

Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari *Cladophora sp.* Dengan Metode Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE)

Extraction Of Bioactive Compounds From *Cladophora sp.* With Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE) Method

Yoni Rina Bintari, Helmin Elyani
Faculty Of Medicine, Universitas Islam Malang, Indonesia
Email: yonirina854@yahoo.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Tahapan penting dalam penemuan senyawa bioaktif yang memiliki efek farmakologi adalah tahap ekstraksi. Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE) merupakan metode ekstraksi yang ekonomis dan ramah lingkungan yang bisa menjadi alternative metode ekstraksi senyawa bioaktif dari *Cladophora sp.*

Metode: Optimasi ekstraksi dengan metode SFMAE dilakukan dengan memvariasi daya microwave yakni 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% (0 W, 200 W, 400 W, 600 W, 800 W dan 1000 W), dan penambahan air terhadap alga yakni 10 ml/g, 15 ml/g, 20 ml/g dan 30 ml/g. Daya dan jumlah air yang optimum ditentukan dari rendemen yang paling tinggi. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder ditentukan dengan melakukan uji skrining fitokimia menggunakan reagen warna yang spesifik.

Hasil: Hasil optimasi ekstraksi diperoleh rendemen paling tinggi sebesar 3,733% dengan daya 400 W dan penambahan air terhadap alga 30 ml/g. Uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa *Cladophora sp.* mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, fenolik, saponin, dan terpenoid.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil skrining fitokimia ekstrak *Cladophora sp.* berpotensi memiliki aktivitas biologis seperti aktivitas antioksidan dan antibakter, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk menguji aktivitas yang dimiliki ekstrak *Cladophora sp.*

Kata Kunci: Ekstraksi, SFMAE, *Cladophora sp.*, Senyawa Bioaktif

ABSTRACT

Introduction: Extraction stages is important, in order to discovery of bioactive compounds that have pharmlological effects. Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE) is alternative procedure with criteria of green chemistry and sustainability.

Methods: In order the examine the effect of microwave power, six power level 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% (0 W, 200 W, 400 W, 600 W, 800 W and 1000 W) were studied. The variation of adding water 10 ml/g, 15 ml/g, 20 ml/g

and 30 ml/g were studied. Optimum condition of extraction from the highest yield. Phytochemical screening using specific reagent to know bioactive compounds group.

Results: The result obtained is the highest yield of 3,7333% with 400 W microwave power and 30 ml/g adding water in 360 seconds. The results of phytochemical screening of *Cladophora Sp* extract contain secondary metabolites of alkaloid, phenolic, terpenoid and saponin groups.

Conclusion: From phytochemical screening, *Cladophora sp.* has potential of antioxidant and antibacterial activity, so the next research focus to antioxidant and antibacterial activity.

Keywords: Extraction, SFMAE, *Cladophora sp.*, Phytochemical

PENDAHULUAN

Tahapan penting dalam penemuan senyawa bioaktif dari bahan alam adalah tahap ekstraksi. Dalam tahap ekstraksi senyawa bioaktif diperlukan metode efektif, efisien, dan ramah lingkungan. Metode ekstraksi senyawa aktif dari alga secara umum dilakukan dengan perusakan sel. Beberapa metode perusakan sel antara lain metode sonikasi, gelombang mikro, *osmotic shock* (dengan NaCl), dan autoklav [5-7]. Ekstraksi dengan bantuan energi gelombang mikro sebagai salah satu metode ekstraksi cukup potensial karena memiliki pemanasan efektif, transfer energi yang cepat, dan gelombang mikro efektif untuk mengekstrak senyawa aktif dari alga.

Pemanfaatan gelombang mikro dalam proses ekstraksi dapat menggunakan *microwave oven*.

Proses ekstraksi dengan *microwave oven* pada prinsipnya memanfaatkan gelombang mikro yang dihasilkan oleh medan listrik dan medan magnet yang saling beresilasi dengan adanya dua fenomena yang berjalan secara simultan. Dua fenomena tersebut adalah konduksi ionik dan rotasi dipol [10]. Dua fenomena tersebut menyebabkan timbulnya panas dan tekanan, sehingga sel mikroalga akan pecah dan senyawa target terkandung di dalam sel akan keluar [3-4]. Ekstraksi dengan memanfaatkan gelombang mikro dalam perusakan sel dikenal sebagai *Solvent Free Microwave Assisted Extraction* (SFMAE).

Ekstraksi menggunakan *microwave oven* sangat dipengaruhi oleh pelarut. Pelarut yang mampu menyerap gelombang mikro adalah pelarut yang memiliki nilai koefisien

dielektrik dan faktor dissipasi tinggi. Beberapa penelitian ekstraksi senyawa bioaktif dengan *microwave oven* sudah dilakukan dengan menggunakan pelarut air yang mampu menyerap gelombang mikro [10]. Penggunaan pelarut air menggantikan pelarut organik yang memiliki efek negatif terhadap lingkungan dan kesehatan karena sifatnya toksik dan tidak dapat diperbaharui. Air dapat digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi karena air memiliki koefisien dielektrik sebesar 78,3 sehingga mampu menyerap gelombang mikro. Keunggulan air sebagai pelarut untuk ekstraksi adalah kelimpahannya banyak, tidak toksik dan akan meminimalkan penggunaan pelarut organik.

Cladophora sp. merupakan alga hijau yang banyak tersebar di laut Tamban yang merupakan perairan selatan Malang. *Cladophora sp.* memiliki senyawa metabolit sekunder yang bisa berpotensi sebagai obat. Untuk mendapatkan senyawa bioaktif dengan rendemen yang besar dengan waktu yang efektif dilakukan penelitian ekstraksi dengan SFMAE.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum ekstraksi senyawa bioaktif dari *Cladophora sp.* dengan metode SFMAE. Kondisi optimum ekstraksi meliputi daya gelombang mikro yang digunakan, penambahan air terhadap *Cladophora Sp.* Kondisi optimum ekstraksi ini ditentukan dari besarnya rendemen. Untuk mengetahui potensi *Cladophora sp.* dilakukan skrining fitokimia meliputi metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik dan saponin.

SUBJEK DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Cladophora sp.*, aquades, reagen mayer, dragendrof, FeCl₃, H₂SO₄ pekat, HCl. Selain spesies alga, semua bahan tersebut memiliki kualitas pro analitik (p.a). Alga diambil dari perairan Tamban, Malang.

Peralatan

Dalam penelitian ini digunakan peralatan berupa *microwave oven*, termometer, sentrifuse, alat-alat gelas laboratorium, kompor, evaporator Buchi.

Prosedur

Penentuan daya gelombang mikro pada *microwave oven*

Biomassa sebanyak 2 gram ditambahkan air 60 mL kemudian diekstrak selama 300 detik, dengan daya gelombang mikro yang divariasikan. Variasi gelombang mikro yakni 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% (0 W, 200 W, 400 W, 600 W, 800 W, dan 1000 W). Waktu ekstraksi dilakukan dengan pola 30 detik ekstraksi dalam *microwave oven* dan 1 menit dihentikan. Campuran yang diperoleh kemudian dievaporasi. Ekstrak yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya

$$\text{Rendemen} = \frac{M_{\text{ekstrak yang diperoleh}}}{M_{\text{alga}}} \times 100 \%$$

Penentuan penambahan jumlah air pada mikroalga

Langkah untuk menentukan penambahan jumlah air pada mikroalga dengan metode SFMAE sama dengan langkah penentuan daya gelombang mikro. Penentuan jumlah air pada mikroalga dilakukan pada kondisi daya optimum, waktu reaksi selama 300 detik, dan penambahan jumlah air dengan variasi 10 ml/g, 15 ml/g, 20 ml/g dan 30 ml/g. Campuran

yang diperoleh kemudian dievaporasi. Ekstrak yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya.

Analisis Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid. Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan uji Mayer dan Dragendorff. Ekstrak yang diperoleh diambil 2 ml dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml reagen Mayer. Pembentukan endapan berwarna kuning atau putih menunjukkan adanya metabolit sekunder golongan alkaloid. Ekstrak yang diperoleh diambil 2 ml dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml reagen Dragendorff. Pembentukan endapan berwarna jingga hingga merah coklat menunjukkan adanya metabolit sekunder golongan alkaloid.

Uji Terpenoid. Pengujian terpenoid dilakukan dengan menambahkan 3 mL H₂SO₄ pekat pada 5 mL ekstrak dalam tabung reaksi. Pembentukan warna coklat kemerahan pada antar muka lapisan menunjukkan adanya metabolit sekunder golongan terpenoid.

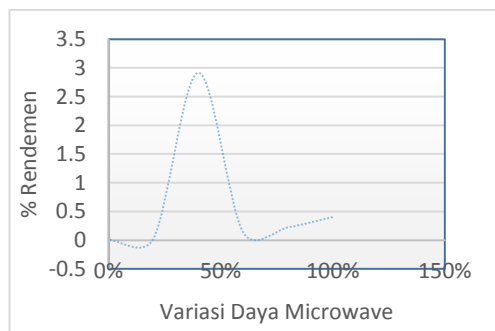
Uji Fenolik. Pengujian fenolik dilakukan dengan menggunakan uji ferric klorida.

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan beberapa tetes ferric klorida, terbentuknya warna biru dongker kehitaman menunjukkan adanya metabolit sekunder golongan fenolik.

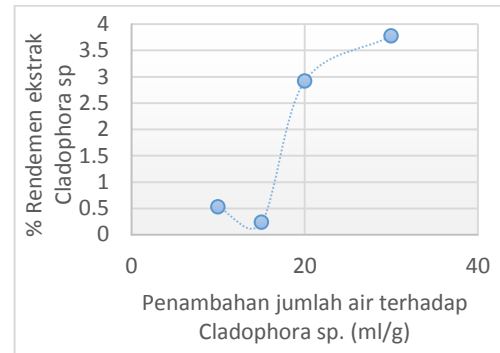
Uji Saponin. Pengujian saponin dilakukan dengan test *Foam*. Sebanyak 5 mL ekstrak dalam tabung reaksi dilakukan pengocokan secara kuat beberapa lama. Pembentukan busa permanen (kurang lebih 15 menit) dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida pekat menunjukkan mengandung metabolit sekunder golongan saponin.

HASIL

Dari hasil penelitian yang dilakukan, maka diperoleh data daya optimum gelombang mikro dan penambahan jumlah air terhadap rendemen ekstrak *Cladophora sp.* yang disajikan pada grafik 1 dan 2.



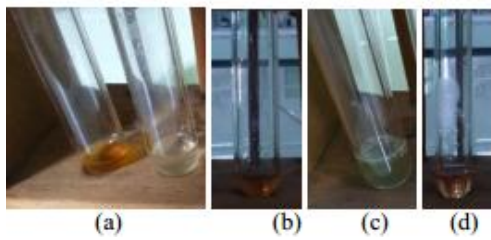
Gambar 1. Grafik pengaruh daya *microwave* terhadap rendemen ekstrak *Cladophora sp.*



Gambar 2. Grafik penambahan jumlah air pada *Cladophora sp.* terhadap rendemen ekstrak *Cladophora sp*

Kondisi optimum ekstraksi didapatkan rendemen sebesar 3.7333% yang diekstrak pada daya 400 W dengan penambahan jumlah air terhadap *Cladophora sp.* sebesar 30 ml/g selama 300 sekon.

Uji skrining fitokimia pada ekstrak *Cladophora sp.* dengan reagen warna spesifik terhadap golongan metabolit sekunder, disajikan pada tabel 1 dan gambar 3 dibawah ini.



Gambar 3. Uji Skrining fitokimia ekstrak *Cladophora sp.*, (a) uji alkaloid, (b) uji fenolik, (c) uji saponin, (d) uji terpenoid

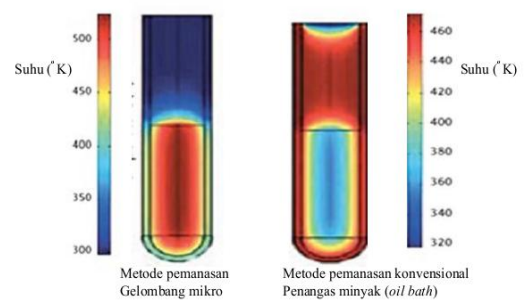
Tabel 1 Hasil Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak *Cladophora sp.*.

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Warna
Alkaloid	Dragendro f	+	warna merah
Alkaloid	Mayer	+	endapan putih
Fenolik	FeCl ₃	-	Warna kuning
Saponin	Test Foam	+	Terbentuk busa
Terpenoid	Salkowitsky	+	cincin warna merah

PEMBAHASAN

Penentuan daya optimum ekstrak *Cladophora sp.*

Ekstraksi senyawa bioaktif dengan *microwave oven* merupakan proses ekstraksi dengan memanfaatkan paparan energi gelombang mikro untuk memecah dinding sel. Dengan paparan gelombang mikro, senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya dapat terekstrak dengan maksimal. Paparan gelombang mikro akan memberikan pemanasan yang berbeda dengan pemanasan secara konvensional. Proses pemanasan dengan gelombang mikro terjadi dengan target spesifik serta tidak ada panas yang hilang di lingkungan, sebaliknya pada pemanasan konvensional [10]. Perbedaan pemanasan ini dilustrasikan pada gambar 4.



Gambar 4. Perbedaan profil pemanasan gelombang mikro dengan konvensional [10]

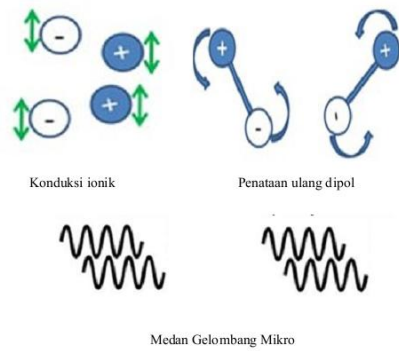
Penentuan daya optimum *microwave oven* untuk ekstraksi

senyawa bioaktif *Cladophora Sp.* diperlukan untuk mengetahui daya maksimal yang digunakan sehingga menghasilkan rendemen yang tinggi. Dari grafik gambar 1 terlihat bahwa semakin besar daya yang dipaparkan maka semakin besar pula rendemen yang dihasilkan hingga pada daya 400 W dihasilkan rendemen sebesar 2.915 %. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan daya sebanding dengan transfer massa hingga mencapai titik tertentu, yakni diperolehnya rendemen yang optimum. Pada penambahan daya diatas 400 W terjadi penurunan jumlah rendemen. Hal ini dimungkinkan pada daya 400 W, sudah mampu merusak dinding sel *Cladophora sp.*, sehingga dengan penambahan daya tidak menambahkan rendemen justru akan menurunkan rendemen karena semakin tinggi paparan gelombang mikro menyebabkan berkurangnya air sebagai pelarut. Berkurangnya air sebagai pelarut menyebabkan senyawa bioaktif tidak akan maksimal terambil dalam pelarut. Penelitian serupa juga melaporkan bahwa ekstraksi lipida dari *Spirulina platensis* maksimal terekstrak pada daya 560 W, penambahan daya

diatasnya juga tidak menaikkan rendemen [2].

Penentuan penambahan jumlah air optimum terhadap *Cladophora sp.*

Efektifitas ekstraksi senyawa bioaktif *Cladophora sp.* sangat dipengaruhi oleh pemilihan suatu pelarut. Air merupakan pelarut yang mempunyai koefisien dielektrik yang cukup tinggi yakni sekitar 78,3, sehingga mampu menyerap gelombang mikro. Ekstraksi dengan metode SFMAE akan efektif pada penggunaan jumlah air tertentu. Hal ini dikarenakan pada ekstraksi SFMAE, air yang memiliki konstanta dielektrik tinggi akan menyerap gelombang mikro, kemudian akan terjadi penataan dipol terhadap medan elektrik [10]. Fenomena seperti yang diilustrasikan pada gambar 5, akan menimbulkan getaran kemudian menghasilkan panas dan tekanan. Tekanan inilah akan mendorong dinding sel dari dalam yang menyebabkan peregangan hingga sel pecah dan senyawa bioaktif terekstrak keluar.



Gambar 5. Konduksi ionik dan penataan dipol karena pengaruh dari gelombang mikro [9]

Jika jumlah air yang ditambahkan belum optimal maka fenomena rotasi dipol juga tidak akan optimal, akibatnya sel tidak akan pecah dengan optimal. Pemecahan sel yang tidak optimal akan berdampak pada rendemen ekstrak *Cladophora sp.* juga tidak optimal.

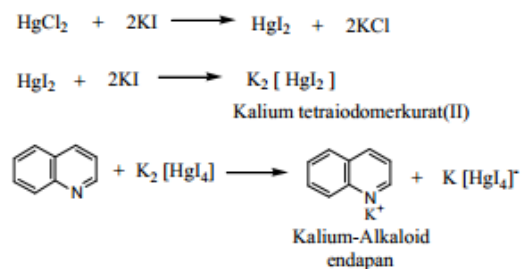
Pada penelitian ini dengan penambahan jumlah air terhadap *Cladophora sp.* sebesar 30 ml/g diperoleh rendemen paling besar yakni 3,7333%. Berdasarkan grafik gambar 2 terlihat bahwa pola grafik masih meningkat, sehingga diperlukan penelitian lanjutan optimasi penambahan jumlah air terhadap *Cladophora sp.* Penelitian serupa juga melaporkan bahwa semakin besar jumlah air yang

ditambahkan pada *Spirulina platensis* dan *Tetraselmis chuii* juga meningkatkan jumlah ekstrak lipida yang dihasilkan [2].

Skrining Fitokimia *Cladophora sp.*

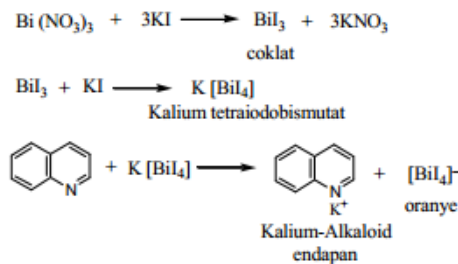
Komponen metabolit sekunder yang ada di dalam ekstrak *Cladophora sp.*, diuji dengan menggunakan uji warna yang merupakan pereaksi-pereaksi spesifik untuk mengetahui metabolit sekunder golongan senyawa alkaloid, terpenoid, fenolik, dan saponin.

Uji alkaloid pada ekstrak *Cladophora Sp.* dengan reagen mayer dan dragendrof menunjukkan hasil positif. Uji alkaloid dengan reagen mayer positif jika menunjukkan endapan warna putih atau kuning. Terbentuknya endapan ini diperkirakan merupakan reaksi dari ion K^+ yang ada dalam reagen mayer dengan ion nitrogen yang ada dalam alkaloid [8].



Gambar 6. Reaksi terbentuknya endapan pada uji alkaloid dengan reagen Mayer [8]

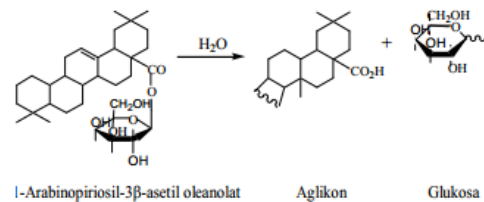
Pada uji metabolit sekunder golongan alkaloid dengan reagen Dragendrof, positif jika terbentuk endapan warna jingga hingga merah coklat. Hal ini karena reagen dragendrof mengandung Bismute Nitrate ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$) dan Kalium Iodide KI yang bereaksi membentuk kalium tetraiodobismutat $\text{K}(\text{BiI}_4)$. Ion Nitrogen yang ada pada metabolit sekunder kemudian bereaksi dengan ion K^+ sehingga terbentuklah endapan alkaloid, dengan warna jingga hingga merah kecoklatan merupakan $(\text{BiI}_4)^-$ [8]



Gambar 7. Reaksi terbentuknya endapan pada uji alkaloid dengan Dragendrof

Hasil uji saponin pada ekstrak *Cladophora sp.* dengan menggunakan uji Foam menunjukkan hasil positif

dengan terbentuknya busa permanen. Terbentuknya busa permanen ini menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa yang terhidrolisis di dalam air menjadi glukosa dan senyawa yang lain [8]



Gambar 8. Reaksi hidrolisis saponin

Uji skrining fitokimia ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa skrining fitokimia dari *Cladophora ruspetris* mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, karbohidrat, asam amino dan protein, senyawa fenolik, flavonoid dan tanin [9]. Golongan metabolit sekunder yang dimiliki oleh *Cladophora sp.* berpotensi memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti anticancer, antiproliferasi, antioksidan ataupun antibakteri [1].

SIMPULAN

Pada penelitian ini didapatkan rendemen paling tinggi sebesar 3,7333% dengan daya microwave

sebesar 400 W dan penambahan jumlah air terhadap *Cladophora sp.* sebesar 30 ml/g dalam waktu 360 sekon. Hasil skrining fitokimia ekstrak *Cladophora sp.* mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, fenolik, terpenoid dan saponin.

SARAN

Dari hasil uji skrining fitokimia, ekstrak *Cladophora sp.* berpotensi memiliki aktivitas biologis, diantaranya adalah aktivitas antioksidan dan antibakteri, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk membuktikan aktivitas biologi yang dimilikinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sangat berterimakasih kepada LPPM UNISMA dan Staf Laboratorium Herbal, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang yang selama ini mendukung kelancaran dalam penelitian.

DAFTAR PUSTKA

- [1] Abad, M.J., Bedoya, L.M., Bermejo, P. 2011. Marine Compounds and Their Microbial Activities, Science agnaist microbial pathogen. 1293-1306.
- [2] Bintari, Y., B. Ekstraksi Lipida dengan Metode Microwave Assisted Extractiosian dari Mikroalga Yang Potensial Sebagai Biodiesel. [Tesis]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; 2014.
- [3] Choi, I., Choi, S.J., Chun, J.K., dan Moon, T.W. 2006. Extraction yield of solouble protein and microstructure of soybean affected by microwawe heating. J Food Process Pres, 30, 4, 407-419.
- [4] Iqbal, J., dan Theegala, C. 2013. Miccrowave assisted lipid extraction from microlagae using biodiesel as co solvent. Algal Research, 2, 34-42.
- [5] Lee, S.J., Yon, B.D., dan Oh, H.M. 1998. Rapid Method for the determination of lipid from the green alga Botrycocus brauni. Biotechnol. Tech., 12, 553-556.
- [6] Lee, Y.J., Yoo, C., Jun, S.Y., Ahn, C.Y., dan Oh, H.M. 2010. Comparison several methods for effective lipid extraction from microalgae. Bioresource Technol., 101, S75-S77.
- [7] Prabakaran, P., dan Ravindran, A.D., 2011. A comparative study on effective cell dirruption methods for lipid extraction from microalgae. Lett. Appl. Microbiol., 53: 150-154.
- [8] Soerya, D., M., Venty, S., dan Suryono., 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Komponen Kimia Buah Labu
Siam dalam Ekstrak Etanol.
Biofarmasi (1), 26-31

- [9] Sutindrian, K., dan Abhinab, D.,
2014. In Vitro Bioactivity Of
Marine Seaweed *Cladophora*
rupestris. Int J Pharm Bio Sci, B
(898-908).
- [10] Veera, G.G, Patil, P., Gueera,
E.M., Dheng, S., dan
Nirmalakhandan, N., 2013,
Microwave Energy Potential for
Biodiesel Production. Sustain.
Chem. Process,