

## **Deklorofilasi Ekstrak Metanolik daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun Mangga (*Mangifera indica* L.) dengan Teknik Elektrokoagulasi**

### **Dechlorophyllation of *Cosmos caudatus* Kunth., *Morinda citrifolia*, and *Mangifera indica* L. Leaves Methanolic Extract by Electrocoagulation Technique**

**Ratna Budhi Pebriana, Endang Lukitaningsih\*, dan Siti Mufidatul Khasanah**

Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

#### **ABSTRAK**

Klorofil merupakan zat pengganggu pada tahap isolasi senyawa aktif dari tanaman. Metode elektrokoagulasi merupakan metode yang potensial digunakan pada proses deklorofilasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari metode elektrokoagulasi dalam proses deklorofilasi ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) serta mengetahui pengaruhnya terhadap kadar senyawa fenolik total. Proses elektrokoagulasi dilakukan menggunakan elektroda tembaga, perak, aluminium dan besi. Deklorofilasi dengan cara ekstraksi menggunakan n-heksan digunakan sebagai pembanding. Sampel hasil deklorofilasi dengan metode elektrokoagulasi maupun ekstraksi ditetapkan nilai % absorbansi klorofil dan % kadar senyawa fenolik totalnya secara spektrofotometri. Proses elektrokoagulasi terbukti dapat menurunkan % absorbansi klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu, dan mangga. Semakin lama durasi elektrokoagulasi, nilai % absorbansi yang dihasilkan semakin rendah. Nilai % absorbansi klorofil yang dihasilkan oleh keempat elektroda tersebut berbeda signifikan dengan nilai % absorbansi klorofil ekstrak sebelum proses elektrokoagulasi berdasarkan uji paired t-test ( $P=0.95$ ). Berdasarkan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan LSD ( $P=0.95$ ), hasil tersebut berbeda signifikan bila dibandingkan dengan sampel yang diekstraksi dengan n-heksan. Proses elektrokoagulasi menurunkan kadar senyawa fenolik total seiring berjalannya waktu.

**Kata kunci:** klorofil; deklorofilasi; elektrokoagulasi; elektroda; *Cosmos caudatus* Kunth.

#### **ABSTRACT**

The present of chlorophyll is not expected in the isolation process of plant active constituent. Electrocoagulation is a potential dechlorophyllation method. This research aims to know the effectivity of electrocoagulation in the dechlorophyllation process of *Cosmos caudatus* Kunth., *Morinda citrifolia*, and *Mangifera indica* L. leaves methanolic extract as well as the effect to the total phenolic content. Electrocoagulation are performed using copper, silver, aluminum and iron plates as the electrode. Dechlorophyllation by extraction using n-hexane is performed as reference. The % absorbance of chlorophyll and % of total phenolic content of dechlorophyllated samples are measured spectrophotometrically. Electrocoagulation process reduces % absorbance of chlorophyll in *Cosmos caudatus* Kunth., *Morinda citrifolia*, and *Mangifera indica* L. leaves methanolic extract. The more the duration of electrocoagulation process the lower the % absorbance of chlorophyll obtained. % absorbance of chlorophyll of the electrocoagulated extract according to paired t-test ( $P=0.95$ ) are significantly different with the previous. One way ANOVA continued with LSD ( $P=0.95$ ) shows that the % absorbance of chlorophyll from the electrocoagulated extract are significantly different with those extracted with n-hexane. Electrocoagulation process reduces total phenolic content along with duration of electrocoagulation.

**Keywords:** chlorophyll; dechlorophyllation; electrocoagulation; electrode; *Cosmos caudatus* Kunth.

---

**Correspondence author: Endang Lukitaningsih**  
**Email: lukitaningsih\_end@ugm.ac.id**

## PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati Indonesia memiliki potensi besar dalam mendukung pengembangan obat yang berasal dari tanaman. Penelitian dan pengembangan senantiasa dilakukan dalam rangka pencarian senyawa dengan aktivitas yang bermanfaat untuk kesehatan manusia. Ekstraksi, purifikasi, dan isolasi merupakan beberapa tahapan yang harus dilalui dalam usaha pencarian senyawa aktif ini.

Proses isolasi senyawa aktif seringkali terganggu dengan beberapa senyawa seperti pigmen, tanin, dan karbohidrat. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut harus dihilangkan dari ekstrak tanaman. Beberapa bagian tanaman yang berwarna hijau mengandung pigmen yang berupa klorofil, sehingga proses deklorofilasi dari ekstrak yang berasal dari bagian tanaman tersebut menjadi penting untuk dilakukan (Jumpatong dkk., 2006).

Klorofil merupakan komponen berwarna hijau yang terdapat pada daun dan batang tanaman (Steer, 1999). Klorofil terdiri dari 2 tipe yaitu klorofil a dan klorofil b. Struktur klorofil terdiri dari makrosiklik porfirin yang terdiri dari empat cincin pirol. Setiap cincin pirol mengandung empat atom karbon dan satu atom nitrogen. Seluruh atom nitrogen saling berhadapan membentuk sebuah pusat yang ditempati oleh ion  $Mg^{2+}$ . Pada klorofil b, gugus metil pada cincin II klorofil a digantikan oleh gugus formil. Perbedaan struktur tersebut menghasilkan perbedaan warna dimana klorofil a berwarna biru hijau dengan absorbansi maksimal pada panjang gelombang 660-665 nm dan klorofil b berwarna hijau kuning dengan absorbansi maksimal pada panjang gelombang 642-652 nm (Hosikian dkk., 2010).

Beberapa metode yang pernah dilaporkan dalam ekstraksi klorofil melibatkan penggunaan pelarut organik, kromatografi kolom, dan proses presipitasi (Quach dkk., 2004; Diosady, 2005; Dikio dan Isabirye, 2008). Beberapa metode tersebut memiliki beberapa kelemahan antara lain mahal, *time consuming*, dan tidak ramah lingkungan.

Metode lain yang dapat digunakan dalam proses deklorofilasi adalah metode elektrokoagulasi. Metode ini telah berhasil diaplikasikan pada proses deklorofilasi ekstrak air daun stevia (Miwa, 1978 *cit* Jumpatong dkk., 2006), ekstrak etanolik daun *Andrographis paniculata*, *Stevia rebaudiana*, *Centella asiatica*, dan *Cassia siamea* menggunakan elektroda aluminium, ekstrak etanolik daun *Solanum laciniatum* menggunakan elektroda besi, dan ekstrak etanolik daun mangga (*Mangifera indica*

L.) menggunakan elektroda aluminium, galvalum, dan besi (Jumpatong dkk., 2006; Nurfitri, 2011). Metode ini belum pernah diaplikasikan pada ekstrak dengan pelarut organik yang lain. Metode ini memiliki potensi untuk dikembangkan dalam usaha penghilangan klorofil dari ekstrak tanaman karena murah, cepat, dan ramah lingkungan.

Pada proses elektrokoagulasi, terjadi proses aglomerasi dan sedimentasi dari partikel bermuatan yang terdapat pada larutan atau suspensi yang dielektrokoagulasi karena adanya proses elektrolisis (Mollah dkk., 2001). Klorofil mengandung  $Mg^{2+}$  pada inti senyawanya (Hosikian dkk., 2010). Klorofil dapat mengalami koagulasi melalui pembentukan kompleks klorofil dengan ion yang terlepas dari elektroda (Humphrey, 1980 *cit* Canjura dkk., 1999) melalui mekanisme substitusi magnesium (Kupper dkk., 1996). Seng dan tembaga merupakan logam yang dapat memasuki cincin klorofil (Canjura dkk., 1999).

Penelitian ini diaplikasikan pada beberapa spesies tanaman yang mengandung klorofil dan berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya telah terbukti memiliki khasiat terhadap kesehatan manusia yaitu kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan mangga (*Mangifera indica* L.). Secara empiris kenikir digunakan dalam pengobatan darah tinggi, diabetes, artritis, dan demam (Bunawan dkk., 2014). Ekstrak etanolik kenikir diketahui memiliki efek antimikroba (Rasdi dkk., 2010), sedangkan ekstrak metanoliknya dilaporkan memiliki sifat antioksidan (Abas dkk., 2003) dan efek antikanker (Pebriana dkk., 2008). Daun kenikir telah diteliti mengandung flavonoid seperti katekin dan quercetin, dan juga asam fenolat seperti asam klorogenat, asam neoklorogenat, asam kafeat, dan asam ferulat (Bunawan dkk., 2014). Daun mengkudu digunakan pada pengobatan malaria, analgesik, laksatif, hipertensi, tuberkulosis, rematik, demam, fraktur, diabetes, penurunan selera makan, hernia, dan kekurangan vitamin A (Nelson, 2003). Daun mengkudu dapat membunuh *Mycobacterium tuberculosis* dalam jumlah yang hampir sama dengan rifampisin sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai obat anti TB (Wang dkk., 2002). Ekstrak etanolik daun mengkudu terbukti menyebabkan paralisis dan kematian pada cacing *Ascaris lumbricoides* (Raj, 1975). Daun mengkudu mengandung flavonoid yang berupa iridoid, quersetin, dan kaempferol (Shang dkk., 2001). Ekstrak metanolik daun mangga mengandung senyawa polifenol diantaranya asam galat, metil galat, glukosida iriflofenon, glukosida penta-O-galloyl, mangiferin, isomer isokuersitrin, dan

pentosida kuersetin. Mangiferin merupakan kandungan terbesar dalam ekstrak tersebut (Barreto dkk., 2008). Mangiferin merupakan antioksidan polifenol dan glukosil xanthon dengan sifat antioksidan yang kuat, memiliki aktivitas antiperoksida terhadap lipid, imunomodulasi, kardiotonik, hipotensif, penyembuhan luka, antidegeneratif dan antidiabetik (Shah dkk., 2010). Ekstrak metanolik daun mangga memiliki sifat antioksidan yang tinggi dan terbukti bersifat sitotoksik terhadap sel kanker adenokarsinoma (Joona dkk., 2013).

Deklorofilasi dengan cara elektrokoagulasi dilakukan terhadap ekstrak metanolik dari daun tanaman tersebut dengan menggunakan berbagai macam elektroda yaitu tembaga, perak, aluminium dan besi. Elektrokoagulasi telah berhasil dilakukan pada deklorofilasi ekstrak etanolik (75% etanol dalam air), maka kemungkinan juga akan berhasil diaplikasikan pada ekstrak metanolik (75% metanol dalam air).

Untuk mengetahui efektivitas proses elektrokoagulasi, ekstrak hasil elektrokoagulasi dibandingkan kandungan klorofilnya secara spektrofotometri dengan hasil ekstraksi klorofil menggunakan *n*-heksan (Nurfitri, 2011). Pengaruh dari proses elektrokoagulasi terhadap kandungan senyawa fenolik juga diuji menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat (Nurfitri, 2011; Mediani dkk., 2012). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat elektrokoagulasi dalam proses deklorofilasi ekstrak metanolik dan mengetahui pengaruhnya terhadap kandungan senyawa fenolik untuk keperluan isolasi senyawa aktif baik untuk tujuan identifikasi maupun produksi skala besar.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Instrumen

Bahan yang digunakan adalah daun kenikir yang diperoleh dari daerah Boyolali, Jawa Tengah, sedangkan daun mengkudu dan daun mangga diperoleh dari Fakultas Farmasi UGM, metanol (p.a., JT Baker), *n*-heksan, aseton, Folin-Ciocalteu, natrium karbonat, NaCl (p.a., Merck, Jerman), standar asam galat (Wako Pure Chemical Industry, Japan), dan akuabides.

Alat yang digunakan adalah gelas Beaker yang ditutup dengan gabus, seperangkat alat elektrolisis (*power supply*, bejana berisi air dan es untuk menjaga suhu, plat tembaga, perak, aluminium, dan besi), termometer, spektrofotometer, *centrifuge*, corong pisah, dan berbagai alat gelas.

### Preparasi ekstrak

Daun kenikir, daun mengkudu, dan daun mangga dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Sebanyak 200 gram serbuk daun dimaserasi menggunakan 2000 mL metanol 75%, didiamkan pada temperatur kamar selama 3 hari, dengan sesekali dilakukan pengadukan. Maserat selanjutnya disaring menggunakan kertas saring.

### Deklorofilasi ekstrak metanolik dengan teknik elektrokoagulasi

Sebanyak 200 mL ekstrak metanolik dielektrolisis menggunakan plat logam yang sebelumnya telah dicuci menggunakan aseton. Ekstrak ditempatkan pada gelas Beaker 250 mL yang ditutup dengan gabus. Plat dengan ukuran 3 x 15 cm dipasang sebagai elektroda dengan jarak 1,5 cm, dibenamkan pada kedalaman 5 cm ke dalam sampel yang telah ditambahkan dengan NaCl sebanyak 0,1 % (b/v) sebagai elektrolit pendukung (Jumpatong dkk., 2006). Arus listrik dijaga pada 0.9 A dengan tegangan tertentu dan dialirkan terhadap sistem. Suhu sampel dijaga pada 25-30°C. Sampling dilakukan pada menit ke-0, 60, 120, 180, 240, dan 300 dengan mengambil sebanyak 3 x 1 mL ekstrak. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat selanjutnya diukur absorbansi klorofil, klorofilin, dan kadar fenolik totalnya secara spektrofotometri.

### Deklorofilasi ekstrak dengan *n*-heksan

Sebanyak 200 mL ekstrak metanolik dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL, kemudian ditambahkan dengan 50 mL *n*-heksan, diekstraksi secara bertingkat hingga didapatkan *n*-heksan yang jernih (Nurfitri, 2011).

### Pengukuran absorbansi klorofil dan klorofilin secara spektrofotometri

Ekstrak hasil deklorofilasi dengan metode elektrokoagulasi dan ekstraksi dengan *n*-heksan yang telah disentrifugasi selanjutnya diencerkan sebanyak 10 x dengan metanol 75%, kemudian diukur absorbansi klorofil dan klorofilinnya pada panjang gelombang 660-665 nm (klorofil a), 642-652 (klorofil b), dan 622 nm (klorofilin) dengan terlebih dahulu melakukan *scanning* panjang gelombang maksimal pada 400-800 nm.

Tabel I. Deskripsi sampel uji kandungan senyawa fenolik total

Jenis sampel	Jumlah sampel (µL)	Keterangan
Ekstrak metanolik daun kenikir	200	Sampel hasil pengenceran 10 x dari sampel hasil sentrifugasi
Ekstrak metanolik daun mengkudu	300	Sampel hasil sentrifugasi
Ekstrak metanolik daun mangga	100	Sampel hasil pengenceran 10 x dari sampel hasil sentrifugasi

Tabel II. Data % Absorbansi Klorofil dan % Senyawa Fenolik Total pada Ekstrak Metanolik yang Telah Diekstraksi dengan n-Heksan

Jumlah ekstraksi	% Absorbansi klorofil			% Senyawa fenolik total		
	Kenikir	Mengkudu	Mangga	Kenikir	Mengkudu	Mangga
0x50mL	100.0±3.8	100.0±2.8	100.0±3.0	100.0±5.7	100.0±5.4	100.0±7.8
10x50mL	78.1±2.7	87.6±2.6	62.2±1.7	98.7±7.3	108.1±25.6	113.8±6.3
15x50mL	77.5±1.6	86.6±2.6	51.8±1.4	106.4±1.4	93.6±2.1	88.8±14.1

### Penentuan kandungan senyawa fenolik total

Sejumlah sampel (Tabel I), dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, ditambah dengan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu, kemudian didiamkan selama 5 menit.

Larutan selanjutnya ditambah dengan 4 mL larutan natrium karbonat 7% kemudian diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar di tempat gelap selama 60 menit. Absorbansi campuran dibaca pada panjang gelombang 765 nm (Mediani dkk., 2012; Nurfitri, 2011). Preparasi yang sama juga dilakukan terhadap larutan standar asam galat sehingga dihasilkan seri konsentrasi akhir sebesar 0,2; 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6 ppm.

### Analisis Data

Efektivitas deklorofilasi secara elektrokoagulasi dianalisis melalui kurva hubungan antara durasi proses elektrokoagulasi dengan % absorbansi klorofil dan atau klorofilin pada masing-masing elektroda dari masing-masing ekstrak. Proses elektrokoagulasi ini juga diamati pengaruhnya terhadap kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak. Durasi optimum ditentukan dari % absorbansi klorofil yang paling rendah yang dapat dihasilkan pada proses elektrokoagulasi. Berikut cara perhitungan % absorbansi klorofil dan % kadar senyawa fenolik total.

$$\% \text{ absorbansi klorofil} = \frac{\text{absorbansi klorofil sampel hasil ekstraksi ke-}i}{\text{rata-rata absorbansi klorofil sampel sebelum diekstraksi}} \times 100\%$$

$\% \text{ absorbansi klorofil} =$

$$\frac{\text{absorbansi klorofil sampel pada menit ke-}i}{\text{rata-rata absorbansi klorofil sampel pada menit ke-0}} \times 100\%$$

$\% \text{ kadar senyawa fenolik total} =$

$$\frac{\text{kadar senyawa fenolik total sampel hasil ekstraksi ke-}i}{\text{rata-rata kadar senyawa fenolik total sampel sebelum diekstraksi}} \times 100\%$$

$\% \text{ kadar senyawa fenolik total} =$

$$\frac{\text{kadar senyawa fenolik total sampel pada menit ke-}i}{\text{rata-rata kadar senyawa fenolik total sampel pada menit ke-0}} \times 100\%$$

Nilai % absorbansi klorofil pada durasi optimum dari masing-masing elektroda pada setiap jenis ekstrak dibandingkan dengan sebelum dideklorofilasi menggunakan *paired t-test*. Nilai % absorbansi klorofil dan % kadar senyawa fenolik total pada durasi optimum dari masing-masing elektroda pada setiap jenis ekstrak dibandingkan dengan % absorbansi klorofil dan % kadar senyawa fenolik total ekstrak yang dideklorofilasi menggunakan *n*-heksan menggunakan uji ANOVA. Analisis statistik dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi klorofil dengan *n*-heksan dilakukan sebanyak 10 dan 15 x 50 mL *n*-heksan. Nilai % absorbansi klorofil dan % senyawa fenolik total pada Tabel II menunjukkan bahwa klorofil yang terdapat dalam ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu, dan mangga mengalami penurunan setelah diekstraksi dengan *n*-heksan.

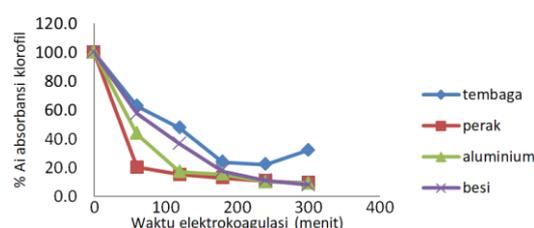
Berdasarkan uji ANOVA, ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu dan mangga yang telah diekstraksi sebanyak 10 dan 15 x 50mL *n*-heksan mengalami penurunan % absorbansi klorofil yang signifikan bila dibandingkan sebelum diekstraksi yang ditunjukkan dengan diperolehnya nilai signifikansi yang kurang dari 0.05 untuk masing-masing jenis ekstrak. Namun demikian, tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap % absorbansi klorofil antara ekstraksi 10 x 50 mL *n*-heksan dengan 15 x 50 mL *n*-heksan pada ekstrak metanolik daun kenikir dan mengkudu. Dengan demikian, penambahan jumlah ekstraksi hingga lebih dari 10 x 50 mL *n*-heksan tidak berpengaruh terhadap penurunan kandungan klorofil pada kedua jenis ekstrak tersebut. Hal tersebut tidak terjadi pada ekstrak metanolik daun mangga, yang menunjukkan bahwa % absorbansi klorofil pada ekstrak metanolik yang telah diekstraksi dengan 10 x 50 mL *n*-heksan berbeda secara signifikan dengan ekstrak yang telah diekstraksi dengan 15 x 50 mL *n*-heksan dengan nilai signifikansi 0.01. Dengan demikian, terdapat kemungkinan penurunan kandungan klorofil jika ekstraksi dengan *n*-heksan dilanjutkan hingga lebih dari 15 x pada ekstrak metanolik daun mangga. Nilai % kadar senyawa fenolik total pada ekstrak metanolik yang telah diekstraksi dengan *n*-heksan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan sebelum diekstraksi yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi yang lebih dari 0.05. Dengan demikian, ekstraksi dengan *n*-heksan tidak berpengaruh terhadap kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu dan mangga.

Proses elektrokoagulasi klorofil dilakukan dengan elektroda tembaga (Cu), perak (Ag), aluminium (Al) dan besi (Fe). Ekstrak metanolik yang telah dielektrokoagulasi selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh dari ketiga jenis ekstrak berada diantara 656.5 - 664.5 nm yang mengindikasikan keberadaan klorofil a. Absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung % absorbansi klorofil.

Gambar 1 menunjukkan pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap penurunan kadar klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir. Semakin lama durasi elektrokoagulasi maka % absorbansi klorofil yang diperoleh semakin rendah. Elektroda perak, aluminium dan besi dapat menurunkan kandungan klorofil hingga kurang dari 10% kandungan awal dalam waktu 300 menit elektrokoagulasi, sedangkan tembaga dapat menurunkan kandungan klorofil hingga

angka terendah  $21.9 \pm 1.5\%$ . Hasil *paired t-test* dari nilai % absorbansi klorofil terendah pada masing-masing elektroda dengan nilai % absorbansi klorofil sebelum proses elektrokoagulasi menunjukkan bahwa kedua nilai tersebut berbeda signifikan yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi kurang dari 0.05 untuk semua elektroda. Dengan demikian proses elektrokoagulasi dengan elektroda tembaga, perak, aluminium, dan besi terbukti dapat menurunkan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir. Nilai penurunan terbesar dihasilkan oleh elektroda besi yaitu  $8.0 \pm 0.2\%$ .

Grafik % Absorbansi Klorofil dalam Ekstrak Metanolik Daun Kenikir vs Waktu Elektrokoagulasi



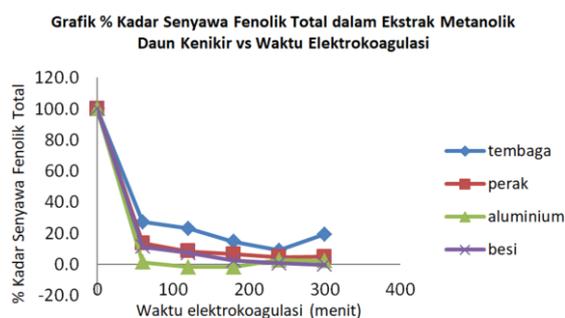
Gambar 1. Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap nilai % absorbansi klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir

Selain dibandingkan dengan nilai % absorbansi sebelum proses elektrokoagulasi, nilai % absorbansi klorofil terendah dari masing-masing elektroda juga dibandingkan dengan nilai % absorbansi klorofil ekstrak metanolik daun kenikir yang telah diekstraksi dengan *n*-heksan. Hasil uji ANOVA yang dilanjutkan dengan *Least Significant Difference* (LSD) menunjukkan bahwa % absorbansi klorofil ekstrak metanolik daun kenikir yang telah dielektrokoagulasi dengan keempat elektroda berbeda signifikan dengan % absorbansi klorofil ekstrak metanolik daun kenikir yang telah diekstraksi dengan *n*-heksan yang dibuktikan dengan nilai signifikansi 0.000. Tabel III menunjukkan bahwa proses elektrokoagulasi dengan keempat elektroda yang dipakai dapat menurunkan kandungan klorofil lebih baik bila dibanding proses ekstraksi klorofil dengan *n*-heksan.

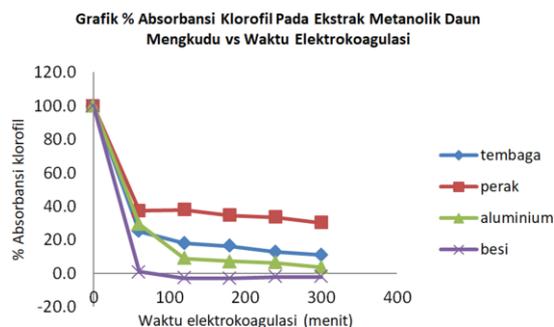
Ekstrak metanolik daun kenikir yang telah dielektrokoagulasi juga diuji kandungan senyawa fenolik totalnya dengan reagen Folin Ciocalteu. Gambar 2 menunjukkan pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun kenikir. Semakin lama durasi waktu elektrokoagulasi maka kandungan senyawa fenolik total yang terdapat dalam sampel semakin menurun. Dalam waktu 300 menit, proses elektrokoagulasi dengan elektroda perak, aluminium dan besi telah

Tabel III. Data Nilai % Absorbansi Klorofil Terendah dari Ekstrak Metanolik Daun Kenikir, Mengkudu, dan Mangga yang Telah Dielektrokoagulasi dengan Elektroda Tembaga, Perak, Aluminium, dan Besi vs % Absorbansi Klorofil dari Ekstrak Metanolik Daun Kenikir, Mengkudu, dan Mangga yang Telah Diekstraksi dengan n-heksan

Jenis Sampel	Jenis Elektroda	% Absorbansi Klorofil
Ekstrak metanolik daun kenikir	Tembaga 240 menit	21.9±1.5%
	Perak 300 menit	9.4±0.2%
	Aluminium 300 menit	9.2±0.4%
	Besi 300 menit	8.0±0.2%
	Ekstraksi dengan n-heksan 15 x 50 mL	77.5±1.6%
Ekstrak metanolik daun mengkudu	Tembaga 300 menit	10.9±0.3%
	Perak 300 menit	30.2±0.3%
	Aluminium 300 menit	3.5±0.2%
	Besi 60 menit	0.9±0.2%
	Ekstraksi dengan n-heksan 15 x 50 mL	86.6±2.6%
Ekstrak metanolik daun mangga	Tembaga 300 menit	17.5±0.6%
	Perak 300 menit	14.4±0.4%
	Aluminium 300 menit	68.2±0.4%
	Besi 300 menit	15.3±0.3%
	Ekstraksi dengan n-heksan 15 x 50 mL	51.8±1.4%



Gambar 2. Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap nilai % kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun kenikir



Gambar 3. Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap nilai % absorbansi klorofil dalam ekstrak metanolik daun mengkudu

menurunkan kadar senyawa fenolik total hingga kurang dari 5%, sedangkan elektroda tembaga berakibat menurunkan kadar senyawa fenolik total hingga nilai terendah 8.9±0.3%.

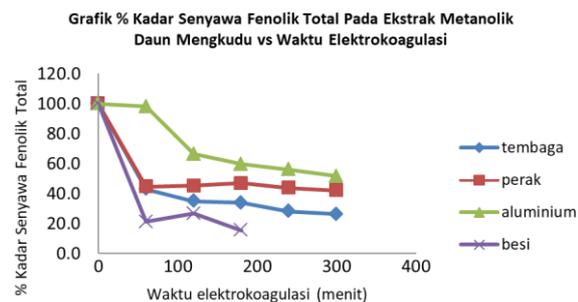
Gambar 3 menunjukkan pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap penurunan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun mengkudu. Sesuai dengan data pada ekstrak metanolik daun kenikir, semakin lama durasi elektrokoagulasi maka % absorbansi klorofil yang terkandung dalam ekstrak metanolik daun mengkudu semakin rendah. Dalam waktu 300 menit, elektroda tembaga, perak dan aluminium dapat menurunkan % absorbansi klorofil dalam ekstrak metanolik daun mengkudu hingga 10.9±0.3%, 30.2±0.3% dan 3.5±0.2%. Elektroda besi menurunkan % absorbansi klorofil hingga 0.9±0.2% dalam durasi 60 menit. *Paired t-test*

menunjukkan bahwa % absorbansi klorofil terendah pada masing-masing elektroda dengan nilai % absorbansi klorofil sebelum proses elektrokoagulasi berbeda signifikan dengan keseluruhan nilai signifikansi yang kurang dari 0.05. Fakta tersebut mengindikasikan bahwa proses elektrokoagulasi dengan elektroda tembaga, perak, aluminium, dan besi dapat menurunkan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun mengkudu. Besi menghasilkan nilai % absorbansi terkecil dari keseluruhan elektroda yang digunakan.

Uji ANOVA antara % absorbansi klorofil terendah pada tiap elektroda dengan % absorbansi klorofil pada ekstrak yang diekstraksi dengan n-heksan menunjukkan angka signifikansi kurang dari 0.05 sehingga harus dilanjutkan dengan uji *post hoc*. Hasil LSD menunjukkan

bahwa % absorbansi klorofil pada masing-masing elektroda berbeda signifikan bila dibandingkan dengan % absorbansi klorofil pada ekstrak yang diekstraksi dengan *n*-heksan dengan nilai signifikansi kurang dari 0.05. Keempat elektroda dapat menurunkan kandungan klorofil pada ekstrak metanolik daun mengkudu pada angka yang lebih rendah bila dibanding dengan *n*-heksan (Tabel III).

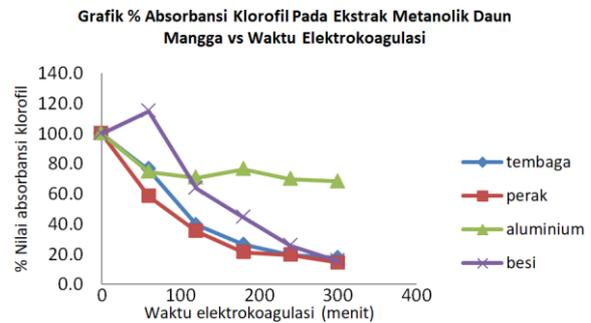
Studi pengaruh proses elektrokoagulasi terhadap % kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun mengkudu menunjukkan bahwa semakin lama durasi elektrokoagulasi, maka semakin rendah % kadar senyawa fenolik total. Namun terdapat anomali pada data % senyawa fenolik total ekstrak metanolik daun mengkudu yang dielektrokoagulasi dengan elektroda besi pada menit ke-240 dan 300, dimana nilai % kadar senyawa fenolik total yang didapatkan sangat tinggi, sehingga data tersebut tidak dipakai (Gambar 4). Kemungkinan terdapat interferensi dari suatu senyawa yang belum diketahui yang turut terbaca pada panjang gelombang 765 nm. Selama 180 menit elektrokoagulasi, elektroda besi menurunkan % kadar senyawa fenolik total hingga menjadi  $15.5 \pm 3\%$ . Elektroda tembaga, perak, dan aluminium berturut-turut menurunkan % kadar senyawa fenolik total hingga menjadi  $26.3 \pm 1.2\%$ ,  $41.9 \pm 0.4\%$ , dan  $51.5 \pm 7.2\%$ . Proses elektrokoagulasi menurunkan % kadar senyawa fenolik total ekstrak metanolik daun mengkudu dalam jumlah yang lebih sedikit bila dibanding pada ekstrak metanolik daun kenikir.



Gambar 4. Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap nilai % kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun mengkudu

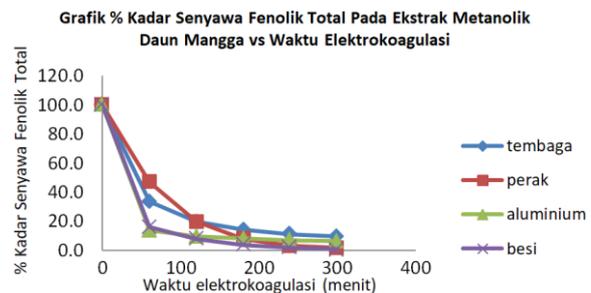
Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap penurunan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun mangga dapat dilihat pada Gambar 5. Sebagaimana data yang didapatkan pada kedua jenis ekstrak sebelumnya, semakin lama durasi elektrokoagulasi maka % absorbansi klorofil yang terkandung dalam ekstrak metanolik daun mangga juga semakin rendah. Dalam durasi

300 menit, elektroda tembaga, perak, dan besi dapat menurunkan kandungan klorofil hingga kurang dari 20%, sedangkan aluminium hanya mencapai angka terendah  $68.2 \pm 0.4\%$ . Nilai % absorbansi klorofil terendah dihasilkan oleh elektroda perak (Tabel III).



Gambar 5. Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap nilai % absorbansi klorofil dalam ekstrak metanolik daun mangga

*Paired t-test* menunjukkan bahwa % absorbansi klorofil terendah pada masing-masing elektroda dengan nilai % absorbansi klorofil sebelum proses elektrokoagulasi berbeda signifikan dengan nilai signifikansi yang diperoleh sebesar kurang dari 0.05. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa proses elektrokoagulasi dengan elektroda tembaga, perak, aluminium, dan besi dapat menurunkan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun mangga (Gambar 5).



Gambar 6. Pengaruh waktu elektrokoagulasi terhadap nilai % kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun mangga

Uji ANOVA antara % absorbansi klorofil terendah pada tiap elektroda dengan % absorbansi klorofil pada ekstrak yang diekstraksi dengan *n*-heksan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan antar kelompok. Untuk mengetahui letak perbedaan maka uji dilanjutkan dengan LSD. Hasil LSD menunjukkan bahwa % absorbansi klorofil pada masing-masing elektroda berbeda signifikan bila dibandingkan dengan % absorbansi klorofil pada ekstrak yang diekstraksi

dengan *n*-heksan dengan nilai signifikansi 0.000. Namun demikian hanya elektroda tembaga, perak, dan besi yang terbukti lebih baik bila dibandingkan *n*-heksan dalam menurunkan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun mangga (Tabel III).

Proses elektrokoagulasi terhadap % kadar senyawa fenolik total dalam ekstrak metanolik daun mangga menunjukkan bahwa semakin lama durasi elektrokoagulasi, maka semakin rendah % kadar senyawa fenolik total (Gambar 6). Dalam durasi 300 menit elektroda tembaga, perak, aluminium, dan besi berturut-turut menurunkan % kadar senyawa fenolik total hingga menjadi  $9.4\pm 0.1\%$ ,  $1.7\pm 0.3\%$ ,  $6.2\pm 0.5\%$ , dan  $0.6\pm 0.1\%$ .

Keseluruhan data yang diperoleh menunjukkan bahwa proses elektrokoagulasi mampu menurunkan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir, mengkudu dan mangga. Proses elektrokoagulasi tersebut juga turut menurunkan kadar senyawa fenolik total yang terkandung dalam ekstrak. Berdasarkan variasi dari data yang diperoleh maka dapat dilihat bahwa proses elektrokoagulasi klorofil dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain durasi elektrokoagulasi, jenis elektroda, dan jenis sampel. Faktor tersebut juga berpengaruh terhadap kandungan senyawa fenolik total. Proses elektrokoagulasi diusahakan seminimal mungkin berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktif. Oleh karena itu, untuk pengembangan lebih lanjut dari proses elektrokoagulasi klorofil ini dalam bidang isolasi senyawa aktif, perlu diteliti mengenai spesifisitas elektroda terhadap sasaran senyawa aktif yang diinginkan dan durasi optimum dari waktu elektrokoagulasi.

## KESIMPULAN

Metode elektrokoagulasi efektif dalam menurunkan kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun mangga (*Mangifera indica* L.). Semakin lama durasi elektrokoagulasi maka kandungan klorofil dalam ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) akan semakin turun. Jenis elektroda merupakan salah satu faktor yang berpengaruh dalam penurunan kandungan klorofil dalam ketiga jenis ekstrak tersebut. Nilai % absorbansi klorofil terendah pada ekstrak metanolik daun kenikir dan daun mengkudu dihasilkan oleh elektroda besi, sedangkan pada ekstrak metanolik daun mangga dihasilkan oleh elektroda perak. Jenis elektroda juga memberikan pengaruh terhadap kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak

metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun mangga (*Mangifera indica* L.). Semua jenis elektroda menurunkan kandungan senyawa fenolik total. Nilai % kadar senyawa fenolik total terendah diakibatkan oleh elektroda besi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada melalui Program Hibah Penunjang Penelitian Dasar Tahun 2016.

## REFERENSI

- Abas, F., Shaari, K., Lajis, N.H., Israf, D.A., Kalsom, Y.U., 2003, Antioxidative and Radical Scavenging Properties of the Constituents Isolated from *Cosmos caudatus* Kunth., *Natural Product Sciences*, **9** (4), 245-248
- Barreto, J.C., Trevisan, M.T.S., Hull, W.E., Erben, G., Brito, E.S., Pfundstein, B., Wurtele, G., Spiegelhalder, B., Owen, R.W., 2008, Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 5599-5610
- Bunawan, H., Baharum, S.N., Bunawan, S.N., Amin, N.M., Noor, N.M., 2014, *Cosmos caudatus* Kunth.: A Traditional Medicinal Herb, *Global Journal of Pharmacology*, **8** (3), 420-426
- Canjura, F.L., Watkins, R.H., Schwartz, S.J., 1999, Color Improvement and Metallo-chlorophyll Complexes in Continuous Flow Aseptically Processed Peas, *Journal of Food Science*, **64** (6), 987-990
- Dikio, E.D., dan Isabirye, D.A., 2008, Isolation of Chlorophyll a from Spinach Leaves, *Bulletin of Chemical Society of Ethiopia*, **22** (2), 301-304
- Diosady, L.L., 2005, Chlorophyll Removal From Edible Oils, *International Journal of Applied Science and Engineering*, **3** (2), 81-88
- Hosikian, A., Lim, S., Halim, R., Danquah, M.K., 2010, Chlorophyll Extraction from Microalgae: A Review on the Process Engineering Aspects, *International Journal of Chemical Engineering*, **10**, 1-11
- Joona, K., Sowmia, C., Dhanya, K.P., Divya, M.J., 2013, Preliminary Phytochemical Investigation of *Mangifera indica* leaves and screening of Antioxidant and Anticancer activity, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **4** (1), 1112-1118
- Jumpatong, K., Phutdhawong, W., Buddhasukh, D., 2006, Dechlorophyllation by Electrocoagulation, *Molecules*, **11**, 156-162

- Kupper, H., Kupper, F., Spiller, M., 1996, Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants, *Journal of Experimental Botany*, **47**, 259-266
- Mediani, A., Abas, F., Ping, T.C., Khatib, A., Lajis, N.H., 2012, Influence and Growth Stage and Season on The Antioxidant Constituents of *Cosmos caudatus*, *Plant Foods Hum Nutr*, **67**, 344-350
- Mollah, M.Y.A., Schennach, R., Parga, J.R., Cocke, D.L., 2001, Electrocoagulation (EC) – science and applications, *Journal of Hazardous Materials*, **B84**, 29-41
- Nelson, S.C., 2003, *Morinda citrifolia* L., Permanent Agriculture Resources, USA
- Nurfitri, H., 2011, Deklorofilisasi Ekstrak Etanolik Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Dengan Metode Elektrokoagulasi dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Fenolik Total, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Pebriana, R.B., Wardhani, B.W.K., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R., Riyanto, S., Meiyanto, E., 2008, Apoptotic Effect of Kenikir Leaves (*Cosmos caudatus* Kunth.) Methanolic Extract on Breast Cancer Cell Line, *Pharmacon*, **9** (1), 21-26
- Quach, H.T., Steeper, R.L., Griffin, G.W., 2004, An Improved Method for the Extraction and Thin Layer Chromatography of Chlorophyll a and b from Spinach, *Journal of Chemical Education*, **81** (3), 385-387
- Raj, R.K., 1975, Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides*: Part-II, *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, **19** (1)
- Rasdi, N.H.M., Samah O.A., Sule, A., Ahmed, Q.U., 2010, Antimicrobial studies of *Cosmos caudatus* Kunth. (Compositae), *Journal of Medicinal Plants Research*, **4** (8), 669-673
- Shah, K.A., Patel, M.B., Patel, R.J., Parmar, P.K., 2010, *Mangifera indica* (Mango), *Pharmacognosy Review*, **4** (7), 42-48
- Shang, S., Cheng, X., Zhu, N., Stark, R.E., Badmaev, V., Ghai, G., Rosen, R.T., Ho, C.T., 2001, Flavonol Glycosides and Novel Iridoid Glycoside from the Leaves of *Morinda citrifolia*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49** (9), 4478-4481
- Steer, J., 1999, Structure and Reaction of Chlorophyll, diakses dari <http://www.ch.ic.ac.uk> pada tanggal 29 Desember 2016
- Wang, M.Y., West, B.J., Jensen, C.J., Nowicki, D., Chen, S., Palu, A., Anderson, G., 2002, *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research, *Acta Pharmacologica Sinica*, **12**, 1127-1141