

# **EKSTRAKSI ALKALOID KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

## **MODUL KARYA TEKNOLOGI**



Penyusun :

**Yuvianti Dwi Franyoto, M.Sc., Apt.**

**Mutmainah, M.Sc., Apt**

**Lia Kusmita, M.Si.**

**Ahmad Fuad Masduqi M.Si.**

**SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI  
“YAYASAN PHARMASI SEMARANG”**

# EKSTRAKSI ALKALOID KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

## 1. Latar Belakang

Lautan menawarkan keanekaragaman hayati besar flora dan fauna yang diperkirakan lebih dari 500.000 spesies lebih dari dua kali lipat spesies daratan (Kamboj VP. 1999). Keanekaragaman organisme laut yang kaya ini mengasumsikan peluang besar untuk penemuan zat bioaktif baru. Produk alami laut yang diisolasi dari bivalvia telah diselidiki terutama untuk sifat antioksidan, antimikroba, sitotoksik, anti tumor dan anti inflamatory (Tadesse dkk, 2008; Zhou dkk, 2011; Defer dkk, 2009).

Alkaloid adalah senyawa kimia alami yang mengandung atom nitrogen dasar. Alkaloid diproduksi oleh berbagai macam organisme, termasuk bakteri, jamur, tanaman, dan hewan. Banyak alkaloid sering memiliki efek farmakologis dan digunakan sebagai obat. Banyak penelitian menunjukkan bahwa alkaloid memiliki banyak jenis aktivitas biologis, seperti anti-mikroba, antioksidan, anti-kanker, anti-inflamasi, dan aktivitas anti-virus (Yan, dkk 2008; Zhou, dkk, 2005).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat dalam reaksi rantai (Halliwell, 2008; Leong dan Shui, 2002). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Antioksidan non-enzimatik contohnya karotenoid, alkaloid, flavonoid dan polifenol (Ansari dkk, 2013).

Spesies oksigen radikal dan reaktif bebas dikenal sebagai penginduksi patogenesis seluler dan jaringan yang menyebabkan beberapa penyakit seperti diabetes, kanker, peradangan dan juga kardiovaskular. Reaksi radikal bebas terjadi di tubuh manusia dan sistem makanan dapat menyebabkan cedera dan kematian. Radikal bebas adalah salah satu faktor utama yang

diperlukan untuk menyebabkan mutasi DNA, yang terlibat dalam tahap inisiasi karsinogenesis (Johnson, 2007).

## 2. Tinjauan

### 2.1. Kerang Hijau

Kerang hijau (*Perna viridis*) termasuk binatang lunak (Moluska) yang hidup di laut terutama pada daerah litoral, memiliki sepasang cangkang (bivalvia), berwarna hijau agak kebiruan. Insangnya berlapis-lapis (Lamelii branchia) dan berkaki kapak (Pelecypoda) serta memiliki benang byssus.

Kerang hijau (*Perna viridis*) atau dikenal sebagai "green mussels" adalah jenis yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Tersebar luas di perairan Indonesia dan ditemukan melimpah pada perairan pesisir, daerah mangrove dan muara sungai. Di Indonesia jenis ini ditemukan melimpah pada bulan Maret hingga Juli pada areal pasang surut dan subtidal, hidup bergerombol dan menempel kuat dengan menggunakan benang byssusnya pada benda benda keras seperti kayu, bambu, batu ataupun substrat yang keras



Gambar 1. Kerang hijau (*Perna viridis*)

### 2.2. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir lebih dari 5000 senyawa alkaloid yang ditemukan mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).

Alkaloid biasanya berbentuk garam organik dalam tumbuhan berbentuk padat dan berkristal serta kebanyakan tidak berwarna. Keberadaan alkaloid di dalam daun dan buah segar biasanya memberikan rasa pahit di lidah. Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan

berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, anti mikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Robinson,1995).

### 2.3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat proses reaksi oksidasi radikal bebas (Haila 1999; Chang *et al.* 2002), sehingga senyawa tersebut dapat berperan dalam mencegah timbulnya penyakit kanker, mencegah proses penuaan dini, dan mengurangi terjadinya penyakit degeneratif lainnya (Haila, 1999; Rahmat dkk., 2003; Rao, 2003; Lila, 2004; Zhao dkk., 2004). Salah satu penyebab timbulnya penyakit kanker adalah terjadinya mutasi sel yang diduga disebabkan oleh adanya radikal bebas. Karotenoid dapat bertindak sebagai antioksidan sehingga dapat melindungi sel-sel dan organisme dari kerusakan oksidatif.

### 2.4. Ekstraksi Alkaloid

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Dalam proses ekstraksi suatu bahan, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya : jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi.

Metode ekstraksi cair-cair secara asam basa digunakan dalam pengambilan senyawa alkaloid. Ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut (pelarut organik dan air) yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen yang larut pada fase pertama dan ada sebagian yang akan larut pada fase kedua. Selanjutnya kedua fase yang mengandung zat terdispersi dilakukan pengocokan beberapa kali dan didiamkan hingga terjadi pemisahan secara sempurna dan membentuk dua lapisan fase cair. Senyawa kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap.

Salah satu metode penarikan senyawa alkaloid adalah dengan disekat pada pH tertentu dengan menggunakan pelarut organik (Asas Keller). Prinsip dari metode ini yaitu alkaloida dalam sampel sebagai bentuk garam dari proses pengasaman yang akan dibebaskan dari ikatan

garam menjadi alkaloida bebas. Oleh karena itu ditambahkan dengan basa lain yang sifatnya lebih kuat dari pada basa alkaloid. Alkaloid yang bebas dapat diekstraksi menggunakan pelarut tertentu, misalnya menggunakan etil asetat. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstrak bahan menggunakan air yang telah diasamkan, proses pengasaman dilakukan dengan penambahan HCl. Hal tersebut bertujuan untuk menarik alkaloid dan membentuk garam alkaloid amina serta memperbesar kelarutan alkaloid didalam air. Alkaloid amina yang bereaksi dengan asam kuat akan membentuk garam alkilamonium. Jenis Reaksi ini digunakan untuk memisahkan amina dari zat netral maupun zat yang larut dalam air yang bersuasana asam. Garam alkaloid dari hasil pengasaman akan dibasakan dengan penambahan  $\text{NH}_4\text{OH}$ , sehingga garam alkaloid membentuk basa bebas alkaloid (Robinson, 1995).

### **3. Metode**

#### **3.1. Ekstraksi Alkaloid dari *Perna viridis***

Ekstraksi alkaloid dilakukan dengan cara maserasi / perendaman dengan cara daging kerang hijau ditimbang sebanyak 500 gram. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi secara maserasi menggunakan etanol dengan perbandingan 1:10. Proses ekstraksi dilakukan selama 24 jam kemudian disaring. Ekstrak etanol yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu  $50\text{ }^\circ\text{C}$  sampai diperoleh ekstrak pekat etanol.

Ekstrak pekat etanol yang diperoleh dilakukan pemisahan senyawa alkaloid dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair secara asam basa. Ekstrak pekat etanol yang telah didapatkan diasamkan dengan HCl 2,5% dan disaring. Lapisan asam dibasakan dengan penambahan  $\text{NH}_4\text{OH}$  hingga pH larutan mencapai 8. Kemudian diekstrak kembali menggunakan diklormetan (10ml). Hasil ekstraksi akan terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan basa dan lapisan diklormetan. Selanjutnya kedua lapisan dipisahkan. Lapisan basa yang diperoleh dilakukan replikasi sebanyak 3 kali menggunakan pelarut diklormetan. Lapisan diklormetan yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak alkaloid.

#### **3.2. Uji aktivitas antioksidan**

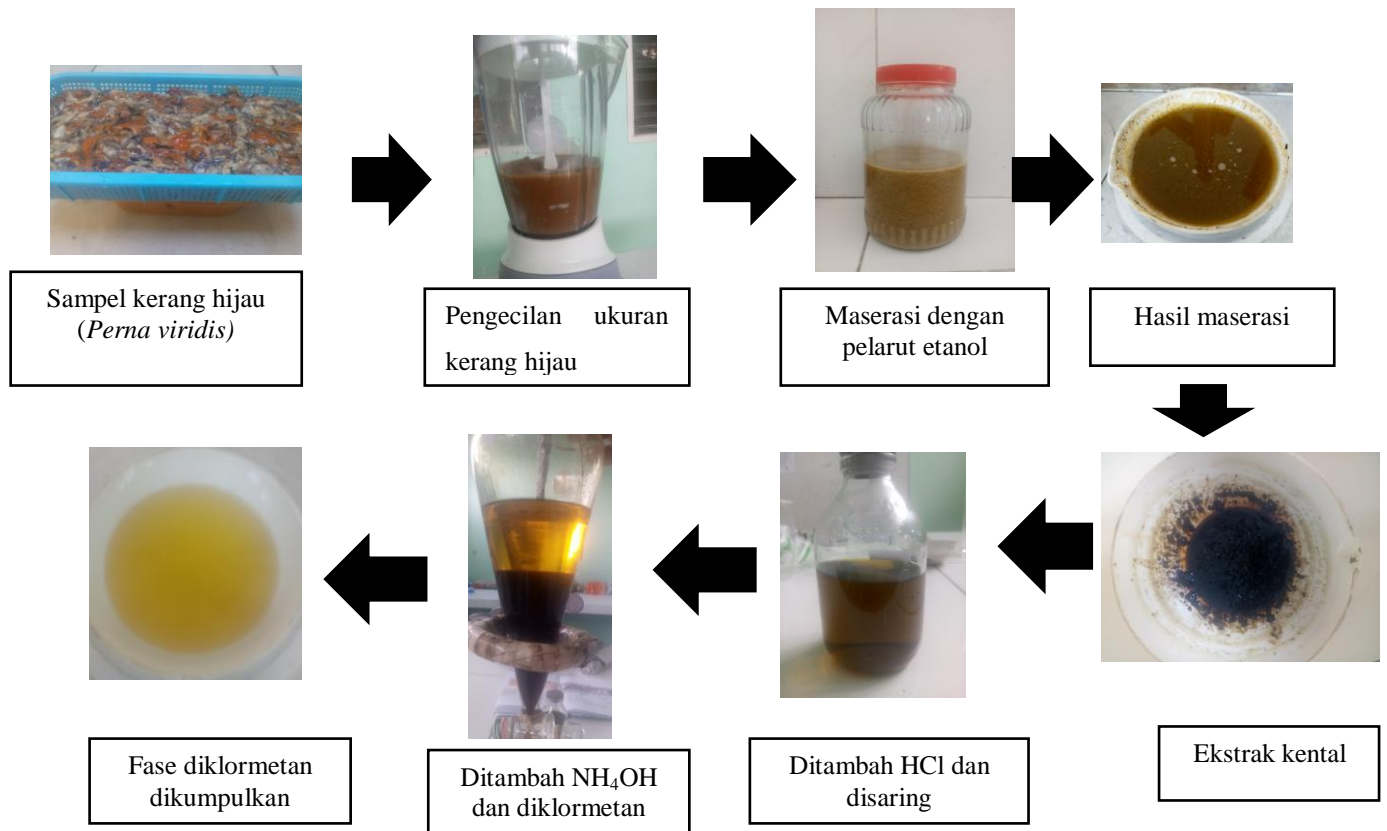
Pengujian dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH. Kemudian Divortex dan diinkubasi pada suhu 37° C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Brand Williams, 1995)

Aktivitas penghambatan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{[DPPH]_0 - [DPPH]_s}{[DPPH]_0} \times 100\%$$

#### 4. Hasil dan pembahasan

Berikut ini adalah gambar proses ekstraksi senyawa Alkaloid dari Kerang hijau:



**Gambar 2.** proses ekstraksi senyawa alkaloid kerang hijau (*Perna viridis*)

Isolasi alkaloid dilakukan dengan metode cair-cair secara asam – basa. Ekstrak ditambah HCl untuk membentuk garam alkaloid –Cl serta memperbesar kelarutan alkaloid dalam air. Garam alkaloid mudah larut dalam air, sehingga dapat dipisahkan dari komponen lainnya.

Garam alkaloid di basakan kembali dengan NH<sub>4</sub>OH dengan tujuan membentuk alkaloid basa bebas kembali. Alkaloid basa lebih larut dengan pelarut organik. Penambahan diklormetan bertujuan untuk menarik alkaloid bebas. Pelarut diklormetan kemudian dihilangkan, dan diperoleh ekstrak alkaloid dengan rendemen 9.71 %.

Antioksidan sangat penting peranannya bagi tubuh manusia untuk mempertahankan diri dari radikal bebas maupun prooksidan lainnya. Senyawa antioksidan berperan penting dalam mencegah berbagai penyakit kronis seperti penyakit jantung, kanker, stroke, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah seperti senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid vitamin C, vitamin E, dan karotenoid, serta kurkumin. Setiap senyawa antioksidan memiliki keunggulannya masing-masing dalam bekerja sebagai antioksidan.

Radikal DPPH merupakan senyawa radikal berwarna ungu dengan satu atom yang tidak berpasangan. Senyawa ini memiliki serapan pada panjang gelombang 515-517nm. Ketika radikal DPPH direduksi oleh antioksidan maka warna DPPH yang telah stabil akan berubah menjadi kuning dan menurunkan absorbansi larutan uji. Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH pada ekstrak alkaloid *Perna viridis* memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 90.17 µg/mL.

## 5. Kesimpulan

Ekstraksi alkaloid pada kerang hijau dilakukan dengan metode asam basa. Rendemen yang dihasilkan sebesar 9,71%. Hasil uji aktivitas antioksidan berupa IC<sub>50</sub> untuk ekstrak alkaloid *Perna viridis* sebesar 90.17 µg/mL.

## 6. Daftar Pustaka

- Ansari A.Q., Ahmed S.A., Waheed M.A., and Juded A.. 2013. Extraction and Determination of Antioxidant activity of *Withania Somnifera* Dunal. *Euro. J. Exp. Bio.* **3(5)** :502-507.
- Chang LW, Yen WJ, Huang SC, Duh P Der (2002) Antioxidant activity of sesame coat. *Food Chem* 78:347–354. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00119-X

- Defer, D., N. Bourgougnon, & Y. Fleury. 2009. Screening for antibacterial and antiviral activities in three bivalve and two gastropod marine molluscs. *J. Aquaculture*, **293**: 1-7.
- Haila K. 1999. *Effects of Carotenoids and Carotenoid- Tocopherol Interaction on Lipid Oxidation In Vitro*. University Of Helsinki, Departement Of Applied Chemistry and Microbiology Helsinki.
- Halliwell, B., 2008, *Arch. Biochem. Biophys.*, **476 (2)**, 107–112.
- Johnson, I.T., 2007, *Proc. Nutr. Soc.*, **66 (2)**, 207–215.
- Kamboj VP. 1999. *Bioactive agents from the Ocean bioat*. In: Ocean science Trena and Future Directions. Indian national Science Acadamy , New Delhi. 197-227
- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp. Jurnal. Medan: USU.
- Leong L.P dan Shui G, 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *FoodChemistry*, 76: 69–75
- Lila, M. A., 2004. Plant Pigments And Human Health. Davis/*Plant Pigments and Their Manipulation*. 248-274
- Rahmat, A., Kumar, V., Fong, L. M., Endrini, S. dan Sani, H. A. 2003. Determination of Total Antioxidant Activity in Three Types of Local Vegetables Shoots and The Cytotoxic Effect of Their Ethanolic Extracts Againsts Different Cancer Cell Lines. *Asia Pasific J Clin Nutr*, 12(3): 292-295
- Rao A., Rao L. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 55:1–331. doi: 10.1007/978-1-62703-203-2
- Robinson, T. 1995. Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Tadesse, M., B. Gulliksen, M.B. Strim, O.B. Styrvoid, & T. Haug. 2008. Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. *J. Invertebrate Pathology*, **99**: 286-293.
- Yan D, Jin C, Xiao XH, et al. 2008. Antimicrobial properties of berberines alkaloids in by microcalorimetry. *J Biochem Biophys Methods*. **70(6)**:845–849.
- Zhao, B., Tham, Su-Yin, Lu Jia., Lai, M. H., Lee, L.K.H., dan Moochhala, S.M., 2004. Simultaneous Determination of Vitamin C, E, and  $\beta$ -caroten in Human Plasma by High-

performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection. *J. Pharm Pharmaceut Sci* 7(2): 200-204

Zhou H, Tai YP, Sun CR, et al. 2005. Rapid identification of vinca alkaloids by direct-injection electrospray ionisation tandem mass spectrometry and confirmation by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Phytochem Anal.* **16(5)**:328–333.

Zhou, D.Y., B.W. Zhu, L. Qiao, H.T. Wu, D.M. Li, J.F. Yang, & Y. Murata. 2011. In vitro antioxidant activity of enzymatic hydrolysates prepared from abalone (*Haliotis discus hannai*Ino) viscera. *Food and Bioproducts Processing*, *in press*.