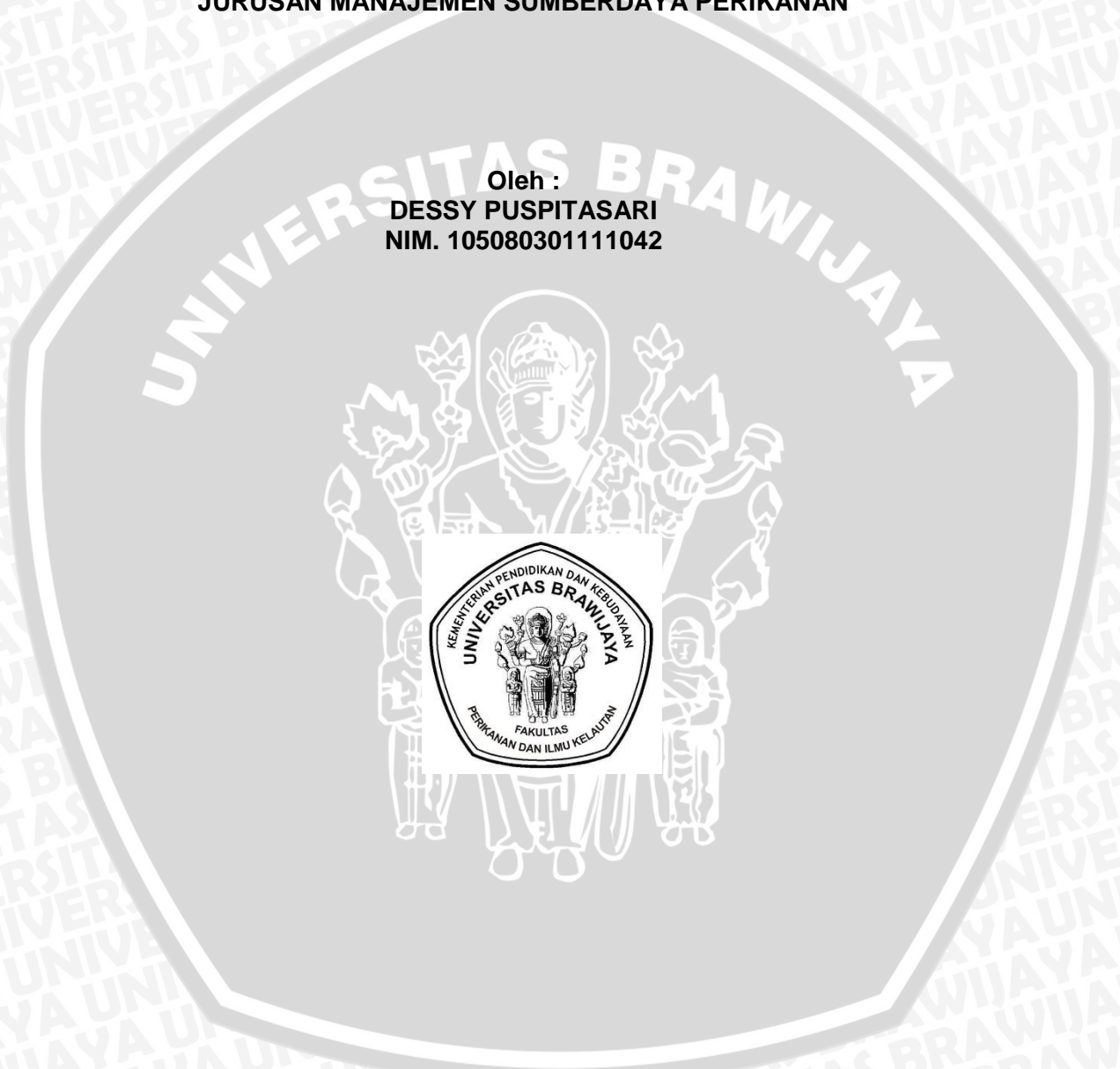


STUDI KADAR KUERSETIN PADA "TEH" DAUN ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN

Oleh :
DESSY PUSPITASARI
NIM. 105080301111042



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014



STUDI KADAR KUERSETIN PADA “TEH” ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh :
DESSY PUSPITASARI
NIM. 105080301111042



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014



SKRIPSI

STUDI KADAR KUERSETIN PADA “TEH” ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium

Oleh :
DESSY PUSPITASARI
NIM. 105080301111042

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 20 Agustus 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Anies Chamidah, MS)
NIP. 19640912 199002 2 001
Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS)
NIP. 19640726 198903 2 004
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc, Ph.D)
NIP. 19640919 198903 1 002
Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

(Dr.Ir.Arning Wilujeng E, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, Agustus 2014

Mahasiswa,

DESSY PUSPITASARI
NIM. 105080301111042

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang selalu memberikan berkah, rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga selalu diberikan kemudahan dalam penyelesaian skripsi ini
2. Kedua Orangtua dan keluarga di rumah yang selalu mendoakan, mendukung dan memotivasi.
3. Dr. Ir. Hartatati Kartikaningsih, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Anies Chamidah, MS selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberikan masukan untuk terselesaikannya laporan ini.
5. Bu Iwin Zunairoh, Pak Kaliawan, Pak Arisandi, dan mbak Reni Astuti selaku laboran, atas bimbingan dan bantuannya selama mengerjakan penelitian di laboratorium.
6. Untuk Hongki Budi Prasetyo yang selalu memberikan masukan, motivasi dan doa.
7. Untuk Tim skripsi bunda Mbok, Bagus, Taci, Alink, Desty, Hafid, Dika, Intan, Rani, Bias, Elda, dan Agnes yang selalu ada dalam kesulitan.
8. Untuk sahabat-sahabatku Susi, Tutut, Seto, Laras dan Ita terima kasih atas motivasi kalian.
9. Untuk teman – teman THP angkatan 2010 terima kasih untuk dukungan dan doa dari kalian.

Malang, Agustus 2014

Penulis

RINGKASAN

DESSY PUSPITASARI. 105080301111042. Laporan Skripsi Judul Studi Kadar Kuersetin Pada “Teh” Daun Alga Coklat *Sargassum cristefolium*. Dibawah bimbingan **Dr.Ir.HARTATI KARTIKANINGSIH, MS** dan **Prof. Ir. SUKOSO, M.Sc. Ph.D**

Sargassum merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan. Kuersetin dilaporkan menunjukkan beberapa aktivitas biologi. Aktivitas ini dikaitkan dengan sifat antioksidan kuersetin, antara lain karena kemampuan menangkap radikal bebas dan radikal hidroksil. Kuersetin sangat efektif dalam mengurangi stres oksidatif dan mencegah produk potensial akibat stres oksidatif, seperti kanker

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Ilmu Kelautan FPIK Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang pada bulan Maret – Mei 2014.

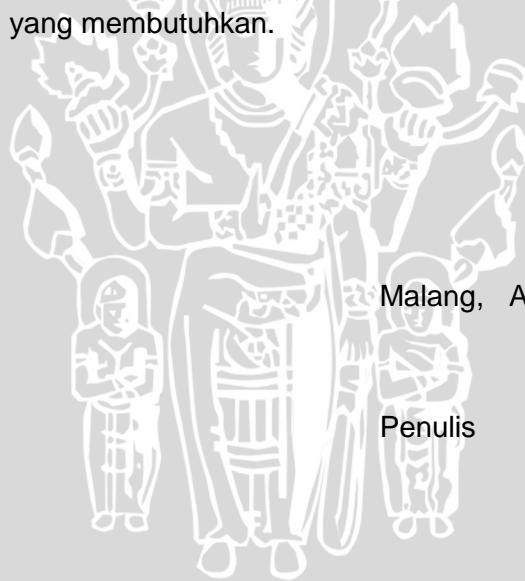
Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan kadar kuersetin pada “teh” daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Parameter uji pada penelitian ini yaitu skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan LC-MS. Sedangkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* menggunakan metode DPPH.

Hasil penelitian menunjukkan daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* tidak mengandung senyawa alkaloid dan saponin, namun mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* perlakuan segar, kering, “teh” dan “teh seduh” berturut-turut sebesar 186.725 ppm, 164.211 ppm, 170.199 ppm, dan 308,61 ppm. Hasil IC_{50} yang tinggi menunjukkan lemahnya aktivitas antioksidan pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Kadar kuersetin yang terdapat pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* perlakuan segar, kering, “teh” dan “teh seduh” berturut-turut sebesar 0,424 $\mu\text{g/ml}$, 0,535 $\mu\text{g/ml}$, 0,373 $\mu\text{g/ml}$ dan pada ‘teh seduh’ tidak terdeteksi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul Studi Kadar Kuersetin Pada “Teh” Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*. Penulisan laporan ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk meraih Gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Di dalam laporan ini disajikan pokok-pokok bahasan meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, metodologi penelitian, hasil dan pembahasan penelitian serta penutup.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran positif yang dapat membangun agar laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.



Malang, Agustus 2014

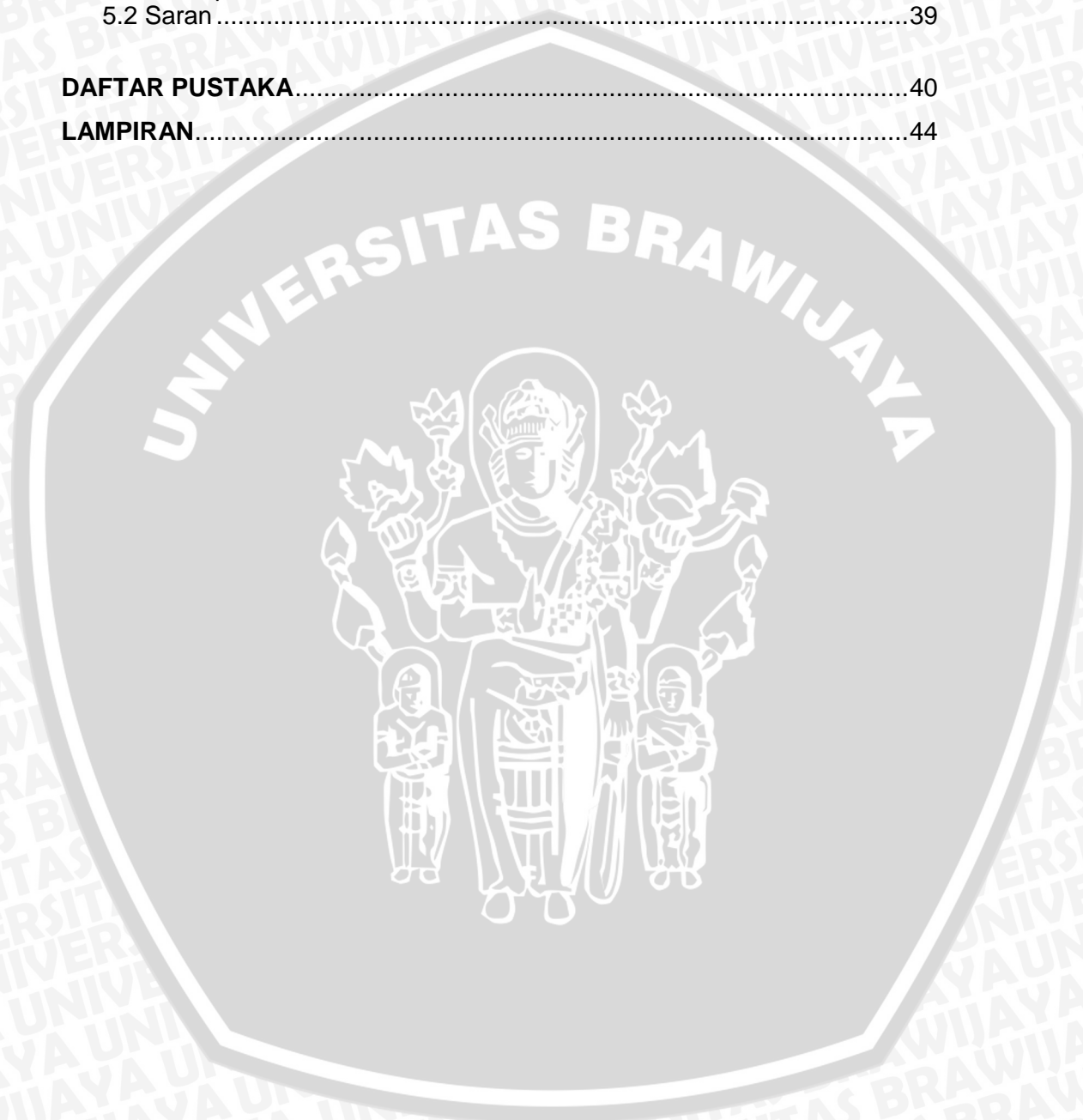
Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

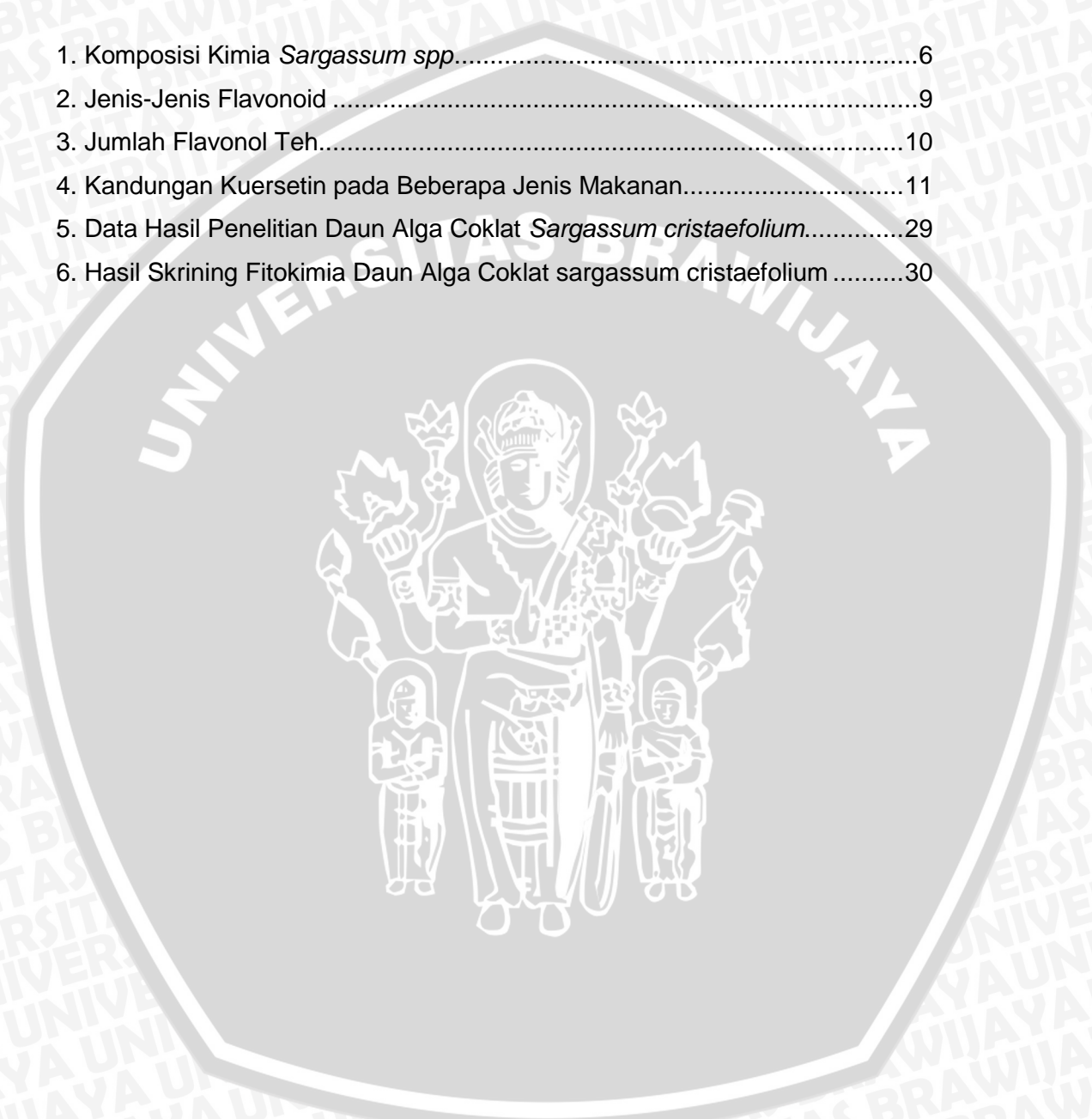
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Waktu dan Tempat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	5
2.2 Metode Ekstraksi.....	7
2.3 Senyawa Bioaktif Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	8
2.4 Kuersetin.....	10
2.5 Fitokimia.....	12
2.6 Antioksidan.....	12
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat.....	14
3.2 Materi Penelitian.....	14
3.2.1 Bahan Penelitian.....	14
3.2.2 Alat Penelitian.....	15
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.4 Variabel Penelitian.....	16
3.5 Prosedur Analisis.....	17
3.5.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel.....	17
3.5.2 Ekstraksi Sampel.....	18
3.5.3 Prosedur Analisis.....	18
3.6 Parameter Uji.....	21
3.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan.....	21
3.6.2 Uji Fitokimia.....	23
3.6.3 Uji LC-MS.....	27

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Skrining Fitokimia.....	29
4.2 Aktivitas Antioksidan	32
4.3 Pengukuran Kadar Kuersetin dengan Metode LC-MS.....	35
5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia <i>Sargassum spp</i>	6
2. Jenis-Jenis Flavonoid	9
3. Jumlah Flavonol Teh.....	10
4. Kandungan Kuersetin pada Beberapa Jenis Makanan.....	11
5. Data Hasil Penelitian Daun Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	29
6. Hasil Skrining Fitokimia Daun Alga Coklat <i>sargassum cristaefolium</i>	30

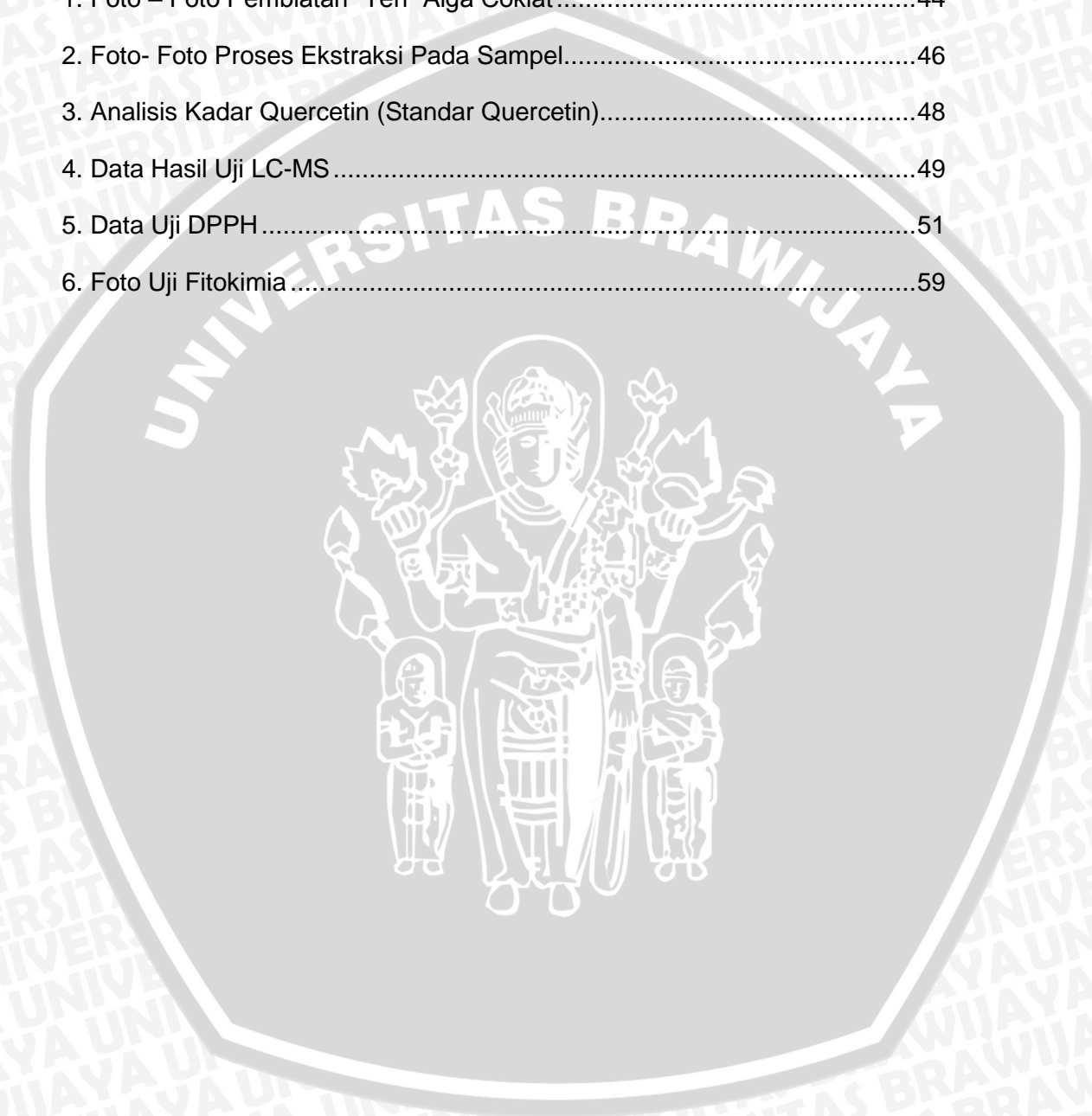


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum cristaefolium</i>	5
2. Struktur Kuersetin	11
3. Skema Prosedur Penelitian.....	19
4. Skema Pembuatan “The” Alga Coklat.....	20
5. Skema Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH	22
6. Skema Uji Fitokimia Flavonoid	23
7. Skema Uji Fitokimia Alkaloid.....	24
8. Skema Uji Fitokimia Tannin	25
9. Skema Uji Fitokimia Saponin	26
10. Skema Analisa LC-MS.....	28
11. Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan <i>Sargassum cristaefolium</i>	33
12. Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	35
13. Kromatogram Standar Kuersetin.....	36
14. Kromatogram Kuersetin Literatur Chih Lin et al., 2008.....	36
15. Kromatogram Kuersetin sampel Segar	36
16. Kromatogram Kuersetin sampel Kering.....	37
17. Kromatogram Kuersetin sampel “teh”	37
18. Hasil Pengukuran kandungan Kuersetin pada Daun Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto – Foto Pembuatan “Teh” Alga Coklat.....	44
2. Foto- Foto Proses Ekstraksi Pada Sampel.....	46
3. Analisis Kadar Quercetin (Standar Quercetin).....	48
4. Data Hasil Uji LC-MS	49
5. Data Uji DPPH	51
6. Foto Uji Fitokimia	59



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sargassum tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu, pada daerah intertidal maupun subtidal (Kadi, 2005). Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, di daerah rataan pasir. Daerah ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir. Pada batu-batu ini tumbuh dan melekat rumput laut coklat (Atmadja dan Soelistijo, 1998). Rumput laut coklat sering dianggap sebagai sampah karena mengotori pantai, padahal banyak manfaat yang dapat diambil dari rumput laut coklat tersebut. Pemanfaatan rumput laut coklat dalam bidang industri sangat luas, diantaranya untuk industri makanan, minuman, obat-obatan, dan lain-lain. Hasil ekstraksi *Sargassum* sp. berupa alginat banyak digunakan industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan.

Pemanfaatan *Sargassum cristaefolium* sebagai produk pangan sangat sulit jika hanya mengandalkan keadaan segar, hal ini dikarenakan *Sargassum cristaefolium* mudah busuk. Menurut Rasyid (2004), selama ini *Sargassum* hanya dapat digunakan sebagai makanan ternak dan bahan pembuatan pupuk sehingga menjadikan pemanfaatan produk ini kurang bermakna. Pemanfaatan lain *Sargassum cristaefolium* bisa dengan dikeringkan, seperti halnya masyarakat Cabiya. Masyarakat Cabiya menyebut *Sargassum cristaefolium* dengan alga berdaun lebar karena bentuk daunnya yang lebar. Masyarakat Cabiya memanfaatkan *Sargassum cristaefolium* dengan membuat teh.

Teh merupakan minuman paling banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia setelah air putih. Kebiasaan minum teh lebih diutamakan untuk

mendapatkan kenikmatan. Padahal dibalik kenikmatan tersebut, teh lebih banyak manfaatnya dibandingkan minuman lain. Manfaat yang dihasilkan dari teh beberapa diantaranya dapat meningkatkan kepadatan tulang, mengurangi resiko batu ginjal, mengurangi resiko karies gigi dan penyakit *kardiovaskuler* (Siregar, 2009). Hal tersebut berkaitan erat dengan pengaruh flavonoid yang terdapat di dalam teh dalam jumlah besar, yang mempunyai sifat antioksidan. Flavonoid ini mewakili kelompok bioaktif yang mungkin mempunyai efek menguntungkan yang berguna bagi kesehatan jantung (Kris-Etherton and Keen, 2002). Konsentrasi tertinggi flavonoid terdapat pada daun teh hijau kering (lebih dari 30% b/b).

Flavonoid atau disebut juga sebagai bioflavonoid adalah jenis polifenol yang terdapat hampir di seluruh tanaman, terkonsentrasi di bagian daun, kulit buah, biji dan bunganya. Sebagian besar tanaman obat mengandung flavonoid, yang dilaporkan mempunyai efek antibakterial, *anti-inflammatory*, antialergi, *antimutagenic*, *anti-viral*, *anti-neoplastic*, *anti-thrombotic* atau *vasodilatory* serta antioksidan (Miller, 2001). Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid salah satunya yaitu flavonol.

Flavonol merupakan jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan di sayur-sayuran. Di tanaman, flavonol ini biasanya berada dalam bentuk O-glikosida. Perbedaan yang paling utama antara flavonol dan flavon yaitu flavonol memiliki gugus hidroksi pada C3 dan flavon tidak. Flavonol dan flavon banyak terdapat pada bagian daun dan bagian luar dari tanaman, hanya sedikit sekali ditemukan pada bagian tanaman yang berada dibawah permukaan tanah (Hertog *et al.*, 1992). Salah satu flavonol terbaik yaitu kuersetin

Kuersetin adalah salah satu bahan obat dari golongan flavonoid. Kuersetin banyak terdapat pada apel, teh, bawang merah, anggur merah, jeruk, tomat, brokoli, dan sayuran berwarna hijau. Kuersetin dilaporkan menunjukkan beberapa aktivitas biologi. Aktivitas ini dikaitkan dengan sifat antioksidan

kuersetin, antara lain karena kemampuan menangkap radikal bebas dan radikal hidroksil. Kuersetin sangat efektif dalam mengurangi stres oksidatif dan mencegah produk potensial akibat stres oksidatif, seperti kanker (Haghiack dan Walle, 2005).

Penelitian terhadap ekstraksi kandungan senyawa antioksidan dari beberapa spesies rumput laut telah dilakukan Santoso *et al.*, (2009) yang meneliti kandungan senyawa fenol dan aktivitas antioksidan dari rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* dengan larutan pengekstrak metanol, etil asetat dan n-heksana. Penelitian mengenai flavonoid kuersetin yang terdapat pada tumbuhan telah dilakukan oleh Fitriya, (2011) yang meneliti Flavonoid kuersetin dari tumbuhan benalu teh (*Scurulla atropurpurea* BL. Dans).

Saat ini, belum ditemukan penelitian mengenai kandungan kuersetin pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Menurut Romansyah (2011), *Sargassum cristaefolium* termasuk alga coklat yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan alga coklat dapat digunakan sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan dan menghambat aktivitas enzim. Masih sedikit penelitian yang mengkombinasikan antara kandungan kuersetin dengan aktivitas antioksidan.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah berapakah kadar kuersetin yang terdapat pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kuersetin yang terdapat pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga maupun institusi lain mengenai kadar kuersetin yang terdapat pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan menggunakan metode *Liquid Chromatography Mass Spektrocopy* (LC-MS) untuk mengetahui kadar kuersetin sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.5 Waktu dan Tempat

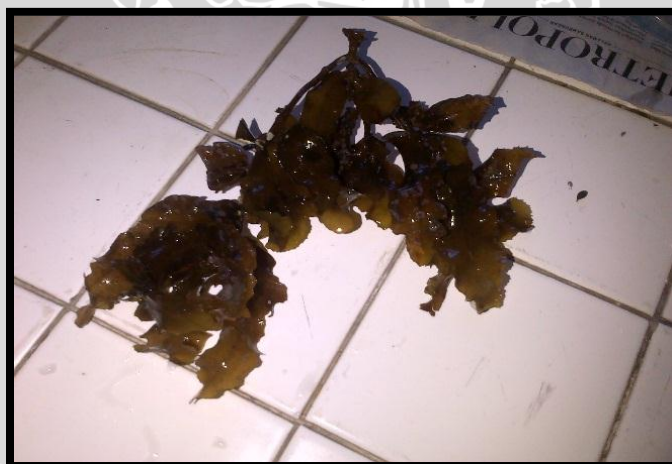
Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – Mei 2014 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan FPIK Universitas Brawijaya dan Laboratorium Mikrobiologi Dasar, Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium merupakan salah satu golongan alga coklat (*Phaeophyceae*). *Sargassum* merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya antikanker (Fahri *et al.*, 2010). *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang, panjang thallus sekitar 1 – 3 meter. Pada setiap percabangan *Sargassum* terdapat gelembung udara berbentuk bulat (*bladder*) yang berguna untuk menopang cabang-cabang thallus yang terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari (Kadi, 2005). Gambar *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum cristaefolium*

Secara sitologi, *Sargassum* termasuk dalam tumbuhan eukariotik. Bagian-bagian sel yang dimiliki *Sargassum* cukup lengkap seperti inti sel, kromosom, cairan plasma, khloroplast, badan golgi, mitokondria dan sebagainya.

di dalam khloroplast terdapat pigmen berwarna coklat emas disebut fukosantin. Fukosantin hampir menutup pigmen-pigmen lainnya sehingga menyebabkan thallus *Sargassum* berwarna coklat (Yulianto, 1996). Klasifikasi alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat di bawah ini.

Klasifikasi *Sargassum cristaefolium* menurut Algaebase (2013) antara lain:

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Heterokonta
Class	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Family	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Scientific name	: <u><i>Sargassum cristaefolium</i></u> C. Agardh

Sargassum cristaefolium memiliki thalli agak gepeng, licin, tetapi batang utama bulat agak kasar, holdfast cakram menggaruk. Alga ini hidup di Zona pasang surut bagian tengah hingga subtidal (Ahmad, 2011). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh 3 sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Tjitrosoepomo, 2001).). Komposisi kimia *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum* spp.

Komposisi Kimia	Presentase (%)
Karbohidrat	19,06
Protein	5,53
Lemak	0,47
Air	11,71
Abu	34,57
Serat Kasar	28,39

Sumber : Yunizal, (2004)

Sargassum tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu, pada daerah intertidal maupun subtidal (Kadi, 2005). Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, di daerah rataan pasir. Daerah

ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir, secara sporadic terdapat pula pada karang hidup atau mati. Pada batu-batu ini tumbuh dan melekat rumput laut coklat (Atmadja dan Soelistijo, 1998).

Sargassum sp. merupakan salah satu jenis rumput laut coklat yang potensial untuk dikembangkan. *Sargassum* sp. telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas, dan lain-lain. Hasil ekstraksi *Sargassum* sp. berupa alginat banyak digunakan industri makanan bukan sebagai penambah nilai gizi, tetapi menghasilkan dan memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pastel isi, dan kue-kue (Percival 1970 dalam Yunizal 2004).

2.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain (Harborne, 1987).

Menurut Putranti (2013), maserasi harus didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, buatanol dan air. Senyawa non polar juga hanya akan larut pada pelarut non polar, seperti eter, kloroform dan n-heksan.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel menyebabkan larutan yang terpekat di desak keluar. Keuntungan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah diusahakan, sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaan yang dibutuhkan lama (Lathifah, 2008).

Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan tidak terbakar. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987). Ada dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya atau beracun.

Penelitian Septiana dan Asnani (2012) menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut metanol memiliki sifat fitokimia terbaik pada *Sargassum duplicatum*. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan non polar. Menurut penelitian Andayani *et al.*, (2008), pelarut yang digunakan adalah metanol karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun non polar. Metanol mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak, sebagai tambahan metanol cenderung lebih murah dibandingkan dengan pelarut organik yang lain.

2.3 Senyawa Bioaktif Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Metabolit primer digunakan untuk pertumbuhan dan kehidupan organisme serta dibentuk dalam jumlah terbatas (Nofiani, 2008). Metabolit primer dari *Sargassum* adalah senyawa polisakarida hidrokoloid berupa alginat. Menurut Yulianto (2010), alginat adalah hasil olahan rumput laut yang dapat berfungsi sebagai pembentuk gel, pengental, penstabil dan pengemulsi. Alginat digunakan pada beberapa industri seperti industri pangan, tekstil dan farmasi. Menurut

Truus *et al.*, (2001), alginat terdapat dalam dinding sel *Sargassum* berupa kristal-kristal yang tersusun secara paralel pada benang-benang halus selulosa dan dalam cairan sel.

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim. Metabolit sekunder tidak digunakan untuk pertumbuhan dan dibentuk dari metabolit sekunder pada kondisi stress (Nofiani, 2008). Metabolit sekunder biasanya dalam bentuk senyawa bioaktif (Putranti, 2013). Menurut penelitian Risjani dan Kenty (2009), senyawa pada ekstrak *Sargassum cristaefolium* adalah golongan flavonoid.

Senyawa flavonoid tersebut merupakan hasil metabolisme sekunder dari tanaman yang berasal dari reaksi kondensasi *cinnamic acid* bersama tiga gugus malonyl-CoA. Banyak jenis-jenis flavonoid yang ada di dalam teh, tetapi yang memiliki nilai gizi biasanya dibagi menjadi enam kelompok besar (Mahmood *et al.*, 2010). Jenis-jenis flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Jenis-jenis Flavonoid

Flavonoid	Contoh
Flavanols	EGCG, EG, ECG, dan Catechin
Flavonols	Kaemferol dan Quercetin
Anthocyanidins	Malvidin, Cyanidin, dan Delphinidin
Flavones	Apigenin dan Rutin
Flavanones	Myricetin
Isoflavonoids	Genistein dan Biochanin A

Sumber: Mahmood *et al.*, (2010)

Flavonol merupakan jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan di sayur-sayuran. Di tanaman, flavonol ini biasanya berada dalam bentuk O-glikosida. Perbedaan yang paling utama antara flavonol dan flavon yaitu flavonol memiliki gugus hidroksi pada C3 dan flavon tidak. Flavonol dan flavon banyak terdapat pada bagian daun dan bagian luar dari tanaman, hanya sedikit sekali ditemukan pada bagian tanaman yang berada dibawah permukaan tanah (Hertog *et al.*, 1992).

Flavonol utama yang ada didalam daun teh adalah quercetin, kaempferol, dan myricetin. Flavonol ini, terutama terdapat dalam bentuk glikosidanya (berikatan dengan molekul gula) dan sedikit dalam bentuk aglikonnya. Jumlah flavonol teh ini bervariasi, tergantung pada beberapa hal, misalnya suhu dan cara ekstraksi yang digunakan. Jumlah tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Flavonol Teh

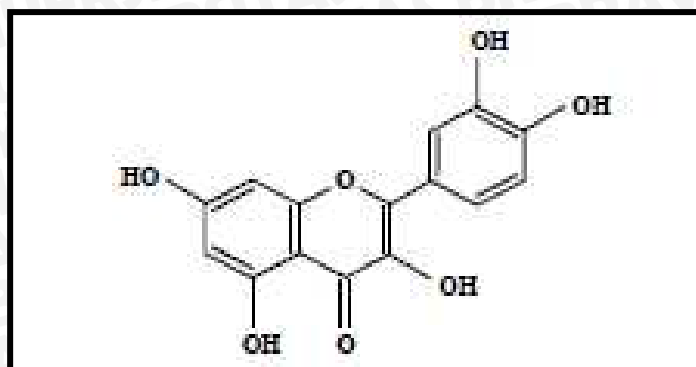
Jenis Flavonol	Jumlah (g/kg)	
	Teh Hijau	Teh Hitam
Myricetin	0,83 – 1,59	0,24 – 0,52
Quercetin	1,79 – 4,05	1,04 – 3,03
Kaempferol	1,56 – 3,31	1,72 – 2,31

Sumber: Hartoyo, 2003

2.4 Kuersetin

Quercetin (3, 5, 7, 39, 49-*pentahydroxyflavone*), merupakan jenis flavonol yang paling umum dalam diet, mencegah cedera oksidan dan kematian sel melalui beberapa mekanisme, seperti pembersihan radikal oksigen, melindungi terhadap peroksidasi lipid. Struktural fitur dari quercetin yang telah dikaitkan dengan sifat antioksidan termasuk gugus katekol B-ring, 2,3- ikatan tak jenuh terkonjugasi dengan kelompok 4-oxo di C-ring, dan gugus hidroksil fungsional (Erlund, 2004).

Kuersetin merupakan suatu aglikon yang apabila berikatan dengan glikonnya akan menjadi suatu glikosida. Senyawa ini dapat beraksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dan menghambat enzim tirosin kinase. Kuersetin juga memiliki aktivitas antioksidan yang dimungkinkan oleh komponen fenoliknya yang sangat reaktif. Kuersetin akan mengikat spesies radikal bebas sehingga dapat mengurangi reaktivitas radikal bebas tersebut (Lamson *et al.*, 2000). Struktur kuersetin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur kuersetin (Aguirre et al., 2011).

Kuersetin memiliki nama resmi 3,3',4',5,7 - pentahidroksilflavon (Murakami et al.,2008). Senyawa flavonoid polifenol ini memiliki efek antiinflamasi, antiproliferasi, dan antioksidan (Kleemann et al., 2011). Kuersetin memiliki struktur kimia dasar berupa *difenilpropana* (C6-C3-C6), sering terikat pada gula (glikosida). Pada kuersetin, struktur *difenilpropana* terikat dengan *aglycones* membentuk 3 cincin dan 5 gugus hidroksil. Kuersetin ditemukan didalam buah, sayur, teh, dan wine (Aguirre et al., 2011), pada Tabel 4 ditunjukkan kandungan kuersetin pada beberapa makanan.

Tabel 4. Kandungan Kuersetin pada Beberapa Jenis Makanan

Bahan Makanan	Kandungan Kuersetin (mg/100 g)
Apel dengan kulit	4.42
Brokoli mentah	3.21
Bawang mentah	13.27
Bayam mentah	4.86
Daun tea hitam, kering	204.66
Daun tea hijau, kering	255.55
Anggur merah	0.84

Sumber : Aguirre et al., (2011)

2.4 Fitokimia

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia dari suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yakni struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai macam jenis tanaman (Sirait, 2007). Fitokimia adalah senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam. Uji fitokimia biasanya meliputi uji terhadap adanya alkaloid, steroid, triterpenoid, fenolik, flavonoid dan saponin (Tjandra *et al.*, 2011).

Uji fitokimia bertujuan untuk menentukan komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan. Uji fitokimia yang biasanya dilakukan terhadap sampel yakni uji alkaloid, uji steroid, uji flavonoid, uji saponin (uji busa), uji fenol Hidrokuinon (FeCl_3), uji molisch, uji benedict, dan uji biuret serta ninhidrin. Pada uji alkaloid, dilakukan 3 jenis uji yakni menggunakan pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Dragendorf (Romansyah, 2011).

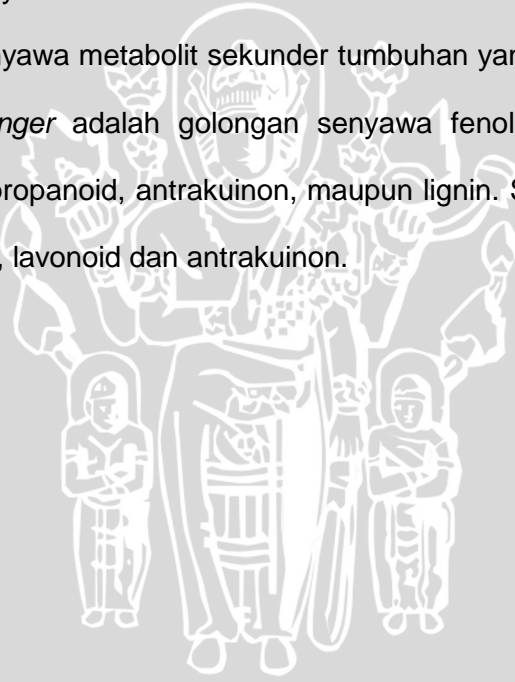
Metode fitokimia digunakan untuk mengetahui kandungan sekunder, makromolekul, serta penggunaan data yang diperoleh untuk menggolongkan tumbuhan. Metode ini juga penting untuk menentukan ciri atau sifat kimia dari fitotoksin (hasil sintesis mikroba yang terbentuk dalam tumbuhan tinggi bila tumbuhan tersebut diserang bakteri atau fungi dan fitoaleksin) (Yuswantina, 2009).

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relative stabil. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan sumber antioksidan alami yang biasanya terdapat dalam tumbuhan (Oktarianan, 2008).

Menurut Komaharyati dan Paryanti (2012), antioksidan digolongkan menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan sintetis. Penggunaan antioksidan sintetis seperti BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) dan BHT (*Butil Hidroksi Toulene*) banyak menimbulkan kekhawatiran akan efek sampingnya. Penggunaan antioksidan sintetis pada bahan pangan harus diawasi karena jika berlebihan dapat menimbulkan dampak negative. Karena penggunaan antioksidan alami dinilai lebih aman, maka pencarian dan pengkajian terhadap sumber senyawa antioksidan alami banyak dilakukan

Menurut Lisdawati *et al.*, (2008) senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan alam banyak ditemukan di dalam kulit buah pada tumbuhan. Berbagai golongan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang dikenal sebagai sumber *radical scavenger* adalah golongan senyawa fenol seperti: flavonol, flavanon, flavon, fenil propanoid, antrakuinon, maupun lignin. Senyawa-senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid dan antrakuinon.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Mei 2014. Sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* diambil di perairan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura. Proses ekstraksi dan analisa dilakukan di beberapa laboratorium yaitu : di Laboratorium Teknologi Hasil perikanan FPIK Universitas Brawijaya dan laboratorium Mikrobiologi Dasar, Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, dan Politeknik Negeri Malang.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama yaitu: Alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari Desa cabiya, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura, Jawa Timur. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan untuk proses perendaman, pengujian antioksidan, uji fitokimia dan uji LC-MS.

Bahan yang digunakan untuk proses perendaman yaitu larutan kapur (Ca(OH)_2), dan pH paper. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut metanol, kertas saring Whatman no 42, aluminium foil dan kertas label. Sedangkan bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah HCL 2 N, pereaksi *mayer*, pereaksi *wagner*, pereaksi *Dragendorff*, aquadest, larutan FeCl_3 1%, kloroform, etanol 96% p.a, kertas saring. Bahan untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah pelarut methanol p.a, aluminium foil, serbuk DPPH (1,1 diphenil-2-pikrilhidrazil) yang diperoleh dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Muhammadiyah

Malang. Bahan untuk uji LC-MS adalah pelarut methanol p.a, dan standar quercetin yang diperoleh dari Politeknik Negeri Malang.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat yang digunakan untuk proses pembuatan teh alga coklat, pengujian aktivitas antioksidan. Peralatan yang digunakan dalam pembuatan teh alga coklat ini terdiri dari pH meter, microwave, coolbox, sikat, gunting, nampan, baskom, saringan, loyang, blender merk miyako dan timbangan digital merk merklen coledo. Sedangkan peralatan gelas yang digunakan selama proses ekstraksi yakni beaker glass 500 ml, gelas ukur 100 ml dan 200 ml, erlenmeyer 250 ml dan 300 ml merk pyrex, spatula, timbangan digital, corong, rotary vacuum evaporator merk *memmert*, blender, serta kipas angin.

Alat yang digunakan untuk uji fitokimia yakni tabung reaksi merk *pyrex*, rak tabung, pipet tetes, pipet volume 5 ml dan 10 ml merk *iwaki*, bola hisap, beaker glass 100 ml merk *pyrex*, hot plate, waterbath, thermometer Hg, corong, masker, sarung tangan. Adapun alat-alat untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yakni botol vial, pipet volume 10 ml merk *pyrex* dan bola hisap serta spektrofotometer uv-vis merk *simatsu* yang diperoleh dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Muhammadiyah Malang. Alat yang digunakan untuk uji LC-MS yakni LC-MS (Hitachi L 6200) dengan sistem ESI *Positive Ion Mode* yang diperoleh dari Politeknik Negeri Malang.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode yang bersifat eksploratif deskriptif (non hipotesis). Metode eksploratif dilakukan untuk mencapai tujuan yang utama yakni mengetahui dan kadar kuersetin dari alga coklat jenis *Sargassum cristaefolium* dengan sampel berbeda yakni segar, kering (rumput laut yang dikeringkan dengan sinar matahari selama 2x24 jam), "teh" (rumput laut yang direndam dengan larutan $(\text{Ca}(\text{OH})_2)$ pH 11 selama 6 jam dan dikeringkan menggunakan *vacuum dryer* suhu 80°C selama 20 menit yang diekstrak menggunakan pelarut aquades, serta "teh seduh" alga coklat yang diseduh menggunakan air panas.

Menurut Sandjaja dan Heriyanto (2006), penelitian deskriptif bertujuan untuk mendeskripsikan gejala-gejala yang terjadi pada masa itu. Desain penelitian ini biasanya hanya melibatkan satu variabel saja. Penelitian deskriptif umumnya tidak hendak mengujik hipotesa, melainkan hanya memaparkan suatu obyek apa adanya secara sistematis. Oleh karena tidak menguji hipotesa, maka umumnya penelitian ini tidak diperlukan adanya hipotesa. Walaupun pada penelitian ini tidak ada hipotesa, bukan berarti penelitian ini tidak mempergunakan perhitungan statistik dan uji statistik sama sekali. Ditambahkan oleh Narbuko dan Achmadi (2010), penelitian deskriptif yaitu penelitian yang berusaha untuk menuturkan pemecahan masalah yang ada sekarang. Jadi penelitian ini selain menyajikan data juga menganalisis dan menginterpretasi serta bersifat komperatif dan korelatif.

3.4 Variabel Penelitian

Menurut Surachmad (2004), ada dua macam variable dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variable terikat. Variabel bebas adalah variabel yang

diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kondisi rumput laut *Sargassum cristaefolium* yang berbeda yaitu segar, kering, “teh”, dan “teh seduh” yang diperoleh dari proses penyeduhan. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah kualitas kimia “teh” alga coklat yang diuji aktivitas antioksidan, analisis fitokimia, dan analisis LC-MS. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah nilai IC_{50} (*Inhibition concentration 50*), dimana $IC_{50} < 200$ ppm maka senyawa antioksidan berhasil memberikan penghambatan 50% karakter radikal bebas.

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel *Sargassum cristaefolium* yang telah dipanen dicuci dengan air tawar. Sampel tersebut kemudian dimasukkan dalam kantong plastik dan ditambahkan sedikit air laut. Kantong plastik tersebut kemudian dimasukkan kedalam cool-box. Preparasi sampel *Sargassum cristaefolium* dilakukan untuk menyiapkan sampel dalam bentuk segar, kering, “teh” sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan dalam proses analisis. Pembuatan sampel kering dilakukan dengan mengeringkan sampel pada terik matahari selama 2 hari. Untuk pembuatan sampel “teh” dan “teh seduh” dilakukan perendaman sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan air kapur ($Ca(OH)_2$) dengan perbandingan air dan kapur yakni 2:1 (b/v) sehingga diperoleh pH 11 (berdasarkan penelitian terdahulu oleh Hernawan, (2012) bahwa pH terbaik dalam pembuatan “teh” alga coklat adalah pH 11). Setelah dilakukan proses perendaman, kemudian alga coklat *Sargassum cristaefolium* dicuci kembali dengan air tawar hingga bersih. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan bau

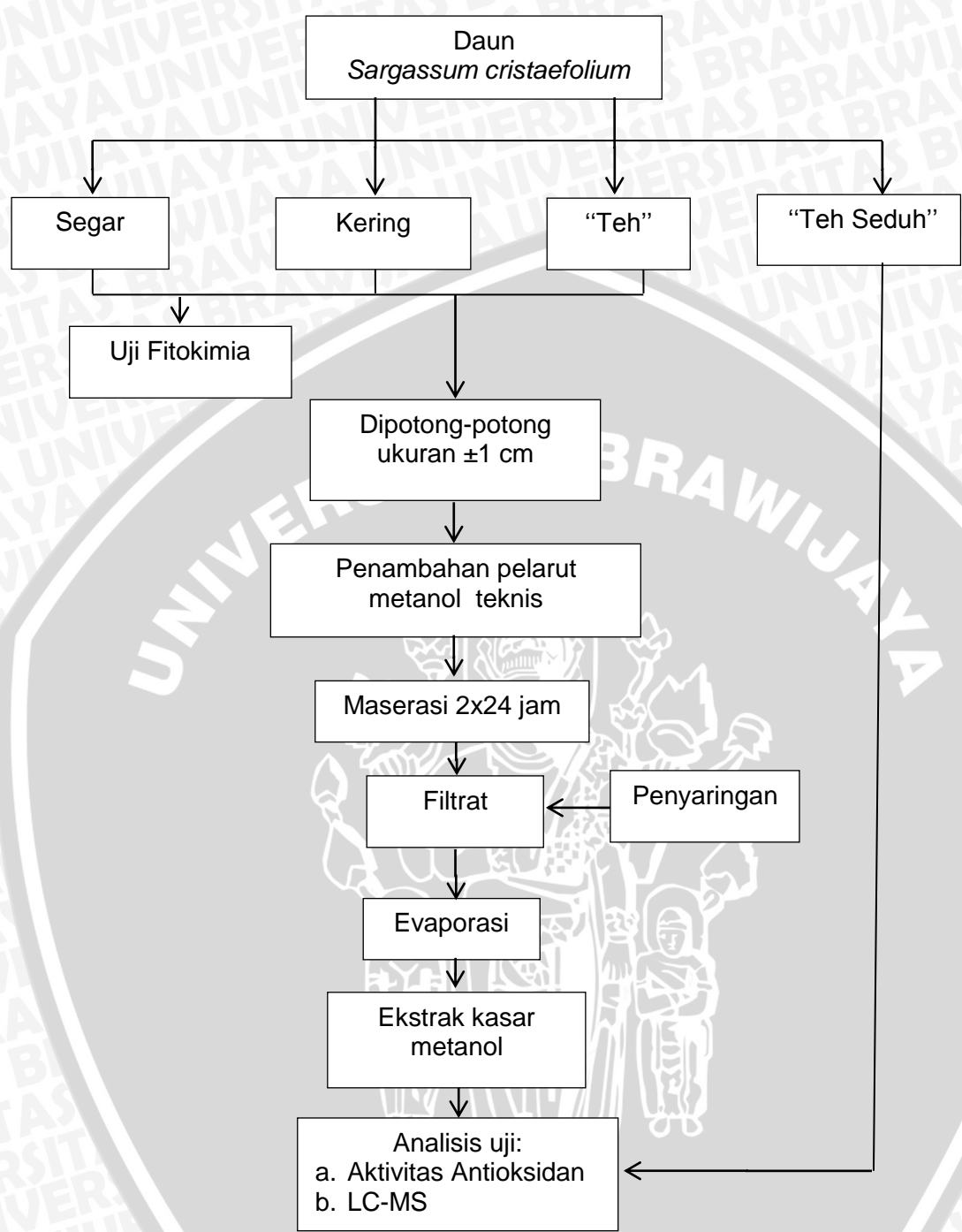
kapur yang menempel pada alga coklat serta mencegah pengaruh adanya rasa kapur terhadap produk akhir.

3.5.2 Ekstraksi Sampel

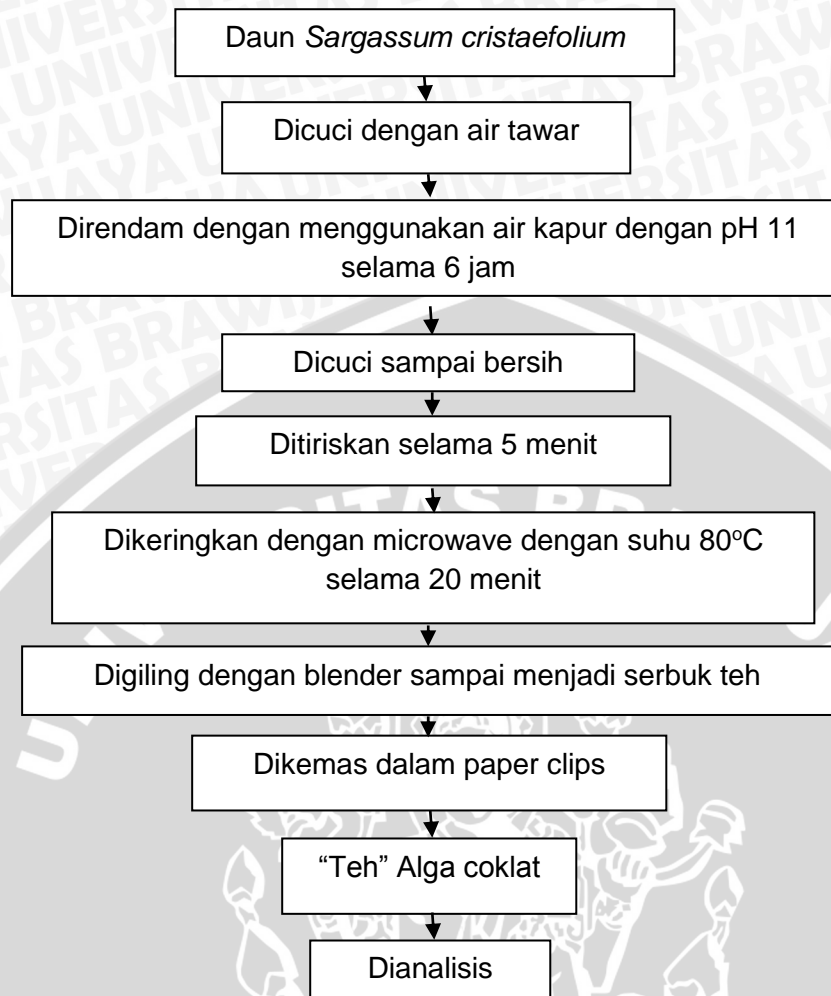
Ekstraksi *Sargassum cristaefolium* didasarkan pada metode Podungge (2012), yang telah dimodifikasi. Proses tersebut menggunakan pelarut yaitu methanol teknis (polar). Perbandingan antara sampel dan pelarut yang digunakan yakni 1:16 (b/v). Pada sampel segar dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang sebanyak 25 gram. Sampel tersebut kemudian dimasukkan kedalam beaker glass dan ditambahkan pelarut sebanyak 400 ml. Sampel kering dan “teh” dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang sebanyak 10 gram. Sampel tersebut kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan pelarut sebanyak 160 ml. *Beaker glass* berisi sampel dan larutan kemudian dimaserasi selama 2x24 jam dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang. Sampel disaring menggunakan kertas saring Whatman 42 sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C.

3.5.3 Prosedur Analisis

Analisis senyawa fitokimia dilakukan pada sampel segar, kering, “teh”, dan “teh seduh”. Analisis pada ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium* meliputi analisis aktivitas antioksidan, dan LC-MS. Prosedur analisis dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3. Sebelum dilakukan penelitian terlebih dahulu dibuat “teh” alga coklat. Menurut Hernawan, (2012) prosedur “teh” alga coklat dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3. Skema Kerja Prosedur Penelitian



Gambar 4. Skema Pembuatan "Teh" Alga Coklat

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Uji aktivitas antioksidan sampel *Sargassum cristaefolium* dalam mereduksi radikal bebas diukur dengan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dilakukan berdasarkan metode Hanani dan Sekarini, (2005); Okawa (2001) dalam Andayani *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,2 mM dalam metanol dimasukkan ke dalam 1 ml larutan ekstrak (konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm) dan diinkubasi ditempat gelap pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 517 nm, kemudian dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko. Skema uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 5. Presentase penghambatan aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel yang dihitung dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Persamaan regresi diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan presentase penghambatan aktivitas radikal bebas. Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC_{50}) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan $y = 50$ serta nilai A dan B yang telah diketahui. Nilai x sebagai IC_{50} dapat dihitung dengan persamaan:

$$y = A + B \ln (x)$$

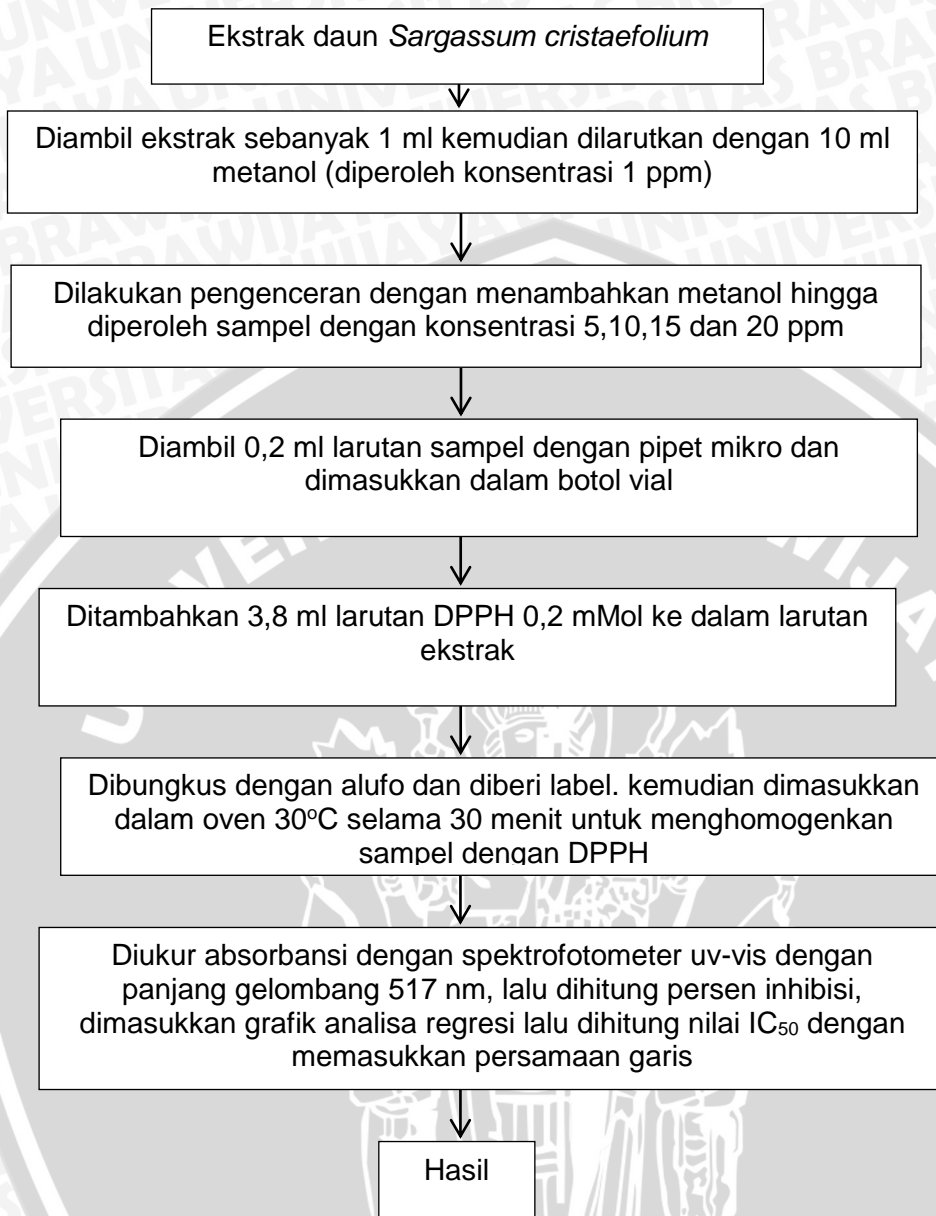
Keterangan:

y = persen inhibisi

x = konsentrasi sampel (ppm)

A = slope

B = *intercept*



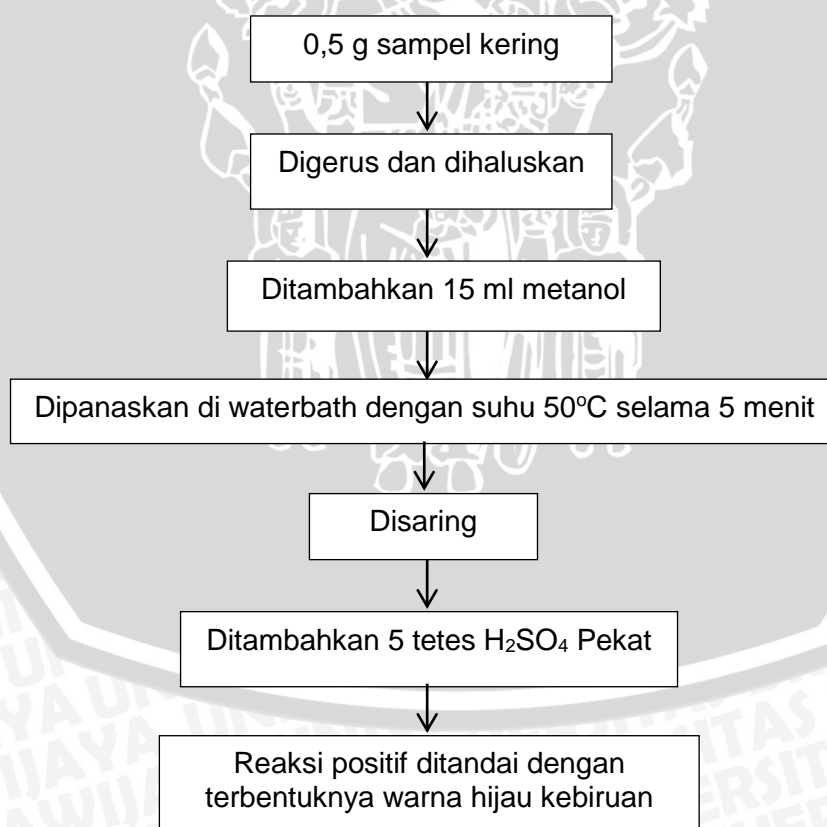
Gambar 5. Skema Pengujian Antioksidan dengan metode DPPH

3.6.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif yang terdapat pada rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium*. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, flavonoid, saponin, dan tannin. Metode uji didasarkan pada Harborne, (1987) dan Tarigan *et al.*, (2008).

- Flavonoid (Harborne, 1987)

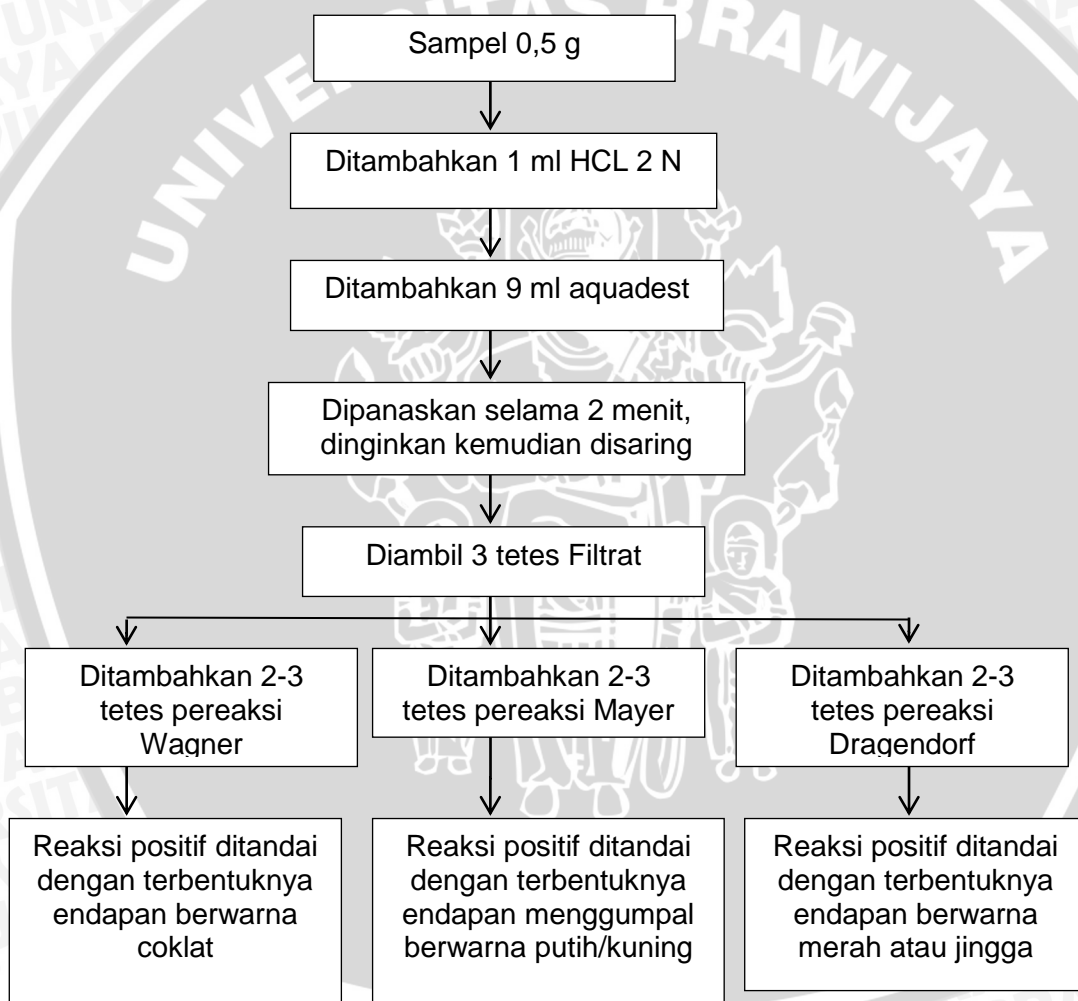
Sejumlah sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan 15 ml methanol dan dipanaskan di waterbath dengan suhu 50°C selama 5 menit kemudian disaring dan ditambahkan 5 tetes H₂SO₄ pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Prosedur uji Flavonoid lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema Uji Fitokimia Flavonoid

- **Alkaloid (Tarigan *et al.*, 2008)**

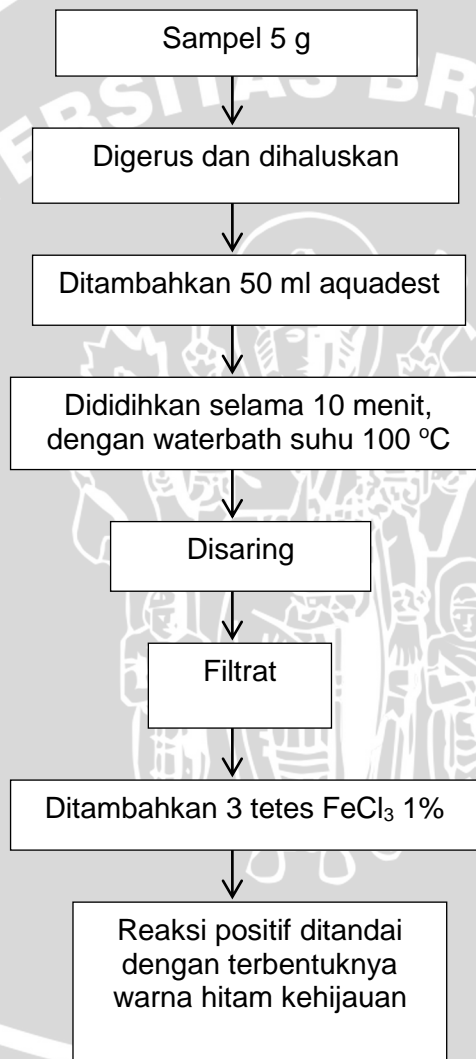
Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan beberapa tetes asam sulfat 2 N pada 1 g sampel, kemudian diuji dengan tiga pereaksi alkaloid yaitu, pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer, dan pereaksi Wagner. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff. Prosedur uji alkaloid lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Skema Uji Fitokimia Alkaloid

- **Tannin (Harborne, 1987)**

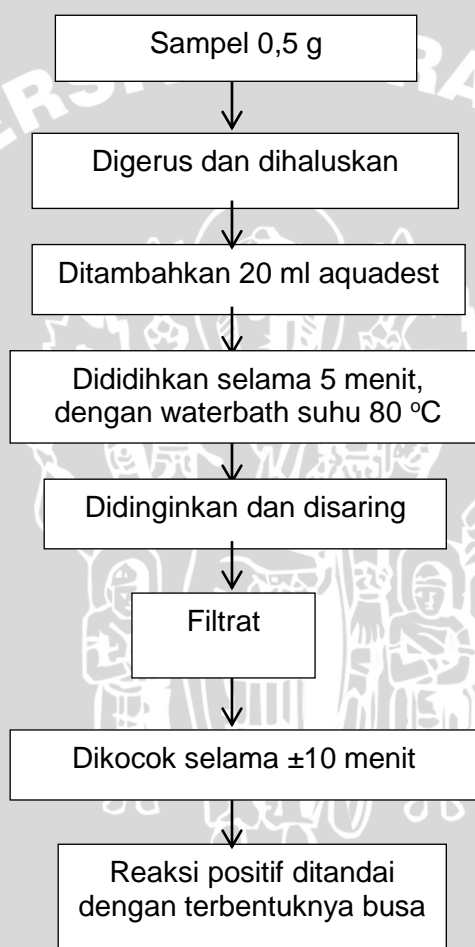
Sejumlah sampel sebanyak 5 g ditambahkan aquadest 50 ml dan dididihkan selama 10 menit dengan *waterbath* suhu 100°C. Sampel disaring dan diperoleh filtrat kemudian ditetesi 3 tetes FeCl₃ 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan pada campuran. Prosedur uji tannin lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Skema Uji Fitokimia Tannin

- **Saponin (uji busa) (Harborne, 1987)**

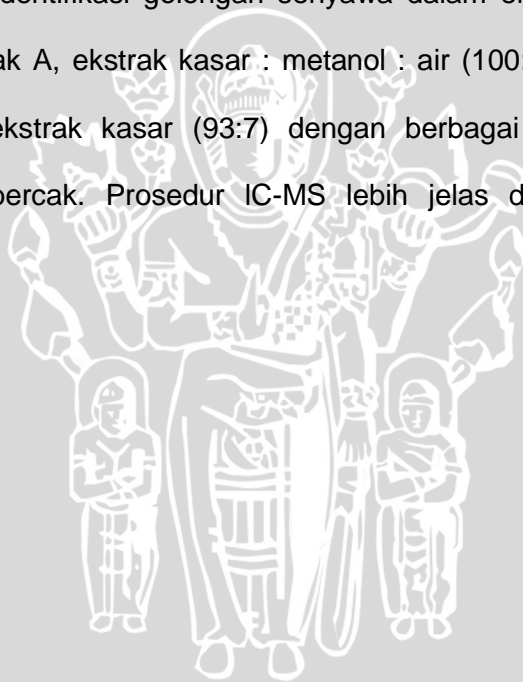
Saponin dapat dideteksi dengan cara 0,5 g sampel dilarutkan dalam aquadest 20 ml kemudian dipanaskan dengan waterbath pada suhu 80°C selama \pm 5 menit. Lalu sampel didinginkan, disaring dan dikocok selama 10 menit. Apabila terdapat busa menandakan adanya senyawa saponin yang terkandung di dalam sampel. Prosedur uji saponin lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 9.

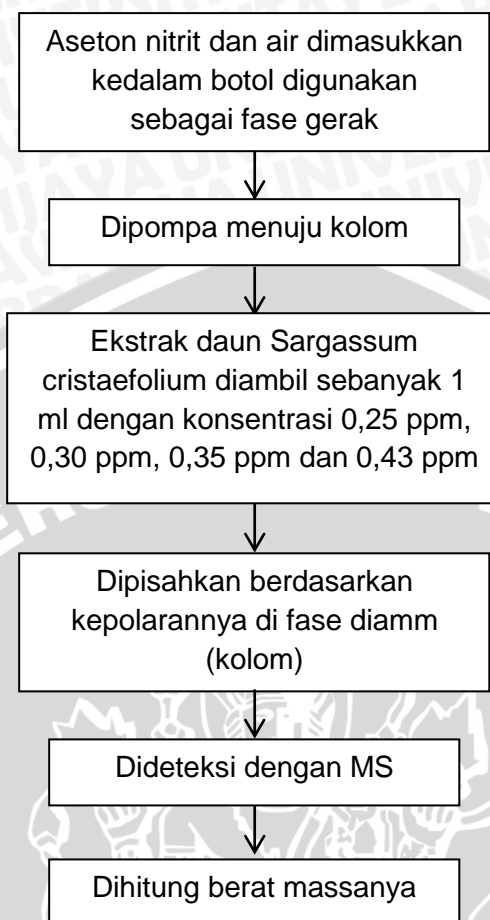


Gambar 9. Skema Uji Fitokimia Saponin

3.6.3 Analisa LC-MS (Wagner dan Bladt, 1996)

Analisa LC-MS pada sampel *Sargassum cristaefolium* dengan menggunakan standar kuersetin untuk mengetahui kadar kuersetin yang ada didalam ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium* dilakukan berdasarkan metode Wagner dan Bladt, (1996) yang telah dimodifikasi. Dibuat ekstrak *Sargassum cristaefolium* dengan kadar 1 mg/mL dalam pelarut metanol p.a. Injeksikan 20 μ L larutan tersebut ke dalam LC-MS dengan sistem fase gerak metanol : akuades (9:1); kolom RP-18 (25 cm, 5 μ m, ID 2 mm), laju alir fase gerak 1 mL/menit, detektor ESI-MS *positive ion mode*. Sistem elusi yang digunakan adalah isokratik pada suhu ruangan. Identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak aktif secara KLT dengan fase gerak A, ekstrak kasar : metanol : air (100:13,5:10) dan fase gerak B, toluena : ekstrak kasar (93:7) dengan berbagai macam pereaksi semprot penampak bercak. Prosedur IC-MS lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 10.





Gambar 10. Skema Analisa LC-MS

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian terhadap daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan perlakuan segar, kering, “teh” dan “teh seduh” meliputi beberapa parameter antara lain skrining fitokimia, aktivitas antioksidan, dan kadar kuersetin dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Hasil Penelitian Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Parameter	Segar	Kering	“Teh”	“Teh Seduh”
Skrining Fitokimia				
Alkaloid	-	-	-	Tidak Diuji
Flavonoid	++	++	++	
Tanin	+	+	+	
Saponin	-	-	-	
Aktivitas Antioksidan (ppm)				
Nilai IC50	186,725	164,211	170,199	308,61
Kadar kuersetin (µg/ml)				
Kandungan kuersetin	0,424	0,535	0,373	TT
Rendemen (%)				
Segar menjadi Kering	40,00			
Segar menjadi “Teh”	19,23			

Keterangan ++ = warna lebih jelas/endapan lebih banyak
 + = warna kurang jelas/endapan lebih sedikit
 – = tidak menunjukkan senyawa fitokimia
 TT = Tidak Terdeteksi

4.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman dengan melihat reaksi pengujian warna menggunakan suatu pereaksi warna (Dewi *et al.*, 2013). Skrining fitokimia daun alga coklat menggunakan pelarut metanol. Menurut Thompson (1985), metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid dari tanaman.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa kimia (bioaktif) yang positif terkandung dalam daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah golongan alkaloid, flavonoid, dan tannin. Menurut Putri (2011), metabolit sekunder dari

tanaman dapat dipengaruhi oleh perubahan kondisi lingkungan. Selain itu, proses pengolahan juga dapat mempengaruhi hasil uji fitokimia. Hasil skrining fitokimia daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Tabel 6. Hasil pengujian fitokimia selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.

Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (+/-)			Keterangan
		Segar	Kering	“Teh”	
Alkaloid	Wagner	-	-	-	Terbentuk endapan merah atau coklat
	Mayer	-	-	-	Terdapat endapan putih kekuningan
	Dragendrof	-	-	-	Terdapat endapan merah/jingga
Flavonoid	H ₂ SO ₄	++	++	++	Terbentuk warna hijau kebiruan
Tanin	FeCl ₃ 1%	+	+	+	Terbentuk warna hitam kehijauan
Saponin	-	-	-	-	Terbentuk busa

Keterangan ++ = warna lebih jelas/endapan lebih banyak

+ = warna kurang jelas/endapan lebih sedikit

- = tidak menunjukkan senyawa fitokimia

a) Alkaloid

Hasil pengujian alkaloid terhadap sampel segar, kering dan “teh” daun *Sargassum cristaefolium* menunjukkan bahwa bagian tersebut tidak memiliki kandungan alkaloid dengan tidak terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning yang telah diuji dapat dilihat pada Lampiran 6, dan terbukti dari hasil penelitian Renhoran, (2012), menunjukkan tidak terdeteksi adanya senyawa alkaloid pada rumput laut coklat. Uji fitokimia pada alkaloid sampel segar, kering, dan “teh” tidak terdeteksi. menurut Suradikusumah (1989) menyatakan bahwa reaksi utama yang mendasari biosintesis senyawa alkaloid adalah reaksi Mannich, yaitu suatu aldehida berkondensasi dengan suatu amina menghasilkan suatu ikatan karbon-nitrogen dalam bentuk imina atau garam iminum diikuti oleh

serangan suatu atom karbon nukleofilik yang dapat berupa suatu fenol. Tidak terdeteksinya alkaloid mengidentifikasi bahwa tidak adanya kandungan amina dalam sampel segar, kering, dan “teh” daun *Sargassum cristaefolium*.

b) Flavonoid

Hasil pengujian flavonoid terhadap sampel segar, kering, dan “teh” daun *Sargassum cristaefolium* menunjukkan bahwa bagian tersebut memiliki kandungan flavonoid dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang telah diuji dapat dilihat pada Lampiran 6, dan terbukti dari hasil penelitian Yunizal, (2004), menunjukkan terdeteksi adanya senyawa flavonoid pada rumput laut coklat *Sargassum* sp. Flavonoid merupakan senyawa polar yang larut pada pelarut polar, hal ini dibuktikan dengan terlarutnya senyawa flavonoid menggunakan pelarut metanol. Flavonoid umumnya merupakan komponen larut air, sehingga dapat diekstrak dengan pelarut polar dan tertinggal pada lapisan *aqueous*. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang potensial dan sangat efektif untuk digunakan sebagai antioksidan (Astawan dan Kasih, 2008).

c) Tanin

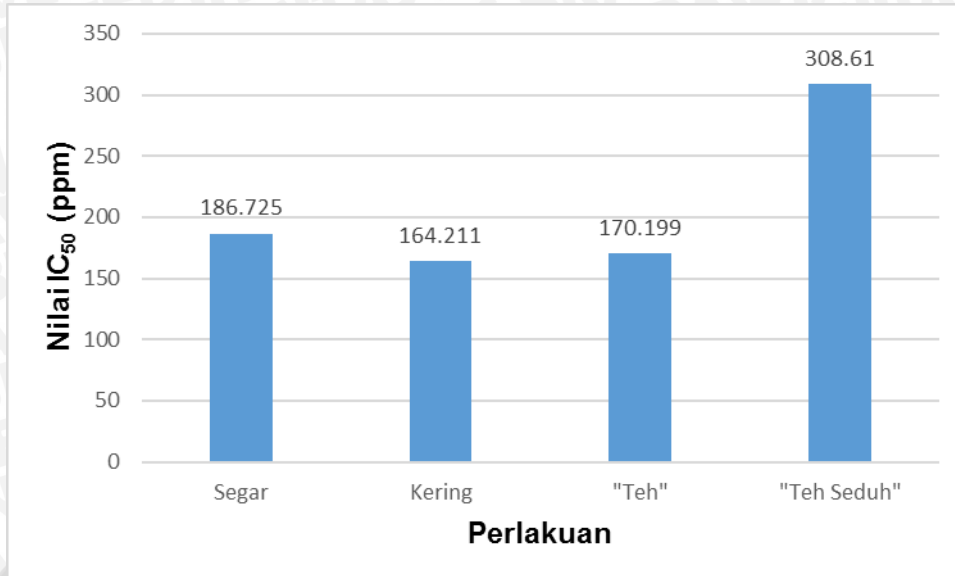
Hasil pengujian tanin terhadap sampel segar, kering, dan “teh” daun *Sargassum cristaefolium* menunjukkan bahwa bagian tersebut memiliki kandungan tanin dengan terbentuknya warna hitam kehijauan yang telah diuji dapat dilihat pada Lampiran 6, dan terbukti dari hasil penelitian Putri, (2011), menunjukkan terdeteksi adanya senyawa tanin pada rumput laut coklat *Sargassum* sp. Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat larut dalam air, gliserol, metanol, hidroalkoholik, propilenaglikol, tetapi tidak larut dalam benzene kloroform, eter, petroleum eter dan karbon disulfide (Jayalaxmi dan Mathew 1982 dalam Hilyatuzzahroh 2006).

d) Saponin

Saponin merupakan glikosida triterpenoid dan sterol, terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Saponin memiliki sifat seperti sabun yang menimbulkan busa apabila dikocok dalam air. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa pada *crude* tumbuhan (Harborne, 1987). Hasil uji fitokimia yang dilakukan pada sampel segar, kering, dan "teh" daun *Sargassum cristaefolium* menunjukkan tidak terbentuknya busa yang menandakan bahwa tidak ada kandungan senyawa saponin pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Hal ini mengidentifikasi bahwa senyawa saponin tidak terkandung dalam daun *Sargassum cristaefolium*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Renhoran (2012) yang menunjukkan tidak terkandungnya senyawa saponin dalam rumput laut *Sargassum polycystum*

4.2 Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan DPPH menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm menunjukkan bahwa daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* memiliki aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} dapat didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas, yaitu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi *crude* ekstrak *Sargassum cristaefolium* (sumbu x) dengan persen penangkapan radikal DPPH (5 inhibisi) (sumbu y). perhitungan persen inhibisi. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Gambar 11.



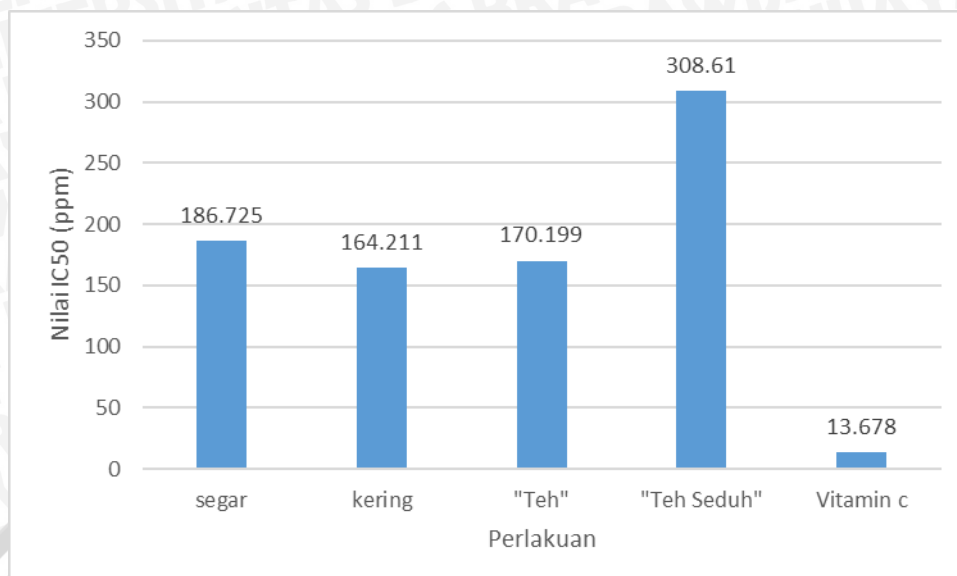
Gambar 11 .Nilai IC₅₀ Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas

DPPH

Dari Gambar 11. menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ terkecil dimiliki oleh sampel kering sebesar 164,211 ppm dan nilai IC₅₀ terbesar pada sampel segar sebesar 186,725 ppm, sampel "teh" sebesar 170,199 ppm dan "teh seduh" sebesar 308,61 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan lemah dimana IC₅₀ <200 ppm, sedangkan pada sampel "teh seduh" menunjukkan tidak terdeteksi adanya aktivitas antioksidan dimana IC₅₀ >200 ppm. Hal ini dikarenakan ekstrak tersebut masih dalam bentuk ekstrak kasar yang belum dimurnikan sehingga diduga masih terdapat senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan. Senyawa lain tersebut terikut ekstrak dalam pelarut selama proses ekstraksi (Renhoran, 2012). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Muawwanah *et al.*, (1997) terhadap ekstrak alga laut *Sargassum sp.* basah memperlihatkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan pelarut metanol sedangkan ekstrak *Sargassum sp.* kering kurang mempunyai aktivitas antioksidan.

Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin tinggi. Nilai IC_{50} dapat dikatakan berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Menurut Tuarita (2013), perbedaan aktivitas antioksidan pada *Sargassum cristaefolium* diduga disebabkan oleh (1) pelarut yang dipergunakan dalam proses ekstraksi (metanol) dan (2) adanya pengaruh reaksi dengan basa pada struktur polifenol (flavonoid) pada perlakuan basa kering.

Pembandingan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan ini adalah vitamin C. Menurut Molyneux (2004), asam asorbat (vitamin C) merupakan standar yang biasa digunakan dalam setiap pengujian antioksidan. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari larutan vitamin C sebesar 13,678 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dimana IC_{50} vitamin C kurang dari 50 ppm. Nilai aktivitas antioksidan vitamin C lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum cristaefolium*. Hal ini diduga karena ekstrak *Sargassum cristaefolium* masih dalam bentuk ekstrak kasar sehingga masih terdapat senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak *sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 12.



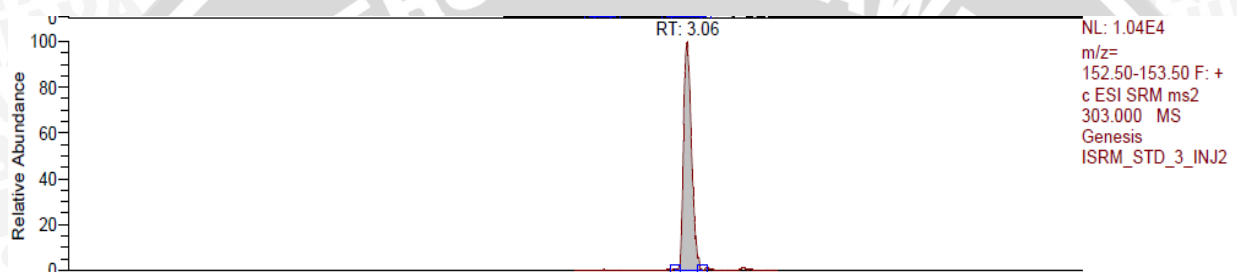
Gambar 12. Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak *Sargassum cristaefolium*

4.3 Pengukuran Kandungan Kuersetin dengan Metode LC-MS

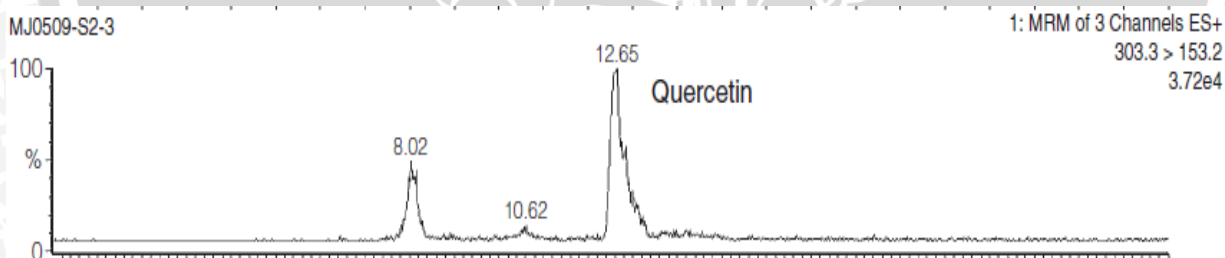
Kandungan kuersetin dalam daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* diuji dengan metode *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS). Uji konfirmasi LC-MS dilakukan untuk mengetahui fragmentasi ion dari senyawa yang dianalisis. Uji konfirmasi merupakan uji kualitatif pada LC-MS dengan mengetahui fragmentasi ion dari senyawa. Uji konfirmasi dilakukan sebelum uji kesesuaian sistem untuk memperkuat identifikasi kualitatif dari kuersetin dengan melihat perbandingan massa terhadap muatan. Senyawa kuersetin pada *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry* dapat diketahui dari terbentuknya fragmen-fragmen ion pada perbandingan massa terhadap muatan (m/z) sebesar 303.3 m/z (Chih Lin *et al.*, 2008).

LC-MS memberikan informasi lebih struktur daripada HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Pada LC-MS, identifikasi senyawa secara kualitatif lebih spesifik dibandingkan dengan HPLC karena pada LC-MS tidak

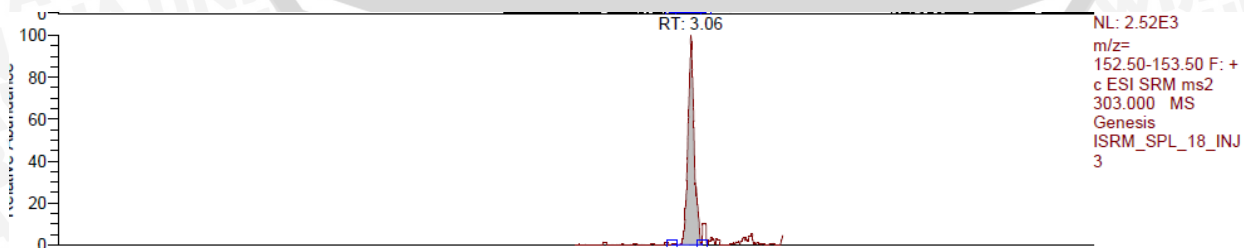
hanya waktu retensi yang diamati namun juga pemisahan ion suatu senyawa (Turnipseed *et al.*, 2008; Lutter *et al.*, 2011). Kromatogram standar kuersetin 303 m/z dapat ditemukan pada waktu retensi 3.06 menit dapat dilihat pada Gambar 13. Hasil kromatogram kuerstin dapat dilihat pada Gambar 14. literatur pembanding (Chih Lin *et al.*, 2008), Gambar15. sampel segar, Gambar 16. sampel kering, Gambar 17 sampel “teh”, dan hasil pengukuran kandungan kuersetin pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 18.



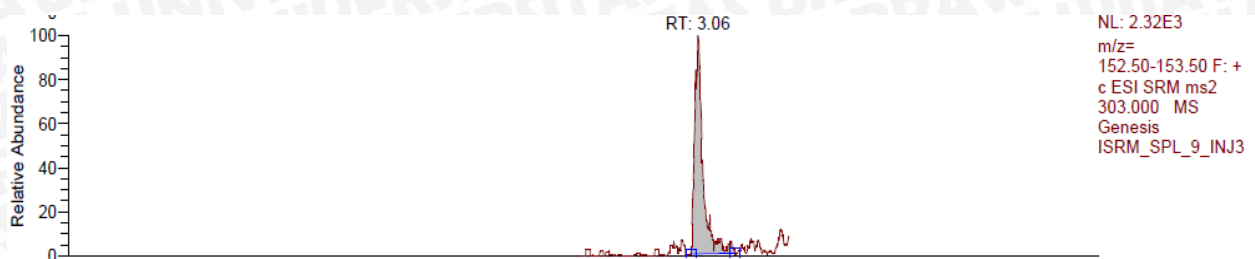
Gambar 13. Kromatogram Standar Kuersetin



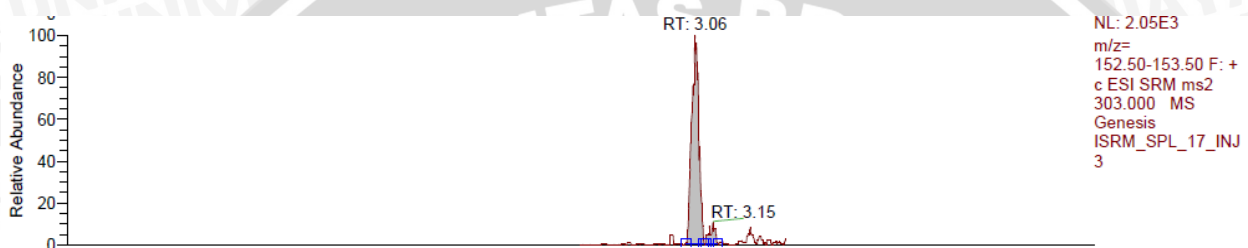
Gambar 14. Literatur Pembanding (Chih Lin *et al.*, 2008)



Gambar 15. Kromatogram Sampel Segar

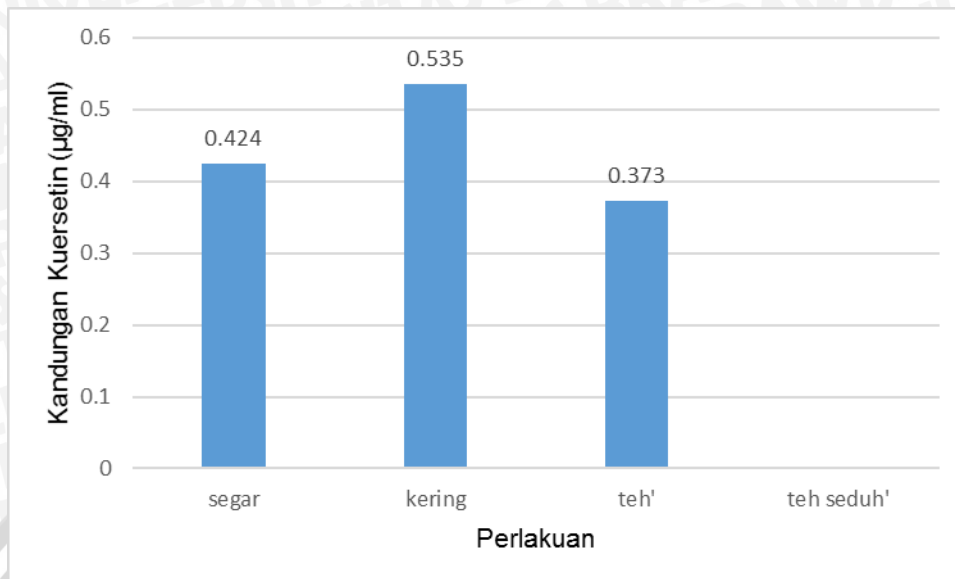


Gambar 16. Kromatogram Sampel Kering



Gambar 17. Kromatogram Sampel "teh"

Hasil analisa kromatogram dari *Sargassum cristaefolium* sampel segar, kering dan 'teh' diidentifikasi dengan perbandingan massa dengan muatan (m/z) sebesar 303 m/z , selanjutnya dibandingkan dengan literatur Chih Lin *et al.*, (2008) yang sama dengan perbandingan massa dengan muatan (m/z) sebesar 303.3 m/z . Dari gambar diatas, hasil analisa menunjukkan bahwa menurut literatur Chih Lin *et al.*, (2008), bahwa kandungan kuersetin pada *podophyllin* terdeteksi pada waktu retensi 12,5 menit.



Gambar 18. Hasil Pengukuran Kandungan Kuersetin pada Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Gambar 18. memperlihatkan bahwa kandungan kuersetin terbanyak terdapat pada daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan perlakuan kering sebesar 0,535 µg/ml, terbanyak kedua pada perlakuan segar sebanyak 0,424 µg/ml, dan terbanyak ketiga pada perlakuan “teh” sebesar 0,373 µg/ml, sedangkan pada perlakuan “teh seduh” tidak terdeteksi adanya kandungan kuerstein karena pada proses “teh seduh” ini langsung diseduh menggunakan air, sedangkan sifat dari kuersetin yaitu tidak larut pada air, karena air hanya bisa melarutkan, tetapi tidak bisa menarik senyawa aktif dalam sel yang kita inginkan. Berdasarkan penelitian Santoso et al., (2004), kandungan kuersetin pada alga coklat *Undara pinnarifida* asal jepang sebesar 202±26 µg/g.

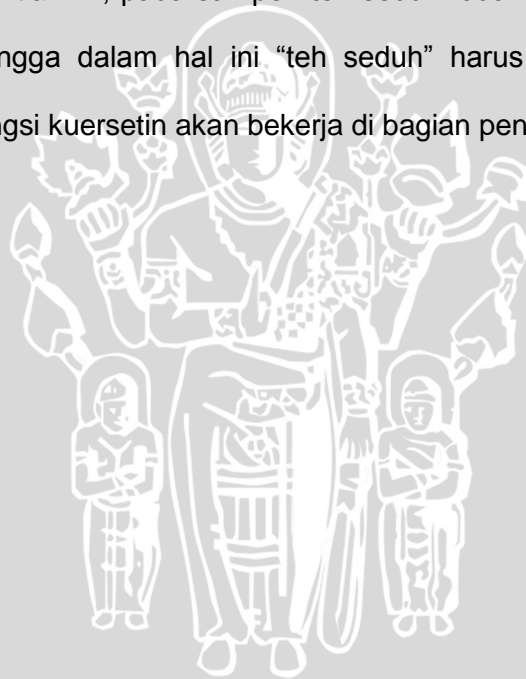
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai studi kadar kuersetin pada “teh” daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* didapatkan kadar kuersetin pada sampel segar, kering, “teh”, dan “teh seduh” berturut-turut sebesar 0,424 µg/ml, 0,535 µg/ml, 0,373 µg/ml dan pada “teh seduh” tidak terdeteksi.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini, pada sampel “teh seduh” tidak terdeteksi adanya kadar kuersetin, sehingga dalam hal ini “teh seduh” harus diminum dengan ampasnya. Karena fungsi kuersetin akan bekerja di bagian pencernaan.



DAFTAR PUSTAKA

- Aguirre, L., Arias, N., Macarulla, M.T., Gracia, A., Portillo, M.P., 2011. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *J. Open Nutraceuticals*. **4**: 189-198.
- Ahmad, M.A. 2011. Alga Coklat (Phaeophyceae). Universitas Khairun. Ternate.
- Algaebase. 2013. Klasifikasi Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*). http://www.algaebase.org/search/species_id=4088. Diakses tanggal 10 Januari 2014. Pukul 10.00 WIB.
- Andayani, R., Y. Lisawati dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersium* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. **13** (1): 1410-0177.
- Astawan M dan Kasih AL. 2008. Khasiat warna-warni makanan. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Atmadja, W. S., A. Kadi, Sulistijo dan R. Satari. 1998. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Chi Lin, M., J. Huei Lin., S. Kong Chen., Y. Wen Cheng, dan H. Wen Cheng. 2008. Simultaneous Determination of Podophyllotoxin, Quercetin, and Kaempferol in Podophyllin by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*. **16**(6): 29-40.
- Erlund, I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res* 2004; **24**: 851-874.
- Fahri, M., Y. Risjani., dan P. Sasangka. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Serta Uji Toksisitas Ekstrak Metanol dari Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*). [Skripsi]. Universitas Brawijaya.
- Fitrya. 2011. Flavonoid Kuersetin dari Tumbuhan Benalu Teh (*Scurulla atropurpurea* BL. Dans). Kimia. Fakultas MIPA. [Skripsi] Universitas Sriwijaya. Indonesia
- Haghiack, M., dan T. Walle. 2005. Quercetin Induces Necrosis and Apoptosis in SCC-9 Oral Cancer Cells. *Nutrition and Cancer*. **53** (2):220-231.
- Hanani, E., A. Mun'im, dan R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp. Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. **2** (3): 127-133. ISSN: 1693-9883.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi ke-2. Penerbit ITB: Bandung.
- Hartoyo, A. 2003. Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan. Kanasius. Yogyakarta.

- Hertog, M.G.L., P.C.H. Hollman, M.B. Katan. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, 1992b, **40**: 2379–2383.
- Hilyatuzzahroh, A. 2006. Korelasi Kadar Tanin Pada Produk Teh Komersial dengan Aktivasnya Sebagai Senyawa Antibakteri EPEC K1-1. [Skripsi]. FMIPA-IPB. Bogor.
- Kadi, A. 2005. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia. *Oseana*. **30** (4): 19-29.
- Komaharyati, A., dan Paryanti. 2012. Ekstrak Daun Sirih Sebagai Antioksidan pada Minyak Kelapa. [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kris-Etherton, P.M., dan C.L. Keen. 2002. Evidence That The Antioxidant Flavonoids in Tea and Cocoa Are Beneficial for Cardiovascular Health. In "Current Opinion in Lipidology". Lippincott Williams & Wilkins. **13**: 41-49.
- Lamson, W., M.S. Davis, N.D. Brignall, dan S. Matthew. 2000. Antioxidants and cancer III: Quercetin. *Alternative Medicine Review Volume 5 Number 3*.
- Lathifah, Q.A. 2008. Uji Efektivitas Senyawa Kasar Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi L.*) dengan Variasi Pelarut. [Skripsi]. Universitas Islam Indonesia. Malang.
- Lutter, P., M.C.S. Perroud., E.C. Gimenez, L.Meyer, T. Goldmann , M.C. Bertholet, P. Mottier, A. Desmarchelier, M. Florence, C. Perrin, F. Robert, T. Delatour. 2011. Screening and confirmatory methods for the determination of melamine in cow's milk and milk-based powdered infant formula: validation and proficiency-test of ELISA, HPLC-UV, GC-MS and LC-MS/MS. *Food Control*. **22**:903-913.
- Mahmood, T., N. Akhtar, dan B.A. Khan. 2010. *The Morphology, Characteristics and Medicinal Properties of Camelia Sinensis Tea*. *Journal of Medicinal Plants Research*. **4** (19).
- Miller, A.L. 2001. Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage. *Alt. Med. Rev* 1996: **1**(2): 103-111.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhidrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J.Sci.Technol*. **26** (2): 211-219.
- Muawwanah, I., Setyaningsih, W. Zahiruddin, dan J. Anggadiredja. 1997. Ekstraksi Antioksidan dari Alga Laut Sargassum sp. dan Efektivitasnya dalam Menghambat Kerusakan Awal Emulsi Minyak Ikan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. III. No. 1. THP 6-9.

- Narbuko, C., dan A. Achmadi. 2010. Metodologi Penelitian. Bumi Aksara. Jakarta. 44 hlm.
- Nofiani, R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*. **10** (2): 120-125.
- Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara, dan M. Ono. 2001, "Modification Method DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) Radical Scavenging Activity Of Flavonoids Obtained From Some Medicinal Plants", *Biol. Pharm. Bull.*, **24** (10): 1202-1205.
- Oktarianan, E.W. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eranol Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galangan*) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil). [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Podungge, F. 2012. Kandungan Fenol, Senyawa Fitokimia, dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Padina australis*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Putranti, R.I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. [Tesis]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Putri, K.H. 2011. Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargassum sp.*) Sebagai Serbuk Minuman pelangsing Tubuh. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rasyid, A. 2004. Berbagai Manfaat Alga. *Oseana*. **29** (3): 9-15. ISSN: 0216-1877.
- Renhoran, M. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Romansyah, Y. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidan Karang Lunak *Sarcophyton sp.* Alami dan Transplantasi di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sandjaja, B., dan A. Heriyanto. 2006. Panduan Penelitian. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta. Hlm: 109-110.
- Santoso, N. Aryudhani dan S. H. Suseno. 2009. Kandungan Senyawa Fenol Rumput Laut Hija *Caulerpa racemosa* dan Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Kelautan Nasional*. **2**: 109-118.
- Septiana, A., Tri, dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*. **6** (1).
- Sirait, M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Surachmad, T D. 2004. Karya Ilmiah: Dasar-Dasar Pengawetan. Universitas Brawijaya. Malang.

- Suradikusumah, E. 1989. Kimia Tumbuhan. Bogor: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati IPB.
- Tarigan, J.B.R., C.F. Zuhra, dan H. Sihotang. 2008. Skrining Fitokimia Tumbuhan yang Digunakan Oleh Pdagang Jamu Gendong Untuk Merawat Kulit Wajah di Kecamatan Medan Baru. *Jurnal Biologi Sumatera*. **3** (1):1- 6. ISSN 1907-5537.
- Thompson, E.B. 1985. Drug Bioscreening. Graceway Publishing Company Inc. Pp.40, 118. America.
- Tjandra, O., R. Tatty, dan Zulphiri. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambut Rapih. [Skripsi]. Universitas Tarumenegara. Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 2001. Taksonomi Tumbuhan: Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- _____. 2005. Taksonomi Tumbuhan: Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Truus, K., M. Vaher, dan I. Taure. 2001. *Algal Biomass from Fucus vesiculosus (Phaeophyta): Investigation of the Mineral and Alginate Components*. *Proc Estonian Acad Sci Chem*. **50** (2): 95-103.
- Tuarita, M.Z. 2013. Karakteristik Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Polifenol Teh Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*) dengan Pelarut Metanol. [Skripsi]. Universitas Brawijaya. Malang.
- Turnipseed, S., C. Casey, C. Nochetto, dan D.N. Heller. 2008. Determination of melamine and cyanuric acid in infant formula using LC-MS/MS. *FDA Lab Inform Bull*. LIB. 4421.
- Wagner, H., dan S. Blatt. 1996. *Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography atlas*, 2nd edition. 349-364. Springer-Verlag, Berlin.
- Yulianto, K. 2010. Sistem Reproduksi Alginat: Percobaan Produksi Alginat Berbagai Grade pada Skala Semi Pilot dengan Teknologi Meshsize Filtration dan Potensi Bahan Baku *Sargassum duplicatum* C. Agardh serta Usaha Budidayanya. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Yunizal, S. 2004. Teknik Pengolahan Alginat. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Yuswantina, R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Rhizoma Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil). Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.

LAMPIRAN 1. FOTO-FOTO PEMBUATAN “TEH” ALGA COKLAT



Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* dicuci dengan air mengalir (menghilangkan kotoran yang masih menempel)



Pembuatan Larutan Kapur pH 11 (menggunakan pH meter dan pH paper)



Perendaman dalam larutan kapur dengan pH 11 selama 6 jam



Pemotongan menjadi ukuran yang lebih kecil

Di vacuum dryer dengan suhu 80 °C selama 20 menit



LAMPIRAN 2. FOTO-FOTO PROSES EKSTRAKSI PADA SAMPEL



Sampel segar digunting

Diangin-anginkan



Ditimbang sampel sebanyak 25 g (untuk perlakuan segar) dan 10 g (untuk perlakuan kering dan basa kering)



Dimaserasi dengan metanol selama 2x24 jam dan dibungkus alufo



Disaring menggunakan kertas saring



Diuapkan pada rotary evaporator

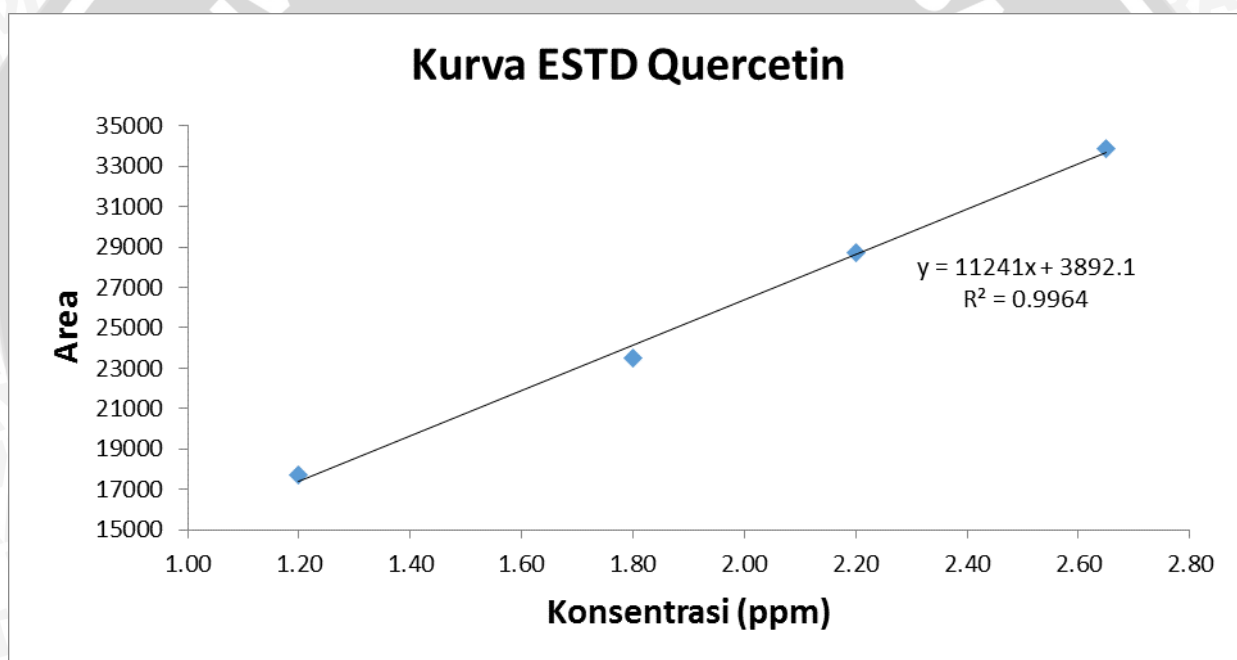


Hasil ekstrak disimpan pada botol yang telah dibungkus alufo

LAMPIRAN 3. ANALISIS KADAR QUERCETIN (STANDAR QUERCETIN)

Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

No	Nama Standard	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Area	Persamaan Garis
1	ISRM_STD_1_INJ3	1.20	17,702.44	$y = 11241x + 3892.1$
2	ISRM_STD_2_INJ3	1.80	23,517.81	
3	ISRM_STD_3_INJ2	2.20	28,733.85	
4	ISRM_STD_5_INJ2	2.65	33,854.30	



LAMPIRAN 4. DATA HASIL UJI LC-MS

No	Nama Sampel	Nama File	Berat (g)			Area	Teukur (µg/ml)	Terhitung (µg/ml)
			Sampel	Spike	Total			
1	Daun / 'Teh '	ISRM_SPL_2_INJ2	0.9950	0.8319	1.8269	68.47	TT	TT
2	Daun Kering	ISRM_SPL_9_INJ3	0.7651	0.8400	1.6051	5,815.61	0.255	0.535
3	Daun Basa Kering	ISRM_SPL_17_INJ3	0.7737	0.8501	1.6238	4,912.68	0.178	0.373
4	Daun Segar	ISRM_SPL_18_INJ3	0.7478	0.8173	1.5651	5,200.78	0.202	0.424

Perhitungan Uji LC-MS

Rumus :

$$\text{Terhitung} = \frac{(\text{Terukur} \times \text{total}) - (0,2 \times \text{spike})}{\text{berat sampel}}$$

Sampel daun segar

$$\text{Terhitung} = \frac{(0,202 \times 1,5651) - (0,2 \times 0,8173)}{0,7478}$$

$$= \frac{0,31615 - 0,16346}{0,7478}$$

$$= \frac{0,15269}{0,7478}$$

$$= 0,424$$

Sampel daun kering

$$\text{Terhitung} = \frac{(0,256 \times 1,6051) - (0,2 \times 0,8400)}{0,7651}$$

$$= \frac{0,41090 - 0,168}{0,7651}$$

$$= \frac{0,2429}{0,7651}$$

$$= 0,535$$

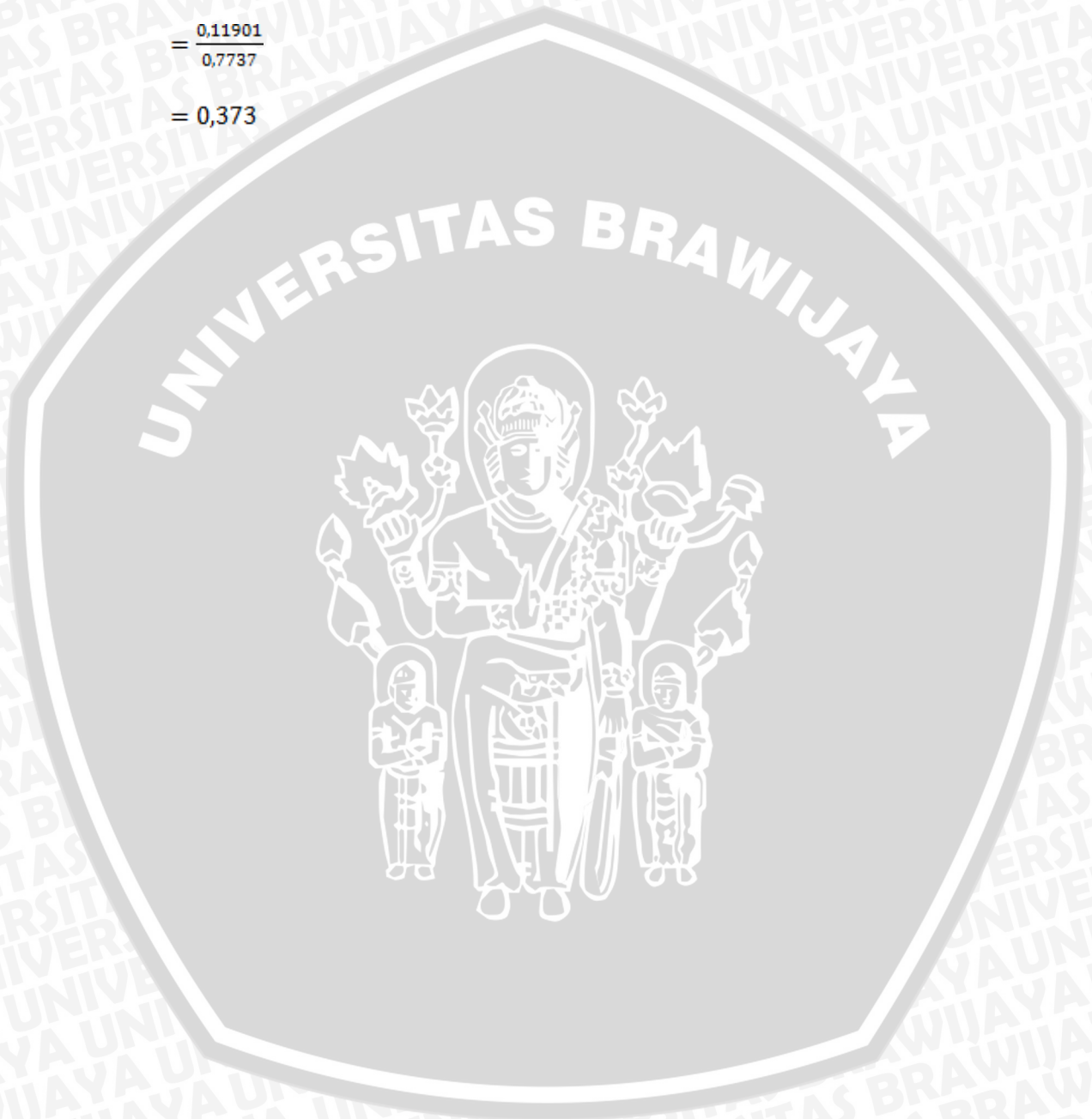
Sampel "teh"

$$\text{Terhitung} = \frac{(0,178 \times 1,6238) - (0,2 \times 0,8501)}{0,7737}$$

$$= \frac{0,28903 - 0,17002}{0,7737}$$

$$= \frac{0,11901}{0,7737}$$

$$= 0,373$$

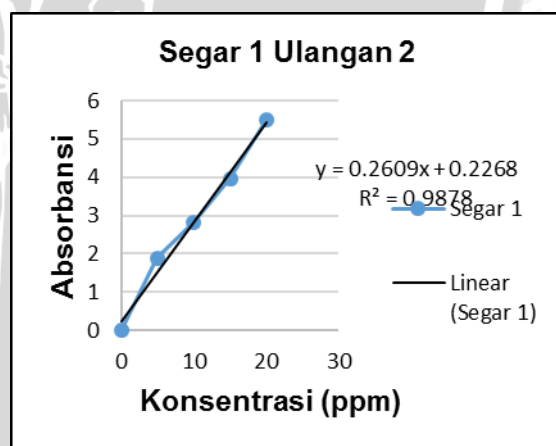
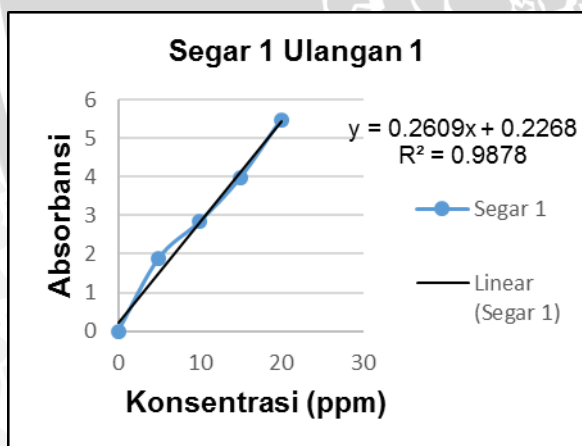


LAMPIRAN 5. DATA UJI DPPH

Segar Ulangan 1

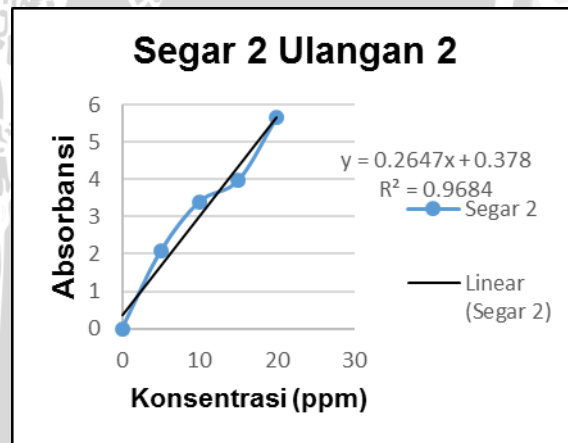
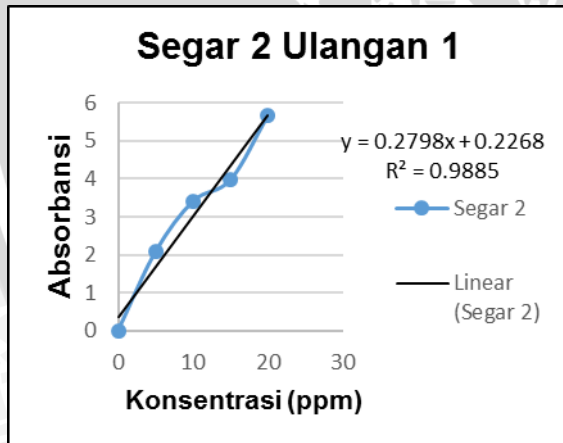
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m simpl	Abs	% aktvts	IC ₅₀ (ppm)		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	190,775	190,775	190,775
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.52	1.701			
	2	0.2	0.519	1.890			
10	1	0.2	0.513	3.025			
	2	0.2	0.514	2.836			
15	1	0.2	0.507	4.159			
	2	0.2	0.508	3.970			
20	1	0.2	0.501	5.293			
	2	0.2	0.5	5.482			



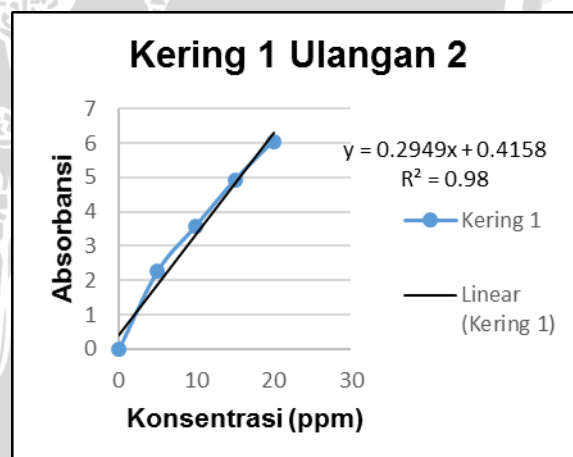
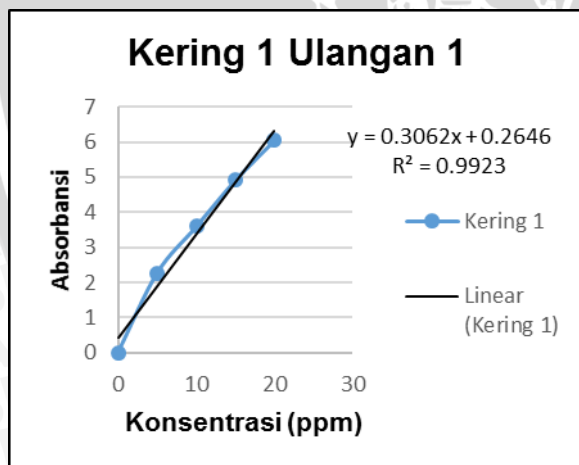
Segar Ulangan 2
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpI	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	177,888	187,465	182,676
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.519	1.890			
	2	0.2	0.518	2.079			
10	1	0.2	0.512	3.214			
	2	0.2	0.511	3.403			
15	1	0.2	0.507	4.159			
	2	0.2	0.508	3.970			
20	1	0.2	0.498	5.860			
	2	0.2	0.499	5.671			



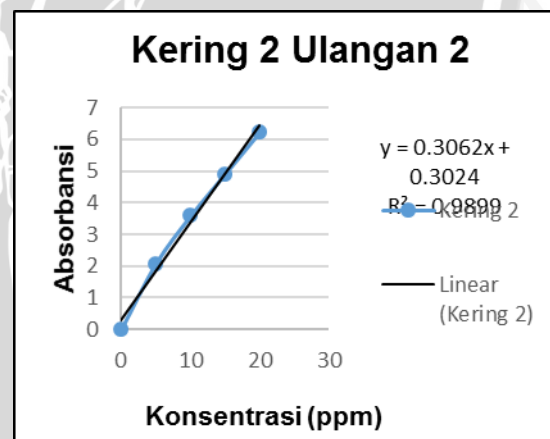
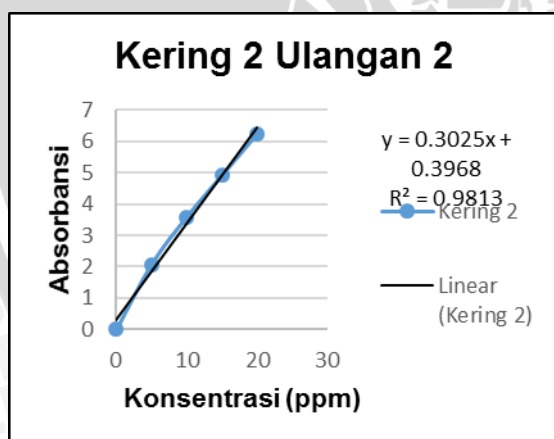
Kering Ulangan 1
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpI	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	162,427	168,139	165,283
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.518	2.079			
	2	0.2	0.517	2.268			
10	1	0.2	0.511	3.403			
	2	0.2	0.51	3.592			
15	1	0.2	0.503	4.915			
	2	0.2	0.503	4.915			
20	1	0.2	0.496	6.238			
	2	0.2	0.497	6.049			



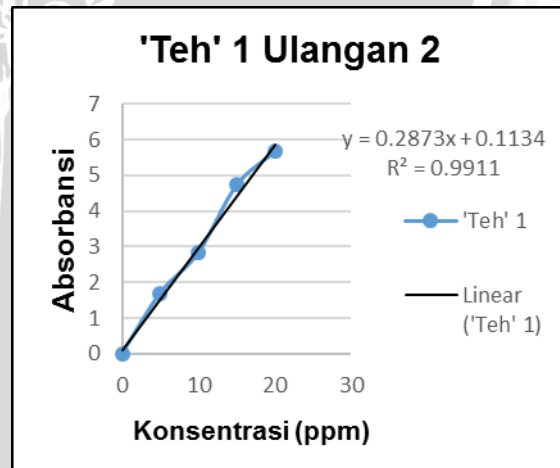
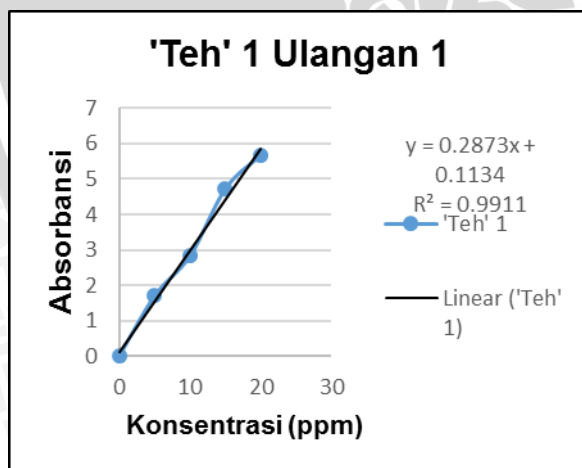
Kering Ulangan 2
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpI	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	163,977	162,304	163,140
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.517	2.268			
	2	0.2	0.518	2.079			
10	1	0.2	0.51	3.592			
	2	0.2	0.51	3.592			
15	1	0.2	0.502	5.104			
	2	0.2	0.503	4.915			
20	1	0.2	0.4965	6.144			
	2	0.2	0.496	6.238			



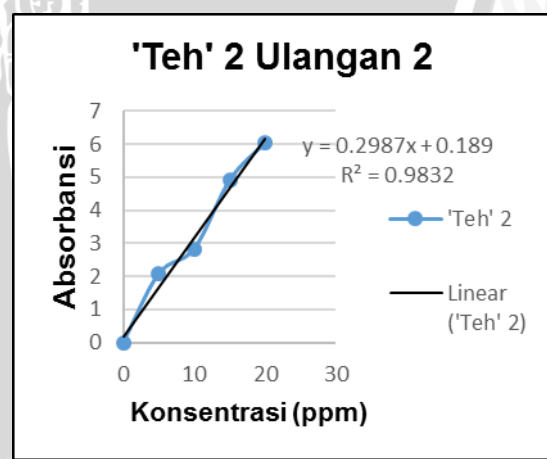
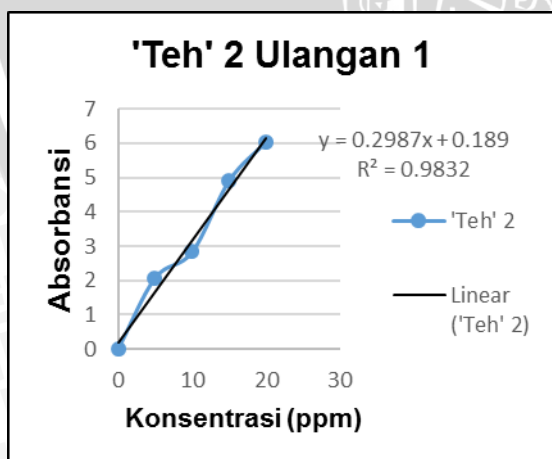
“Teh” Ulangan 1
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpI	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	173,639	173,639	173,639
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.519	1.890			
	2	0.2	0.52	1.701			
10	1	0.2	0.514	2.836			
	2	0.2	0.514	2.836			
15	1	0.2	0.503	4.915			
	2	0.2	0.504	4.726			
20	1	0.2	0.498	5.860			
	2	0.2	0.499	5.671			



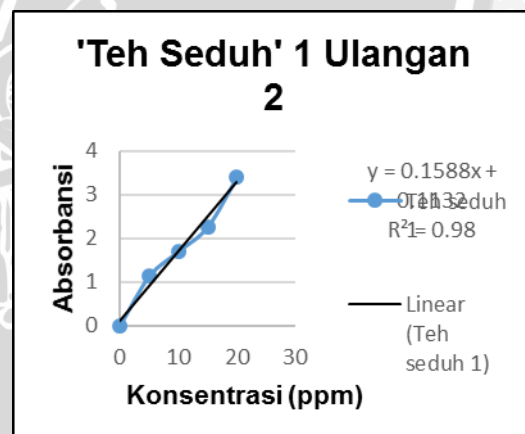
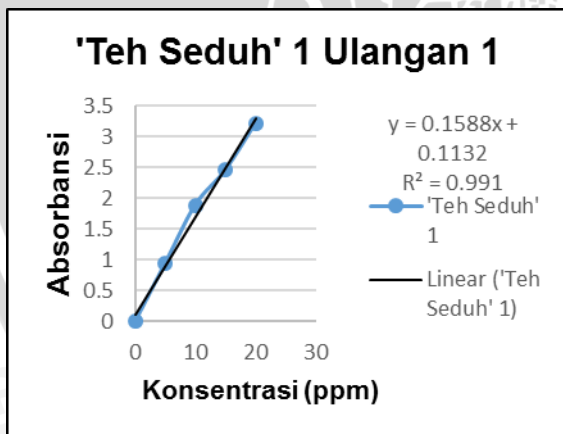
“Teh” Ulangan 2
 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	166,76	166,76	166,76
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.519	1.890			
	2	0.2	0.518	2.079			
10	1	0.2	0.513	3.025			
	2	0.2	0.514	2.836			
15	1	0.2	0.502	5.104			
	2	0.2	0.503	4.915			
20	1	0.2	0.497	6.049			
	2	0.2	0.497	6.049			



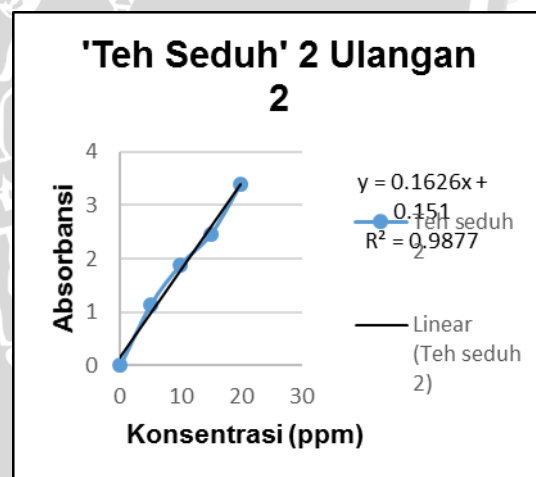
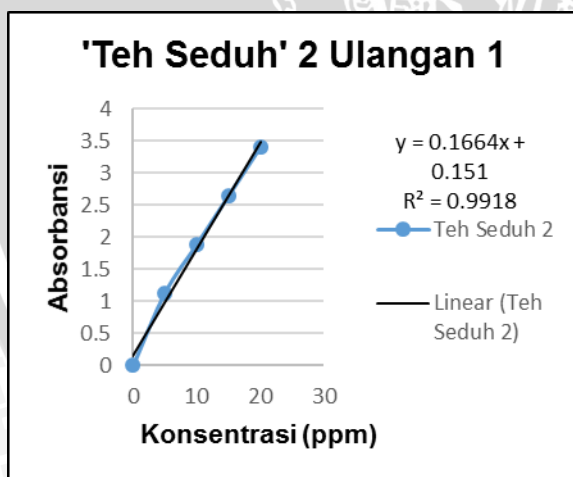
“Teh Seduh” Ulangan 1
 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	314.148	314.148	314.148
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.524	0.945			
	2	0.2	0.523	1.134			
10	1	0.2	0.519	1.890			
	2	0.2	0.52	1.701			
15	1	0.2	0.516	2.457			
	2	0.2	0.517	2.268			
20	1	0.2	0.512	3.214			
	2	0.2	0.511	3.403			



“Teh Seduh” Ulangan 2
 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC ₅₀		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	299.573	306.574	303.073
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.523	1.134			
	2	0.2	0.523	1.134			
10	1	0.2	0.519	1.890			
	2	0.2	0.519	1.890			
15	1	0.2	0.515	2.647			
	2	0.2	0.516	2.457			
20	1	0.2	0.511	3.403			
	2	0.2	0.511	3.403			



LAMPIRAN 6. FOTO UJI FITOKIMIA

✓ Uji Alkaloid



Perlakuan Segar

Perlakuan Kering

Perlakuan "Teh"

✓ Uji Flavonoid

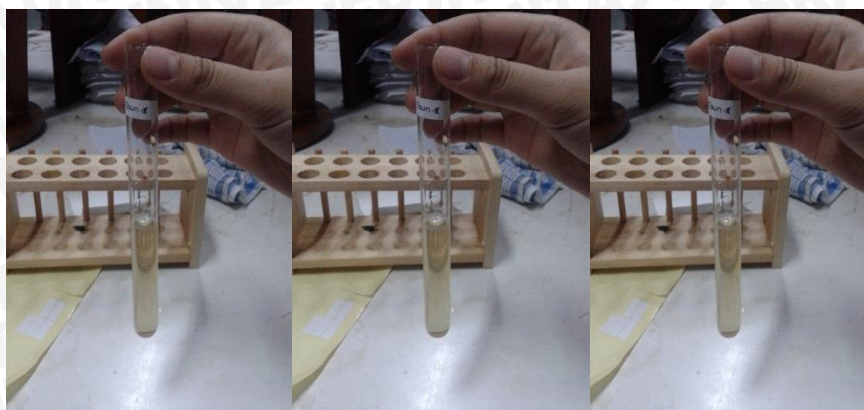


Perlakuan Segar

Perlakuan Kering

Perlakuan "Teh"

✓ Uji Saponin

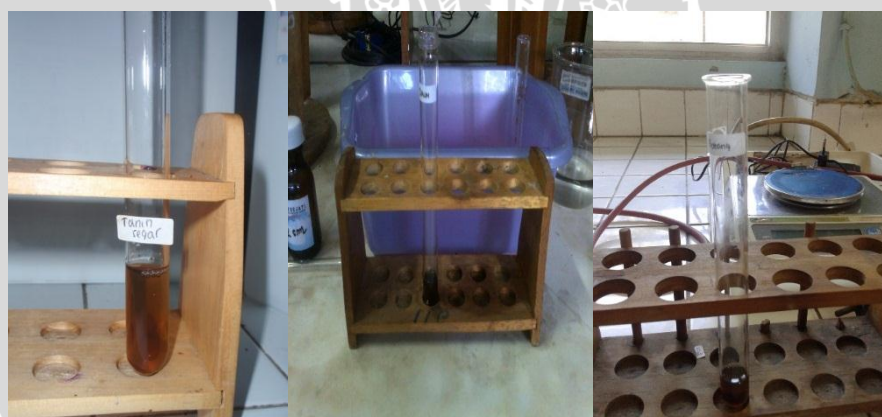


Perlakuan Segar

Perlakuan Kering

Perlakuan "Teh"

✓ Uji Tanin



Perlakuan Segar

Perlakuan Kering

Perlakuan "Teh"