

JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 9 Nomor 2

Mei, 2020

*Media untuk mempublikasikan
hasil-hasil penelitian seluruh
dosen dan mahasiswa Kimia
FMIPA Unand*

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Andalas

Tim Editorial Jurnal Kimia Unand

Emil Salim, M.Sc, M.Si
Dr. Syukri
Prof. Dr. Adlis Santoni
Prof. Dr. Rahmiana Zein
Prof. Dr. Syukri Arief
Dr. Mai Efdi

Alamat Sekretariat

Jurusan Kimia FMIPA Unand
Kampus Unand Limau Manis, Padang – 25163
PO. Box 143, Telp./Fax. : (0751) 71 681
Website Jurnal Kimia Unand: www.jurnalsain-unand.com
Corresponding E-mail: salim_emil17@yahoo.com
syukri@fmipa.unand.ac.id

DAFTAR ISI

| JUDUL ARTIKEL | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN SIRIH-SIRIH (<i>Piper aduncum</i> L.) Mai Efdi, Afrizal, Zil Arifah | 1-5 |
| 2. PEMANFAATAN KARBON AKTIF DARI AMPAS KOPI SEBAGAI BAHAN ELEKTRODA SUPERKAPASITOR DENGAN AKTIVATOR ZnCl ₂ Olly Norita Tetra, Hermansyah Aziz, Clalitya Akmal | 6-12 |
| 3. ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK HEKSANA DAUN <i>Lantana Camara</i> L DAN BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI SITOTOKSIK Suryati, Bustanul Arifin, Ilhardi Akbar | 13-20 |
| 4. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK SERTA KANDUNGAN FENOLIK TOTAL EKSTRAK DAUN JAMBU AIR (<i>Syzygium aqueum</i> (Burm.f.) Alston) BUAH HIJAU Afrizal Itam, Elin Novianti, Bustanul Arifin | 21-29 |
| 5. PENGGUNAAN MIKROALGA <i>Scenedesmus dimorphus</i> SEBAGAI ANTIANEMIA DEFISIENSI ZAT BESI PADA MENCIT PUTIH Armaini, Dharma Abdi, Wildayanti | 30-36 |

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN SIRIH-SIRIH (*Piper aduncum* L.)

Mai Efdi *, Afrizal, Zil Arifah

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, 25163 Indonesia
*E-mail : maiefdi@gmail.com

Abstract :Tumbuhan *Piper aduncum* L termasuk kedalam famili *Piperaceae* yang tumbuh liar dan tersebar luas di daerah tropis. Dalam pengobatan tradisional *Piper aduncum* L dimanfaatkan untuk mengobati berbagai penyakit seperti penyakit kulit, gangguan pencernaan, menghentikan pendarahan, demam, sakit gigi, dan reumatik. Isolasi ekstrak etil asetat daun *Piper aduncum* L telah dilakukan menggunakan metoda kromatografi kolom dengan *Step Gradient Polarity* (SGP), KLT, kolom Sephadex LH-20, kromatografi lapis tipis preparatif hingga diperoleh padatan kuning pucat dengan titik leleh 113-114 °C. Hasil karakterisasi *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis) terhadap senyawa hasil isolasi menunjukkan serapan pada panjang gelombang 266, 278, dan 288 nm. Sedangkan hasil spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3165,57 cm^{-1} (regangan -OH); 2918,39 cm^{-1} (C-H alifatik); 1712,62 cm^{-1} (C=O); 1653,91 cm^{-1} (regangan C=C); 1611,78 cm^{-1} (regangan cincin aromatik C=C-C) dan bilangan gelombang 1161-1269 cm^{-1} (C-O lakton). Hasil uji KLT menunjukkan adanya pola noda biru berfluoresensi setelah penambahan NaOH 4% dibawah sinar lampu UV (λ_{365}). Hal ini mengindikasikan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh termasuk golongan Kumarin.

Kata Kunci: *Piper aduncum* L, *Piperaceae*, isolasi, *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis), *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

I. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam hayati, yang telah dimanfaatkan dan diteliti sebagai tumbuhan obat. Salah satu tumbuhan obat yang sering digunakan ialah *Piper aduncum* L^[1]. Tumbuhan *Piper aduncum* L merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili *Piperaceae* yang berasal dari Amerika Selatan dan masuk ke Indonesia diperkenalkan pada tahun 1860^[2]. Tumbuhan *Piper aduncum* L dapat tumbuh dan berkembang pada daerah dengan suhu udara antara 24 dan 30 ^[3].

Tumbuhan *Piper aduncum* L secara tradisional sudah digunakan dan diketahui khasiatnya sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat untuk menghilangkan bau badan, menghentikan pendarahan, membantu penyembuhan luka dikulit, digunakan untuk obat kumur, bahkan digunakan dalam industri wewangian^[4].

Minyak atsiri dan ekstrak *Piper aduncum* L dilaporkan memiliki Aktivitas

Antibakteri, Antijamur, Antiprotozoa, Antioksidan dan Aktivitas Insektisida^{[5][6]}.

Tumbuhan *Piper aduncum* L kaya akan senyawa metabolit sekunder, yang termasuk dalam golongan alkaloid, fenilpropanoid, monoterpen, seskuiterpen, steroid, tanin, flavonoid, kuinon, kromena, dan benzenoid. minyak atsiri daun tumbuhan *Piper aduncum* L mengandung dilapiol, β -kariofilena, piperiton, α -humulena^{[7][8]}. Gambar daun tumbuhan *Piper aduncum* L dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan *Piper aduncum* L

Adapun klasifikasi tumbuhan *Piper aduncum* L ialah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Angiosperm
Sub : Angiospermae
Divisi
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies : *Piper aduncum* Linn

Tumbuhan *Piper aduncum* L telah banyak dikembangkan mengenai bioaktivitas dari minyak atsiri dan berbagai ekstrak tumbuhan *Piper aduncum* L. Pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat daun tumbuhan *Piper aduncum* L dan mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi dengan metoda spektroskopi *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis), *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

II. Metodologi Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini ialah lumpang, alu, oven, kapas, kromatografi kolom, botol vial, label, aluminium foil, lampu UV (λ 254 nm & 365 nm), hot plate, dan oven serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium sebagai alat untuk proses persiapan, isolasi dan pemurnian. Peralatan yang digunakan untuk karakterisasi senyawa hasil isolasi adalah Spektrofotometer *Ultraviolet-Visible* (Thermo Scientific, Genesys 10 UV-Vis), Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (Thermo Scientific, Nicolet iS10).

Bahan kimia yang digunakan penelitian ini ialah pelarut teknis yang didistilasi seperti heksana, etil asetat, kloroform, aseton dan metanol. Bahan yang digunakan untuk isolasi senyawa yaitu silika gel 60 (0,063-0,200 mm/Merck) dan plat KLT (DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck).

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1. Uji KLT Pendahuluan

Ekstrak daun tumbuhan *Piper aduncum* L dilakukan uji KLT terlebih dahulu, dimana plat KLT diberi tanda batas atas dan bawah sebesar 0,5 cm. Pada bagian batas bawah plat KLT ekstrak daun tumbuhan *Piper aduncum* L ditotolkan menggunakan pipa kapiler kemudian dielusi heksana : etil asetat (3:7). Hasil elusi pada plat KLT dilihat dibawah sinar lampu UV 254 dan 365 nm.

2.2.2. Isolasi dan Pemurnian Senyawa Isolasi

Ekstrak daun *Piper aduncum* L sebanyak 30 gram dilakukan preadsorpsi dengan menambahkan silika gel (1:1). Selanjutnya di gerus hingga homogen dan berbentuk bubuk halus. Sampel yang telah dipre-absorpsi dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi bubuk silika secara perlahan, kemudian di elusi menggunakan pelarut (eluen) dengan metoda *step gradient polarity* (SGP) dimulai dari pelarut heksana : etil asetat (10:0 - 0:10) dan etil asetat : metanol (10:0 - 5:5).

Eluat yang mempunyai pola pemisahan noda yang sama digabung menjadi satu fraksi sehingga diperoleh 12 fraksi utama (Fr.1- Fr.12). Fraksi 6 (2,0416 gram) dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom silika gel dengan metoda yang sama dengan sebelumnya. sehingga diperoleh 6 sub-fraksi (Fr.6.1- Fr.6.6). Masing-masing sub-fraksi tersebut diamati dan dipilih fraksi 6.4 dan 6.5 untuk pemisahan lebih lanjut. Fraksi 6.5 (0,7159 gram) direkromatografi kembali dengan menggunakan kromatografi kolom silika gel dengan metoda yang sama dengan sebelumnya dimulai dari eluen heksana : etil asetat (10:0 - 6,5:3,5) diperoleh sebanyak 5 subfraksi. Masing-masing subfraksi dilakukan uji KLT dan dipilihlah subfraksi 6.5.3. Fraksi 6.5.3 dan 6.4.1 digabung (0,178 gram) dan dimurnikan dengan menggunakan kolom Sephadex LH-20 dengan eluen metanol, kemudian dipisahkan kembali dengan KLT preparatif dengan cara menotolkan fraksi etil asetat pada KLT 20 x 20 cm dengan

fasa diam silika gel dan fasa gerak heksana : etil (6:4).

2.2.3. Uji Kemurnian senyawa Hasil Isolasi
 Senyawa hasil isolasi yang diperoleh dilakukan uji titik leleh, uji KLT dengan berbagai variasi kepolaran eluen dan diungkap dengan reagen NaOH 4%.

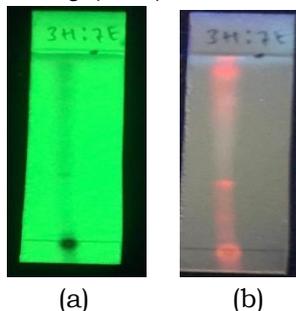
2.2.4. Karakterisasi senyawa Hasil Isolasi Menggunakan spektroskopi UV-Vis dan FTIR

Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi dengan cara mengelusidasi data-data spektrum yang telah diperoleh menggunakan data spektrum UV-Vis dan spektrum *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

III. Hasil Dan Pembahasan

3.1. Uji KLT pendahuluan

Hasil uji KLT pendahuluan terhadap ekstrak etil asetat didapatkan noda yang tidak terpisah dengan baik, sehingga sistem elusi yang digunakan untuk pemisahan senyawa metabolit sekunder ini ialah menggunakan sistem *Step Gradient Polarity* (SGP).



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak etil asetat tumbuhan *Piper aduncum* L pada (a) λ_{254} dan (b) λ_{365}

3.2. Isolasi senyawa metabolit sekunder

Hasil Kromatografi diperoleh sebanyak 1084 vial. Hasil tersebut dimonitor pada plat KLT sehingga didapatkan sebanyak 12 fraksi Fraksi 1-12 menunjukkan karakteristik berupa padatan berwarna hitam seperti gel. Pemisahan lebih lanjut dilakukan pada fraksi 6 dengan kromatografi kolom dan proses elusi dilakukan dengan cara SGP pemisahan senyawa dari fraksi 6 didapatkan sebanyak 173 vial dan 6 fraksi gabungan (6.1 -6.6). Dari masing-masing sub-fraksi yang didapatkan dilakukan pemisahan

kembali pada Sub-fraksi F.6.4 Sub-fraksi F 6. 5.

fraksi F.6.4 didapatkan sebanyak 30 vial dan F.6.4.1 yang menunjukkan spot noda yang sama digabung kemudian dimurnikan lebih lanjut dengan metoda rekristalisasi. Hasil rekristalisasi tersebut berupa padatan putih kekuningan.

Hasil pemisahan fraksi F.6.5 didapatkan sebanyak 97 vial dan 5 fraksi gabungan (6.5.1-6.5.5). fraksi 6.5.3 (0,0955 gram) menunjukkan pola noda yang sama dengan fraksi 6.4.1, kedua sub fraksi tersebut kemudian digabung (0,178 gram) dan dimurnikan dengan menggunakan kolom Sephadex LH-20 dengan eluen methanol. Identifikasi kemudian dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). KLTP ini menampakkan noda biru pada λ_{365} nm. Senyawa hasil isolasi yang diperoleh berupa padatan kuning pucat sebanyak 4,1 mg.

3.3. Uji kemurnian senyawa

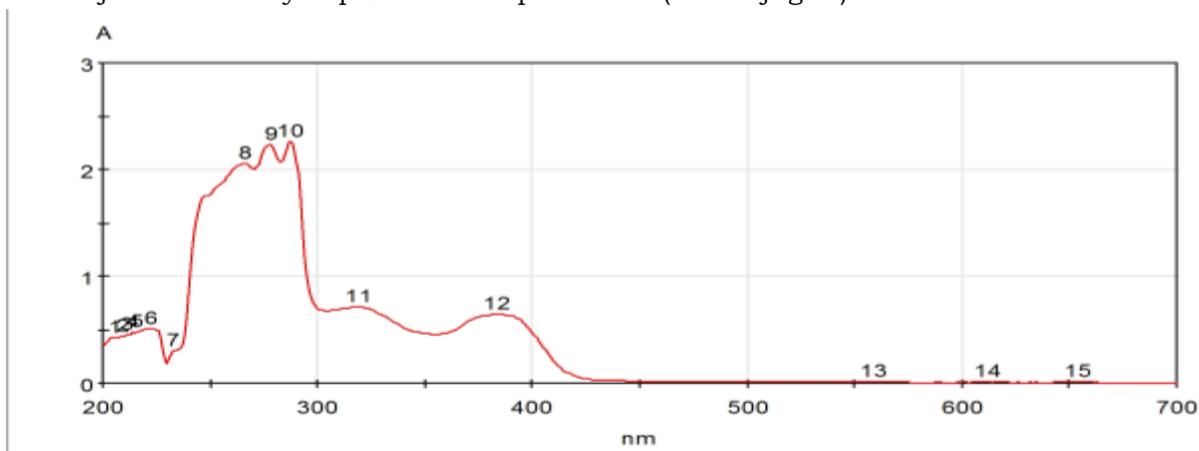
Senyawa hasil isolasi yang diperoleh memiliki range titik leleh senyawa antara 113-114°C. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi yang diuji dengan berbagai perbandingan eluen sudah murni ditandai dengan adanya pola noda tunggal. dan berfluorisensi setelah di semprotkan NaOH 4% dibawah sinar UV 365 nm dari uji KLT menandakan bahwa senyawa yang diperoleh termasuk kedalam golongan senyawa metabolit sekunder kumarin.

Tabel 1. Hasil uji KLT senyawa hasil isolasi dengan berbagai perbandingan eluen

| No | Eluen | Rf | Penampak Noda | |
|----|-------------------|-------|---------------|-----------|
| | | | UV 254 nm | UV 356 nm |
| 1 | Heksana : | 0,525 | 1 | 1 |
| | etil asetat (4:6) | | noda biru | noda biru |
| 2 | Heksana : | 0,625 | 1 | 1 |
| | etil asetat (5:5) | | noda biru | noda biru |
| 3 | Heksana : | 0,8 | 1 | 1 |
| | etil asetat (6:4) | | noda biru | noda biru |

3.4. Karakterisasi senyawa hasil Isolasi
Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektroskopi UV-Vis menunjukkan adanya puncak serapan

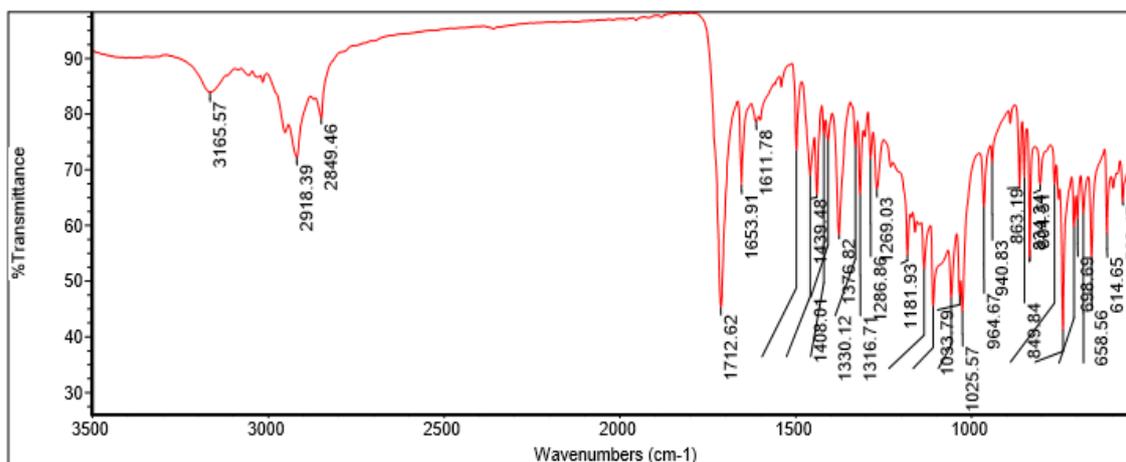
maksimum pada panjang gelombang dibawah 300 nm (266, 278, dan 288 nm) menunjukkan terjadinya transisi elektron dari n ke $\pi^*(C-O)$ dan transisi dari π ke π^* (berkonjugasi).



Gambar 2. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi

Karakterisasi senyawa dengan spektroskopi FTIR menunjukkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3165,57 cm^{-1} yang menandakan adanya regangan gugus OH, bilangan gelombang 2918,39 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C-H alifatik, bilangan gelombang 2849,46 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C-H, bilangan gelombang 1712,62

cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C=O, bilangan gelombang 1653,91 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus regangan C=C, bilangan gelombang 1611,78 cm^{-1} yang menandakan adanya gugus C=C-C (regangan cincin aromatik), bilangan gelombang 1161-1269 cm^{-1} menandakan bahwa adanya gugus C-O laktone.



Gambar 3. Spektrum FTIR Senyawa Hasil Isolasi

IV. Kesimpulan

Senyawa hasil isolasi dari ekstrak etil asetat tumbuhan *Piper aduncum* L yang diperoleh berupa padatan kuning pucat (4,1 mg) dengan titik leleh 113-114 $^{\circ}C$, uji KLT dengan penampak noda NaOH 4% senyawa yang diperoleh termasuk kedalam golongan senyawa metabolit

sekunder kumarin. Analisis spektrum *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis) mengindikasikan adanya ikatan rangkap berkonjugasi dan dari data spektrum *Fourier Transform Infrared* (FTIR) mengindikasikan senyawa tersebut memiliki gugus fungsi -OH, C=O, C=C, C-H, dan C-O laktone.

Referensi

1. Anwar, L., Efdi, M., N, M., I, S., Putra, D. P., Tanaka, K. & Koketsu, M., Labdane diterpene lactones of *Vitex pubescens* and their antileukemic properties. *Med. Chem. Res.*, (2017).
2. Oliveira, G. L., Moreira, D. de L., Mendes, A. D. R., Guimarães, E. F., Figueiredo, L. S., Kaplan, M. A. C. & Martins, E. R., Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. *Brazilian J. Pharmacogn.*, **23(5)**: 743–753 (2013).
3. Tyasningsih, W., Ratih, R., Erni, R. S. ., Suryanie., Hasutji, E. ., Sri, C. & Didik, H., *Buku Ajar Penyakit Infeksius I*. Airlangga University Press, (2010).
4. Orjala, J., A.D, W., Behreds, H., Folkers, G., Sticher, O., Ruegger, H. & Rail, T., Cytotoxic and Antibacterial Dihydrohalcones from *Piper aduncum*. *J. Nat. Prod.*, **57**: (2004).
5. Rali T, Wossa., D.N. Leach, dan P. W., Volatile chemical constituents of *Piper aduncum* L. and *Piper gibbilimum* (Piperaceae) from Papua New Guinea. . *J. Mol.*, **12**: 389–394 (2007).
6. Safriana, N., Lambui, O. & Ramadanil., Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. **13**: 5–10 (2019).
7. Monzote, L., Scull, R., Cos, P. & Setzer, N. W., Essential Oil from *Piper aduncum*: Chemical Analysis , Antimicrobial Assessment , and Literature Review a yeast. **(1)**: 1–14 (2017).
8. Hasyim, D., Insektisida Botani Terhadap Larva *Crocidolomia pavonana*. (2011).

PEMANFAATAN KARBON AKTIF DARI AMPAS KOPI SEBAGAI BAHAN ELEKTRODA SUPERKAPASITOR DENGAN AKTIVATOR $ZnCl_2$

Olly Norita Tetra, Hermansyah Aziz, Clalitya Akmal*

^{1,2}Laboratorium Elektro/Fotokimia, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia

*Email: alitclalitya@gmail.com

Abstrak: Utilization of activated carbon from waste coffee grounds as a base material for the supercapacitor electrodes has been carried out by carbonization and activation process with $ZnCl_2$ at $400^{\circ}C$ for 2 hours. Activated carbon of waste coffee grounds produced in characterization by Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray (SEM-EDX), Fourier Transform Infrared (FTIR), and Surface Area Analyzer (SAA). The activated carbon produced has a carbon percentage of 72,81% with surface area of $22,8 \text{ m}^2/\text{g}$, the pore volume of $0,004743 \text{ cm}^3/\text{g}$ and the average pore diameter of 2,6 nm. The isotherm adsorption curve of waste coffee grounds activated carbon is type-IV which shows that the waste coffee grounds activated carbon has a dominant structure of mesopore. With an surface area of the electrode plate $3 \times 9 \text{ cm}^2$, mass of activated carbon 0.4 gram with H_3PO_4 electrolyte concentration was 0.4 N and the charging time was 30 minutes, the activated carbon of waste coffee grounds which is used as a base material for supercapacitor electrodes gives a capacitance value of $0,89 \mu\text{F}$ and a conductivity value of $12,2 \times 10^{-8} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Keywords: *Activated carbon, waste coffee grounds, electrode, supercapacitor, capacitance, $ZnCl_2$ activator*

1. Pendahuluan

Baterai banyak digunakan sebagai penyimpan energi karena lebih praktis dan hanya sekali pakai, namun hal tersebut juga menjadi kelemahan karena tidak dapat bertahan lama dalam penggunaannya, rapat daya simpan yang cenderung kecil, menghasilkan limbah yang berbahaya bagi lingkungan, dan tidak ekonomis. Oleh karena itu belakangan ini orang-orang mulai beralih pada superkapasitor. Superkapasitor didasarkan pada pembentukan lapis rangkap listrik pada luas permukaan dari karbon berpori dan memiliki kelebihan yaitu waktu pengisiannya sangat cepat [1]. Karbon aktif, karbon nanotube, karbon nanofiber, dan grafit adalah berbagai jenis karbon yang telah digunakan sebagai bahan elektroda superkapasitor [2].

Pada penelitian ini dimanfaatkan karbon aktif dari ampas kopi untuk dijadikan sebagai bahan elektroda penyimpan energi superkapasitor. Kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin yang terdapat pada ampas kopi dengan jumlah yang besar menjadikan ampas kopi ini bisa dijadikan sebagai karbon aktif dengan persentase kandungan karbon yang tinggi [3]. Struktur mikropori dan mesopori dari karbon aktif dapat meningkatkan kinerja dari superkapasitor. Dilaporkan bahwa campuran struktur pori tersebut akan menyebabkan

terjadinya peranan ganda dari karbon aktif dalam proses penyimpanan muatan. Mikropori karbon berfungsi sebagai penyebar muatan sedangkan struktur mesopori karbon berperan dalam menyimpan muatan di antar muka permukaan elektroda dan separator. Peranan yang bersinergi ini ditunjang juga oleh jumlah karbon yang besar, jenis elektrolit dan luas permukaan dan volume pori karbon yang dihasilkan sehingga memberikan kemampuan dari superkapasitor untuk menyimpan muatan semakin besar dan besarnya rapat dan daya yang dihasilkan juga semakin besar [2]. Selain itu, jenis aktivator yang dipilih akan berpengaruh terhadap kualitas karbon aktif yang dihasilkan. Ada berbagai aktivator kimia telah digunakan dalam pembuatan karbon aktif, diantaranya $ZnCl_2$, KOH, dan H_2SO_4 , H_3PO_4 dan $CaCl_2$, serta Na_2CO_3 [4]. Pada penelitian ini digunakan aktivator $ZnCl_2$ karena $ZnCl_2$ bersifat dehidrasi (melepas air) sehingga membantu dalam mendapatkan hasil karbon yang tinggi dan pengembangan struktur pori pada karbon aktif [5].

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah *stirrer* (IKA[®]C-MAGHS4), *furnace* (Nabertherm), oven (Nabertherm),

plat tembaga, kaca, kabel buaya, neraca analitis (Mettler PM4000), penjepit kertas (Joyko), mikrometer sekrup digital (Krisbow 06000780678) dan peralatan gelas laboratorium lainnya. Peralatan instrumen yang digunakan adalah charger (Handphone Nokia 5V), LCR-Meter (SANWA LCR700), Multimeter (SANWA CD800a), SEM-EDX (Jeol JSM-6510LA), dan SAA (Autosorb-1) dan FTIR (Thermo Scientific, Nicolet iS10).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampas kopi Aceh (diambil dari sisa penggunaan warung kopi di Aceh), tembaga, asam klorida (HCl) (Merck), asam pospat (H_3PO_4) (Merck), seng klorida ($ZnCl_2$) 20% (Merck), H_2O , PVA (Polivinil Alkohol) (Merck), lem kertas, aluminium foil, ampelas dan akuades.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Preparasi Karbon Aktif Ampas Kopi

Ampas kopi dicuci dan dibersihkan dari pengotor, setelah itu dikering anginkan. Kemudian ampas kopi tersebut dikarbonasikan pada suhu $400^\circ C$ selama 2 jam. Setelah proses karbonasi selesai, karbon ampas kopi dihaluskan dan diayak dengan menggunakan ayakan berukuran $45 \mu m$. Selanjutnya karbon disiapkan untuk proses aktivasi. Proses aktivasi dilakukan dengan menambahkan $ZnCl_2$ 20% yang digunakan sebagai zat pengaktivasi, dengan perbandingan masa karbon dan $ZnCl_2$ yaitu 1:2. Karbon direndam dengan $ZnCl_2$, diaduk sampai homogen dan didiamkan selama ± 4 jam. Kemudian dikarbonasi pada suhu $400^\circ C$ selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan menambahkan HCl 1,5 M. Karbon aktif yang dihasilkan, dipanaskan pada suhu $\pm 105^\circ C$ [4].

2.3.2 Karakterisasi Pada Karbon Aktif Ampas Kopi

Karbon aktif ampas kopi dikarakterisasi dengan menggunakan Scanning Electron Microscopy – Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX), Surface Area Analyzer (SAA) dan Fourier Transform Infrared (FTIR).

2.3.3 Pembuatan Separator

Pembuatan separator dilakukan dengan melarutkan 1 gram PVA ($(CH_2CHOH)_n$) ke dalam 20 mL larutan H_3PO_4 0,1 N. Langkah yang sama dilakukan untuk konsentrasi larutan H_3PO_4 0,2 N, 0,3 N, 0,4 N, dan 0,5 N [6].

2.3.4 Pembuatan Plat Elektroda Superkapasitor

Plat tembaga dengan ukuran $3 \times 3 cm^2$, $3 \times 5 cm^2$, $3 \times 7 cm^2$, dan $3 \times 9 cm^2$ sebanyak 2 buah untuk masing-masing ukuran dibersihkan dengan ampelas dan kaca dibersihkan agar tidak ada pengotor yang menempel., setelah itu karbon aktif dengan berat tertentu ditempelkan pada tembaga dengan menggunakan lem kertas. Rangkaian superkapasitor dengan plat disusun seperti Gambar 1. Kedua elektroda disusun seperti sandwich yang dipisahkan oleh separator PVA (Polivinil Alkohol). Untuk mempelajari sifat elektrokimia elektroda dilakukan optimasi dengan variasi konsentrasi larutan elektrolit H_3PO_4 (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 N), waktu pengisian (15; 30; 45; 60 menit) dan dengan ukuran partikel $45 \mu m$.



Gambar 1. Rangkaian Superkapasitor Metoda Plat

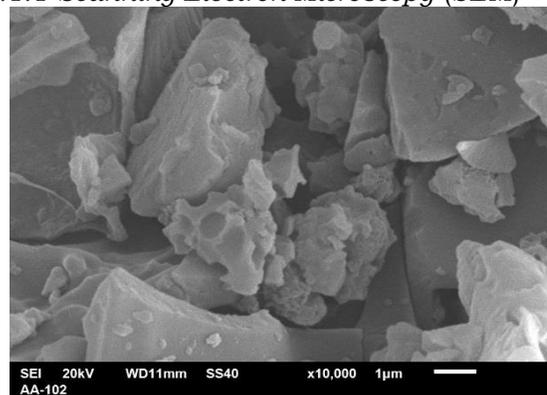
2.3.5 Pengukuran Sifat Listrik dari Rangkaian Superkapasitor

Pengukuran sifat listrik dilakukan dengan menggunakan LCR-Meter (nilai kapasitansi (C), nilai induktansi (L), nilai resistansi (R)) dan Multimeter (tegangan (v), dan arus (i)).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakterisasi Karbon Aktif Ampas Kopi Aceh sebagai Bahan Elektroda

3.1.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)



Gambar 2. Hasil Karakterisasi SEM pada karbon aktif ampas kopi Aceh

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan SEM yang terlihat pada Gambar 2 menunjukkan hasil morfologi pada permukaan karbon aktif ampas kopi Aceh setelah dikarakterisasi menggunakan SEM. Dapat dilihat bahwa karbon aktif ampas kopi memiliki struktur

pori dengan morfologi permukaan berupa granular. Struktur pori tersebut berfungsi sebagai tempat menyimpan muatan, semakin besar kemampuan karbon aktif menyimpan muatan, maka nilai kapasitansi yang dihasilkan juga akan semakin besar. Ukuran partikel karbon aktif yang kecil dapat memberikan situs yang lebih aktif untuk adsorpsi ion dan dapat meningkatkan kemampuan penyimpanan energi yang lebih baik [7].

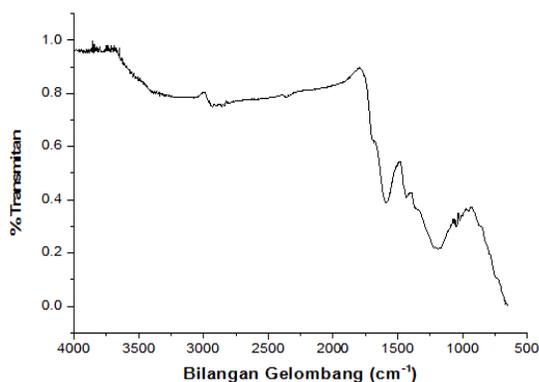
3.1.2 Energi Dispersive X-Ray (EDX)

Tabel 1. Komposisi unsur karbon aktif dari ampas kopi Aceh menggunakan EDX

| Unsur | % Unsur |
|-------|---------|
| C | 72,81 |
| O | 15,01 |
| Cl | 2,47 |
| Cu | 6,08 |
| Zn | 3,63 |

Pada hasil EDX menunjukkan bahwa karbon aktif dari ampas kopi Aceh pada suhu pembakaran 400°C selama 2 jam mengandung unsur karbon (C), oksigen (O), klorin (Cl), tembaga (Cu), dan seng (Zn). Komposisi paling banyak yang terkandung dalam karbon aktif dari ampas kopi Aceh adalah unsur karbon, sedangkan unsur oksigen berasal dari bahan baku yang tertinggal karena proses karbonisasi yang tidak sempurna. Komposisi unsur Zn dan Cl berasal dari aktivator yang digunakan yaitu ZnCl₂ yang masih tersisa dikarbon aktif. Sedangkan unsur Cu kemungkinan berasal dari mineral lain yang terkandung dalam karbon aktif ampas kopi Aceh karena bahan dasar karbon berasal dari bahan alam [8]

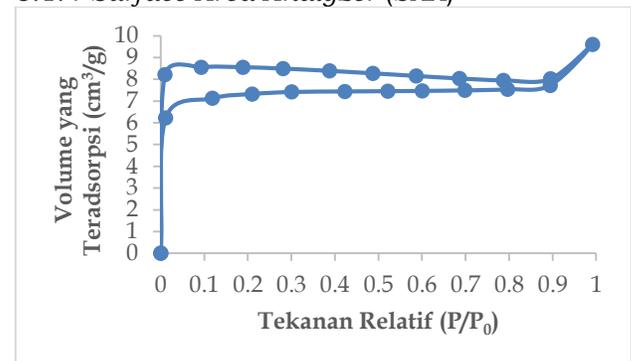
3.1.3. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)



Gambar 3. Spektrum FTIR dari karbon aktif ampas kopi Aceh

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan FTIR yang terlihat pada Gambar 3 spektrum FTIR karbon aktif ampas kopi Aceh pada suhu pembakaran 400°C selama 2 jam menunjukkan adanya serapan pada angka gelombang 3075,70 cm⁻¹ menunjukkan adanya pita serapan O-H stretching, pada angka gelombang 2857,34 cm⁻¹ menunjukkan adanya pita C-H stretching, pada angka gelombang 1593,27 cm⁻¹ menunjukkan adanya pita C=C stretching senyawa aromatis, pada angka gelombang 1435,22 cm⁻¹ menunjukkan adanya pita C-H bending, pada angka gelombang 1189,64 cm⁻¹ menunjukkan adanya pita C-O. Spektrum-spektrum tersebut menunjukkan bahwa masih adanya gugus-gugus fungsi yang terkandung dalam karbon aktif ampas kopi Aceh setelah diaktivasi, gugus-gugus fungsi pada karbon aktif sangat berperan dalam proses pembentukan lapis rangkap listrik pada superkapasitor, sehingga dapat meningkatkan kinerja dari elektroda superkapasitor.

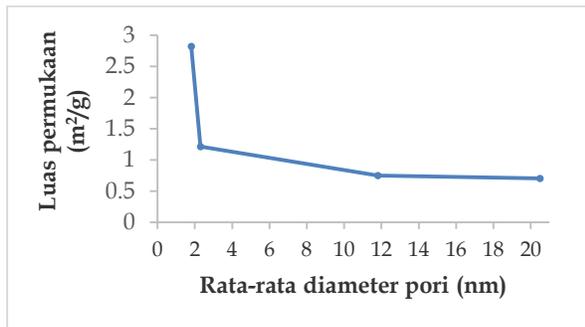
3.1.4 Surface Area Analyzer (SAA)



Gambar 4. Spektrum isoterm BET dari karbon aktif ampas kopi Aceh

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan BET yang terlihat pada Gambar 4 karbon aktif ampas kopi Aceh yang diaktivasi oleh ZnCl₂ menunjukkan isoterm tipe IV yang menandakan karakteristik untuk karbon aktif yang mengandung sebagian besar mesopori [9]. Kurva menunjukkan loop histeresis pada tekanan relatif tengah (0,1 < P/P₀ < 0,9) yang menunjukkan adanya struktur mesopori. Ketika tekanan dinaikkan lagi sampai P/P₀ kira-kira 0,5 adsorpsi multilayer mulai terjadi, tetapi jumlah yang teradsorpsi tidak terlalu banyak, sehingga slope grafiknya kecil (kenaikan tidak tajam). Pengaplikasian tekanan yang lebih tinggi, yaitu sampai P/P₀=1 menyebabkan molekul-molekul gas memenuhi mesopori, kurvanya

isotermalnya naik tajam karena jumlah gas yang teradsorpsi sangat besar. Kurva juga menunjukkan adanya sejumlah kecil struktur mikropori dan makropori karena adanya pertumbuhan pada tekanan relatif rendah yaitu pada tekanan $P/P_0 < 0,1$ yang menandakan adanya struktur mikropori. Struktur mesopori ini akan berperan untuk mempermudah transportasi ion, sedangkan struktur mikropori akan berperan dalam menyediakan ruang untuk penyimpanan energi. Sehingga dengan adanya struktur ini dapat meningkatkan kinerja dari elektroda superkapasitor.

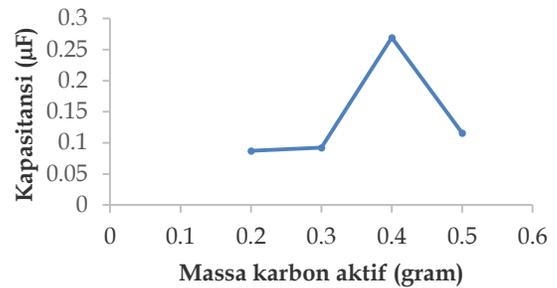


Gambar 5. Kurva hubungan distribusi rata-rata diameter pori terhadap luas pori berdasarkan metode BJH

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan BJH yang terlihat pada Gambar 5 semakin besar rata-rata diameter pori, luas permukaan semakin kecil. Dari literatur dinyatakan bahwa diameter pori karbon aktif mendekati 1 nm memberikan kinerja yang lebih baik sebagai superkapasitor [10]. Luas pori mengalami penurunan ber tahap hingga diameter 20,5 nm, hal ini menunjukkan perendaman karbon dengan aktivator $ZnCl_2$ mengubah mikropori menjadi mesopori dan meningkatkan volume pori total [11]. Hasil metoda BJH dari penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran rata-rata diameter pori yaitu 2,6 nm dengan volume pori 0,004743 cm^3/g dan luas permukaan sebesar 22,8 m^2/g .

3.2 Pengukuran Sifat-Sifat Listrik

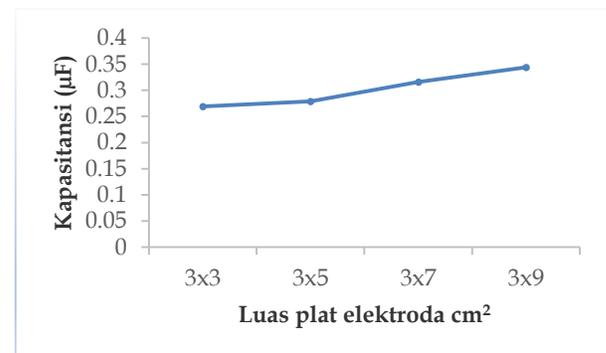
3.2.1 Pengaruh variasi massa karbon aktif ampas kopi aceh terhadap nilai kapasitansi dari elektroda superkapasitor



Gambar 6. Pengaruh variasi massa karbon aktif ampas kopi Aceh terhadap kapasitansi

Pengaruh variasi massa karbon aktif terhadap nilai kapasitansi yang terlihat pada Gambar 6 menunjukkan nilai kapasitansi optimum didapatkan pada massa karbon aktif 0,4 gram dengan nilai kapasitansi sebesar 0,2692 μF , sehingga pada variasi massa karbon aktif 0,4 gram dapat digunakan untuk percobaan elektroda superkapasitor selanjutnya. Nilai kapasitansi yang tinggi pada massa karbon aktif 0,4 gram disebabkan karena semakin banyak jumlah massa karbon aktif maka semakin banyak muatan yang dapat disimpan dan kapasitansinya semakin meningkat. Tetapi pada massa karbon aktif 0,5 gram nilai kapasitansi menurun. Hal tersebut disebabkan karena semakin besar massa karbon aktif yang digunakan maka semakin tebal plat elektroda. Semakin tebal plat elektroda menyebabkan jarak tempuh muatan dari separator ke elektroda semakin jauh, sehingga nilai kapasitansi menurun [12].

3.2.2 Pengaruh luas plat elektroda terhadap nilai kapasitansi dari elektroda superkapasitor

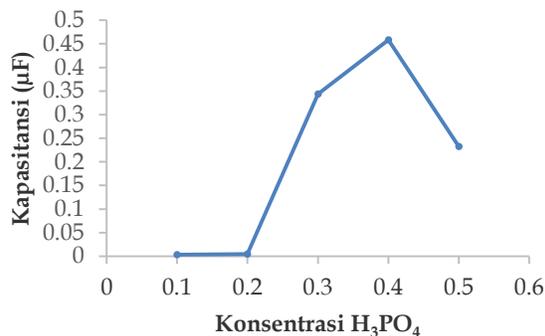


Gambar 7. Pengaruh luas plat elektroda terhadap nilai kapasitansi dari elektroda superkapasitor

Pengaruh luas plat elektrodroda terhadap nilai kapasitansi yang terlihat pada Gambar 7 menunjukkan kapasitansi akan semakin

meningkat dengan semakin besarnya luas permukaan plat elektroda. Nilai kapasitansi paling tinggi didapatkan pada luas plat elektroda $3 \times 9 \text{ cm}^2$ dengan nilai kapasitansi sebesar $0,3440 \mu\text{F}$. Maka luas permukaan plat elektroda $3 \times 9 \text{ cm}^2$ ini digunakan untuk perlakuan elektroda superkapasitor selanjutnya. Luas plat elektroda berbanding lurus dengan nilai kapasitansi dari superkapasitor, hal ini disebabkan karena semakin besar luas plat elektroda, maka semakin besar kemampuan elektroda tersebut untuk menyimpan muatan. Luas permukaan plat elektroda yang besar akan menyediakan tempat yang besar untuk penyimpanan muatan membentuk lapis rangkap listrik pada permukaan elektroda tersebut [13].

3.2.3 Pengaruh variasi konsentrasi larutan elektrolit H_3PO_4 terhadap nilai kapasitansi dari elektroda superkapasitor

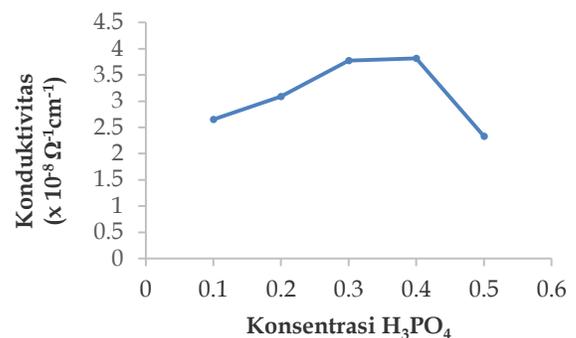


Gambar 8. Pengaruh konsentrasi larutan elektrolit H_3PO_4 terhadap nilai kapasitansi

Pengaruh konsentrasi larutan elektrolit terhadap nilai kapasitansi yang terlihat pada Gambar 8 menunjukkan nilai kapasitansi optimum pada konsentrasi elektrolit H_3PO_4 0,4 N, yaitu $0,4583 \mu\text{F}$. Sehingga elektrolit H_3PO_4 dengan konsentrasi 0,4 N ini digunakan untuk perlakuan elektroda superkapasitor selanjutnya. Namun pada konsentrasi 0,5 N nilai kapasitansi menurun. Turunnya nilai kapasitansi ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi elektrolit, jumlah muatan yang akan membentuk lapisan rangkap listrik di permukaan elektroda akan lebih besar yang menyebabkan penumpukan muatan disekitar elektroda, sehingga ketika dilakukan proses pengosongan muatan, muatan yang terdapat didalam elektroda berjalan lama untuk kembali ke separator. Penumpukan muatan pada elektroda akan

mengganggu proses charge-discharge sehingga nilai kapasitansi yang dihasilkan semakin kecil [14]. Pada konsentrasi yang lebih besar dari 0,4 N larutan elektrolit menjadi lebih asam sehingga merusak PVA yang digunakan sebagai separator karena lapisan tipis PVA dapat mengalami perubahan bentuk sehingga terjadi penumpukan ion-ion dan mengganggu mobilitas ion-ion pada proses pembentukan lapisan rangkap listrik pada permukaan elektroda [15].

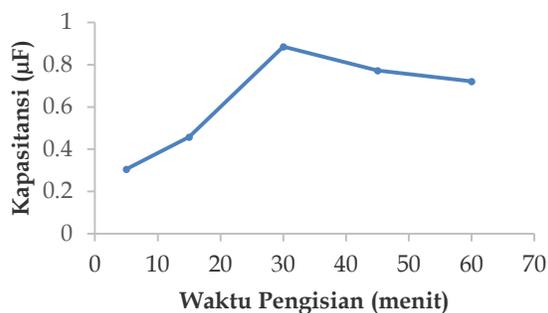
3.2.4 Pengaruh variasi konsentrasi larutan elektrolit H_3PO_4 terhadap nilai konduktivitas dari elektroda superkapasitor



Gambar 9. Pengaruh konsentrasi larutan elektrolit H_3PO_4 terhadap nilai konduktivitas

Pengaruh konsentrasi larutan elektrolit terhadap nilai konduktivitas yang terlihat pada Gambar 9 menunjukkan nilai konduktivitas yang optimum terdapat pada konsentrasi larutan elektrolit H_3PO_4 0,4 N yaitu $3,8151 \times 10^{-8} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$. Namun setelah konsentrasi 0,4 N terjadi penurunan nilai konduktivitas, hal tersebut disebabkan oleh semakin besar konsentrasi elektrolit maka kemampuan menghantarkan ion-ion ke permukaan elektroda semakin cepat dan menyebabkan terjadinya penumpukan muatan yang menuju ke permukaan elektroda. Penumpukan muatan dapat mempengaruhi penurunan konduktivitas superkapasitor karena mengganggu proses perpindahan muatan [16].

3.2.5 Pengaruh variasi waktu pengisian terhadap nilai kapasitansi dari elektroda superkapasitor



Gambar 10. Pengaruh lama waktu pengisian pada elektroda karbon aktif ampas kopi Aceh terhadap nilai kapasitansi superkapasitor

Pengaruh lama waktu pengisian terhadap nilai kapasitansi yang terlihat pada Gambar 10 menunjukkan kapasitansi optimum didapatkan pada lama waktu pengisian 30 menit yaitu 0,89 µF. Setelah waktu 30 menit nilai kapasitansi menurun, hal ini disebabkan karena semakin lama waktu pengisian maka semakin banyak muatan yang menumpuk pada elektroda dan menyebabkan terjadinya kenaikan suhu yang dapat merusak separator sehingga terjadi perubahan bentuk pada polimer PVA dan penumpukan muatan sehingga menurunkan nilai kapasitansi [17].

3.2.6 Hubungan kapasitansi, jumlah muatan dan jumlah elektron superkapasitor

Kapasitansi adalah kemampuan dari suatu superkapasitor untuk menyimpan muatan. Nilai kapasitansi berbanding lurus dengan muatan dan jumlah elektron pada superkapasitor, semakin banyak muatan yang disimpan oleh sebuah superkapasitor maka kapasitansi semakin besar. Sumber dari muatan tersebut berasal dari ion-ion pada elektrolit yang ada pada separator, dengan adanya arus maka akan menyebabkan aliran muatan dari separator ke permukaan elektroda [18].

Tabel 2. Hubungan kapasitansi, jumlah muatan dan jumlah elektron superkapasitor

| Konsentrasi Elektrolit (N) | Kapasitansi (µF) | Jumlah Muatan ($\times 10^{-4}$ coulomb) | Jumlah Elektron ($\times 10^{15}$ e ⁻) |
|----------------------------|------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 0,1 | 0,0035 | 3,3775 | 2,1203 |
| 0,2 | 0,0046 | 4,4390 | 2,7791 |
| 0,3 | 0,3440 | 331,9600 | 207,1568 |
| 0,4 | 0,4583 | 442,2595 | 275,9882 |
| 0,5 | 0,2327 | 224,5555 | 140,1500 |

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi elektrolit H₃PO₄ sampai 0,4 N maka nilai kapasitansi akan semakin besar, begitu juga jumlah muatan dan jumlah elektron yang berperan dalam proses pembentukan lapis rangkap listrik. Jumlah muatan maksimum didapatkan pada konsentrasi elektrolit H₃PO₄ 0,4 N yaitu 442,2595x10⁻⁴ coulomb. Jumlah elektron maksimum juga didapatkan pada konsentrasi elektrolit H₃PO₄ 0,4 N yaitu 275,9882x10¹⁵e⁻. Namun pada konsentrasi elektrolit H₃PO₄ yang lebih besar dari 0,4 N terjadi penurunan kapasitansi, begitu juga dengan jumlah muatan dan elektron. Hal ini dikarenakan ketika konsentrasi larutan elektrolit H₃PO₄ 0,4 N muatan yang diberikan ke separator menjadi lebih banyak, sehingga ketika proses pengisian terjadi penumpukan muatan dipermukaan elektroda, dan penumpukan ini mengakibatkan proses pengosongan muatan (discharge) menjadi lama karena prosesbaliknya muatan ke separator terganggu. Penumpukan muatan pada elektroda mengakibatkan mobilitas ion-ion yang bekerja menjadi terhalang, dan hal ini sangat berpengaruh terhadap nilai kapasitansi dan kinerja dari superkapasitor [16].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, karbon aktif ampas kopi Aceh dengan aktivator ZnCl₂ melalui proses karbonisasi pada suhu 400°C selama 2jam dapat digunakan sebagai bahan elektroda superkapasitor. Hasil karakterisasi EDX memperlihatkan persentase karbon sebesar 72,81% dengan struktur mesopori. Melalui metode BET-BJH karbon aktif ampas kopi Aceh menghasilkan kurva isotherm adsorpsi-desorpsi tipe-IV menandakan karakteristik karbon aktif mengandung sebagian besar mesopori, dengan luas permukaan sebesar 22,8 m²/g, volume pori 0,004743 cm³/g dan rata-rata diameter pori sebesar 2,6 nm. Kinerja dari elektroda superkapasitor pada kondisi ukuran partikel 45 µm, luas plat elektroda 3x9 cm², massa karbon aktif 0,4 gram, konsentrasi elektrolit H₃PO₄ 0,4 N, dan waktu pengisian 30 menit menghasilkan nilai kapasitansi maksimum sebesar 0,89µF, konduktivitas sebesar 12,2x10⁻⁸Ω⁻¹cm⁻¹.

Referensi

1. Mostazo-López, M., Ruiz-Rosas, R., Morallón, E., & Cazorla-Amorós, D.;

- Nitrogen doped superporous carbon prepared by a mild method. Enhancement of supercapacitor performance: *International Journal Of Hydrogen Energy*. 2016, 41(43): 19691-19701.
- Peng, C., Yan, X., Wang, R., Lang, J., Ou, Y., & Xue, Q.; Promising activated carbons derived from waste tea-leaves and their application in high performance supercapacitors electrodes. *Electrochimica Acta*. 2013, 87: 401-408.
 - Purnomo, Sri Edi.; Pembuatan arang aktif dari kulit biji kopi dan aplikasinya sebagai adsorben warna Nephthilen Blue (Kation) dan Napthol Yellow (Anion), Skripsi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta; 2010.
 - Rasdiansyah.; Darmadi.; Supardan, M D.; Optimasi proses Pembuatan Karbon Aktif Dari Ampas Bubuk Kopi Menggunakan Aktivator $ZnCl_2$. *JTIP Indonesia*. 2014, 3(6), 54-58.
 - Ahmed, S.; A. Ahmed; M Rafat.; Supercapacitor performance of activated carbon derived from rotten carrot in aqueous, organic and ionic liquid based electrolytes. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2018, 993-1002.
 - Alif, A.; Tetra, O N.; Aziz, H.; Defri, H.: Pengaruh perlakuan sokletasi dan aktivator koh terhadap kinerja karbon aktif cangkang kelapa sawit sebagai elektroda superkapasitor. *Jurnal Zarah*. 2017, 2(5) : 38-43.
 - Chiu, Y., & Lin, L.; Effect of activating agents for producing activated carbon using a facile one-step synthesis with waste coffee grounds for symmetric supercapacitors. *Journal Of The Taiwan Institute Of Chemical Engineers*. 2019. 101: 177-185.
 - Kurniati, E.: Pemanfaatan cangkang kelapa sawit sebagai arang aktif, *Jurnal Penelitian Ilmu Teknik*. 2008, 2(8): 96 - 103.
 - Deng, X., Zhao, B., Zhu, L., & Shao, Z. Molten salt synthesis of nitrogen-doped carbon with hierarchical pore structures for use as high-performance electrodes in supercapacitors. *Carbon*. 2015. 93, 48-58.
 - Ghosh, S., Santhosh, R., Jeniffer, S., Raghavan, V., Jacob, G., Nanaji, K., Kollu, P., Jeong, S.K., Grace, A.; Natural biomass derived hard carbon and activated carbons as electrochemical supercapacitor electrodes. *Scientific Reports*. 2019, 9, 16315.
 - Yadav, N., Singh, M., Yadav, N., & Hashmi, S.; High performance quasi-solid-state supercapacitors with peanut-shell-derived porous carbon. *Journal Of Power Sources*. 2018. 402: 133-146.
 - Fristina, R.; Pemanfaatan Kertas Karbon Sebagai Bahan Elektroda pada Superkapasitor, Skripsi. Fakultas MIPA, Universitas Andalas. 2016.
 - Pradana, H. Y.; Sintesis Rgo/Glukosa Dengan Variasi Perbandingan Massa Dan Proses Eksfoliasi Secara Kimia Untuk Bahan Elektroda Superkapasitor. Skripsi. Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya, 2017.
 - Yantika, R.: Pengaruh elektrolit H_2SO_4 terhadap sifat listrik elektroda campuran zeolit dari bottom ash dan resin damar sebagai superkapasitor. Skripsi. FMIPA, Universitas Andalas, 2014.
 - Fitrina, V. N., Diantoro, N., Nasikhudin: Sintesis dan Karakterisasi Superkapasitor Berbasis Nanopartikel Berbasis Nanopartikel TiO_2/C . Skripsi. FMIPA, Universitas Negeri Malang, 2014.
 - Qu, D. Y.; Shi, H.: Studies of activated carbons used in doublelayer capacitors. *Journal of Power Sources*. 1998. 74 : 99-107.
 - Kaiwen, Z.; Yuanyuan, L.; Ming, Z.: The Porous Carbon Derived From Water Hyacinth With Well-Designed Hierarchical Structure For Supercapaitors. *Journal of Power Sources*. 2017, 366: 270-277.
 - Permatasari, Novita R.; dan Prisma, M.; Kapasitansi dan karakteristik superkapasitor, Prodi D3 Metrologi dan Instrumentasi: Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK HEKSANA DAUN *Lantana Camara* L DAN BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI SITOTOKSIK

Suryati *, Bustanul Arifin, Ilhardi Akbar

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
E-mail: suryati_chemua@yahoo.com
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

Abstrak: Tumbuhan *Lantana camara* L termasuk dalam family Verbenaceae merupakan semak berbulu yang mudah ditemukan di Indonesia. Beberapa bagian dari tumbuhan ini telah digunakan untuk mengobati penyakit seperti rematik, luka, asma, tumor dan demam. Penelitian sebelumnya telah melaporkan adanya steroid, terpenoid, dan flavonoid dari tumbuhan ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak heksana daun *Lantana camara* L. Daun *Lantana camara* L diekstraksi dengan metoda maserasi dan ekstrak daun *Lantana camara* Linn di isolasi dengan metode kromatografi kolom gravitasi. Senyawa yang didapatkan dimurnikan dengan cara triturasi. Senyawa hasil isolasi didapatkan dalam bentuk padatan berwarna putih dengan nilai titik lelehnya 137°C-138°C. Dari karakterisasi UV didapatkan panjang gelombang maksimum 251nm dan tidak memiliki ikatan rangkap yang berkonjugasi. Dari hasil karakterisasi IR menunjukkan adanya gugus OH, C=C, C-O dan geminal dimetil yang menunjukkan senyawa hasil isolasi merupakan golongan triterpenoid. Senyawa triterpenoid dari hasil isolasi menunjukkan aktif sebagai toksik pada larva udang *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ 168,62 mg/L

Kata Kunci: *Lantana camara* L, Triterpenoid, Uji Sitotoksik

1. Pendahuluan

Lantana camara L (Verbenaceae) merupakan tumbuhan perdu yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropics[1] Tumbuhan *Lantana camara* L telah dilaporkan memiliki banyak kandungan metabolit sekunder seperti pada penelitian Suryati, dkk (2016); Ediruslan, dkk (2015); Kartika, dkk (2018); dan Nurshulaha (2017), dkk didapatkan senyawa fenolik, triterpenoid, steroid, kumarin, saponin dan flavonoid[2,3,4,5]

Daun tumbuhan *Lantana camara* L telah dilaporkan memiliki beberapa bioaktivitas seperti antioksidan pada penelitian Suryati, dkk (2016)[4], antibakteri pada penelitian Deepak, dkk (2009)[6], dan sitotoksik pada penelitian Ediruslan, dkk (2015) dan Suryati, dkk (2019)[3,7].

Beberapa senyawa telah dilaporkan dalam daun *Lantana Camara* L seperti

ursolik stearyl glukosida dari penelitian Imran Kazmi, dkk (2012)[8], 9-hidroksi-Lantadene A pada penelitian Kartika, dkk (2018)[5], Lantandane B pada penelitian Suryati, dkk (2019)[9], Penelitian sebelumnya oleh Suryati, dkk (2019) telah melaporkan aktivitas toksik yang kuat dari tumbuhan *Lantana camara* L ini dengan nilai LC₅₀ sebesar 48,97 µg/mL dan didapatkan senyawa Lantadene A (*22β-angeloyloxy-3-oxoolean-12-en-28-oic-acid*)[7].

Untuk melengkapi informasi dari daun tumbuhan *Lantana camara* L ini maka dilakukan isolasi dengan kromatografi kolom dan karakterisasi dengan spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi FTIR serta uji sitotoksik pada larva udang *Artemia salina* Leach sebagai uji bioktivitiesnya.

2. Metodologi Penelitian

1.1 Alat

Alat yang digunakan adalah kolom kromatografi, neraca analitik, seperangkat alat distilasi, oven, *chamber*, pipa kapiler, plat KLT, lampu UV (λ_{254} nm dan λ_{356} nm), spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer IR, *kontainer*, pipetmikro, sumber cahaya (bohlam lampu), aerator, *Melting Point* (Stuart SMP 10), dan alat-alat gelas lainnya yang lazim digunakan di Laboratorium

1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak heksana *Lantana camara* L, Pelarut teknis yang sudah di distilasi (heksana, etil asetat, metanol), akuades, alumunium voil, kapas, *Artemia salina* Leach, air laut, *dimethyl sulfoxide* (DMSO). Untuk uji fitokimia digunakan pereaksi-pereaksi berikut: pereaksi Mayer (merkuri (II) klorida dan kalium iodida) untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann-Burchard* (anhidrida asetat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, *sianida test* (bubuk magnesium dan asam klorida pekat) untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik, natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin.

1.3 Prosedur Penelitian

1.3.1 Pembuatan Reagen Fitokimia

a. Pereaksi meyer

Raksa (II) klorida 1,36 gram dilarutkan dengan 60 mL akuades dalam gelas piala. Kemudian dalam gelas piala lain, 1 gram kalsium iodida dilarutkan dengan 10 mL akuades. Dicampurkan kedua larutan dan disaring. Diencerkan dalam labu ukur 100 mL menggunakan akuades hingga tanda batas [10].

b. Pereaksi Liebermann burchard

Sebanyak 5 mL anhidrida asetat dan 5 mL asam sulfat pekat dicampurkan secara perlahan didalam gelas piala, lalu diencerkan hingga 100 mL dengan pelarut metanol.

c. Larutan Besi (III) Klorida 5%

Sebanyak 5 gram kristal besi (III) klorida dimasukan ke dalam gelas piala kemudian dilarutkan dengan akuades hingga 100 mL.

d. Larutan Asam Sulfat 2 N

Sebanyak 13,9 mL asam sulfat pekat dimasukan ke dalam gelas piala yang telah berisi 100 mL akuades secara perlahan melalui dinding gelas, kemudian diencerkan hingga volume 250 mL.

e. Larutan Natrium Hidroksida 1%

Sebanyak 1 g natrium hidroksida dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL dalam gelas piala.

1.3.2 Uji skrining fitokimia ekstrak heksana

Ekstrak heksana dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan 6 mL metanol. Ditambahkan 3 mL kloroform dan 3 mL air kedalam tabung reaksi, selanjutnya dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan air. Lapisan air (bagian atas) digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Lapisan kloroform (bagian bawah) digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid.

a. Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 2 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes asam klorida pekat dan beberapa butir serbuk magnesium, terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavonoid.

b. Pemeriksaan fenolik

Sebanyak 2 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes larutan besi (III) klorida 5% dan diamati perubahan warna larutan. Apabila larutan berwarna biru atau ungu menandakan positif mengandung senyawa fenolik.

c. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid

Lapisan kloroform dipipet 1 mL dan dimasukan kedalam 4 lubang plat tetes, pada plat 1 dan plat 2 ditambah asam sulfat pekat 2 tetes untuk identifikasi senyawa triterpenoid, lalu pada plat 3 dan plat 4 ditambahkan asam sulfat pekat 2 tetes dan 2 tetes anhidrida asetat. Apabila

terbentuk warna merah atau ungu pada plat 1 dan 2 menandakan sampel mengandung senyawa triterpenoid dan apabila terbentuk cincin hijau atau hijau biru pada plat 3 dan 4 menandakan sampel mengandung senyawa steroid

d. Pemeriksaan alkaloid

Ekstrak heksana dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 mL kloroform-amonia 0,05 M. Kemudian ditambah 2 tetes asam sulfat 2N, dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (bagian atas) dipisahkan dan ditambahkan pereaksi Mayer. Apabila timbul endapan berwarna putih maka sampel mengandung senyawa golongan alkaloid.

e. Pemeriksaan saponin

Sebanyak 2 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok. Apabila terbentuk busa yang tidak hilang selama \pm 5 menit setelah penambahan beberapa tetes asam klorida pekat maka positif mengandung senyawa saponin.

f. Pemeriksaan kumarin

Ekstrak heksana dilarutkan dengan metanol, ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dan dielusi dengan etil asetat 10 mL di dalam *Chamber*. Plat KLT yang telah dielusi diamati dibawah sinar UV 365 nm dan terlihat adanya *fluoresensi* biru dan setelah disemprot dengan basa (NaOH), warna biru tersebut bertambah terang menandakan adanya senyawa kumarin.

1.3.3 Isolasi, pemurnian dan penentuan struktur senyawa hasil isolasi

Proses isolasi senyawa dilakukan dengan metoda kromatografi kolom, dimana terlebih dahulu ekstrak heksana dilakukan uji pendahuluan KLT dengan eluen heksana : etil asetat (9:1) sebanyak 10 mL. Sampel sebanyak 45,35 g dipreabsorpsi dengan silika gel sehingga sampel didapatkan berupa bubuk halus.

Proses isolasi dilakukan menggunakan metoda SGP dengan peningkatan kepolaran eluen dengan perbandingan heksana : etil asetat (10:0 – 0:10). Hasil isolasi ditampung dalam vial

dan didapatkan 342 vial dimana setiap interval 5 vial dilakukan KLT dan digabungkan pola pemisahan yang sama sehingga didapatkan 6 fraksi (A-F). Fraksi B dengan massa 24.1 g dilakukan rekromatografi dengan eluen heksana :etil asetat (10:0 – 0:10) dan didapatkan isolat sebanyak 157 vial dimana setiap interval 5 vial dilakukan KLT dan digabungkan pola pemisahan yang sama sehingga didapatkan 9 fraksi (B.1 – B.9). fraksi B.7 dengan massa 2 g dilakukan rekromatografi dengan volume eluen heksana dan etil asetat (100 heksana, 100 h dan 2 e, 100 h dan 4 e, 100 h dan 6 e) mL dan didapatkan isolat sebanyak 76 vial dimana setiap pola pemisahan yang sama digabungkan sehingga didapatkan 3 fraksi (B.7.1 – B.7.3). Fraksi B.7.1 dengan massa 0,141 g dilakukan rekromatografi dengan volume eluen heksana dan etil asetat (100 heksana, 100 h dan 2 e, 100 h dan 3 e, 100 h dan 4 e, 100 h dan 5 e, 100 h dan 6 e) mL dan didapatkan 110 vial dimana pada vial 59-75 didapatkan padatan kuning dan subfraksi ini selanjutnya dilakukan proses pemurnian dengan triturasi sampai didapatkan senyawa murni.

1.3.4 Uji kemurnian senyawa hasil isolasi

a. Pengujian dengan metoda kromatografi lapis tipis

Senyawa hasil isolasi dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat dan di uji dengan 3 plat KLT. Larutan tersebut ditotolkan pada 3 plat KLT dan dielusi dengan eluen heksana dan etil asetat dengan perbandingan 9:1; 7:3; dan 6:4 dengan volume total 10 mL. Hasil uji KLT dari ketiga plat dilihat menggunakan sinar lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 365 nm. Masing masing plat KLT tidak menunjukkan adanya pola nada, namun ketika ditambah LB didapatkan satu pola nada pada masing masing plat KLT.

b. Pengukuran titik leleh

Alat yang digunakan adalah *Melting Point Apparatus* (Stuart SMP 10). Senyawa hasil isolasi yang akan diuji titik lelehnya

dibubuhkan secukupnya pada lempeng kaca (*deck glass*) yang diletakkan diatas pelat logam yang dipanaskan dengan listrik. Suhu dapat dibaca melalui termometer yang terpasang pada pelat logam. Suhu dinaikkan dengan mengubah arus yang masuk kedalam alat pemanas. Senyawa hasil isolasi diamati melalui kaca pembesar, kemudian suhu dinaikkan secara perlahan³¹. Padatan dikatakan sudah murni jika titik leleh $\leq 2^{\circ}\text{C}$ [11].

1.3.5 Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi FTIR dengan cara senyawa hasil isolasi dilarutkan dengan etil asetat.

1.3.6 Uji toksisitas senyawa hasil isolasi

Pengujian toksisitas dari senyawa hasil isolasi ekstrak metanol daun tumbuhan pegagan dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan tahapan berikut:

a. Pembenuhan udang *Artemia salina* Leach

Telur udang *Artemia Salina* Leach diperoleh dari Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas. Larva udang diperoleh dengan cara menetas telur udang selama 48 jam dalam wadah pembiakan. Wadah pembiakan terdiri dari 2 bagian, yaitu bagian terang dan gelap. Wadah pembiakan ini kemudian diisi dengan air laut dan telur udang yang akan ditetaskan pada bagian gelap. Setelah menetas larva akan berenang menuju bagian terang[12].

b. Pembuatan larutan uji senyawa hasil isolasi

Persiapan larutan uji dilakukan dengan melarutkan 10 mg senyawa hasil isolasi menggunakan pelarut etil asetat pada labu 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Variasi konsentrasi dibuat dengan cara pengenceran bertingkat dari larutan induk yaitu 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 mg/L.

c. Pengujian toksisitas senyawa hasil isolasi

Variasi konsentrasi larutan senyawa hasil isolasi yang telah disiapkan diambil sebanyak 5 mL kemudian diupkan

pelarutnya, selanjutnya ditambahkan 50 μL DMSO dan 2 mL air laut. Hal yang sama juga dilakukan terhadap kontrol (tanpa senyawa hasil isolasi). Pengujian toksisitas larutan dilakukan dengan mengambil 10 ekor larva udang *Artemia salina* menggunakan pipet tetes dan dimasukkan ke dalam vial uji dengan berbagai konsentrasi kemudian dicukupkan hingga 5 mL dengan air laut. Larutan dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dari masing-masing vial uji[12].

d. Analisis data

Dalam uji toksisitas ini Parameternya ialah jumlah kematian larva *Artemia salina* dari masing-masing konsentrasi dalam vial uji. Jumlah larva mati dianalisis untuk memperoleh persentase mortalitas. Dari persen mortalitas dapat diketahui nilai probit dalam tabel nilai probit. Kemudian nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*) dihitung dengan hubungan nilai logaritma konsentrasi bahan toksik uji dan nilai probit dari persentase mortalitas hewan uji merupakan fungsi linear $y = a + bx$. LC_{50} adalah suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian organisme hingga 50%[12]

Suatu reaksi atau ekstrak dikatakan aktif toksisitas bila mempunyai nilai $\text{LC}_{50} \leq 1000$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ekstrak atau fraksi dianggap sangat beracun jika memiliki nilai $\text{LC}_{50} < 30$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, beracun jika memiliki nilai LC_{50} 30-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan dianggap tidak beracun jika $\text{LC}_{50} > 1000$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pada senyawa murni dinyatakan toksik jika nilai $\text{LC}_{50} < 200$ mg/L[13].

2. Hasil dan Diskusi

2.1 Uji Fitokimia Ekstrak Heksana Daun *Lantana camara L*

Tabel 1. Hasil uji fitokimia *Heksana Daun Lantana camara L*

| No | Kandungan Senyawa | Pereaksi | Hasil |
|----|-------------------|------------------------------|-------|
| 1 | Flavonoid | HCl pekat + serbuk Mg | - |
| 2 | Fenolik | FeCl ₃ | - |
| 3 | Saponin | H ₂ O / HCl pekat | - |
| 4 | Triterpenoid | LB | + |
| 5 | Steroid | LB | + |
| 6 | Alkaloid | Mayer | - |
| 7 | Kumarin | NaOH 1 %, KLT | - |

Keterangan :

+ : mengandung metabolit sekunder)

- : tidak mengandung metabolit sekunder)

Bedasarkan Tabel.1 pada pengujian senyawa metabolit sekunder triterpenoid dan steroid memberikan uji (+) dimana pada triterpenoid terbentuk warna ungu kemerahan dan pada steroid terbentuk warna hijau. Data ini juga didukung dari penelitian Suryati dkk (2019) juga menyatakan adanya triterpenoid dan steroid yang ada dalam ekstrak heksana *Lantana camara L*[7].

2.2 Isolasi Menggunakan Teknik Kromatografi Kolom

Ekstrak heksana *Lantana camara L* sebanyak 45,35 gram diambil dari penelitian sebelumnya untuk dilanjutkan proses pemisahan dan pemurnian. Isolasi metabolit sekunder dari ekstrak ini dilakukan dengan metoda kromatografi kolom, dimana fasa diamnya adalah silika gel 60 F₂₅₄ dan fasa geraknya adalah heksana dan etil asetat. Sebelum dilakukan proses kolom kromatografi sampel di preabsorpsi yang bertujuan untuk menghomogenkan dan memperbesar luas permukaan sampel sehingga dapat tertahan dan turun secara bertahap pada saat dielusi dan pemisahan menjadi lebih baik.

Sistem elusi yang digunakan adalah SGP (*Step Gradien Polarity*) dan hasil yang didapatkan dari kolom kromatografi ditampung dalam vial. Didapatkan sebanyak 342 vial dimana setiap interval 5 vial dilakukan KLT dan dilihat pada lampu UV. Setiap vial dengan pola pemisahan noda yang sama digabungkan menjadi satu fraksi dan didapat kan 6 fraksi (A-F). Dari ke enam fraksi tersebut, fraksi B menunjukkan pola pemisahan noda lebih baik dan memiliki massa paling banyak sebesar 24,1 gram.

Selanjutnya dilakukan pemisahan fraksi B dengan menggunakan fasa diam silika gel 60 F₂₅₄ dengan fasa geraknya heksana dan etil asetat. Didapatkan 157 vial dan menghasilkan 9 subfraksi (B.1 – B.9). Masing-masing fraksi (B.1-B.9) dilakukan lagi uji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk menentukan fraksi mana yang akan di lakukan rekromatografi kolom. Dari ke sembilan fraksi tersebut, fraksi B.7 menunjukkan pola pemisahan noda lebih baik diantara fraksi yang lainnya dan memiliki massa sebesar 2 gram dimana pada fraksi ini didapatkan padatan namun saat diuji dengan KLT terlihat adanya pengotor.

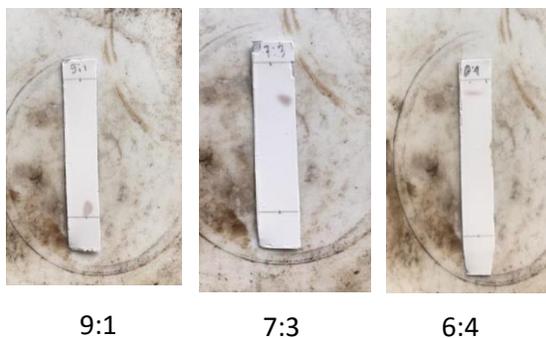
Selanjutnya dilakukan pemisahan fraksi B.7 dengan menggunakan fasa diam silika gel 60 F₂₅₄ dengan fasa geraknya heksana dan etil asetat, didapatkan 76 vial dan menghasilkan 3 fraksi. Pada rekromatografi kolom ketiga ini didapatkan 3 fraksi (B.7.1-B.7.3) dari hasil KLT subfraksi B.7.1 memiliki pemisahan noda yang lebih baik dan memiliki massa yang lebih besar sehingga fraksi B.7.1 dilakukan rekromatografi kolom.

B.7.1 dilakukan rekromatografi kolom dengan fasa diam silika gel 60 F₂₅₄ dengan fasa geraknya heksana dan etil asetat dan didapatkan 110 vial dimana Pada vial 59-75 frakasi (B.7.1.1) didapatkan padatan dengan bewarna kuning, selanjurnya Kristal yang didapatkan dimurnikan dengan metanol dengan metoda triturasi dan didapatkan padatan putih dengan massa 46,8 mg.

2.3 Hasil Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi

2.3.1 Pengujian dengan metoda kromatografi lapis tipis

Hasil uji kemurnian dengan menggunakan plat KLT yang berbeda dengan tiga jenis eluen yaitu dengan perbandingan heksana : etil asetat, (9:1), (7:3), dan (6:4). Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) dimonitor dibawah cahaya UV λ_{254} nm dan λ_{365} nm, menunjukkan tidak adanya noda. Ketika diberi pereaksi *Liebermann Burchard* didapatkan 1 spot noda berwarna ungu kemerahan sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi menunjukkan positif triterpenoid dan telah murni¹³. Dari hasil pengujian KLT dengan eluen yang berbeda didapatkan bahwa semakin mendekati polar eluen yang digunakan maka noda semakin naik dan nilai Rf semakin besar dimana pada eluen 9:1 didapatkan nilai Rf 0,22; pada eluen 7:3 didapatkan nilai Rf 0,67; dan pada eluen 6:4 didapat nilai Rf 0,84.



Gambar 1. Hasil uji kemurnian menggunakan pereagen LB

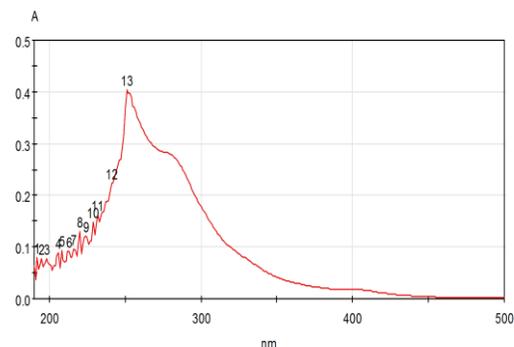
2.3.2 Pengukuran titik leleh

Senyawa hasil isolasi dikatakan telah murni apabila titik leleh nya memiliki rentang $\leq 2^\circ\text{C}$ pembacaan dilakukan sampai kristal meleleh semuanya. Dari uji coba titik leleh menggunakan *Melting Point Apparatus* (Stuart SMP 10) didapatkan rentang titik leleh $138^\circ\text{C} - 137^\circ\text{C}$, karena rentang titik leleh didapatkan $\leq 2^\circ\text{C}$ maka dapat dikatakan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni^[14].

2.4 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

2.4.1 Analisis data spektroskopi UV-Vis

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengetahui adanya ikatan rangkap berkonjugasi pada kerangka dasar struktur dan menentukan jenis transisi elektronnya. Spektrum UV-Vis senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 2.

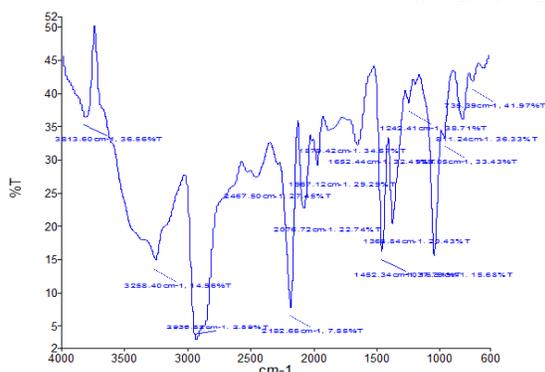


.Gambar 2. Spektrum UV senyawa murni hasil isolasi

Berdasarkan Gambar.2 hasil analisis spektrum Ultraviolet (UV) senyawa hasil isolasi menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 251nm. Serapan pada panjang gelombang 251 nm diduga menunjukkan adanya ikatan rangkap (C=C) yang tidak berkonjugasi, dikarenakan terjadinya transisi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$. dimana transisi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$ menyerap gelombang pada $\lambda = >170$ nm, karena adanya aoksokrom maka terjadi pergeseran batokromik sehingga didapatkan panjang gelombang maksimum 251nm^[15].

2.4.2 Analisis data spektroskopi FTIR

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Spektrum dari FTIR dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum IR senyawa murni hasil isolasi

Dari spektrum dapat dilihat pada senyawa murni hasil isolasi memiliki serapan dengan bilangan gelombang 3258 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus OH (hidroksil)[16]. Selanjutnya terlihat adanya vibrasi pada bilangan gelombang 2936 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus CH₃ - (metil)[17] dan juga pada bilangan gelombang 1652 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=C (alkena)[16], lalu didapatkan juga vibrasi dengan bilangan gelombang 1452 cm⁻¹ dan 1363 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus geminal dimetil yang merupakan ciri khas dari senyawa terpenoid[18] dan juga pada bilangan gelombang 1037 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-O[15].

2.5 Hasil Uji Toksisitas

Uji sitotoksik dilakukan secara triplo, dimana pada setiap vial dimasukan 10 ekor larva udang. Hasil uji sitotoksik senyawa hasil isolasi terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dapat dilihat pada Tabel 2.

| Konsentrasi (µg/mL) | Larva mati (ekor) | | | | Persen kematian (%) | Nilai Probit |
|---------------------|-------------------|----|-----|-----------|---------------------|--------------|
| | I | II | III | Rata-rata | | |
| 1000 | 7 | 6 | 8 | 7 | 70 | 5,52 |
| 500 | 6 | 6 | 6 | 6 | 60 | 5,25 |
| 250 | 4 | 5 | 5 | 4,7 | 47 | 4,92 |
| 125 | 3 | 4 | 4 | 3,7 | 37 | 4,67 |
| 62,5 | 2 | 2 | 3 | 2,3 | 23 | 4,26 |
| 31,25 | 1 | 1 | 2 | 1,7 | 17 | 4,05 |
| kontrol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Dari Tabel.2 hasil uji sitotoksik senyawa hasil isolasi menunjukkan semakin tinggi

konsentrasi larutan uji maka semakin tinggi pula persentase kematian dan nilai probitnya. Nilai probit didapatkan dari hubungan persentase kematian dan tabel probit[19]. Persamaan regresi $Y = 2,5268 + 1,0018X$ dengan nilai $R^2 = 0,9952$ dan nilai LC_{50} didapatkan 168,62 µg/mL. Untuk senyawa murni dikatakan aktif toksisitas bila mempunyai nilai $LC_{50} \leq 200$ mg/L[20]. Maka pada senyawa hasil isolasi dari ekstrak heksana daun *Lantana camara* L bersifat sitotoksik, karena nilai dari $LC_{50} \leq 200$.

3. Kesimpulan

Senyawa hasil isolasi dari ekstrak heksana daun *Lantana camara* Linn, didapatkan berupa padatan berwarna putih dengan titik leleh 137°C-138°C dan memberikan uji positif triterpenoid dengan pereaksi Liebermann Buchard. Hasil dari karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan serapan maksimum panjang gelombang 251 nm dan tidak memiliki ikatan rangkap berkonjugasi. Hasil dari karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR diketahui bahwa senyawa hasil isolasi memiliki gugus OH (3258cm⁻¹), C=C (1625cm⁻¹), CH₃ (2936cm⁻¹), geminal dimetil (1425 dan 1363 cm⁻¹) dan C-O (1037 cm⁻¹). Hasil dari uji sitotoksik dengan metoda BSLT pada larva udang menunjukkan adanya sifat toksik dengan nilai LC_{50} 168,62 mg/L.

Referensi

- Ghisalberti, E.L. 2000. *Lantana camara* (Verbenaceae). *Fitoterapia* 71: 462-487.
- Nurshulaiha, S.T., Dini.I., Danial, M. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tembelean (*L. camara* Linn.) dan Uji Potensi Sebagai Senyawa Antibakteri Alami. Universitas Negri Makasar.
- Ediruslan, Yunazar. M., Suryati dan Hermansyah Aziz. 2015. Structure Elucidation of Brine Shrimp Toxic Compound from *Lantana camara* L. leaves *Journal of Chemical and*

- Pharmaceutical Research*, 7 (12), 250-255.
4. Suryati, Adlis . S., Kartika M. Z. and Hermansyah Aziz. 2016. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Ethyl Acetate Extract and Fractions of *Lantana camara* L. Leaf *Der Pharma Chemica*, 8(8), 92-96.
 5. Kartika MZ, Suryati., Mai Efdi,. 2018. A Triterpenoid from The Leaves of Tahi Ayam (*Lantana camara* Linn). *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry*, 3 (1), 18-22.
 6. Deepak Ganjewala, S. S., Kishwar Hayat Khan,. 2009. Biochemical Compositions and Antibacterial Activities of *Lantana camara* plants with Yellow, Lavender, Red and White Flowers. *EurAsian Journal of BioSciences*, 3, 69-77. doi: 10.5053/ejobios.2009.3.0.10
 7. Suryati., Efdi, M., Mardiah, E. & Sari, Y. M., 2019. A Cytotoxic Compound from n-Hexane Fraction of *Lantana camara* Linn Leaves. *Molekul*,
 8. Imran Kazmi, G. G., Muhammad Afzal, Firoz Anwar. 2012. Anticonvulsant and Depressant-Like Activity of Ursolic Acid Stearoyl Glucoside Isolated from *Lantana camara* L. (verbanaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, S453-S456.
 9. Suryati., Mardiah, E., Efdi, M., MZ, K. & Sari, Y. M., 2019. Bioactivity of compounds isolated from the leaves of the *Lantana camara* Linn plant. *J. Chin. Pharm. Sci*, 28(5): 360–368.
 10. Kumar, S. 2014. Alkaloidal Drugs - A review. *Asian journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4, 107-119.
 11. Sari,Y,M.,Suryati.,Efdi,M.,2019. Isolasi Dan Penentuan Struktur Senyawa Triterpenoid Dari Fraksi Heksana Daun *Lantana Camara* Linn Dan Uji Aktivitas Sitotoksik.Jurusan Kimia.UNAND.
 12. Adlis, S.; Handani, P.; Mai, E. 2016, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Antioksidan Serta Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kayu Ara (*Ficus aurata* (Miq.) Miq.). *Jurnal Kimia Unand* 5, 1-11.
 13. Meyer, B. N.; Ferrigni, N.A.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols D. E. and McLaughlin. J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medical Plant Research*, 45, 33-34.
 14. Suryelita,S., Benika,E.,Kurnia,N,S. 2017. Isolasi dan karakterisasi senyawa steroid dari daun cemara natal. Padang: UNP, 1, 18.
 15. Y.R.Sharma. 2007. Elementry Organic Spectroscopy Principle And Chemical Application.New Delhi.
 16. Silverstain,R.M., Bassler, G.C., Morrill, C.T., 1991, *Spectrometric Identification Of Organic Coumpounds*, 5th edition, John Wiley and Sons Inc, New York.
 17. Astuti,D.M; Kuntorini.E.M.: Iaolasi Dan Idenifikasi Senyawa Triterpenoid Dari Fraksi N-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium Esculentum* Swartz). FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.
 18. Sabriah,S.; Santoni,A.; Efdi,M. 2015, Isoalsi Daan Elusidasi Senyawa Gtriterpenoid Dari Kuit Batang Ambacang (*Mangifera Foedital* L) Serta Uji *Brine Shirmp Letality Test* (BSLT). *Jurnal Kimia Universitas Andalas* 1, 9.
 19. Finney,D.J,. Ed.1952. Probit Analysis. Cambridge, England, Cambridge University Press.
 20. Dian, H.; Wildan, R.; Rustini; Elmi, N. Z.; Triana, H. 2018, Cytotoxic Activity Screening of Fungal Extracts Derived from the West Sumatran Marine Sponge *Haliclona fascigera* to Several Human Cell Lines: Hela, WiDr, T47D and Vero. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 8, 055-058.

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK SERTA KANDUNGAN FENOLIK TOTAL EKSTRAK DAUN JAMBU AIR (*Syzygium aqueum* (Burm.f.) Alston) BUAH HIJAU

Afrizal Itam*, Elin Novianti, Bustanul Arifin

Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Jurusan Kimia FMIPA Unand, Kampus Limau Manis, 25163

*E-mail: afrizalitam@gmail.com

Abstrak: Jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f.) Alston) dengan lebih dari satu kandungan senyawa kimia memiliki banyak aktivitas farmakologi diantaranya aktivitas antioksidan dan aktivitas antikanker sehingga dapat digunakan sebagai obat tradisional. Tumbuhan ini juga mempunyai begitu banyak ragam dan variasi warna, mulai dari putih, hijau, merah muda, merah, hingga merah kecokelatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, aktivitas sitotoksik dan kandungan fenolik total dari ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana dari daun jambu air buah hijau. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, etil asetat, dan heksana. Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH, aktivitas sitotoksik dengan metode BSLT, dan kandungan fenolik total dengan metode Folin-Ciocalteu. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana secara berturut-turut bersifat antioksidan sangat kuat (IC_{50} 17,9588 mg/L), kuat (IC_{50} 67,5459 mg/L), dan tidak bersifat antioksidan (IC_{50} 766,8333 mg/L). Ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana bersifat sitotoksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut yaitu 380,1019; 235,3423; dan 202,4883 mg/L. Kandungan fenolik total ekstrak metanol, etil asetat dan heksana secara berturut-turut adalah 5,9077; 5,3692; dan 4,7154 mg GAE/g sampel.

Keywords: *Syzygium aqueum*, Folin-Ciocalteu, DPPH, BSLT.

1. Pendahuluan

Keanekaragaman flora yang ada di Indonesia tersebar di seluruh pulau-pulau besar yaitu Sumatera, Jawa, Kalimantan, dan Sulawesi, dengan keanekaragaman ini Indonesia juga disebut sebagai negara megadiversitas yang memiliki 30.000 – 35.000 jenis flora dengan berbagai manfaat dalam dunia kesehatan, salah satunya adalah tumbuhan jambu air (*Syzygium aqueum*)[1]–[3]. Daun jambu air digunakan untuk mengobati penyakit kolestrol, kanker, dan melancarkan pencernaan, penyakit-penyakit ini salah satunya disebabkan oleh radikal bebas[3],[4].

Radikal bebas merupakan atom molekul yang memiliki kereaktifan tinggi, hal ini dikarenakan adanya elektron yang tidak berpasangan. Sumber radikal bebas dapat berasal dari sistem biologis tubuh dan dari luar tubuh seperti makanan, sinar ultraviolet (UV), dan polutan. Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif sel. Hal ini terjadi karena ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh[5]. Apabila didalam tubuh terdapat radikal bebas berlebih,

maka dapat menyerang komponen seluler seperti *ribonucleic acid* (RNA), *deoxyribonucleic acid* (DNA), lipid, lipoprotein, protein, dan karbohidrat. Oleh karena itu, diperlukan senyawa antioksidan dan antikanker dari luar tubuh[6].

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat melindungi tubuh dari oksidasi oleh radikal bebas[7]. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas[8]. Antioksidan dari luar tubuh yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxytoluen* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), dan *tertbutylhydroxy quinone* (TBHQ) penggunaannya telah dibatasi pada produk-produk makanan karena dianggap memiliki efek karsinogenik, maka diperlukan antioksidan alami yang diperoleh dari tumbuhan[9].

Jambu air dengan lebih dari satu kandungan senyawa kimia memiliki banyak aktivitas farmakologi diantaranya aktivitas antioksidan dan aktivitas antikanker sehingga dapat digunakan sebagai obat tradisional. Senyawa kimia

yang paling banyak terkandung didalamnya adalah golongan metabolit sekunder flavonoid dan fenolik yang terdapat hampir pada semua bagian tumbuhan khususnya pada bagian daun. Sejumlah tanaman yang mengandung senyawa fenolik dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan[3]. Daun tumbuhan ini juga mengandung senyawa alkaloid[10]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Astuti *et.al.* (2005) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), senyawa alkaloid bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* yang berarti bersifat antikanker[11].

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penentuan aktivitas antioksidan dan sitotoksik serta kandungan fenolik total dari daun jambu air buah hijau yang merupakan uji pendahuluan terhadap kemampuan suatu bahan sebagai antioksidan dan antikanker. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan uji sitotoksik yang merupakan uji pendahuluan untuk aktivitas antikanker dengan menggunakan metode BSLT. Penentuan fenolik total juga dilakukan karena senyawa ini berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan[12], penentuan dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu.

2. Material dan Metode

2.1 Bahan

Heksana, etil asetat, metanol, kloroform, Mayer, asam sulfat 2 N, kloroform-ammonia 0,05 M, *Liebermann-Burchard* (anhidrida asetat dan asam sulfat p.a.) (Merck), sianidin test (bubuk magnesium dan asam klorida p.a.) (Merck), besi (III) klorida, natrium hidroksida, DPPH, asam askorbat, air laut, larva udang, dimetil sulfoxida (DMSO), natrium karbonat 20%, reagen Folin-Ciocalteu, asam galat, akuades untuk uji kandungan fenolik total, kertas saring, aluminium foil, kapas dan tisu.

2.2 Instrumen

Alat distilasi, alat gerinda, rotary evaporator Heidolph WB 2000, botol berwarna gelap, neraca analitik, tabung reaksi, plat KLT, pipa kapiler, spektrofotometer seri UV/VIS 1700, lampu UV (λ 365 nm) dan beberapa peralatan gelas yang lazim digunakan dalam penelitian kimia.

2.3 Sampel Daun Jambu Air Buah Hijau

Sampel daun jambu air buah hijau diambil di Kota Padang Provinsi Sumatera Barat. Sebagian sampel segar daun jambu air buah hijau diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas. Sampel kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil, dan dikering anginkan pada suhu kamar. Sampel kering daun jambu air dihaluskan menggunakan gerinder, diperoleh sampel dalam bentuk bubuk.

2.4 Pengujian Profil Fitokimia Sampel

Daun jambu air buah hijau ditimbang sebanyak 4 g kemudian dipotong kecil-kecil, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan diekstrak dengan metanol. Setelah itu ekstrak sampel segar ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL akuades dan diaduk dengan baik lalu dibiarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan air. Lapisan dibagian atas yaitu air digunakan untuk pemeriksaan flavonoid, saponin dan fenolik. Lapisan dibagian bawah yaitu kloroform digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid. Hal yang sama dilakukan pada ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana[13].

a. Uji Flavonoid (*Sianidin Test*)

Lapisan air sebanyak 1 mL diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir serbuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah mengindikasikan adanya flavonoid pada sampel.

b. Uji Fenolik

Lapisan air sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan larutan besi (III) klorida 5%, jika terbentuk warna hijau tua atau biru, menunjukkan adanya senyawa fenolik pada sampel.

c. Uji Saponin

Lapisan air sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dikocok. Apabila terbentuknya busa yang tidak hilang selama 5 menit setelah penambahan beberapa tetes HCl 2 N maka ini menunjukkan adanya saponin pada sampel.

d. Uji Triterpenoid dan Steroid (*Liebermann Burchard*)

Lapisan kloroform diambil dan diteteskan pada lubang plat tetes dan dibiarkan kering. Lubang plat tetes pertama ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* (LB). Terbentuknya warna merah atau ungu menandakan adanya triterpenoid, bila terbentuknya cincin warna hijau atau hijau biru menandakan

adanya steroid. Apabila terbentuk cincin merah atau merah ungu dan hijau atau hijau biru secara bersamaan didalam plat tetes, menandakan positif triterpenoid dan steroid[14].

e. Uji Alkaloid

Sebanyak 4 g daun jambu air dimaserasi dengan 10 mL kloroform-ammonia 0,05 M, kemudian diaduk dan disaring. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 1 mL asam sulfat 2 N, dikocok dan didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam diambil dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi *Mayer*. Reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih yang menandakan adanya alkaloid.

f. Uji Kumarin

Daun jambu air buah hijau diambil 4 g kemudian dirajang halus dan diekstrak dengan metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada garis awal plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering di udara terbuka. Setelah itu, dielusi dalam chamber yang berisi eluen yang sesuai. Adanya kumarin ditandai dengan fluoresensi bewarna biru dibawah lampu UV (365 nm). Fluoresensi akan meningkat intensitasnya setelah disemprot dengan NaOH 1%.

2.5 Ekstraksi Sampel Daun Jambu Air Buah Hijau

Sampel halus dimasukan kedalam 3 wadah, masing-masingnya sebanyak 200 g, selanjutnya dimasukkan pelarut heksana, etil asetat, dan metanol. Maserasi dilakukan berulang-ulang hingga maserat menjadi bening atau tidak memberikan bercak noda lagi pada uji dengan plat KLT atau tidak memberikan sisa keruh pada kaca arloji. Hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut dikeringkan untuk uji kandungan fenolik total serta uji aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik[13].

2.6 Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Jambu Air Buah Hijau

Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan menggunakan metoda *Follin-Ciocalteu*[13].

1. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Sebanyak 10 mg asam galat diencerkan dengan metanol hingga 10 mL di dalam labu ukur, sehingga diperoleh konsentrasi

1000 mg/L. Dari larutan induk asam galat konsentrasi 1000 mg/mL dibuat variasi konsentrasi 80; 100; 120; 140; dan 160 mg/L. Masing-masing konsentrasi larutan asam galat diambil sebanyak 0,5 mL lalu dimasukan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambah 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu, dikocok sampai homogen serta didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 1 mL larutan Na₂CO₃ 20% dan diencerkan sampai tanda batas menggunakan akuades. Campuran didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan serapan (absorban).

2. Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Jambu Air Buah Hijau

Masing-masing ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan sampai 10 mL dengan aquades sehingga diperoleh konsentrasi 1000 mg/L. Larutan ekstrak dipipet 0,5 mL dan dimasukan kedalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu, didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 1 mL Na₂CO₃ 20% ke dalam campuran dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Campuran didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapandengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenolik total yang diperoleh dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

2.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Air Buah Hijau

Uji aktivitas antioksidan daun jambu air buah hijau dengan menggunakan metoda DPPH[13].

1. Pembuatan larutan DPPH

DPPH sebanyak 4 mg DPPH ditimbang kemudian dimasukan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas dan didapatkan larutan DPPH 0,1 mM.

2. Pembuatan larutan sampel

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 100 mg ekstrak heksana, 10 mg etil asetat dan 10 mg metanol menggunakan pelarut metanol dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi dari larutan sebesar 1000 mg/L untuk ekstrak heksana dan 100 mg/L untuk ekstrak etil asetat dan metanol. Selanjutnya dibuat 6 variasi konsentrasi dari larutan uji dengan metode pengenceran. Variasi konsentrasi

berturut-turut adalah 1,25; 2,5; 5; 10; 20; dan 30 mg/L untuk metanol, 40; 50; 60; 70; 80; dan 90 mg/L untuk etil asetat, serta 100; 200; 400; 600; 800; dan 1000 mg/L untuk heksana. Sebagai kontrol positif digunakan asam askorbat dengan konsentrasi 3,125; 6,25; 10; 12,5; dan 20 mg/L. Pembuatan larutan kontrol positif sama dengan pembuatan larutan uji.

3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Masing-masing larutan uji diambil sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan 3 mL larutan DPPH dan didiamkan selama 30 menit serta campuran dihindarkan dari cahaya. Sebagai kontrol negatif pada pengujian ini ialah 2 mL metanol, dipipet dan ditambahkan 3 mL larutan DPPH. Selanjutnya diukur absorbansi dari masing-masing konsentrasi larutan uji, kontrol positif dan kontrol negatif pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan absorbansi yang didapatkan, dihitung persen inhibisi. Setelah didapatkan nilai persen inhibisi dari perhitungan, dapat ditentukan nilai IC₅₀ dari setiap variasi konsentrasi larutan uji dengan menggunakan persamaan regresi yang didapatkan.

2.8 Pengujian Sitotoksik Ekstrak Daun Jambu Air Buah Hijau

Uji sitotoksik pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode BSLT[13].

1. Pembiakan Larva Udang *Artemia salina*

Air laut diletakkan didalam wadah kontainer gelas kecil yang terdiri dari dua bagian yaitu gelap dan terang yang dilengkapi dengan lampu, penutup dan aerator. Larva udang dimasukkan kedalam bagian gelap pada kontainer dan dibiarkan selama 48 jam.

2. Pembuatan Larutan Ekstrak

Ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol sebanyak 50 mg ditimbang dan dilarutkan hingga 50 mL dengan metanol sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 mg/L. Selanjutnya dibuat 5 variasi konsentrasi dengan cara pengenceran bertingkat yaitu 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 mg/L.

3. Penentuan Sitotoksik Larutan Ekstrak

Sebanyak 5 mL larutan uji diuapkan pelarutnya dan ditambah 50 µL DMSO serta 2 mL air laut. Setelah 48 jam, air laut yang berisi 10 ekor larva udang dimasukan ke dalam botol uji. Kemudian ditambahkan air laut hingga volume 5 mL. Setelah dibiarkan selama 24 jam, dihitung jumlah udang yang mati. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai LC₅₀ menggunakan analisis probit dan persamaan regresi.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengujian Fitokimia

Pengujian fitokimia digunakan untuk menentukan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun jambu air buah hijau. Hasil pengujian dicantumkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi metabolit sekunder dari daun jambu air buah hijau

| Kandungan Senyawa | Pereaksi | Hasil | | | | Pengamatan sesuai Teori |
|-------------------|-------------------|--------------|-----------------|---------------------|-----------------|--------------------------------------------------|
| | | Sampel segar | Ekstrak Metanol | Ekstrak Etil asetat | Ekstrak Heksana | |
| Flavonoid | HCl + Mg | + | + | + | - | Larutan berwarna orange |
| Fenolik | FeCl ₃ | + | + | + | - | Larutan berwarna hijau kehitaman |
| Saponin | HCl pekat | - | - | - | - | Terbentuk busa |
| Triterpenoid | LB | + | + | + | + | Terbentuk cincin berwarna merah atau ungu |
| Steroid | LB | + | + | + | + | Terbentuk cincin berwarna hijau atau hijau biru |
| Alkaloid | Mayer | + | + | + | - | Terdapat endapan putih |
| Kumarin | NaOH 1 % | - | - | - | - | Terdapat fluoresensi biru dibawah sinar lampu UV |

Keterangan: + (mengandung senyawa metabolit sekunder)

- (tidak mengandung senyawa metabolit sekunder)

Berdasarkan data pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa sampel daun jambu air buah hijau mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik, steroid, triterpenoid dan alkaloid. Hasil yang diperoleh berbeda dengan hasil skrining fitokimia daun jambu air yang telah dilaporkan oleh Aulisari *et.al.* (2011), yaitu mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid[10]. Perbedaan ini dapat disebabkan karena perbedaan varietasnya atau lingkungan tempat tumbuhnya sehingga akan mempengaruhi aktivitas biosintesisnya[15], [16].

Senyawa fenolik, flavonoid, steroid, dan triterpenoid merupakan senyawa yang aktif sebagai antioksidan dan sitotoksik[17]–[19], selain itu senyawa alkaloid juga aktif sebagai sitotoksik[11]. Senyawa-senyawa ini terkandung dalam ekstrak daun jambu air buah hijau, sehingga menyebabkan daun jambu air buah hijau aktif sebagai antioksidan dan sitotoksik.

3.2 Ekstraksi Sampel Daun Jambu Air Buah Hijau

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol, etil asetat dan heksana. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2, diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki jumlah ekstrak yang lebih banyak dibandingkan ekstrak lainnya, hal ini disebabkan karena pada pelarut metanol dapat melarutkan senyawa-senyawa polar dan non polar, etil asetat dapat melarutkan senyawa-senyawa semi polar, sedangkan heksana hanya melarutkan senyawa-senyawa non polar.

3.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jambu Air Buah Hijau

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana diukur menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dari nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (mg/L). Nilai IC_{50} ditentukan dengan menginterpolasikan persen aktivitas (50%) kedalam kurva kalibrasi konsentrasi larutan uji (sumbu X) dan persen inhibisi (sumbu Y)[20]. Nilai IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 4, diketahui nilai IC_{50} dari ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar dari

asam askorbat, hal ini berarti aktivitas penangkapan radikal bebas oleh ekstrak lebih lemah dibanding asam askorbat. Penggunaan asam askorbat sebagai kontrol positif karena kemampuannya untuk menangkal radikal bebas yang sangat baik[21], dapat dilihat dari nilai IC_{50} -nya yang kecil.

Antioksidan dapat digolongkan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L, kuat (50-100) mg/L, sedang (100-150) mg/L, dan lemah (151-200) mg/L serta tidak aktif apabila lebih besar dari 200 mg/L[22]. Berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak metanol tergolong antioksidan sangat kuat, etil asetat tergolong kuat, dan heksana tergolong tidak aktif.

Tingginya aktivitas antioksidan ekstrak metanol karena pelarut metanol merupakan pelarut polar yang juga dapat melarutkan senyawa nonpolar. Oleh karena itu, lebih banyak senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol seperti senyawa-senyawa golongan fenolik yang memiliki gugus hidroksi, sebagai mana diketahui gugus hidroksi ini dapat menetralkan radikal bebas[23]. Hal ini sesuai dengan skrining fitokimianya bahwa ekstrak metanol mengandung senyawa fenolik. Berdasarkan uji kandungan fenolik total ekstrak metanol mengandung senyawa fenolik terbanyak dari pada ekstrak lain, hal ini memungkinkan ekstrak ini memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

3.4 Pengujian Sitotoksik Ekstrak Daun Jambu Air Buah Hijau

Uji sitotoksik dari ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana dari daun jambu air menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Aktivitas sitotoksik dari ekstrak dapat ditentukan dari nilai LC_{50} yang dihitung berdasarkan mortalitas larva udang[24]. Nilai ini didapat dari persamaan regresi pada kurva antara log konsentrasi dan nilai probit. Kurva aktivitas sitotoksik dari ekstrak uji dapat dilihat pada Gambar 1.

Nilai LC_{50} untuk ekstrak metanol, etil asetat dan heksana secara berturut-turut yaitu 380,1; 235,3; dan 202,5 mg/L. Ekstrak dikatakan sangat toksik jika nilai LC_{50} kurang dari 30 mg/L, toksik (31-1000) mg/L, dan tidak toksik jika lebih besar dari 1000 mg/L[25]. Berdasarkan pernyataan diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol, etil asetat dan heksana bersifat toksik. Aktivitas sitotoksik tertinggi pada ekstrak

heksana yang ditandai dengan nilai LC₅₀ terendah, yang menandakan pelarut heksana dapat melarutkan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik lebih baik dari pelarut lain. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rohmah *et.al.* (2019) bahwa heksana mampu menarik senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik[18]. Pada kontrol tidak terjadi kematian larva udang, hal ini menunjukkan bahwa pelarut DMSO dan air laut tidak mempengaruhi kematian larva udang.

Senyawa-senyawa yang aktif sebagai sitotoksik adalah fenolik, flavonoid, steroid, triterpenoid, dan alkaloid[11], [17]–[19]. Berdasarkan skrining fitokimia, ekstrak metanol dan etil asetat mengandung senyawa-senyawa fenolik, flavonoid, steroid, triterpenoid, dan alkaloid, sedangkan ekstrak heksana hanya mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Namun ekstrak heksana memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi, hal ini diduga karena adanya interaksi senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak metanol dan etil asetat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Marianne *et.al.* (2018) bahwa senyawa metabolit sekunder yang saling berinteraksi dapat saling melemahkan[26].

3.5 Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Jambu Air Buah Hijau

Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Persamaan regresi larutan standar asam galat yaitu $Y = 0,0026x + 0,0008$ dengan $R^2 = 0,9956$. Nilai koefisien determinasi (R^2) mendekati 1 sehingga dapat dikatakan konsentrasi larutan asam galat sangat mempengaruhi nilai absorban[27], serta dapat dilihat bahwa konsentrasi asam galat berbanding lurus dengan absorban. Kandungan fenolik total dari ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana

ditentukan dari persamaan kurva regresi larutan standar asam galat yang dihitung sebagai *Galic Acid Equivalent* (GAE). Hasil penentuan kandungan fenolik total dapat dilihat pada Tabel 3. Kandungan fenolik total tertinggi yaitu pada ekstrak metanol karena metanol bersifat polar dan senyawa fenolik cenderung larut dalam pelarut polar[28].

Hubungan kandungan fenolik total terhadap aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2, dapat dilihat bahwa semakin besar kandungan fenolik total maka nilai IC₅₀ semakin kecil. Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa semakin besar kandungan fenolik total maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Kandungan fenolik total yang terbesar terdapat pada ekstrak metanol dan aktivitas antioksidan terkuat dimiliki oleh metanol.

Tabel 2. Hasil ekstraksi daun air hijau

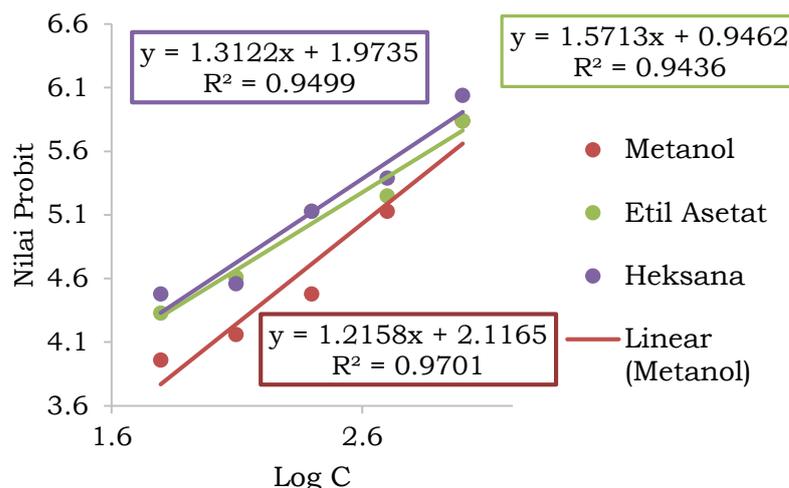
| Ekstrak | Kadar (%) |
|-------------|-----------|
| Metanol | 25,6418 |
| Etil asetat | 4,1906 |
| Heksan | 1,9694 |

Tabel 3. Nilai IC₅₀ ekstrak daun jambu air buah hijau dan asam askorbat

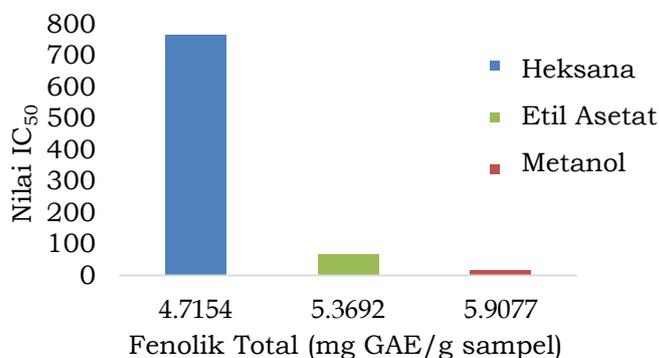
| Ekstrak | IC ₅₀ (mg/L) |
|---------------|-------------------------|
| Metanol | 17,9588 |
| Etil Asetat | 67,5459 |
| Heksana | 766,8333 |
| Asam Askorbat | 4,0988 |

Tabel 4. Data kandungan fenolik total ekstrak

| Ekstrak | Kandungan Fenolik Total (mg GAE/g sampel) |
|-------------|-------------------------------------------|
| Metanol | 5,9077 |
| Etil Asetat | 5,3692 |
| Heksana | 4,7154 |



Gambar 1. Kurva aktivitas sitotoksik



Gambar 2. Hubungan kandungan fenolik total dengan IC₅₀

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun jambu air buah hijau yaitu fenolik, flavonoid, alkaloid, steroid, dan triterpenoid. Aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak metanol bersifat antioksidan sangat kuat ekstrak etil asetat kuat, sedangkan ekstrak heksana tidak bersifat antioksidan. Pengujian sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak metanol, etil asetat dan heksana bersifat toksik. Kandungan fenolik total pada ekstrak metanol, etil asetat dan heksana secara berturut-turut adalah 5,9; 5,4; dan 4,7 mg GAE/g sampel. Dengan demikian ekstrak metanol merupakan ekstrak dengan aktivitas antioksidan terkuat (IC₅₀ 17,9 mg/L) dan kandungan fenolik total terbesar, sedangkan aktivitas sitotoksik tertinggi pada ekstrak heksana (LC₅₀ 202,5 mg/L).

Referensi

[1] Kinho, J., Arini, D. I. D., Halawena,

J. Nurrani, L., Halidah, Kafiari, Y., and Halawane, J. E., *Domestikasi Tumbuhan Obat Tradisional di Provinsi Sulawesi Utara*. Manado, 2011.

- [2] D. Mardiasuti, Hamidah, and Junairiah, "Keanekaragaman Dan Hubungan Kekerbatan Pada Jambu Air (*Syzygium aqueum* Burm.f. Alston) Melalui Pendekatan Morfologi Di Perkebunan Bhakti Alam, Pasuruan," pp. 1-7, 1988.
- [3] P. S. Anggrawati and Z. M. Ramadhania, "Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas dari Jambu Air (*Syzygium aqueum* Burn. f. Alston)," *Farmaka Suplemen*, vol. 14, no. 2, pp. 331-344, 2016.
- [4] K. Khaira, "Menangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan," *J. Sainstek*, vol. 2, no. 2, pp. 183-187, 2010.
- [5] A. N. Wulansari, "Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*)

- sebagai Antioksidan Alami : Review,” *Farmaka*, vol. 16, no. 2, pp. 419–429, 2018.
- [6] I. W. P. E. Putra, N. M. Puspawati, and I. M. O. A. Parwata, “Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavoid Pada Sebagai Agen Antikanker Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test,” *Cakra Kim. (Indonesian E-Journal Appl. Chem.)*, vol. 6, no. 1, pp. 46–56, 2018.
- [7] L. Agustina, M. Yulianti, F. Shoviantari, and I. F. Sabban, “Formulasi dan Evaluasi Sabun Mandi Cair dengan Ekstrak Tomat (*Solanum Lycopersicum L.*) sebagai Antioksidan,” *J. Wiyata Penelit. Sains dan Kesehat.*, vol. 4, no. 2, p. hal. 104-110, 2017.
- [8] L. Malangngi, M. Sangi, and J. Paendong, “Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*),” *J. MIPA*, vol. 1, no. 1, pp. 5–10, 2012.
- [9] A. A. Samin, N. Bialangi, and Y. K. Salimi, “Penentuan Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan dari Rambut Jagung (*Zea mays L.*) yang Tumbuh di Daerah Gorontalo,” pp. 6–8, 2003.
- [10] N. Auliasari, D. Gozali, and A. Santiani, “Formulasi Emulgel Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum (Burm . f .) Alston)* sebagai Antioksidan,” *J. Farm. Bahari*, vol. 7, no. 2, pp. 1–11, 2016.
- [11] P. Astuti, G. Alam, M. S. H. W, D. Sari, and S. Wahyuono, “Uji sitotoksik senyawa alkaloid dari spons *Petrosia sp*: potensial pengembangan sebagai antikanker Cytotoxicity,” *J. Maj. Farm. Indones.*, vol. 16, no. 1, pp. 58–62, 2005.
- [12] Tensiska, B. Nurhadi, E. Wulandari, and A. Ratri Laras, “Aktivitas ANtioksidan Ekstrak Dedak Hanjeli (*Coix lachryma-jobi L .)* dengan beberapa Jenis Pelarut,” *J. Agroindustri*, pp. 1–11, 2020.
- [13] A. Itam, A. Wulandari, M. M. Rahman, and N. Ferdinal, “Preliminary phytochemical Screening, Total Phenolic Content, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Alstonia scholaris R. Br* leaves and Stem Bark Extracts,” *J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 10, no. 3, pp. 518–522, 2018.
- [14] W. Adriani, *Penentuan Kandungan Fenolik Total, Uji Aktivitas Antioksidan, Aktivitas Antimikroba dan Sitotoksik Dari Fraksi Metanol Daun Miana (*Plectranthus scutellarioides (L.) R. Br.*)*. Padang: Universitas Andalas, 2018.
- [15] F. F. Sholehah, “Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo,” *Pros. Semin. Nas. Pendidik. Biol. dan Biol.*, pp. 75–82, 2017.
- [16] Dewatasari, W. F., *Uji Anatomi, Metabolit Sekunder, dan Molekuler *Sansevieria trifasciata**. Surakarta: Universitas Sebelas Maret, 2009.
- [17] P. Kramy, Triawanti, and A. Widiarti, “Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Jinjit (*Desmodium heterocarpon [L] D.C var.Strigosum Van Meeuwen*) terhadap Larva *Artemia Salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT),” *Architecture*, vol. 25, pp. 6–9, 2005.
- [18] J. Rohmah, C. S. Rini, and F. E. Wulandari, “Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa var. Crispa*) pada berbagai Pelarut Ekstraksi,” *J. Kim. Ris.*, vol. 4, no. 1, pp. 18–32, 2019.
- [19] A. Malik, L. Marpaung, P. Simanjuntak, and P. Nasution, “Aktivitas Sitotoksik Senyawa Golongan Fenolik Dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*),” vol. 7, no. 2, pp. 1–6, 2017.
- [20] R. Niah and R. N. Baharsyah, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Super (*Hyclocereus costaricensis*),” *J. Pharmascience*, vol. 5, no. 1, pp. 14–21, 2018.
- [21] Hidayat, W. Angely, P. Ardiningsih, and A. Jayuska, “Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Fraksi Etil Asetat Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica Blume*) Terenkapsulasi Gelatin,” *J. Kim. Khatulistiwa*, vol. 7, no. 2, pp. 33–40, 2018.
- [22] D. Tristantini, A. Ismawati, B. T. Pradana, and J. Gabriel, “Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L .)*,” *Univ. Indones.*, pp. 1–7, 2016.

- [23] A. Adawiah, D. Sukandar, and A. Muawanah, "Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam," *J. Kim. Val.*, vol. 1, no. 2, pp. 130–136, 2015.
- [24] V. Lisdawati, S. Wiryowidagdo, and L. B. S. Kardono, "Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)," *Kesehatan*, vol. 34, no. 3, pp. 111–118, 2006.
- [25] T. Mojo, J. Abidjulu, and M. R. J. Runtuwene, "Kajian Toksisitas dari Fraksi Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC)," *J. MIPA UNSRAT Online*, vol. 5, no. 1, pp. 40–43, 2016.
- [26] Marianne, P. Patilaya, and B. Trianda, "Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Rimpang Temu Giring (*Curcuma Heyneana*) dan Daun Pugun Tanah (*Curanga Fel-Terrae*) Menggunakan Metode Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH)," *Trop. Med.*, vol. 2, pp. 398–404, 2018.
- [27] A. Irawan and N. Suryani, "Pengaruh Gaya Kepemimpinan, Fasilitas Kantor, Dan Disiplin Kerja Terhadap Kinerja Pegawai Dinas Perdagangan Kota Semarang," *Econ. Educ. Anal. J.*, vol. 7, no. 1, pp. 265–278, 2018.
- [28] S. Sedjati, S. Suryono, A. Santosa, E. Supriyantini, and A. Ridlo, "Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Senyawa Fenolik Makroalga Coklat *Sargassum* sp.," *J. Kelaut. Trop.*, vol. 20, no. 2, pp. 117–123, 2017.

PENGGUNAAN MIKROALGA *Scenedesmus dimorphus* SEBAGAI ANTIANEMIA DEFISIENSI ZAT BESI PADA MENCIT PUTIH

Armaini, Dharma Abdi, Wildayanti*

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Andalas Padang
wildayanti2912@gmail.com

Penyakit anemia yang paling umum terjadi adalah anemia defisiensi besi yang disebabkan karena kekurangan zat besi di dalam tubuh. Pemeriksaan hemoglobin, eritrosit, hematokrit, dan serum feritin merupakan parameter untuk mengidentifikasi penyakit anemia defisiensi besi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati efek mikroalga *Scenedesmus dimorphus* terhadap nilai hemoglobin, eritrosit, hematokrit, serum feritin dan berat badan pada mencit putih penderita anemia defisiensi besi setelah diinduksi NaNO_2 . Penelitian ini dilakukan secara in-vivo terhadap 60 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok normal, kelompok positif, kelompok obat, kelompok dosis mikroalga 0,2 mg/gBB dan kelompok dosis mikroalga 0,6 mg/gBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis yang paling efektif dalam menaikkan nilai hemoglobin, eritrosit, hematokrit, serum feritin dan berat badan adalah dosis 0,6 mg/gBB. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Scenedesmus dimorphus* bermanfaat untuk mengobati anemia defisiensi zat besi.

Kata kunci: *Scenedesmus dimorphus*, Anemia Defisiensi Besi, NaNO_2 , Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Serum Feritin

1. Pendahuluan

Penelitian tentang mikroalga sangat menarik saat ini karena memiliki kandungan gizi yang tinggi sehingga memiliki prospek besar untuk dikembangkan. Berbagai jenis mikroalga dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang bernilai tinggi misalnya pigmen, vitamin, dan *Long Chain Polyunsaturated Fatty Acid* (LC-PUFA). Molekul-molekul tersebut dapat diaplikasikan untuk kepentingan komersial sebagai suplemen gizi atau sumber makanan sejak ratusan tahun yang lalu [1].

Mikroalga *S. dimorphus* diketahui mempunyai kandungan lipid yang tinggi yakni 16-40% berat kering dan termasuk dalam 20 spesies mikroalga dengan produktivitas lipid tertinggi yang pernah diteliti. Kandungan protein *Scenedesmus dimorphus* berkisar antara 8-18% berat kering. Kandungan lipid dan protein yang cukup tinggi membuatnya menarik untuk diteliti terlebih menggunakan isolat lokal dari alam Indonesia [2].

Scenedesmus sp. merupakan sumber daya potensial yang mempunyai prospek cerah di masa mendatang, karena kandungan nutrisi tinggi dan mineral-mineral seperti Fe. Fe pada mikroalga didapat dari komposisi medium BBM (*Bold Bassal Medium*) yang digunakan. Pada medium BBM, Fe berasal dari larutan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. *Scenedesmus dimorphus* merupakan mikroalga yang dapat tumbuh subur dalam lingkungan perairan yang kaya akan nutrisi [3].

Pemanfaatan mikroalga *Scenedesmus dimorphus* untuk mengobati anemia aplastis

terhadap mencit (*Mus Musculus*) telah dilakukan untuk meningkatkan hemoglobin, nilai eritrosit dan memperbaiki sumsum-tulang belakang. Penyakit anemia atau lebih dikenal masyarakat sebagai penyakit kurang darah merupakan berkurangnya sel darah merah matang yang membawa oksigen keseluruh jaringan yang dijalankan oleh protein yang disebut hemoglobin (Hb) hingga di bawah normal dengan level normal antara 11,5 – 16,5 gr/dL untuk perempuan dan 12,5 – 18,5 gr/dL untuk laki – laki [4].

Anemia merupakan suatu penyakit yang menjadi masalah besar di negara berkembang seperti Indonesia. Hal ini tercermin dari angka kejadian dan kunjungan penderita anemia ke sarana pelayanan kesehatan. Salah satu jenis penyakit anemia yang paling sering terjadi adalah anemia defisiensi zat besi. Anemia defisiensi besi ini merupakan penyakit yang disebabkan oleh berkurangnya cadangan zat besi di dalam tubuh. Keadaan ini ditandai dengan menurunnya saturasi transferin dan berkurangnya kadar serum feritin atau hemosiderin pada sumsum tulang. Secara morfologis keadaan ini diklasifikasikan sebagai anemia mikrositik hipokrom. Faktor-faktor penyebab anemia gizi besi adalah status gizi yang dipengaruhi oleh pola makanan, sosial ekonomi keluarga, dan lingkungan status kesehatan [4-5].

Pada penderita anemia defisiensi zat besi daya tahan tubuhnya akan berkurang secara keseluruhan sehingga menyebabkan terjadinya gangguan mental dan apabila

dibiarkan akan berakibat pada kematian. Anemia dapat mempengaruhi fungsi kognitif dan konsentrasi belajar rendah serta memperlambat daya tangkap pada anak usia sekolah, remaja putri dan kelompok usia lainnya [5].

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa penyebab anemia defisiensi zat besi diantaranya adalah kurangnya asupan gizi berupa zat besi pada tubuh. Oleh karena itu peneliti tertarik dengan pemberian mikroalga *Scenedesmus dimorphus* sebagai penambah asupan gizi dan zat besi pada penderita anemia defisiensi zat besi. Beberapa parameter hematologi yang diamati yaitu nilai hemoglobin, eritrosit, hematokrit dan serum feritin yang dilakukan pada mencit putih yang diberi perlakuan anemia dengan penginduksi yang digunakan adalah Natrium Nitrit (NaNO_2).

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan adalah peralatan gelas, autoclave, tabung kultur, pompa aquarium, selang (diameter 10 mm), timbangan digital, botol vial, jarum sonde, gunting bedah, jarum suntik oral 5 mL, kawat, tempat makan dan minum mencit, hemoglobinometer *Easy Touch* GCHb, pipet mikro hematokrit, Sentrifus hematokrit (*Hettich*), spektrofotometer Genesys 10S Uv-Vis 5010 (*Shimadzu*), pipet eritrosit, kamar hitung, haemositometer, tabung efendrof, mikroskop elektron (*ZEISS*), dan ELISA kit.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu mikroalga *Scenedesmus dimorphus* yang telah dibiakkan di Laboratorium Biokimia Universitas Andalas, medium BBM, akuades, natrium nitrit, larutan hayem (5 gram natrium sulfat, 1 gram natrium klorida, 0,5 gram merkuri klorida, dan 200 mL akuades), dan mencit putih sebanyak 60 ekor.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Identifikasi Morfologi Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Isolat mikroalga yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Universitas Andalas dilihat morfologinya menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x, kemudian morfologi tersebut dicocokkan dengan morfologi *Scenedesmus dimorphus* pada literatur.

2.3.2 Pembuatan *Bold Basal Medium*

Medium pertumbuhan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *Bold Basal Medium*

(BBM) dengan sumber NaNO_3 . Medium BBM dengan sumber nitrogen mengandung NaNO_3 25 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7,5 g/L, NaCl 2,5 g/L, K_2HPO_4 7,5 g/L, KH_2PO_4 17,5 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2,5 g/L, H_3BO_3 11,42 g/L, *Trace Element* ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8,82 g/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1,44 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1,57 g/L, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,49 g/L), *EDTA-KOH solution* (EDTA 50 g/L, KOH 31 g/L), *Ferric solution* ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4,98 g/L, H_2SO_4 96% 1 tetes). medium BBM di autoclave selama 1 jam dan didinginkan hingga suhu kamar.

2.3.3 Pengamatan Pertumbuhan Mikroalga

Pengamatan fase pertumbuhan *Scenedesmus dimorphus* dilakukan setiap 2 hari sekali. Diukur kepadatan selnya (Optical Density) dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm. Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara memplotkan antara hari (X) dengan nilai serapan (Y). Dari data dapat diketahui waktu yang dibutuhkan oleh mikroalga untuk mencapai pertumbuhan optimum sehingga diketahui waktu pemanenan terbaik.

2.3.4 Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih sebanyak 60 ekor yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Unand Padang dengan berat badan mencit rata-rata 20-30 g. Hewan diaklimatisasi di laboratorium selama lebih kurang satu minggu. Kemudian mencit dibagi dalam 5 kelompok dimana 1 kelompok digunakan sebagai kontrol normal, 1 kelompok untuk kontrol obat, 1 kelompok untuk kontrol anemia dan 2 kelompok lainnya diberi perlakuan dengan dosis tertentu.

2.3.5 Penentuan Dosis Natrium Nitrit

Perlakuan anemia adalah melalui pemberian Natrium Nitrit (NaNO_2). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ambarwati,dkk (2012) pemberian Natrium Nitrit dengan ketentuan LD_{50} rata-rata dari Natrium Nitrit secara oral pada tikus adalah 250 mg/kg berat badan. Pada penelitian ini, berat badan mencit 20 g, sehingga kadar Natrium Nitrit untuk setiap ekor adalah Kadar NaNO_2 mencit = kadar NaNO_2 tikus

$$\frac{X \text{ mg}}{20 \text{ g}} = \frac{250 \text{ mg}}{1000 \text{ g}}$$
$$X \text{ mg} = \frac{250 \text{ mg} \times 20 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = 5 \text{ mg}$$

Perlakuan Patologis anemia yang efektif yaitu

$$\begin{aligned} \text{LD}_{50} &= \frac{1}{2} \times 5 \text{ mg} \\ &= 2,5 \text{ mg}/20\text{g BB} \\ &= 0,125\text{mg/gBB} \end{aligned}$$

Jadi, dosis yang digunakan pada setiap ekor yaitu 0,125 mg/gBB yang dilarutkan dalam 1 mL akuades. Natrium Nitrit ini diberikan sebanyak 0,1 mL/10g BB/hari [6].

2.3.6 Perlakuan terhadap Hewan Percobaan
 Hewan yang telah diaklimatisasi selama seminggu, sebanyak 60 ekor dibagi menjadi 5

Tabel 1. Perlakuan terhadap hewan uji

| Kelompok Mencit (n = 5) | Perlakuan Pemberian Makan | Waktu Pengamatan | Parameter Uji |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|
| Kelompok 1 (Kontrol normal) | Pelet dan air minum | 18 – 32 hari | • Kadar Hemoglobin |
| Kelompok 2 (Kontrol anemia) | Pelet, air dan NaNO ₂ 0,125 mg/gBB | 18 – 32 hari | • Nilai Eritrosit |
| Kelompok 3 (Anemia + obat) | Pelet, air, dan tablet tambah darah | 18 – 32 hari | • Nilai Hematokrit |
| Kelompok 4 (Anemia + Dosis rendah) | Pelet, air, <i>S.dimorphus</i> 0,2 mg/gBB, dan CMC-Na 0,5% | 18 – 32 hari | • Serum Feritin |
| Kelompok 5 (Anemia + Dosis tinggi) | Pelet, air, <i>S.dimorphus</i> 0,6 mg/gBB, dan CMC-Na 0,5% | 18 – 32 hari | • Berat Badan |

2.3.7 Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Pemeriksaan hemoglobin dilakukan dengan metoda hemocue, dengan cara hewan dimasukkan ke dalam tabung yang diberi penutup dan memiliki lubang kecil untuk mengeluarkan ekor mencit, ujung ekor mencit tersebut dibersihkan dengan etanol 96%, kemudian ekor mencit dipotong sepanjang 5 mm dengan gunting yang telah disterilkan. Diteteskan darah yang keluar dari ekor mencit ke strip yang telah dipasangkan ke alat EasyTouch GCHb. Ditunggu beberapa saat dan baca skala yang ditunjukkan oleh alat. Angka yang muncul merupakan nilai hemoglobin darah mencit yang diukur dalam satuan g/dL.

2.3.8 Penentuan Nilai Hematokrit

Penentuan nilai hematokrit dilakukan dengan metoda mikrohematokrit. Prosedur pemeriksaannya adalah sampel darah dimasukkan ke dalam tabung kapiler sampai 2/3 volume tabung. Salah satu ujung tabung ditutup dengan lilin (*clay*) lalu disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 15.000 rpm. Tinggi kolom eritrosit diukur dengan alat pembaca hematokrit, nilainya dinyatakan dalam %.

2.3.9 Penentuan Nilai Eritrosit

Dilakukan dengan cara darah dihisap dengan pipet eritrosit sampai tepat tanda 0,5 kemudian dibersihkan pipet dengan tisu. Kemudian dimasukkan ujung pipet ke dalam larutan hayem dan dihisap larutan hayem sampai tanda 101. Larutan dikocok hingga homogen selama 2-3 menit. Kemudian

kelompok. Pemberian natrium nitrit pada kelompok anemia dihentikan setelah 18 hari dan pemberian pellet, air minum, dan *Scenedesmus dimorphus* tetap diberikan. Kelompok uji diberi mikroalga *Scenedesmus dimorphus* seperti pada table 1.

larutan dibuang sebanyak 3 tetes pertama dan tetesan berikutnya dimasukkan dalam kamar hitung (hemositometer). Kemudian eritrosit dihitung menggunakan kamar hitung (neubauer) di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan semua eritrosit yang terdapat pada 5 bidang kecil dihitung. Jumlah eritrosit dalam tiap milliliter darah dihitung dengan persamaan :

Jumlah eritrosit/mm³ = jumlah eritrosit dalam 5 bidang kecil x 10.000

2.3.10 Penentuan Nilai Serum Ferritin

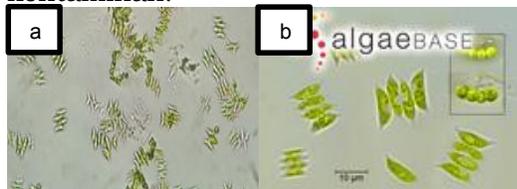
Darah diambil dengan cara pemotongan leher mencit menggunakan pisau yang telah disterilkan. Kemudian darah ditampung ke dalam tabung efendrof yang berisi larutan koagulan yaitu EDTA. Tabung yang telah berisi darah dimasukkan ke dalam alat sentrifus kemudian disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Untuk mendapatkan serum. Serum yang didapat disimpan dalam botol serum yang telah diberi label dengan masing-masing kelompok perlakuan, kemudian diletakkan pada rak di dalam *cooler bag* yang dilengkapi dengan *ice gel* yang bisa bertahan hingga maksimal 6 jam. Penyimpanan serum dilanjutkan di lemari pendingin dengan suhu dibawah -20°C. Langkah selanjutnya dilakukan pemeriksaan serum feritin dengan menggunakan elisa kit (ELISA).

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Morfologi *Scenedesmus Dimorphus*

Berdasarkan hasil identifikasi morfologi yang telah dilakukan dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 1000x didapatkan bahwa

mikroalga scenedesmus dimorphus yang dikultivasi tidak terkontaminasi oleh bakteri dan mikroalga lainnya. Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa mikroalga yang tumbuh pada medium hanya satu spesies yaitu mikroalga *Scenedesmus dimorphus* tanpa adanya kontaminan.



Gambar 1.
(a) Morfologi mikroalga *Scenedesmus dimorphus* hasil pengamatan,
(b) Morfologi *Scenedesmus dimorphus* berdasarkan literatur [7].

3.2 Pertumbuhan mikroalga

Pertumbuhan mikroalga dapat diukur berdasarkan jumlah sel di dalam medium dan secara visual ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna kultur. Pada penelitian ini pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dilihat dari nilai *optical density* (OD) yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 680 nm. Pengukuran nilai OD dilakukan dari hari ke-0 sampai fasa akhir eksponensial. Jumlah sel yang didapat diplotkan ke dalam suatu grafik Absorban Vs Hari seperti gambar 2 sehingga didapatkan kurva pertumbuhan mikroalga.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Berdasarkan kurva pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus dimorphus* yang didapatkan, dapat dilihat bahwa pertumbuhan mikroalga terjadi dalam beberapa tahap atau fasa. Dimana pada hari ke 0-2 merupakan fasa lag atau adaptasi mikroalga dalam medium, sel mikroalga sewaktu-waktu pertumbuhannya dapat menurun bahkan mati apabila tidak dapat beradaptasi dengan baik. Kemudian fasa selanjutnya adalah fasa eksponensial atau fasa log pada hari ke 3-13 ditandai dengan perubahan warna kultur yang semakin hijau dari sebelumnya. Hal ini juga

menunjukkan bahwa aktivitas fotosintesis yang tinggi untuk pembentukan protein dan komponen sel yang dibutuhkan dalam pertumbuhan.

Pemanenan mikroalga dilakukan pada fasa stasioner karena pada fasa inilah metabolit sekunder yang berupa karbon organik paling banyak dihasilkan. Fasa stasioner ditandai dengan pertambahan sel yang relatif tetap dan ditunjukkan dengan garis mendatar pada kurva yang terjadi pada hari ke 14-21 pada gambar 2. Pada pertumbuhan mikroalga saat fasa stasioner juga terjadi fasa penurunan laju pertumbuhan yang disebabkan karena jumlah nutrisi yang terdapat dalam medium sudah sedikit.

Mikroalga mulai mencapai fasa kematian pada hari ke 23 yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan dan warna kultur yang berubah menjadi kekuningan. Kematian sel disebabkan oleh kehabisan nutrisi di dalam medium sehingga kepadatan sel berkurang atau sel mengalami lisis. Sel yang lisis akan mengakibatkan terjadinya perubahan warna dari hijau pekat sampai hijau kekuningan dan lama kelamaan warna tersebut akan hilang.

3.3 Produksi Biomassa Mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

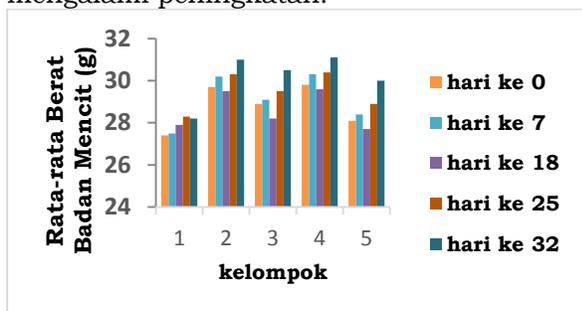
Pemanenan mikroalga untuk mendapatkan biomassa dilakukan pada akhir fasa logaritma dan awal fasa stasioner. Pada gambar 4.2 dapat dilihat bahwa pemanenan dapat dilakukan pada hari ke 13. Pada fasa stasioner terjadi pembentukan metabolit sekunder yang akan digunakan oleh mikroalga untuk mempertahankan dirinya, karena pada fasa ini jumlah sel mikroalga yang hidup sama dengan jumlah sel mikroalga yang mati [8].

Pada hari pemanenan, kultur mikroalga memiliki warna kultur yang pekat dari warna sebelumnya, hal ini menandakan bahwa sel mikroalga memiliki kepadatan sel yang tinggi dan sudah mulai mencapai massa jenuhnya pada fasa stasioner tersebut. Warna hijau yang terbentuk berasal dari pigmen hijau (klorofil) hasil dari sintesis oleh mikroalga. Berdasarkan penelitian didapatkan dalam 1 liter medium kultur mikroalga menghasilkan ± 1 gram biomassa.

3.4 Pengaruh Pemberian NaNO_2 terhadap Berat Badan Mencit

Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama satu minggu yang tujuannya untuk membiasakan mencit dengan lingkungan percobaan sehingga pada

waktu perlakuan mencit tidak mengalami stres. Pemberian NaNO_2 dilakukan dari hari ke-0 setelah dilakukan aklimatisasi sampai hari ke 18. Sebelum dilakukan penginduksian NaNO_2 berat badan mencit ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan dosis yang tepat dalam penginduksian. Pengaruh pemberian NaNO_2 dan mikroalga *scenedesmus dimorphus* memberi efek terhadap berat badan mencit. Dapat dilihat pada gambar 3 pemberian NaNO_2 terhadap berat badan mencit mengalami penurunan dan pemberian obat dan mikroalga yaitu kelompok 3,4,5 mengalami peningkatan.



Gambar 3. Perbandingan rata-rata berat badan mencit setiap kelompok pada hari ke 0,7,18,25,32

Pengaruh pemberian NaNO_2 terhadap penurunan berat badan mencit adalah NaNO_2 yang masuk ke dalam tubuh mencit akan terurai menjadi nitrit yang berikatan dengan Fe sehingga terjadi kekurangan Fe di dalam tubuh. Kekurangan Fe ini akan menyebabkan terjadinya gangguan kesehatan seperti kelelahan dan gangguan perkembangan organ-organ tubuh. Dapat dilihat dari gambar 4.3 pada hari ke 7 perlakuan induksi NaNO_2 belum mempengaruhi berat badan dari mencit. Hal ini dikarenakan jumlah NaNO_2 yang masuk ke dalam tubuh mencit belum mengganggu sistem metabolisme atau menjadi radikal bebas di dalam tubuh mencit. Oleh karena itu, apabila dosis NaNO_2 yang masuk ke dalam tubuh mencit melewati dosis yang telah ditentukan WHO dan pemberian dilakukan secara terus menerus maka akan mempengaruhi berat badan dari mencit tersebut.

Pemberian mikroalga *scenedesmus dimorphus* dapat menaikkan berat badan karena komponen yang terkandung dalam sel

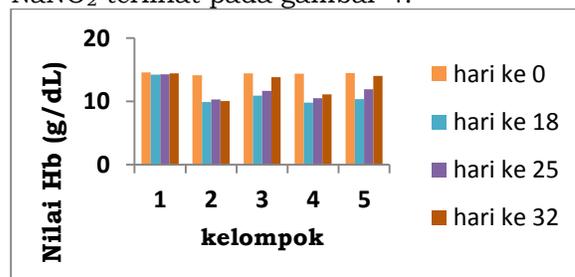
mikroalga tersebut. Dapat dilihat dari gambar 3 pada hari ke 25 sudah memberikan efek terhadap berat badan dengan terjadinya kenaikan terhadap berat badan dari hari ke 18 dan pada hari ke 32 perlakuan, berat badan mencit mengalami kenaikan dari hari ke 25 perlakuan, hal ini karena kandungan nutrisi yang tinggi dari mikroalga yang masuk ke dalam tubuh mencit. Mikroalga *scenedesmus dimorphus* merupakan mikroalga dengan kandungan gizi yang tinggi seperti karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral dan lainnya. Komponen ini dapat menaikkan berat badan mencit yang turun akibat induksi NaNO_2 . Menurut (Pintero, 2000) hewan percobaan yang mendapat asupan zat besi lebih besar akan mengalami peningkatan berat badan lebih cepat dalam waktu singkat.

3.5 Pengaruh Pemberian *Scenedesmus dimorphus* pada Mencit Anemia Terhadap Hematologi

3.5.1 Hemoglobin

Pengaruh pemberian NaNO_2 menyebabkan mencit menderita anemia, hal ini disebabkan oleh ion nitrit di dalam tubuh akan bereaksi dengan darah sehingga nitrit akan masuk dalam eritrosit, kemudian mengoksidasi ion Fe^{2+} (ferro) dalam hemoglobin dan mengubahnya menjadi ion Fe^{3+} (ferri) sehingga terjadi pembentukan methemoglobin. Methemoglobin merupakan hematin-globin yang mengandung $\text{Fe}^{3+}\text{-OH}$. Methemoglobin ini tidak dapat membawa oksigen keseluruhan jaringan tubuh, sehingga terjadi kekurangan oksigen dalam darah (hipoksia)³². Berkurangnya Fe di dalam darah akan menyebabkan penurunan jumlah Hb.

Pemberian mikroalga dilakukan setelah nilai dari Hb darah mencit dibawah batas normal, yaitu dibawah 12 g/dL. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Hb darah mencit turun pada hari ke 18 penginduksian NaNO_2 terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hubungan antara nilai hemoglobin dengan hari pengamatan (0,18,25,32) pada masing-masing kelompok

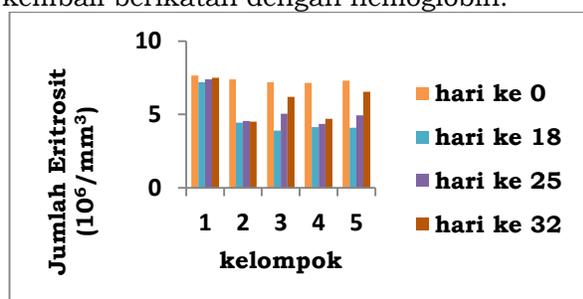
Hasil pengukuran yang diperoleh dapat dilihat dari gambar 4.4, dari grafik dapat kita ketahui bahwa nilai hemoglobin mengalami

penurunan pada hari ke-18 di semua kelompok yang diinduksi dengan NaNO_2 . Pada hari ke-25 dan hari ke-32 pada kelompok 3,4,5 terjadi kenaikan karena pemberian obat dan mikroalga *scenedesmus dimorphus*. Pada kelompok 2 terjadi kenaikan nilai hemoglobin pada hari ke 25 dan mengalami penurunan pada hari ke 32, hal ini dikarenakan nilai hemoglobin hanya dipengaruhi oleh metabolisme dari tubuh mencit tanpa diberi obat dan mikroalga *scenedesmus dimorphus*.

Pemberian mikroalga *scenedesmus dimorphus* dapat meningkatkan nilai Hb karena mikroalga *scenedesmus dimorphus* memiliki kandungan nutrisi dan Fe tinggi yang dapat meningkatkan jumlah Fe di dalam darah. Fe merupakan inti dari hemoglobin, sehingga apabila kandungan Fe dalam tubuh tinggi maka jumlah hemoglobin juga akan meningkat.

3.5.2 Eritrosit

Perhitungan nilai eritrosit dilakukan secara mikroskopis dengan menggunakan hemasitometer. Tipe bilik hitung hemasitometer yang digunakan adalah *Type Double Neubauer*. Dari grafik dapat dilihat bahwa nilai eritrosit mencit mengalami penurunan ketika mencit diinduksi dengan NaNO_2 dan mengalami kenaikan pada saat pemberian obat dan biomassa mikroalga (kelompok 3,4,5). Nilai eritrosit turun pada saat pemberian NaNO_2 dikarenakan nitrit dari senyawa NaNO_2 akan menjadi radikal bebas dan akan mengikat Fe yang terdapat di hemoglobin sehingga terjadi kekurangan Fe di dalamnya dan terjadi penurunan nilai Hb. Pada kelompok 4 dan 5 radikal bebas yang disebabkan oleh nitrit akan dihalangi oleh senyawa fenolik yang bertindak sebagai antioksidan dari mikroalga *scenedesmus dimorphus* sehingga Fe akan terlepas dan kembali berikatan dengan hemoglobin.



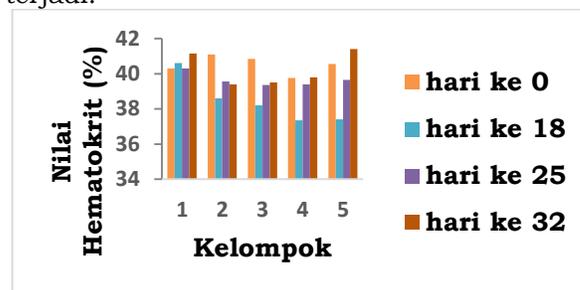
Gambar 5. Grafik hubungan nilai eritrosit dengan hari pengamatan (0,18,25,32) pada masing-masing kelompok

Penurunan nilai Hb mempengaruhi nilai dari eritrosit karena Hb merupakan protein utama dalam pembentukan sel darah merah atau

eritrosit. Pada kelompok 3 terjadi kenaikan nilai eritrosit karena pengaruh obat yang diberikan mengandung nilai Fe yang cukup tinggi. Sama halnya dengan kelompok 4 dan kelompok 5 yang mendapat kandungan Fe dari biomassa mikroalga *Scenedesmus dimorphus*. Nilai eritrosit pada kelompok 5 lebih jauh meningkat daripada kelompok 4 hal ini dikarenakan pemberian dosis mikroalga yang berbeda, dimana dosis kelompok 5 lebih tinggi daripada dosis pada kelompok 4.

3.5.3 Hematokrit

Induksi NaNO_2 menyebabkan penurunan nilai hematokrit karena NaNO_2 mengakibatkan penurunan jumlah dari volume darah. Hematokrit merupakan persen dari perbandingan antara eritrosit dengan volume darah. apabila jumlah eritrosit berkurang maka hematokrit juga akan berkurang sehingga volume darah juga ikut berkurang. Jika nilai eritrosit dan hematokrit berkurang maka penyakit anemia akan terjadi.



Gambar 6. Hubungan antara nilai hematokrit dengan hari pengamatan (0,18,25,32) pada masing-masing kelompok

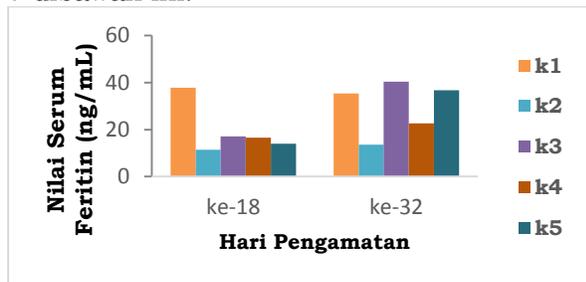
Berdasarkan gambar 6 dapat dilihat pada saat diberikan penginduksi NaNO_2 terjadi penurunan nilai hematokrit pada setiap kelompok dan mengalami kenaikan pada kelompok pemberian mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dan obat yaitu kelompok 3,4,5. Nilai hematokrit paling tinggi terlihat pada kelompok 5, hal ini disebabkan pemberian alga dengan dosis tinggi dan faktor lingkungan yang terjaga seperti mencit tidak mengalami stres atau mencit dalam keadaan normal sehingga jumlah dari sel darah merah dan volume total darah meningkat. Pada kelompok 2 dapat dilihat nilai hematokrit mengalami kenaikan dan penurunan setelah diinduksi dengan NaNO_2 . Hal ini karena metabolisme pada mencit yang mengalami anemia sangat terganggu oleh radikal bebas yang disebabkan oleh nitrit, sehingga dengan metabolisme tubuh saja mencit tidak mampu mengobati penyakit anemia. oleh karena itu,

dibutuhkan asupan nutrisi dan gizi yang tinggi untuk mengobatinya seperti pada kelompok 3,4 dan 5. Akan tetapi, jika pemberian mikroalga besar dari dosis pada kelompok 5 akan menyebabkan jumlah dari hematokrit semakin meningkat dan akan menyebabkan suatu penyakit polisitemia.

3.5.4 Serum Feritin

Feritin merupakan cadangan zat besi di dalam tubuh, apabila penyerapan zat besi berkurang maka jumlah feritin juga akan berkurang yang akan berdampak pada menurunnya jumlah zat besi yang akan digunakan untuk sintesis Hb dan mengganti Hb yang rusak. Pada saat penginduksian NaNO_2 jumlah serum feritin menjadi rendah karena terjadi penyerapan Fe oleh nitrit hasil penguraian NaNO_2 , sehingga cadangan besi dalam bentuk feritin akan memenuhi kebutuhan zat besi di dalam tubuh terlihat pada gambar grafik pada hari ke-18. Hal ini mengakibatkan sintesis dari hemoglobin menurun sehingga terjadi penurunan nilai hemoglobin atau terjadi anemia.

Pada saat pemberian mikroalga *Scenedesmus dimorphus* jumlah serum feritin menjadi naik, seperti terlihat pada kelompok 4 dan 5. Hal ini dikarenakan kebutuhan zat besi dapat dipenuhi oleh mikroalga *Scenedesmus dimorphus* sehingga besi yang tersimpan di dalam tubuh menjadi meningkat. Hal ini dapat dilihat dari gambar 7 dibawah ini:



Gambar 7. Nilai serum feritin sesudah induksi NaNO_2 dan setelah pemberian mikroalga *Scenedesmus dimorphus*

Dari gambar dapat dilihat pada kelompok 2 jumlah serum feritin tidak menunjukkan hasil yang baik pada hari ke 32, hal ini karena kebutuhan besi pada mencit yang mengalami anemia semakin tinggi sehingga cadangan zat besi atau feritin didalam tubuh digunakan untuk memenuhi kebutuhan tersebut sehingga jumlah dari serum feritin pada mencit penderita anemia

akan menurun. Pada kelompok 3 dan 5 menunjukkan hasil yang baik pada hari ke 32, ini dikarenakan pemberian obat dan mikroalga dosis 0,6 mg/gBB memiliki kandungan nutrisi dan zat besi yang tinggi yang dapat memenuhi kebutuhan zat besi pada mencit yang mengalami anemia, sehingga serum feritin di dalam tubuh mencit akan meningkat. Pada kelompok 4 juga terjadi kenaikan terhadap nilai dari serum feritin tetapi peningkatan tidak begitu signifikan, hal ini karena dosis mikroalga yang diberikan rendah sehingga jumlah nutrisi dan zat besi yang masuk kedalam tubuh mencit yang mengalami anemia sedikit.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Priyadarshani I.; Rath B.; Commercial and industrial applications of microalgae: A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*. 2012.
- [2] Mata TM.; Martins AA.; Caetano NS. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy reviews*. 2010, 14;217.
- [3] Rinaldi, R.; Armaini, A.; Salim, M.; A Selection of Nitrogen Source For Biomass and Lipid Production of *Scenedesmus Dimorphus* Microalgae. *Journal Of Pharmaceutical, Biological And Chemical Sciences*. 2015, 6(3):143-147.
- [4] Julie T.; Vieth, David R.; Lane.; Anemia. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2017, 31 (1045-1060).
- [5] WHO.; Iron Deficiency Anaemia Assessment, Prevention and Control A guide for programme managers. WHO Press. 2001.
- [6] Ambarwati, R.; Effect of Sodium Nitrite (NaNO_2) to Erythrocyte and Hemoglobin Profile in White Rat (*Rattus norvegicus*). Nurjanah (A1C412034) Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jambi 11 Page 11 *Folia Medica Indonesiana*, 2012. 48(1), 1-5.
- [7] Guiry GM.; AlgaeBase. World-wide electronic publication, *National University of Ireland, Galway*: <http://www.algaebase.org>. 2014.
- [8] Gultom, S.; & Hu, B.; Review of Microalgae Harvesting Via Co-Polletization with Filamentous Fungus. *Energies*. 2013. 11. (5921-5939)