

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS EKSTRAK LAMUN *CYMODOCEA* SP.

*Antioxidant Activity and Toxicity of Seagrass *Cymodocea* sp. Extracts*

Alvika Hayyu Chandra Permana, Amir Husni*, Siti Ari Budhiyanti

Jurusan Perikanan - Fakultas Pertanian - Universitas Gadjah Mada

Jl. Flora Gedung A4 Bulaksumur Yogyakarta

*Penulis Korespondensi: email: a-husni@ugm.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui bagian-bagian lamun *Cymodocea* sp. yang berpotensi sebagai antioksidan dan uji toksisitasnya. Ekstrak daun dan batang *Cymodocea* sp. dibuat dengan cara maserasi menggunakan tiga macam pelarut, yaitu metanol, etil asetat, dan n-heksan. Pengujian kadar total fenol menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*. Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), sedangkan kadar toksisitas dilakukan dengan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *Cymodocea* sp. mempunyai kandungan total fenol paling tinggi (26.73 mg GAE/g ekstrak) dengan aktivitas antioksidan (IC50) sebesar 518.57 ppm. Berdasarkan nilai IC50, sampel tersebut tergolong antioksidan lemah. Hasil uji toksisitas menunjukkan semua sampel *Cymodocea* sp. bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Ekstrak etil asetat daun *Cymodocea* sp. mempunyai toksisitas terbesar dengan nilai LC50 sebesar 67.14 ppm. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *Cymodocea* sp. mengandung senyawa golongan saponin, steroid, flavanoid, fenol hidrokuinon, dan terpenoid.

Kata kunci : Antioksidan, *Artemia salina*, BSLT, DPPH

ABSTRACT

*This research has been done to find out the part of seagrass *Cymodocea* sp. which has potential of antioxidant and to evaluate its toxicity. Leaves and stems extract of *Cymodocea* sp. were made by macerating with three kinds of solvent, i.e. methanol, ethyl acetate, and n-hexane. The examination of total phenol was determined using *Follin-Ciocalteu* method. The laboratory experiments of antioxidant activities was done by spectrophotometrical method using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) while the level of toxicity was done by BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). The results showed that methanol extract of *Cymodocea* sp. leaves had the highest in total phenolic compounds (26.73 mg GAE/g extract) with the antioxidant activity (IC50) of 518.57 ppm. Based on value of IC50, sample that mentioned appertained weak antioxidant. The determination of toxicity result showed that all samples of *Cymodocea* sp. were toxic to the shrimp larva *Artemia salina* Leach. The ethyl acetate extract of *Cymodocea* sp. leaves had the most toxicity with the LC50 of 67.14 ppm. The phytochemical test showed that *Cymodocea* sp. extract contained saponin, steroids, flavanoids, phenol hydroquinone, and terpenoids class*

Keywords: Antioxidant, *Artemia salina*, BSLT, DPPH

PENDAHULUAN

Perairan laut memiliki keanekaragaman biota laut sangat tinggi yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan. Pemanfaatan biota laut saat ini, bukan hanya sekadar untuk konsumtif saja, tetapi mengarah kepada penelitian yang lebih maju, seperti penemuan obat-obatan berbahan dasar biota laut (Rasyid, 2008). Lamun (*seagrass*) merupakan salah satu ekosistem yang subur dan cukup potensial untuk dapat dimanfaatkan. Sekarang ini, lamun belum mempunyai nilai ekonomi yang penting. Lamun *Cymodocea* sp. secara tradisional dimanfaatkan sebagai pakan penyu, lumba-lumba, dan duyung. *Cymodocea* sp. hidup di daerah tropis dan diduga memiliki sistem pertahanan untuk menahan radiasi sinar UV dengan cara memproduksi metabolit sekunder berupa antioksidan (Ukhty, 2011). Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap aktivitas antioksidan pada beberapa spesies lamun, diantaranya *Posidonia oceanic* (Sureda *et al.*, 2008), *Syringodium isoetifolium* (Ukhty, 2011), *Enhalus acoroides* (Kannan *et al.*, 2010; Rumiantin, 2011). Ravikumar *et al.* (2011) menyatakan bahwa *Cymodocea serrulata* dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Serratia sp.*, dan *Vibrio parahaemolyticus*. Ekstrak etanol dari *Cymodocea nodosa* mempunyai aktivitas antijamur paling tinggi terhadap *Asprogillus flavus*, *Asprogillus fumigatus*, *Alternaria alternatum* dibandingkan dengan lamun *Ruppia cirrhosa* dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* (El-Hady *et al.*, 2007). Berbagai penelitian tersebut menunjukkan bahwa lamun berpotensi memiliki kandungan bioaktif dan sumber antioksidan alami.

Penelitian tentang lamun *Cymodocea* sp. di Indonesia pada umumnya mengkaji tentang sebaran, keanekaragaman, dan aspek ekologiannya, sedangkan kajian tentang senyawa organik dan pemanfaatannya belum banyak dilakukan. Selain itu, informasi yang telah dipublikasikan juga sangat sedikit, sehingga potensi *Cymodocea* sp. di Indonesia juga belum banyak diketahui. Masih kurangnya data ilmiah yang mendukung pemanfaatan lamun *Cymodocea* sp. mendorong perlunya dilakukan penelitian mengenai metabolit sekunder lamun. Aktivitas

antioksidan pada lamun *Enhalus acoroides* telah diuji Rumiantin (2011) dengan menggunakan tiga jenis pelarut berbeda yaitu metanol (polar), etil asetat (semi-polar) dan n-heksana (non-polar) untuk lebih mengetahui perbedaan hasil aktivitas antioksidannya. Namun, belum ada penelitian yang memisahkan bagian-bagian dari lamun seperti bagian daun dan bagian rimpang atau batang untuk diuji kandungan antioksidannya dan kandungan senyawa bioaktif lain seperti senyawa antitumor. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi maksimal aktivitas antioksidan pada bagian daun dan batang lamun *Cymodocea* sp. serta menguji toksisitasnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari lamun *Cymodocea* sp. dari Pantai Sepanjang, Gunung Kidul, Yogyakarta, metanol (Sigma), etil asetat (Sigma), n-heksan (Sigma), etanol (Sigma), Na_2CO_3 5% (Sigma), FeCl_3 (Sigma), reagen Folin-Ciocalteu 50% (Sigma), asam galat (Sigma), *diphenil-picrylhydrazil* (DPPH) (Merck), *butylated hydroxytoluene* (BHT) (Merck), asam sulfat, asam klorida, asam asetat glacial, pereaksi dragendorff, meyer, wagner, serbuk magnesium, telur *A. salina* Leach, air laut, dan akuades.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kantung plastik, pipet tetes, erlenmeyer (IWAKI pyrex), kertas saring Whatman 42, *vacuum rotary evaporator* (Laborota 400 Efficient Heidolph), oven (Eyela WFO-601SD), spektrofotometer UV-VIS (Genesys 20), kuvet, mikropipet 10-1000 μL , mikropipet 20-250 μL , wadah penetasan telur dengan 2 tipe ruang (terang dan gelap), kipas angin, dan aerator.

Metode

a. Pengambilan, Preparasi, dan Identifikasi Lamun *Cymodocea* sp.

Pengambilan lamun *Cymodocea* sp. dilakukan di Pantai Sepanjang, Gunung Kidul, Yogyakarta. Lamun yang telah dikumpulkan dibersihkan dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan dibersihkan kembali

dengan air tawar untuk menghilangkan garam yang masih menempel. Sampel segar dimasukkan dalam kantong plastik kemudian disimpan pada suhu -18°C . Identifikasi lamun yang telah diperoleh dilakukan menggunakan acuan Kunci Identifikasi Lamun di Indonesia dimodifikasi dari Den Hartog (1971), Short *et al.* (2007), dan Phillips dan Menez (1988).

Ekstraksi *Cymodocea* sp.

Cymodocea sp. diekstrak dalam keadaan yang sudah dikeringkan dengan sinar matahari selama 7 jam, mulai dari jam 08.00-15.00, selama 4 hari dengan kadar air berkisar antara 16.20%-18.76%, kemudian dihaluskan sehingga diperoleh bubuk sampel kering, dan ditimbang. Lamun yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 20 g dan ditambahkan pelarut sebanyak 120 ml (1:6). Ekstraksi bahan aktif dilakukan dengan mengacu pada Juniarti *et al.* (2009) yang telah dimodifikasi.

Kandungan Total Fenol

Larutan ekstrak 0.5 ml ditambahkan 5 ml akuades, 1 ml etanol, dan 0.5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* 50% (v/v). Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 1 ml Na_2CO_3 5% (b/v). Campuran dihomogenkan lalu diinkubasi dalam kondisi gelap selama satu jam. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 725 nm. Asam galat digunakan sebagai standar dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 mg/l. Nilai total fenol lamun *Cymodocea* sp. dinyatakan dalam mg *Galic Acid Equivalent* (GAE)/g ekstrak (Ukhty, 2011).

Screening Fitokimia (Harborne, 1987)

Screening fitokimia yang dilakukan meliputi alkaloid, steroid atau triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, dan tanin. Screening ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif yang terdapat pada *Cymodocea* sp.

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan kemampuan sampel yang digunakan dalam mereduksi radikal bebas

stabil DPPH (Ukhty, 2011). Ekstrak daun dan batang *Cymodocea* sp. dari ketiga pelarut dibuat menjadi 6 seri pengenceran dengan tiga kali ulangan, yaitu 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm. *Butil Hidroksi Toluena* (BHT) digunakan sebagai pembanding dan kontrol positif dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Sebanyak 1 ml dari masing-masing seri pengenceran ditambah 1 ml etanol dan 1 ml DPPH 0.15 mM. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi ruang gelap (dilapisi dengan aluminium foil) pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 517 nm dan setiap sampel diukur triplo. Perhitungan persen penghambatan (inhibisi) aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Penghambatan(\%)} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Grafik dibuat antara konsentrasi sampel (x) dengan persen penghambatan (y). IC_{50} ekstrak dan BHT dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi $y = a(x)+b$, dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai IC_{50} .

Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas tahap awal menggunakan hewan uji *Artemia salina* dilakukan terhadap daun dan batang lamun dari ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana. Telur udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam air laut dengan bantuan lampu TL, kemudian larva udang yang telah menetas dan berusia kurang lebih 48 jam dimasukkan ke dalam sampel. Jumlah larva udang yang mati dan yang masih hidup dihitung untuk menentukan tingkat toksisitasnya, yaitu nilai LC_{50} (Juniarti *et al.*, 2009).

Analisis Data

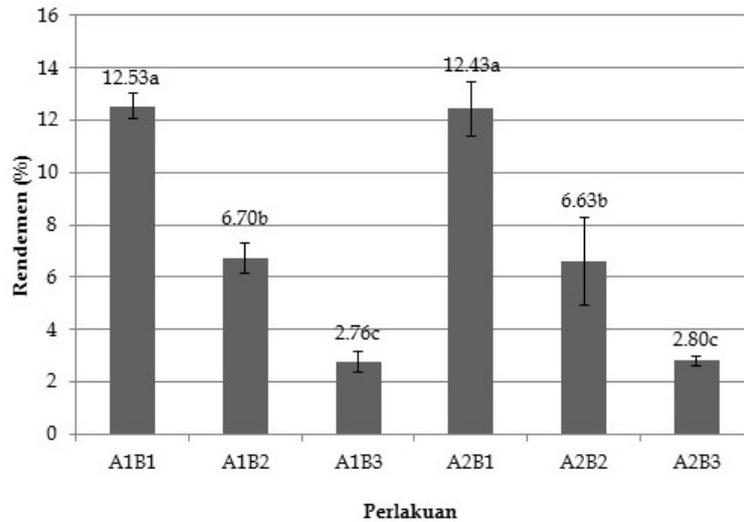
Data dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila hasil ANOVA ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

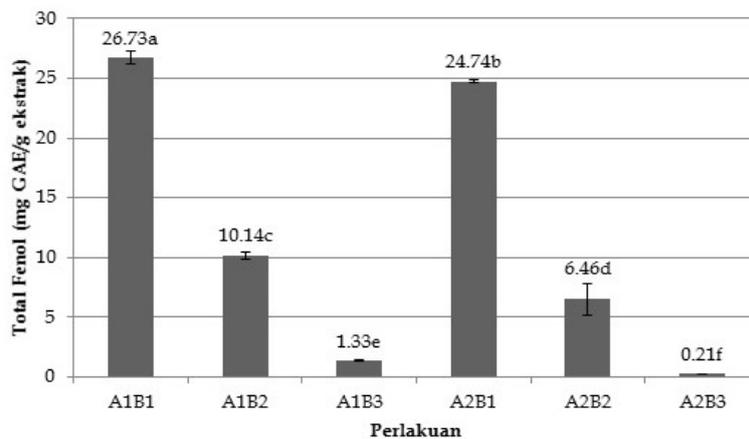
Rendemen

Ekstraksi *Cymodocea* sp. dengan pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksan menghasilkan ekstrak dengan rendemen terbesar adalah ekstrak kasar daun dan batang *Cymodocea* sp. dengan pelarut metanol masing-masing sebesar 12.53% dan 12.43%, sedangkan yang terendah dihasilkan oleh ekstrak kasar daun dan batang dengan pelarut n-heksan masing-

masing sebesar 2.76% dan 2.80%. Rendemen *Cymodocea* sp. dapat dilihat pada Gambar 1. Rendemen ekstrak daun dan batang *Cymodocea* sp. lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen ekstrak kasar lamun *Syringodium isoetifolium* (Ukhty, 2011) dan lamun *Enhalus acoroides* (Rumiantin, 2011), namun lebih rendah dari rendemen *Thalassia hemprichii* (Putri, 2011). Banyaknya rendemen ini bergantung kepada sifat kelarutan komponen bioaktifnya.



Gambar 1. Pengaruh perlakuan (A1B1=daun dengan pelarut metanol; A1B2=daun dengan pelarut etil asetat; A1B3=daun dengan pelarut n-heksan; A2B1=batang dengan pelarut metanol; A2B2=batang dengan pelarut etil asetat; A2B3=batang dengan pelarut n-heksan) terhadap rendemen ekstrak *Cymodocea* sp. Angka pada diagram batang yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata ($p < 0.05$)



Gambar 2. Pengaruh perlakuan (A1B1=daun dengan pelarut metanol; A1B2=daun dengan pelarut etil asetat; A1B3=daun dengan pelarut n-heksan; A2B1=batang dengan pelarut metanol; A2B2=batang dengan pelarut etil asetat; A2B3=batang dengan pelarut n-heksan) terhadap total fenol ekstrak *Cymodocea* sp. Angka pada diagram batang yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata ($p < 0.05$)

Perbedaan jenis pelarut mempengaruhi jumlah ekstrak kasar yang dihasilkan, pelarut metanol memiliki rendemen paling tinggi terhadap ekstrak kasar daun dan batang, diikuti rendemen ekstrak etil asetat, dan rendemen ekstrak n-heksan secara berturut-turut. Tingginya rendemen yang terdapat pada pelarut metanol menunjukkan pelarut tersebut mampu mengekstrak lebih banyak komponen bioaktif yang lebih polar. Nilai rendemen terendah terdapat pada ekstrak dengan jenis pelarut n-heksan menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang bersifat non polar pada sampel jumlahnya sedikit. Tingginya rendemen ekstrak metanol daun dan batang *Cymodocea* sp. dapat diartikan bahwa komponen senyawa yang terkandung dalam *Cymodocea* sp. sebagian besar merupakan senyawa polar.

Total Fenol

Kandungan total fenol dalam ekstrak kasar daun dan batang *Cymodocea* sp. pada pelarut yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total fenol paling besar terdapat pada ekstrak kasar daun *Cymodocea* sp. dengan pelarut metanol sebesar 26.73 mg GAE/g ekstrak, sedangkan total fenol terkecil terdapat pada ekstrak kasar batang *Cymodocea*

sp. pelarut n-heksan sebesar 0.21 mg GAE/g ekstrak. Hasil ini sama dengan penelitian Santoso *et al.* (2012) yang menjelaskan bahwa ekstraksi dengan metanol dari *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* menghasilkan total fenol yang tinggi. Kannan *et al.* (2010) juga menunjukkan bahwa penggunaan etanol dapat mengekstrak lebih banyak total fenol dari *E. acoroides* sebesar 0.323 mg TAE/g. Jenis pelarut sangat berpengaruh terhadap kadar total fenol. Pemilihan pelarut pada suatu bahan harus didasarkan pada sifat kepolaran dari pelarut yang digunakan dan sifat dari komponen yang akan dilarutkan. Komponen fenolik dapat diekstraksi dari bahan tumbuhan dengan menggunakan pelarut seperti air, metanol, etanol, aseton, etil asetat.

Uji lanjut Duncan total fenol *Cymodocea* sp. pada penelitian ini menunjukkan bahwa faktor jenis pelarut dan bagian *Cymodocea* sp. (daun dan batang) berbeda nyata terhadap kadar total fenol yang dihasilkan. Pelarut metanol dapat mengekstrak senyawa fenol dalam jumlah yang besar dibandingkan dengan etil asetat dan n-heksan. Ekstrak kasar daun dan batang lamun menggunakan pelarut n-heksan memperoleh total fenol dalam jumlah kecil. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenol yang terdapat pada *Cymodocea* sp. cenderung

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar *Cymodocea* sp.

Uji Fitokimia	Perlakuan						Standar (warna)
	A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3	
Meyer	-	-	-	-	-	-	Endapan putih kekuningan
Dragendorff	-	-	-	-	-	-	Endapan merah atau jingga
Wagner	-	-	-	-	-	-	Endapan coklat
Steroid	-	+	-	-	+	-	Terbentuk warna biru dan hijau
Terpenoid	-	-	+	-	-	+	Terbentuk warna merah
Flavanoid	-	+	-	-	+	-	Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau
Fenol hidrokuinon	-	+	-	-	+	-	Warna hijau atau hijau biru
Saponin	+	-	-	+	-	-	Terbentuk busa
Tanin	-	-	-	-	-	-	Merah tua

dapat larut dalam pelarut polar dan semi polar. Kandungan senyawa fenol pada sampel menentukan adanya kandungan antioksidan. Semakin tinggi kadar fenolik total yang terdapat di dalam ekstrak maka semakin besar pula potensi aktivitas antioksidannya (Melannisa *et al.*, 2011).

Kandungan total fenol yang terdapat pada ekstrak kasar daun *Cymodocea* sp. lebih tinggi daripada ekstrak kasar pada batang. Menurut Dumay *et al.* (2004) senyawa fenol lebih banyak terdapat pada bagian pertumbuhan lamun yang memiliki metabolisme tinggi dan bagian yang berklorofil. Daun lamun mampu menyerap gas dan zat hara langsung dari dalam air, mempunyai fungsi permukaan yang mampu melakukan fotosintesis secara maksimal (Dennison, 1987; Bulthuis, 1987; Invers *et al.*, 1997).

Fitokimia

Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Secara umum komponen fitokimia yang terdapat dalam *Cymodocea* sp. yang diperoleh dari ekstrak metanol pada daun dan batang yaitu senyawa saponin, ekstrak etil asetat pada daun dan batang diperoleh senyawa steroid, flavanoid, dan fenol hidrokuinon, sedangkan senyawa yang diperoleh dari hasil ekstrak n-heksan pada batang dan daun yaitu terpenoid. Senyawa saponin hanya terdapat pada ekstrak kasar metanol karena struktur kimia saponin memiliki gugus polar yang lebih kuat, sehingga hanya mampu diekstrak oleh pelarut metanol (polar).

Saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus terpenoid atau steroid sebagai gugus non-polar. Senyawa yang memiliki gugus polar dan non-polar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Gugus polar pada struktur misel menghadap keluar, sedangkan gugus non-polarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel. Saponin terdiri atas glikosida kompleks yaitu gugus glukosa dan triterpenoid, jika dihidrolisis maka terbentuk senyawa triterpenoid dan glikosida (gula) yang mengandung gugus hidroksil. Triterpenoid saponin dapat terjadi dalam bentuk bebas (*aglycone*) atau saponin, akan tetapi steroid saponin selalu dalam bentuk saponin dan tidak pernah

bebas sebagai *aglycone*. Senyawa yang mempunyai gugus fungsi hidroksil yang banyak atau dalam kondisi bebas (aglikon) mempunyai aktivitas antioksidan tinggi yang diikuti dengan kadar total fenol yang tinggi. Menurut Robinson (1995), saponin bersifat hipokolesterolemik, immunostimulator dan antikarsinogenik. Mekanisme antikarsinogenik saponin meliputi efek antioksidan dan sitotoksik langsung pada sel kanker.

Skrining fitokimia yang dilakukan oleh Rumiantin (2010) pada *Enhalus acoroides* mengandung senyawa flavanoid, fenol hidrokuinon, steroid, triterpenoid, tanin, dan saponin. *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle mengandung senyawa triterpenoid, steroid, tanin, dan flavanoid (Elfahmi *et al.*, 1997). Ravikumar *et al.* (2011) menyebutkan bahwa *Cymodocea serrulata* mempunyai senyawa fitokimia yang beragam yaitu alkaloid, asam karboksilat, kumarin, flavanoid, fenol, saponin, xantoprotein, protein, steroid, tannin, dan gula. Alkaloid dan tanin dalam *Cymodocea serrulata* berperan aktif sebagai senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen pada unggas, sedangkan *Cymodocea* sp. dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya senyawa alkaloid dan tanin karena tempat hidup atau kondisi lingkungan lamun tersebut berbeda yang mengakibatkan metabolit sekunder yang dihasilkan berbeda pula sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungannya.

Steroid atau terpenoid hanya terdeteksi pada pelarut semi polar dan non-polar, tetapi tidak terdeteksi pada pelarut polar yaitu metanol. Steroid ini diduga memiliki efek peningkat stamina tubuh (aprodisiaka) dan anti-inflamasi. Komponen terpenoid yang terdeteksi pada ekstrak kasar *Cymodocea* sp. ini diduga memiliki aktivitas antitumor. Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat diprediksi dari golongan saponin yang merupakan senyawa polar serta flavanoid dan fenol yang merupakan senyawa semi polar.

Senyawa fitokimia lamun *Cymodocea* sp. paling banyak terdapat pada ekstrak dengan pelarut etil asetat. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fitokimia dalam lamun *Cymodocea* sp. cenderung larut dalam pelarut semi polar. Proses ekstraksi dari jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan menghasilkan atau mengekstrak senyawa yang berbeda pula. Skrining fitokimia yang dilakukan ini hanya menguji beberapa senyawa yang dapat terekstrak ke dalam jenis pelarut sesuai dengan sifat kepolarannya. Simbala (2009) menyatakan

bahwa ekstrak n-heksan merupakan pelarut non polar sehingga yang dihasilkan adalah senyawa non-polar seperti terpenoid, minyak atsiri, lemak, dan asam lemak. Fraksi etil asetat, senyawa yang diuji berupa senyawa yang tingkat kepolarannya lebih tinggi dari fraksi sebelumnya. Senyawa yang diuji adalah flavonoid (Simbala, 2009). Robinson (1995) menyatakan bahwa penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pada pengujian flavonoid akan menyebabkan reduksi senyawa flavonoid yang ada, sehingga menimbulkan reaksi warna merah yang merupakan ciri adanya flavonoid pada ekstrak.

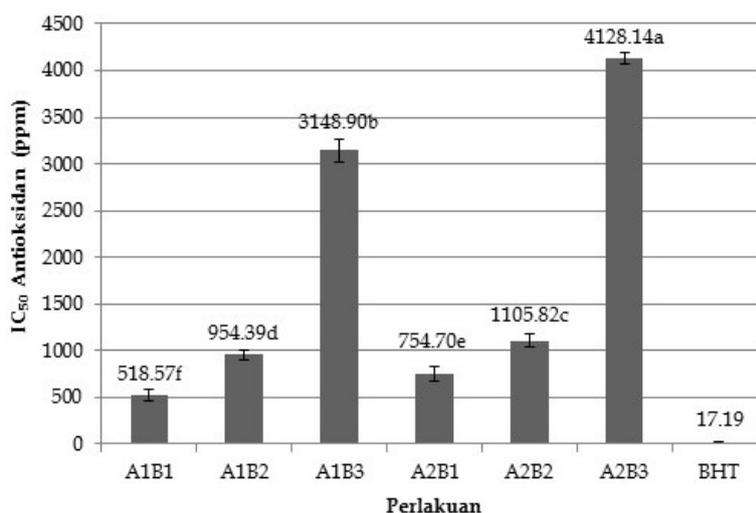
Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar daun dan batang *Cymodocea* sp. dapat dilihat pada Gambar 3. Perlakuan perbedaan jenis pelarut serta perbedaan bagian daun dan batang memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Ekstrak batang dengan pelarut n-heksan memiliki nilai IC_{50} tertinggi yaitu 4128.14 ppm dan terendah ada pada ekstrak daun dengan pelarut metanol yaitu 518.57 ppm. Hal tersebut mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan terkuat terdapat pada ekstrak kasar daun lamun pelarut metanol dibandingkan dengan ekstrak bagian lamun dengan pelarut lainnya. Ekstrak kasar metanol daun *Cymodocea* sp. memiliki aktivi-

tas antioksidan terendah jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada lamun jenis *Enhalus acoroides* (IC_{50} 115.76 ppm) (Rumiantin, 2011) dan *Thalassia hemprichii* dengan nilai IC_{50} 123.72 ppm (Putri, 2011), tetapi lebih tinggi jika dibandingkan dengan *Syringodium isoetifolium* (IC_{50} 520.21 ppm) (Ukhty, 2011). Perbedaan aktivitas antioksidan dari berbagai spesies lamun tersebut dapat terjadi karena metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan tersebut cenderung mengalami perubahan (evolusi) sebagai bagian dari proses adaptasi terhadap lingkungannya masing-masing.

Eksrak kasar daun dengan pelarut metanol mengandung kadar total senyawa fenol paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar daun dipengaruhi oleh kadar senyawa fenol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Melannisa *et al.* (2011) yang menunjukkan hubungan antara total fenol dan aktivitas antioksidan bahwa semakin tinggi kadar fenolik total yang terdapat di dalam ekstrak maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Keenam ekstrak kasar daun dan batang *Cymodocea* sp. juga memiliki aktivitas antioksidan, walaupun aktivitasnya tergolong lebih rendah dibandingkan dengan BHT (*Butil Hidroksi Toluena*), BHT memiliki potensi yang sangat besar sebagai salah satu



Gambar 3. Pengaruh perlakuan (A1B1=daun dengan pelarut metanol; A1B2=daun dengan pelarut etil asetat; A1B3=daun dengan pelarut n-heksan; A2B1=batang dengan pelarut metanol; A2B2=batang dengan pelarut etil asetat; A2B3=batang dengan pelarut n-heksan) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak *Cymodocea* sp. Angka pada diagram batang yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata ($p < 0.05$)

alternatif antioksidan yang digunakan untuk proses pengolahan bahan pangan. Akan tetapi, penggunaan BHT yang berlebihan akan menyebabkan keracunan pada dosis tertentu. Kadar maksimum BHT dalam bahan pangan adalah 200 ppm (Ketaren, 1986; Suh *et al.*, 2005; Echevarría *et al.*, 2014;).

Hasil analisa pengukuran antioksidan BHT dalam penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu sebesar 17.19 ppm (< 50 ppm) dan memiliki kemampuan 30 kali lebih efektif dalam mereduksi radikal bebas DPPH dibandingkan dengan ekstrak kasar metanol daun *Cymodocea* sp. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm (Molyneux, 2004).

Toksisitas

Pengujian toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan untuk menentukan tingkat toksisitas senyawa yang terkandung dalam suatu bahan sehingga dapat diketahui ambang batas toleransi keberadaan senyawa tersebut. Hasil uji toksisitas daun dan batang *Cymodocea* sp. dengan tiga macam pelarut terhadap larva udang *Artemia salina* L. yang disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian ketiga ekstrak dari bagian daun dan batang *Cymodocea* sp. menunjukkan adanya toksisitas terhadap *Artemia salina*. Aktivitas tertinggi diperoleh dari ekstrak etil asetat bagian daun *Cymodocea* sp. dengan nilai LC_{50} sebesar 67.14 ppm yang menurut klasifikasi Meyer *et al.* (1982) termasuk dalam kategori ekstrak yang bersifat toksik (LC_{50} 30-1000 ppm). Hal ini berarti kematian hewan uji

mencapai 50% saat konsentrasi ekstrak senyawa mencapai 67.14 ppm. Nilai LC_{50} yang kecil tersebut mengindikasikan tingginya aktivitas senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun *Cymodocea* sp. Semakin kecil nilai LC_{50} dari suatu senyawa bioaktif maka akan semakin toksik (berbahaya) keberadaan senyawa tersebut dalam tubuh (McLaughlin, 1991).

Ekstrak kasar etil asetat daun *Cymodocea* sp. kurang toksik jika dibandingkan dengan toksisitas ekstrak n-heksan *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle yang mempunyai LC_{50} 28.03 ppm dan diketahui senyawa yang terkandung dalam lamun tersebut yaitu asam palmitat, stigmasta-3,5-dien-7-on (sakarostenon), dan satu senyawa dengan bobot molekul 256 yang belum dapat diidentifikasi (Elfahmi *et al.*, 1997). Asam palmitat diketahui sangat toksik terhadap sel kanker.

Kandungan senyawa toksik dalam ekstrak etil asetat daun lamun memiliki aktivitas yang lebih tinggi daripada senyawa yang lebih polar dan non polar karena kandungan senyawa metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan dengan pelarut dan bagian lamun yang lain. Hasil analisis menunjukkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, mortalitas pada *Artemia salina* juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan Harborne (1987) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi terhadap hewan uji.

Keenam ekstrak bersifat toksik berkaitan dengan senyawa-senyawa yang terdapat dalam *Cymodocea* sp. yaitu saponin, steroid, terpenoid, fenol hidrokuinon, dan flavonoid yang pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina*. Saponin bersifat hipokolesterolemik, immunostimulator dan antikarsinogenik. Mekanisme antikarsinogenik saponin meliputi efek antioksidan dan sitotoksik langsung pada sel kanker. Flavonoid dalam pengobatan berfungsi sebagai antivirus dan antimikroba. Jika senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva *Artemia*, alat pencernaannya akan terganggu serta dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan (Rita *et al.*, 2008).

Tabel 2. Hasil uji toksisitas ekstrak kasar *Cymodocea* sp.

Perlakuan	LC_{50} (ppm)	Keterangan
A1B1	100.71	Toksik
A1B2	67.41	Toksik
A1B3	278.26	Toksik
A2B1	113.62	Toksik
A2B2	189.39	Toksik
A2B3	381.15	Toksik

Ekstrak etil asetat daun *Cymodocea* sp. bersifat paling toksik dibandingkan dengan perlakuan lainnya terhadap larva *Artemia salina* Leach karena senyawa yang terkandung di dalamnya adalah senyawa steroid. Senyawa steroid atau terpenoid dikenal sebagai salah satu golongan senyawa kimia dalam tanaman yang memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan, sehingga lamun *Cymodocea* sp. dapat dikembangkan sebagai bahan obat-obatan. Sebagian besar komponen terpenoid memiliki struktur lipofilik yang menyebabkan kerusakan membran sel sehingga menyebabkan kematian sel. Sifat non-polar terpenoid mudah menembus membran sel atau membran organel dalam sel pada sisi hidrofobik membentuk struktur misel. Terbentuknya ikatan antara senyawa non-polar (terpenoid) dengan bagian non-polar dari membran sel menyebabkan permeabilitas membran sel terganggu. Terpenoid juga memiliki efek sinergis bagi toksin lain dengan bertindak sebagai solven untuk memfasilitasi toksin bergerak melalui membran (Kartikasari, 2010). Efek toksik memberikan indikasi terganggunya proses pembentukan sel yang diasumsikan sebagai sel kanker.

SIMPULAN

Ekstrak kasar metanol daun *Cymodocea* sp. mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai IC_{50} 518.57 ppm dan total fenol 26.73 mg GAE/g ekstrak dibandingkan dengan ekstrak kasar etil asetat, n-heksan daun serta ekstrak kasar metanol, etil asetat, dan n-heksan batang *Cymodocea* sp. Ekstrak kasar daun *Cymodocea* sp. bersifat toksik pada konsentrasi 100.71 ppm (metanol), 67.14 ppm (etil asetat), dan 278.26 ppm (n-heksan). Ekstrak kasar batang *Cymodocea* sp. bersifat toksik pada konsentrasi 113.62 ppm (metanol), 189.39 ppm (etil asetat), dan 381.15 ppm (n-heksan).

DAFTAR PUSTAKA

- Bulthuis, D, A. 1987. Effects of temperature on photosynthesis and growth of seagrasses. *Aquatic Botany*. 27(1):27-40
- Den Hartog, C. 1971. *The Sea-grasses of The World*. North-Holland publishing. Amsterdam
- Dennison, W, C. 1987. Effects of light on seagrass photosynthesis, growth and depth distribution. *Aquatic Botany*. 27(1):15-26
- Dumay, O, Jean, C, Jean-Marie, D, Gérard, P. 2004. Variations in the concentration of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica* under conditions of competition. *Phytochemistry*. 65(24):3211-3220
- Echevarria, B, N, Manzanos, M, J, Goicoechea, E, Guillen, M, D. 2014. 2,6-Di-Tert-Butyl-Hydroxytoluene and Its Metabolites in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 14:67-80
- Elfahmi, Iwang, S, Komar R. 1997. Telaah Fitokimia dan Uji Hayati Pendahuluan Lamun *Enhalus acoroides* (L.f.) Royle. Tesis. ITB. Bandung
- El-Hady, H, H, A, Daboor, S, M, Ghoniemy, A, E. 2007. Nutritive and antimicrobial profiles of some seagrasses from bardawil lake, egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 33(3): 103-110
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB. Bandung
- Invers, O, Romero, J, Perez, M. 1997. Effects of pH on seagrass photosynthesis: a laboratory and field assessment. *Aquatic Botany*. 59(3-4):185-194
- Juniarti, Osmeli, D, Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*brine shrimp lethality test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains*. 13(1): 50-54
- Kannan, R, R, R, Arumugam, R, Anantharaman, P. 2010. In vitro antioxidant activities of ethanol extract from *Enhalus acoroides* (L.F) royle. *Asian Pac. J. Trop. Med*. 3(11): 898-901
- Kartikasari, FG. 2010. Uji Toksisitas Fraksi dari Spongs Laut *Xestospongia* sp. dengan Metode *Brine Shrimp Test* (BST). Skripsi. ITS. Surabaya
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. UI Press. Jakarta
- McLaughlin, J, L. 1991. Crown gall tumours on potato disc and brine shrimp lethality: Two simple bioassay for higher plant screening and fractination. *Methods in Plant Biochemistry*. 6: 1-30

- Melannisa, R, Da'i, M, Rahmi, R, T. 2011. Uji aktivitas penangkap radikal bebas dan penetapan kadar Fenolik total ekstrak tiga rimpang Genus *curcuma* dan rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*). *Pharmakon*. 12(1):40-43
- Meyer, B, N, Ferrigni, N, R, Putman, J, E, Jacobsen, L, B, Nichols, D, E, McLaughlin, J, L. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituent. *Planta Med*. 45(5):31-34
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın J. Sci. Technol*. 26(2): 211-219
- Phillips, RC, dan Menez, EG. 1988. *Seagrasses*. Smithsonian Contribution to the Marine Sciences. Washington DC
- Putri, AP. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun Dugong (*Thalassia hemprichii*). Skripsi. IPB. Bogor
- Rasyid, A. 2008. Biota laut sebagai sumber obat-obatan. *Oseana*. 33(1): 11-18
- Ravikumar, S, Devi, K, N, Kumar, T, A, Ajmal-khan, M. 2011. Antibacterial activity of seagrass species of *Cymodocea serrulata* against chosen bacterial fish pathogens. *Ann. Biol. Res*. 2(1): 88-93
- Rita, W, S, Suirta, I, W, Sabikin, A. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa yang berpotensi sebagai antitumor pada daging buah pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. 2(1):1-6
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB, Bandung
- Rumiantin, RO. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides*. Skripsi. IPB. Bogor
- Santoso, J, Anwariyah, A, Rumiantin, R, O, Putri, A, P, Ukhty, N, Stark, Y, Y. 2012. Phenol content, antioxidant activity and fibers profile of four tropical seagrasses from indonesia. *Journal of Coastal Development*. 15(2):189-196
- Short, F, Carruthers, T, Dennison, W, Waycott, M. 2007. Global seagrass distribution and diversity: A bioregional model. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 350(1-2):3-20
- Simbala, H, E, I. 2009. Analisis senyawa alkaloid beberapa jenis tumbuhan obat sebagai bahan aktif fitofarmaka. *Pacific Journal*. 1(4):489-494
- Suh, H, J, Chung, M, S, Cho, Y, H, Kim, J, W, Kim, D, H, Han, K, W, Kim, C, J. 2005. Estimated daily intakes of butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and tert-butyl hydroquinone (TBHQ) antioxidants in Korea. *Food. Addit. Contam*. 22(12):1176-1188
- Sureda, A, Box, A, Terrados, J, Deudero, S, Pons, A. 2008. Antioxidant response of the seagrass *Posidonia oceanica* by the invasive macroalgae *Lophocladia lallemandii*. *Mar. Environ. Res*. 66(3):359-363
- Ukhty, N. 2011. Kandungan Senyawa Fitokimia, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Syringodium isoetifolium*. Skripsi. IPB. Bogor