebut kemungkinan merupakan hasil produksi organisme inang atau hasil produksi simbiosis yang bersimbiose dengan inang, atau hasil produksi keduanya, inang, dan simbiosis⁽³⁾.

Rumput laut hijau secara umum mengandung senyawa klorofil a dan b serta senyawa karoten yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Rumput laut hijau atau alga hijau jenis *Ulva reticulata* Forsskal dapat digunakan sebagai obat malnutrisi karena *Ulva reticulata* Forsskal kaya akan vitamin A, B1, C, dan asam lemak. Alga jenis *Ulva reticulata* Forsskal juga banyak dikonsumsi sebagai sayuran

* Penulis korespondensi, Hp.08129695600,
e-mail: swasonotamat@gmail.com

atau sup, dan dapat digunakan sebagai antipiretik (menurunkan demam), obat bisul, obat cacing, obat mimisan, beri-beri, serta untuk penyakit kandung kemih. Umumnya, senyawa kimia yang dihasilkan oleh jenis alga hijau adalah senyawa terpenoid dan senyawa aromatik yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antimikroba, antivirus, antimutagen, dan insektisida^(3,4).

Sehubungan dengan kandungan nutrisi dan senyawa aktif yang sangat kaya dalam alga hijau *Ulva reticulata* Forsskal dan bermanfaat bagi kesehatan dan kecantikan, yaitu sebagai sumber senyawa antioksidan maka dilakukan observasi atau telaah tentang daya antioksidan dan toksisitasnya dari ekstrak alga hijau *Ulva reticulata* agar dapat memberikan informasi yang berguna dalam upaya pemanfaatan bahan alam tersebut untuk tujuan yang lebih luas.

Prediksi toksisitas suatu bahan dilakukan untuk mendeteksi toksin *fungus*, logam berat, toksin sianobakteria, atau aktivitas pestisida. Metoda prediksi BSLT biasa dilakukan dalam uji pendahuluan untuk skrining atau penapisan aktivitas farmakologis pada produk alam^(5,6).

Metoda BSLT juga biasa dilakukan pada tahap pendahuluan dalam penapisan bahan-bahan yang diperkirakan memiliki sifat antitumor atau antikanker sebelum melangkah kepada uji *in vitro* menggunakan sel lestari tumor⁽⁷⁾. Metoda ini diketahui digunakan sebagai *bioassay guided fractionation* bahan alam, metoda pra-skrining penelitian sel tumor di *Cell Culture Laboratory of the Purdue Cancer Center, Purdue University*⁽⁸⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang diteliti adalah alga hijau jenis *Ulva reticulata* Forsskal hasil panen dari perairan pantai Binuangeun - Banten Selatan bulan Juni 2003.

METODE. Preparasi ekstrak *Ulva reticulata* Forsskal. Sejumlah 500 gram bahan segar dipotong-potong kecil 1x1 cm, dimasukkan ke dalam botol kaca, dimaserasi dalam 1 l metanol selama 24 jam, kemudian disaring melalui kertas Whatman no.1.

Residu dimaserasi ulang dua kali dengan cara yang sama, dan filtrat dikumpulkan (3 l). Selanjutnya pelarut diuapkan menggunakan rotavapor vakum (30°C, 40 mbar) hingga didapatkan ekstrak kental metanol. Terhadap ekstrak kental metanol, dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya.

Ekstrak metanol lalu dipartisi dengan 0,5 l campuran *n*-heksan-air (1:1), fraksi *n*-heksan ditampung dalam labu evaporasi. Perlakuan yang sama diulang hingga 3 kali, dan fraksi *n*-heksan dikumpulkan, lalu diuapkan dalam rotavapor vakum seperti di atas hingga kering, pengeringan disempurnakan dengan *freeze dryer* pada suhu dan tekanan rendah (-40°C; 200 x 10⁻³ mbar).

Fraksi air dipartisi dengan kloroform sebanyak tiga kali masing-masing 0,5 l, semua fraksi kloroform dikumpulkan, lalu diuapkan dalam rotavapor pada suhu dan tekanan rendah seperti di atas hingga kering, pengeringan disempurnakan dengan *freeze dryer* pada suhu dan tekanan rendah seperti di atas.

Filtrat yang tersisa adalah fraksi air, lalu diuapkan dalam rotavapor pada suhu dan tekanan rendah seperti di atas hingga didapat ekstrak kental. Ekstrak dibekukan, lalu dikeringkan dengan *freeze dryer* pada suhu dan tekanan rendah seperti di atas. Hasil akhir adalah 3 ekstrak, masing-masing: fraksi *n*-heksan (nonpolar), fraksi kloroform (semipolar), dan fraksi air (polar).

Uji kualitatif aktivitas antioksidan metode DPPH. Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan menggunakan metoda menurut Oke dan Hamburger⁽⁹⁾. Satu mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml metanol. Ekstrak metanol tersebut ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel dengan jarak 10 mm dari batas bawah dan dikeringkan. Fase gerak KLT adalah campuran etil asetat, asam formiat, dan air perbandingan 85:15:10.

Selanjutnya dilakukan pengembangan dalam bejana kromatografi dan bercak yang terbentuk diperiksa menggunakan semprotan pereaksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (konsentrasi 10 mg dalam 10 ml metanol). Setelah kering bercak yang terbentuk diperiksa di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Bercak hasil berwarna kuning, atau biru, atau ungu muda, menunjukkan positif adanya antioksidan. Perbedaan warna yang tampak adalah berdasarkan konsentrasi kompleks yang terbentuk antara antioksidan dengan pereaksi DPPH.

Uji kuantitatif aktivitas antioksidan metode DPPH. Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan menggunakan metoda menurut Chow *et al.*⁽¹⁰⁾. Satu ml DPPH ditambah metanol hingga menjadi 5 ml (blanko). Sampel ekstrak dibuat dengan 3 seri konsentrasi yaitu 0, 5, 10, dan 25 ppm. Tiap sampel ditakar dengan volume yang sama, ditambahkan 1 ml DPPH lalu diencerkan dengan metanol hingga volumenya menjadi 5 ml. Diinkubasi pada suhu

37°C selama 30 menit. Uji serapan dilakukan pada panjang gelombang 515 nm.

Persentase hambatan (%I) dihitung berdasarkan {(serapan blanko-serapan sampel)/serapan blanko} x 100%. Nilai hambatan dan konsentrasi ekstrak diplot masing-masing pada sumbu x dan y, dan persamaan garis yang diperoleh digunakan untuk menghitung *Inhibition Concentration* 50% (IC₅₀).

Uji toksisitas metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas dilakukan berdasarkan metoda Meyer *et al.*⁽¹⁰⁾, McLaughlin & Rogers⁽¹¹⁾, dan Carballo *et al.*⁽⁵⁾, dengan larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Mula-mula telur *A. salina* diletakkan di dalam air laut buatan (38 g garam dapur dalam 1000 ml air biasa) di bawah lampu TL 20 watt. Setelah 48 jam telur menetas menjadi *nauplii instar III/IV* dan siap digunakan sebagai hewan uji. Larva *A. salina* dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi larutan ekstrak sampel dengan seri dosis 5, 50, 250, dan 1000 ppm dengan 3 kali ulangan. Semua vial diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam di bawah penerangan lampu TL 20 watt.

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan melihat jumlah *Artemia salina* yang mati pada tiap konsentrasi. Penentuan harga LC₅₀ dalam µg/ml atau ppm dilakukan menggunakan analisis probit dengan program MINITAB versi 13.2 dengan selang kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penapisan fitokimia. Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak kasar (kental) metanol dari alga hijau *Ulva reticulata* Forsskal menunjukkan adanya golongan senyawa triterpenoid dalam ekstrak tersebut. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-ungu pada sediaan setelah ditambahkan pereaksi Lieberman Bouchard. Hasil uji penapisan fitokimia disajikan pada Tabel 1.

Rendemen ekstrak. Ekstraksi partisi terhadap

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia dari ekstrak metanol alga *Ulva reticulata*

No	Golongan senyawa	Keterangan
1.	Alkaloid	Respon (-)
2.	Flavonoid	Respon (-)
3.	Saponin	Respon (-)
4.	Kuinon	Respon (-)
5.	Tanin	Respon (-)
6.	Steroid, terpenoid	Respon (-)
7.	Triterpenoid	Respon (+)

Tabel 2. Rendemen ekstrak alga *U. reticulata* dari fraksi n-heksan, kloroform, dan air

No	Fraksi	Warna	Berat (g)	Rendemen (%)
1	n-heksana	hijau	2,715	0,543
2	kloroform	hijau tua	1,413	0,283
3	air	coklat	6,323	1,265

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, kloroform, dan air terhadap DPPH

No	Sampel	IC ₅₀ (µg/ml)
1.	Vitamin C	21,09
2.	Fraksi n-heksana	979,67
3.	Fraksi kloroform	702,87
4.	Fraksi air	365,95

ekstrak kasar metanol untuk mengelompokkan senyawa terlarut berdasarkan tingkat kepolaran pelarut, dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan, pelarut kloroform, dan sisanya senyawa yang terlarut dalam air. Hasil partisi menghasilkan ekstrak fraksi n-heksan 2,715 gram, fraksi kloroform 1,413 gram, dan fraksi air 6,323 gram, seperti terlihat pada Tabel 2. Bahan baku yang dianalisis merupakan produk kelautan maka pada fraksi air kemungkinan masih mengandung kadar garam yang tinggi sehingga terlihat rendemennya tinggi.

Uji aktivitas antioksidan. Uji antioksidan dari ketiga ekstrak, yaitu fraksi n-heksan, kloroform, dan fraksi air dilakukan terhadap radikal DPPH dengan menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif. Uji antioksidan ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas masing-masing fraksi dari ekstrak *Ulva reticulata* tersebut dalam meredam radikal DPPH.

Pada penelitian ini diperoleh nilai IC₅₀ dari vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 21 µg/ml, sedangkan nilai IC₅₀ masing-masing fraksi n-heksan, kloroform, dan air adalah 980 µg/ml, 703 µg/ml, dan 366 µg/ml, seperti ditampilkan pada Tabel 3. Hasil pengujian Windono *et al.*⁽¹²⁾ dan Maryati⁽¹³⁾, menunjukkan bahwa vitamin C sebagai kontrol positif juga memiliki nilai IC₅₀ sebesar 21,09 ppm.

Ternyata diantara ketiga fraksi ekstrak, fraksi air memiliki aktivitas inhibisi paling tinggi dalam meredam radikal DPPH. Namun demikian, aktivitas ketiga fraksi ekstrak *U. reticulata* jika dibandingkan dengan kontrol positif (vitamin C) masih jauh lebih rendah. Walaupun potensi antioksidan dalam fraksi

sangat rendah, tetapi potensinya akan meningkat apabila fraksi sudah dimurnikan menjadi isolat senyawa yang terkandung di dalam fraksi tersebut.

Uji toksisitas fraksi. Uji toksisitas dengan metode BSLT dilakukan pada masing-masing ekstrak heksan, kloroform, dan air, untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak terhadap *Artemia salina*. Apabila ekstrak tersebut termasuk golongan tidak toksik maka kemungkinan dapat dikembangkan penggunaannya untuk tujuan yang luas, misalnya sebagai makanan suplemen atau bahan baku kosmetika, sedangkan apabila termasuk golongan senyawa toksik maka kemungkinan penggunaannya dapat dikembangkan untuk bahan baku obat.

Hasil uji toksisitas dari fraksi *n*-heksan, kloroform, dan air menunjukkan bahwa nilai LC_{50} dari masing-masing fraksi berturut-turut adalah 6367,95 $\mu\text{g/ml}$, 250,67 $\mu\text{g/ml}$, dan 473,59 $\mu\text{g/ml}$, ditampilkan pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil uji golongan senyawa atau uji fitokimia terhadap ekstrak kasar sampel, diperkirakan bahan aktif yang menjadi pusat perhatian adalah senyawa terpenoid karena banyak senyawa terpenoid dari bahan alam memiliki khasiat sebagai senyawa toksik.

Golongan senyawa terpenoid biasanya masuk ke dalam fraksi heksan tetapi berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas ternyata fraksi heksan memiliki potensi antioksidan yang rendah dan pula memiliki toksisitas sangat rendah sehingga termasuk golongan tidak toksik dan tidak potensial untuk ditelusuri. Menurut Meyer *et al.* ekstrak yang memiliki nilai $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ termasuk kategori tidak toksik⁽¹⁰⁾. Penelusuran selanjutnya lebih diarahkan pada fraksi air karena disamping toksisitasnya lebih rendah dibandingkan fraksi kloroform,

Tabel 4. Hasil uji toksisitas fraksi *n*-heksan, kloroform, dan air dengan metoda BSLT

No	Sampel	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1.	Fraksi <i>n</i> -heksana	6367,95
2.	Fraksi kloroform	250,67
3.	Fraksi air	473,59

Tabel 5. Hasil uji antioksidan dari fraksi air, sub-fraksi I dan II terhadap DPPH dengan kontrol positif vitamin C

No	Sampel	Berat (mg)	Rendemen (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1.	Vitamin C			22,41
2.	Sub-fraksi I	190,3	9,52	270,31
3.	Sub-fraksi II	90,2	4,51	376,44

fraksi air juga termasuk golongan yang memiliki potensi antioksidan tertinggi diantara ketiga fraksi yang didapatkan.

Setelah melalui pengujian menggunakan kroma-tografi lapis tipis (KLT) pada plat Silika Gel GF₂₅₄ maka dilanjutkan dengan fraksinasi kembali terhadap fraksi air tersebut melalui kolom Silika Gel 60 dengan fasa gerak kloroform-metanol.(50:1). Hasil identifikasi pola bercak yang didapatkan dari setiap fraksi pada plat KLT, kemudian dilakukan pengelompokan fraksi, akhirnya didapatkan 2 subfraksi. Fraksinasi dari 2 gram ekstrak fraksi air menghasilkan masing-masing berat subfraksi-1 dan subfraksi-2 adalah 190,30 mg (9,52%) dan 90,20 mg (4,51%). Kedua subfraksi tersebut selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dan toksisitas.

Uji aktivitas antioksidan subfraksi. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH dari subfraksi-1 dan 2 hasil kromatografi kolom, dilakukan untuk mengetahui tingkat aktivitas antioksidan dari masing-masing fraksi tersebut. Hasil pengujian menunjukkan bahwa subfraksi-1 memiliki aktivitas lebih tinggi dari pada subfraksi-2, dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 270,31 $\mu\text{g/ml}$ dan 376,44 $\mu\text{g/ml}$, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5. Ditinjau dari nilai IC_{50} antara kedua subfraksi (polar) tersebut, terlihat bahwa nilai IC_{50} dari subfraksi-2 (376,44 $\mu\text{g/ml}$) hampir sama dengan fraksi awal (365,95 $\mu\text{g/ml}$), berarti antara kedua subfraksi-1 dan -2 terjadi kerja yang bersifat antagonis, sehingga gabungan kedua subfraksi potensinya menjadi makin menurun.

Uji toksisitas subfraksi. Pengujian toksisitas terhadap *Artemia salina* dari subfraksi 1 dan 2 hasil kromatografi kolom, dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas dari masing-masing fraksi tersebut. Hasil pengujian menunjukkan bahwa subfraksi 1 memiliki toksisitas lebih tinggi dari pada subfraksi 2, dengan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 100 $\mu\text{g/ml}$ dan 180,09 $\mu\text{g/ml}$ yang ditunjukkan pada Tabel 6.

Ditinjau dari nilai LC_{50} antara kedua subfraksi-1 dan 2 tersebut, terlihat bahwa nilai LC_{50} dari subfraksi-1 (100 $\mu\text{g/ml}$) setengah dari subfraksi-2 (180,09 $\mu\text{g/ml}$), berarti potensi subfraksi-1 dua kali lipat subfraksi-2, dan berarti terjadi kerja yang bersifat antagonis antara kedua subfraksi. Hal ini terlihat dari potensi gabungan kedua subfraksi (fraksi awal) menghasilkan toksisitas yang jauh lebih rendah (473,59 $\mu\text{g/ml}$), sehingga gabungan kedua subfraksi toksisitasnya menjadi jauh makin menurun.

Isolasi komponen subfraksi aktif. Ditinjau dari aspek potensi antioksidan maka subfraksi-1 bersifat lebih poten daripada subfraksi-2, demikian pula ditinjau dari aspek toksisitas maka subfraksi-1 juga memiliki potensi yang lebih tinggi daripada subfraksi-

Tabel 6. Hasil uji toksisitas dari fraksi air (polar), sub-fraksi I dan II dengan metoda BSLT

No	Sampel	LC ₅₀ (µg/ml)
1.	Sub-fraksi I (polar)	100
2.	Sub-fraksi II (polar)	180,09

2. Oleh karena itu, penelusuran dilanjutkan dengan isolasi subfraksi-1 menggunakan KLT preparatif, dan didapatkan 3 kelompok senyawa A, B, dan C (disebut isolat).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH secara kualitatif dari ketiga kelompok senyawa tersebut menunjukkan bahwa hanya kelompok senyawa B menunjukkan respon positif mengandung senyawa antioksidan. Untuk identifikasi perkiraan jenis senyawa yang terdapat di dalam

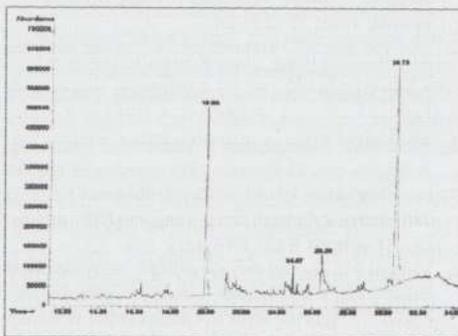
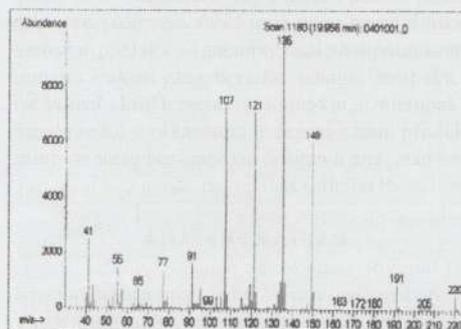
kelompok senyawa-B tersebut, maka dilakukan analisis menggunakan instrumen spektrometer massa kromatografi gas (GC-MS) HP 6800 Series.

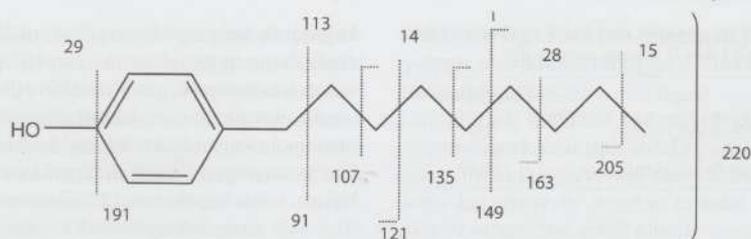
Hasil analisis menunjukkan adanya 4 puncak yang menonjol dengan waktu retensi berbeda. Berdasarkan kromatogram yang didapatkan menunjukkan bahwa isolat tersebut masih belum murni (Gambar 2), masih mengandung banyak komponen lain yang dapat dianggap sebagai zat pengotor. Hasil spektra fragmentasi massa dari puncak-puncak senyawa yang menonjol dari isolat tersebut dibandingkan kemiripannya dengan spektra fragmentasi senyawa yang terdapat pada pustaka dalam instrumen. Dalam pustaka terdapat 4 senyawa yang memiliki kemiripan spektra lebih besar dari 90% dengan spektra senyawa pada isolat. Senyawa-senyawa tersebut adalah nonil fenol, metil palmitat, etil palmitat, dan asam stearat, seperti ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Identifikasi spektrum masa dari kelompok senyawa-B dari sub-fraksi I dengan GC-MS

No	Waktu retensi (mnt)	Kemungkinan senyawa	Kemiripan %	Rumus molekul	Berat molekul
1.	19,96	Nonil fenol*	97	C ₁₅ H ₂₄ O	220
2.	24,87	Metil palmitat **	97	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270
3.	26,50	Etil palmitat*	96	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284
4.	30,73	Asam stearat*	99	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284

* Database/WILEY275.L ** Database/PMW-TOX2.L

**Gambar 1. Struktur molekul nonil fenol.****Gambar 2. Kromatogram (GC) kelompok senyawa-B, dengan R_t 19,96; 24,87; 26,50; dan 30,37 menit.****Gambar 3. Spektrum massa senyawa nomor 1 (nonil fenol) dengan R_t 19,96 menit.**



Gambar 4. Postulasi pola fragmentasi senyawa nonil fenol.

Diantara keempat senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa nonil fenol (Gambar 1). Senyawa ini dikonfirmasi dengan m/z 191 yang merupakan fragmentasi yang khas untuk senyawa fenol, serta m/z 205, 163, 149, 135, 121, dan 107 yang menunjukkan deret homolog fragmentasi $-CH_2$ pada substitusi alkil, dan m/z 91 menunjukkan fragmentasi khas untuk gugus fenil (Gambar 3 dan 4).

Senyawa fenol dengan gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik merupakan senyawa yang efektif sebagai antioksidan karena senyawa tersebut mampu meredam radikal bebas dengan cara memberikan atom hidrogen (donor proton) dari gugus hidroksil kepada radikal bebas. Bila diperhatikan aspek toksisitas, maka adanya senyawa fenol ini menjadikan ekstrak memiliki tingkat toksisitas tinggi. Hal ini terlihat dari hasil uji toksisitas (BSLT) yang menunjukkan sifat toksik dengan nilai LC_{50} yang relatif rendah (100 $\mu\text{g/ml}$).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol rumput laut hijau *Ulva reticulata* Forsskal menunjukkan adanya senyawa golongan triterpenoid. Ekstrak air, ekstrak metanol, maupun ekstrak kloroform *Ulva reticulata* Forsskal memiliki toksisitas yang sangat lemah terhadap larva *Artemia salina* Leach, dengan IC_{50} tertinggi > 100 ppm. Ekstrak yang sama juga tidak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat terhadap DPPH (IC_{50} tertinggi > 100 ppm) dibandingkan dengan kontrol vitamin C dengan IC_{50} sebesar 21,09 ppm. Hasil identifikasi KG-SM pada fraksi menunjukkan kandungan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, yaitu nonil fenol ($C_{15}H_{24}O$).

DAFTAR PUSTAKA

1. Antioksidan, radikal bebas dan penuaan. diambil dari: http://www.kompas.com/kompas_cetak/0305/11/fokus/306284.htm. diakses tanggal 11 Mei, 2004.
2. Radikal bebas. diambil dari: http://www.sehatalami.com/radikal_bebas.php. diakses tanggal 5 Mei, 2004.
3. Simanjuntak P. Senyawa bioaktif dari alga. Hayati. 1995; 2(2): 49-54.
4. Angka SL, Suhartono MT. Bioteknologi hasil laut. Bogor: Pusat kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor; 2000. hal. 149.
5. Carballo JL, ZL Hernandez-Inda, P Perez et al. A comparison between two brine shrimp assay to detect in vitro cytotoxicity in marine natural product (methodology article). BMC Biotechnology. 2002; 2 : 1-5.
6. Guerrero RO, MTH Khan, B Casanas and M Morales. Specific bioassay with selected plants of bangladesh. Rev Cubana Plant Med. 2004; 9(2):5-13.
7. Widjhati R, A Supriyono dan Subintoro. Pengembangan senyawa bioaktif dari biota laut. Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan; 2004. hal.13.
8. Alam G. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. Majalah Farmasi dan Farmakologi. 2002; 6(2):432-6.
9. Chow ST, WW Chaw and YC Chung. Antioxidant activity and safety of 50 % ethanolic red bean extract (*Phaseolus raditus* L, Var Aurea). Journal of Food Science. 2003; 68(1):21-5.
10. Meyer BN, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med. 1982; 45: 35-34.
11. McLaughlin JL & LL Rogers. The use of biological assay to evaluate botanicals. Drug Information Journal, 1998; 32 : 513-24.
12. Oke JM dan MO Hamburger. Screening of some nigerian medical plants for antioxidant activity using DPPH radical. African J Biomed Res. 2002; 5: 77-9.
13. Windono T, S Soedirman, U Yudawati, E Ermawati, A Srielita dan TI Erawati. Uji peredaman radikal bebas terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinifera*, L). Artocarpus. 1 (1): 34-43.
14. Maryati MS. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif dalam rumput laut spesies *Caulerpa sertularioides* (Vahl) C. Agardh serta uji antioksidan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). [Skripsi]. 2004. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta. hal.59.