



Review Artikel

Metode Isolasi Metabolit Sekunder pada Bahan Bahari Makro Alga

Vina Luthfiana Hasna^{1*}, Nisa Alifia Zahra¹, Imel Ramelia Hudaya¹, Herdiana Verliani¹, Febi Febriani Hasanah¹

*email korespondensi: vinahasna7@gmail.com

¹Universitas Singaperbangsa Karawang

Abstrak

Indonesia merupakan negara yang kaya akan biota laut, salah satunya adalah makro alga. Pembuatan review artikel ini dilakukan untuk menambah pengetahuan tentang ilmu bahari khususnya dalam isolasi metabolit sekunder pada makro alga. Kelompok makro alga atau lebih dikenal dengan sebutan rumput laut merupakan tumbuhan tingkat rendah yang memproduksi senyawa metabolit sekunder. Isolasi pada makro alga menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung (flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, fenol, saponin). Metode yang digunakan pada review ini merupakan suatu tinjauan literatur (literatur review) terhadap lima jurnal dan berdasarkan teori-teori yang relevan. Adapun untuk mendapatkan ekstrak sampel dilakukan teknik yang sama yaitu maserasi menggunakan pelarut yang sesuai karakteristik zat yang akan diisolasi selama 1-3 hari. Sedangkan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder digunakan teknik kromatografi kolom, kromatografi gas-spektometri massa (GC-MS) dan kromatografi lapis tipis (KLT).

Kata kunci: makro alga, isolasi metabolit sekunder, bahan bahari.

Methods for Isolation of Secondary Metabolites in Marine Macro Algae

Abstract

Indonesia is a country rich in marine life, one of which is macroalgae. This review article was made to increase knowledge about marine science, especially in the isolation of secondary metabolites in macroalgae. The macro group of algae or better known as seaweed is a low-level plant that produces secondary metabolites. Isolation of macroalgae showed the presence of secondary metabolites contained (flavonoids, steroids, terpenoids, alkaloids, phenols, saponins). The method used in this review is a literature review of five journals and is based on relevant theories. As for getting the sample extract, the same technique was used, namely maceration using a solvent that matched the characteristics of the substance to be isolated for 1-3 days. Meanwhile, to isolate secondary metabolites, column chromatography, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and thin layer chromatography (TLC) were used.

Keywords: macroalgae, isolation of secondary metabolites, marine materials.

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai negara maritim dimana memiliki kekayaan bahari yang melimpah. Bahan bahari memiliki arti segala sesuatu bahan yang berasal dari laut. Potensi bahan bahari yang dapat dimanfaatkan dalam dunia farmasi dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok flora (makro alga, mikro alga dan tumbuhan pesisir), kelompok fauna, dan kelompok karang lunak.¹

Algae atau ganggang laut merupakan kelompok bahan bahari yang memiliki potensial bagi pengembangan bidang farmasi. Algae terdiri atas makro alga (rumput laut) dan mikro alga. Secara umum makro alga terdiri atas 3 divisi yaitu Chlorophyta, Rhodophyta, dan Phaeophyceae.² Masyarakat Indonesia yang berada di sekitar pantai telah menggunakan rumput laut sebagai bahan makanan dan keperluan pengobatan. Jenis makroalga yang sering digunakan untuk keperluan pengobatan antara lain; *Hypnea cervicornis*, *Eucheuma cottonii*, *silpau*, dan *Halimeda gracilis*.

Hypnea cervicornis adalah makro alga dalam kelas Rhodophyta (alga merah) yang tersebar luas di samudera Atlantik, Karibia,

Hindia dan Pasifik. Umumnya berwarna hijau kekuningan tetapi tampak merah tua ketika diarsir dan sebagian besar tetap menempel pada batu atau pada alga lain. *Hypnea cervicornis* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa glikosida dan alkaloid.³

Sama seperti *Hypnea cervicornis*, *Eucheuma cottonii* juga merupakan makro alga yang termasuk dalam kelas Rhodophyta (alga merah). *Eucheuma cottonii* memiliki ciri-ciri kerangka tubuh tanaman bulat silindris atau gepeng, berwarna merah, merah coklat, hijau kuning, bercabang tidak teratur, memiliki benjolan-benjolan (*blunt nodule*) serta duri-duri atau *spines*, dan substansi tanus gelatanus dan/atau kartilagenus lunak seperti tulang rawan.⁴ *Eucheuma cottonii* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa steroid dan triterpenoid.

Silpau merupakan salah satu jenis Chlorophyta (alga hijau) yang hidup menempel pada substrat batu karang dan tidak tergolong sebagai tumbuhan musiman, sehingga tersedia setiap saat. Silpau memiliki tekstur agak keras dan hidup berkoloni. Silpau ketika muda berbentuk bulat, agak padat, dan berbentuk rata ketika matang.

Silpau mengandung senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid.

Halimeda gracilis termasuk ke dalam jenis Chlorophyta (alga hijau) yang memiliki panjang hingga 24 cm, berwarna hijau dalam kondisi segar dan keabu-abuan dalam kondisi kering. Tubuhnya dilengkapi hold fast bertingkat dan segmen sub silindris. Setiap segmen dapat mencapai panjang 11 mm dan lebar 18 mm. *Halimeda gracilis* mengandung saponin steroid β -sitosterol.

Metode

Metode yang digunakan pada review ini merupakan suatu tinjauan literatur (literatur review) terhadap jurnal nasional maupun jurnal internasional 10 tahun terakhir serta didukung oleh teori-teori yang relevan.

Hasil

Isolasi senyawa metabolit sekunder pada beberapa macam alga yang dibahas pada jurnal ini secara umum dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi, partisi dan untuk memisahkan dan mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang lebih murni dapat dilakukan isolasi dengan menggunakan kromatografi kolom. Tahapan isolasi metabolit sekunder dari masing-masing jenis alga dapat di lihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 dibawah ini.

Tabel 1. Tahapan preparasi sampel, ekstraksi, dan skrinning fitokimia

Spesies	Preparasi Sampel	Ekstraksi	Skrinning Fitokimia
<i>Eucheuma cottonii</i>	Pencucian, pengeringan dengan cara diangin-anginkan dan di oven pada suhu 38°C selama 24 jam. ^{5,6}	Menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. ^{5,6}	Uji steroid dan triterpenoid menggunakan reagen Liberman Burchard. ^{5,6}
<i>Dictyosphaeria Versluysii</i>	Pencucian, pengeringan dengan cara diangin-anginkan. ⁷	Menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. ⁷	Uji alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, fenol, dan saponin. ⁷
<i>Hypnea cervicornis</i>	Pencucian, pengeringan selama 3 hari. ⁸	Menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. ⁸	Uji glikosida dengan reagen Keller Kiliani dan uji alkaloid dengan reagen Glikosida. ⁸
<i>Halimeda gracilis</i>	Pencucian, dan pengeringan dengan freeze dry. ^{9,10}	Menggunakan metode maserasi dengan n-heksan, kemudian residu dikeringkan dan dilanjutkan dengan maserasi dengan pelarut etil asetat dan methanol. ¹⁰	Uji alkaloid, fenol, saponin, tanin, steroid, flavonoid dan asam amino merujuk pada Harborne. ⁹

Tabel 2. Tahapan partisi dan isolasi metabolit sekunder

Spesies	Partisi	Isolasi Metabolit Sekunder
<i>Eucheuma cottonii</i>	Ekstrak <i>Eucheuma cottonii</i> dihidrolisis terlebih dahulu dengan cara menambah HCL 2 N, lalu ditambahkan dengan NaHCO ₃ lalu dipartisi dengan petroleum eter : metanol (50:50). ⁶	Menggunakan metode kromatografi kolom basah dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak n-heksana : etil asetat (4,25:0,25). ⁶
<i>Dictyosphaeria versluysii</i>	Partisi dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. ⁷	Menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dan fase gerak perbandingan n-heksan : etil asetat (50:1 - 1:1). ⁷
<i>Hypnea cervicornis</i>	Fase gerak untuk glikosida yaitu campuran toluene : metanol : asam asetat : air (7:4:3:1) dengan fase diam silika gel, dielusi dan ditempatkan di iodine chamber. Fase gerak untuk alkaloid campuran butanol : asam cuka : air (4:1:3) dengan fase diam silika gel, dielusi lalu plat KLT disemprot reagen dragendroff. ⁸	Menggunakan metode kromatografi kolom lalu dianalisis dengan GC-MS (Kromatografi Gas-Spektrometri Massa). Fase gerak untuk glikosida yaitu Toluena : metanol : asam asetat glasial : air (35:20:15:10) dan untuk alkaloid yaitu butanol : asam asetat : air (40:10:30). ⁸
<i>Halimeda gracilis</i>	Menggunakan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat dan air dengan perbandingan 1:1 (v/v) menggunakan corong pisah. ⁹	Menggunakan metode Kromatografi Kolom Gravitasi dan dianalisis dengan KLT. Fase diam berupa silika gel 60 dan fase gerak untuk ekstrak n-heksan yaitu n-heksan, n-heksan : etil asetat (9:1 - 6:4), dan methanol, sedangkan untuk ekstrak etil asetat menggunakan fase gerak n-heksan, n-heksan : etil asetat (9:1 - 1:9), dan methanol. ¹⁰

Pembahasan

Isolasi senyawa metabolit sekunder merupakan proses pemurnian suatu senyawa yang telah melewati beberapa tahap pemisahan sehingga didapatkan senyawa tunggal yang murni. Bahan alam yang akan diisolasi tak akan langsung bisa diidentifikasi senyawa tunggal murni jika tidak melewati tahapan-tahapan sebelumnya. Tahapan tersebut meliputi proses preparasi sampel (simplisia), ekstraksi, fraksinasi, isolasi, dan identifikasi senyawa kimia. Isolasi metabolit sekunder pada tanaman biasa dengan bahan bahari tampaknya sedikit berbeda, seperti dalam proses pengeringan, pengurangan kadar garam, dan sebagainya.

Tahap pertama yang sering dilakukan saat mengisolasi senyawa metabolit sekunder pada bahan bahari adalah preparasi sampel. Kandungan air yang tinggi pada produk bahari dapat mengganggu proses analisis sampel, untuk itu preparasi sampel dilakukan dengan tujuan mengurangi kadar air dalam sampel serta menghilangkan zat pengotor lain yang dapat mengganggu proses analisis. Preparasi sampel makro alga dilakukan dengan cara mengambil makro alga dan

dicuci dengan air mengalir, disaring, kemudian dikeringkan. Selain pengeringan dengan cara diangin-anginkan dan pengeringan menggunakan oven, pada proses pengeringan bahan bahari dapat digunakan metode pengeringan lainnya contohnya yaitu *freeze dry* yang memiliki keunggulan dalam menjaga stabilitas sampel pada proses pengeringan dan tidak menimbulkan perubahan warna pada sampel secara signifikan. Sampel yang sudah kering dihaluskan hingga membentuk serbuk.

Setelah itu, dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu senyawa dalam campuran larutan atau padatan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pembuatan ekstrak sampel makro alga dilakukan menggunakan metode yang sesuai dengan senyawa yang ingin diisolasi. Selanjutnya, dilakukan skrinning fitokimia dengan melakukan uji kualitatif fitokimia (bisa juga tidak dilakukan). Suatu ekstrak dapat ditentukan golongan senyawanya dengan mengamati perubahan warna ataupun ada atau tidaknya endapan setelah ditambahkan pereaksi yang spesifik untuk uji kualitatif.

Selanjutnya dilakukan tahap partisi. Partisi ekstrak merupakan suatu usaha yang dilakukan untuk memisahkan komponen kimia dari ekstrak menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya. Tujuan dari dilakukannya partisi adalah untuk memisahkan komponen kimia dari ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran yang selanjutnya ekstrak akan digunakan pada proses kromatografi.

Setelah dilakukan preparasi sampel sampai partisi, barulah bahan bahari dapat dilakukan isolasi. Pada isolasi, teknik yang banyak digunakan adalah kromatografi. Kromatografi merupakan teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam suatu medium tertentu. Komponen-komponen pada proses kromatografi akan dipisahkan antara dua buah fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal. Sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat. Beberapa Teknik kromatografi yang banyak digunakan antara lain kromatografi lapis tipis

(KLT), kromatografi kolom vakum (KCV), dan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

Pada proses isolasi steroid dan triterpenoid *Eucheuma cottonii* (tabel 2), dilakukan dengan metode kromatografi kolom basah dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak berupa n-heksana : etil asetat (4,25:0,25). Bubur silika dibuat terlebih dahulu dengan cara merendam silika sebanyak 10 gram dengan eluen kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan didiamkan selama 24 jam. Kemudian, sebanyak 0,1 g sampel dimasukkan dalam kolom. Kemudian identifikasi fraksi dilakukan dalam monitoring hasil isolasi kromatografi kolom menggunakan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA). Pada proses KLTA, fase diam yang digunakan adalah plat silika gel GF254 dan eluen sebagai fase gerak berupa pelarut campuran n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 4,25:0,75.

Pada proses isolasi dan pemurnian metabolit sekunder dari Rumput Laut *Hypnea cervicornis* dengan kromatografi kolom, fase diam atau adsorben yang digunakan adalah silika gel (100-200 mesh). Sedangkan untuk fase gerak atau eluen yang digunakan di

antaranya adalah campuran toluene : methanol : asam asetat glasial : air dengan perbandingan 35:20:15:10 untuk isolasi glikosida dan campuran butanol: asam asetat: air dengan perbandingan 40:10:30 untuk isolasi alkaloid. Fraksi yang dihasilkan dimonitori dengan KLT. Untuk memperjelas hasil fraksi glikosida, dilakukan tes dengan menggunakan tes Keller-Killiani yang akan menghasilkan warna coklat kemerahan dan untuk memperjelas hasil fraksi Alkaloid dilakukan tes dengan menggunakan tes dengan reagen dragendorff yang akan menghasilkan warna orange kemerahan. Fraksi lalu disimpan dan akan digunakan untuk proses identifikasi dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS).

Proses isolasi senyawa metabolit sekunder dari Rumput Laut *Halimeda gracillis* yang dilakukan oleh Muhammad H *et.al* 2017, dilakukan terhadap 2 ekstrak yaitu ekstrak kasar n-Heksan dan etil asetat yang keduanya berpotensi mengandung metabolit sekunder. Masing-masing ekstrak kasar n-heksan dan etil asetat dari *H. gracillis* diambil sebanyak 3 gram kemudian dipisahkan dan dimurnikan dengan KKG. Hasil vial

dianalisis dengan KLT dan diperoleh fraksi-fraksi. Jika hasil fraksi belum murni maka proses KKG diulangi kembali.

Simpulan

Isolasi senyawa metabolit sekunder pada beberapa macam alga yang dibahas secara umum dilakukan tahapan preparasi sampel berupa pengeringan untuk mengurangi kadar air pada bahan bahari dan perubahan bentuk sampel menjadi serbuk. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan fase gerak yang berbeda sesuai dengan kepolaran senyawa yang ingin kita isolasi. Setelah itu dilakukan partisi, terakhir dilakukan proses isolasi dengan kromatografi kolom yang dapat dianalisis oleh KLT atau GC-MS.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu apt. Lely Sulfiani Saula, M.Si. selaku dosen mata kuliah fitokimia yang telah memberikan ilmu dan masukan terhadap pembuatan review artikel ini.

Pendanaan

Review artikel ini tidak didanai oleh pihak manapun.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan suatu organisasi, kepenulisan dan/atau publikasi artikel ini baik dalam segi finansial maupun non finansial.

Daftar Pustaka

1. Moelyono Farmasi Bahari. Yogyakarta: Deepublish;2016.
2. Meriam, W. P. M., Kepel, R. C. & Lumingas, L. J. L. Inventarisasi Makroalga di Perairan Pesisir Pulau Mantehage Kecamatan Wori, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 2016;4(2):84-108.
3. Istifada, D. S., Saptarini, N. M. *Review: Aktivitas Bioaktif Alga Merah (Rhodophyta) sebagai Antimikroba. Farmaka*. 2018;16(1):367-373.
4. Cokrowati, N. et al. Eksplorasi dan Penangkaran Bibit Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) di Perairan Teluk Ekas Lombok Timur. *Jurnal Biologi Tropis*. 2019;19(1):51-53.
5. Madjid, A.D.R., Rahmawati, D.A., Fasya, A.G. Variasi Komposisi Eluen pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *Journal of Chemistry*. 2020;8(1):35-40.
6. Fasya, A.G., et.al. Variasi Diameter Kolom dan Rasio Sampel-Silika pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Eucheuma cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *Journal of Chemistry*. 2018;6(2):57-64.
7. Radiena, M. S. Y. & Dompeipen, E. J. Identifikasi Senyawa AKtif Triterpenoid dari Ekstrak Alga Laut Hijau Silpau (*Dictyosphaeria versluisii*) dengan Spektrofotometer FTIR. *Majalah BIAM*. 2019;15(01):33-40.
8. Laela, K., Anchana, D.C. Isolation, Purification and Application of Secondary Metabolites from Seaweed *Hypnea cervicornis*. *IJAR*. 2017;5(10):380-395.
9. Basir, A., Tarman, K. & Desniar. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Alga Hijau *Halimeda gracilis* dari Kabupaten Kepulauan Seribu. *JPHPI*. 2017;20(2):211-218.
10. Hendri, M., et.al. The Isolation of Metabolite Compounds from Seaweed (*Halimeda gracilis*) in the Waters of Teluk Lampung as a Source of Antibacterial Compounds. *International Journal of Marine Science*. 2017;7(31):297-307