STUDI KADAR EPIGALOKATEKIN GALAT (EGCG) PADA 'TEH' CAMPURAN BATANG – DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium*

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh:

TRI WAHYUNI KUSUMA DEWI
105080300111032

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

STUDI KADAR EPIGALOKATEKIN GALAT (EGCG) PADA 'TEH' CAMPURAN BATANG – DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium*

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh:

TRI WAHYUNI KUSUMA DEWI

105080300111032

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SKRIPSI
STUDI KADAR EPIGALOKATEKIN GALAT (EGCG) PADA 'TEH' CAMPURAN BATANG – DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium*

Oleh:

TRI WAHYUNI KUSUMA D
105080300111032

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 19 agustus 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,	**Menyetujui,**
Dosen Penguji I	**Dosen Pembimbing I**
Dr.Ir. Happy Nursyam, MS **NIP. 196003221 198601 1 001** **Tanggal:**	**Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** **NIP. 19640726 198903 2 004** **Tanggal:**
Dosen Penguji II	**Dosen Pembimbing II**
Dr. Ir. Yahya, MP **NIP. 19630706 199003 1 003** **Tanggal:**	**Dr. Ir. Bambang Budi, S. MS** **NIP. 19570119 198601 1 001** **Tanggal :**

Mengetahui,
Ketua Jurusan

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

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

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 hokum yang berlaku di Indonesia.

Malang, September 2014

Mahasiswa

Tri Wahyuni Kusuma Dewi

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan dan dukungan dari berbgai pihak, serta orang – orang yang membantu dalam menyelesaikan tulisan ini. Rasa hormat dan terima kasih sebesar – besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan mulai dari awal penelitian sampai akhir sehingga laporan ini dapat terselesaikan
2. Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan serta motivasi sehingga penulisan laporan ini dapat tersusun tepat waktu
3. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku Dosen Penguji I dan II yang telah memberikan kritik dan saran serta arahan sehingga laporan ini dapat tersusun dengan baik dan benar
4. Bapak dan ibu laboran Laboratorium Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang Ibu Iwin (Lab. Mikrobiologi), Mbak Reni (Lab. Teknologi Hasil Perikanan), Pak Yudi (Lab. Ilmu Kelautan, Ibu Ferida (Lab. Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang), Bapak Kaliawan (Lab. Kimia Politeknik Negeri Malang), Pak Arisandi (Lab. Kimia Universitas Muhammadiyah Malang)
5. Bapak dan Mama yang tidak pernah lelah mengingatkan serta senantiasa memberikan semangat, doa, tangisan, dan kebahagiaan sehingga tidak ada kata selain bersujud dihadapan mereka
6. Mas Wahyu, Mbak Dita, Abang Arai, Dedek AL, Dedek Gazza yang memberikan dorongan materiil dan moril serta keceriaan setiap harinya.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

7. Tim Bunda Tacik, Dessy, Mbog, Tubagus, Desty,Rani-Dika, Intan, Bias, Elda, Hafid, mama Agnes yang selalu setia menggapai masa depan bersama, semoga ini semua tidak berakhir disini.
8. Sahabat Ter-RANGER EgaTelur, FaizPintet, BundaUmi, NitaNdut, ImelPreman, Haris, aa'Hafid, Amik, Vedo, Lyu, masBayu, terima kasih semuanya, segala dukungan, doa dan persahabatan ini
9. Muhammad Rizal Taufiq dan Keluarga yang senantiasa memberi semangat, doa,dukungan, serta pelajaran hidup dari DULU hingga NANTI
10. Keluarga Besar THP'10 saya ucapkan terima kasih banyak atas semangat, doa, dukungan selama ini hingga dapat menempuh sebuah gelar Sarjana.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu, member doa, semangat dan dukungan sehingga laporan ini dapat terselesaikan dengan baik.

Malang, September 2014

Penulis

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RINGKASAN

Tri Wahyuni Kusuma D. Skripsi tentang Studi Kadar Epigalokatekin Galat Pada 'Teh' Campuran Batang – Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* (Di Bawah Bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** dan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS.**).

Sargassum sp. termasuk dalam kelas *Phaeophyta* atau alga coklat yang tumbuh dan berkembang disepanjang pantai pulau-pulau di Indonesia. Setelah musim ombak, pertumbuhan *Sargassum* dapat membentuk padang rumput laut coklat yang luas terutama pada pantai dengan dasar lempengan karang. Salah satu jenisnya adalah *Sargassum cristaefolium*. Memiliki bentuk tubuh thalus yaitu tidak dapat dibedakan antara batang, daun, dan akarnya, namun masyarakat Cabiya menyebut alga coklat ini sebagai *Sargassum* berdaun lebar karena dapat dibedakan antara batang, daun, dan akarnya. Bagian daun berfungsi untuk fotosintesis, sedangkan bagian batang berfungsi untuk absorbsi ion logam. Secara umum *Sargassum cristaefolium* belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali dianggap sampah yang mengganggu pelayaran kapal, selain itu bau laut yang khas, penampakan kurang menarik dan pemanfaatan yang kurang. Selama ini kelompok *Sargassum* di perairan Indonesia hanya dimanfaatkan sebagai kompos dan pakan ternak. Namun ditangan masyarakat Cabiya alga coklat ini dimanfaatkan sebagai minuman teh. Teh merupakan minuman yang sangat popular dan banyak dikonsumsi masyarakat. Selain memiliki karakter sensori yang enak dan menyegarkan, teh mampu bersifat sebagai antioksidan pada komponen polifenol terutama pada Epigalokatekin galat. Epigalokatekin galat (EGCG) termasuk dalam katekin yang terdapat di ekstrak teh dan merupakan bentuk yang paling aktif di antara semua jenis katekin.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada 'teh' campuran batang-daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2014 – Mei 2014 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi FPIK, Laboratorium Bersama FMIPA Universitas Negeri Malang, Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang, dan Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode yang bersifat eksploratif deskriptif (non hipotesis). Metode eksploratif dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, fitokimia dan kadar epigalokatekin galat (EGCG) dari 'teh' campuran batang – daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Alga coklat *Sargassum cristaefolium* ini akan diberi perlakuan 'teh' dengan cara merendam rumput laut dalam larutan basa selama 6 jam selanjutnya dikeringkan menggunakan microwave dengan suhu 80°C selama 20 menit. Untuk mengetahui kadar epigalokatekin galat yang dihasilkan, maka peneliti melakukan beberapa uji yaitu skrining fitokimia, uji aktivitas antioksidan, dan Validasi EGCG menggunakan metode LC-MS.

Hasil dari skrining fitokimia menyatakan bahwa *Sargassum cristaefolium* positif mengandung senyawa Flavonoid, nilai IC_{50} pada uji aktivitas antioksidan sebesar 195,33337 hasil ini dikategorikan dalam kelompok lemah karena mempunyai kemampuan aktivitas antioksidan yang rendah. Kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada sampel teh didapat sebesar 0,032 μg/ml. Saran yang diberikan peneliti adalah perlu penelitian lanjutan untuk mendapatkan teknik pengolahan 'teh' alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang baik agar dapat dikonsumsi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT berkat ridho dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Studi Kadar Epigalokatekin Galat (EGCG) pada 'Teh' Campuran Batang – Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Dalam penyusunan laporan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dalam penyusunan laporan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Bambang Budi S, MS selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan arahan dalam penyusunan laporan skripsi ini
3. Kedua orang tua yang telah memberikan doa, dukungan materiil dan moril selama penyusunan laporan skripsi ini.
4. Teman-teman THP'10 serta semua pihak yang telah membantu dan memberikan dorongan dalam menyelesaikan penyusunan laporan ini.

Dengan segala keterbatasan, kemampuan dan kerendahan hati, semoga laporan skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pembaca

Malang, September 2014

Penulis

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
PERNYATAAN ORISINALITAS iii
RINGKASAN vi
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI viii
DAFTAR GAMBAR vii
DAFTAR TABEL viii
DAFTAR LAMPIRAN vii
1. PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Perumusan Masalah 4
1.3 Tujuan 5
1.4 Kegunaan Penelitian 5
1.5 Waktu dan Tempat 5
2. TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Alga Coklat 6
2.2 *Sargassum cristaefolium* 6
2.3 Ektraksi 11
2.4 Senyawa Bioaktif *Sargassum cristaefolium* 14
2.5 Teh Alga Coklat 15
2.6 Kandungan Teh Alga Coklat 16
2.7 Katekin 17
2.7.1 Epigallokatekin Galat (EGCG) 18
2.8 Fitokimia 21
2.9 Uji Antioksidan 22
2.10 LC-MS 24
3. METODE PENELITIAN
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 26
3.2 Materi Penelitian 26
3.2.1 Bahan Penelitian 26
3.2.2 Alat Penelitian 27
3.3 Metode Penelitian 27
3.4 Variabel Penelitian 28
3.5 Prosedur Penelitian 29
3.6 Uji Antioksidan 31
3.7 Uji LC-MS 34
3.8 Uji Fitokimia 36
4. HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Skrining Fitokimia 36
4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH 45
4.3 Validasi EGCG dengan LC-MS 50
5. KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan 55
5.2 Saran 55
DAFTAR PUSTAKA 56
LAMPIRAN 61

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Struktur Bagian *Sargassum cristaefolium* 7
Gambar 2. Struktur Dinding Sel Alga Coklat 9
Gambar 3. *Sargassum cristaefolium* 10
Gambar 4. Struktur Kimia Metanol 13
Gambar 5. Struktur Kimia Katekin 18
Gambar 6. Struktur Kimia Epigalokatekin Galat 19
Gambar 7. Struktur Dasar Flavonoid 19
Gambar 8. Sel pada Alga Coklat 21
Gambar 9. Prosedur Pembuatan Teh Alga Coklat 29
Gambar 10. Prosedur Penelitian 31
Gambar 11. Gambar Skema Penentuan Aktivitas Antioksidan 33
Gambar 12. Gambar Skema Uji LC-MS 36
Gambar 13. Gambar Skema Uji Alkaloid 37
Gambar 14. Gambar Skema Uji Flavonoid 38
Gambar 15. Gambar Skema Uji Tanin 39
Gambar 16. Gambar Skema Uji Saponin 40
Gambar 17. Grafik Batang IC_{50} Aktivitas Antioksidan DPPH 46
Gambar 18. Grafik Batang IC_{50} Vitamin C dan Ekstrak *Sargassum* 48
Gambar 19. Kromatogram Standar EGCG 51
Gambar 20. Kromatogram Perlakuan Segar 51
Perlakuan Kering 51
Perlakuan 'Teh' 52
Perlakuan Teh seduh 52
Gambar 21. Kromatogram epigalokatekin galat pada daun teh 53
Gambar 22. Hasil Pengukuran Kadar EGCG *Sargassum cristaefolium* .. 53

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum* sp 11
Tabel 2. Pelarut Organik dan Sifat Fisiknya 14
Tabel 3. Sifat Fisika Kimia Katekin 18
Tabel 4. Komposisi Epigalokatekin Galat pada Teh 20
Tabel 5. Komposisi Pucuk Daun Teh 23
Tabel 6. Data Hasil Penelitian Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* 41
Tabel 7. Hasil Skrining Fitokimia *Sargassum cristaefolium* 42

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 61
Lampiran 2 62
Lampiran 3 64
Lampiran 4 66
Lampiran 5 74
Lampiran 6 75
Lampiran 7 76

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut merupakan salah satu sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir dan merupakan salah satu komoditi laut yang sangat populer dalam perdagangan dunia, karena pemanfaatannya yang demikian luas dalam kehidupan sehari-hari, baik sebagai sumber pangan, obat-obatan dan bahan baku industri (Indriani dan Sumiarsih, 1991). Selama ini yang umum dikenal, bisa dimanfaatkan dan memiliki nilai ekonomis ada 3 kelas, yaitu : *Rhodophyta* (alga merah), *Phaeophyta* (alga coklat) dan *Chlorophyta* (alga hijau). Masing-masing rumput laut memiliki produk yang tersimpan di dalamnya dan sangat bermanfaat bagi kehidupan (Juneidi, 2004).

Sargassum sp. termasuk dalam kelas *Phaeophyta* atau alga coklat. Kelompok ini merupakan komoditi laut yang tumbuh dan berkembang disepanjang pantai pulau-pulau di Indonesia. Setelah musim ombak, pertumbuhan kelompok ini dapat membentuk padang rumput laut coklat yang cukup luas terutama pada pantai dengan dasar lempengan batu karang. Salah satunya adalah *Sargassum cristaefolium*. Secara umum *Sargassum cristaefolium* belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali dianggap sampah yang mengganggu pelayaran kapal nelayan, Melimpahnya produksi alga coklat memunculkan masalah baru. Disamping sebagai bahan mudah busuk, alga coklat juga memiliki kelemahan diantaranya bau laut yang khas, penampakan kurang menarik juga pemanfaatannya yang kurang. Selama ini kelompok *Sargassum* di perairan Indonesia hanya dimanfaatkan sebagai kompos dan pakan ternak.

Alga coklat *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu jenis marga *Sargassum* sp yang umumnya memiliki bentuk tubuh thalus yaitu tidak dapat

dibedakan antara batang, daun, dan akarnya, namun masyarakat Cabiya menyebut alga coklat ini sebagai *Sargassum* berdaun lebar karena dapat dibedakan antara batang, daun, dan akarnya. Bagian yang mirip daun disebut dengan *blade* atau filoid. Ciri-ciri filoid pada *Sargassum cristaefolium* adalah melebar, lonjong, bergelombang, licin dan ujungnya melengkung atau runcing. Didekat filoid terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut dengan *bladder. Bladder* berfungsi untuk menopang atau mengangkat bagian tubuh kearah permukaan air dalam mendapatkan intensitas cahaya yang berguna untuk proses fotosintesis, sedangkan bagian tubuh yang menyerupai batang disebut dengan *stipe.* Memiliki ciri bentuk agak gepeng, licin, batang utama yang mendekati *holdfast* (menyerupai akar) berbentuk bulat agak kasar. Fungsi dari batang (*stipe)* adalah untuk menyerap ion-ion logam berat yang terdapat di laut.

Alga coklat *Sargassum* sp. mengandung kalium, makro dan mikro mineral, serta gel. Dengan adanya kandungan-kandungan tersebut, maka *Sargassum* sp. dapat diolah sebagai pupuk organik untuk meningkatkan kelembaban pupuk yang dapat membantu penyerapan air tumbuhan sehingga dapat mengoptimalkan pertumbuhan tanaman (Haryza dan Rini, 2006). Pengembangan aplikasi alga coklat *Sargassum* sp. tidak hanya pada bidang pangan seperti alginat, makanan ternak serta pupuk, akan tetapi antioksidan yang terdapat pada alga coklat *Sargassum* sp. juga mampu menghambat kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas pada produk seperti minyak ikan (Patra *et al.,* 2008).

Sargassum sp. mempunyai aktivitas antioksidan, karena mampu menghambat peroksidasi lemak dan aktivitas radikal bebas (Firdaus *et al.*, 2009). *Sargassum cristaefolium* merupakan salah satu golongan alga coklat. Merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolit sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan

merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya sebagai antioksidan. Penelitian mengenai ekstrak *Sargassum* sebagai antioksidan sudah dilakukan di Indonesia oleh Merdekawati *et al.,* (2009), Budhiyanti *et al.,* (2012).

Menurut Hernawan dan Setyawan (2003), golongan fenol dicirikan oleh adanya cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidroksil. Kelompok fenol terdiri dari ribuan senyawa meliputi flavonoid, fenilpropanoid, asam fenolat, antosianin, pigmen kuinon, melanin, lignn, dan tannin yang tersebar luas di berbagai jenis tumbuhan.

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Salah satu jenis tumbuhan yang memiliki gugus fenol dan memiliki sifat antioksidan adalah teh. Teh adalah salah satu minuman terkenal di dunia yang memperlihatkan sifat-sifat seperti jenis, rasa, dan kualitas. Tetapi memiliki banyak manfaat untuk kesehatan (Punyasiri *et al*, 2004). Komposisi kimia dari teh sangat kompleks antara lian polifenol, alkalois (kafein, teofilin, dan teobromin), asam amino, karbohidrat, protein, klorofil, komponen volatile, flurid, dan sedikit unsure mineral. Teh mampu bersifat sebagai antioksidan pada komponen polifenol terutama turunan katekin (Cimpoiu et al., 2011). Katekin dibagi menjadi 6 senyawa yaitu katekin, gallokatekin, epikatekin, epigallokatekin, epikatekin galat, epigallokatekin galat.

Epigalokatekin galat (EGCG) adalah senyawa ester dari epigalokatekin dan asam galat dan merupakan tipe dari katekin. EGCG adalah jenis katekin yang umum terdapat pada daun teh. Pernyataan ini sesuai dengan penjelasan Kirana (2009), *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) adalah polifenol terbanyak

dalam teh hijau yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi dan antiproliferasi sehingga mampu mengurangi kerusakan sel tubuh akibat stres oksidatif.

Penelitian ini menggunakan beberapa perlakuan diantaranya segar, kering, 'teh' dan teh seduh. Perbedaan perlakuan diatas didasarkan pada proses pengolahannya. Pada pengolahan teh dilakukan perendaman dengan larutan kapur $Ca(OH)_2$ dengan pH 11 (berdasarkan penelitian terdahulu oleh Hernawan (2011) bahwa pH terbaik dalam pembuatan teh alga coklat adalah pH 11). Menurut Novaczek dan Athy (2001), *Sargassum* sp. dapat dibuat sebagai minuman sejenis *slimming tea* yang direkomendasikan bagi seseorang yang memiliki kelebihan berat badan dan ingin mencoba menurunkan berat badannya. Pernyataan ini senada dengan apa yang dilakukan masyarakat Cabiya, Sumenep, Madura yang memanfaatkan alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebagai teh.

Selama ini banyak penelitian dengan menggunakan bagian daun atau batang dari *Sargassum cristaefolium* , hal ini menimbulkan masalah baru karena melimpahnya limbah dari salah satu bagian yang tidak digunakan. Mengingat bagian batang maupun daun yang memiliki fungsi yang berbeda, maka dari itu peneitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kadar EGCG pada 'teh' campuran batang - daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*, sekaligus pada sifatnya sebagai antioksidan serta untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar epigalokatekin galat pada campuran batang – daun alga coklat *Sargassum cristaefolium.*

1.2 Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah Berapa kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada 'teh' campuran batang-daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada 'teh' campuran batang-daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah:

- Memberi informasi keilmuan dan pedoman untuk mengadakan penelitian lebih lanjut bagi lembaga akademis mengenai teh alga coklat *Sargassum cristaefolium*
- Sebagai bahan informasi dan pertimbangan bagi pengembangan usaha para pengusaha produksi teh komersial di Indonesia.

1.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2014 – Juli 2014 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi FPIK, Laboratorium Bersama FMIPA Universitas Negeri Malang, Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang, dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga coklat

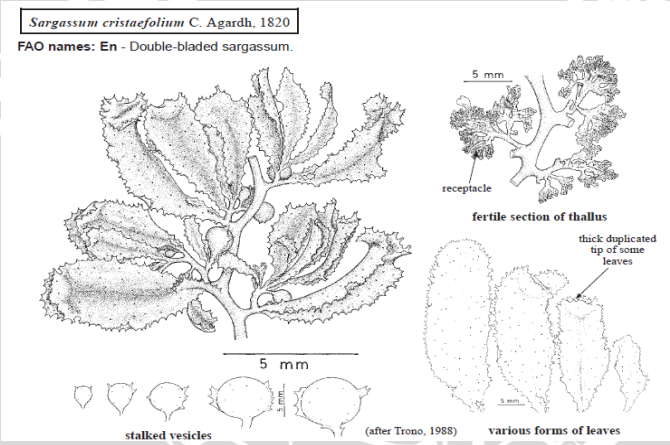
Terdapat sekitar delapan marga alga cokelat atau rumput laut coklat (*Phaeophyceae)* di perairan Indonesia. Enam jenis di antaranya telah dimanfaatkan oleh penduduk Indonesia untuk konsumsi langsung dan obat. Kelompok alga laut atau rumput laut coklat juga dimanfaatkan sebagai penghasil algin (alginofit), terutama jenis *Sargassum* sp, *Cystoseira* sp, dan *Turbinaria* sp. Marga *Sargassum* termasuk tumbuhan cosmopolitan yang hidup pada terumbu karang sampai daerah tubir. Alga ini tumbuh dengan baik pada terumbu karang karena alga ini suka melekat pada substrat keras (Ghufran, 2012).

Alga coklat umumnya memiliki thalus berwarna coklat kekuningan, dan dilengkapi dengan gelembung udara yang berfungsi sebagai pelampung guna memungkinkan alga coklat tersebut dapat terapung. Thalus alga coklat dikenal mengandung kapur, sehingga tekstur thalus alga ini umumnya lebih keras dari thalus alga merah dan alga hijau (Widyastuti, 2009). Selain tekstur dan warna thalus yang berbeda dengan thalus alga merah dan alga hijau yang umumnya bervariasi dari bentuk silindris, gepeng, dan lembaran, jenis alga ini menyerupai tumbuhan tingkat tinggi, karena thalusnya menyerupai daun, batang, akar dan buah (Guiry, 2007). Salah satu jenis alga yang masuk dalam kelompok *Phaeophyceae* adalah *Sargassum cristaefolium*.

2.2 *Sargassum cristaefolium*

Sargassum sp. adalah alga coklat yang memiliki thalus, bentuk daun melebar, agak lonjong, mempunyai gelembung udara (*bledder*) dan melekat pada batu karang. Menurut Haryza dan Rini (2009), ciri-ciri khusus yang dimiliki oleh *Sargassum* sp. antara lain thallus pipih, licin, batang utama bulat agak

kasar, dan *holdfast (*bagian yang digunakan untuk melekat) berbentuk cakram. Cabang pertama timbul pada bagian pangkal sekitar 1 cm dari *holdfast.* Percabangan berselang-seling secara teratur. Bentuk daun oval dan memanjang. Pinggir daun bergerigi jarang, berombak, dan ujung melengkung atau meruncing. *Vesicle (*gelembung seperti buah) berbentuk lonjong, ujung meruncing dan agak pipih. Rumput laut jenis ini mampu tumbuh pada substrat batu karang di daerah berombak. Struktur bagian tubuh *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur bagian *Sargassum cristaefolium* (Trono, 1988)

Rumput laut termasuk kedalam dunia *Thallopyta* (tumbuhan talus), karena belum mempunyai akar, batang dan daun secara jelas. Seluruh tubuh rumput laut disebut thalus. Bagian *thallus* yang berdiferensiasi menyerupai daun disebut *blade*, bagian yang berdiferensiasi menyerupai batang disebut *stipe*, sedangkan bagian thalus yang berdiferensiasi menyerupai akar disebut *holdfast. Blade* berfungsi sebagai tempat pertukaran gas yang dapat membantu memaksimalkan aktivitas fotosintesis. *Stipe* merupakan batang utama yang berisi percabangan dari *blade* sedangkan *holdfast* berfungsi sebagai tempat untuk melekatnya rumput laut pada substrat (Jackson, 2013). Dinding sel sebagian besar tersusun

oleh tiga macam polimer yaitu selulosa asam alginat, fukan dan fukoidin (Zaif, 2009).

Pada tanaman, alga, dan cyanobacteria, fotosintesis dengan memanfaatkan karbondioksida dan air serta menghasilkan buangan oksigen. Tumbuhan bersifat autotrof. Autotrof artinya dapat mensintesis makanan langsung dari senyawa anorganik. Tumbuhan menggunakan karbon dioksida dan air untuk menghasilkan gula dan oksigen sebagai makanannya. Energi untuk menjalankan proses ini berasal dari fotosintesis. Berikut ini adalah persamaan reaksi fotosintesis yang menghasilkan glukosa:

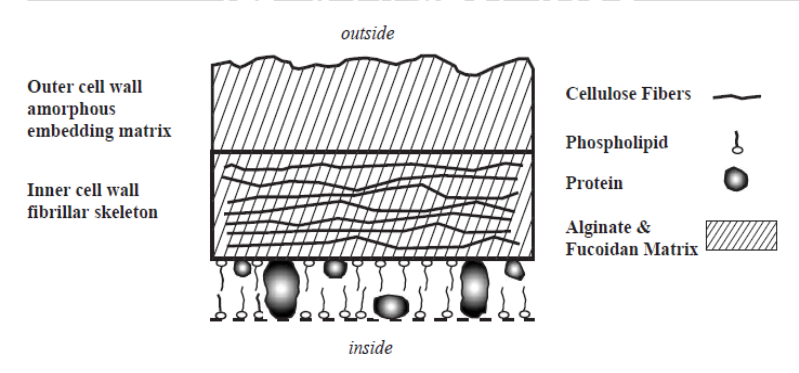
$$\mathbf{6H_2O + 6CO_2 + cahaya \rightarrow C_6H_{12}O_6\ (glukosa) + 6O_2}$$

Tumbuhan menangkap cahaya menggunakan pigmen yang disebut klorofil. Pigmen inilah yang memberi warna hijau pada tumbuhan. Klorofil terdapat dalam organel yang disebut kloroplas. Klorofil menyerap cahaya yang akan digunakan dalam fotosintesis. Meskipun seluruh bagian tubuh tumbuhan yang berwarna hijau mengandung kloroplas, namun sebagian besar energi dihasilkan di bagian daun (Hopkins, 2004).

Seperti yang dijelaskan pada paragraph diatas salah satu bagian rumput laut yang menyerupai batang disebut dengan *stipe.* Batang memiliki kemampuan untuk menyerap ion-ion logam berat karena pada alga terdapat adanya gugus-gugus fungsional yang terdapat di permukaan luar dan dalam sel alga yang berikatan dengan ion logam. Menurut Susanti (2009), gugus fungsi tersebut adalah gugus karboksil, hidroksi, amino, sulfat,dan sulfonat yang terdapat dinding sel dalam sitoplasma. Beberapa penelitian menunjukkan alga mampu menyerap logam dengan baik. Menurut Elfrida (2008), alga *Sargassum fluitans* mampu

menyerap ion Cd pada berbagai ukuran partikel dengan metode titrasi. Di tengah *stipe* terdapat sel-sel memanjang seperti jaringan vaskuler pada tumbuhan. Sel-sel tersebut berfungsi untuk membantu memindahkan karbohidrat hasil fotosintesa dari *blade* ke tempat sel-sel yang kurang aktif fotosintesanya seperti *stipe* dan *holdfast*.

Pada *phaeophyta* umumnya dapat ditemukan adanya dinding sel yang tersusun atas 3 macam polimer yaitu selulosa, asam alginat, fukan dan fukoidin. Algin dari fukoidin lebih kompleks dari selulosa dan fukoidin lebih kompleks dari selulose. Polimer fukoidin dan selulose ini bergabung membentuk fukokoloid (Hasanah, 2012), Struktur dinding sel alga coklat menurut Davis *et al.,* (2003) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur dinding sel alga coklat (Davis *et al.,* 2003).

Habitat alga *Sargassum* sp. tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5 -10 m ada arus dan ombak. Pertumbuhan alga ini melekat pada substrat dasar perairan. Di daerah tubir tumbuh membentuk rumpun besar, panjang thalli utama mencapai 0,5-3 m dengan untaian cabang thalli terdapat kantong udara (*bladder*), selalu muncul di permukaan air (Kadi, 2005). *Sargassum* sp. hidup di zona intertidal yang mengalami pasang surut air laut, dan zona sub litoral dengan melekat pada substrat keras melalui *holdfast* atau mengapung di permukaan air (Dawson, 1966). Habitat alga coklat *Sargassum sp* tumbuh di perairan berarus

yang jernih pada kedalaman 0,5-10 m, mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik.

Sargassum sp. merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa – senyawa hasil metabolit sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa – senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya sebagai antikanker (Fahri *et al.,* 2010). Klasifikasi *Sargassum cristaefolium* menurut Algaebase (2014), antara lain:

Kingdom	: Chromista
Subkingdom	: Chromobiota
Phylum	: Ochrophyta
Subphylum	: Phaeista
Class	: Phaeophyceae
Order	: Fucales – kylin
Family	: Sargassaceae
Genus	: Sargassum
Specific description	: cristaefolium – C. Agardh
Scientific name	: *Sargassum cristaefolium* C. Agardh

Gambar 3. *Sargassum cristefolium*

Ciri-ciri umum dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah bentuk thalus yang umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder)* yang umumnya soliter. Panjang dari rumput laut ini berkisar 7 meter (di Indonesia terdapat 3 spesies yang panjangnya 3 meter),

warna thalus adalah coklat. Di kepulauan Seribu (Jakarta) alga ini biasa disebut *oseng* (Aslan, 1999).

Komponen utama dari alga adalah karbohidrat (*sugars or vegetable gums*), sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potassium) dan air 80-90 %. Komposisi kimia rumput laut sangat dipengaruhi oleh jenis spesies, habitat, tingkat kematangan, dan kondisi lingkungan sekitarnya. Selain itu, komposisi rumput laut juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur, salinitas, cahaya, dan nutrisi (Putri, 2011). Komposisi kimia *Sargassum* sp. menurut Yunizal (2004), dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum sp*

Komposisi Kimia	Kadar (%)
Karbohidrat	19.06
Protein	5.53
Lemak	0.74
Air	11.71
Abu	34.57
Serat Kasar	28.39

Sumber : Yunizal (2004)

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisahkan dari bahan yang tidak bisa larut dengan pelarut cair (Novianti, 2007). Prinsip dari ekstraksi ini adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrate terhadap residu bahan yang diekstrak (Septiana dan Asnani, 2012).

Salah satu metode ekstraksi sederhana yang sering digunakan adalah maserasi. Teknik maserasi ini diperkuat dengan penjelasan Anggriati (2008), maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan-bahan tumbuhan yang telah

dihaluskan dalam pelarut terpilih kemudian disimpan dalam waktu tertentu dalam ruang yang gelap sesekali diaduk. Metode ini memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaannya yang mudah, alat yang digunakan sederhana, cocok untuk bahan yang tidak tahan pemanasan, kerugiannya adalah pelarut yang digunakan cukup banyak.

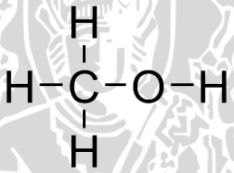
Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar. Keuntungan metode ekstraksi ini adalah metode dan peealatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Rustanti, 2009).

Pelarut merupakan salah satu faktor utama yang menentukan keberhasilak proses ekstraksi. Menurut Nurmillah (2009), pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi harus memenuhi syarat tertentu yaitu tidak toksik, tidak meninggalkan residu, harganya murah tetapi korosif aman, dan tidak mudah meledak. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi jenis bahan yang terekstrak. Rustanti (2009), ada dua pertimbangan dalam pemilihan jenis pelarut yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya dan beracun.

Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai dara melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dengan senyawa yang akan diekstrak. Dijelaskan oleh Sudarmadji *et al.,* (1989), pemilihan pelarut yang akan dipakai harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya auatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Pernyataan serupa diungkapkan oleh Oktavianus (2013), bahwa

prinsip pemilihan pelarut adalah *like dissolve lika,* artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Pelarut yang sering digunkana dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil klorida, etanol, heksana, isopropyl alkohol, dan metanol.

Metanol merupakan pelarut polar. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tannin, gula, asam amino dan glikosida. Metanol sebagai senyawa polar dapat disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar, dapat juga mengekstrak komponen nonpolar seperti lilin dan lemak (Ayuningrat, 2009). Struktur kimia methanol dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kimia Metanol

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Waji dan Andis (2009), metanol digunakan sebagai pelarut awal karena methanol memiliki struktur molekul kecil yang mampu menembus semua jaringan tanaman untuk menarik senyawa aktif keluar. Metanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik, baik senyawa polar maupun non-polar, metanol mudah menguap sehingga mudah dipisahkan dari ekstrak.

Derajat polaritas tergantung pada ketetapan dielektrik. Tetapan dielektrik dari heksana, etil asetat, etanol, metanol dan air masing-masing adalah 1,89; 6,02; 24,30; 33,60; dan 80,40. Makin besar tetapan dielektrik makin polar pelarut tersebut (Septiana dan Asnani, 2013).

Tabel 2. Pelarut Organik dan Sifat Fisiknya

Pelarut	Titik Didih (^oC)	Titik Beku (^oC)	Konstanta Dielektriknya (Debye)
Dietil eter	35	-116	4,3
Kloroform	61	-64	4,8
Metanol	**65**	**-98**	**32,6**
N-heksan	69	-94	1,9
Etil Asetat	77	-84	6,0
Etanol	78	-117	24,3
Air	100	0	78,5

Sumber : Nur dan Adijuwana (1989)

2.4 Senyawa Bioaktif *Sargassum cristefolium*

Metabolit diklasifikasikan menjadi 2, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer dibentuk dalam jumlah terbatas dan digunakan untuk pertumbuhan dan kehidupan organisme. Menurut Putranti (2013), Metabolit primer rumput laut adalah senyawa polisakarida hidrokoloid seperti karagenan, agar dan alginat. Senyawa hidrokoloid tersebut telah digunakan dalam berbagai industri, terutama industri makanan, kosmetik dan obat-obatan. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim atau dari ancaman predator. Metabolit sekunder tidak digunakan untuk pertumbuhan dan dibentuk dari metabolit primer pada kondisi stress. Metabolit sekunder biasanya dalam bentuk senyawa bioaktif yang terdiri dari beberapa senyawa fitokimia.

Sargassum sp. merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolit sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan misalnya sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri. Menurut Rohmah (2011), *Sargassum cristaefolium* termasuk jenis alga coklat yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan telah banyak diketahui

manfaatnya antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor dan menghambat aktivitas enzim.

2.5 Teh Alga Coklat

Teh merupakan minuman yang sangat popular dan banyak dikonsumsi masyarakat. Selain memiliki karakter sensori yang enak dan menyegarkan, teh mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan dan baik untuk kesehatan karena mampu menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh sehingga menghambat penyakit degeneratif dan kerusakan oksidatif sel. Antioksidan teh berasal dari komponen polifenol. Sebanyak 93% senyawa polifenol merupakan senyawa flavonoid (Dewi *et al*., 2012). Saat ini konsumsi teh merupakan bagian dari rutinitas sehari – hari sebagai minuman dan berfungsi untuk mencegah berbagai macam penyakit (Cimpoiu *et al.,* 2011).

Menurut Firdhayani *et al* (2010), rumput laut *Sargassum spp.* dapat diolah menjadi produk teh rumput laut herbal efisien dan bernilai ekonomis. Hal ini dikarenakan dengan adanya kandungan bahan Alginate, iodine dan guluronate yang dapat membuang zat-zat sisa dalam tubuh, seperti lemak dan sel-sel mati akibat radikal bebas. Manfaat yang dihasilkan dari minuman teh adalah memberikan rasa segar, dapat memulihkan kesehatan badan dan terbukti tidak menimbulkan dampak negatif. Khasiat yang dimiliki oleh minuman teh berasal dari kandungan zat bioaktif yang terdapat dalam daun teh.

Sargassum cristaefolium termasuk jenis alga coklat yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan telah banyak diketahui manfaatnya antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor dan menghambat aktivitas enzim (Wakhidatur, 2011).

2.6 Kandungan Teh Alga Coklat

Teh mengandung komponen volatil sebanyak 404 macam dalam teh hitam dan sekitar 230 macam dalam teh hijau. Komponen volatile tersebut berperan dalam memberikan cita rasa yang khas pada teh. Komponen aktif yang terkandung dalam teh, baik yang volatile maupun yang nonvolatile. Komponen teh terdiri dari polifenol (termasuk katekin), katekin, asam amino, vitamin, flavonoid, polosakarida, dan florin. Polifenol dan kafein merupakan komponen yang paling penting dari teh (Heroniaty, 2012). Daun teh mengandung zat-zat yang larut dalam air, seperti katekin, kafein, asam amino, dan berbagai gula. Setiap 100 gram daun teh mem-punyai kalori 17 kj dan mengandung 75-80% air, 16-30% katekin, 20% protein, 4% karbohidrat, 2,5-4,5% kafein, 27% serat, dan 6% pektin (Dwikarya, 2003).

Menurut Cimpoiu *et al., (*2011), komposisi kimia dari teh sangat kompleks antara lian polifenol, alkalois (kafein, teofilin, dan teobromin), asam amino, karbohidrat, protein, klorofil, komponen volatil, flourid, dan sedikit unsur mineral. Teh mampu bersifat sebagai antioksidan pada komponen polifenol terutama turunan katekin.

Kandungan kimia dalam daun teh digolongkan menjadi empat kelompok besar yakni substansi fenol (terdiri dari katekin dan flavanol), substansi lain, substansi penyebab aroma dan enzim. Polifenol dalam daun teh atau sering disebut dengan katekin. Slah satu sifat katekin teh yaitu antioksidan dan antibakteri (Alamsyah, 2006).

Polifenol dalam teh digolongkan sebagai katekin. Ada enam senyawa katekin yaitu katekin (C), galokatekin (GC) , epikatekin (EC), epigalokatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), dan epigalokatekin galat (EGCG). EGCG adalah senyawa paling aktif. Senyawa lain yang ditemukan dalam daun teh hijau adalah alkaloid yang terdiri atas kafein, teobromin, dan teofilin yang bersifat stimulant

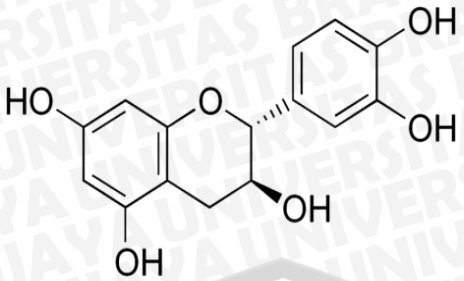
(Agoes, 2010). Epigalokatekin galat merupakan komponen penting yang digunakan sebagai aktivitas antioksidan (Yunus *et al*., 2009).

Hartoyo (2003) mengungkapkan bahwa, polifenol atau zat bioaktif yang ada dalam teh merupakan golongan flavonoid. Berdasarkan strukturnya flavonoid digolongkan menjadi 6 kelas, yaitu flavon, flavonon, isoflavon, flavonol, flavanol, dan antosianin. Adapun flavonoid yang ditemukan di dalam teh berupa flavanol dan flavonol. Flavanol dalam teh hijau digolongkan sebagai katekin. Hal ini dijelaskan lebih lanjut oleh Cimpoiu *et al*., (2011), bahwa komposisi kimia dari teh sangat kompleks, antara lain polifenol, alkaloid (kafein, teofillin, dan teobromin), asam amino, karbohidrat, protein, klorofil, komponen volail, fluorid, dan sedikit unsur mineral. Teh mampu bersifat sebagai antioksidan pada komponen polifenol terutama turunan katekin.

2.7 Katekin

Senyawa kimia dalam teh yang merupakan salah satu kelas flavanol adalah katekin. Jumlah atau kandungan katekin bervariasi untuk masing-masing jenis teh. Menurut Alamsyah (2006), katekin teh memiliki sifat tidak berwarna, larut dalam air serta membawa sifat pahit dan sepat pada seduhan teh.

Katekin adalah senyawa dominan dalam teh hijau yang memberikan rasa pahit. Katekin merupakan kerabat tannin terkondensasi yang juga sering disebut polifenol karena banyaknya gugus fungsi hidroksil yang dimilikinya. Kandungan katekin dari ekstrak teh hijau dipengaruhi oleh beberapa faktor dalam metode persiapan ekstrak seperti kondisi pengeringan dan derajat fermentasi dari daun teh. Kadar katekin juga bervariasi pada daun teh itu sendiri yang diakibatkan beberapa perbedaan seperti perbedaan varietas, asal dan kondisi tumbuhnya tanaman (Rustanti, 2009). Gambar struktur kimia katekin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 . Struktur Kimia Katekin

Katekin teh hijau tersusun sebagian besar atas senyawa-senyawa katekin (C), epikatekin (EC), galokatekin (GC), epigalokatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), dan epigalokatekin galat (EGCG). Perbedaan dari beberapa jenis katekin dilihat dari jumlah gugus hidroksilnya (Robinson, 1995). Sifat-sifat kimia dan fisik pucuk daun teh akan mempengaruhi perubahan katekin dalam pucuk daun tehnya (Alamsyah, 2006). Sifat fisika kimia katekin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat Fisika Dan Kimia Katekin

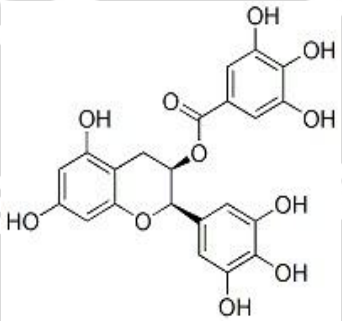
Sifat fisika	Sifat kimia
Warna: putih Melting point: 104-106^{0}C Boiling point: 254^{0}C Tekanan uap: 1 mm Hg pada 75^{0}C Densitas uap: 3,8 g/m^3 Flash point: 137^{0}C Eksplosion limits: 1,97% (batas atas)	• Sensitif terhadap oksigen • Sensitif terhadap cahaya (dapat mengalami perubahan warna apabila mengalami kontak langsung dengan udara terbuka) • Berfungsi sebagai antioksidan • Substansi yang dihindari: unsur oksidasi, asam klorida, asam anhidrat, basa dan asam nitrat. • Larut dalam air hangat • Stabil dalam kondisi agak asam atau netral (pH optimum 4-8)

Sumber : Alamsyah (2006).

2.7.1 Epigalokatekin Galat (EGCG)

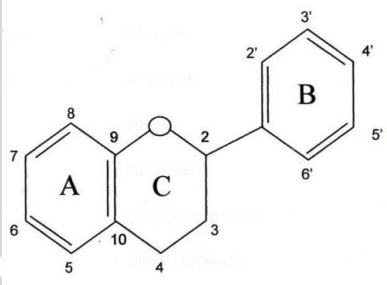
EGCG termasuk dalam katekin yang terdapat di ekstrak teh dan merupakan bentuk yang paling aktif di antara semua jenis katekin. Secara fisik, EGCG merupakan suatu ekstrak yang berbentuk serbuk berwarna putih sampai

merah muda dengan titik luluh 218°C yang larut dalam air dan pelarut organik seperti ethanol dan *dimethyl formamide*. EGCG stabil di dalam suhu kamar biasa namun bersifat higroskopik dan sensitif terhadap cahaya (Hadinoto, 2003). Gambar struktur kimia epigalokatekin galat dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kimia *epigallocatechin gallate*

EGCG merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin. Ketiga cincin tersebut diberi tanda A, B, dan C, atom karbonnya diberi nomor menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C serta angka beraksen untuk cincin B (Widyaningrum, 2013).



Gambar 7. Struktur Dasar Flavonoid

Kadar epigalokatekin galat dalam teh hijau menempati posisi pertama dari jenis katekin yang lain. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan

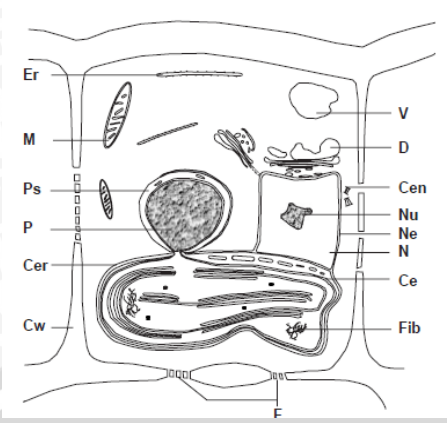
Heroniaty (2012) menyatakan bahwa senyawa fitokimia terbesar yang terkandung dalam teh adalah EGCG yaitu 60-70 % dari total katekin. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Epigalokekatekin Galat pada Teh

No.	Komponen	Kadar (%)
1.	Katekin	1-2
2.	Epikatekin	1-3
3.	Epikatekin galat	3-6
4.	Gallokatekin	1-3
5.	Epigallokatekin	3-6
6.	**Epigalokatekin galat**	**7-13**

Sumber : Heroniaty (2012)

Dari hasil tersebut dapat diketahui pula bahwa epigalokatekin galat memiliki potensi sifat antioksidan yang tinggi. Hal ini sesuai dengan penjelasan Widjaya (1997), epigalokatekin galat (EGCG) adalah antioksidan terkuat yang terdapat dalam teh hijau. Sebagai antioksidan, epigalokatekin galat (EGCG) terdapat pada membran sel maupun didalam ruang ekstraseluler tubuh dan mempunyai sifat menghambat atau mencegah kemunduran atau kehancuran sel akibat reaksi oksidasi. Keberadaan EGCG dalam alga coklat diduga terdapat pada bagian vakuola, hal ini dapat didukung dengan penelitian Davis *et al.,* (2003) yang menunjukkan struktur sel pada Alga coklat. Gambar struktur sel pada alga coklat dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Sel pada Alga Coklat (Davis *et al.*, 2003)

Keterangan : Er = reticulum endoplasma; M = mitokondria; Ps = Kantong Prenoid; P = Prenoid; Cer = Retikulum endoplasma pada kloroplas; Cw = Dinding sel; F = Plasmoderma; Fib = DNA; Ce = Tempat Kloroplas; N = Nukleus; Ne = kantung nucleus; Nu = Nukleolus; cen = Sentriol; D = Golgi; V = Vakuola

Dari gambar tersebut dapat dijelaskan Epigalokatekin galat termasuk dalam turunan katekin. Katekin sendiri merupakan bagian dari senyawa flavanoid golongan flavanol yang menempati bagian vakuola. Menurut Rustanti (2009), vakuola dalam sel daun teh mengandung zat-zat yang larut dalam air, seperti katekin, kafein, aneka asam amino, dan berbagai gula.

2.5 Fitokimia

Fitokimia atau disebut fitonutrien, dalam arti luas adalah segala jenis zat kimia atau nutrient yang diturunkan dari sumber tumbuhan, termasuk sayuran dan buah-buahan. Fitokimia biasanya digunakan untuk merujuk pada senyawa yang ditemukan pada tumubuhan yang tidak dibutuhkan bagi pencegahan penyakit. Fitokimia merupakan senyawa yang bermanfaat sebagai antioksidan dan mencegah kanker juga penyakit jantung (Maulana, 2012).

Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang

bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* Putranti, 2013). 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).

2.6 Uji Antioksidan

Secara sederhana antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang mampu menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi. Antioksidan mampu memberikan elektron untuk mengikat reaksi berantai radikal bebas yang tidak memiliki pasangan di kulit terluarnya. Antioksidan berfungsi sebagai pelindung tubuh dari radikal bebas. Peryataan tersebut sesuai dengan penjelasan dari Kochhar dan Rossell (1990), antioksidan didefinisikan sebagai zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami merupakan antioksidan hasil ekstraksi bahan alami dan antioksidan buatan (sintetik) merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia.

Antioksidan digolongkan menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan sintetis. Penggunaan antioksidan sintetis seperti BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) dan BHT (*Butil Hidroksi Toluen*) banyak menimbulkan kekhawatiran akan efek sampingnya. Penggunaan antioksidan sintetik dalam bahan pangan harus diawasi karena jika berlebihan dapat menimbulkan dampak negatif. Karena penggunaan antioksidan alami dinilai lebih aman, maka pencarian dan pengkajian terhadap sumber senyaa antioksidan alami banyak dilakukan.

Ditambahkan oleh Wulandari (2009), senyawa alami yang digunakan sebagai antioksidan antara lain ß-karoten, karotenoid, vitamin C, ekstrak teh hijau, senyawa polifenol dan flavonoid (Komayaharti dan Paryanti, 2012)

Senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidan lebih banyak berada pada bagian vakuola sel salah satunya katekin (EGCG). Menurut Rustanti (2009), vakuola dalam sel daun teh mengandung zat-zat yang larut dalam air, seperti katekin, kafein, aneka asam amino, dan berbagai gula. Dalam sitoplasma terdapat enzim pengoksida yaitu polifenol oksidasi, klorofil, dan karoten. Untuk lebih jelas dapat dilihat dalam Tabel 5.

Tabel 5. Komposisi Pucuk Daun Teh

No.	Bagian dari sel	Senyawa	Total	Yang Larut Dalam Air
1.	Dinding sel (*cell wall*)	Selulosa	24,0	0,0
		Hemiselulosa	-	-
		Lignin	6,5	2,3
		Pectin	-	-
2.	Protoplasma (*outer cell membrane*)	Protein	17,0	0,0
		Lemak	8,0	-
		Tepung	0,5	0,0
3.	**Vakuola (*inner cell membrane*)**	**Polifenol/katekin**	**22,0**	**22,0**
		Asam amino	4,0	4,0
		Asam gula	3,0	3,0
		Asam organic	3,0	3,0
		Abu/mineral	5,0	4,0
	Jumlah		100,00	45,3

Sumber : Rustanti (2009)

Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsi. 2007).

Aktivitas antioksidan yaitu kemampuan suatu bahan yang mengandung antioksidan untuk dapat meredam senyawa radikal bebas yang ada disekitarnya.

Pada penelitian ini aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode DPPH (1,1-*diphenyl*-2-*pycrilhydrazil*). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil. Penggunaan metode DPPH dalam penelitian ini disebabkan karena tahapan-tahapan yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam suatu bahan pada metode ini sangat mudah dan hanya membutuhkan waktu yang singkat. Prinsip kerja dari metode ini adalah proses reduksi senyawa radikal bebas DPPH oleh antioksidan. Proses reduksi ditandai dengan perubahan atau pemudaran warna larutan, yaitu dari warna ungu pekat (senyawa radikal bebas) menjadi warna agak kekuningan (senyawa radikal bebas yang tereduksi oleh antioksidan). Pemudaran warna akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari *spectrofotometer*, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Ananda, 2009).

2.7 LC-MS

Metode LC-MS telah banyak digunakan sebagai metode pemisahan dan identifikasi bagi kebanyakan senyawa obat/organik. Metode ini sangat sensitive dan selektif dibandingkan metode deteksi dengan sinar UV biasa. Setelah pemisahan analit pada kolom HPLC, analit akan masuk ke detektor massa. Di dalam detektor ini, analit akan mengalami ionisasi menjadi ion dalam fase gas. Ion-ion tersebut akan terpisah berdasarkan rasio *mass to charge* (m/z) dan akan terdeteksi berdasarkan kelimpahan masing-masing ion (Purwanto, 2011).

Seperti yang diketahui salah satu metode ionisasi dalam spektrometer massa adalah *electrospray* (ESI). Prinsip kerja metode ini adalah terbentuknya droplet campuran pelarut (fase gerak HPLC) dan analit yang bermuatan listrik karena dilewatkan melalui celah sempit yang berpotensial listrik tinggi (4-5 kV). Metode pengionan dengan ESI adalah metode yang lunak karena hanya menghasilkan sedikit fragmentasi analit dan proses dapat dilakukan pada

tekanan atmosfer. Pengionan positif akan membuat analit menjadi terprotonasi atau menjadi kation, sedangkan pengionan negatif akan membuat analit menjadi anion atau mengalami deprotonasi. Kation-kation yang sering terbentuk dalam metode ESI adalah ion pseudomolekul hasil adisi antara analit dengan proton $(H)^{+\cdot}$ Oleh karena itu, nilai m/z dalam spektra akan sering bernilai $(M^{+}H)^{+}$ atau $(2M^{+}H)^{+}$, dengan M adalah bobot molekul analit (Kazakevich and Lobrutto, 2007).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - Juli 2014. Sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* diambil dari perairan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura. Proses ekstraksi dan analisis dilakukan dibeberapa laboratorium yaitu, Laboratorium Teknologi hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, serta Laboratorium Kimia 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, proses ekstraksi, pengujian fitokimia, pengujian antioksidan dan pengujian dengan metode LC-MS.

Bahan yang digunakan untuk proses perendaman yaitu larutan kapur $Ca(OH)_2$ dan pH *paper*. Bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah pelarut metanol, kertas saring Whatman no.42, aluminium foil, dan kertas label. Adapun bahan untuk uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (1,1 *diphenil*-2-*pikrilhidrazyl*) adalah pelarut metanol, aluminium foil, serbuk DPPH (1,1*diphenil*-2-*pikrilhydrazil*) yang diperoleh dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah 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, pengujian fitokimia dan pengujian dengan metode LC-MS. Peralatan yang digunakan dalam proses pembuatan teh alga coklat ini terdiri dari pH meter, *microwave, coolbox*, sikat, gunting, nampan, baskom, blender dan timbangan digital. Sedangkan peralatan gelas yang digunakan selama proses ekstraksi yaitu *beaker glass* 600 ml, 500 ml, 300 ml, 400 ml, gelas ukur 100 ml, dan 200 ml, Erlenmeyer 500 ml, dan 600 ml, spatula, timbangan digital, corong, *rotary vacuum evaporator*, blender, serta kipas angin.

Peralatan yang digunakan pada pengujian fitokimia antara lain, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass 50 ml, beaker glass 100 ml, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, spatula, gelas ukur 10 ml, timbangan digital, *hot plate*, *waterbath*, *thermometer*, corong. Sedangkan alat yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, yakni botol vial, pipet volume 10 ml, bola hisap, gelas ukur 50 ml serta spektrofotometer UV-Vis..

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode yang bersifat eksploratif deskriptif (non hipotesis). Metode eksploratif dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, fitokimia dan kadar epigalokatekin galat (EGCG) dari 'teh' campuran batang – daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

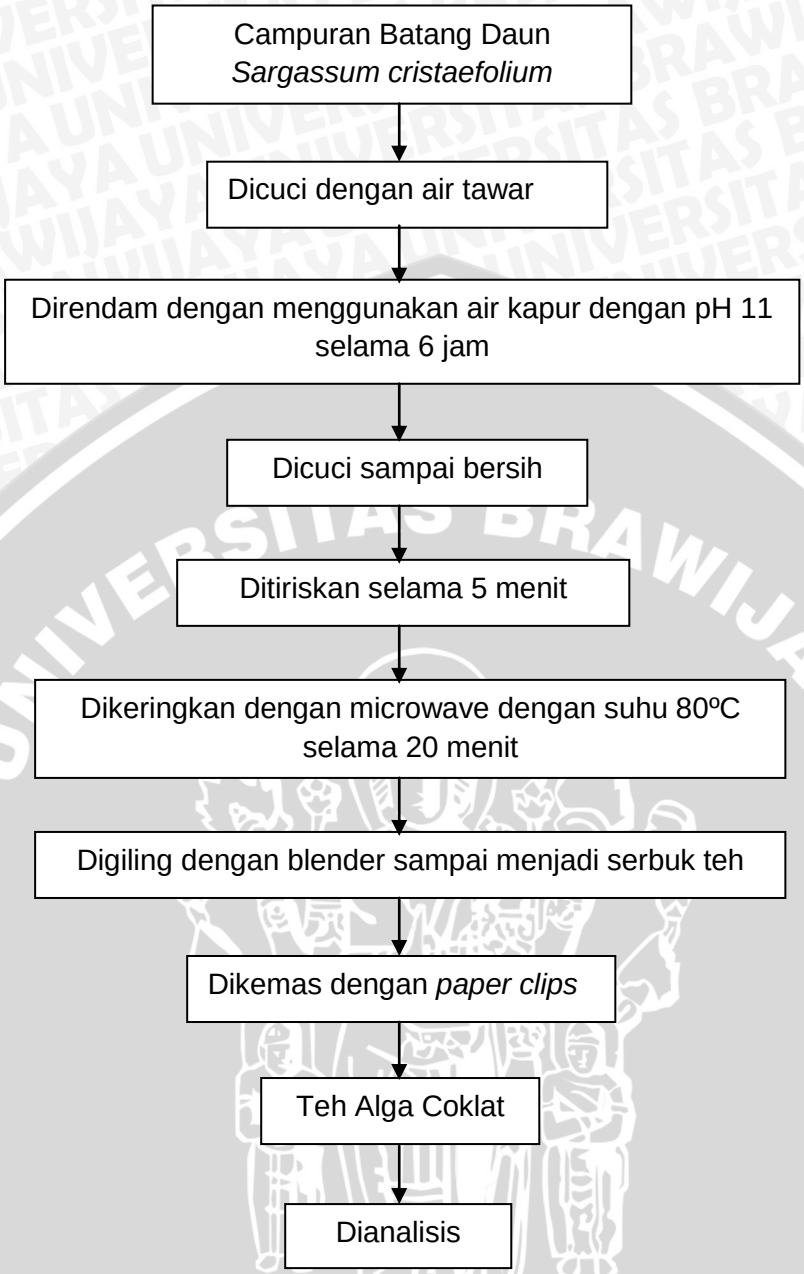
Metode eksploratif merupakan penelitian yang dilakukan bila pengetahuan tentang gejala yang diteliti masih sangat kurang atau tidak ada sama sekali. Menurut Sandjaja dan Heriyanto (2006), penelitian deskriptif bertujuan untuk mendeksripsikan gejala-gejala yang terjadi pada masa itu. Desain penelitian ini biasanya hanya melibatkan satu variabel saja. Penelitian deskriptif umumnya

tidak hendak menguji hipotesa, melainkan hanya memaparkan suatu obyek apa adanya secara sistematik. Oleh karena tidak menguji hipotesa, maka umumnya pada 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.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan dari rumput laut *Sargassum cristaefolium* yang berbeda yaitu segar, kering, “teh”, dan teh seduh. Sampel segar ditangani dengan cara dicuci bersih dan diangin-anginkan selama 5-6 menit untuk mengurangi kadar air. Untuk sampel kering dilakukan penanganan dengan menjemur dibawah sinar matahari selama 2x24 jam, sedangkan ‘teh’ dilakukan proses perendaman larutan basa $Ca(OH)_2$ dengan pH 11 selama 6 jam dan dikeringkan menggunakan *microwave* dengan suhu 80 C selama 20 menit. Proses teh seduh diperoleh dari proses penyeduhan sampel “teh” dengan aquades. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar epigalokatekin galat (EGCG) alga coklat yang diuji dengan metode LCMS, aktivitas antioksidan, analisis fitokimia. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah IC_{50} (*inhibitor concentration*), dimana IC_{50}<200 ppm maka senyawa antioksidan berhasil memberikan penghambatan 50% karakter radikal bebas. Proses pembuatan teh alga coklat (Hernawan, 2011) dapat dilihat pada Gambar 9.

Menurut Surachmad (1994), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas, dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

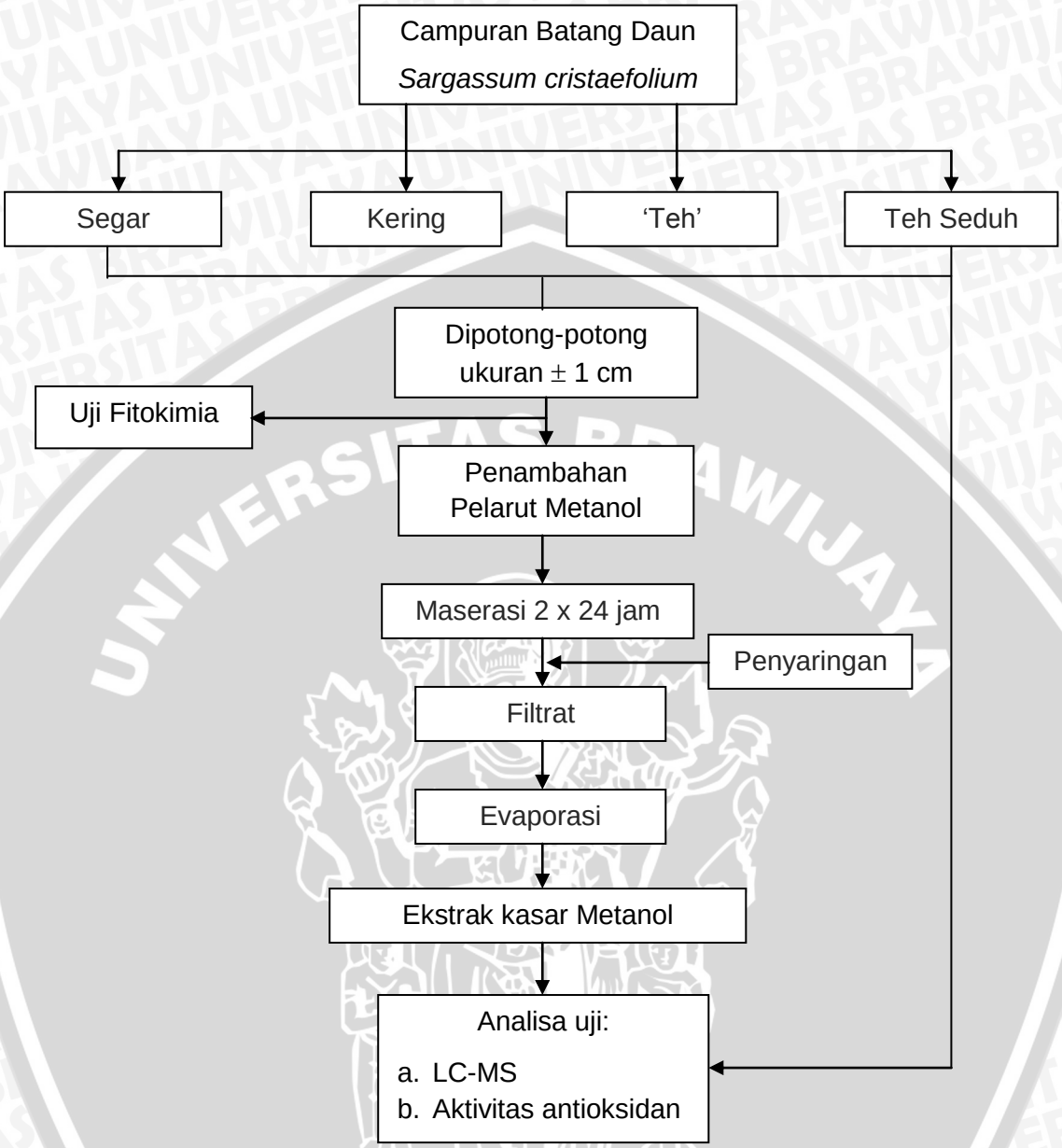


Gambar 9. Prosedur Pembuatan Teh Alga Coklat (Hernawan, 2011)

3.5 Prosedur Penelitian

Alga coklat *Sargassum cristaefolium* dibagi menjadi 4 perlakuan yaitu segar, kering, 'teh', dan teh seduh. Proses ekstraksi dilakukan dengan perbandingan antara sampel dan pelarut 1/16 (b/v) dengan menggunakan pelarut polar. Pada sampel segar alga coklat *Sargassum cristaefolium* dipotong kecil-

kecil dan dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya ditimbang sebanyak 25 gram. Sampel tersebut dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan pelarut sebanyak 400 ml. Sampel kering dan 'teh' dihaluskan dengan menggunakan blender, dan ditimbang sebanyak 10 gram. Dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan pelarut sebanyak 160 ml. *Beaker glass* yang berisi sampel dan pelarut kemudian dimaserasi selama 2x24 jam. Sampel dan pelarut di filtrasi dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 42 sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat selanjutnya di evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 75 rpm. Setelah sampel dievaporasi, didapatkan ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium*. Selanjutnya ekstrak kasar diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (1,1 *diphenyl* 2 *picryhydrazil*) dan kadar Epigalokatekin galat (EGCG) dengan metode LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*). Skema kerja prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Prosedur Penelitian

3.6 Uji Antioksidan

Ekstraksi Sargassum cristaefolium dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol. Proses ini dilakukan dengan cara merendam sampel segar (25gr), kering (10 gr), dan 'teh' (10 gr). Sampel tersebut kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer dan ditambahkan pelarut sebanyak 160 ml (1:16) (b/v). Erlenmeyer berisi sampel dan larutan kemudian dimaserasi selama 2x24 jam. Sampel

disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 42 sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C.

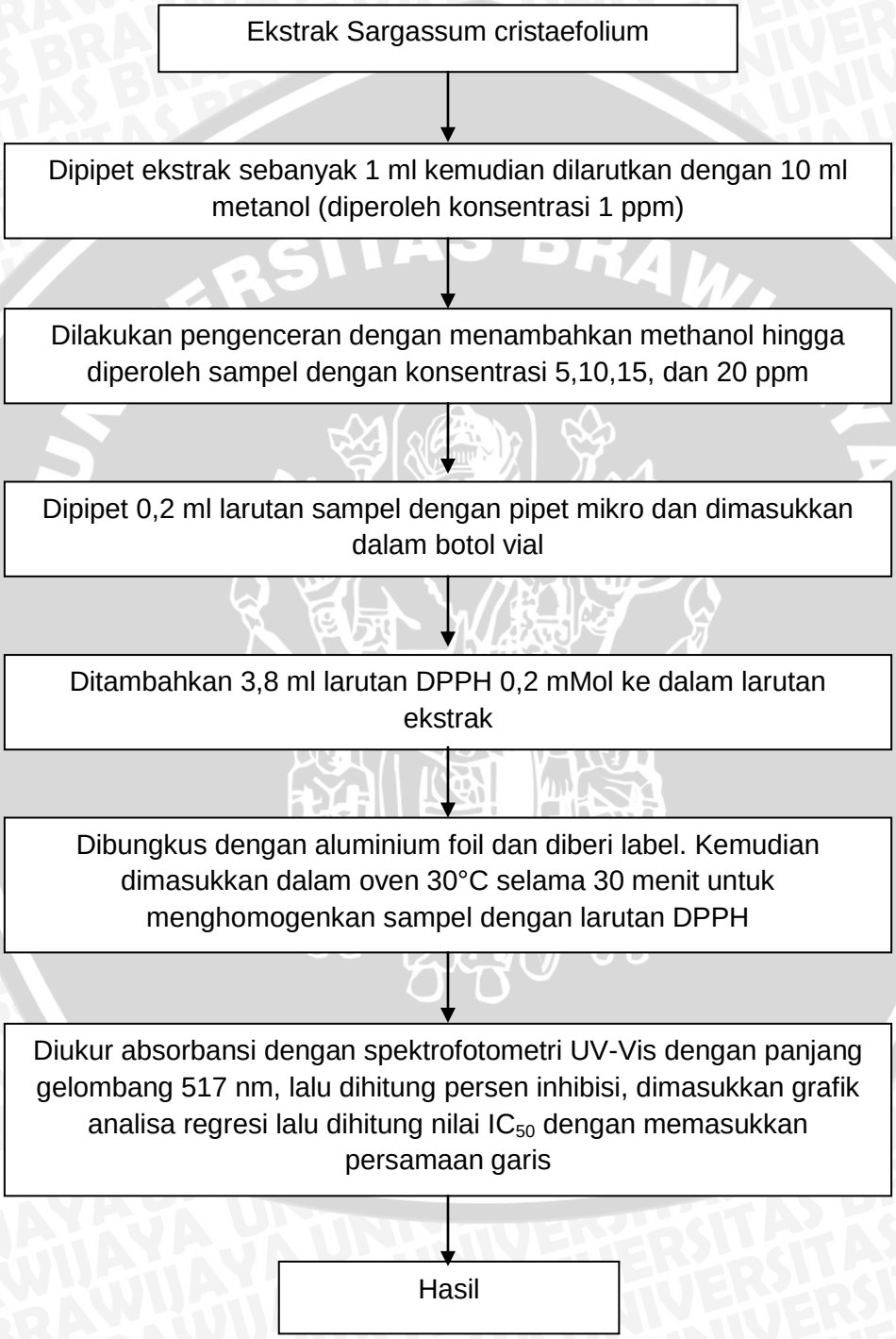
Uji aktivitas antioksidan sampel *Sargassum cristaefolium* dalam mereduksi radikal bebas diukur dengan DPPH (1, 1*diphenyl*−2−*picrylhydrazyl*) dilakukan berdasarkan metode Renhoran (2012). Larutan ekstrak didapat dengan mengekstraksi sampel alga coklat dalam pelarut metanol sebanyak 1 ml larutan DPPH 0.2 mM dalam metanol dimasukkan ke dalam 1 ml larutan ekstrak (konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Hasil serapan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko untuk menghitung persen inhibisi. Prosedur penentuan panjang geelombang serapan maksimum DPPH dan pemeriksaan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 11. Persentase penghambatan aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel yang dihitung dengan rumus:

$$\textbf{Inhibisi (\%)} = \frac{\textbf{absorbansi blanko – absorbansi sampel}}{\textbf{absorbansi blanko}} \textbf{ x 100\%}$$

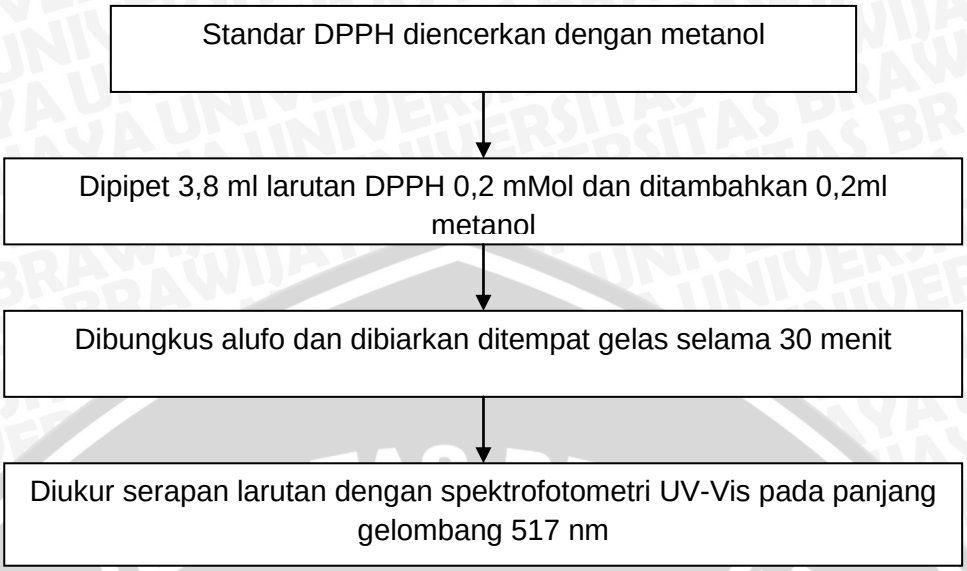
Persamaan regresi diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan presentase penghambatan aktivitas radikal bebas.Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC_{50}) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan y = 50 serta nilai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

$$\mathbf{y = A + B\ Ln\ (x)}$$

Keterangan:
y = persen inhibisi
x = konsentrasi sampel (ppm)
A = *slope*
B = *intercept*



Gambar (a)



Gambar (b)

Keterangan : (a) Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan

(b) Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

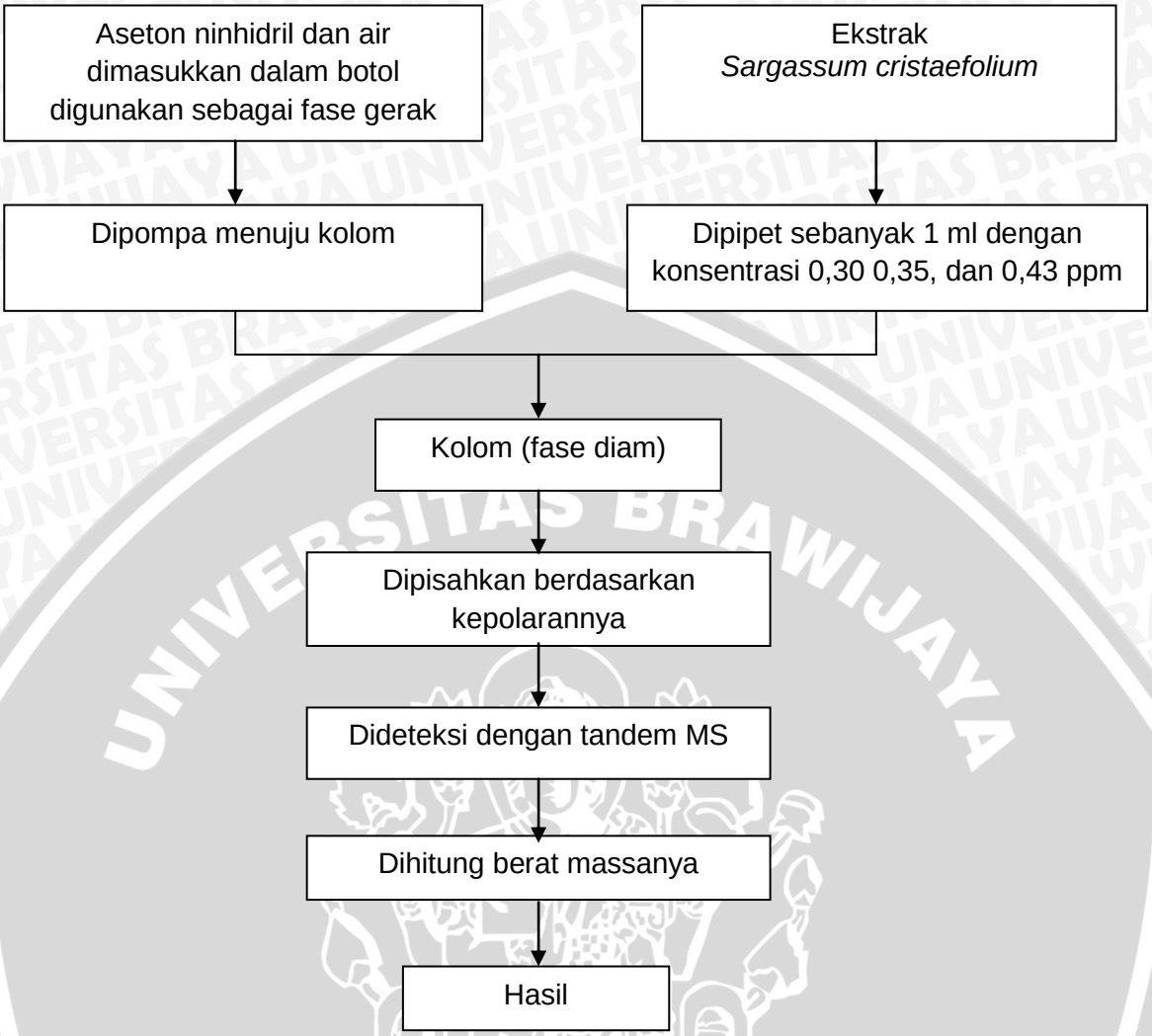
3.7 Uji LC-MS

LC-MS merupakan salah satu metode dengan prinsip *chromatography* atau pemisahan dengan menggunakan fase gerak cair yang dialirkan melalui kolom yang bertindak sebagai fase diam menuju ke detektor dengan bantuan pompa. Fase gerak berupa pelarut aseton ninhidrit dan air yang berfungsi untuk mengantarkan sampel menuju kolom yang nantinya akan dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya. Sampel dimasukkan kedalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan atau injeksi. Disuntikkan sebanyak 0,25 ppm, 0,30 ppm, 0,35 ppm, dan 0,43 ppm standar epigalokatekin galat (EGCG) dan sampel ekstrak alga coklat *Sargassum cristaefolium* kedalam kolom. Didalam kolom terjadi pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda, sehingga akan mempengaruhi kekuatan interaksi senyawa dengan fase diam.

Senyawa yang memiliki kekuatan interaksi lemah dengan fase diam akan keluar terlebih dahulu sedangkan yang memiliki kekuatan interaksi kuat akan ditahan untuk keluar lebih lama. Dalam hal ini senyawa yang mempunyai kekuatan interaksi lemah didominasi oleh senyawa polar. Suhu yang digunakan dalam pengujian ini stabil 30°C dan tidak mengalami perubahan.

Senyawa yang keluar selanjutnya akan dideteksi oleh spektrometri massa yang mengukur perbandingan massa dan muatan. Prinsip dari MS (*mass spectrometry*) adalah mengionisasi senyawa kimia menjadi molekul dan fragmen, serta mengukur rasio massa / muatan. Dari detektor spektrometri massa dilanjutkan menuju data prosesor berupa computer dimana dalam alat ini berfungsi untuk mengubah sinyal dari detector menjadi data berupa angka-angka antara lain waktu retensi (Rt), luas kurva, serta presentase luas kurva.

Liquid Chromatograpy – Mass Spectroscopy adalah dua alat yang digabungkan menjadi satu, yang berfungsi untuk memisahkan beberapa senyawa atau campuran senyawa berdasarkan kepolarannya (prinsip kerja kromatografi), dimana setelah campuran senyawa tersebut terpisah, maka senyawa yang murni akan diidentifikasi berat molekulnya. Data yang didapatkan adalah berat molekul ditambah beberapa muatan dan berat molekul pelarut (Immamura, 2013). Skema kerja LC-MS dapat dilihat pada Gambar 12.



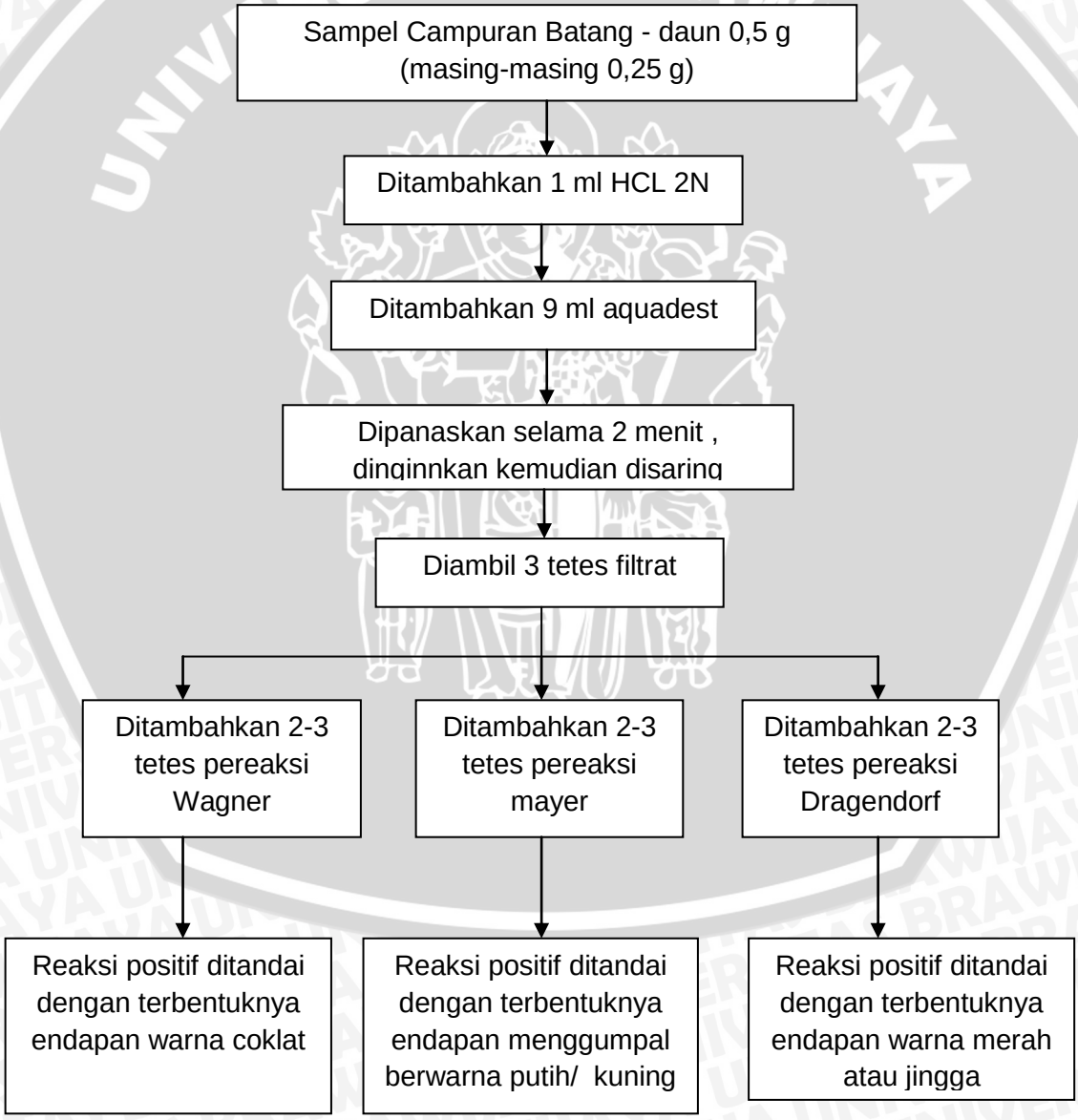
Gambar 12. Skema Uji LC-MS

3.8 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 alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tannin. Metode uji didasarkan pada Harbone (1987) dan Tarigan *et al*., (2008).

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

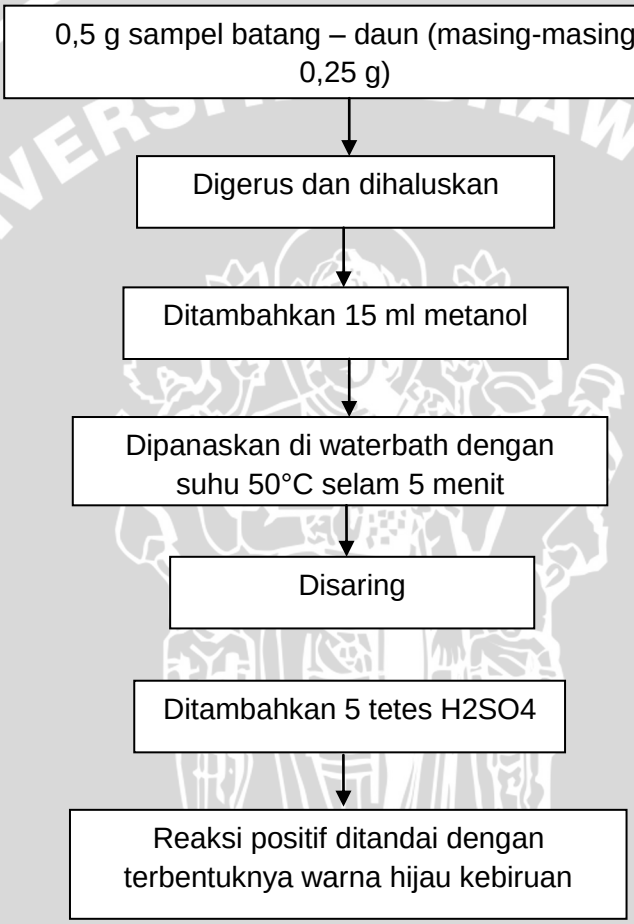
Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N pada 0,5 gr sampel kemudian diuji dengan tiga pereaksi alkaloid yaitu, pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer, dan pereaksi Wagner. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff. Skema kerja uji Alkaloid dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Skema Kerja Uji Alkaloid (Tarigan et al., 2008)

3.8.2 Flavonoid (Harborne, 1987)

Sejumlah sampel sebanyak 0,5 gr ditambahkan 15 ml metanol dan dipanaskan di waterbath dengan suhu 50 ^{o}C selama 5 menit kemudian disaring dan ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Skema kerja uji Flavonoid dapat dilihat pada Gambar 14.

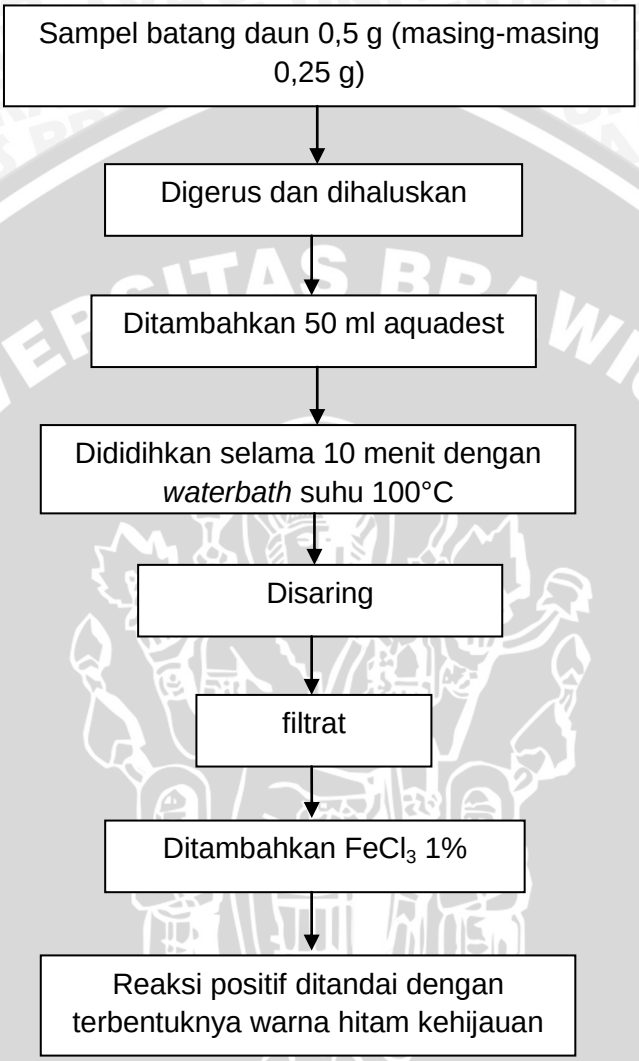


Gambar 14. Skema Kerja Uji Flavonoid (Harborne 1987)

3.8.3 Tanin (Harborne, 1987)

Sejumlah sampel sebanyak 5 gr ditambahkan aquadest 50 ml dan dididihkan selama 10 menit dengan *waterbath* suhu 100 ^{o}C. Sampel disaring dan diperoleh

filtrat kemudian ditetesi 3 tetes $FeCl_3$ 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan pada campuran. Skema kerja uji Tanin dapat dilihat pada Gambar 15.

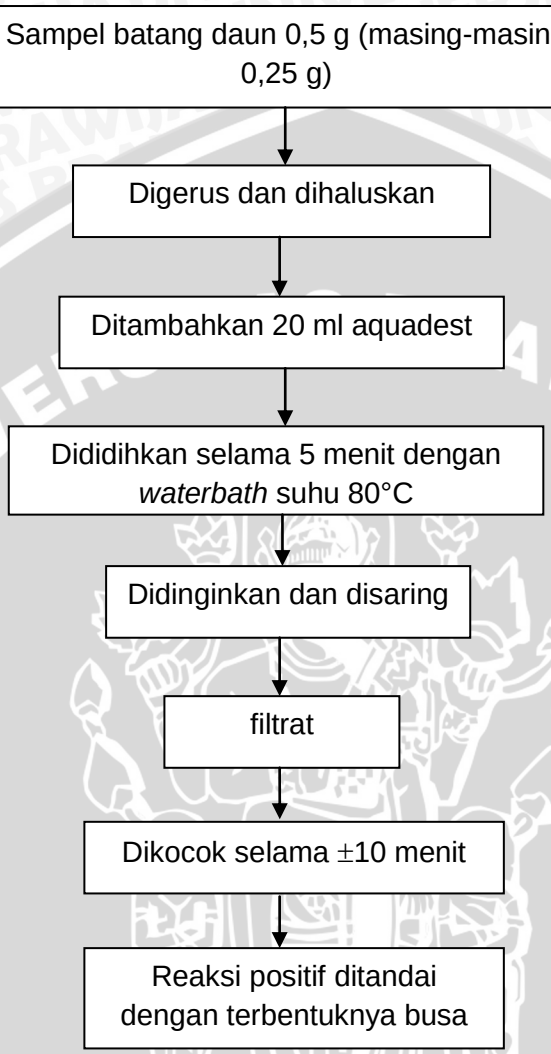


Gambar 15. Skema Kerja Uji Tanin (Harborne, 1987)

3.8.4 Saponin (uji busa) (Harborne, 1987)

Saponin dapat dideteksi dengan cara 0,5 gr sampel dilarutkan dalam aquadest 20 ml kemudian dipanaskan dengan waterbath pada suhu 80 ^{o}C selama ±5 menit. Lalu sampel didinginkan, disaring dan dikocok selama 10

menit. Apabila terdapat busa menandakan adanya senyawa saponin yang terkandung di dalam sampel. Skema kerja uji Saponin dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Skema Kerja Uji Saponin (Harborne, 1987)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian terhadap alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan berbagai perlakuan segar, kering, 'teh' dan teh seduh yang meliputi beberapa parameter antara lain skrining fitokimia, aktivitas antioksidan, kadar EGCG, dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data Hasil Penelitian alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan Berbagai Perlakuan

PARAMETER	SEGAR	KERING	'TEH'	TEH SEDUH
Skrining fitokimia				
Flavonoid	++	+	+	+
Alkaloid	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-
Tannin	+	+	+	+
Aktivitas antioksidan				
Nilai IC_{50}	176,72429	172,72702	195,33337	273,23012
Kadar Epigalokatekin galat EGCG				
Kadar EGCG	0,043	0,055	0,032	0,194
Rendemen (%)				
Segar menjadi kering	40,00			
Segar menjadi 'teh'	19,23			

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

4.1 Skrinning Fitokimia

Skrining fitokimia adalah suatu analisis kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif dalam suatu tumbuhan atau ekstrak kasar tumbuhan yang larut pada metanol. Dijelaskan oleh Simbala (2009), analisis fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tannin, dan triterpenoid. Uji ini sangat bermanfaat unuk memberikan informasi senyawa kimia

yang terdapat pada tumbuhan. Analisa ini merupkan tahapan awal dalam isolasi senyawa bahan alam selanjutnya.

Hasil uji fitokimia pada *Sargassum cristaefolium* menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin. Menurut Astarina *et al*., (2013) senyawa flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, minyak atsiri, serta glikosida dapat tertarik dalam pelarut metanol. Hal ini disebabkan karena metanol merupakan pelarut universal yang memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH3) sehingga dapat menarik analit-analit yang bersifat polar dan nonpolar. Hasil skrining fitokimia alga coklat *Sargassum cristefolium* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Skrining Fitokimia *Sargassum cristaefolium*

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil				Keterangan
		Segar	Kering	'Teh'	Teh seduh	
Alkaloid	Wagner	-	-	-	-	Terbentuknya endapan merah atau coklat
	Mayer	-	-	-	-	Terbentuknya endapan putih kekuningan
	Dragendorf	-	-	-	-	Terbentuknya endapan merah/jingga
Flavonoid	H_2SO_4	++	+	+	+	Terbentuknya warna hijau kebiruan
Tannin	$FeCl_3$	+	+	+	+	Terbentuknya warna hitam kehijauan
Saponin	Aquadest	-	-	-	-	Terbentuknya busa

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

Alkaloid merupakan senyawa kimia bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, umumnya tidak berwarna, dan banyak mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol sehingga banyak digunakan dalam pengobatan (Simbala, 2009). Uji Alkaloid dilakukan dengan 3 pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Terbentuknya endapan merah atau coklat menunjukkan hasil positif pada pereaksi Wagner, endapan putih kekuningan menunjukkan hasil positif pada pereaksi mayer dan endapan merah atau jingga pada pereaksi Dragendorf.

Hasil positif pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Selanjutnya untuk hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodide menghasilkan ion I^{3-} yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kaliumalkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (Marliana, 2005).

Dari hasil tabel diatas, sampel menunjukkan hasil negatif pada semua perlakuan. Hasil ini diduga karena tidak adanya kandungan amina dalam ekstrak *Sargassum cristaefolium*. Dijelaskan oleh Kristanti (2008) dalam Astarina *et al.,* (2013), bahwa Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tanaman, tetapi sering kali kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan kurang dari 1% Hal ini yang dapat menyebabkan uji skrining alkaloid memberikan hasil yang negatif. Menurut

Renhoran (2012), uji fitokimia pada alkaloid ekstrak *Sargassum polycystum* pada semua pelarut methanol, etil asetat dan n heksan tidak terdeteksi. 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 mengidentifikasikan bahwa tidak adanya kandungan amina dalam ekstrak *Sargassum polycystum.*

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang terdiri dari C_6-C_3-C_6 dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Putranti, 2013). Berdasarkan strukturnya flavonoid digolongkan menjadi 6 kelas, yaitu flavone, flavonon, isoflavon, flavonol, flavanol, dan antosianin. Adapun flavonoid yang ditemukan di dalam teh berupa flavanol dan flavonol. Selain flavonoid di dalam teh juga terdapat asam amino bebas yang disebut sebagai L-theanin (Hartoyo, 2003). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna hijau kebiruan pada larutan sampel. pada perlakuan segar didapatkan hasil perubahan warna hijau kebiruan yang sangat pekat, hal ini diduga dalam sampel segar kandungan flavonoid masih sangat tinggi dan tidak ada perlakuan khusus. Menurut Harborne (1987), Intensitas flavonoid pada pelarut metanol menunjukkan bahwa komponen flavonoid yang ada pada ekstrak *Sargassum polycystum* memiliki kandungan flavonoid yang bersifat polar. Hal ini diduga karena flavonoid tersebut berikatan dengan gula sebagai glikosida, sehingga flavonoid yang bersifat polar dapat larut pada pelarut polar (Renhoran, 2012). Hasil ini sama dengan penelitian Tuarita (2013) yang menunjukkan hasil positif flavonoid pada sampel *Sargassum cristaefolium*.

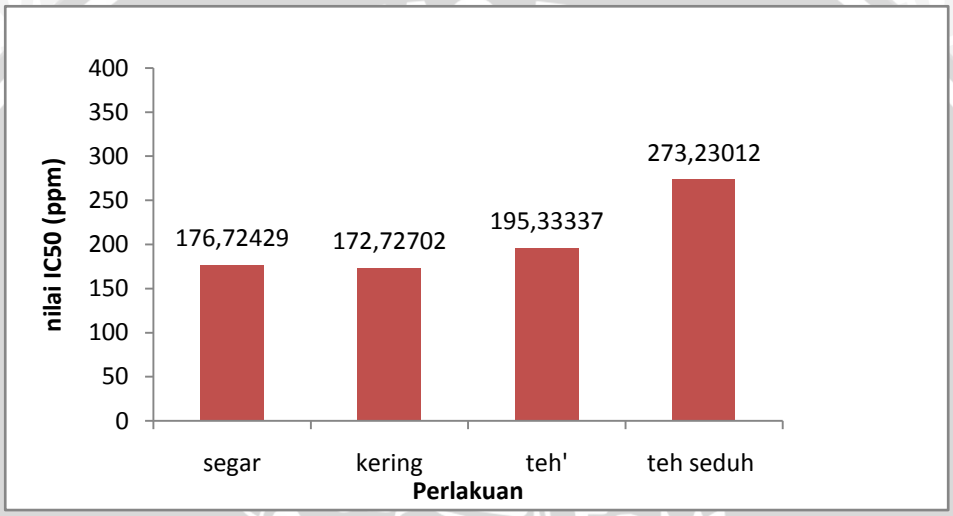
Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein (Tanin ditunjukkan dari adanya perubahan warna setelah penambahan $FeCl_3$ yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin. Penambahan $FeCl_3$ menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tannin terkondensasi (Astarina *et al.,* (2013). Semakin banyak kandungan tanin maka semakin besar aktivitas antioksidannya karena tanin tersusun dari senyawa polifenol yang memiliki aktivitas penangkap radikal bebas (Malangngi *et al.,* 2012).

Saponin merupakan bentuk glikosida dari sapogenin sehingga akan bersifat polar. Saponin adalah senyawa yang bersifat aktif permukaan dan dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Astarina *et al.,* 2013). Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987). Hasil uji fitokimia yang dilakukan menunjukkan tidak terbentuk adanya busa yang menandakan kandungan saponin pada campuran batang daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* bernilai negatif. Hasil tersebut sesuai dengan penelitin yang dilakukan Renhoran (2012) yang menunjukkan hasil negatif uji saponin pada rumput laut *Sargassum polycystum*.

4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Antioksidan merupakan kemampuan suatu zat dalam menunda, mencegah atau menghambat terjadinya proses oksidasi. Pengujian antioksidan senyawa-senyawa bahan alam dapat dilakukan dengan menggunakan DPPH sebagai senyawa radikal bebas yang ditetapkan secara spektrofotometri (Novianti, 2012).

Parameter untuk hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperolah dari persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium* (sumbu x) dan persen penangkapan radikal DPPH (% inhibisi) (sumbu y). Grafik nilai IC_{50} aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 17.



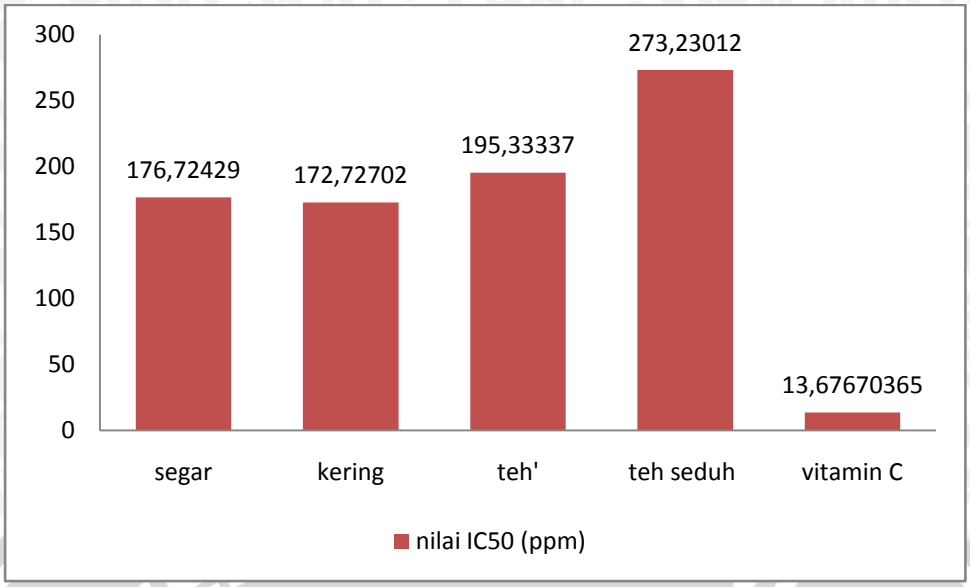
Gambar 17. Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Penangkal Radikal Bebas DPPH

Dari grafik batang di atas memperlihatkan aktivitas antioksidan alga coklat *Sargassum cristaefolium* masuk dalam kategori kelompok lemah. Hal ini didasarkan pada hasil IC_{50} yang sangat tinggi namun kemampuan aktivitasnya rendah. Pada perlakuan segar *Sargassum cristaefolium* menunjukkan hasil sebesar 176,72429, selanjutnya untuk perlakuan kering mengalami penurunan 172,72702, untuk perlakuan 'teh' dan teh seduh masing-masing 195,33337 dan 273,23012.

Hasil tersebut berbanding lurus dengan penelitian yang dilakukan Renhoran (2012), berdasarkan hasil pengujian antioksidan dengan sampel *S. polycystum* dengan menggunakan 3 pelarut yang berbeda yakni metanol, etanol,

dan N-Heksan. Pengujian dilakukan dengan metode DPPH, aktivitas antioksidan yang masuk dalam kategori sedang terdapat pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} sebesar 109,4 ppm dan ekstrak etil asetat nilai IC_{50} sebesar 129,4 ppm diikuti oleh n-heksana dalam kategori lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 1174,98 ppm. Namun berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan Tuarita (2013), aktivitas antioksidan pada *crude* ekstrak *Sargassum cristefolium* dengan menggunakan pelarut metanol masuk dalam kategori tinggi dengan nilai IC50 pada sampel segar sebesar 39,136 ; kering 46,824 ; 'teh' 55,778.

Pembanding yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah vitamin C. Menurut Molinuex (2004), asam askorbat (vitamin C) merupakan standart yang biasa digunakan dalam setiap pengujian antioksidan. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari larutan vitamin C sebesar 13,678 ppm dimana nilai IC_{50} vitamin C kurang dari 50 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum cristaefolium* lebih rendah dari aktivitas vitamin C hal ini diduga didalam ekstrak *Sargassum cristaefolium* terdapat senyawa lain yang tidak bersifat antioksidan atau proses penguapan pelarut yang kurang sempurna. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

Menurut Putranti (2013), IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Perbedaan aktivitas antioksidan pada *Sargassum cristefolium* diduga disebabkan oleh : (1) umur sampel (2) pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi dan (3) adanya pengaruh perendaman basa pada penanganan 'Teh', (4) lama penyimpanan dalam suhu rendah. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai IC_{50} aktivitas antioksidan pada perlakuan kering yang mengalami penurunan. Menurut Darusman *et al.,* (1995), hasil ekstrak yang diperoleh akan tergantung pada beberapa faktor antara lain kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, dan perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Muawwanah *et al.,* (1997) terhadap ekstrak alga laut *Sargassum sp.* Basah memperlihatkan aktivitas antioksidan tertinggi dengan pelarut methanol sedangkan ekstrak *Sargassum sp.* kering kurang mempunyai aktivitas antioksidan

Dijelaskan oleh Adam (2013), kemampuan metanol dalam mengekstrak jaringan tanaman disebabkan karena pelarut ini secara efektif dapat melarutkan senyawa polar, seperti gula, asam amino, dan glikosida. Hal ini juga ditemukan oleh Darwis (2000), yang menyatakan bahwa secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena hampir dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder seperti flavanoid, alkaloid, dan fenolat.

Perbandingan aktivitas antioksidan pada jenis ekstrak menunjukkan nilai yang relatif berbeda. Ekstrak *S. polycystum* dengan metanol dan etil asetat memiliki nilai aktivitas antioksidan yang masuk dalam kategori sedang sehingga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap ekstrak n-heksana yang memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dari 500 ppm (Renhoran, 2012).

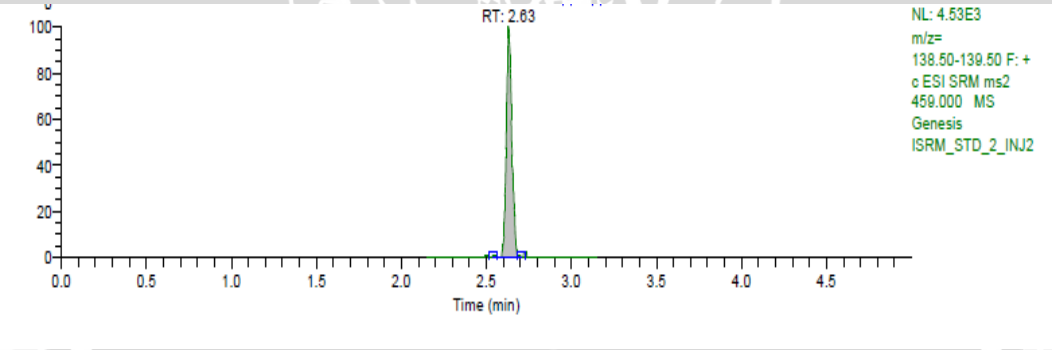
Pengujian dengan menggunakan radikal bebas DPPH merupakan pengujian secara kuantitatif. Jika nilai IC_{50} semakin kecil , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak kasar alga coklat *Sargassum cristaefolium* untuk menangkap radikal DPPH. Begitu juga sebaliknya jika nilai IC_{50} semakin besar maka semakin rendah aktivitas senyawa antioksidan untuk menangkap radikal DPPH.

4.3 Validasi EGCG dengan LC-MS

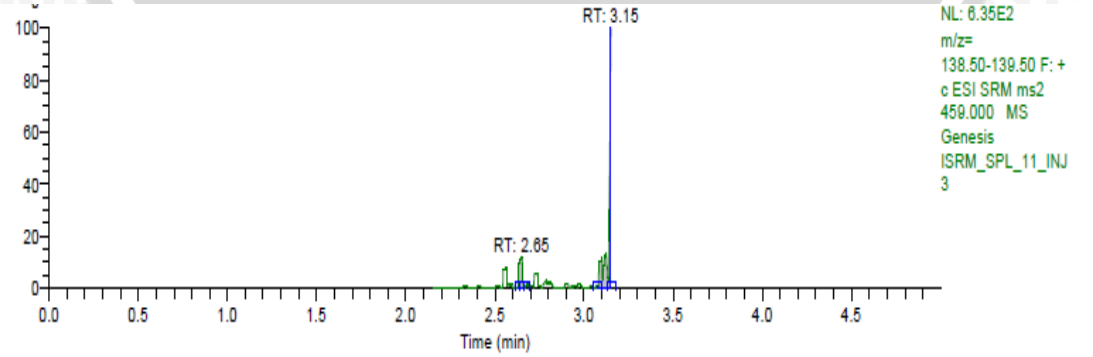
Pengukuran kadar Epigalokatekin galat (EGCG) dalam ekstrak kasar *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut metanol dilakukan dengan menggunakan uji LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*). Metode LC-MS telah banyak digunakan sebagai metode pemisahan dan identifikasi bagi kebanyakan senyawa obat/organik. Metode ini sangat sensitive dan selektif dibandingkan metode deteksi dengan sinar UV biasa. Setelah pemisahan analit pada kolom HPLC, analit akan masuk ke detektor massa. Di dalam detektor ini,

analit akan mengalami ionisasi menjadi ion dalam fase gas. Ion-ion tersebut akan terpisah berdasarkan rasio *mass to charge* (m/z) dan akan terdeteksi berdasarkan kelimpahan masing-masing ion (Purwanto, 2011). Senyawa epigalokatekin galat (EGCG) pada kromatogram dapat diketahui dari terbentuknya fragmen-fragmen ion pada perbandingan massa terhadap muatan (m/z) sebesar 459 m/z (Stephen and Robert, 2010).

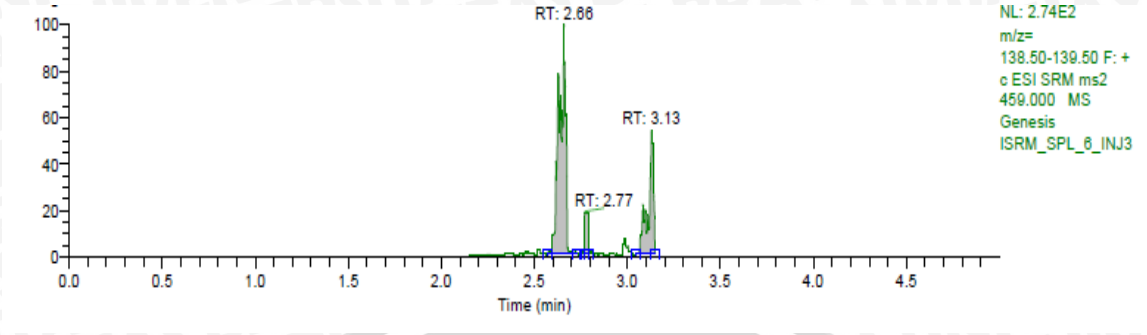
Adapun hasil dari LC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu jenis senyawa. Hasil kromatogram standar epigalokatekin galat (EGCG) dengan berat molekul 459 ditemukan pada retensi waktu 2,63. Grafik kromatogram dapat dilihat pada Gambar 19. Kromatogram hasil uji epigalokatekin galat (EGCG) pada campuran batang daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 20. (a) perlakuan segar (b) perlakuan kering (c) 'teh' dan (d) teh seduh



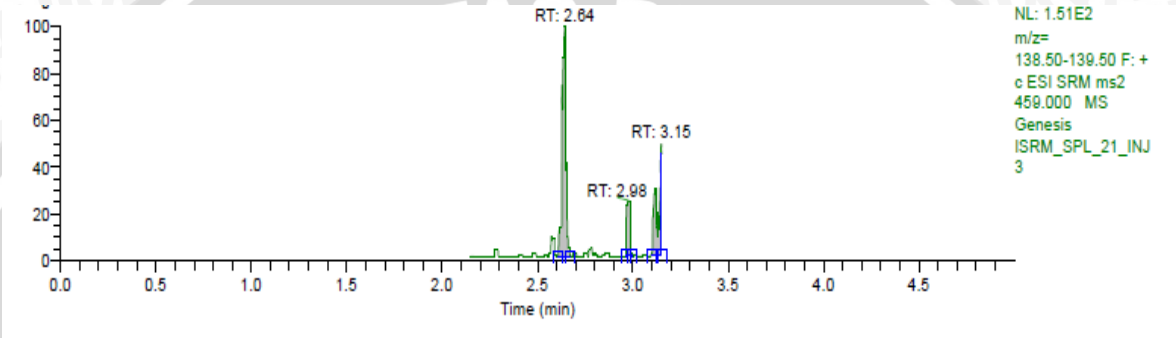
Gambar 19. Kromatogram Standar EGCG



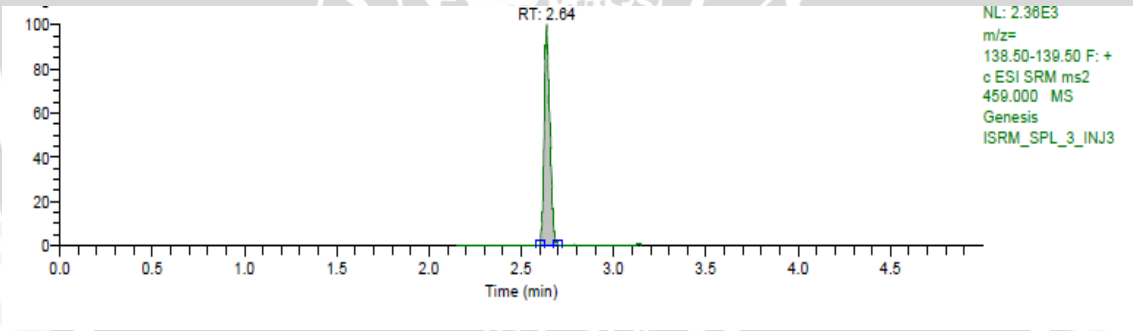
(a)



(b)



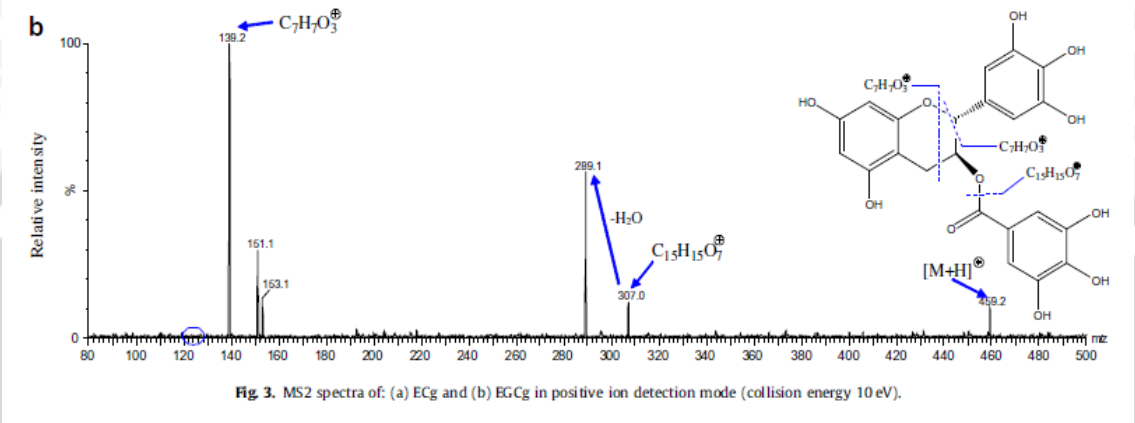
(c)



(d)

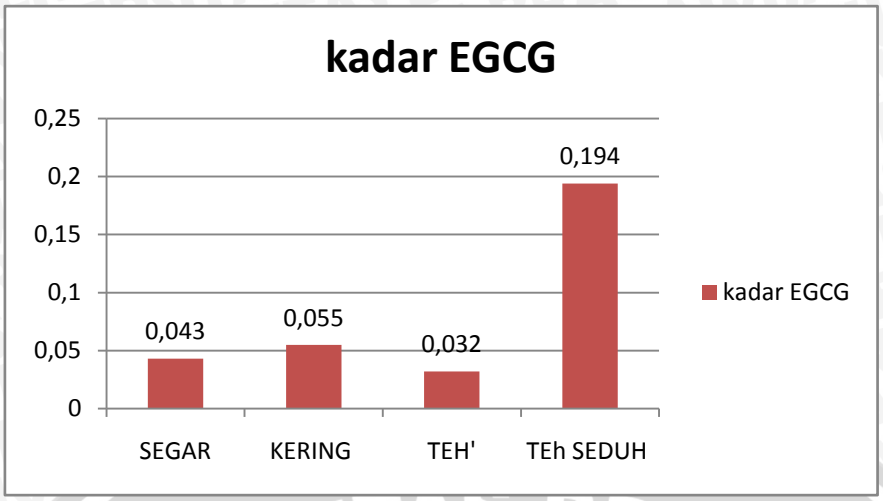
Gambar 20 : **(a) Kromatogram EGCG Penanganan Segar**
(b) Kromatogram EGCG Penanganan Kering
(c) Kromatogram EGCG Penanganan 'Teh'
(d) Kromatogram EGCG Penanganan Teh Seduh

Menurut Spacil *et al.,* (2010) didapatkan hasil pada perbandingan ion positif dan ion negatif pada sampel daun teh dengan menggunakan tandem spektrometri massa dan UHPLC dari katekin pada teh, ditemukan berat molekul sebesar 459,2 pada *retention time* 0,43 dengan area puncak 2,07. Hasil tersebut dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Kromatogram Epigalokatekin galat Daun Teh (Spacil *et al.,* 2010)

Hasil pengukuran kadar Epigalokatekin galat (EGCG) dama campuran batang daun alga coklat *Sarassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 22. Kadar EGCG tertinggi didapat pada perlakuan Teh Seduh yakni sebesar 0,194μg/ml, selanjutnya pada perlakuan kering sebesar 0,055 μg/ml, terbanyak ketiga pada perlakuan segar sebesar 0,043 μg/ml, dan kadar EGCG terendah terdapat pada perlakuan 'Teh' sebesar 0,032 μg/ml.



Gambar 22. Hasil Pengukuran Kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada *Sargassum cristaefolium*

Kadar epigalokatekin galat dalam teh menempati posisi pertama dari jenis katekin yang lain. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan Heroniaty (2012), menyatakan bahwa senyawa fitokimia terbesar yang terkandung dalam teh adalah EGCG , yaitu 60-70% dari total katekin. Ditambahkan oleh Santoso *et al.*, (2004) bahwa kandungan EGCG terdapat pada alga coklat asal Jepang Eisenia bycyclis sebesar 280±230 μg/ml. Menurut Oliveira (2012), didapatkan hasil bahwa kandungan EGCG pada teh hijau yang siap minum sebesar 0,15±0,00 μg/ml, dimana nilai tersebut hampir sama dengan kandungan EGCG pada perlakuan teh seduh. Hal ini diduga dipengaruhi oleh sifat fisik dari epigalokatekin galat yang larut dalam air sehingga menyebabkan kandungan EGCG pada teh seduh lebih tinggi dibanding dengan perlakuan yang lain, sedangkan untuk perlakuan 'teh' hasilnya jauh lebih rendah dibanding dengan perlakuan lain hal ini diduga dipengaruhi adanya perendaman basa $Ca(OH)_2$ dan pengaruh pemanasan pada suhu tinggi pada sampel yang menyebabkan kandungan EGCG pada batang sulit untuk keluar.

Perbedaan kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada tiap perlakuan campuran batang daun 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.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan mengenai kadar epigalokatekin galat pada teh campuran batang – daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat disimpulkan bahwa campuran batang daun positif mengandung senyawa flavonoid dengan indikasi perubahan warna hijau kebiruan. Kandungan flavonoid dapat di deteksi dengan pengujian aktivitas antioksidan DPPH yang masuk dalam kategori lemah. Kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada sampel teh didapat sebesar 0,032 μg/ml.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan teknik pengolahan 'teh' alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang baik agar dapat dikonsumsi serta dilakukan penelitian mengenai senyawa Phlorotanin pada 'teh' alga coklat dengan menggunakan metode LC-MS sehingga dapat berfungsi juga sebagai antioksidan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA

Algaebase. 2014. **Klasifikasi *Sargassum cristaefolium***. http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=4088

Alamsyah, N. A. , 2006, **Taklukkan Penyakit dengan Teh Hijau**. Penerbit Agrimedia Pustaka, Jakarta

Ananda. A. D. 2009. **Aktivitas Antioksidan Dan Karakteristik Organoleptik Minuman Fungsional Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Rempah Instan.** Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor [skripsi]

Aslan, L. M. 1999. **Budidaya Rumput Laut**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

Astarina, N. W. G., K. W. Astuti, N. K. Warditiani,. 2013. **Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingier purpureum* Roxb.)**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. Bali. Jurnal Farmasi Udayana (1) : 1-7

Budhiyanti, S. A., S. Raharjo, D. W. Marseno and I. Y. B. Lelana. 2012. **Antioxidant Activity of Brown Algae Sargassum Species Extract from The Coastline of Java Island.** American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 7 (3) : 337-346.

Cimpoiu, C., M. C Vasile., H. Anamaria., S. Mihaela,. S. Liana, 2011. **Antioxidant Activity Pediction and Classification of Some Teas using Artificial Neural Networks**. Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, "Babes_-Bolyai" University. Romania. Journal of Food Chemistry 127 : 1323– 1328

Adam, H., Davis, P., Tomer, J.2013. *NIH Stroke Scale Definitions.* Available from URL: http://www.vh.org/Providers/ClinGuide/Strcike/Scaledef.html

Davis, T. A., Bohumil, V., dan Alfonso M. 2003. **A Review Of The Biochemistry Of Heavy Metal Biosorption By Brown Algae.** Water Research 37 : 4311-4330. Published By Elsevier Science Ltd: Canada

Dawson. 1996. **An Introduction to Marine Sciense**. Blackie Academic and Profesional. London

Dewi,P. P., R. Hidayat, dan R. Permatasari. 2012. **Pengukuran Kapasitas Antioksidan pada Teh Komersial serta Korelasinya dengan Kandungan Total Fenol**. Fakultas Teknologi Pertanian. Institute Pertanian Bogor. Bogor [skripsi]

Elfrida, 2009. **Peningkatan Daya Serap Alga Coklat *Turbinaria decurrens* Borry Terhadap Ion Logam Tembaga Dan Seng Dengan Memodifikasi Gugus Karboksilnya**. Jurnal Mangrove dan Pesisir IX (1) ; 9-11

Fahri, M., Y. Risjani., dan P. Sasangka. 2010. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Serta Uji Toksisitas Ekstrak Metanol dari Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*)**. Universitas Brawijaya. Malang.

Firdaus, M., S. S. Karyono dan M. Astawan. 2009. **Penapisan Fitokimia dan Identifikasi Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*)**. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (Life Sciences), 21 : 1. ISSN: 1410-413X Vol 21 No. 1 [abstrak]

Ghufran, M. H. Kordi K. 2012. **Kiat Sukses Budidaya Rumput Laut di Laut dan Tambak.** Lily Publisher. Yogyakarta

Guiry, W., 2007. ***Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kartzing**, http://www.algaebase. org.

Hadinoto, D. 2009. **Efek *Epigallocatechin-3-Gallate* (Egcg) Topikal terhadap Ekspresi Siklooksigenase-2 Konjungtivitis Alergi pada Model Tikus Wistar.** Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang [skripsi]

Handayani, T., Sutarmo, dan A.D Setyawan. 2004.**Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh**. Biofarmasi 2 (2): 45-52. ISSN: 1693-2242. Vol. 46 2, No. 2

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**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

Haryza, Y. C., dan R. B. Hastuti 2006. **Kapasitas Penyerapan dan Penyimpanan Air pada Berbagai Ukuran Potongan Rumput Laut *Sargassum sp* sebagai Bahan Pupuk Organik**. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi F MIPA UNDIP

Hasanah, U. 2012. **Sargassum Cristaefolium – Makroalga (alga coklat)**. http://thebiologypalace.blogspot.com/2012/06.makro-alga-alga-coklat.html

Hernawan, U. E. dan A. D. Setyawan. 2003. **Review: Ellagitanin; Biosintesis, Isolasi, dan Aktivitas Biologi.** Biofarmasi 1 (1): 25-38,. Februari 2003, ISSN: 1693-2242

Heroniaty. 2012. **Sintesis Senyawa Dimer Katekin dari Ekstrak Teh Hijau dengan menggunakan Katalis Enzim Peroksidase dari Kulit Bawang Bombay (*Allium Cepa L.).*** Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan. Program Studi Magister Ilmu Kimia. Depok [skripsi]

Hopkins, W. G. 2004. **Introduction to Plant Physiology**. 3nd. Huner NPA. USA. Publishers

Indriani, H., Sumiarsih, E. 1991. **Rumput Laut.** Jakarta: Penebar Swadaya.

Juneidi, A., W. 2004. **Rumput Laut, Jenis, dan Morfologinya.** Departemen Pendidikan Nasional. Direktorat Jenderal Pendidikan Dasar Dan Menengah Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan

Kadi, A. 2005. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia.** Jakarta : Bidang Sumberdaya Laut, Puslitbang Oseanologi LIPI. Oseana, Volume XXX, Nomor 4 : 19 – 29. ISSN 0216-1877

Kazakevich, Y. dan Lobrutto, R., 2007. **HPLC for Pharmaceutical Scientist.** 282, 288, 289, 299, 304-306, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.

Kirana, R. 2009. **Pengaruh Pemberian Teh Hijau (*Camelia sinensis*) Terhadap Kerusakan Struktur Histologis Alveolus Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok**. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta [skripsi]

Komayaharti, A., dan Paryanti. 2012. **Ekstrak Daun Sirih Sebagai Antioksidan pada Minyak Kelapa**. Universitas Diponegoro. Semarang

Malangngi, L. P., M. S. Sangie, J. J. E. Paendong. 2012. **Penentuan Kandungan Tannin Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.)** FMIPA. Universitas Sam Ratulangi. Manado. Jurnal FMIPA Unsrat Online 1(1) 5-10

Martono, Y. 2011. **Identifikasi Dan Penetapan Kadar Epigalokatekin Galat Dari Fraksi Asam Fenolik Limbah Teh**. Program studi kimia. Fakultas Sains dan Matematika. Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga. Agritech, Vol. 32, No. 4,

Merdekawati, W., Susanto, A. B. dan Limantara, L. 2009. **Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Klorofil a dan β Karoten Sargassum sp**. Jurnal Kelautan Nasional, 2 : 144-155.

Nur, M. A dan Adijuwana H A. 1989. **Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologi.** Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati, Institut Pertanian Bogor. Bogor

Novaczek I dan Athy A. 2001. **Sea Vegetable Recipes For The Pasific Islands**. FijiIslands : Community Fisheries Training Pacific Series-3B.

Novianti, N. D. 2012. **Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* Leach Dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Jambo-Jambo [Kjelbergiodendron celebicus (Koord) Merr.].** FMIPA. Program Sarjana Reguler Farmasi. Depok

Nurmillah, O, Y. 2009. **Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang, dan Daun Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)**. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Oktavianus, S. 2013. **Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* terhadap Bakteri Vibrio parahaemolyticus.** Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar

Patra, J. K., Rath, S. K., and Jena, K. 2008. **Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity.** Turkish Journal of Biology. 32:

Punyasiri, P.A.N. I.S.B. Abeysinghea, V. Kumarb, D. Treutterc, D. Duyd, C. Goschd, S. Martense, G. Forkmannd, T.C. Fischer. 2004. **Flavonoid Biosynthesis in The Tea Plant *Camellia sinensis*: Properties of Enzymes of The Prominent Epicatechin and Catechin Pathways**. Archives of Biochemistry and Biophysics 431 (2004) 22–30

Purwanto. 2011. **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Penghambat Polimerisasi Hem Dari Fungi Endofit Tanaman *Artemisia Annua* L.** Magister Farmasi Sains Dan Teknologi. Program Pascasarjana. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta

Putranti, R. I. 2013. **Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum Duplicatum* Dan *Turbinaria Ornata* dari Jepara.** Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Semarang

Rohmah, W. 2011. **Daya Antibakteri Ekstrak Sargassum Cristaefolium Dengan Berbagai Pelarut Terhadap Escherichia Coli Dan Vibrio Parahaemolyticus**.FPIK. Universitas Brawijaya. [Skripsi]

Renhoran, M. 2012. **Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum.*** Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. [Skripsi]

Rustanti, E. 2009. **Uji Efektivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Katekin Hasil Isolasi dari Daun Teh *(Camellia sinensis* L. Var. *Assamica).*** Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (Uin) Malang. [Skripsi]

Santoso, J., Yumiko Y., Takeshi S. 2004. **Polyphenolic Compounds From Seaweeds Distribution And Their Antioksidative Effect**. More Efficient Utilization of Fish and Fisheries Products. Elsevier Ltd.

Septiana, A. T dan Asnani, A. 2012. **Kajian Sifat Fisikokimia Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi**. Universitas Negeri Jenderal Soederman. AGROINTEK Volume 6, No.1.

Septiana, A. T dan Asnani, A. 2013. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum***. Universitas Negeri Jenderal Soederman. Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 14 No.2

Sudarmadji S, Haryono B, dan Suhardi. 1989. **Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Liberty, Yogyakarta

Susanti, Tri. 2009. **Studi Biosorpsi Ion Logam Cr (VI) Oleh Biomassa Alga Hijau Yang Diimobilosasi Pada Kalsium Alginat.** FMIPA. Universitas Depok. Depok

Trono, G.C,Jr; and E.T.G Fortes. 1998. **Philippine Seaweeds**. National Book Store, inc: 199-225. Publishers: Metro Manila Philippines.

Waji, Resi Agestia dan Andis Sugrani. 2009. **Flavonoid (*Quercetin*)**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makasar

Widyastuti, S. 2009. **Pengolahan Agar-Agar dari Alga Coklat Strain Lokal Lombok Menggunakan Dua Metode Ekstraksi**. Fakultas Pertanian. Universitas Mataram. Lombok

Widyaningrum, Naniek. 2013. **Epigallocatechin-3-Gallate (Egcg) Pada Daun Teh Hijau Sebagai Anti Jerawat.** Fakultas Kedokteran. Universitas Islam Sultan Agung, Semarang Majalah Farmasi dan Farmakologi, Vol. 17, No.3 – November 2013, hlm. 95 – 98 (ISSN : 1410-7031)

Widjaya, B. 1997. **6 Aalasan Meminum Teh.** http://www.depkes.go.id/6alasan.htm

Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

Yunizal. 2004. **Teknologi Pengolahan Alginate**. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta

Zaif, A. 2013. Phaeophyta (algae coklat). Http://zaifbio.wordpress.com/2009/01/30/phaeophyta-algae-coklat

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN 1. DOKUMENTASI PEMBUATAN TEH ALGA COKLAT

Alga coklat *Sargassum*

Pe

Penyortiran batang

Pengecekan pH 11 dengan pH

Pembuatan larutan kapur

Perendaman Larutan

Pembilasan dengan air

Pemotongan

Pengovenan dengan *microwave* 80°C

LAMPIRAN 2. DOKUMENTASI PROSES EKSTRAKSI PADA SAMPEL

Sampel segar batang daun digunting

Diangin-

Ditimbang sebanyak 25 gram (segar)

Ditimbang sebanyak 10 gram (kering)

Ditambah pelarut methanol 1:16

Dimaserasi selama

Di diltrasi menggunakan kertas saring

Diuapkan pada rotary evaporator

Hasil ekstrak disimpan dalam botol yang telah dibungkus

Lampiran 3. Dokumentasi Hasil Uji Fitokimia

Alkaloid
Mayer

Wagner

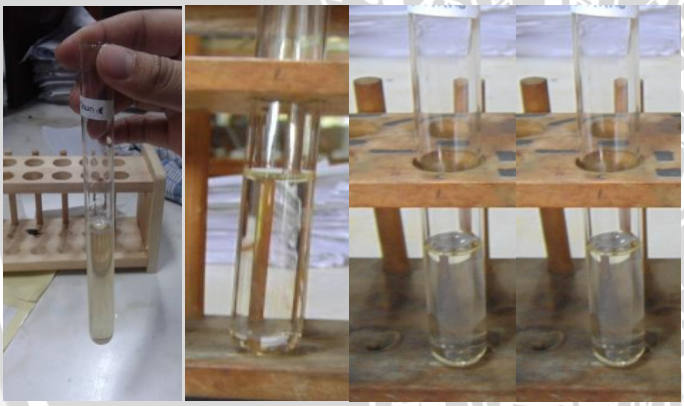
Dragendorf

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

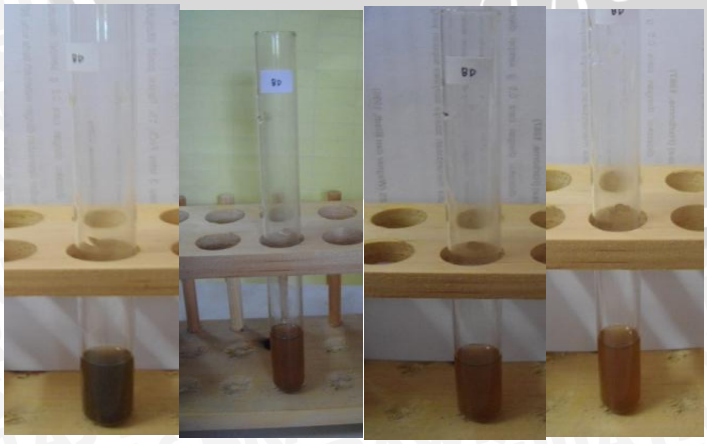
Flavonoid

a) b) c) d)

Saponin



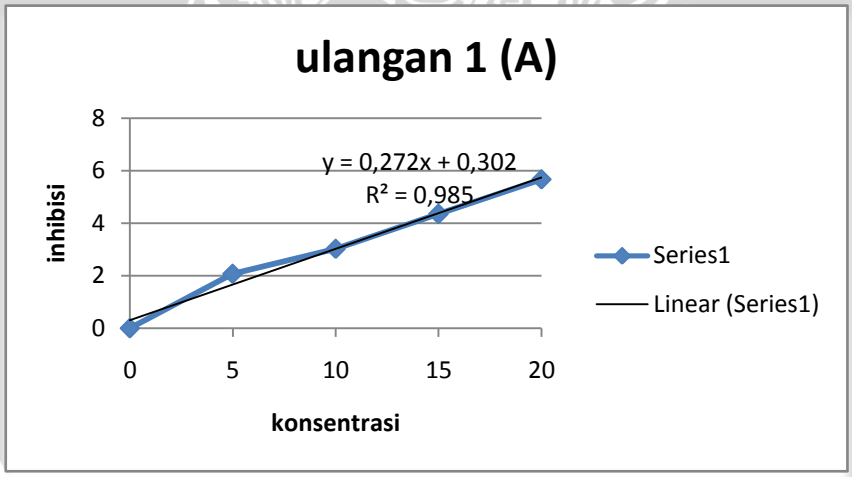
Tannin

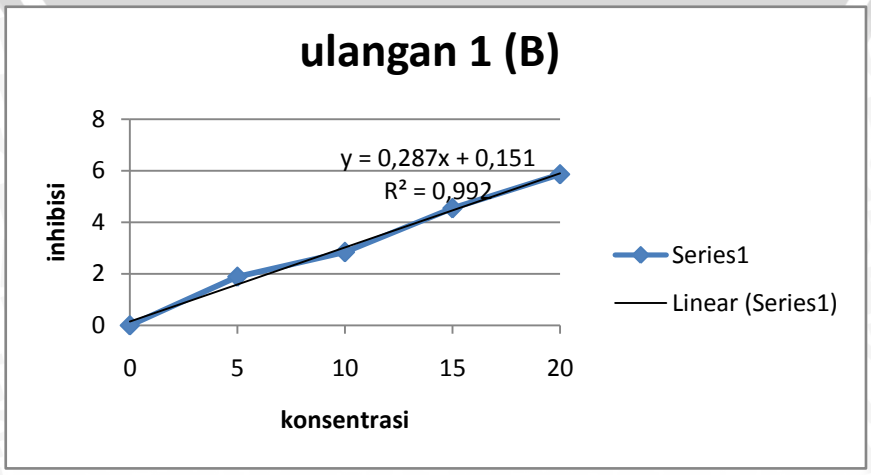


Lampiran 4. DATA UJI DPPH

Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC50 (ppm)		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	182,71324	173,6899	178,20157
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,518	2,079			
	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	0,506	4,348			
	2	0,2	0,505	4,537			
20	1	0,2	0,499	5,671			
	2	0,2	0,498	5,860			

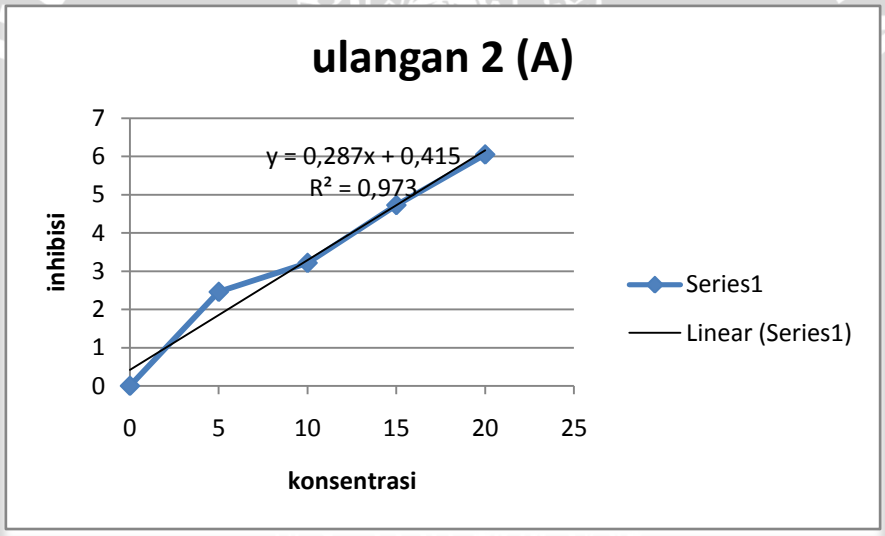
Aktivitas Antioksidan (DPPH)
BATANG-DAUN SEGAR ULANGAN 1

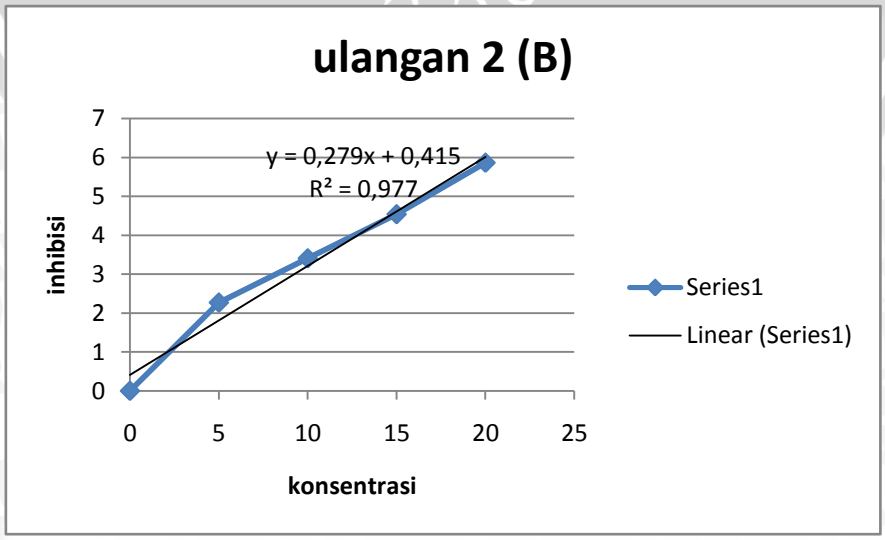




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
BATANG DAUN SEGAR ULANGAN 2

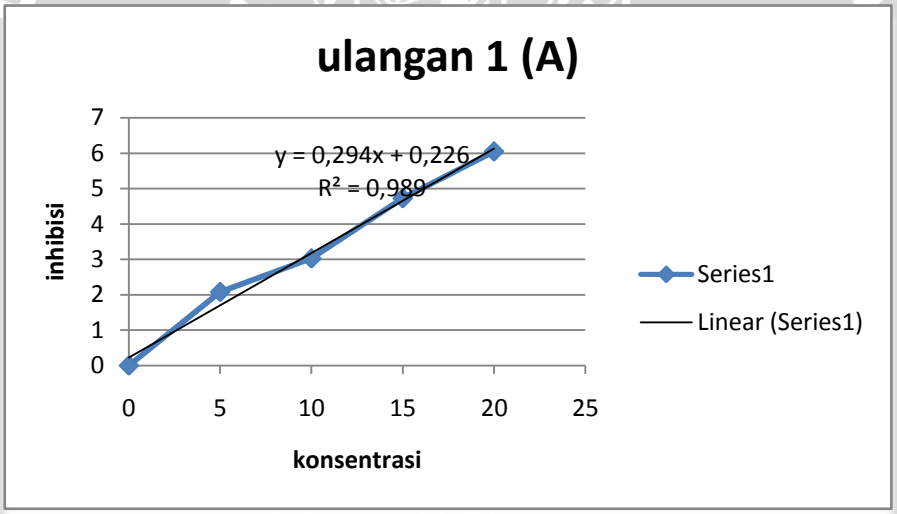
Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC50 (ppm)		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	172,77003	177,72401	175,24705
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,516	2,457			
	2	0,2	0,517	2,268			
10	1	0,2	0,512	3,214			
	2	0,2	0,511	3,403			
15	1	0,2	0,504	4,726			
	2	0,2	0,505	4,537			
20	1	0,2	0,497	6,049			
	2	0,2	0,498	5,860			

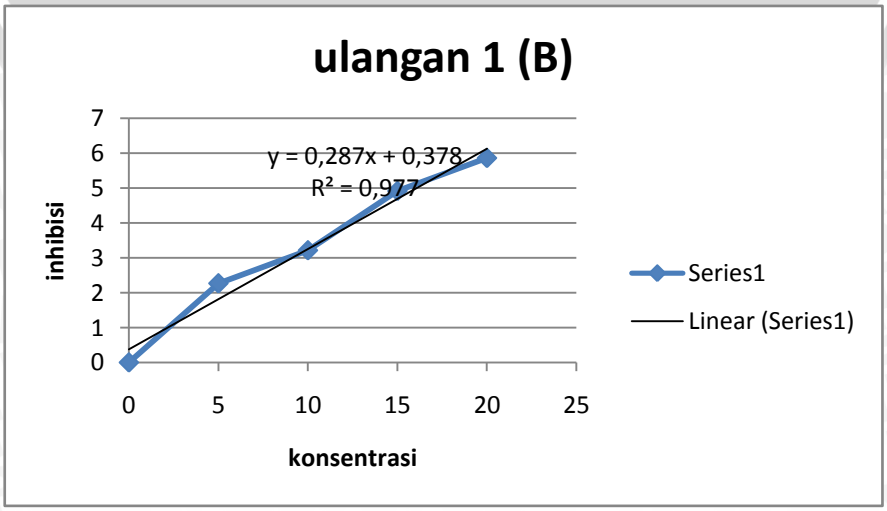




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
BATANG DAUN KERING ULANGAN 1

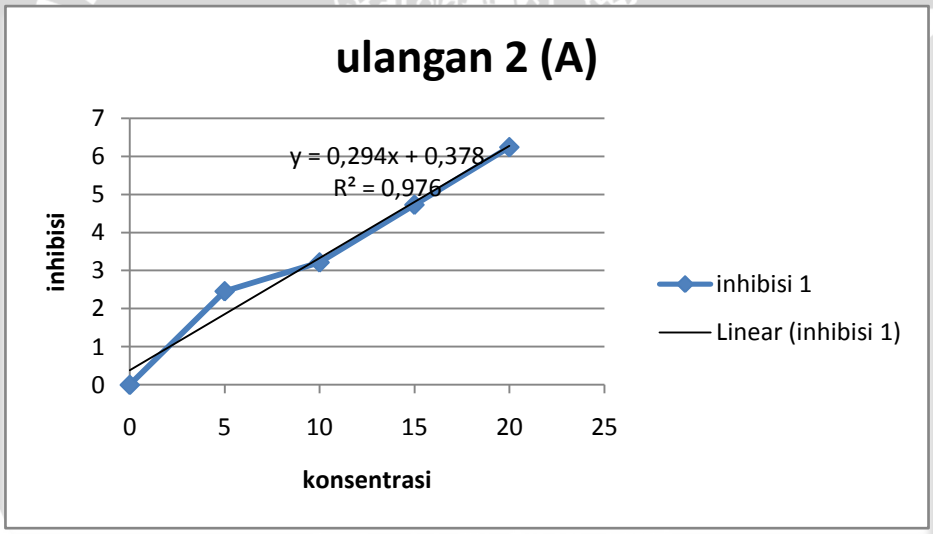
Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC50 (ppm)		Rerata
0	1	0,2	0,529	0,000	1	2	
	2	0,2	0,529	0,000	169,29932	172,89895	171,09913
5	1	0,2	0,518	2,079			
	2	0,2	0,517	2,268			
10	1	0,2	0,513	3,025			
	2	0,2	0,512	3,214			
15	1	0,2	0,504	4,726			
	2	0,2	0,503	4,915			
20	1	0,2	0,497	6,049			
	2	0,2	0,498	5,860			

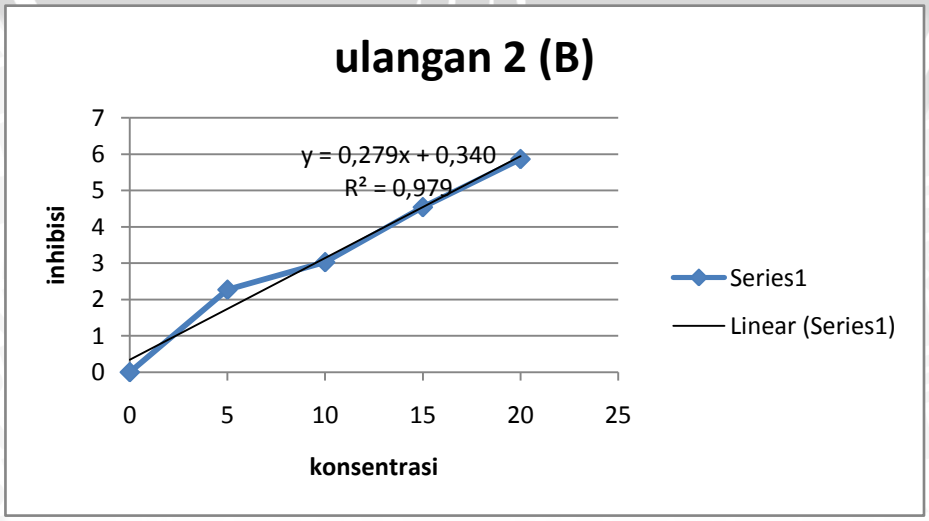




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
BATANG DAUN KERING ULANGAN 2

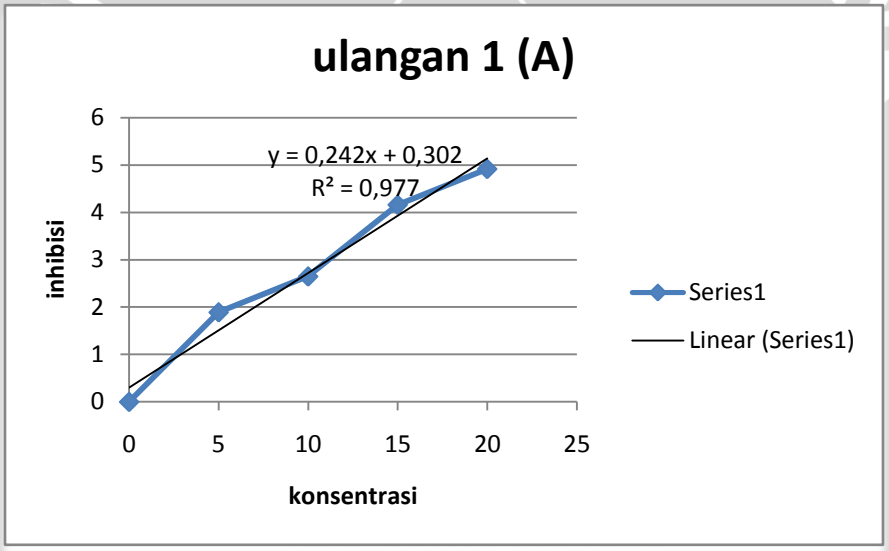
Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	168,78231	179,92754	174,35492
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,516	2,457			
	2	0,2	0,517	2,268			
10	1	0,2	0,512	3,214			
	2	0,2	0,513	3,025			
15	1	0,2	0,504	4,726			
	2	0,2	0,505	4,537			
20	1	0,2	0,496	6,238			
	2	0,2	0,498	5,860			

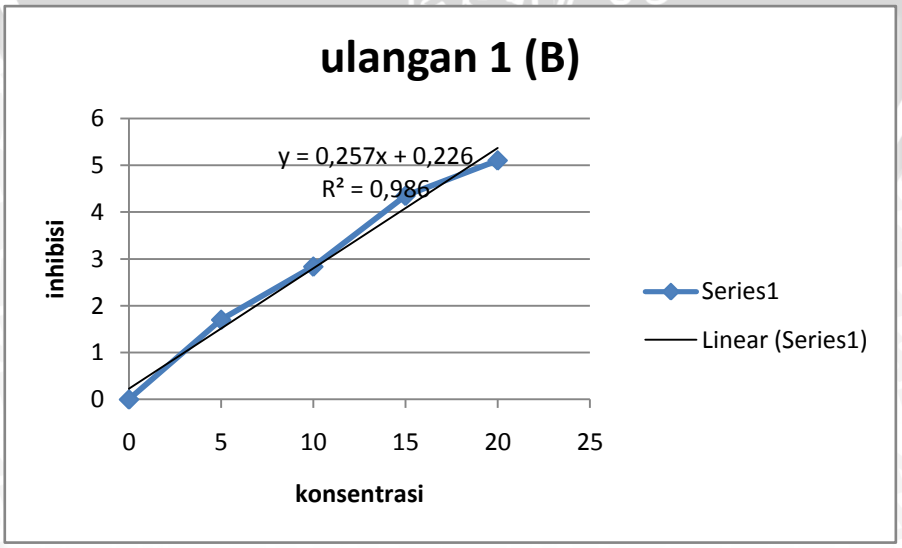




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
'TEH' ULANGAN 1

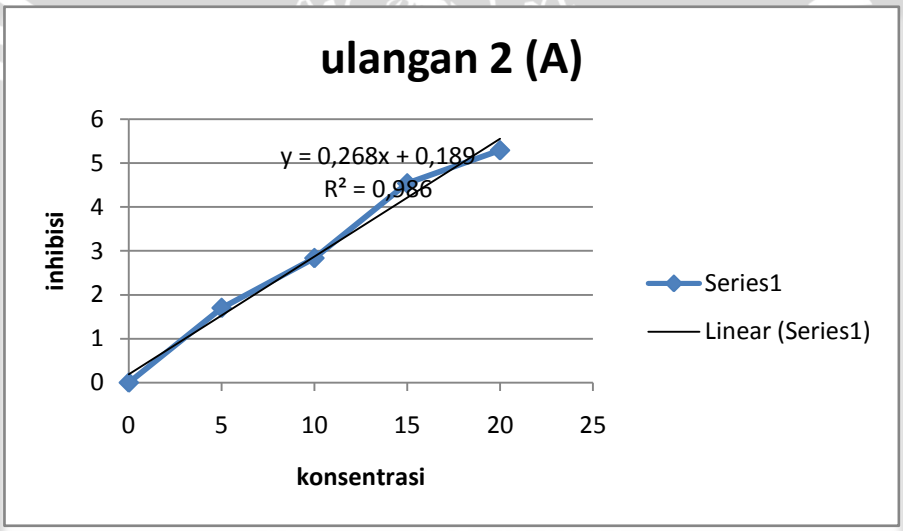
Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	205,36364	193,67315	199,51839
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,519	1,890			
	2	0,2	0,52	1,701			
10	1	0,2	0,515	2,647			
	2	0,2	0,514	2,836			
15	1	0,2	0,507	4,159			
	2	0,2	0,506	4,348			
20	1	0,2	0,503	4,915			
	2	0,2	0,502	5,104			

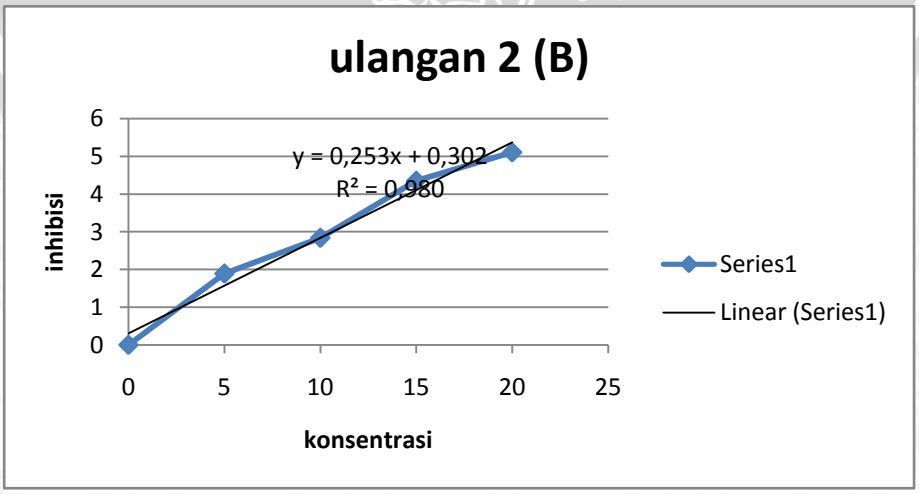




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
'TEH' ULANGAN 2

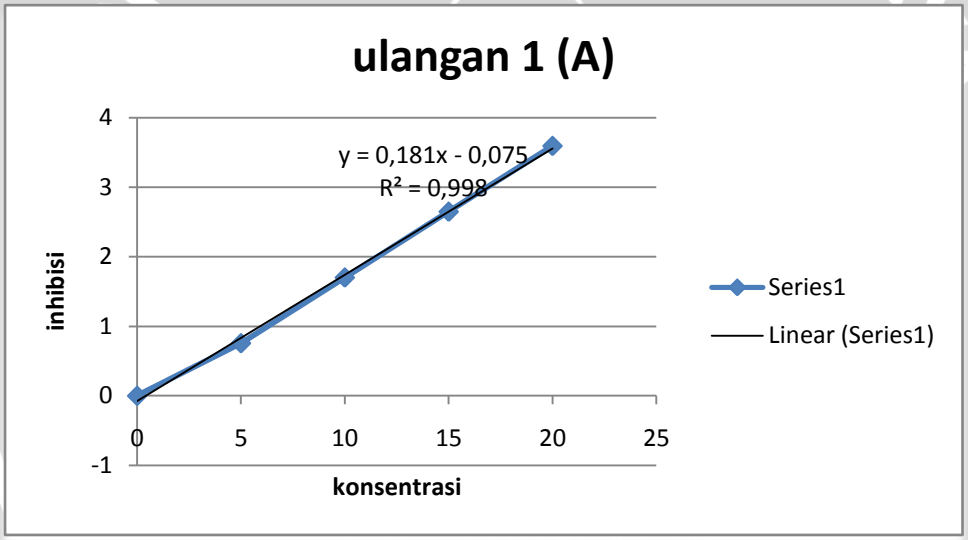
Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	185,86194	196,43478	191,14836
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,52	1,701			
	2	0,2	0,519	1,890			
10	1	0,2	0,514	2,836			
	2	0,2	0,514	2,836			
15	1	0,2	0,505	4,537			
	2	0,2	0,506	4,348			
20	1	0,2	0,501	5,293			
	2	0,2	0,502	5,104			

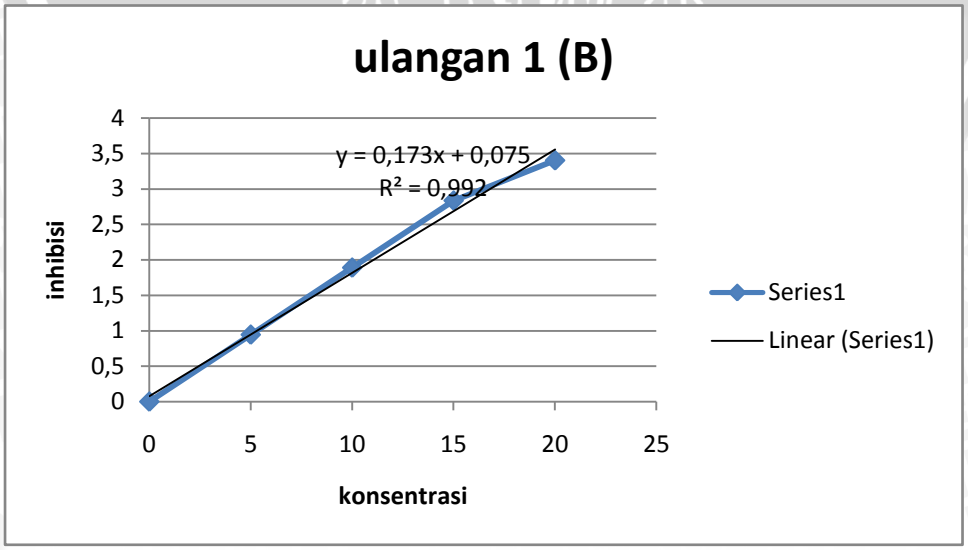




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
TEH SEDUH ULANGAN 1

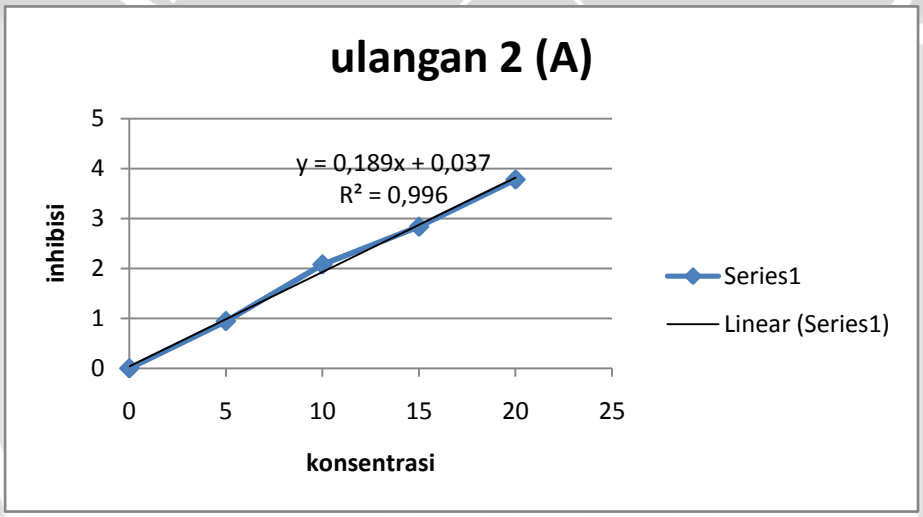
Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts			Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	275,82873	288,58382	282, 20627
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,525	0,756			
	2	0,2	0,524	0,945			
10	1	0,2	0,52	1,701			
	2	0,2	0,519	1,890			
15	1	0,2	0,515	2,647			
	2	0,2	0,514	2,836			
20	1	0,2	0,51	3,592			
	2	0,2	0,511	3,403			

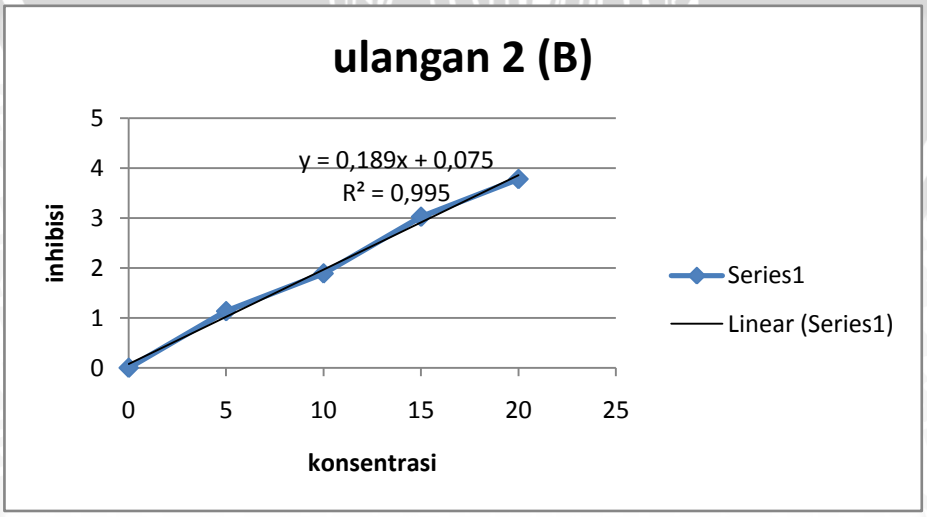




Aktivitas Antioksidan (DPPH)
TEH SEDUH ULANGAN 2

Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	264,3545	264,15344	264,25397
	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	0,518	2,079			
	2	0,2	0,519	1,890			
15	1	0,2	0,514	2,836			
	2	0,2	0,513	3,025			
20	1	0,2	0,509	3,781			
	2	0,2	0,509	3,781			

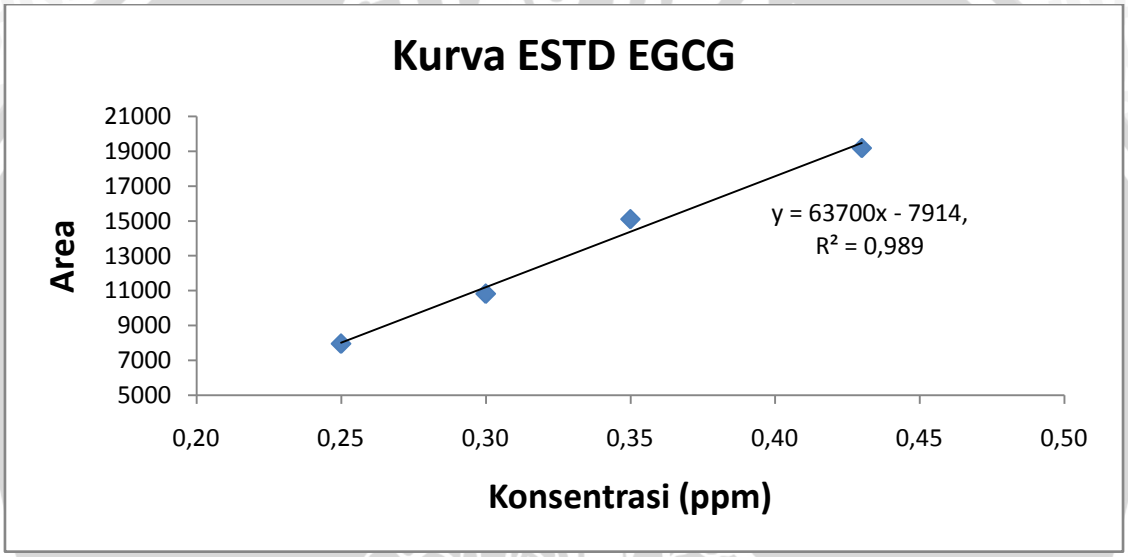




LAMPIRAN 5. ANALISA KADAR EGCG (STANDAR EGCG)

Campuran Batang – Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

NO	NAMA STANDARD	KONSENTRASI (µg/ml)	AREA
1	ISRM_STD_1_INJ3	0.25	7,957.80
2	ISRM_STD_2_INJ3	0.30	10,819.64
3	ISRM_STD_3_INJ2	0.35	15,108.51
4	ISRM_STD_5_INJ2	0.43	19,175.99



LAMPIRAN 6. DATA HASIL UJI LC-MS

NO	NAMA SAMPEL	BERAT (Gram)			AREA	Teukur (µg/ml)	TERHITUNG (µg/ml)
		Sampel	Spike EGCG	Total	EGCG	EGCG	EGCG
1	Batang Daun Segar / K	0,9064	0,8233	1,7297	81,880	0,118	0,043
2	Batang Daun Kering / K	0,7730	0,8601	1,6331	372,477	0,131	0,055
3	Batang Daun Basa Kering / K	0,7634	0,8347	1,5981	199,370	0,120	0,032
4	Batang Daun / K / Teh	0,9924	0,8314	1,8238	4947,870	0,197	0,194

LC-MS

Terhitung (µg/ml) = $\frac{(Terukur\ x\ \ Berat\ Total) - (0{,}2\ x\ Berat\ Spike\ EGCG)}{Berat\ Sampel}$

Segar

$= \frac{(0{,}118\ x\ \ 1{,}7297) - (0{,}2\ x\ 0{,}8233)}{0{,}9064}$

$= 0,043$

Kering

$= \frac{(0{,}131\ x\ \ 1{,}6331) - (0{,}2\ x\ 0{,}8601)}{0{,}7730}$

= **0,055**

Teh

$= \frac{(0{,}120x\ \ 1{,}5981) - (0{,}2\ x\ 0{,}8347)}{0{,}7634}$

= 0,032

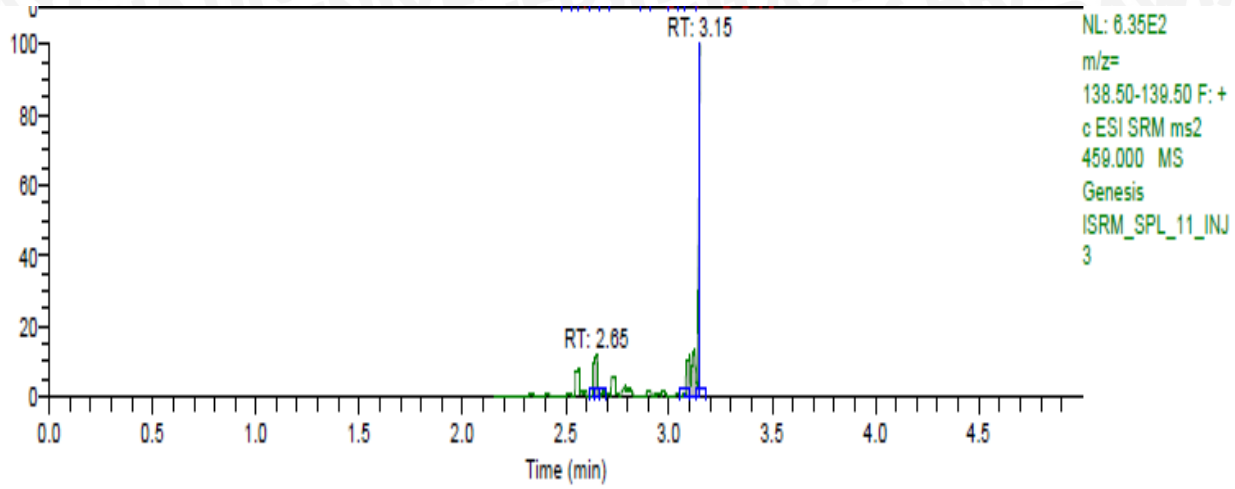
Teh Seduh

$= \frac{(0{,}197\ x\ \ 1{,}8238) - (0{,}2\ x\ 0{,}9924)}{0{,}8314}$

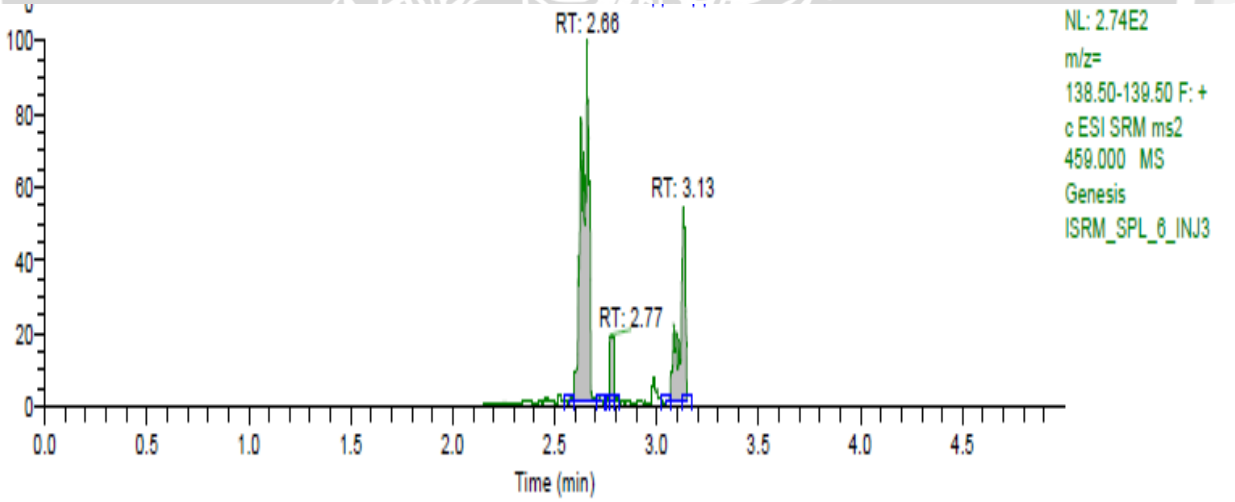
= 0,194

Lampiran 7. Hasil Kromatogram

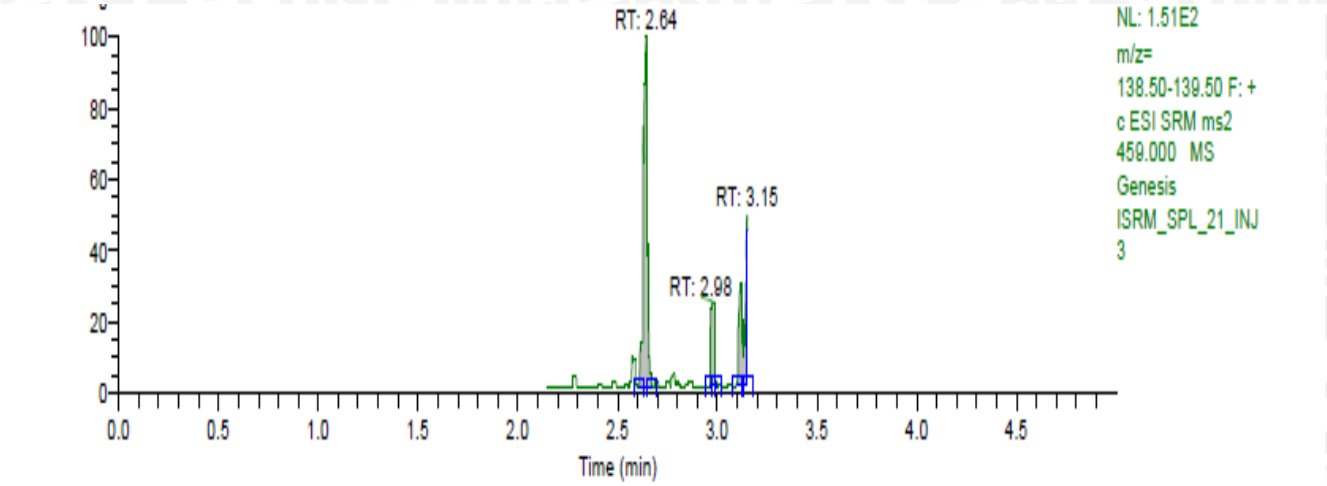
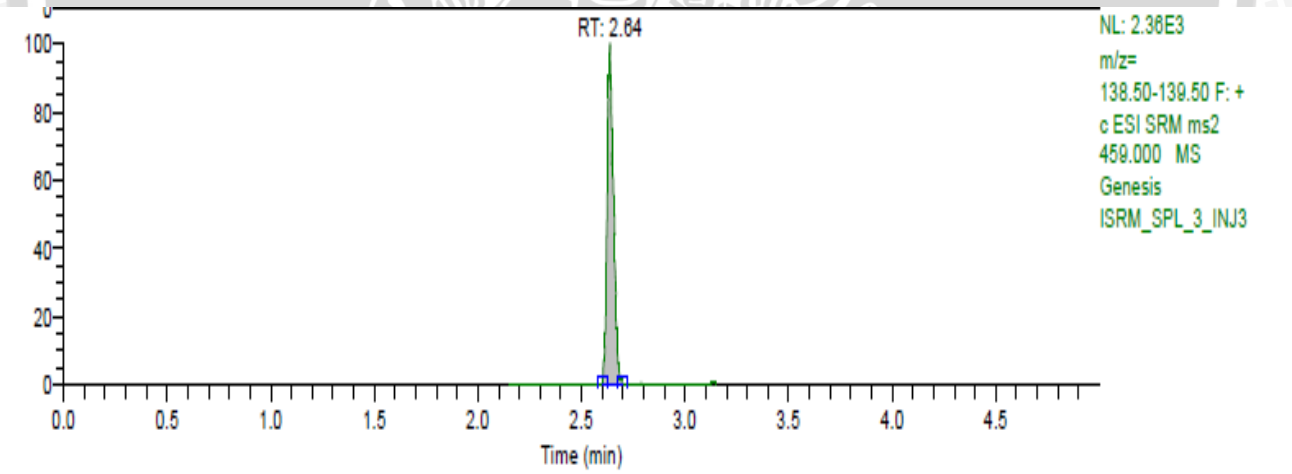
Kromatogram EGCG Batang – Daun Segar



Kromatogram EGCG Batang – Daun Kering



Kromatogram EGCG Batang – Daun 'Teh'



Kromatogram EGCG Batang – Daun Teh Seduh