

ANALISIS SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK MIKROALGA LAUT *Tetraselmis chuii* SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI

(Analysis of Marine Microalgae *Tetraselmis chuii* Extract
Bioactive Compounds as a Natural Antioxidants Source)

Jaya Mahar Maligan^{1*}, Ayuningtyas Putri Marditia¹, Widya Dwi Rukmi Putri

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya, Malang

Jl. Veteran, Malang 65145

*Email: maharajay@gmail.com

ABSTRACT

Microalgae has many benefits such as food, medicine, a mixture of fertilizer and fuel sources. Tetraselmis chuii has chlorophyll and phytochemical compounds such as flavonoids as a natural source of antioxidants. This research was performed using a Randomized Block Design (RAK) with two factors, ratio of distilled water : ethanol (2:8, 3:7, and 4:6), and ratio of materials : solvent (1:3, 1:6, and 1:9) with three time replicated. The best treatment was obtained from the combination of ratio of distilled water : ethanol (2:8) and ratio of materials : solvent (1:6) with the value of yield 19,33%; water content 23,35%; total flavonoids 1996,13 mg QE/kg extract; total phenol 578,93 mg GAE/kg extract; total chlotohyll 21,73 mg/g; antioxidant activity 21,04%.

Keywords : antioxidant, MAE, microalgae, Tetraselmis chuii

ABSTRAK

Mikroalga memiliki banyak manfaat antara lain sebagai bahan makanan, obat-obatan, campuran pupuk, dan sumber bahan bakar. Mikroalga spesies *Tetraselmis chuii* memiliki klorofil dan beberapa senyawa fitokimia seperti golongan flavonoid sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode RAK (Rancangan Acak Kelompok) dengan 2 faktor, yaitu : rasio pelarut aquades : etanol (2:8, 3:7, dan 4:6) dan rasio bahan : pelarut (1:3, 1:6, dan 1:9) dengan tiga kali ulangan. Perlakuan terbaik diperoleh dari kombinasi rasio aquades : etanol (2:8) dengan rasio bahan : pelarut (1:6) dengan nilai rendemen 19,33%; kadar air 23,35%; total flavonoid 1996,13 mg QE/kg ekstrak; total fenol 578,93 mg GAE/kg ekstrak; total klorofil 21,73 mg/g; dan aktivitas antioksidan 21,04%.

Kata kunci : antioksidan, MAE, mikroalga, *Tetraselmis chuii*

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan organisme yang paling efisien dalam menangkap dan memanfaatkan energi matahari dan CO₂ untuk keperluan fotosintesis. Mikroalga memiliki banyak manfaat antara lain sebagai bahan makanan, obat-obatan, campuran pupuk, dan sumber bahan bakar (Chisti, 2007). Dari beberapa spesies mikroalga yang ada, mikroalga laut spesies *Tetraselmis chuii* mempunyai prospek cerah di masa mendatang sebagai sumber pangan baru karena mengandung nilai gizi yang tinggi. Penelitian yang telah dilakukan terhadap *Tetraselmis chuii* menunjukkan bahwa *Tetraselmis chuii* mengandung protein sebesar 48,42%, karbohidrat 12,10%, dan lemak 9,7% (Brown *et al.*, 1997). Selama ini mikroalga

tersebut hanya sebagai pakan ikan dan *crustacea*.

Pada penelitian sebelumnya dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif berdasarkan pada sifat kelarutan senyawa. Hasil analisis senyawa fitokimia diperoleh tiga senyawa yang terkandung pada ekstrak mikroalga *Tetraselmis chuii* yaitu senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan glikosida flavonoid (Sani, 2014).

Antioksidan merupakan senyawa penangkap radikal bebas yang berfungsi untuk memperlambat terjadinya proses oksidasi pada bahan pangan. Antioksidan termasuk salah satu jenis bahan tambahan pangan yang dapat digunakan untuk melindungi komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), seperti lemak dan minyak. Tubuh manusia juga menghasilkan senyawa antioksidan,

contohnya superoksida dismutase (SOD). Jumlah senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tubuh manusia tidak cukup untuk menangkap radikal bebas di dalam tubuh. Salah satu cara mengatasi kekurangan tersebut adalah mengkonsumsi makanan yang mengandung senyawa antioksidan, seperti vitamin dan mineral (Hermani, 2004).

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi antioksidan alami dari mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan menggunakan gelombang mikro. *Microwave Assisted Extraction* merupakan salah satu metode yang dikembangkan untuk proses ekstraksi. Metode ini memiliki keunggulan diantaranya jumlah pelarut yang digunakan tidak banyak, waktu yang diperlukan untuk proses ini juga relatif singkat jika dibandingkan dengan metode lain. Pada penelitian Metode ekstraksi ini dapat menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan metode konvensional (Kusuma, 2012). Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah perbandingan antara bahan terhadap pelarut yang digunakan. Maka perlu dilakukan kajian terhadap faktor tersebut. Kajian yang akan dilakukan adalah rasio pelarut aquades dengan etanol yaitu 2:8, 3:7, dan 4:6 (Rivai dkk., 2008) dan rasio bahan dengan pelarut yaitu 1:3, 1:6, dan 1:9. Rasio pelarut tersebut dipilih karena rasio alga terhadap pelarut optimum pada rasio 1:2-1:10 g/ml pada pelarut heksana dan metanol (Wati dkk., 2011).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk mikroalga *Tetraselmis chuii* yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo.

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi antioksidan adalah aquades dan etanol 96% yang diperoleh dari Krida Tama Persada. Bahan yang digunakan untuk analisis kimia pada penelitian ini adalah *reagen* Folin-Ciocalteu, natrium karbonat (Na_2CO_3), AlCl_3 , NaNO_2 , NaOH 1 M, kuersetin, asam galat, aseton teknis, etanol PA, DPPH 0,2 mM.

Alat

Alat yang digunakan dalam ekstraksi pada penelitian ini adalah *microwave* (Samsung), *rotary vacuum evaporator* (IKA), sentrifuse (C 3-select), timbangan analitik (Ohaus), toples, jar kaca, botol kaca gelap, vial, dan spatula besi.

Alat yang digunakan untuk analisis pada penelitian ini adalah spektrofotometer (Unico UV-2100), oven listrik (Mettler U.30), vortex

(LW Scientific), desikator, *beaker glass*, bola hisap, corong kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas saring halus, aluminium foil, cawan aluminium, plastik, labu ukur, pipet ukur, dan pipet tetes.

Desain Penelitian

Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu rasio aquades:etanol (2:8, 3:7, 4:6) dan rasio bahan:pelarut (1:3, 1:6, 1:9). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 27 satuan percobaan. Data dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (*Analysis of Variant* atau ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji lanjut BNT atau DMRT dengan selang kepercayaan 5%.

Tahapan Penelitian

Tahap penelitian dilakukan dengan satu tahapan yaitu pembuatan ekstrak dari mikroalga laut *Tetraselmis chuii* menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction*.

Metode

Analisis ekstrak mikroalga *Tetraselmis chuii* meliputi rendemen (Yuwono dan Susanto, 1998), analisis kadar air (Sudarmadji dkk, 1997), total flavonoid (Atanassova *et al.*, 2011), total fenol (George *et al.*, 2005), total klorofil (AOAC, 1980), dan aktivitas antioksidan (Sharma and Bhat, 2009).

Prosedur Analisis

1. Analisis Rendemen

- Hasil ekstrak ditimbang dalam wadah yang sudah diketahui beratnya
- Rendemen dihitung berdasarkan berat kering bahan

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{\text{berat ekstrak kasar}}{\text{berat bahan}} \times 100$$

2. Analisis Kadar Air

- Cawan petri dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 24 jam, kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit, setelah itu ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik (x gram)
- Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang (y gram), kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah diketahui beratnya
- Sampel dalam cawan petri dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 5 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama

30 menit, sampel yang sudah dingin ditimbang. Perlakuan ini diulang-ulang sampai tercapai berat konstan (z gram), yaitu selisih penimbangan berat sampel berturut-turut kurang dari 0,2 gram

- Kadar air dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Air} = \frac{(x+y)-z}{y} \times 100$$

3. Analisis Total Flavonoid

- 1 ml ekstrak ditambah 4 ml aquades dan 0,3 ml NaNO₂ 5%
- Larutan diinkubasi selama 5 menit
- Ditambahkan 0,3 ml AlCl₃ 10% dan diinkubasi 6 menit
- Larutan ditambah dengan 2 ml NaOH 1 M dan 2,4 ml aquades. Kemudian divortex
- Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 510 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 3 kali ulangan
- Kuersetin digunakan sebagai standar dengan seri konsentrasi 0, 200, 400, 600, 800, dan 1000 mg/kg. Kurva kalibrasi kuersetin digunakan untuk menentukan kadar senyawa total flavonoid yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen kuersetin/kg ekstrak (mg QE/kg ekstrak)

4. Analisis Total Fenol

- 0,2 ml sampel diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- 1 ml reagen Folin Ciocalteu 10% dan 0,8 ml Na₂CO₃ 7,5% dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian divortex agar homogen
- Campuran diinkubasi selama 30 menit
- Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 750 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 3 kali ulangan.
- Asam galat digunakan sebagai standar dengan seri konsentrasi 0, 25, 50, 75, 100, dan 125 mg/kg. Kurva kalibrasi asam galat digunakan untuk menentukan kadar senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel melalui persamaan regresi dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/kg ekstrak (mg GAE/kg ekstrak)

5. Analisis Total Klorofil

- Timbang sampel ekstrak sebanyak 2 gram, kemudian ditambahkan 50 ml aseton
- Kemudian campuran sampel dan aseton divortex
- Larutan tersebut disaring dengan kertas saring
- Diamati absorbansi cahaya dari larutan yang tersedia dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 663 nm dan 645 nm
- Total klorofil dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Total klorofil (mg/g)} = 20,2 A_{663 \text{ nm}} + 8,02 A_{645 \text{ nm}}$$

6. Analisis Aktivitas Antioksidan

- 0,8 gram ekstrak ditambahkan etanol sampai 10 ml
- Ekstrak divortex untuk melarutkan dan menghomogenkan sampel
- Selanjutnya disaring untuk memisahkan ekstrak antioksidan dengan endapan
- 2 ml ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan diberi 1 ml DPPH 0,2 mM dalam etanol
- Kemudian divortex hingga homogen
- Didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang
- Ukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm
- Aktivitas *scavenger* radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Aktivitas penangkapan radikal bebas} () = \frac{\text{Absorbansi}}{\text{Absorbansi Blanko}}$$

- Blanko dibuat dengan cara yang sama tetapi tidak menggunakan ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rerata rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan kombinasi rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 19,3 – 27,6%. Grafik rerata rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Gambar 4.1 Grafik pengaruh perlakuan rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa rasio aquades:etanol memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*, sedangkan rasio bahan:pelarut dan interaksi keduanya tidak memberikan pengaruh nyata. Rerata rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* akibat perlakuan rasio aquades:etanol dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Pengaruh rasio aquades:etanol terhadap rerata rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Rasio Aquades:Etanol	Rerata Rendemen (%)	BNT ($\alpha = 0,05$)
2:8	20,00±0,64 a	2,53
3:7	23,63±2,29 b	
4:6	26,01±1,57 b	

*Keterangan: angka yang didampingi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5%

Dari Tabel 4.1 dapat ditunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata antara rasio aquades:etanol terhadap rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*. Data pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rasio aquades:etanol (4:6) memiliki persentase rendemen ekstrak yang paling tinggi yaitu 26,01%.

Pada metode MAE beberapa faktor yang mempengaruhi hasil rendemen adalah pemilihan jenis pelarut, rasio pelarut, konstanta dielektrikum, jenis sampel, suhu, serta pemakaian energi. Terutama nilai konstanta dielektrikum, karena semakin tinggi

nilai konstanta dielektrikum maka semakin besar pula derajat ekstraksi microwave. Hal ini dikarenakan untuk mendapatkan transfer panas yang optimum ke dalam matriks, maka digunakan pelarut yang memiliki konstanta dielektrikum yang tinggi dan memiliki faktor energi yang tinggi pula. Diketahui nilai konstanta dielektrikum dari aquades adalah 80 F/m dan etanol sebesar 7 F/m (Armstrong, 1999). Untuk jenis sampel, suhu, serta pemakaian energi relatif sama, karena diekstrak pada kondisi yang sama.

Jika dilihat dari sifat kepolaran pelarut dan dihubungkan dengan komponen kimia yang ada pada mikroalga menurut dalam biomassa mikroalga mengandung komposisi kimia yaitu protein, karbohidrat, pigmen (klorofil dan karotenoid), asam amino, lipid, dan hidrokarbon. Sehingga senyawa yang bersifat polar akan terlarut pada aquades dan senyawa yang kurang polar akan terlarut pada etanol (Sanchez *et al.*, 2007).

Kadar Air

Rerata kadar air ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan kombinasi rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 21,47 – 28,48%. Grafik rerata kadar air ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Gambar 4.2 Grafik pengaruh perlakuan rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap kadar air ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Hasil penelitian ekstraksi mikroalga laut *Tetraselmis chuii* dengan dua faktor yaitu rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut didapatkan hasil analisis sidik ragam memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar air ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* yang dihasilkan pada taraf kepercayaan 95%. Dari hasil tersebut digunakan metode *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat perbedaan dalam ujian lanjutan. Hasil uji lanjut terhadap faktor rasio aquades:etanol dan bahan:pelarut dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Pengaruh rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap rerata kadar air ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Rasio Aquades : Etanol	Rasio Bahan : Pelarut	Rerata Kadar Air (%)	Notasi
2 : 8	1 : 3	28,06	e
	1 : 6	23,35	b
	1 : 9	28,48	e
3 : 7	1 : 3	24,48	bc
	1 : 6	21,47	a
	1 : 9	26,85	d
4 : 6	1 : 3	25,07	c
	1 : 6	22,02	a
	1 : 9	26,41	d

*Keterangan: angka yang didampingi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji DMRT 5%

Dari tabel 4.2 dapat ditunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata antara rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap jumlah kadar air ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*. Semakin tinggi rasio aquades:etanol dan bahan:pelarut, kadar air cenderung semakin meningkat. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan titik didih antara dua pelarut. Titik didih etanol sebesar 78,3 °C (Chang dan Raymond, 2003), sedangkan titik didih aquades atau air yaitu 100 °C (Andarwulan dkk, 2011). Sehingga aquades tidak dapat teruapkan sempurna

pada proses pemisahan pelarut menggunakan *rotary evaporator*. Oleh karena itu, aquades yang tertinggal pada ekstrak terukur sebagai kadar air ekstrak mikroalga *Tetraselmis chuii*.

Total Flavonoid

Rerata total flavonoid ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan kombinasi rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 880,47 – 2929,33 mg QE/kg ekstrak. Grafik rerata total flavonoid ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Gambar 4.3.

Gambar 4.3 Grafik pengaruh perlakuan rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap total flavonoid ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa rasio aquades:etanol memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total flavonoid ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*, sedangkan rasio bahan:pelarut dan interaksi keduanya tidak memberikan pengaruh nyata. Rerata rendemen ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* akibat perlakuan rasio aquades:etanol dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Pengaruh rasio aquades:etanol terhadap rerata total flavonoid ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Rasio	Rerata Total Flavonoid (mg QE/kg ekstrak)	BNT ($\alpha = 0,05$)
Aquades:Etanol		
2:8	2316,26±531,11 a	518,98
3:7	1096,60±190,03 b	
4:6	909,36±30,86 b	

*Keterangan: angka yang didampingi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5%

Proses ekstraksi mikroalga *Tetraselmis chuii* menggunakan variasi rasio aquades dengan etanol. Aquades memiliki konstanta dielektrikum sebesar 80 F/m, sedangkan etanol memiliki konstanta dielektrikum sebesar 7 F/m (Armstrong, 1999). Dimana derajat kepolaran bergantung pada konstanta dielektrikum. Makin besar konstanta dielektrikum maka akan semakin polar pelarut tersebut. Sebaliknya, semakin rendah konstanta dielektrikum maka pelarut tersebut kepolarannya akan turun (Saputra dkk., 2013).

Senyawa golongan flavonoid terdapat pada hampir seluruh tanaman hijau. Mikroalga

Tetraselmis chuii merupakan jenis tanaman hijau karena ia memiliki pigmen klorofil dan termasuk dalam alga hijau (*chlorophyceae*). Flavonoid merupakan golongan fitokimia yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (gula) sehingga flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar dan larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, air, dan lain-lain (Melodita, 2011).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etil asetat, atau campuran dari pelarut tersebut dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Rijke, 2005).

Total flavonoid yang diekstrak dengan rasio aquades lebih besar memiliki kadar yang lebih rendah. Diduga dengan pelarut yang memiliki rasio aquades lebih besar dapat membuat pelarut tersebut semakin polar. Dengan adanya penambahan aquades lebih banyak, maka campuran pelarut tersebut semakin polar. Sehingga komponen lainnya yang bersifat polar juga ikut terekstrak dan menyebabkan total flavonoid per berat sampel menjadi rendah (Septiana dan Ari, 2012).

Total Fenol

Rerata total fenol ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan kombinasi rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 266,20 – 636,07 mg GAE/kg ekstrak. Grafik rerata total fenol ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Gambar 4.4

Gambar 4.4 Grafik pengaruh perlakuan rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap total fenol ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total fenol ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* tetapi interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata. Rerata total fenol ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* akibat perlakuan rasio aquades:etanol dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan akibat perlakuan rasio bahan:pelarut dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.4 Pengaruh rasio aquades:etanol terhadap rerata

Rasio	Rerata	BNT
Aquades:Etanol	Total Fenol (mg GAE/kg ekstrak)	($\alpha = 0,05$)
2:8	562,78±82,56 a	82,61
3:7	364,78±119,95 b	
4:6	303,63±32,50 b	

*Keterangan: angka yang didampingi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5%

Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi didasarkan pada senyawa target yang diinginkan. Pelarut yang bersifat polar akan melarutkan komponen yang bersifat polar, sementara pelarut non polar akan melarutkan komponen senyawa yang bersifat non polar. Hal ini sesuai dengan prinsip pelarutan suatu zat "like dissolve like".Kepolaran suatu pelarut dapat ditentukan berdasarkan sifat kimia yakni tetapan dielektrik. Tetapan dielektrik merupakan ukuran kepolaran suatu pelarut. Pelarut yang mempunyai konstanta dielektrik yang besar akan lebih melarutkan senyawa polar, sebaliknya pelarut dengan konstanta dielektrik yang kecil akan melarutkan senyawa yang non polar (Cotton *et al.*, 2006).

Total fenol yang diekstrak dengan rasio etanol lebih besar memiliki kadar yang lebih tinggi. Hal ini diduga karena senyawa fenol pada mikroalga laut *Tetraselmis chuii* bersifat semipolar sehingga lebih mudah terekstrak dengan menggunakan pelarut etanol yang bersifat semipolar. Pada penelitian sebelumnya, pada umumnya senyawa fenolik lebih mudah diekstrak oleh pelarut organik

yang bersifat semipolar, salah satunya adalah etanol (Septiana dkk, 2002).

Dengan ditambahkan aquades lebih banyak, maka tingkat kepolaran pelarut tersebut meningkat. Sehingga komponen yang bersifat polar seperti karbohidrat ikut terekstrak dan menyebabkan total fenol per berat sampel menjadi rendah (Septiana dan Ari, 2012).

Tabel 4.5 Pengaruh rasio bahan:pelarut terhadap rerata total fenol ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Rasio	Rerata	BNT
Bahan:Pelarut	Total Fenol (mg GAE/kg ekstrak)	($\alpha = 0,05$)
1:3	488,00±156,26 a	82,61
1:6	397,61±157,57 b	
1:9	345,58±111,72 b	

*Keterangan: angka yang didampingi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5%

Pada pelarut dengan kombinasi antara etanol dan aquades yang masing-masing memiliki titik didih yang berbeda. Dimana titik didih etanol sebesar 78,3 °C (Chan dan Raymond, 2003) lebih rendah daripada titik didih aquades yaitu 100 °C (Andarwulan dkk., 2011). Rasio pelarut yang lebih kecil dimungkinkan dapat teruapkan sempurna pada saat proses pemisahan pelarut. Tetapi tidak terjadi pada rasio pelarut yang lebih besar. Dimungkinkan masih terdapat aquades atau air di dalam hasil ekstrak mikroalga tersebut yang dapat mengakibatkan terjadinya hidrolisis senyawa fenol. Sehingga tidak teranalisis sebagai senyawa fenol. Maka dari itu, semakin tinggi rasio pelarut, semakin rendah total fenol.

Total Klorofil

Rerata total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan kombinasi rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 4,71 – 21,73 mg/g. Grafik rerata total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Gambar 4.6 Grafik pengaruh perlakuan rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa rasio aquades:etanol memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*, sedangkan rasio bahan:pelarut dan interaksi keduanya tidak memberikan pengaruh nyata. Rerata total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* akibat perlakuan rasio aquades:etanol dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Pengaruh rasio aquades:etanol terhadap rerata total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Rasio	Rerata	BNT
Aquades:Etanol	Total Klorofil	($\alpha =$
	(mg/g)	0,05)
2:8	20,30 \pm 1,84 a	4,75
3:7	10,89 \pm 3,23 b	
4:6	6,38 \pm 1,81 b	

*Keterangan: angka yang didampingi huruf yang berbeda berarti berbeda nyata pada uji BNT 5%

Dari Tabel 4.6 dapat ditunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata antara rasio

aquades:etanol terhadap total klorofil ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*. Total klorofil paling tinggi didapatkan dengan diekstrak menggunakan konsentrasi pelarut yang paling tinggi pula. Karena senyawa klorofil (zat warna hijau) cenderung bersifat non polar. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstraksi pigmen non polar menghasilkan ekstrak berwarna hijau terang (Septiana dkk., 2002). Semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarut yang digunakan (Sedjati, 2012). Sehingga pada akhirnya dapat meningkatkan kemampuan pelarut dalam mengekstrak klorofil yang juga bersifat kurang polar.

Aktivitas Antioksidan

Rerata aktivitas antioksidan ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan kombinasi rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut berkisar antara 16,04 – 28,45 %. Grafik rerata aktivitas antioksidan ekstrak mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Gambar 4.7.

Gambar 4.7 Grafik pengaruh perlakuan rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut tidak memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kasar mikroalga *Tetraselmis chuii*.

Pada penelitian ini, perlakuan yang diberikan menunjukkan adanya beda nyata terhadap senyawa bioaktif berupa total flavonoid, fenol, dan klorofil. Tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap parameter aktivitas antioksidan. Hal ini kemungkinan senyawa bioaktif yang terekstrak mengandung campuran senyawa kompleks yang polaritas, sifat antioksidan, dan prooksidannya berbeda. Sehingga menyebabkan adanya perubahan aktivitas oleh sinergis dan antagonis antara senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak mikroalga *Tetraselmis chuii*. Dimungkinkan pula adanya senyawa bioaktif lainnya yang tidak teranalisis tapi berperan juga sebagai antioksidan. Mikroalga *Tetraselmis chuii* ini juga mengandung senyawa alkaloid (Sani, 2014).

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin, dan stiknin adalah alkaloid yang terkenal dan mempunyai efek fisiologis dan psikologis. Pada umumnya alkaloid hanya larut dalam pelarut organik meskipun beberapa ada yang larut dalam air. Kebebasan alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen (Shadmani *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor rasio aquades dengan etanol terhadap ekstraksi mikroalga *Tetraselmis chuii* berpengaruh nyata terhadap

rendemen, total flavonoid, total fenol, dan total klorofil. Sedangkan faktor rasio bahan dengan pelarut terhadap ekstraksi mikroalga *Tetraselmis chuii* berpengaruh nyata terhadap total fenol. Interaksi antara faktor rasio aquades:etanol dan rasio bahan:pelarut memberikan pengaruh nyata terhadap kadar air. Faktor rasio aquades dengan etanol dan rasio bahan dengan pelarut tidak memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Kusnandar, F. dan Herawati, D. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat. Jakarta
- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Washington DC. USA
- Armstrong, S. D. 1999. Microwave-Assisted Extraction for the Isolation of Trace Systemic Fungicides from Woody Plant Material. Doctor of Philosophy In Chemistry Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia
- Atanassova M., Georgieva S., dan Ivancheva K. 2011. Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity and Biological Contaminants in Medical Herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46 (1) : 81-88
- Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., and Dunstan, G.A. 1997. Nutritional Properties of Microalgae of Mariculture. *Aquaculture*, 151, hal 315-331
- Chang, Raymond. 2003. Kimia Dasar : Konsep-Konsep Inti. Erlangga. Jakarta
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, Vol. 25, hal. 294-306
- Cotton, F. Albert dan Geoffrey Wilkinson. 2006. Kimia Anorganik Dasar. UI Pres. Universitas Indonesia
- George C., Brat P., Alter P., dan Amiot MJ. 2005. Rapid Determination of Polyphenol and Vitamin C in Plant Derived Product. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 53 : 1370-1373
- Hermani, MR. 2004. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Penebar Swadaya. Bogor
- Kusuma, D.A. 2012. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba pada Mikroalga *Tetraselmis chuii* Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE), Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, dan Alkaloida. FMIPA Universitas Sumatera Utara. Medan
- Melodita, R. 2011. Identifikasi Pendahuluan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hitam dengan Perlakuan Jenis Pelarut. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Rijke, E. 2005. Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application in Plants of The Leguminosae Family. Disertasi. Universitas Amsterdam. Amsterdam
- Rivai, H., Nurdin, H., Suryani, H dan Bakhtiar, A. 2008. Pengaruh Perbandingan Etanol-Air Sebagai Pelarut Ekstraksi Terhadap Perolehan Ekstraktif Kadar Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol. 13, No. 2, 2008, halaman 78-85
- Sanchez, S., Gassan H., Martinez, E. 2007. Use of Industrial Wastewater from Olive-Oil Extraction for biomass Production of *Seenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology* 99 (1111-1117)
- Sani R.N., 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 2 No. 2 p. 121-126
- Saputra, I., Prihandini, G., Zullaikah, S. dan Rachimoellah, M. 2013. Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Daun *Moringa oleifera*. *JURNAL TEKNIK POMITS Vol. 2, No. 1* (2013) ISSN-2337-3539(2301-9271 Print)
- Sedjati, S. 2012. Profil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut *Spirulina* sp. Dan Potensinya sebagai

- Pewarna Alami. *Ilmu Kelautan* September 2012. Vol. 17 (3):176-181
- Septiana, A. T, D. Muchtadi, dan F. R. Zakaria. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe pada Asam Linoleat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XIII (2) : 105-110
- Septiana, A. T. dan Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fitokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *AGROINTEK* Volume 6, No. 1 Maret 2012
- Shadmani, A., Azhar, I., Mazhar, F., Hassan, M. M., Ahmed, S. W., Ahmad, I., Usmanghani, K., and Shamin, S. 2004. Kinetic Studies On Zingiber Officinale. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 17, hal 47-54
- Sharma, O. P. and Bhat T. J. 2009. DPPH Antioxidant Assay Revisited. *Food Chemistry*, 113 : 1202-1205
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta : Lyberty
- Wati, Adhik dan Sylvia Anggraeni Motto. 2011. Ekstraksi Minyak dari Mikroalga Jenis *Chlorella sp* Berbantuan Ultrasonik. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Yuwono, S. S. dan Susanto. 1998. Pengujian Fisik Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Cotton, F. Albert dan Geoffrey Wilkinson. 2006. Kimia Anorganik Dasar. UI Pres. Universitas Indonesia
- George C., Brat P., Alter P., dan Amiot MJ. 2005. Rapid Determination of Polyphenol and Vitamin C in Plant Derived Product. *Journal of Agriculture, Food and Chemistry*. 53 : 1370-1373
- Hermani, MR. 2004. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Penebar Swadaya. Bogor
- Kusuma, D.A. 2012. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba pada Mikroalga *Tetraselmis chuii* Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE), Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, dan Alkaloida. FMIPA Universitas Sumatera Utara. Medan
- Melodita, R. 2011. Identifikasi Pendahuluan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hitam dengan Perlakuan Jenis Pelarut. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Rijke, E. 2005. Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates
- DAFTAR PUSTAKA**
- Andarwulan, N., Kusnandar, F. dan Herawati, D. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat. Jakarta
- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Washington DC. USA
- Armstrong, S. D. 1999. Microwave-Assisted Extraction for the Isolation of Trace Systemic Fungicides from Woody Plant Material. Doctor of Philosophy In Chemistry Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia
- Atanassova M., Georgieva S., dan Ivancheva K. 2011. Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity and Biological Contaminants in Medical Herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46 (1) : 81-88
- Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., and Dunstan, G.A. 1997. Nutritional Properties of Microalgae of Mariculture. *Aquaculture*, 151, hal 315-331
- Chang, Raymond. 2003. Kimia Dasar : Konsep-Konsep Inti. Erlangga. Jakarta
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, Vol. 25, hal. 294-306

- Application in Plants of The Leguminosae Family. Disertasi. Universitas Amsterdam. Amsterdam
- Rivai, H., Nurdin, H., Suryani, H dan Bakhtiar, A. 2008. Pengaruh Perbandingan Etanol-Air Sebagai Pelarut Ekstraksi Terhadap Perolehan Ekstraktif Kadar Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol. 13, No. 2, 2008, halaman 78-85
- Sanchez, S., Gassan H., Martinez, E. 2007. Use of Industrial Wastewater from Olive-Oil Extraction for biomass Production of *Seenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology* 99 (1111-1117)
- Sani R.N., 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 2 No. 2 p. 121-126
- Saputra, I., Prihandini, G., Zullaikah, S. dan Rachimoellah, M. 2013. Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Daun *Moringa oleifera*. *JURNAL TEKNIK POMITS Vol. 2, No. 1 (2013) ISSN-2337-3539(2301-9271 Print)*
- Sedjati, S. 2012. Profil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut *Spirulina* sp. Dan Potensinya sebagai Pewarna Alami. *Ilmu Kelautan* September 2012. Vol. 17 (3):176-181
- Septiana, A. T, D. Muchtadi, dan F. R. Zakaria. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe pada Asam Linoleat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XIII (2) : 105-110*
- Septiana, A. T. dan Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fitokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *AGROINTEK Volume 6, No. 1 Maret 2012*
- Shadmani, A., Azhar, I., Mazhar, F., Hassan, M. M., Ahmed, S. W., Ahmad, I., Usmanghani, K., and Shamin, S. 2004. Kinetic Studies On Zingiber Officinale. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 17, hal 47-54
- Sharma, O. P. and Bhat T. J. 2009. DPPH Antioxidant Assay Revisited. *Food Chemistry*, 113 : 1202-1205
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Yogyakarta : Lyberty
- Wati, Adhik dan Sylvia Anggraeni Motto. 2011. Ekstraksi Minyak dari Mikroalga Jenis *Chlorella sp* Berbantuan Ultrasonik. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Yuwono, S. S. dan Susanto. 1998. Pengujian Fisik Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang