

## Identifikasi, Uji Antioksidan, dan Uji Toksisitas Senyawa Bioaktif dalam *Caulerpa sertularioides* (Vahl.) C. Agard.

THAMRIN WIKANTA<sup>1\*</sup>, SWASONO R. TAMAT<sup>2</sup>  
MAGDALENA SINTA MARYATI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Departemen Pertanian

<sup>2</sup>Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka, BATAN, Serpong

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta

Diterima 22 Desember 2005, Disetujui 9 Februari 2006

**Abstract:** *Caulerpa sertularioides* (Vahl.) C. Agard. is a green seaweed species in the Caulerpaceae family which has been used for medication. Extraction of bioactive compounds from *Caulerpa sertularioides* have been carried out and screened based on the antioxidative property against DPPH and on toxicity test by the brine shrimp lethality test (BSLT) method. Phytochemical screening of the methanol extract indicated the presence of a triterpen. The methanol extract was partitioned in sequence with n-hexane-water (1:1) and chloroform-water (1:1). The  $IC_{50}$  value of the water extract was found 327  $\mu\text{g/ml}$  and the  $LC_{50}$  value was 115  $\mu\text{g/ml}$  as compared to the  $IC_{50}$  of vitamin C positive control of 21  $\mu\text{g/ml}$ . Fractionation of the water extract in a silica gel column with various ratio of chloroform-methanol did not produce distinct separation. Fractions were analyzed on TLC and fractions of similar components were collected. Fraction I has  $IC_{50}$  value of 326  $\mu\text{g/ml}$  and  $LC_{50}$  value of 68  $\mu\text{g/ml}$ . Further separation and purification of fraction I on a preparative thin layer chromatographic system using chloroform-methanol (50:1) produced five isolates bearing antioxidative activity. The third isolate that showed the strongest activity, when analyzed using a GC-MS system indicating seven compounds, but only [(2-fluorophenyl)methyl]-1H-purin-6-amine that may have an antioxidative activity.

**Key words:** seaweeds, *Caulerpa sertularioides*, antioxidant, DPPH, toxicity, brine shrimp lethality test (BSLT)

### PENDAHULUAN

Sumber daya laut dapat menjadi bahan dasar berbagai produk yang bermanfaat baik untuk industri farmasi, kimia, kosmetik, dan pertanian. Pemanfaatan sumber daya laut di Indonesia masih sangat terbatas karena kurangnya pengetahuan dan penguasaan teknologi untuk pemanfaatannya<sup>(1)</sup>.

Salah satu produk kelautan yang memiliki sejarah yang panjang adalah makro-algae laut, yang dikenal dalam dunia perdagangan dengan sebutan rumput laut atau *seaweed*. Pemanfaatan rumput laut dalam industri farmasi umumnya lebih mengandalkan pada metabolit primernya seperti karaginan, agar, alginat dan *furcellaran* yang digunakan sebagai bahan aditif, yaitu sebagai pengental, pengemulsi atau pensuspensi. Sedangkan pemanfaatan metabolit sekundernya baru dikembangkan dalam dekade 90-an<sup>(2)</sup>.

Senyawa metabolit sekunder dari biota laut dilaporkan memiliki struktur kimia mulai dari yang sederhana hingga yang sangat kompleks, antara lain bromfenol, poliketida (prostanoid, makrolida), terpen (mono-, sesqui-, diterpen, dan sterol), senyawa nitrogen (tiro-sin, imidazol, indol, piridin, peptida) serta polisakarida<sup>(3)</sup>.

Senyawa dalam rumput laut *Caulerpa sp* dilaporkan berupa diterpenoid, triterpenoid dan senyawa mengandung nitrogen, dan juga dilaporkan mengandung metabolit dari golongan diterpenoid asiklik yaitu trifarfin, golongan diterpenoid monosiklik yaitu caulerpol dan triterpenoid yaitu taraxerol. *Caulerpa sertularioides* juga dilaporkan mengandung kaulerpin, kaulerpisin, asam palmitat dan sitosterol<sup>(2,4,5)</sup>.

Rumput laut *Caulerpa sertularioides* banyak terdapat di perairan Indonesia, dan biasa dimakan mentah sebagai sayur, lalapan, acar dan salad. Dalam bidang kesehatan *Caulerpa sertularioides* dimanfaatkan sebagai penurun tekanan darah, antel-mintika, anaestesi ringan, pencegah penyakit gondok dan

\* Penulis korespondensi, Hp. 0817199415,  
e-mail: thamrin\_wikanta@yahoo.com

antifungi<sup>(6,7)</sup>. Penelitian terhadap rumput laut *Caulerpa racemosa* yang termasuk famili *Caulerpaceae*, diperoleh senyawa caulerpegenin yang memiliki sifat sitotoksik<sup>(1)</sup>.

Penelitian ini dilakukan dalam usaha memisahkan dan identifikasi senyawa antioksidan dan sitotoksik dari rumput laut *Caulerpa sertularioides* agar diperoleh informasi tambahan tentang sumber senyawa antioksidan dan sitotoksik yang dapat dikembangkan bagi bidang kesehatan.

#### BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** *Caulerpa sertularioides* (Gambar 1) diperoleh dari Binaungeun, Banten Selatan. Simplisia dibersihkan dengan air laut dan dikeringkan di bawah cahaya matahari, kemudian dipotong 1x1cm; DPPH (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil), metanol, *n*-heksan, DMSO, kloroform dari Sigma; dan telur udang *Artemia salina* Leach untuk uji BSLT, aquades.

**Alat.** Vakum evaporator (Buchi, B-169), freeze dryer (Labconco, Freezezone 4.5), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu, UV1601), kromatografi gas spektrometer massa (Hewlett Packard, HP 6890 Series).

**Tempat penelitian.** Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Jakarta Pusat. Analisis dengan kromatografi gas spektrometer massa dilakukan di Labkesda DKI Jakarta, Jakarta Pusat.

**METODE. Ekstraksi Bahan.** Sebanyak 500 mg *Caulerpa sertularioides* kering dimaserasi berturut-turut 3 kali masing-masing 24 jam dengan 1,2 l metanol (volume sesuai kapasitas); kemudian 3 kali masing-masing 24 jam dengan 1,2 l *n*-heksan; dan 3 kali masing-masing 24 jam dengan 1,2 l kloroform. Masing-masing maserat dicampur, di-



Gambar 1. Rumput laut spesies *Caulerpa sertularioides* (Vahl.) C. Agard.<sup>(8)</sup>

saring dengan kertas Whatman 1, dan dipekatkan dengan vakum evaporator.

**Penapisan fitokimia.** Penapisan fitokimia dilakukan pada ekstrak metanol dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) baku untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam simplisia meliputi alkaloid, tanin, saponin, steroid, triterpen dan flavonoid. Deteksi senyawa pada pelat KLT dilakukan menggunakan penyemprotan pereaksi warna spesifik untuk masing-masing golongan senyawa atau penampakan dibawah UV pada 1254 nm atau 366 nm.

**Partisi ekstrak.** Sebanyak 50 g ekstrak metanol dipartisi menggunakan corong pisah, tiga kali masing-masing 24 jam dengan 500 ml *n*-heksan:air (1:1), kemudian fase air dipartisi tiga kali masing-masing 24 jam dengan 500 ml kloroform:air (1:1). Masing-masing fase partisi dikumpulkan, dipekatkan dengan vakum evaporator dan dibekukeringkan dengan freeze dryer. Pemekatan fase *n*-heksan dan fase kloroform dengan vakum evaporator dibantu dengan penambahan 3x50 ml air. Masing-masing ekstrak yang telah dibekukeringkan ipi selanjutnya disebut: ekstrak kering A (dari air), ekstrak kering H (dari heksan), dan ekstrak kering K (dari kloroform). Ekstrak kering lalu diuji aktivitas antioksidannya dengan DPPH dan uji toksisitas dengan BSLT.

**Uji DPPH pada ekstrak kering.** Terhadap ekstrak kering A, ekstrak kering H dan ekstrak kering K tersebut di atas dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), dengan prinsip reaksi penangkapan hidrogen dari antioksidan (AH) oleh radikal bebas DPPH (ungu) dan diubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilin (kuning)<sup>(9)</sup>. Perubahan warna ungu menjadi kuning (setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C) dapat diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada  $\lambda$  515 nm sebagai perubahan serapan cahaya. Penurunan serapan atau intensitas warna ungu sebanding dengan peningkatan konsentrasi antioksidan. Dengan demikian dapat dipilih ekstrak yang paling aktif.

Dari nilai hambatan aktivitas radikal bebas (%) dan konsentrasi dibuat persamaan garis regresi dan diperoleh nilai  $IC_{50}$  (Inhibition Concentration<sup>(9,10)</sup>). Pengujian validitas metode digunakan vitamin C sebagai kontrol positif (konsentrasi 10, 25, 50, 100, dan 200  $\mu$ g/ml).

**Uji BSLT.** Terhadap ekstrak kering A, ekstrak kering H dan ekstrak kering K, dilakukan uji toksisitas dengan metoda BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach<sup>(11)</sup>. Data uji BSLT berupa mortalitas (%) dari setiap konsentrasi yang diplot ke tabel probit untuk mendapatkan nilai probit. Dari nilai probit dan log konsentrasi dibuat persamaan garis regresi dan diperoleh nilai  $LC_{50}$ .

Langkah pengerjaan uji BSLT sebagai berikut: (a) sejumlah 20 mg telur *Artemia salina* Leach dimasukkan ke wadah penetasan yang berisi air laut dan diberi penyinaran lampu TL 18W selama 48 jam sampai telur menetas sempurna; (b) persiapan larutan uji. Sejumlah 40 mg ekstrak kering A, H atau K dilarutkan hingga 20 ml untuk memperoleh konsentrasi 2000 µg/ml. Dengan pengenceran sedemikian dibuat larutan konsentrasi 200 µg/ml dan 20 µg/ml; (c) uji bioaktivitas. Sebanyak 5 ml masing-masing konsentrasi larutan uji dalam vial diuapkan, lalu masing-masing ditambah 100 µl dimetil sulfoksida, 5 ml air laut, kemudian dimasukkan 10 larva udang *Artemia salina* Leach berumur 48 jam serta air laut hingga 10,0 ml. Konsentrasi akhir ekstrak dalam setiap wadah adalah 1000 µg/ml, 100 µg/ml dan 10 µg/ml. Percobaan dilakukan tiga kali pengulangan dan disimpan di bawah lampu TL 18W. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam pada masing-masing wadah; (d) analisis data dilakukan dengan menghitung tingkat mortalitas (%), perbandingan antara jumlah larva yang mati dengan jumlah larva yang diuji, kemudian diplotkan ke tabel probit untuk memperoleh probit. Nilai  $LC_{50}$  diperoleh dari persamaan garis regresi antara log konsentrasi dan probit.

**Fraksinasi ekstrak teraktif.** Ekstrak yang paling aktif dari pengujian DPPH dan BSLT (nilai  $IC_{50}$  dan  $LC_{50}$  paling rendah) kemudian dilarutkan dalam metanol dan dikromatografi pada lempeng KLT silika gel GF<sub>254</sub> dengan eluen kloroform-metanol berbagai rasio, untuk mengetahui komponen yang terdapat dalam ekstrak, dan memperoleh pelarut yang sesuai untuk kromatografi kolom.

Sebanyak 2 g ekstrak kering yang paling aktif (yaitu ekstrak kering A) yang akan difraksinasi dihomogenkan dengan selit dan dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam kolom 30 g silika gel, dan dikromatografi. Eluen yang digunakan adalah masing-masing 300 ml kloroform-metanol (50:1), (40:1), (30:1), (20:1), (10:1), (8:1), (6:1), (4:1), (3:1), (2:1) dan (1:1), dimasukkan sedikit demi sedikit.

Setiap 15 ml fraksi ditampung dalam tabung reaksi dan diuapkan, dan setiap fraksi diuji DPPH dan BSLT seperti tersebut di atas. Fraksi yang paling aktif dipilih, dikumpulkan, dan diisolasi dengan kromatografi lapis tipis preparatif.

**Isolasi fraksi teraktif dengan kromatografi lapis tipis preparatif.** Fraksi yang paling aktif dengan pengujian DPPH dan BSLT (nilai  $IC_{50}$  dan  $LC_{50}$  paling rendah) dimurnikan lebih lanjut dengan KLT preparatif. Fraksi dilarutkan dengan kloroform-metanol (1:1) dan ditotolkan berupa garis pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub> preparatif, kemudian dieluasi dengan kloroform-metanol (50:1).

Bercak berupa pita diamati dan ditandai di bawah lampu UV 254 nm. Setiap bercak pita dikerok dengan spatula, kemudian masing-masing pita diekstraksi dengan kloroform-metanol (1:1), disaring dan filtrat diuapkan.

Isolat yang dihasilkan dari KLT preparatif diuji aktivitasnya dengan penyemprotan DPPH 0,04 %, karena bobot isolat yang diperoleh sangat kecil. Isolat yang berpotensi sebagai antioksidan akan menimbulkan bercak berwarna kuning dengan latar belakang warna ungu<sup>(12)</sup>. Isolat paling aktif selanjutnya diidentifikasi dengan kromatografi gas spektrometer massa (KG-SM).

**Identifikasi isolat teraktif dengan kromatografi gas spektrometer massa.** Senyawa isolat yang paling aktif terhadap DPPH diidentifikasi dengan kromatografi gas spektrometer massa menggunakan sistem Hewlett Packard HP 6890, spektrometer massa Hewlett Packard tipe MSD 5972, kolom kapiler Agilent, tipe Ultra 2, diameter 0,2 mm, 17 m, gas pembawa helium, aliran gas konstan 0,9 mL per menit, dan volume injeksi 5 µl.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Ekstraksi dan partisi ekstrak.** Ekstraksi 500 g *Caulerpa sertularioides* dengan cara maserasi kemudian dievaporasi dan dibekukeringkan menghasilkan 15,940 g ekstrak air berwarna coklat kehijauan, 1,66 g ekstrak *n*-heksan berwarna hijau, dan 1,361 g ekstrak kloroform berwarna hijau kehitaman.

**Uji aktivitas ekstrak terhadap DPPH.** Gambar 2 menunjukkan kurva aktivitas antioksidan setiap ekstrak dan kontrol vitamin C terhadap DPPH. Persamaan garis regresi vitamin C adalah  $y = 43,0186 + 0,331x$ ; persamaan garis regresi ekstrak A adalah  $y = 3,9219 + 0,1409x$ ; persamaan garis regresi ekstrak H adalah  $y = 2,5536 + 0,0522x$  dan persamaan garis regresi ekstrak K adalah  $y = 1,798 + 0,738x$ .

Nilai  $IC_{50}$  vitamin C diperoleh 21 µg/ml, yang lebih besar dibandingkan  $IC_{50}$  menurut literatur (18,2 µg/ml)<sup>(12)</sup>. Perbedaan sekitar 17% dinilai tidak signifikan karena analisis berkaitan dengan radikal yang tidak stabil, atau mungkin karena vitamin C telah mengalami kerusakan selama penyimpanan.

Hasil uji dengan DPPH menunjukkan bahwa ekstrak A memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak H atau ekstrak K. Nilai  $IC_{50}$  untuk ekstrak A, ekstrak H dan ekstrak K masing-masing adalah 327 µg/ml, 909 µg/ml, dan 653 µg/ml. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak A, ekstrak H dan ekstrak K sangat besar dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  vitamin C, yang menunjukkan bahwa senyawa yang

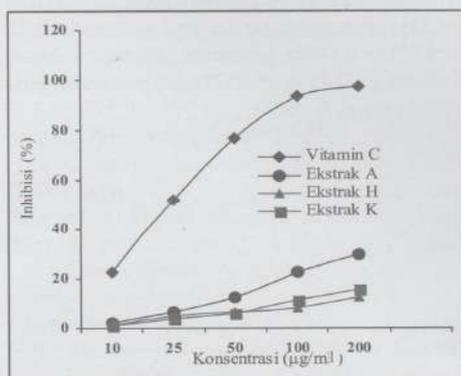
terkandung dalam ketiga ekstrak *Caulerpa sertularioides* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kecil bila dibandingkan dengan vitamin C.

**Uji toksisitas ekstrak dengan BSLT.** Metoda BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach adalah metoda untuk menguji toksisitas bahan alam yang sederhana dengan tingkat kepercayaan 95 %<sup>(12,16)</sup>. Suatu sampel dinyatakan sangat toksik bila mempunyai  $LC_{50} \leq 30$  i g/mL, dinyatakan toksik bila mempunyai  $LC_{50} = 1000$  i g/ml dan dinyatakan tidak toksik bila mempunyai  $LC_{50} > 1000$  i g/ml<sup>(11,13,14)</sup>.

Persamaan garis regresi toksisitas ekstrak A diperoleh  $y = 3,61 + 0,675x$ ; toksisitas ekstrak H adalah  $y = 3,96 + 0,82x$  dan toksisitas ekstrak K adalah  $y = 3,41 + 0,74x$ . Ternyata ekstrak A memiliki toksisitas tertinggi dibandingkan dengan ekstrak K maupun ekstrak H (Gambar 3).

Ekstrak A memiliki aktivitas antioksidan tertinggi terhadap DPPH dengan  $IC_{50}$  sebesar 327  $\mu$ g/ml dan toksisitas tertinggi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan  $LC_{50}$  sebesar 115  $\mu$ g/ml dibandingkan ekstrak H dan ekstrak K, dan juga memiliki rendemen isolasi tertinggi. Oleh karena itu ekstrak A yang berasal dari fraksi air digunakan untuk isolasi dan identifikasi selanjutnya.

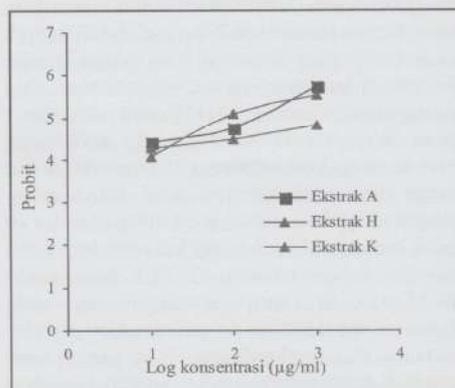
**Pemeriksaan ekstrak paling aktif dengan kromatografi lapis tipis.** Pemeriksaan pola bercak senyawa-senyawa dalam ekstrak air dengan KLT dan eluen kloroform-metanol-air (5:5:1), kloroform-metanol (5:1), *n*-heksan-etil asetat (2:1), dan selanjutnya dengan kloroform-metanol perbandingan (10:1), (20:1), (40:1) dan (50:1), menunjukkan bahwa kloroform-metanol (50:1) memberikan hasil pemisah-



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak A, ekstrak H dan ekstrak K, dan kontrol vitamin C. (A berasal dari fraksi air, H berasal dari fraksi heksan, K berasal dari fraksi kloroform)

an komponen senyawa yang terbaik.

Analisis dengan KLT pada ekstrak air menunjukkan pemisahan lima senyawa dengan nilai  $Rf_1 = 0,95$ ;  $Rf_2 = 0,73$ ;  $Rf_3 = 0,48$ ;  $Rf_4 = 0,28$  dan satu komponen terdapat pada titik penotolan ( $Rf_5 = 0$ ) yang diduga merupakan senyawa polar ke semi polar. Komposisi



Gambar 3. Hasil uji toksisitas pada ekstrak A, ekstrak H, dan ekstrak K terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

kloroform-metanol (50:1) digunakan sebagai dasar untuk selanjutnya pemisahan dengan kromatografi kolom.

Fraaksinasi 2 g ekstrak air dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 (70-230 mesh) dan fase gerak kloroform-metanol (50:1) didapat 135 fraksi masing-masing sekitar 15 ml dalam tabung reaksi. Pemeriksaan fraksi-fraksi dengan KLT tidak dapat menghasilkan pemisahan senyawa yang bermakna. Oleh karena itu fraksi hanya dikelompokkan menjadi satu fraksi semi polar (fraksi I) dan satu fraksi polar (fraksi II).

**Uji aktivitas fraksi dengan DPPH.** Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH terhadap kedua fraksi memberikan persamaan garis regresi  $y = 42,528 + 0,3371x$  untuk vitamin C; persamaan garis regresi  $y = 6,3754 + 0,1339x$  untuk fraksi I; dan persamaan garis regresi  $y = 4,6115 + 0,0728x$  untuk fraksi II.

Hasil uji menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  fraksi I (326  $\mu$ g/ml) lebih rendah daripada nilai fraksi II (623  $\mu$ g/ml) (Gambar 4). Nilai  $IC_{50}$  fraksi I sebesar 326  $\mu$ g/ml ini tidak berbeda dari nilai  $IC_{50}$  ekstrak air (327  $\mu$ g/ml) pada pengujian awal.

**Uji toksisitas fraksi dengan BSLT.** Uji toksisitas terhadap fraksi I dan fraksi II dengan BSLT memberikan persamaan garis regresi  $y = 3,2733 + 0,945x$  untuk fraksi I dan  $y = 3,7267 + 0,0435x$  untuk fraksi II (Gambar 5). Hasil uji menunjukkan bahwa

nilai  $LC_{50}$  fraksi I ( $67 \mu\text{g/ml}$ ) jauh lebih rendah dari pada nilai  $LC_{50}$  fraksi II ( $846 \mu\text{g/ml}$ ), yang berarti bahwa fraksi I maupun fraksi II bersifat toksik dengan tingkat toksisitas fraksi I jauh lebih tinggi dari fraksi II.

Dengan demikian, fraksi I memiliki aktivitas antioksidan tertinggi terhadap DPPH dengan  $IC_{50}$   $326 \mu\text{g/ml}$  dan bioaktivitas lebih tinggi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach ( $LC_{50}$   $67 \mu\text{g/ml}$ ) dibandingkan fraksi II, serta memiliki rendemen tertinggi. Oleh karena itu untuk isolasi dan identifikasi selanjutnya hanya digunakan fraksi I. Fraksi II atau fraksi polar sampai tahap ini dapat dinyatakan tidak bermanfaat sebagai antioksidan atau senyawa toksik.

**Isolasi fraksi dengan kromatografi lapis tipis preparatif.** Pita bercak yang dikerok, diekstraksi dengan kloroform-metanol (1:1), lalu filtrat diuapkan

hingga kering, menghasilkan lima pita sebagaimana dalam Tabel 1. Isolat yang diperoleh dari kromatografi lapis tipis preparatif diperiksa kembali dengan kromatografi lapis tipis.

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa setiap isolat menghasilkan satu bercak dengan  $Rf_1 = 0,95$ ,  $Rf_2 = 0,725$ ,  $Rf_3 = 0,475$ ,  $Rf_4 = 0,275$ , dan satu komponen terdapat pada titik penolakan ( $Rf_5 = 0,00$ ) yang diduga merupakan senyawa polar yang tidak terbawa oleh eluen yang sangat semi polar.

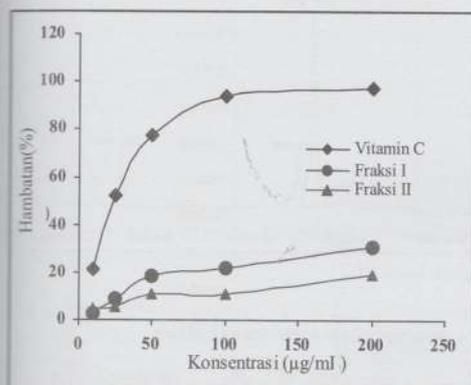
**Uji aktivitas isolat dengan penyemprotan DPPH 0,04%.** Uji aktivitas dengan DPPH pada isolat-isolat kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa ternyata hanya isolat III yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan timbulnya bercak berwarna kuning. Isolat III berpotensi sebagai antioksidan dengan menimbulkan bercak berwarna kuning dengan latar belakang warna ungu<sup>(12)</sup>.

**Identifikasi isolat teraktif dengan kromatografi spektrometer massa.** Identifikasi isolat III dengan kromatografi gas spektrometri massa menunjukkan pola kromatogram sebagaimana pada Gambar 6. Kromatogram isolat III menunjukkan bahwa isolat masih mengandung beberapa senyawa, walaupun saat dianalisis dengan KLT hanya tampak satu bercak. Analisis dengan spektrometer massa dibandingkan dengan senyawa-senyawa dari database, dan dipilih hanya yang memiliki kemiripan lebih besar atau sama dengan 90%.

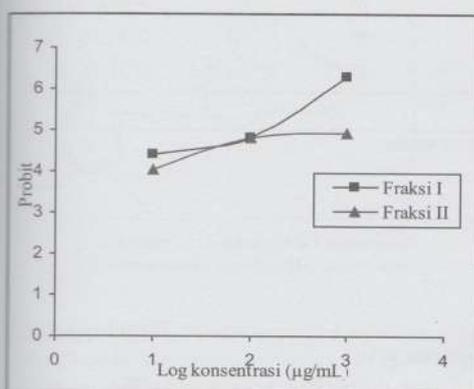
Identifikasi isolat III dengan spektrometer massa ditunjukkan pada Tabel 2. Diduga isolat mengandung senyawa oktakosan, 2-(fenilmetil) oktanal,  $\alpha$ -heksilsinamik aldehyd, metil palmitat, etil palmitat, asam stearat, etil stearat dan [(2-fluorofenil) metil]-1-H-purin-6-amin.

Berdasarkan data pustaka pada database PMW TOX2.L pola fragmentasi senyawa isolat dengan waktu retensi 19,199 memiliki kemiripan 91% dengan pola fragmentasi senyawa oktakosan dengan puncak paling kanan  $m/z$  394 yang merupakan bobot molekul senyawa (Gambar 7).

Berdasarkan data pustaka pada database WILEY-275.L pola fragmentasi senyawa isolat dengan waktu retensi 20,376 memiliki kemiripan 99% dengan pola



Gambar 4. Hasil uji aktivitas antioksidan pada fraksi hasil kromatografi kolom dan vitamin C.



Gambar 5. Hasil uji toksisitas pada fraksi hasil kromatografi kolom terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Tabel 1. Hasil pemurnian fraksi I dengan kromatografi lapis tipis preparatif

Isolat	Bentuk	Warna	Bobot (mg)
I	Padat	Putih	18,5
II	Padat	Putih	15,6
III	Padat	Hijau	10
IV	Padat	Putih	8,2
V	Padat	Coklat	25,1

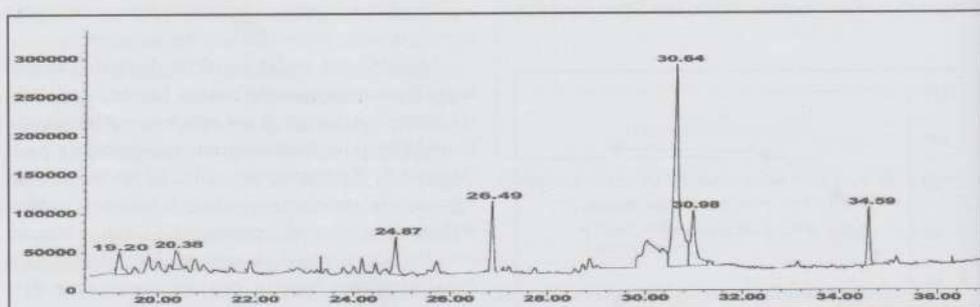
fragmentasi senyawa 2-(fenil metil) oktanal dengan puncak paling kanan  $m/z$  216 yang merupakan bobot molekul senyawa. Spektrum fragmentasi senyawa isolat dan struktur molekul 2-(fenil metil) oktanal dapat dilihat pada Gambar 8. Berdasarkan data pustaka pada data base WILEY275.L pola fragmentasi senyawa isolat dengan waktu retensi 34,59 memiliki kemiripan 90% dengan pola fragmentasi senyawa [(2-fluorofenil) metil]-1-H-purin-6-amin dengan puncak paling kanan  $m/z$  243 yang merupakan bobot molekul senyawa dengan puncak dasar pada  $m/z$  73.

Spektrum fragmentasi senyawa isolat dan rumus struktur [(2-fluorofenil) metil]-1-H-purin-6-amin dapat dilihat pada Gambar 9. Spektrum senyawa golongan asam lemak dan esternya tidak dilaporkan dalam

makalah ini.

Berdasarkan data pustaka pada database WILEY-275.L fragmentasi senyawa [(2-fluoro-fenil)metil]-1-H-purin-6-amin sebagai berikut 243( $M^+$ ), 205( $M^+ - C_2N$ ), 181( $M^+ - C_3N_2$ ), 169 ( $M^+ - C_3H_{10}N_2$ ), 147 ( $M^+ - C_4H_6N_3$ ), 131 ( $M^+ - C_4H_8N_4$ ), 115 ( $M^+ - C_4H_5N_4F$ ), 97 ( $M^+ - C_6N_4F$ ), 73 ( $M^+ - C_5N_4F$ ), 58 ( $M^+ - C_9H_2N_4F$ ) dan 43 ( $M^+ - C_{10}H_3N_4F$ ) (Gambar 10).

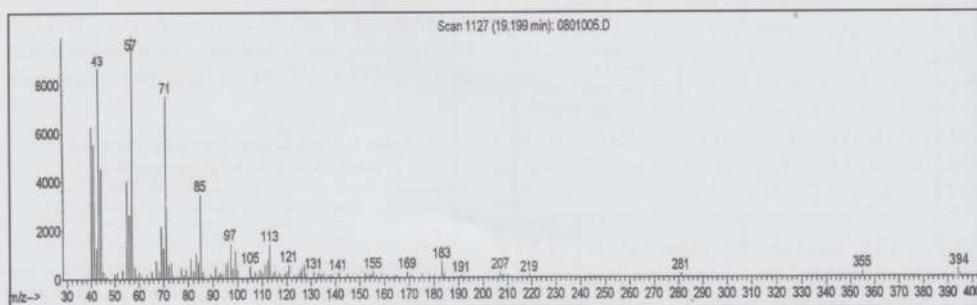
Mempertimbangkan bahwa senyawa antioksidan pada umumnya memiliki gugus hidroksil atau gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatis atau gugus amin yang terikat pada cincin aromatis<sup>(15)</sup>, maka dari kedelapan senyawa tersebut dalam isolat III (Tabel 2), diduga bahwa [(2-fluorofenil)metil]-1-H-purin-6-amin yang memiliki aktivitas antioksidan



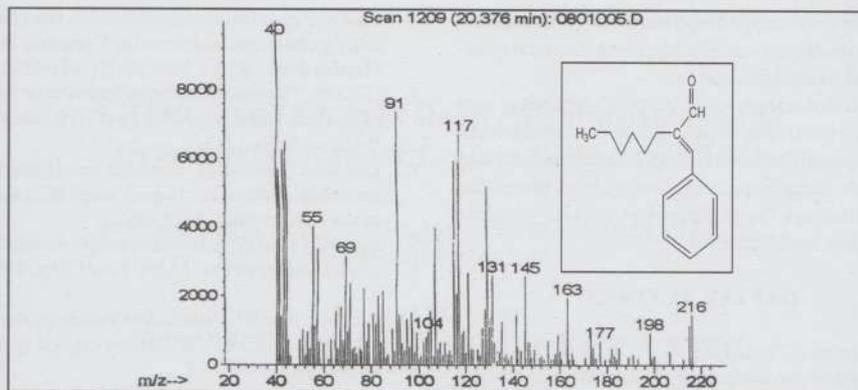
Gambar 6. Kromatogram isolat III.

Tabel 2. Hasil identifikasi isolat III dengan kromatografi gas spektrometer massa

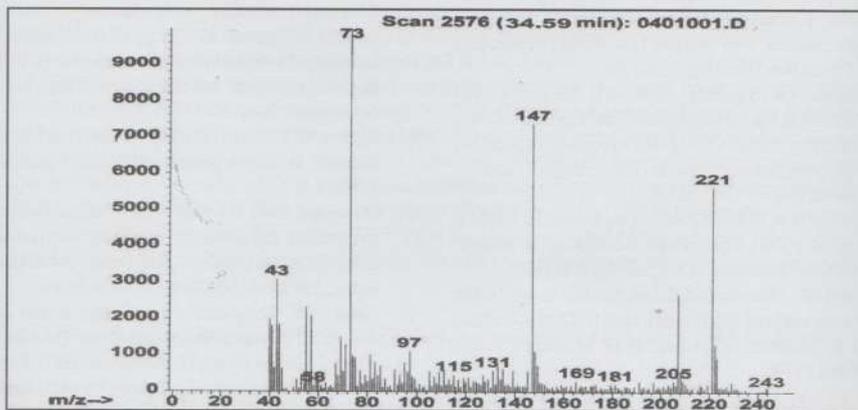
Waktu Retensi (menit)	Data Pustaka	Kemiripan (%)	$m/z$	Rumus Molekul
19,199	Oktakosan	91	394	$C_{28}H_{58}$
20,378	2-(fenil metil) oktanal	99	216	$C_{15}H_{20}O$
	A-heksilsinamik aldehid	98	216	$C_{15}H_{20}O$
24,866	Metil palmitat	93	270	$C_{17}H_{34}O_2$
26,487	Etil palmitat	95	284	$C_{18}H_{36}O_2$
30,633	Asam stearat	94	284	$C_{18}H_{36}O_2$



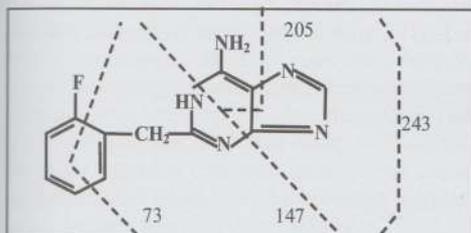
Gambar 7. Spektrum fragmentasi senyawa isolat pada waktu retensi 19,199 menit.



Gambar 8. Spektrum fragmentasi senyawa isolat pada waktu retensi 20,376 dan struktur molekul 2-(fenilmetil) oktanal.



Gambar 9. Spektrum fragmentasi senyawa isolat pada waktu retensi 34,59 dan struktur molekul [(2-fluorofenil) metil]-1-H-purin-6-amin.



Gambar 10. Analisis pola fragmentasi [(2-fluorofenil) metil]-1-H-purin-6-amin.

terhadap DPPH karena senyawa tersebut dapat menyumbangkan proton terhadap DPPH sehingga terbentuk radikal bebas yang tidak reaktif dan relatif stabil.

## SIMPULAN

Ekstrak *Caulerpa sertularioides* mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak (kering) air dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 327  $\mu\text{g/ml}$ , jauh lebih rendah daripada vitamin C yang menunjukkan nilai  $IC_{50}=21$   $\mu\text{g/ml}$ . Toksisitas tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak (kering) air dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 115  $\mu\text{g/ml}$ .

Pemurnian lebih jauh pada ekstrak (kering) air secara kromatografi kolom dan KLT preparatif menghasilkan lima isolat, namun hanya isolat III yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan toksisitas. Analisis dengan kromatografi gas spektrometri massa pada isolat III menunjukkan bahwa 7 senyawa teridentifikasi-

si, namun diantaranya hanya senyawa [(2-fluorofenil) metil]-1-H-purin-6-amin yang paling mungkin mempunyai aktivitas antioksidan.

Ekstraksi dalam jumlah yang lebih besar agar diperoleh lebih banyak ekstrak air, pemurnian isolat III serta pemeriksaan lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan spektrofotometri infra merah dan NMR sehingga dapat dipastikan struktur senyawa aktif dalam isolat tersebut.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Suhartini S. Penapisan awal *Caulerpa racemosa*, *Sesuvium portulacastrum*, *Xylocarpus granatum* dan *Ulva lactuca* sebagai antimikroba [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor; 2003.hal.1-5.
2. Jana A. Teknologi produk perikanan dalam industri farmasi: potensi dan pemanfaatan makro-algae laut Bogor. Jakarta: Tim Rumpuk Laut Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi; 1993.hal.1, 5, 7.
3. Darusman LK, Sajuthi D, Sutriah K dan Pamungkas D. Ekstraksi komponen bioaktif sebagai bahan obat dari kerang, bunga karang dan ganggang di perairan pulau pari, kepulauan seribu. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 1992.hal. 8.
4. Atmadja WS, Kadi A, Sulistijo, Satari R, editors. Pengenalan jenis-jenis rumput laut Indonesia. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI; 1994.hal.21, 158.
5. Fenical W. Diterpenoid dalam produk alami lautan dari segi kimiawi dan biologi. Jilid II. Diterjemahkan oleh P.J. Scheur. Semarang: IKIP Semarang Press; 1995.hal.177-8.
6. Sri ER. Pemanfaatan makroalga oleh masyarakat di teluk pedada, padang cermin, Lampung Selatan: Majalah Ilmiah Widya. 2000; XVII (181): 42-8.
7. Hill MN. The seas ideas and observation on progress in the study of the seas. Vol 2. New York: Interscience Publisher; 1963.p.183-7.
8. Lembaga Oseanologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Rumput laut (algae): manfaat, potensi dan usaha budi-dayanya, 1978.hal.7.
9. Yen GC, Chen HY. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. J Agric Food Chem. 1997; 30-4.
10. Yen GC, Chen HY. Antioxidant activity of various tea extract in relation to their antimutagenicity. J Agric Food Chem. 1995;27-32.
11. Anderson JE, Mc Laughlin. A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumor cell cytotoxicities studies as antitumor prescreens phytochemical analysis. 1991;2:107-11.
12. Windono T, Soedirman S, Yudawati U, Ermawati E, Srielita A, Erawati TI. Uji peredaman radikal bebas terhadap 1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl (DPPH) dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinifera* L). Artocarpus. 2001;34-43.
13. Mayer BN. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Medica. 1982;31-4.
14. Colegate SM, RJ Molyneux. Bioactive natural products, detection, isolation and structural determination. London: CRC Press, Boca Raton Ann Arbor; 1993.p.442-54.
15. Ketaren S. Pengantar minyak dan lemak pangan. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 1986.hal.45-9.
16. Alam G. *Brine shrimp lethality test* (BSLT) sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. Majalah Farmasi dan Farmakologi. 2002; 423-5.