

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian terhadap batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan perlakuan segar, kering, “teh” dan “teh seduh” meliputi beberapa parameter antara lain skrining fitokimia, aktivitas antioksidan, dan kadar epigalokatekin galat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Hasil Penelitian Batang Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Parameter	Segar	Kering	“Teh”	“Teh Seduh”
Skrining Fitokimia				
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	++	++	++	++
Saponin	-	-	-	-
Aktivitas Antioksidan (ppm)				
Nilai IC ₅₀	192,487	215,902	217,659	297,027
Kadar Epigalokatekin galat (µg/ml)				
EGCG	0,047	0,042	0,101	0,037
Rendemen (%)				
Segar mejadi 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

4.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah pemeriksaan kimia secara kualitatif terhadap senyawa-senyawa aktif biologis yang terdapat dalam simplisia tumbuhan. Senyawa-senyawa tersebut adalah senyawa organik, oleh karena itu dilakukan uji kualitatif seperti, alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid dari tanaman.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa kimia (bioaktif) yang positif terkandung dalam batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah golongan 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 batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil pengujian fitokimia selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 10.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Batang Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

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

Keterangan ++ = warna lebih jelas/endapan lebih banyak
 + = warna kurang jelas/endapan lebih sedikit
 - = tidak menunjukkan senyawa fitokimia

4.1.1 Alkaloid

Hasil pengujian alkaloid pada sampel segar, kering “teh” dan “teh seduh” batang *Sargassum cristaefolium* menunjukkan bahwa bagian tersebut tidak

memiliki kandungan alkaloid. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning pada sampel yang telah diuji. Berdasarkan penelitian Renhoran, (2012), menunjukkan tidak ada senyawa alkaloid pada rumput laut coklat *Sargassum sp.* Uji fitokimia pada alkaloid sampel segar, kering, "teh" dan "teh seduh" tidak terdeteksi. Menurut Suradikusumah (1989) reaksi utama yang mendasari biosintesis senyawa alkaloid adalah reaksi Mannich, yaitu suatu aldehida berkondensasi dengan suatu amina menghasilkan suatu ikatan karbon-nitrogen dalam bentuk amina 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, "teh", dan "teh seduh" batang *Sargassum*

4.1.2 Flavonoid

Hasil pengujian flavonoid terhadap sampel segar, kering, "teh" dan "teh seduh" batang *Sargassum cristaefolium* menunjukkan bahwa bagian tersebut memiliki kandungan flavonoid dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang telah diuji. Terbukti dari hasil penelitian Putri, (2011), menunjukkan hasil positif 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 mempunyai senyawa aktif yang potensial dan sangat efektif untuk digunakan sebagai antioksidan (Astawan dan Kasih, 2008).

4.1.3 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Saponin ditandai dengan timbulnya busa setelah pengocokan dengan akuades panas dan busa konstan

selama 15 menit. Busa tersebut terbentuk karena adanya gelembung-gelembung udara yang terjebak dalam larutan. Hasil uji fitokimia yang dilakukan pada sampel segar, kering, “teh” dan “teh seduh” batang *Sargassum cristaefolium* menunjukkan tidak terbentuknya busa yang menandakan bahwa tidak ada kandungan senyawa saponin pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Hal ini sama ditunjukkan pada penelitian Renhoran (2012) bahwa tidak ada senyawa saponin dalam rumput laut *Sargassum polycystum*.

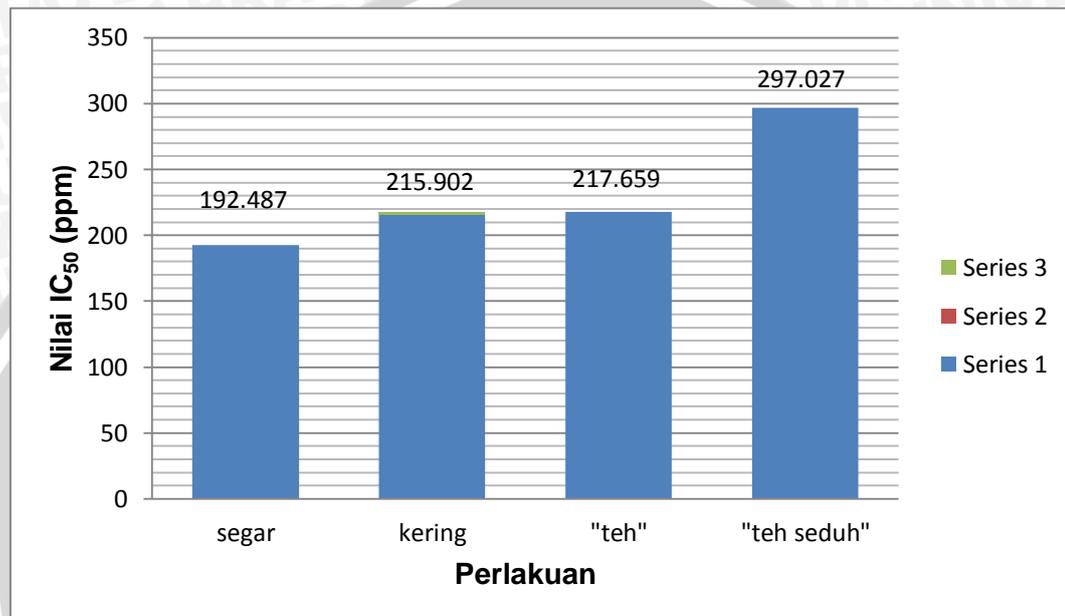
4.1.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat larut dalam air, gliserol, metanol, hidroalkoholik, propilena glikol, tetapi tidak larut dalam benzene, kloroform, eter, petroleum eter, dan karbon disulfida (Jayalaksmi *et al.*, 2006). Hasil uji fitokimia pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* menunjukkan hasil yang positif terhadap adanya senyawa tanin pada sampel segar, kering, “teh” dan “teh seduh”. Menurut Trono *et al.*, (2005), *Sargassum* yang mudah diperoleh di Indonesia mengandung banyak komponen kimia, salah satunya adalah tanin. Terbukti dari hasil penelitian Putri, (2011), menunjukkan terdeteksi adanya senyawa tanin pada rumput laut coklat *Sargassum* sp.

4.2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Kemampuan suatu senyawa atau sampel uji untuk menangkap radikal bebas DPPH merupakan suatu indikasi bahwa senyawa atau sampel uji tersebut memiliki aktivitas antioksidan (Rohman *et al.*, 2009). Nilai IC_{50} dapat diidentifikasi sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Nilai IC_{50} dapat diperoleh dengan cara persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak *Sargassum cristaefolium* (sumbu x) dengan persen penangkap radikal DPPH (%inhibisi) (sumbu y). Menurut Molyneux (2004), semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi

aktivitas antioksidannya. Senyawa dikatakan sebagai antioksidan kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC_{50} antara 50 – 100 ppm, sedang jika IC_{50} bernilai 100 – 150 ppm dan lemah jika IC_{50} bernilai 150 – 200 ppm. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.



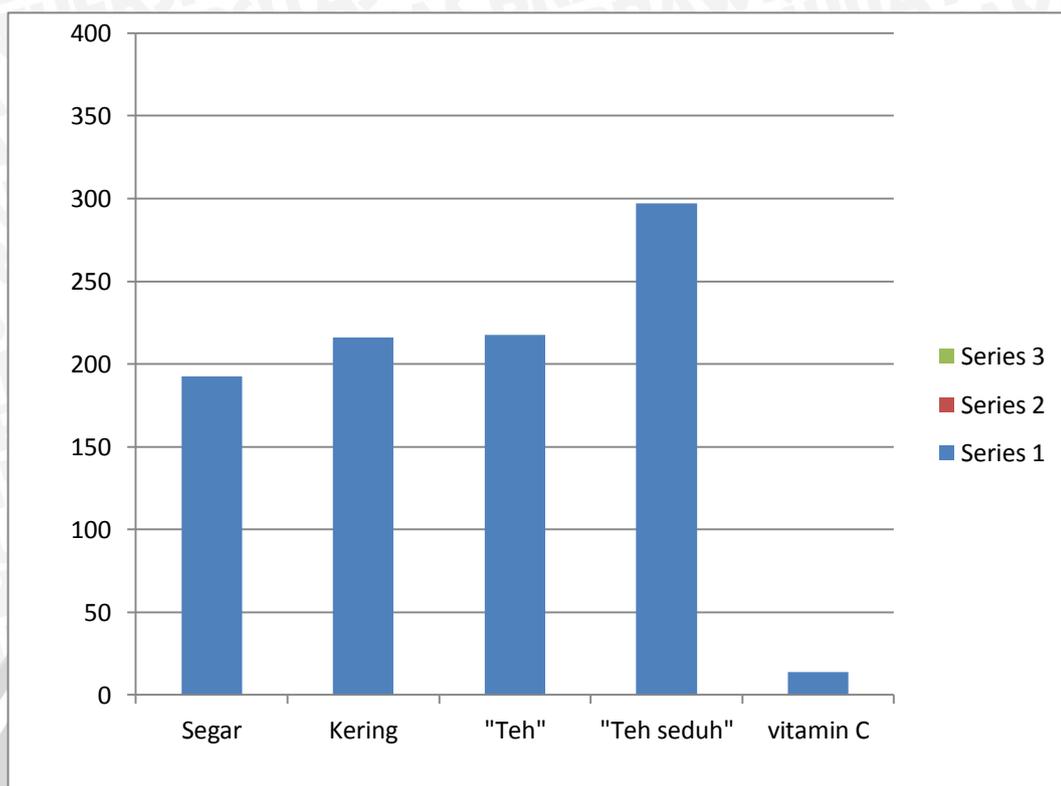
Gambar 4. Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

Gambar 4. menunjukkan bahwa nilai IC_{50} terkecil dimiliki oleh sampel segar sebesar 192,487 ppm, sampel kering sebesar 215,902 ppm, sampel "teh" sebesar 217,659 ppm, dan nilai IC_{50} terbesar pada sampel "teh seduh" sebesar 297,027 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan lemah dimana $IC_{50} \geq 200$ 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). 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).

Lemahnya aktivitas antioksidan pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* diduga disebabkan oleh: (1) umur tanaman dan spesies rumput laut yang digunakan pada penelitian (2) adanya jeda waktu pengujian (3) senyawa flavonoid pada ekstrak yang digunakan kurang murni. Menurut Ridho (2013), ekstrak senyawa flavonoid masih dalam bentuk ekstrak yang tidak murni sehingga ekstrak kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida yang dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Renhoran (2011) terhadap ekstrak kasar *Sargassum polycystum*, nilai aktivitas antioksidan ekstrak kasar dengan pelarut metanol masuk dalam kategori rendah.

Pembandingan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan ini adalah vitamin C. Vitamin C merupakan bagian dari antioksidan alami yang dapat kita peroleh dari makanan seperti sayur-sayuran dan buah. 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 5.



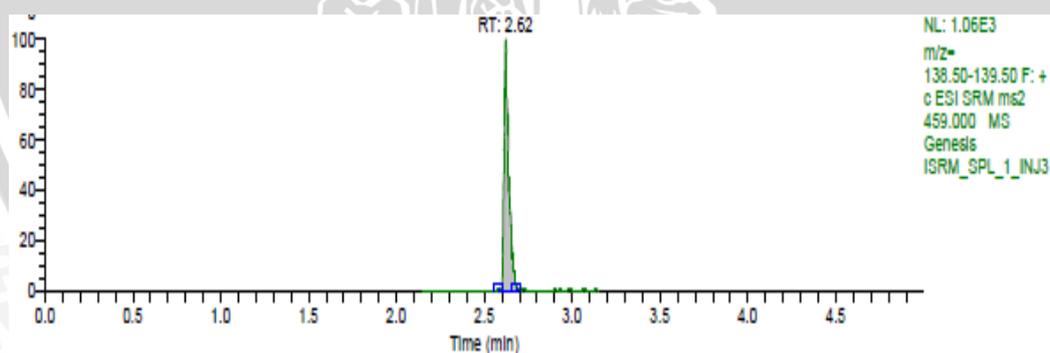
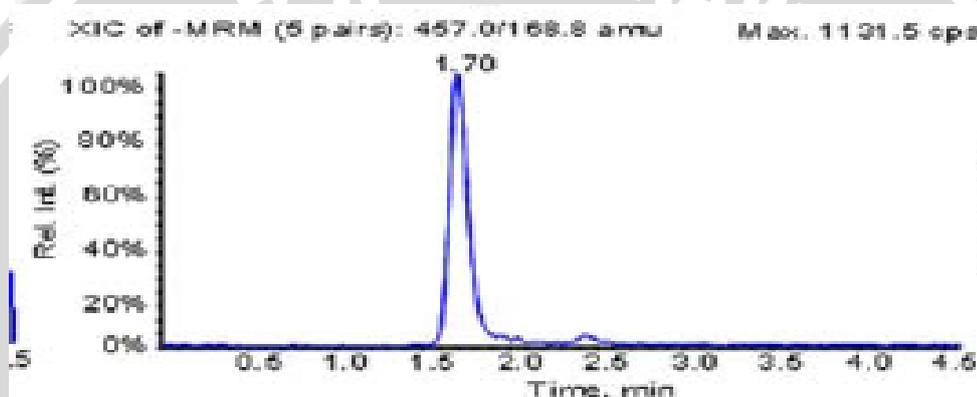
Gambar 5. Nilai IC₅₀ Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

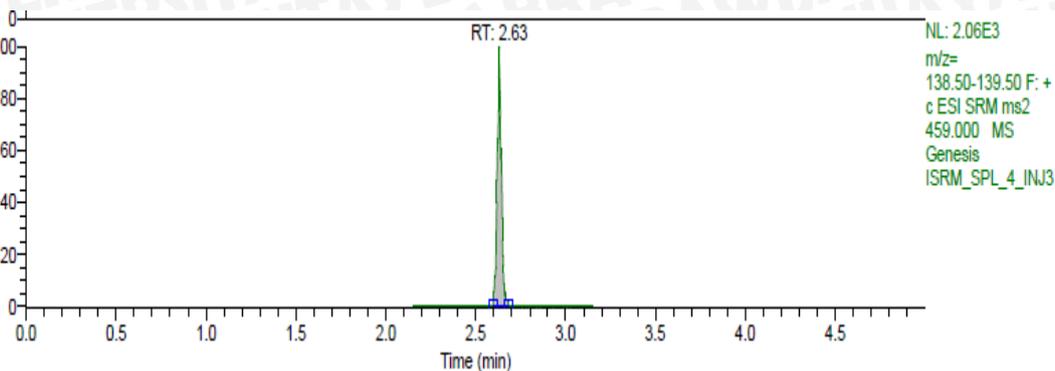
4.3. Pengukuran kadar Epigalokatekin Galat dengan metode HPLC – LC-MS

Kandungan kadar Epigalokatekin galat dalam batang alga coklat *Sargassum Cristaefolium* diuji dengan metode LC-MS. LC-MS/MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) merupakan suatu teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa.

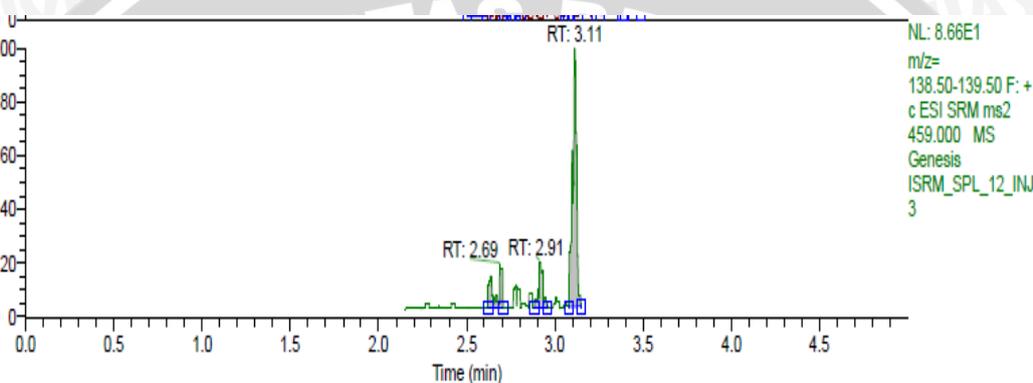
Analisis Senyawa Epigalokatekin galat pada *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry* dapat diketahui ion molekul [M-H] dari terbentuknya fragmen-fragmen ion pada perbandingan massa terhadap muatan (m/z) sebesar 457 m/z (Masukawa *et al.*, 2006). LC-MS memberikan informasi lebih struktur daripada 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 (Turnipsoed *et al.*, 2008). Kromatogram standar

Epigalokatekin galat 459 m/z dapat ditemukan pada waktu retensi 2,63 menit dapat dilihat pada Gambar C. Spektrometer massa juga dioperasikan dalam ion yang dipilih monitoring (SIM) 457 untuk EGCG pada menit 2,63. Hasil kromatogram EGCG dapat dilihat pada Gambar 5. (a) literatur pembanding (Masukawa *etal.*, 2006). Gambar (b) sampel 'teh' Gambar (c) sampel segar, Gambar (d) sampel Kering , Gambar (e) sampel "teh seduh" dan hasil pengukuran kandungan EGCG pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 6.

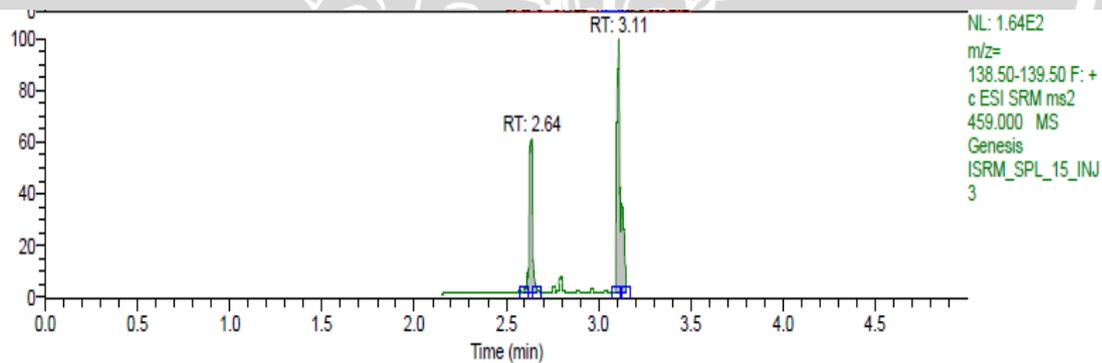




(C)

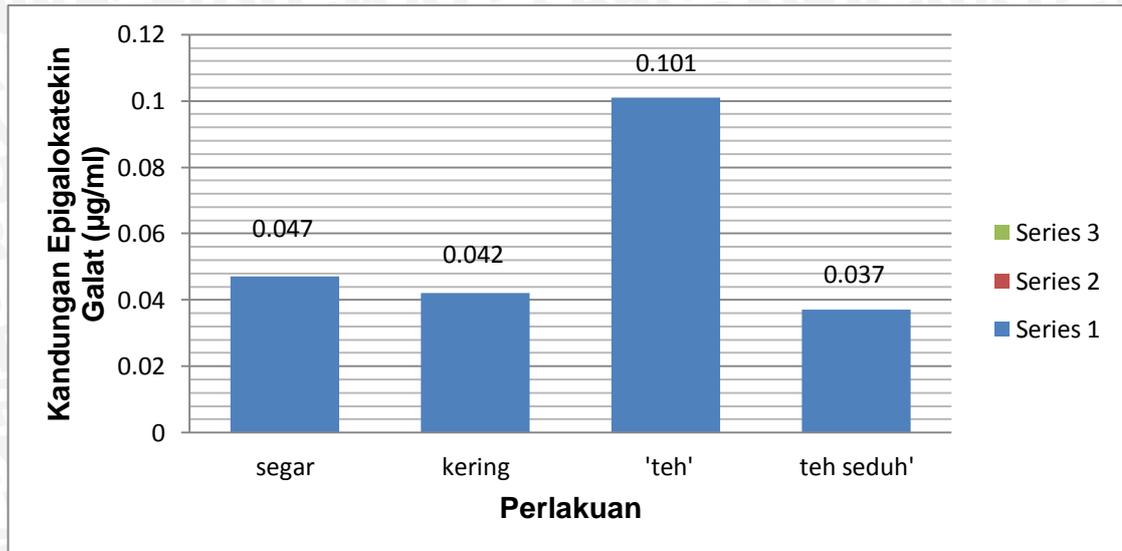


(D)



(E)





Gambar 6. Hasil Pengukuran Kandungan Epigalokatekin Galat pada BatangAlga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Gambar 6. Memperlihatkan bahwa kadar Epigalokatekin galat terbanyak terdapat pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan perlakuan “teh” sebesar 0,101 µg/ml, terbanyak kedua pada perlakuan segar sebanyak 0,047 µg/ml, dan terbanyak ketiga pada perlakuan kering sebesar 0,042µg/ml, sedangkan pada perlakuan ‘teh seduh’ sebesar 0,037µg/ml. Dari hasil penelitian didapatkan kadar Epigalokatekin galat perlakuan “teh” lebih besar dibandingkan dengan perlakuan “teh seduh”. Tingginya kadar EGCG pada penanganan “teh” diduga karena EGCG pada pH basa. Perbedaan kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada tiap perlakuan batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* diduga karena adanya perbedaan penanganan. Menurut Martono (2011) bahwa, sebagian besar kandungan polifenol dalam teh berupa EGCG. proses pengolahan sangat berperan penting dalam kualitas EGCG. Proses pengolahan dengan panas dapat mengakibatkan terjadinya oksidasi pada senyawa polifenol, proses fermentasi oksidatif dapat menyebabkan pemutusan ikatan polimer senyawa polifenol.