

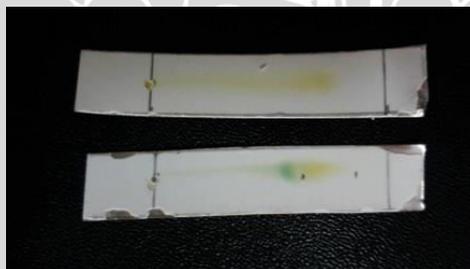
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deteksi Senyawa Bioaktif (Kualitatif) Menggunakan KLT

Menurut yang dijelaskan oleh Menurut Risjani dan Anita, (2009) menyatakan bahwa kandungan bioaktif dari ekstrak *Sargassum cristaefolium* antara lain ialah golongan flavonoid. Untuk menguatkan data tersebut dilakukan pengujian kembali dengan metode kualitatif KLT dimana nilai Rf sampel dibandingkan dengan kuersetin sebagai Rf standar serta senyawa yang diduga flavonoid (Perhitungan nilai Rf dapat dilihat pada Lampiran 8). Hasil KLT dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 6.

Tabel 5. Nilai Rf KLT

Sampel	Rf (x100)
Ekstrak kasar <i>Sargassum cristaefolium</i>	80
Quercetin	80
Quercetin (Harborne, 1987)	76



Gambar 6. Hasil Kromatografi Lapis Tipis senyawa dugaan (atas) dan kuersetin sebagai standar (bawah) (Dokumentasi pribadi).

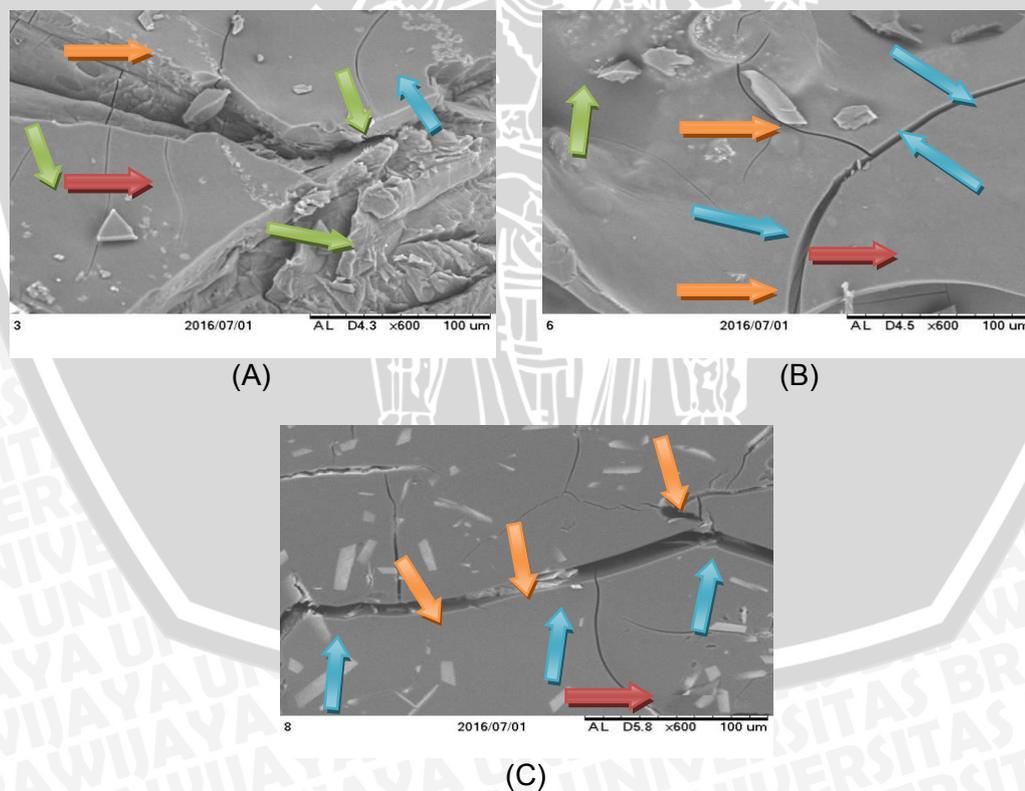
Berdasarkan hasil KLT yang ditunjukkan Tabel 5, nilai Rf sampel ekstrak kasar teh daun *S. cristaefolium* dengan Rf kuersetin memiliki nilai yang sama dan memiliki Rf yang tidak terlalu jauh dengan Rf kuersetin. Oleh karena itu, diduga sampel positif mengandung senyawa flavonoid.

4.2 Hasil Analisis Perhitungan Rendemen

Analisis rendemen enkapsulat setelah freeze dry menunjukkan rendemen enkapsulat ekstrak teh *S. cristaefolium* dengan penyalut gum arab dan maltodekstrin perbandingan 12% : 8% ialah sebesar 65,76% yaitu 16,44 gram masa enkapsulasi dari 25 gram masa penyalut total dengan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium*. Hasil tersebut lebih rendah dari pada rendemen hasil penelitian Puspabuana (2015), yaitu dengan 81,13%. Hal tersebut dikarenakan kadar air telah teruap maksimal.

4.3 Struktur Permukaan Enkapsulat dengan Pengamatan SEM

Struktur permukaan enkapsulat ekstrak teh *Sargassum cristaefolium* dengan perlakuan pH berbeda yang diamati menggunakan SEM dengan perbesaran 600x dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur enkapsulat ekstrak teh *Sargassum cristaefolium* setelah perlakuan pH : (A) pH 3, (B) pH 6 dan (C) pH 8 perbesaran 2500 kali

Sumber : Laboratorium Institut Biosains Universitas Brawijaya (2016)

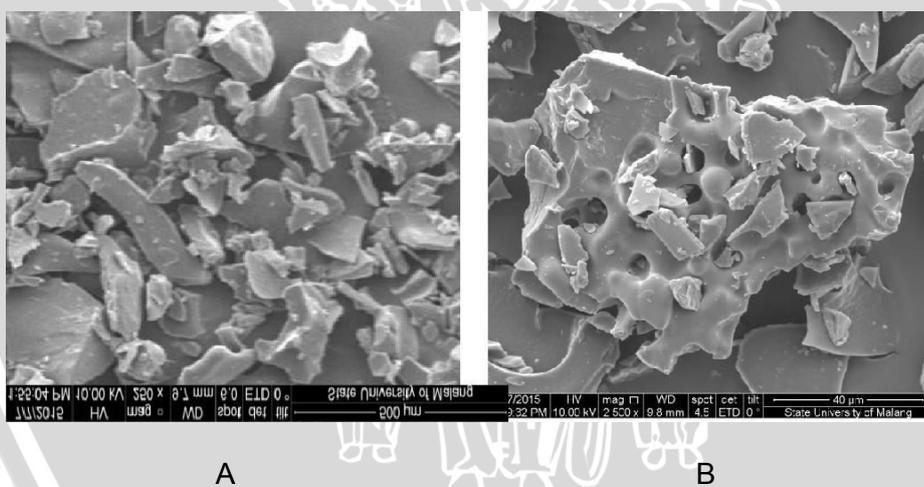
-  : Pecahan atau serpihan
-  : Retakan
-  : Lapisan tipis pada tepi retakan
-  : lapisan rata dari permukaan enkapsulat

Berdasarkan hasil pengujian SEM dia atas, menunjukkan struktur permukaan penyalut pada pH 6 yang ditunjukkan oleh Gambar (b) memiliki permukaan yang tidak terlindungi oleh penyalut, hal ini dapat dilihat pada bagian retakan yang tepinya tidak terlindungi oleh penyalut di semua sisi (tanda panah gambar pH 6) dibanding struktur permukaan penyalut yang lain hal ini diduga di pengaruhi oleh kedua penyalut tersebut yang bila saling bertemu dapat terjadi reaksi glikosidik yaitu ikatan antara H^+ dari gum arab dan OH dari maltodextrin sehingga membentuk H_2O sehingga mudah di dihidrolisis oleh asam serta enzim, terjadinya hidrolisis menyebabkan menurunnya viskositas dan meningkatkan kondisi lepasnya penyalut dengan difusi dan *swelling*. Hasil tersebut juga didukung dengan hasil adsorbansi yaitu pada pH 6 akan di jelaskan pada sub bab berikutnya.

Sementara itu pada pH 3 yang ditunjukkan oleh Gambar (a) terlihat masih terlindungi oleh penyalut, hal ini dapat dilihat bahwa dari tepi-tepi dari retakan yang berwarna putih yang berarti masih terlindungi, hasil tersebut sesuai dengan sifat dari masing-masing penyalut yaitu stabil terhadap asam. Sedangkan pada pH 8 yang ditunjukkan oleh Gambar (c) bisa dilihat pada tepi-tepi retakan yang muncul juga masih terlindung oleh penyalut. Hal tersebut diduga dikarenakan oleh adanya kerusakan atau pemutusan ion dari flavonoid itu sendiri. Menurut Markham (1988), flavonoid memiliki sifat yang asam dan dapat larut dalam basa. Flavonoid bila dibiarkan dalam larutan basa, pada akhirnya banyak yang akan terurai dan teroksidasi. Dugaan tersebut juga di dukung dengan hasil

Spektrofotometri *UV-Vis* yang menunjukkan bahwa pada enkapsulat dengan pH 8 menunjukkan penurunan dari sampel enkapsulat yang lain.

Hasil gambar SEM (*Scanning Electron Microscopy*) di atas bila dibandingkan dengan Struktur teh alga coklat *Sargassum cristaefolium* (a) yang belum dilakukan proses enkapsulasi serta Struktur teh alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang telah dilakukan proses enkapsulasi namun tidak menggunakan perlakuan pH (b). Dari gambar di bawah dapat dilihat struktur dari teh alga coklat *Sargassum cristaefolium* (Gambar a) yang tidak dilakukan proses enkapsulasi memiliki tekstur seperti serpihan dan bongkahan. Sedangkan pada gambar (b) yaitu alga coklat *sargassum cristaefolium* yang telah dilakukan proses enkapsulasi memiliki struktur lebih sedikit serpihan serta banyak memiliki rongga.



Gambar 8. Struktur teh alga coklat *S. cristaefolium* dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). (a) Perlakuan kontrol serbuk teh *S. cristaefolium* dengan perbesaran 250X tanpa penyalut, (b) Perlakuan dengan penyalut Gum arab 12% dan maltodekstrin 8% dengan perbesaran 2.500X (Puspabuana, 2015).

Peristiwa pelepasan obat atau zat aktif dari polimer dapat terjadi melalui tiga mekanisme yaitu difusi, degradasi dan pengembangan (*swelling*) yang diikuti dengan difusi. Difusi terjadi ketika sebuah obat atau zat aktif mengalir melalui pori-pori yang terdapat pada matriks polimer atau melalui ruang antara

rantai polimer. Pelepasan zat aktif juga dapat terjadi ketika rantai-rantai polimer mengalami pengembangan akibat kondisi tubuh yang berubah karena terjadinya perubahan pH, suhu dan enzim (Kusumaastuti, 2009).

4.4 Deteksi Senyawa Bioaktif (Kualitatif dan Kuantitatif) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Enkapsulat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* yang telah diberi perlakuan pH yang berbeda selanjutnya diuji pada panjang gelombang 404 nm. Pengujian tersebut didasarkan pada hasil uji panjang gelombang absorbansi maksimum kuersetin (Lampiran 9). Hasil absorbansi sampel (Lampiran 10) dan kadar equivalen (kurva standar kuersetin pada Lampiran 11 dan perhitungan pada Lampiran 12) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Absorbansi spektrofotometri UV-Vis dan kadar equivalen

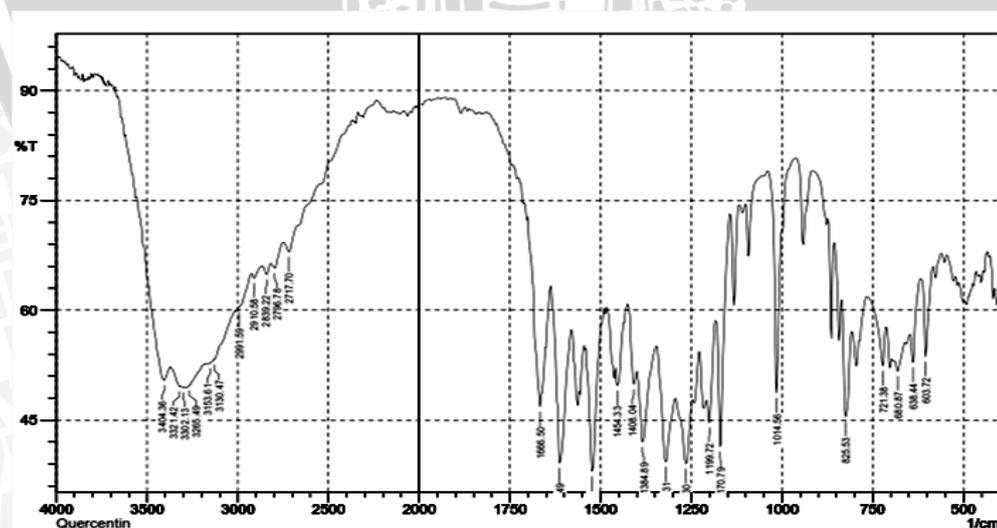
Sampel (10.000 ppm)	Absorbansi (404 nm)	Kadar Equivalen (mgQE/g)
pH 3	0,1108	0,0109
pH 6	0,3810	0,0479
pH 8	0,1112	0,0209

Berlandaskan dari hasil uji spektrofotometri UV-Vis pada Tabel 4, sampel yang diduga mengandung senyawa flavonoid. Sampel pH 6 memiliki kadar tertinggi yaitu 0,0479, Hasil tersebut diperkuat dengan hasil SEM yang telah dipaparkan pada sub bab sebelumnya yaitu pada sampel yang sama pH 6 diduga penyalut telah terlepas sehingga senyawa pada enkapsulat keluar dari penyalutnya, sehingga sampel pada pH 6 memiliki kadar total flavonoid terbanyak. kemudian disusul dengan pH 8 dengan 0,0209, hal itu diduga penyalut telah pecah sehingga kandungan flavonoid keluar dari dinding penyalut serta terurai oleh karena pH 8 hal tersebut sesuai dengan pernyataan Markham (1988), yang menjelaskan bahwa flavonoid memiliki sifat yang asam dan dapat

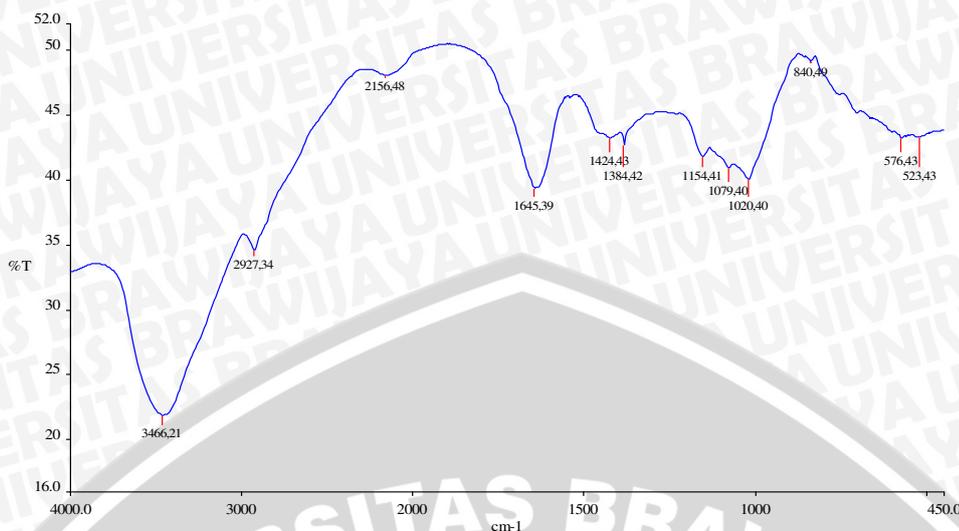
larut dalam basa. dan pH 3 dengan 0,0109 memiliki kadar terendah, hal tersebut diduga penyalut belum pecah atau terlepas sehingga masih melindungi enkapsulat dengan baik karena penyalut gum arab serta maltodekstrin sekalipun ada yang telah terlepas, hal tersebut didukung oleh pernyataan Lelon *et al.*,(2009) yang menjelaskan bahwa gum arab memiliki pH sebesar 4,2 sampai 4,8 sehingga resisten terhadap asam.

4.5.1 Deteksi Senyawa Bioaktif Menggunakan FT-IR (Gugus Fungsi)

Dalam proses pelepasan atau *relase* dimungkinkan pada adanya kandungan bioaktif dari enkapsulat yang keluar, untuk mengetahui gugus apa saja yang terkandung di dalam enkapsulat yang telah *relase* diperlukan uji FT-IR (*Fourier transform infrared*). Hasil dari uji FT-IR (*Fourier transform infrared*) Gambar 9 menunjukkan puncak-puncak dari gugus fungsional dari sampel kuersetin sebagai kontrol yang terdeteksi dari uji FT-IR sedangkan pada hasil enkapsulat *sargassum cristaefolium* pada gambar 10 (hasil uji FT-IR sampel pada Lampiran 13 dan hasil uji FT-IR kuersetin pada Lampiran 14)serta gugus serapan dapat dilihat pada Tabel 7.



Gambar 9. Spektrum FT-IR kuersetin sebagai kontrol



Gambar 10. Spektrum FT-IR enkapsulat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*

Tabel 7. Gugus fungsional pita serapan FT-IR

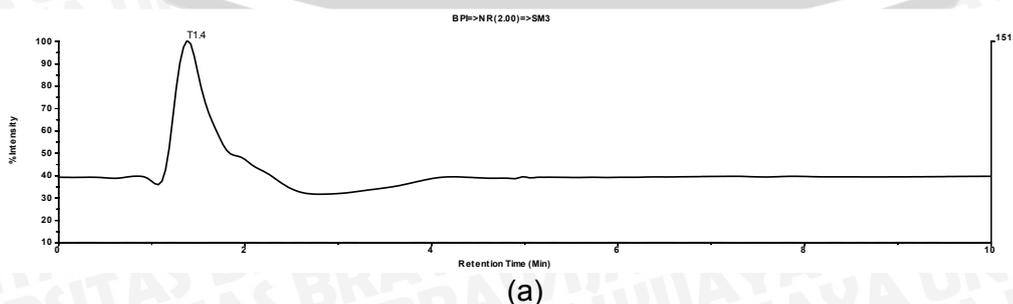
Gugus dugaan	Sampel senyawa		Gugus dugaan	Kuersetin Standard	
	Daerah serapan			Daerah serapan	
	hasil	Williams and fleming		hasil	Williams and fleming
alkohol O-H	3466,21	3600-3200	alkohol O-H	1404-4140	3600-3200
Ulur	1384,42	1410-1260	ulur	1408-1265	1410-1260
alkil C-H	2927,34	2960-2850	akil C-H	2910	2960-2950
Ulur	1384,42	1390-1370	ulur	1450	1470-1430
ester C-O			ester C-O		
ulur	1154,41	1300-1050	ulur	119-1170	1300-1050
Ulur			ulur		
keton C=O	1645,39	1655-1635	keton C=O	1666	1690-1660
Ulur			ulur		
aromatik			aromatik		
C=C	1020,40	1225-950	C=C	1612-1523	1600-1500
Ulur	840,49	900-680	ulur	825-680	900-680

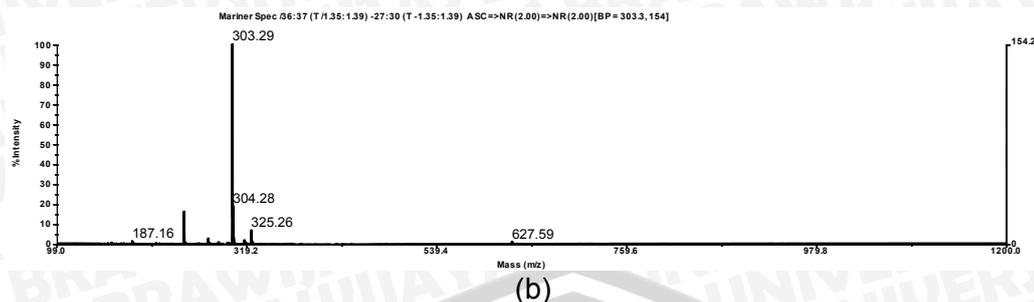
FT-IR (*Fourier transform infrared*) ini memberikan informasi adanya puncak serapan gugus hidroksil pada bilangan gelombang. Pada bilangan gelombang 346 cm^{-1} . Gugus hidroksil ini merupakan regang O-H dengan intensitas kuat. Gugus ini diperkuat dengan adanya ulur pada bilangan gelombang 1384 cm^{-1} . Pita serapan pada bilangan gelombang 2927 cm^{-1}

menunjukkan adanya regangan C-H dan diperkuat dengan munculnya ulur 1384 cm^{-1} . Pada pita serapan 1154 cm^{-1} Adanya regang C-O. Adanya renggang C=O pada bilangan gelombang 1645 cm^{-1} . Sedangkan pada renggangan C=C yaitu pada bilangan serapan 1020 cm^{-1} dan diperkuat dengan adanya ulur yaitu pada bilangan gelombang 840 cm^{-1} . Dari daerah serapan tersebut dapat disimpulkan bahwa daerah serapan tersebut tidak jauh beda dengan daerah serapan dan gugus fungsional pada kuersetin.

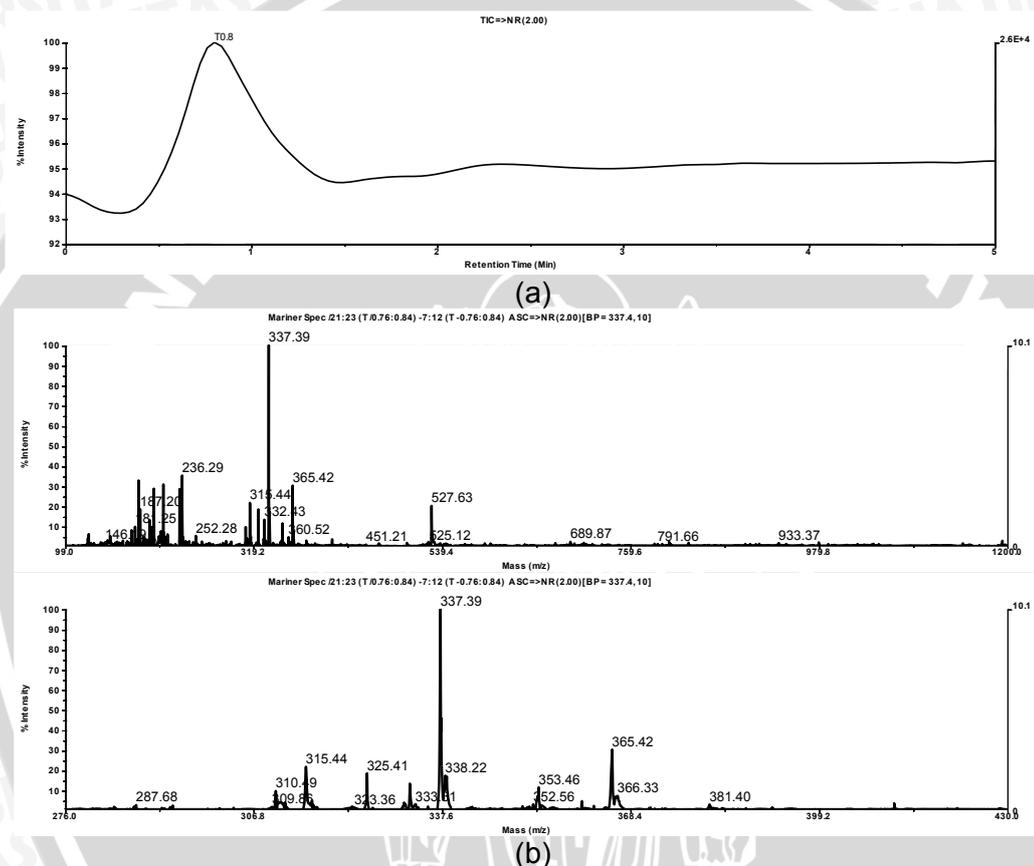
4.6 Deteksi Senyawa Bioaktif Menggunakan LC-MS

Dari analisis FT-IR (Fourier transform infrared) dilanjutkan dengan uji analisis LC-MS untuk mengidentifikasi struktur berat molekul serta struktur senyawa yang terkandung dalam enkapsulat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*. Dari uji LC-MS ini metode yang digunakan ialah *electrospray ionization* (ESI) modus positif dengan menggunakan pelarut methanol (MeOH) serta dengan menginjeksi sampel sebanyak 2 μL . pelarut yang digunakan dengan laju aliran 0,051 mL/menit. Pelarut berjalan dengan elusi isokratik selama 30 menit. Ionisasi menggunakan metode *electrospray ionization* (ESI) akan menghasilkan ion molekuler dengan penambahan kation, misalnya $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}+\text{H}]^+$ atau ion ganda $[\text{nM}+\text{H}]^+$. Hasil uji LC-MS tersebut menunjukkan 1 puncak waktu pada standard quersetin yaitu 1,4 (Gambar 11) dan pada hasil enkapsulat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* 1 puncak waktu yaitu 0,8 menit. Pola spektrum LC-MS dapat dilihat pada Gambar 12 serta pada Lampiran 15.





Gambar 11. (a) Spektrum LC (b) Spektrum MS, standar quersetin



Gambar 11. (a) Spektrum LC (b) Spektrum MS, enkapsulat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pada pH 6.

Dari hasil spectrum LC-MS diatas yang berupa grafik kromatografi dengan beberapa peak yang diduga fragmentasi senyawa quersetin dengan berat molekul 325,26 m/z. yang diduga sebagai *base peak* dan juga diduga dengan ion $[M+Na]$ sehingga diperoleh senyawa dengan berat molekul 302 m/z. didapatkan juga hasil peak lain yang diduga sebagai ion molekuler yaitu 303.29 $[M+H]$ sehingga didapat molekul 302 m/z. Berdasarkan hasil dari berat molekul

dari *quersetin* yang di telusuri menggunakan *mass bank* 302 m/z ialah *quercetin* dengan rumus $C_{15}H_{10}O_7$.

Sedangkan pada hasil spectrum LC-MS dari sampel enkapsulat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* diatas yang berupa grafik kromatografi dengan beberapa peak yang diduga fragmentasi senyawa dengan berat molekul 337,40 m/z. yang diduga sebagai *base peak* dan juga diduga dengan ion $[M+Na]$ sehingga diperoleh senyawa dengan berat molekul 314 m/z. didapatkan juga hasil peak lain yang diduga sebagai ion molekuler yaitu 315,43 $[M+H]$.

Dari hasil peak quercetin serta hasil sampel enkapsulat ekstrak kasar teh *sargassum cristaefolium* dapat dibandingkan jumlah molekulnya tidak jauh berbeda, terjadi penambahan ion C ion H serta pengurangan ion O hal itu diduga disebabkan adanya penambahan dari penyalut yaitu gum arab dan maltodekstrin serta juga diduga dari proses perendaman menggunakan pH yang berbeda.

Sedangkan pada hasil berat molekul enkapsulat yang diduga golongan flavonoid dilakukan penelusuran menggunakan *mass bank*, senyawa dengan berat molekul 314 m/z ialah 3,7-Dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavin dengan rumus kimia $C_{17}H_{14}O_6$ yang diduga ialah turunan flavonoid. Untuk melihat hasil massa ion dan dugaan pecahan molekul dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Massa Ion dan dugaan pecahan molekul

Sampel	Massa ion (m/z)	Dugaan pecahan ion molekul	Massa senyawa dugaan (m/z)
Kuersetin	303,29	$C_{17}H_{14}O_6-H$	302
	325,26	$C_{17}H_{14}O_6-Na$	
	627,59	$2(C_{17}H_{14}O_6)-Na$	
Enkapsulat ekstrak kasar the daun alga coklat <i>Sargassum cristaefolium</i> perlakuan pH6	315,435	$C_{17}H_{14}O_6-H$	314
	337,390	$C_{17}H_{14}O_6-Na$	

Untuk memastikan bahwa senyawa dengan rumus kimia $C_{17}H_{14}O_6$ memiliki berat molekul sebesar 314 serta $C_{15}H_{10}O_7$ memiliki berat molekul 302 maka dilakukan penghitungan berdasarkan tiap-tiap atom molekulnya dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\text{Ar C} = 12,011$$

$$\text{Ar H} = 1,008$$

$$\text{Ar O} = 15,999$$

$$\text{Mr } C_{17}H_{14}O_6 = (17 \times 12,001) + (14 \times 1,008) + (6 \times 15,999)$$

$$= 204,017 + 14,112 + 95,996$$

$$= 314,125$$

$$= 314 \text{ m/z}$$

$$\text{Mr } C_{15}H_{10}O_7 = (15 \times 12,001) + (10 \times 1,008) + (7 \times 15,999)$$

$$= 180,144 + 10,078 + 111,993$$

$$= 302,215$$

$$= 302 \text{ m/z}$$

