

# UJI TOKSISITAS EKSTRAK PIGMEN DARI MAKROALGA COKLAT *Sargassum sp*

Rini Prastyawati

Program Studi Teknik Analisis Kesehatan  
Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Sains dan Teknologi Jayapura  
Jl. Raya Sentani, Padang Bulan. Jayapura 99351  
[riniprastyawati@ymail.com](mailto:riniprastyawati@ymail.com)

## Abstrak

Salah satu alternatif sumber antitumor adalah makroalga, khususnya *Sargassum sp* karena mengandung senyawa pigmen. Tujuan penelitian ini adalah menentukan toksisitas ekstrak pigmen dari makroalga coklat *Sargassum sp*. Penelitian diawali dengan mengisolasi ekstrak pigmen *Sargassum sp* dengan cara maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Uji toksisitas dilakukan dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak pigmen fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol memiliki nilai  $LC_{50}$  berturut-turut adalah 131.07; 729.12; dan 555.27 ppm. Ekstrak pigmen fraksi *n*-heksana dari makroalga coklat *Sargassum sp* memiliki toksisitas yang paling tinggi dibandingkan fraksi lainya dan berpotensi sebagai antitumor.

**Kata kunci:** Ekstrak pigmen, *Sargassum sp*, Toksisitas,  $LC_{50}$

## 1. PENDAHULUAN

Penelitian yang mengarah pada penemuan senyawa antioksidan yang dapat menghambat tumor menjadi target untuk dikembangkan. Sampai saat ini telah dilakukan skrining terhadap sekitar 15.000 produk bahan hayati laut untuk aktivitas biologis dan 45 diantaranya telah dilakukan potensinya sebagai bahan obat bahkan telah dilakukan uji preklinis dan klinis (Milledge, 2011).

Dalam kurun waktu tiga dekade terakhir, penelitian untuk mengungkap potensi bioaktivitas makroalga meningkat tajam, dan makroalga tropis ternyata kaya akan senyawa bioaktif untuk keperluan biomedis. Sekarang ini, mulai banyak penelitian mengenai senyawa pigmen yang berasal dari laut yang akan menjadi sumber pigmen alami terbarukan dan berkelanjutan yang memiliki potensi sebagai antitumor. Biota laut seperti alga, terumbu karang, dan bakteri serta organisme laut lainnya mampu menghasilkan senyawa bioaktif pigmen (Arlita *et al.*, 2013). Salah satu jenis pigmen alami selain klorofil adalah karotenoid yang memiliki potensi yang besar baik pada masa sekarang maupun masa depan sebagai antioksidan dan antitumor. Lebih dari 700 struktur berbeda dari karotenoid dan terdapat 40 jenis karotenoid telah ditemukan (Stafsnes *et al.*, 2010).

Alga merupakan jenis organisme laut yang mampu menghasilkan pigmen alami sendiri (Stahl dan Sies, 2003). Salah satu jenis alga yang kaya akan senyawa pigmen adalah alga coklat. Alga coklat kaya akan fukoxantin, pigmen fotosintesis

(klorofil a dan c) (Zapata *et al.*, 2006),  $\beta$ -karoten dan violaxantin (Burtin, 2003). Hasil penelitian Merdekawati (2009), menunjukkan komposisi karotenoid pada alga coklat *Sargassum sp* yaitu fukosantin, xantofil dan  $\beta$ -karoten.

Ekstrak pigmen karotenoid lutein dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan (Kusmiati *et al.*, 2010). Secara umum alga coklat juga mengandung violaxantin, flavosantin dan neosantin a dan b sedangkan kelompok karotenoid yang umum adalah  $\beta$ -karoten yaitu karotenoid yang tidak mengandung atom oksigen dalam strukturnya. Golongan senyawa ini sudah dikenal memiliki aktivitas antitumor yang baik. Menurut penelitian Yudiati *et al* (2011), ekstrak pigmen kasar dari *Spirulina sp* yang diperoleh mengandung pigmen  $\beta$ -karoten dan klorofil a menunjukkan toksisitas yang tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan toksisitas ekstrak pigmen dari makroalga coklat *Sargassum sp*. Informasi tentang toksisitas dari *Sargassum sp* tersebut belum pernah dilakukan. Atas dasar pemikiran tersebut, maka dilakukan penelitian tentang uji toksisitas dari ekstrak pigmen yang diisolasi dari makroalga coklat *Sargassum sp*.

## 2. METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin selama 8 bulan. Preparasi sampel dan ekstraksi senyawa pigmen yang dilakukan adalah Makroalga coklat

*Sargassum sp* segar ditimbang sebanyak 100 g dicuci dengan air mengalir hingga bersih dari kotoran, dipotong-potong dan dikeringanginkan untuk keperluan isolasi.

Sampel kering sebanyak 40 g kemudian dimaserasi bertingkat (sampai seluruh jaringan terendam) dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol kualitas p.a. Maserat yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring, kemudian pelarut diuapkan kembali dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pigmen fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol.

Penentuan toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Meyer *et al.*, 1982). Mula-mula dibuat larutan stok, masing-masing dari ekstrak pigmen fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol dalam larutan metanol dengan konsentrasi 5000 ppm. Selanjutnya, dibuat seri konsentrasi ekstrak pigmen sebesar 10, 100 dan 1000 ppm dari larutan stok tersebut dengan pengenceran menggunakan air laut. Sebagai kontrol, digunakan pelarut metanol dalam air laut tanpa ekstrak pigmen. Kemudian, sepuluh ekor nauplii *Artemia salina* Leach dimasukkan pada masing-masing sampel uji dan kontrol disetiap seri konsentrasi. Masing-masing perlakuan sampel uji dan kontrol dilakukan tiga kali ulangan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang di bawah lampu TL 15 watt selama 24 jam. Persentase kematian larva didapatkan dengan cara menghitung mortalitas nauplii *Artemia salina* Leach yang terjadi setelah dilakukan pemaparan selama 24 jam pada ketiga ekstrak pigmen tersebut. Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan menentukan persentase kematian larva dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Kurva LC<sub>50</sub> dibuat dengan nilai % kematian larva sebagai sumbu Y dan seri konsentrasi sebagai sumbu X. Nilai LC<sub>50</sub> (50% *Lethal Concentration*) ditentukan dengan analisis probit (Meyer *et al.*, 1982).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. solasi ekstrak pigmen dari makroalga *Sargassum sp*

Isolasi senyawa pigmen dilakukan secara maserasi bertingkat dengan menggunakan beberapa pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda, pertama dengan n-heksana p.a, dilanjutkan dengan etil asetat p.a dan terakhir dengan metanol p.a. Masing-masing filtrat fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol ditampung. Warna filtrat dari masing-masing fraksi tersebut berturut-turut adalah kuning, kuning

kehijauan, dan hijau kekuningan. Semua filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pigmen fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol.



Gambar 1 Filtrat pigmen dari makroalga coklat *Sargassum sp* fraksi; n-heksana (F1), etil asetat (F2), dan metanol (F3)

#### 3.2. Toksisitas ekstrak pigmen

Pada penelitian ini, diperoleh data jumlah kematian (*mortalitas*) nauplii *Artemia salina* Leach yang dihitung sebagai persentase kematian larva dan dari data tersebut ditentukan nilai LC<sub>50</sub> dengan analisis probit. Berdasarkan data pada Tabel 3.1, ketiga ekstrak pigmen memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang bervariasi tetapi semua fraksi menunjukkan bersifat toksik, dimana nilai LC<sub>50</sub> ekstrak pigmen fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol berturut-turut yaitu 131.07; 729.12; dan 555,27 ppm.

Tabel 3.1 Hasil uji toksisitas ekstrak pigmen dari makroalga coklat *Sargassum sp*

| Ekstrak pigmen     | Nilai LC <sub>50</sub> (ppm) | Toksisitas |
|--------------------|------------------------------|------------|
| Fraksi n-Heksana   | 131.07                       | Toksik     |
| Fraksi Etil Asetat | 729.12                       | Toksik     |
| Fraksi Metanol     | 555.27                       | Toksik     |

Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan warna filtrat dari hasil maserasi masing-masing pelarut yang disebabkan oleh kelarutan senyawa-senyawa pigmen yang mampu terekstrak pada pelarut n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan metanol (polar). Penggunaan pelarut paling berpengaruh dalam mempengaruhi kepekatan dari hasil ekstraksi atau penentuan pigmen yang terdeteksi. Pemisahan senyawa-senyawa pigmen berdasarkan perbedaan kepolaran (Harborne, 1987). Aturan umum dari polaritas adalah polar menyukai yang polar dan yang tidak polar menyukai tidak polar

(like dissolves like). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi pigmen mampu memecah ikatan kompleks protein-klorofil, ikatan non kovalen dan mengekstraksi pigmen secara kuantitatif (Gross, 1991).

Metode BSLT merupakan suatu pengujian tahapan awal (*pre-screening*) dalam penapisan senyawa bioaktif antitumor (Meyer *et al.*, 1982). Metode ini banyak digunakan karena cepat, murah dan mudah dikerjakan. Pada pengujian ini digunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* Leach yang telah berumur 1-2 hari yang disebut Nauplii. Hal ini dikarenakan Nauplii *Artemia salina* Leach yang baru menetas identik dengan sel kanker/tumor. Metode BSLT dipilih karena metode ini cukup akurat dan mampu memprediksi aktivitas *cytotoxicity* dan *pesticidal* (Ghisalberti, 1993). Uji toksisitas BSLT ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$ . Tingkat toksisitas dari suatu ekstrak dapat ditentukan dengan melihat harga  $LC_{50}$  (Meyer *et al.*, 1982). Hasil penelitian menunjukkan pada ketiga ekstrak pigmen yang diperoleh bersifat toksik dengan nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa semua ekstrak pigmen dari *Sargassum sp* dari berbagai fraksi yang diuji mengandung senyawa yang bersifat antitumor. Menurut Meyer *et al.* (1982), suatu ekstrak dianggap sangat toksik bila memiliki nilai  $LC_{50} \leq 30$  ppm dan dianggap toksik bila memiliki nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm. Nilai  $LC_{50}$  ekstrak pigmen fraksi n-heksan memiliki sifat toksik lebih tinggi diikuti dengan fraksi metanol dan fraksi etil asetat mempunyai nilai terendah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak pigmen fraksi n-heksan lebih toksik dibandingkan yang lainnya. Semakin kecil harga  $LC_{50}$  semakin toksik suatu senyawa dan berpotensi sebagai antitumor. Tingkat toksisitas tersebut akan memberi makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antitumor.

Senyawa pigmen yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah pigmen golongan karotenoid dan klorofil. Antioksidan berfungsi sebagai pemadam (*quencher*) oksigen singlet dan penangkal radikal bebas. Oksigen singlet adalah tingkat tenaga molekul  $O_2$  yang sangat reaktif, dapat menginisiasi peroksida lipid hingga terjadi reaksi berantai radikal bebas yang dapat mengoksidasi komponen sel lain, seperti protein dan DNA. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa oksigen singlet yang berbahaya ini dapat di non-aktifkan oleh pigmen karotenoid. Selain itu, karotenoid juga mampu bereaksi dengan radikal bebas (R.) dengan proses transfer muatan (elektron). Pada reaksi ini akan diperoleh radikal bebas dari karotenoid yang relatif lebih stabil dan tidak memiliki energi yang cukup untuk dapat bereaksi dengan molekul lain membentuk radikal baru (Britton, 1982). Sedangkan pigmen klorofil berpotensi sebagai antioksidan karena mampu menangkap oksigen singlet dan melakukan

resonansi maupun vibrasi untuk membuang energi yang berlebihan ke lingkungan (Yanishlieva, 2003). Mekanisme ini didukung oleh struktur utama klorofil, yaitu tetrapirrol yang merupakan struktur poliena terkonjugasi. Struktur ini menyebabkan energi menjadi stabil, terutama melalui resonansi dalam struktur orbital pi yang *overlap* (Lee *et al.*, 2002). Klorofil juga dimungkinkan mampu menangkap radikal bebas karena klorofil termasuk senyawa yang lipofilik (Burrati *et al.*, 2001).

#### 4. KESIMPULAN

Ekstrak pigmen fraksi n-heksan, etil asetat dan methanol dari makroalga coklat *Sargassum sp* bersifat toksik dan yang memiliki toksisitas paling besar dibandingkan fraksi lainnya adalah fraksi n-heksana. Sebaiknya pada penelitian selanjutnya dilakukan pemurnian ekstrak pigmen dari fraksi n-heksana untuk mendapatkan kandungan pigmen yang lebih murni dan dibandingkan aktivitasnya dengan ekstrak pigmen tersebut.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Arlita N.R., Ocky K.R. & Adi S. (2013). Identifikasi pigmen karotenoid pada bakteri simbiotik rumput laut *Caulerpa cupressoides* (Vahl) C. Agardh. *Journal of Marine Research*, **2**(3):68-77.
- Britton G. & Goodwin T.W. (1982). *Carotenoid chemistry and biochemistry, Proc. 6<sup>th</sup> IUPAC Int. Symp. on Carotenoids*. Oxford: Pergamon Press.
- Burrati S., N. Pellegrini., O.V. Brenna. & S. Mannino. (2001). Rapid electrochemical method for the evaluation of the antioxidant power of some lipophilic food extract. *J. Agriculture and Food Chemistry*, **49**:5136-5141.
- Burtin P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *J. Environ. Agric. Food. Chem.* **2**(4):498-503.
- Ghisalberti E.L. (1993). Detection and isolation of bioactive natural products, bioactive natural products; detection, isolation, and structural determination. London: Ed. Steven M. Colgate and Russell J. Molyneux CRC Press Inc, hal 605.
- Gross J. (1991). *Pigment in vegetables*. New York: Van Nostrand Reinhold, hal 351.
- Harbone J.B. (1987). *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Kusmiati N., W.S. Agustini., S.R. Tamat. & I. Mellia. (2010). Ekstraksi dan purifikasi senyawa lutein dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* galur Lokal Ink. *J. Kimia Indonesia*, **5**(1):30-34.

- Lee M., L. Lee., S. Lee., K. Park. & E. Choe.(2002). Spinach (*Spinacea olecea*) powder as a natural food-grade antioxidant in deep fat dried products. *J. Agriculture and Food Chemistry*, **50**:5664-5669.
- Merdekawati W.(2009).Kandungan dan aktivitas antioksidan Klorofil a dan  $\beta$ -karoten *Sargassum sp.*Jurnal Kelautan Nasional, **2**:144-145.
- Meyer B.N., N.R. Ferrigni., J.E. Putman., L.B. Jacobsen., D.E. Nicols. & J.L. McLaughlin. (1982).Brine shrimp: A Convenient general Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, **45**:31-34.
- Milledge J.J.(2011).Commercial application of microalgae other than as biofuels. A Brief Review, *Re. Environ, Sci. Biotechnol*, **10**:31- 41.
- Stafsnes M.H., K. D. Josefsen., G.K. Andersen., S. Valla., T.E. Ellingsen. & P. Bruheim. (2010).Isolation and characterization of marine pigmented bacteria from Norwegia coastal waters and screening for carotenoids with UVA-blue light absorbing properties. *Journal Microbiol*, **48**(1):16-23.
- Stahl W. & H. Sies.(2003).Antioxidant activity of carotenoids molecular.*Journal Aspects. Med*, **24**:345-351.
- Yanishlieva N.V.(2003). *Inhibiting antioxidant*. dalam: Pokorny, J., N. Yanishlieva., & M. Gordon (Eds.) *Antioxidant in Food*. Noth America: Woodhead Publishing Limited hal 22-27.
- Yudiati E., Sedjati S., Sunarsih. & Agustian R.(2011).Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak metanol dan pigmen kasar *Spirulina sp.* *Jurnal Ilmu Kelautan*, **16**(4):187- 192. ISSN 0853-7291.
- Zapata M., Garrido J.L. & Jeffrey S.W.(2006).*Chlorophyll c pigments*: Current Status. Dalam Griman, B., Porra, J.P., Rudiger, W., and Seheer, H. *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysic, Functions, and Applications*. Springer **25**:39-53.