

STUDI KADAR KUERSETIN PADA “TEH” BATANG ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium

LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN

Oleh :

TU BAGUS GYANINI
NIM. 105080301111040



TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

STUDI KADAR KUERSETIN PADA “TEH” BATANG ALGA COKLAT
Sargassum cristaefolium

SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN

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

Oleh :
TU BAGUS GYANINI
NIM. 105080301111040



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

SKRIPSI

**STUDI KADAR KUERSETIN PADA “TEH” BATANG ALGA COKLAT
*Sargassum cristaefolium***

Oleh :
TU BAGUS GYANINI
NIM. 105080301111040

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 29 Oktober 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes)
NIP. 19611022 198802 2 001
Tanggal :

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

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

Dosen Pembimbing II

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

**Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP**

(Dr.Ir.Arning Wiluieng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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



Malang, November 2014

Mahasiswa,

TU BAGUS GYANINI
NIM. 105080301111040

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang selalu memberikan berkah, rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga selalu diberikan kemudahan dalam penyelesaian skripsi ini
2. Kedua Orang tua dan keluarga di rumah yang selalu mendoakan, mendukung dan memotivasi.
3. Dr. Ir. Hartatati Kartikaningsih, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberikan masukan untuk terselesaikannya laporan ini.
5. Bu Iwin Zunairoh, Pak Kaliawan, Pak Arisandi, dan mbak Reni Astuti selaku laboran, atas bimbingan dan bantuannya selama mengerjakan penelitian di laboratorium.
6. Untuk Santi Ariati terima kasih telah menemaniku di saat suka maupun duka pokoknya the best lah.
7. Untuk Tim skripsi bunda Mbok, Desi, Taci, Alink, Desty, Hafid, Dika, Intan, Rani, Bias, Elda, dan Agnes yang selalu ada dalam kesulitan.
8. Untuk sahabat-sahabatku Aam, eko, dan Toni terima kasih atas motivasi kalian.
9. Untuk teman – teman THP angkatan 2010 terima kasih untuk dukungan dan doa dari kalian.

Malang, November 2014

Penulis

RINGKASAN

Tu Bagus Gyanini Laporan Skripsi Judul Studi Kadar Kuersetin Pada Batang “teh” Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** dan **Prof. Ir. Sukoso, M.sc, P.hd**

Secara umum *Sargassum cristaefolium* belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali dianggap sampah yang mengganggu pelayaran kapal nelayan. Padahal batang *Sargassum cristaefolium* sangat bermanfaat. Salah satu pemanfaatan *Sargassum cristaefolium* yang telah dilakukan terdapat di daerah Cabiya, Sumenep, Madura, yang memanfaatkan alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebagai minuman teh yang berkhasiat medis karena mengandung senyawa metabolik sekunder yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Salah satu jenis metabolik sekunder yang terdapat pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah kuersetin. Kuersetin adalah suatu senyawa yang dapat beraksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel. Kuersetin juga memiliki aktifitas antioksidan yang di mungkinkan oleh komponen fenoliknyanya yang sangat reaktif yang bisa mengikat radikal bebas sehingga bisa mengurangi reaktifitas radikal bebas tersebut.

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

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan data kadar *kuersetin* pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan perlakuan segar, kering, “teh” dan teh seduh. Parameter uji pada penelitian ini yaitu skrining fitokimia, aktivitas antioksidan dan HPLC-LC-MS untuk uji kuersetin. Sedangkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* menggunakan metode DPPH.

Hasil penelitian menunjukkan batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* tidak mengandung senyawa alkaloid dan saponin, namun mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Nilai IC_{50} yang didapatkan pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* perlakuan segar, kering, “teh” dan “teh seduh” berturut-turut sebesar 178,364 ppm, 159,66 ppm, 197,434 ppm, 266,441 ppm. Hasil IC_{50} yang tinggi menunjukkan lemahnya aktivitas antioksidan pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Kadar kuersetin yang terdapat pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebesar 0,353 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji HPLC-LC-MS menunjukan adanya kandungan kuersetin pada sampel segar sebesar 0,158 $\mu\text{g/ml}$ yang dideteksi dengan berat molekul sebesar 152.50-153.50 m/z dan pada sampel “teh” sebesar 0,353 $\mu\text{g/m}$ dengan berat molekul sebesar 152.50-153.50 m/z.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, rahmat serta hidayah-Nya sehingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

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

1. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Prof. Ir. Sukoso, M.sc. P.hd selaku Dosen Pembimbing II, yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak penyusunan usulan penelitian sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.
2. Kedua orang tuaku tercinta yang telah memberikan doa, dukungan materiil dan moril selama penyusunan skripsi.
3. Sahabat-sahabatku tersayang yang selalu memberikan semangat, dukungan dan bantuannya selama penyusunan skripsi ini.
4. Teman-teman THP 2010, team *Sargassum* terimakasih atas semangat dan bantuannya selama ini.

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

Malang, November 2014

PENULIS

DAFTAR ISI

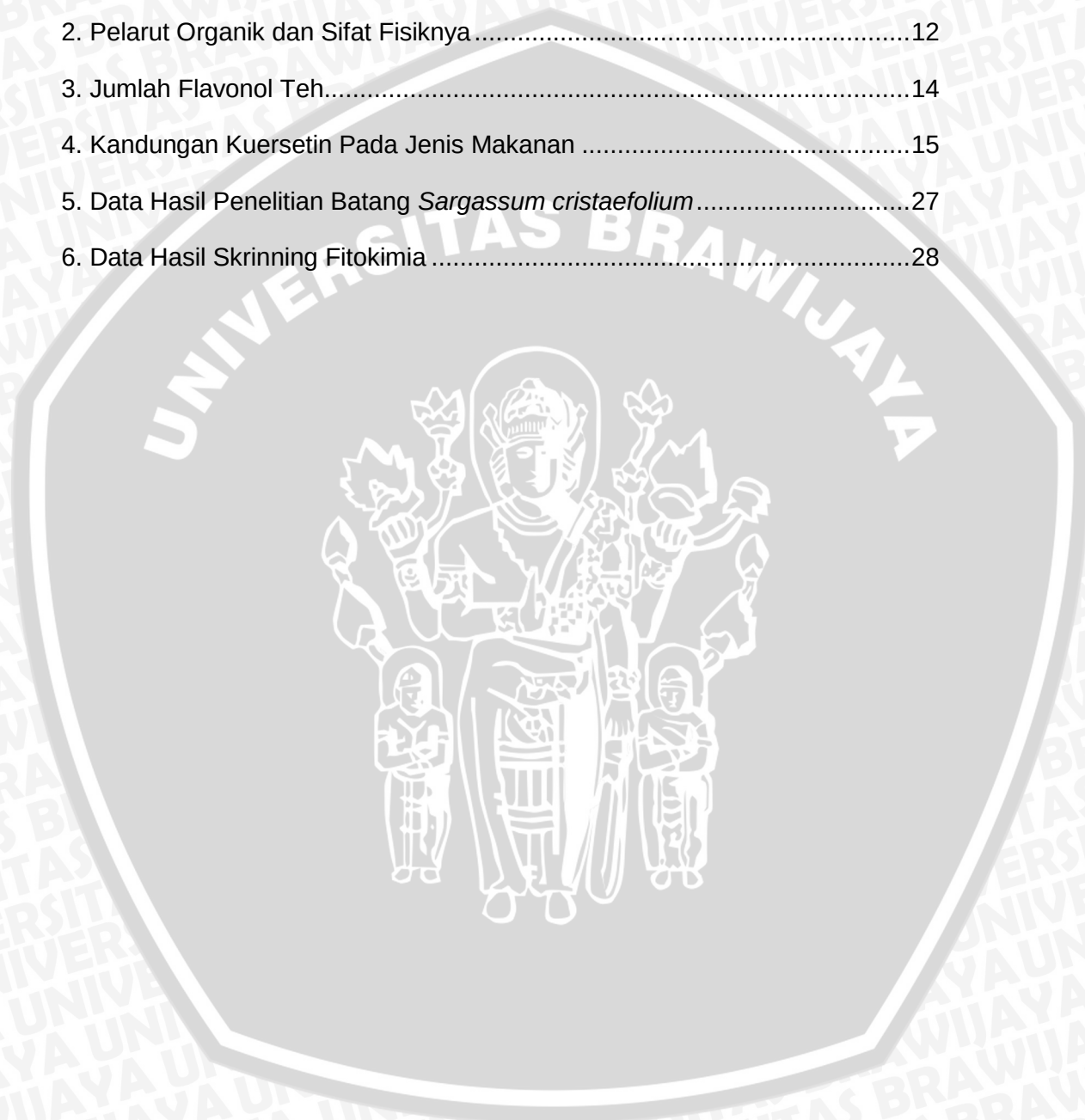
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	5
1.5 Waktu dan Tempat	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Alga Coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	6
2.2 Ekstraksi	9
2.3 Senyawa Bioaktif	12
2.4 Kuersetin	14
2.5 Fitokimia	15
2.6 Antioksidan	16
3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Materi Penelitian	19
3.2.1 Bahan penelitian	19
3.2.2 Alat Penelitian	20
3.3 Metode Penelitian	21
3.4 Variabel Penelitian	21
3.5 Prosedur Analisis	22
3.5.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel	22
3.5.2 Ekstraksi Sampel	22
3.5.3 Prosedur Analisis	23
3.6 Parameter Uji	23
3.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan	23
3.6.2 Uji Fitokimia	25
3.6.3 Uji HPLC-LC-MS	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Skrining Fitokimia	27

4.2 Aktivitas Antioksidan	31
4.3 Pengukuran Kandungan Kuersetin.....	34
5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia <i>Sargassum spp</i>	9
2. Pelarut Organik dan Sifat Fisiknya.....	12
3. Jumlah Flavonol Teh.....	14
4. Kandungan Kuersetin Pada Jenis Makanan	15
5. Data Hasil Penelitian Batang <i>Sargassum cristaefolium</i>	27
6. Data Hasil Skrinning Fitokimia	28



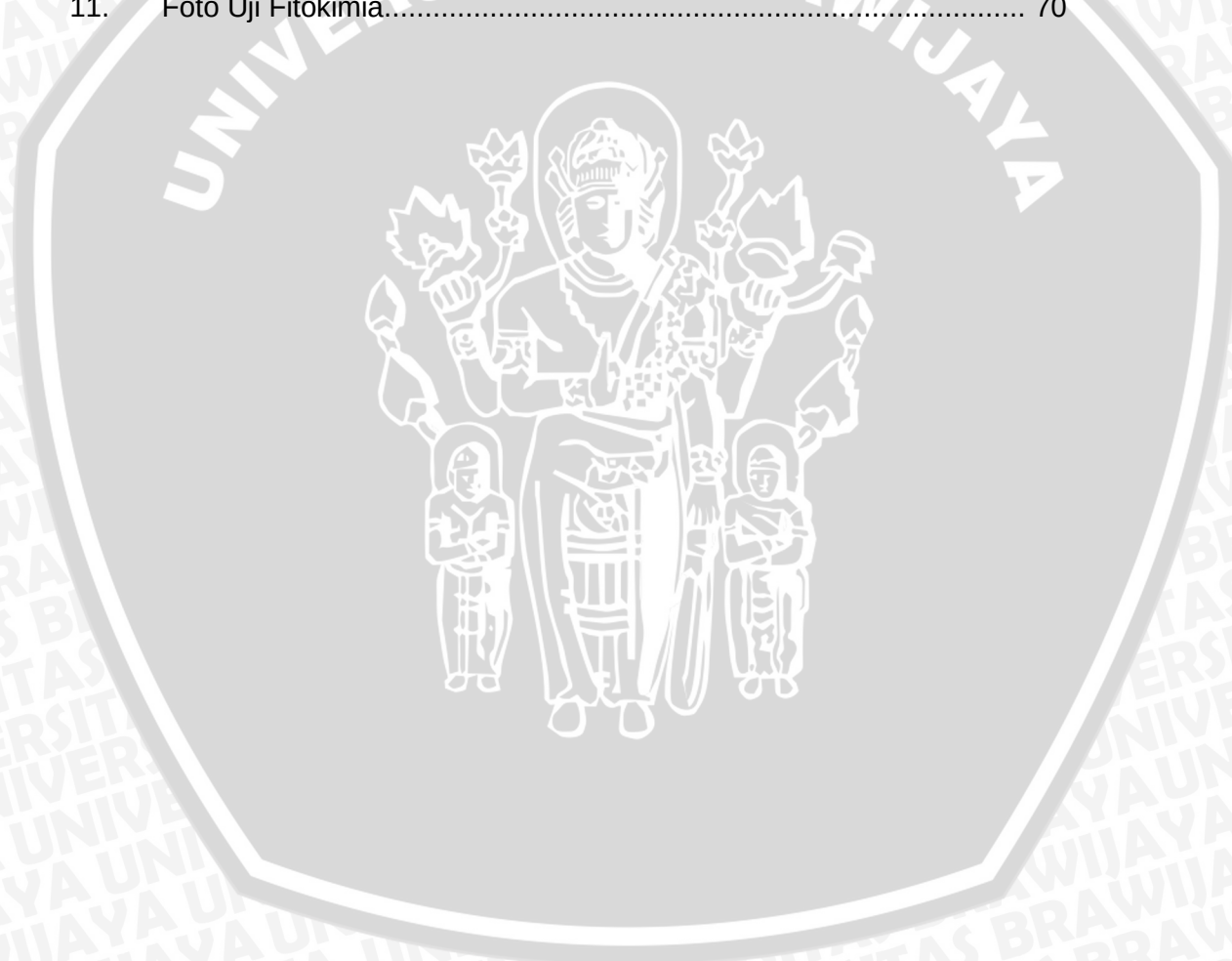
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum cristaefolium</i>	7
2. Batang <i>Sargassum cristaefolium</i>	8
3. Struktur Kimia Metanol.....	11
4. Struktur Kuersetin	15
5. Nilai IC ₅₀ DPPH.....	32
6. Nilai IC ₅₀ Vitamin C dan Ekstrak Batang <i>Sargassum</i>	34
7. Kromatogram Standart Kuersetin.....	35
8. Kromatogram Hasil Pengukuran Kuersetin	36
9. Hasil Pengukuran Kuersetin.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

No.		Halaman
1.	Skema Kerja Prosedur Penelitian	46
2.	Skema Kerja Pembuatan “Teh” Alga Coklat	47
3.	Foto-foto Pembuatan “Teh” Alga Coklat	48
4.	Foto-foto Proses Ekstraksi pada Sampel.....	50
5.	Skema Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	52
6.	Skema Uji Fitokimia.....	54
7.	Skema Uji LC-MS.....	58
8.	Standart Kuersetin.....	59
9.	Data Hasil Uji LC-MS.....	60
10.	Data Uji DPPH.....	61
11.	Foto Uji Fitokimia.....	70



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Algae merupakan salah satu sumberdaya alam Indonesia yang sangat potensial. Algae merupakan tumbuhan tingkat rendah dan dibagi dalam empat kelas yaitu kelas *Rhodophyta* atau ganggang merah, kelas *Phaeophyta* atau ganggang coklat, *Chlorophyta* atau ganggang hijau, dan *Cyanophyta* atau ganggang hijau biru (Marianingish, 2013). Salah satu jenis algae yang banyak dimanfaatkan adalah alga coklat jenis *Sargassum*.

Sargassum tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung oleh ombak besar, dan hidup di daerah intertidal maupun subtidal (Kadi, 2005). *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 karang mati, salah satunya adalah *Sargassum cristaefolium*. Morfologis pada *Sargassum cristaefolium* berbentuk thallus, silindris, agak gepeng, dan juga memiliki cabang yang rimbun seperti pohon di darat yang di gunakan untuk melekat pada substrat. *Sargassum cristaefolium* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang. Panjang *thalli* utama mencapai 1 - 3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut *Bladder*, berguna untuk menopang cabang-cabang *thalli* yang terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari. *Thallus* pada *Sargassum* memiliki beberapa bagian yang disebut dengan holdfast atau akar, *stipe* atau batang dan *blade* atau daun. Bagian *holdfast* merupakan bagian yang digunakan untuk melekat pada terumbu karang dan berbentuk cakram mirip seperti akar pada tumbuhan tingkat tinggi. *Blade*

berbentuk mirip daun pada tumbuhan tingkat tinggi berfungsi untuk proses fotosintesis dan menyerap nutrient dari air dan untuk proses reproduksi. Sedangkan pada *stipe* berbentuk seperti batang pada tumbuhan tingkat tinggi, yang terdiri dari tiga lapisan yakni pembuluh central, pembuluh cortex dan epidermis luar layaknya tumbuhan tingkat tinggi, pada bagian tengah *stipe* atau batang alga coklat juga terdapat inti sel memanjang seperti floem pada tumbuhan tingkat tinggi yang berfungsi sebagai tempat terjadinya proses fotosintesis dan penyerapan unsur hara dari air. Batang atau *stipe* juga memiliki kemampuan untuk menyerap ion-ion logam berat karena pada alga terdapat gugus-gugus fungsional yang terletak di bagian 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.

Secara umum *Sargassum cristaefolium* belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali dianggap sampah yang mengganggu pelayaran kapal nelayan. Padahal batang *Sargassum* sangat bermanfaat. Salah satu pemanfaatan *Sargassum cristaefolium* yang telah dilakukan terdapat di Vietnam bagian selatan yang memanfaatkan rumput laut coklat sebagai minuman teh yang berkhasiat medis (Susanto, 2009), ini didukung dengan penelitian Novaczek dan Athy, (2001) yang menyatakan bahwa *Sargassum* dapat digunakan sebagai minuman sejenis slimming tea yang bisa dikonsumsi oleh seseorang yang kelebihan berat badan dan ingin menurunkan berat badannya. Pernyataan ini senada dengan apa yang dilakukan masyarakat Cabiya, Sumenep, Madura yang memanfaatkan alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebagai teh. Bagian-bagian rumput laut coklat yang bisa dimanfaatkan salah satunya adalah batangnya atau disebut dengan *stipe* yang bisa diolah dan berguna sebagai obat-obatan karena mengandung senyawa metabolik sekunder dan memiliki aktifitas antioksidan,

yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Pada penelitian (Puspita *et al.*, 2010) di temukan adanya senyawa flavonoid golongan flavanon pada ekstrak kasar kulit batang bungur yang memiliki aktivitas antioksidan, ini senada dengan pernyataan (Robinson,1995) yang menyatakan bahwa senyawa metabolik sekunder pada tumbuhan tersebar ke seluruh bagian tubuh tumbuhan namun dengan kadar yang berbeda-beda.

Menurut Wakhidatur (2011) *Sargassum cristaefolium* termasuk jenis alga yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan salah satunya adalah flavonoid. Menurut Sirait, (2007) flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawanya terdiri dari C6-C3-C6 dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik, salah satu jenis flavonoid yang terdapat pada *sarggasum cristaefolium* adalah flavanol.

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

Penelitian terhadap ekstraksi kandungan senyawa antioksidan dari beberapa spesies rumput laut telah dilakukan Santoso *et al.*, (2009) yang meneliti kandungan senyawa fenol dan aktivitas antioksidan dari rumput laut hijau *Caulerpa racemosa* dengan larutan pengestrak metanol, etil asetat dan n-heksana. Peneltian mengenai flavonoid kuersetin yang terdapat pada tumbuhan

telah dilakukan oleh Kleeman, (2011) yang meneliti flavonoid kuersetin dari tumbuhan benalu teh (*Scurulla atropurpurea* BL. Dans).

Kuersetin merupakan suatu senyawa yang dapat beraksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dan menghambat enzim tirosin kinase. Kuersetin juga memiliki aktivitas antioksidan yang dimungkinkan oleh komponen fenoliknya yang sangat reaktif. Kuersetin akan mengikat spesies radikal bebas sehingga dapat mengurangi reaktivitas radikal bebas tersebut (Lamson *et al.*, 2000).

Selama ini belum ada penelitian yang membahas mengenai kuersetin pada batang *Sargassum cristaefolium* sehingga masih sangat sedikit informasi yang berkaitan dengan kuersetin pada batang *Sargassum cristaefolium*, oleh karena itu peneitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kadar kuersetin pada batang *Sargassum cristaefolium*

1.2 Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini antara lain :

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah berapa kadar kuersetin pada “teh” batang alga coklat?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kuersetin pada “teh” batang alga coklat (*Sargassum cristaefolium*).

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar kuersetin pada “teh” batang alga coklat (*Sargassum cristaefolium*), hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai *Sargassum cristaefolium* yang belum banyak diteliti, selain itu sebagai salah satu referensi/perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.

1.5 Waktu dan Tempat

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



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*)

Sargassum cristaefolium adalah alga coklat yang memiliki thalus, bentuk daun melebar, agak lonjong, mempunyai gelembung udara (*bladder*) dan melekat pada batu karang. Habitat alga *Sargassum cristaefolium* 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 cristaefolium*. 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 cristaefolium* tumbuh di perairan berarus yang jernih pada kedalaman 0,5-10 m, mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik

Menurut Haryza dan Rini (2006), ciri-ciri khusus yang dimiliki oleh *Sargassum cristaefolium*. 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.

Sargassum cristaefolium merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang

dapat digunakan dalam dunia pengobatan, misalnya antikanker (Fahri *et al.*, 2010). Gambar *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium biasanya dicirikan oleh 3 sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Tjitrosoepomo, 2005).). Klasifikasi alga coklat *Sargassum cristaefolium* menurut Algaebase (2014) dapat dilihat di bawah ini

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

Sargassum cristaefolium termasuk kedalam dunia *Thallopyta* (tumbuhan talus), karena belum mempunyai akar, batang dan daun secara jelas. Seluruh tubuh rumput laut disebut *thallus*. Bagian *thallus* yang berdiferensiasi menyerupai daun disebut *blade*, bagian yang berdiferensiasi menyerupai batang disebut *stipe*, sedangkan bagian *thallus* 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 (Jeyabalan, 2012). Dinding sel sebagian besar tersusun oleh tiga macam polimer yaitu selulosa asam alginat, fukan dan fukoidin (Zaif, 2009).

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*. Adapun gambar *stipe* atau batang dari *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Batang *Sargassum cristaefolium*

Komponen utama dari *Sargassum* 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* spp.

Komposisi Kimia	Presentase (%)
Karbohidrat	19,06
Protein	5,53
Lemak	0,74
Air	11,71
Abu	34,57
Serat Kasar	28,39

Sumber : Yunizal, (2004)

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

2.2 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 filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak (Septiana dan Asnani, 2012).

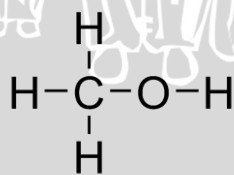
Salah satu metode ekstraksi sederhana yang sering digunakan adalah maserasi. Teknik maserasi ini ditambahkan oleh Anggriati (2008), maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan-bahan tumbuhan yang telah dihaluskan dalam pelarut terpilih kemudian disimpan dalam waktu tertentu dalam ruang yang gelap sesekali 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 ke dalam 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 didesak keluar. Keuntungan metode ekstraksi ini, adalah metode dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Rustanti, 2009).

Pelarut merupakan salah satu faktor utama yang menentukan keberhasilan 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 memilih 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 daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. 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 suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Pernyataan serupa diungkapkan oleh Oktavianus (2013), bahwa prinsip pemilihan pelarut adalah *like dissolve like*, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil klorida, etanol, heksana, isopropil 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 3.



Gambar 3. 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, 2012).

Tabel 2. Pelarut Organik dan Sifat Fisiknya

Pelarut	Titik Didih (°C)	Titik Beku (°C)	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)

2.3 Senyawa Bioaktif Alga Coklat

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 (Bhat *et al.*, 2009).

Rumput laut coklat mengandung berbagai jenis senyawa metabolit sekunder. Salah satunya ialah senyawa fenol yang digunakan untuk memproteksi diri dari kondisi lingkungan yang ekstrim (Meenakshi *et al.*, 2009). Senyawa fenol pada rumput laut juga merupakan salah satu sumber antioksidan non-gizi (Winarsi, 2007). Senyawa fenol terdapat pada seluruh bagian rumput laut, salah satunya terdapat pada bagian batang rumput laut coklat. Rumput laut coklat (*Sargassum sp*) mempunyai aktivitas antioksidan, karena mampu menghambat peroksidasi lemak dan aktivitas radikal bebas (Firdaus *et al.*, 2010).

Alga pada umumnya juga mengandung senyawa aktif diantaranya saponin, tanin, florotanin, steroid dan flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang senyawa yang terdiri dari C6-C3-C6 dan sering ditemukan diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat et al., 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).

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

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

Tabel 3. Jumlah Flavonol Teh

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

Sumber: Hartoyo, 2003

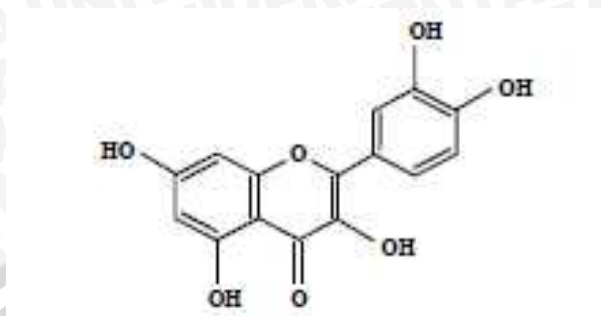
2.4 Kuersetin

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

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

Kuersetin memiliki nama resmi 3,3',4',5,7-pentahidroksilflavon (Murakami *et al.*, 2008). Senyawa flavonoid polifenol ini memiliki efek antiinflamasi, antiproliferasi, dan antioksidan (Kleemann *et al.*, 2011). Kuersetin memiliki struktur kimia dasar berupa *difenilpropana* (C6-C3-C6), sering terikat pada gula (glikosida). Pada kuersetin, struktur *difenilpropana* terikat dengan *aglycones*

membentuk 3 cincin dan 5 gugus hidroksil (Aguirre *et al.*, 2011). Struktur kuersetin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Struktur kuersetin (Aguirre *et al.*, 2011).

Kuersetin ditemukan didalam buah, sayur, teh, dan wine (Aguirre *et al.*, 2011), pada Tabel 4 ditunjukkan kandungan kuersetin pada beberapa makanan.

Tabel 4. Kandungan Kuersetin pada Beberapa Jenis Makanan

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

Sumber : Aguirre *et al.*, (2011)

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 tumbuhan yang tidak dibutuhkan bagi pencegahan penyakit. Fitokimia merupakan senyawa yang bermanfaat sebagai antioksidan dan mencegah kanker juga penyakit jantung (Maulana, 2012).

Uji fitokimia bertujuan untuk menentukan komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan. Uji fitokimia yang biasanya dilakukan terhadap sampel yakni uji alkaloid, uji steroid, uji flavonoid, uji saponin (uji busa), uji fenol

Hidrokuinon (FeCl_3), uji molisch, uji benedict, dan uji biuret serta ninhidrin. Pada uji alkaloid, dilakukan 3 jenis uji yakni menggunakan pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Dragendorf (Romansyah, 2011).

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

2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Manfaat antioksidan bagi kesehatan dan kecantikan, misalnya untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain. Dalam produk pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Swasono *et al.*, 2007). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relative stabil. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan sumber antioksidan alami yang biasanya terdapat dalam tumbuhan (Oktarianan, 2008).

Menurut Komaharyati dan Paryanti (2012), antioksidan digolongkan menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami dan sintetis. Penggunaan antioksidan sintetis seperti BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) dan BHT (*Butil Hidroksi Toulene*) banyak menimbulkan kekhawatiran akan efek sampingnya. Penggunaan

antioksidan sintetik pada bahan pangan harus diawasi karena jika berlebihan dapat menimbulkan dampak negative. Karena penggunaan antioksidan alami dinilai lebih aman, maka pencarian dan pengkajian terhadap sumber senyawa antioksidan alami banyak dilakukan. Untuk memenuhi hal tersebut pencarian senyawa antioksidan alami diarahkan kepada sumber daya alam laut terutama pada alga yang memang sangat melimpah di Indonesia.

Pemanfaatan alga sebagai antioksidan telah dilakukan oleh beberapa peneliti, Omar *et al.*, (2007) melakukan penelitian dengan menggunakan alga coklat jenis *padina antillarum* yang menghasilkan ekstrak fukoidan sebagai antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Kandungan antioksidan pada alga terbilang cukup tinggi, seperti dilaporkan oleh Lowlor dan O'Brien (1995) astasantin (suatu pigmen pada rumput laut) mengandung antioksidan 1000 kali lebih tinggi daripada vitamin E.

Menurut Lisdawati *et al.*, (2006) senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan alam banyak ditemukan di dalam kulit buah pada tumbuhan. Berbagai golongan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang dikenal sebagai sumber radikal scavenger adalah golongan senyawa fenol seperti: flavonol, flavonon, flavon, fenil propanoid, antrakuinon, maupun lignin. Senyawa-senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid dan antrakuinon, ditambahkan oleh Wulandari (2009), senyawa alami yang digunakan sebagai antioksidan antara lain β -karoten, karotenoid, vitamin C, ekstrak teh hijau, senyawa polifenol dan flavonoid.

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-picrylhydrazil). 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).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

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

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

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

Bahan yang digunakan untuk proses perendaman yaitu larutan kapur (Ca(OH)_2) dan pH meter. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut methanol teknis, kertas saring Whatman no 42, alumunium foil dan kertas label. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah HCL 2 N, pereaksi *mayer*, pereaksi *wagner*, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Lieberman burchard* (3 tetes larutan asetat anhidrat p.a dan 1 tetes H_2SO_4 p.a), aquadest, larutan FeCl_3 1%, kloroform, methanol teknis, etanol 96% p.a, kertas saring. Bahan untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah pelarut methanol p.a, alumunium foil, serbuk DPPH (1,1 diphenil-2-pikrilhydrazil) yang diperoleh dari Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian

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

3.2.2 Alat Penelitian

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

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

3.3 Metode Penelitian

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

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

3.4 Variabel Penelitian

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

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan perlakuan pada rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium*. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah kualitas kimia “teh” alga coklat yang diuji aktivitas antioksidan, analisis fitokimia, dan analisis HPLC-LC-MS. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah nilai IC_{50} (*Inhibition*

concentration 50), dimana $IC_{50} < 200$ ppm maka senyawa antioksidan berhasil memberikan penghambatan 50% karakter radikal bebas.

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel *Sargassum cristaefolium* yang telah dipanen dicuci dengan air tawar. Sampel tersebut kemudian dimasukkan dalam kantong plastik dan ditambahkan sedikit air laut. Kantong plastik tersebut kemudian dimasukkan kedalam cool-box dan ditambahkan es batu secukupnya. Preparasi sampel *Sargassum cristaefolium* dilakukan untuk menyiapkan sampel berupa batang segar, batang kering, “teh” dan “teh seduh” sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan dalam proses analisis. Pembuatan sampel batang kering dilakukan dengan mengeringkan sampel pada terik matahari selama 2 hari. Untuk pembuatan sampel “teh” dan “teh seduh” dilakukan perendaman sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* segar dan air kapur ($Ca(OH)_2$) dengan perbandingan air dan kapur yakni 2:1 (b/v) sehingga diperoleh pH 11 (berdasarkan penelitian terdahulu oleh Hernawan, (2011) bahwa pH terbaik dalam pembuatan teh alga coklat adalah pH 11). Setelah dilakukan proses perendaman, kemudian batang *Sargassum cristaefolium* dicuci kembali dengan air tawar hingga bersih. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan bau kapur yang menempel pada batang *sargassum cristaefolium* serta mencegah pengaruh adanya rasa kapur terhadap produk akhir.

3.5.2 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel didasarkan pada metode Podungge (2008), yang telah dimodifikasi. Proses tersebut menggunakan pelarut yaitu methanol teknis (polar). Perbandingan antara sampel dan pelarut yang digunakan yakni 1:16 (b/v). Pada

sampel segar batang *Sargassum cristaefolium* dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang sebanyak 25 gram. Sampel tersebut kemudian dimasukkan kedalam beaker glass dan ditambahkan pelarut sebanyak 400 ml. Sampel kering dan basa kering batang *Sargassum cristaefolium* dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang sebanyak 10 gram. Sampel tersebut kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan pelarut sebanyak 160 ml. *Beaker glass* berisi sampel dan larutan kemudian dimaserasi selama 2x24 jam dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang. Sampel disaring menggunakan kertas saring Whatman 42 sehingga diperoleh filtrate dan residu. filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C.

3.5.3 Prosedur Analisis

Analisis dilakukan terhadap sampel segar dan ekstrak kasar batang *Sargassum cristaefolium*. Analisis senyawa fitokimia dilakukan pada sampel segar, kering, “teh”, dan “teh seduh”. Analisis pada ekstrak kasar batang *Sargassum cristaefolium* meliputi analisis aktivitas antioksidan, dan HPLC-LC-MS. Prosedur analisis dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 1. Sebelum dilakukan penelitian terlebih dahulu dibuat “teh” alga coklat yang prosedurnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi tiga golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibitor Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron*

Transfer Methods (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Badarinath *et al.*, 2010). Salah satu metode yang sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH lebih sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen (Juniarti *et al.*, 2009).

Uji aktivitas antioksidan sampel *Sargassum cristaefolium* dalam mereduksi radikal bebas diukur dengan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dilakukan berdasarkan metode Hanani (2005); Okawa (2001) dalam Andayani *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,2 mM dalam etil asetat dimasukkan ke dalam 1 ml larutan ekstrak (konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 ppm) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 515 nm, kemudian dilakukan juga pengukuran absorbansi blanko. Skema uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 3. Presentase penghambatan aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel yang dihitung dengan rumus:

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

Persamaan regresi diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan presentase penghambatan aktivitas radikal bebas. Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC₅₀) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan memasukkan y=50 serta nilai A dan B yang telah diketahui. Nilai x sebagai IC₅₀ dapat dihitung dengan persamaan:

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

Keterangan:

y = persen inhibisi

x = konsentrasi sampel (ppm)

A = *slope*

B = *intercept*

3.6.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif yang terdapat pada rumput laut coklat batang *Sargassum cristaefolium*. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tannin. Metode uji didasarkan pada Harborne, (1987) dan Tarigan *et al.*, (2008). Untuk lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 6.

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

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

- Flavonoid (Harborne, 1987)

Sejumlah sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan 15 ml methanol dan dipanaskan di waterbath dengan suhu 50°C selama 5 menit kemudian disaring dan ditambahkan 5 tetes H₂SO₄ pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebirauan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

- **Tannin (Harborne, 1987)**

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

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

Saponin dapat dideteksi dengan cara 0,5 g sampel dilarutkan dalam aquadest 20 ml kemudian dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 80°C selama ± 5 menit. lalu sampel didinginkan, disaring dan dikocok selama 10 menit. Apabila terdapat busa menandakan adanya senyawa saponin yang terkandung di dalam sampel.

3.6.3 Analisa HPLC-LC-MS (Wagner dan Blatt, 1996)

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

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

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

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

Parameter	Segar	Kering	'Teh'	'Teh Seduh'
Skrining Fitokimia				
Alkaloid	-	-	-	Tidak diuji
Flavonoid	++	++	++	
Tanin	+	+	+	
Saponin	-	-	-	
Aktivitas Antioksidan (ppm)				
Nilai IC ₅₀	178,364	159,660	197,434	266,441
Kadar Kuersetin (µg/ml)				
Standar Kuersetin	0,158	TT	0,353	TT

Keterangan ++ = warna lebih jelas/endapan lebih banyak

+ = warna kurang jelas/endapan lebih sedikit

— = tidak menunjukkan senyawa fitokimia

4.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam *crude* ekstrak yang terlarut pada pelarut etanol. Menurut Houghton dan Raman (1998), ekstraksi dengan pelarut etanol dapat mengekstrak fenolik, terpenoid, alkaloid, dan glikosida.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa kimia (bioaktif) yang positif terkandung dalam batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah golongan flavonoid, dan tannin. Menurut Putri (2011), metabolit sekunder dari tanaman dapat dipengaruhi oleh perubahan kondisi lingkungan. Selain itu, proses pengolahan juga dapat mempengaruhi hasil uji fitokimia. Hasil skrining fitokimia

batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Tabel 6. Hasil pengujian fitokimia selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 10.

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

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

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

Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar yang ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi serta memiliki susunan basa nitrogen, yaitu satu atau dua atom nitrogen (Bhat *et al.*, 2009). Pereaksi yang digunakan dalam pengujian senyawa alkaloid dalam batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah pereaksi Dragendroff, Mayer dan Wagner. Menurut Harbone (1987), golongan alkaloid termasuk senyawa semi polar yang dapat larut dalam pelarut polar.

Hasil uji alkaloid ditunjukkan pada sampel batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* mengidentifikasi tidak terdapat senyawa alkaloid pada sampel batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Hal ini sesuai dengan hasil

penelitian Renhoran (2012) yang menunjukkan hasil negatif senyawa alkaloid pada *Sargassum polycystum*. 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. Tidak terdeteksinya alkaloid mengidentifikasi bahwa tidak adanya kandungan amina dalam ekstrak *Sargassum cristaefolium*.

– **Flavonoid**

Hasil pengujian terhadap batang *Sargassum cristaefolium* dengan menggunakan pereaksi H_2SO_4 menunjukkan hasil positif pada ke tiga sampel yakni batang segar, batang kering dan 'teh' batang alga coklat. Hasil positif flavonoid dapat dilihat pada lampiran 10, dan terbukti oleh penelitian Putri (2011) yang menunjukkan hasil positif adanya flavonoid pada rumput laut coklat *Sargassum* sp. Flavonoid merupakan golongan senyawa metabolik sekunder. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik alam yang sangat potensial mengandung senyawa antioksidan dan mempunyai bioktifitas tinggi sebagai obat. Senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah (Leny, 2006). Flavonoid merupakan senyawa polar yang akan larut pada pelarut yang bersifat polar juga ini terbukti dengan terlarutnya flavonoid oleh pelarut metanol. Flavonoid umumnya juga mudah larut dalam pelarut air terutama senyawa glikosidanya, senyawa tersebut dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut air (Harboner, 1984). Flavonoid merupakan senyawa aktif yang potensial dan sangat efektif untuk digunakan sebagai antioksidan (Astawan dan Kasih, 2008).

- **Tanin**

Hasil pengujian pada batang *sargassum cristaefolium* dengan menggunakan pereaksi $FeCl_3$ 1%, menunjukkan hasil positif adanya tanin pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan terbentuknya warna hitam

kehijauan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Yunisas (2014) yang menunjukkan hasil positif adanya senyawa tanin pada *Sargassum crassifolium*. Hasil positif tanin dapat dilihat pada lampiran 10, dan terbukti dari hasil penelitian Putri, (2011), menunjukkan hasil positif adanya senyawa tanin pada rumput laut coklat *Sargassum* sp. Menurut Artati dan Fadilah (2007), tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang sifatnya polar, dapat larut dalam gliserol, alkohol dan hidroalkoholik, air dan aseton, tetapi tidak larut dalam kloroform, petroleum eter dan benzene. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks. Hal ini dikarenakan sifat tanin yang sangat kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkkelat 16 logam. Maka dari itu efek yang disebabkan tanin tidak dapat diprediksi. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002).

- **Saponin**

Saponin adalah senyawa glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Saponin memiliki sifat seperti sabun yang menimbulkan busa apabila dikocok dalam air. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa pada *crude* tumbuhan (Harbone, 1987). Timbulnya busa pada menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Rusdi, 1990).

Hasil uji fitokimia yang dilakukan menunjukkan tidak terbentuknya busa yang menandakan bahwa kandungan senyawa saponin pada batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* bernilai negatif. Hal ini diduga karena tidak adanya senyawa glikosida yang mampu membentuk buih dalam air sehingga mengidentifikasi bahwa senyawa saponin tidak terkandung dalam batang *Sargassum cristaefolium*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Renhoran (2012)

yang menunjukkan hasil negatif pada uji saponin dalam rumput laut *Sargassum polycystum*.

4.2 Aktivitas Antioksidan

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



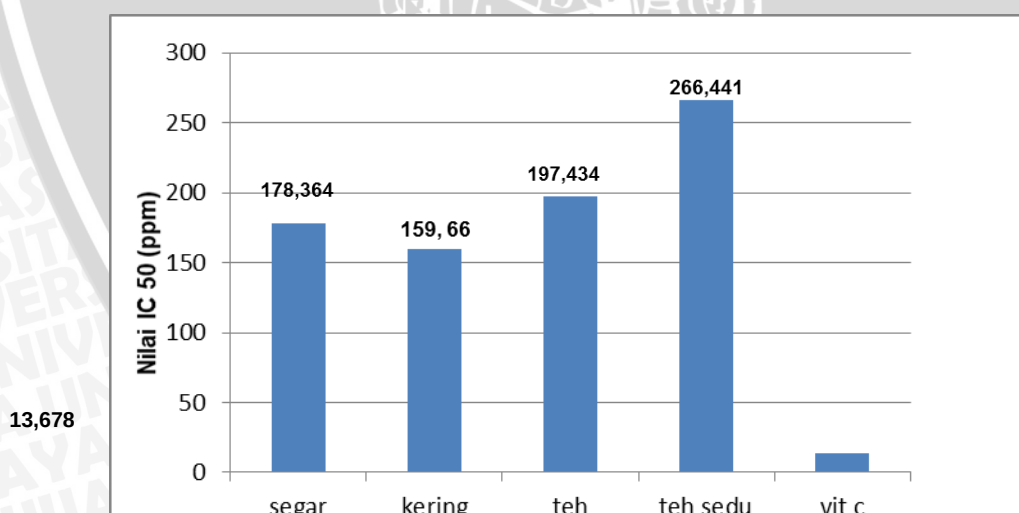
Gambar 5 .Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas DPPH

Dari Gambar 5. menunjukkan bahwa nilai IC_{50} terkecil dimiliki oleh sampel batang kering sebesar 159,66 ppm dan nilai IC_{50} terbesar pada sampel 'teh' batang rumput laut sebesar 197,434 ppm, sampel batang segar sebesar 178,364 ppm dan 'teh seduh' sebesar 266,441 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan lemah pada beberapa perlakuan batang *Sargassum cristaefolium* dimana kandungan $IC_{50} < 200$ ppm. Hal ini bisa terjadi dikarenakan ekstrak tersebut masih dalam bentuk ekstrak kasar yang belum dimurnikan sehingga diduga masih terdapat senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan. Senyawa lain tersebut terikut ekstrak dalam pelarut selama proses ekstraksi (Renhoran, 2012). Menurut Sheikh *et al.* (2009), menunjukkan kadar dan aktivitas antioksidan tergantung dari jenis pelarut yang digunakan. Sementara itu, Matanjun *et al.*, (2008). menambahkan bahwa ekstrak metanol pada *Sargassum* mempunyai aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dan pereduksi yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lain.

Lemahnya aktivitas antioksidan pada sampel batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* diduga disebabkan oleh, umur tanaman dan spesies rumput laut yang digunakan pada penelitian, adanya jeda waktu pengujian, senyawa flavonoid pada ekstrak yang digunakan kurang murni. Menurut Ridho (2013), ekstrak senyawa flavonoid masih dalam bentuk ekstrak yang tidak murni sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Renhoran (2012) terhadap ekstrak kasar *Sargassum polycystum*, nilai aktivitas antioksidan ekstrak kasar dengan pelarut metanol masuk dalam kategori rendah. Hal ini dikarenakan ekstrak tersebut masih dalam bentuk ekstrak kasar yang belum dimurnikan sehingga

diduga masih terdapat senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Tuarita *et al.*, (2013) yang menunjukkan hasil aktivitas antioksidan tinggi pada *Sargassum cristaefolium*.

Pembanding yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan ini adalah vitamin C. Menurut Molyneux (2004), asam asorbat (vitamin C) merupakan standar yang biasa digunakan dalam setiap pengujian antioksidan. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari larutan vitamin C sebesar 13,678 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dimana IC_{50} vitamin C kurang dari 50 ppm. Nilai aktivitas antioksidan vitamin C lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum cristaefolium*. Hal ini diduga karena ekstrak *Sargassum cristaefolium* masih dalam bentuk ekstrak kasar sehingga masih terdapat senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak *sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 6.

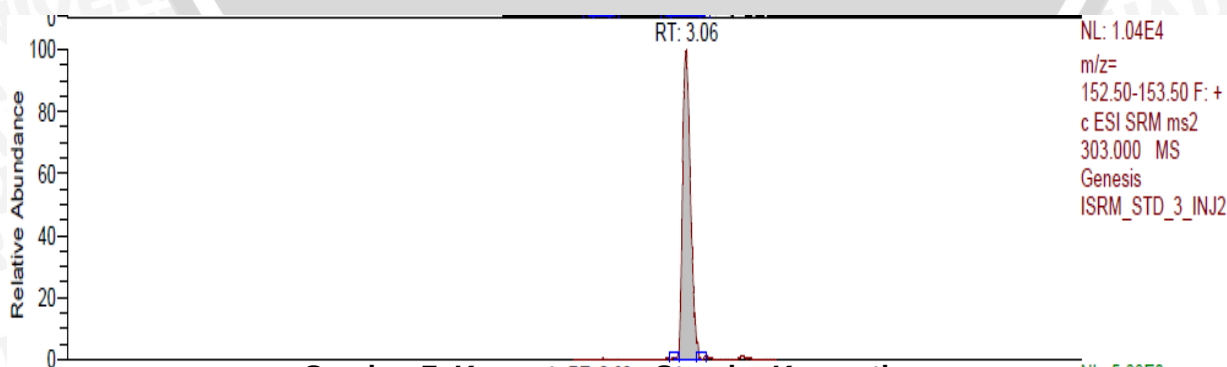


Gambar 6. Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

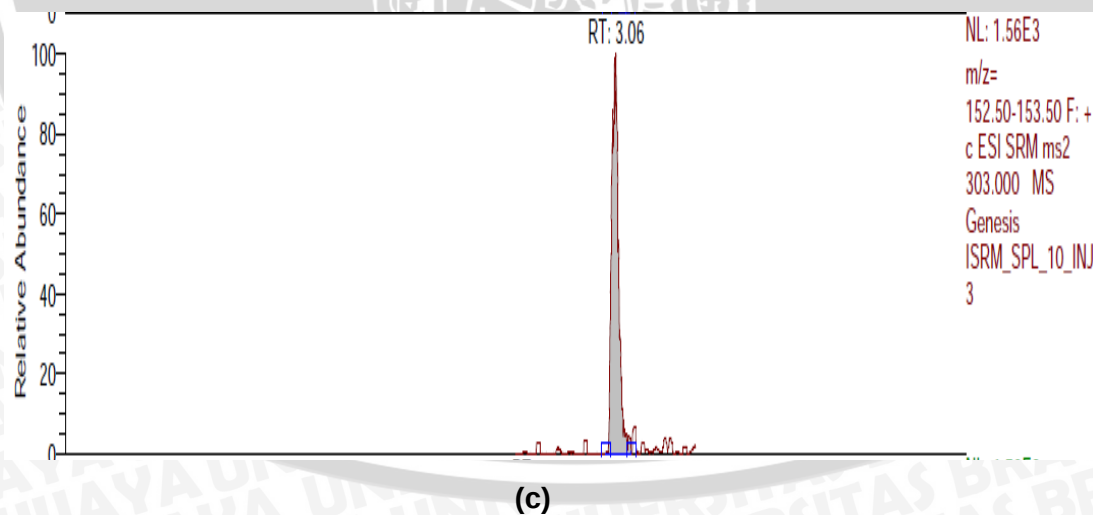
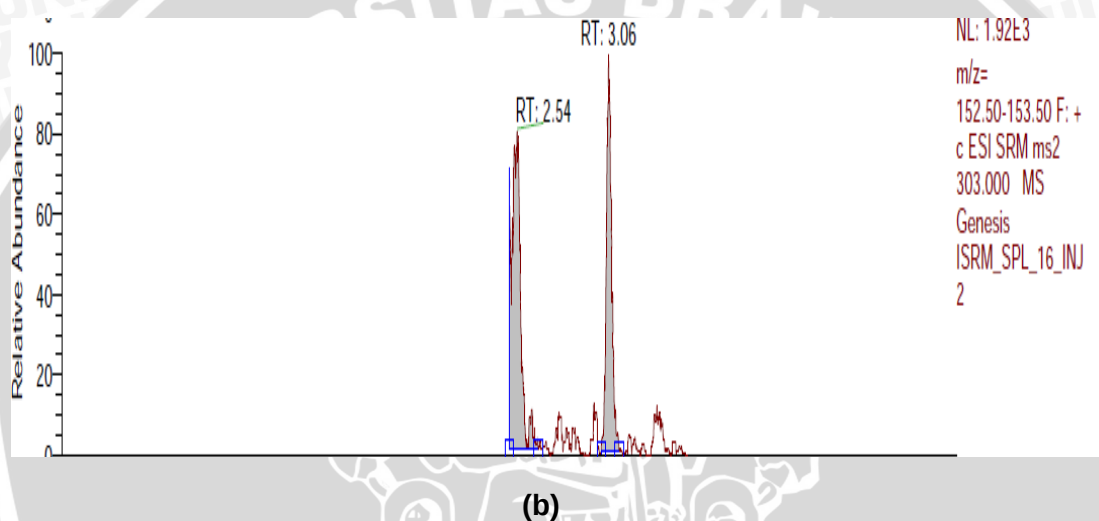
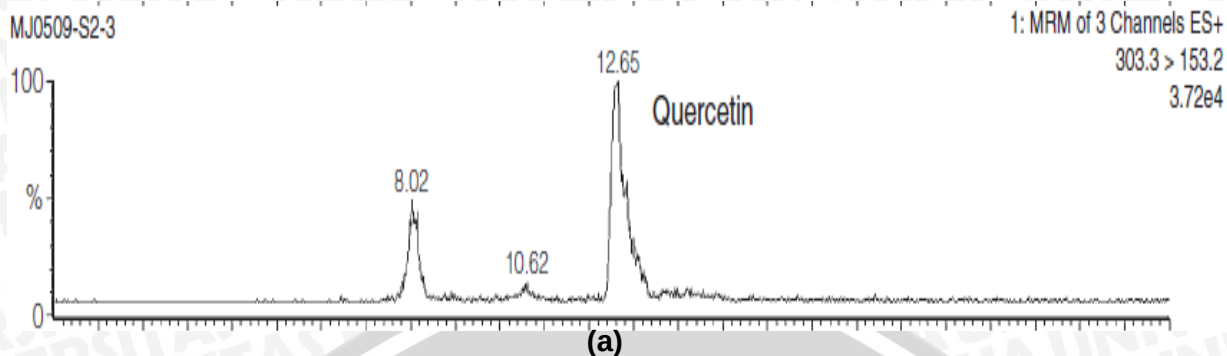
4.3 Pengukuran Kandungan Kuersetin dengan Metode HPLC-LC-MS

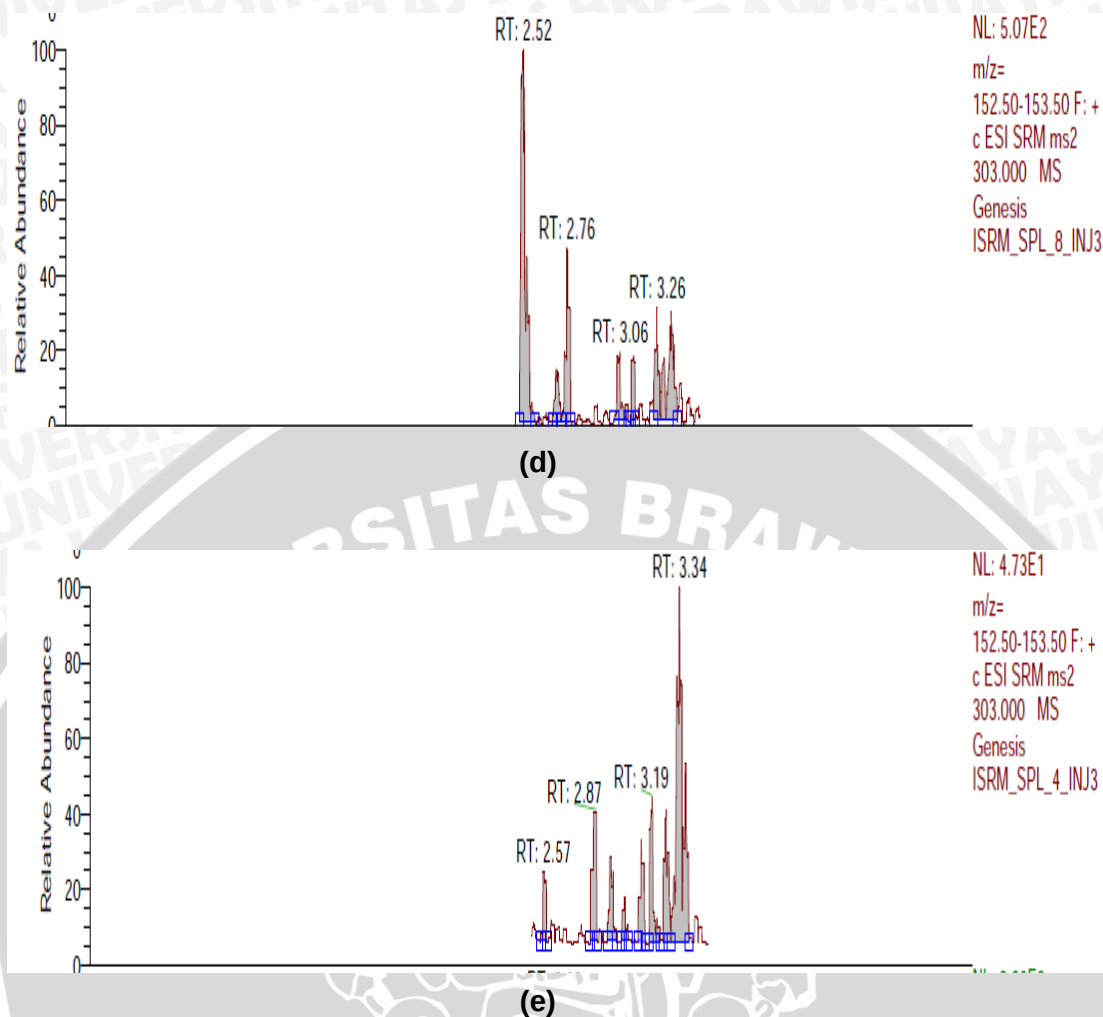
Kandungan kuersetin dalam batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* diuji dengan metode HPLC-LC-MS. Uji konfirmasi LC-MS dilakukan untuk mengetahui fragmentasi ion dari senyawa yang dianalisis. Uji konfirmasi merupakan uji kualitatif pada LC-MS dengan mengetahui fragmentasi ion dari senyawa. Uji konfirmasi dilakukan sebelum uji kesesuaian sistem untuk memperkuat identifikasi kualitatif dari kuersetin dengan melihat perbandingan massa terhadap muatan. Senyawa kuersetin pada *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry* dapat diketahui dari terbentuknya fragmen-fragmen ion pada perbandingan massa terhadap muatan (m/z) sebesar 303.3-153.2 m/z (Chih Lin *et al.*, 2008).

LC-MS memberikan informasi lebih struktur daripada HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Pada LC-MS, identifikasi senyawa secara kualitatif lebih spesifik dibandingkan dengan HPLC karena pada LC-MS tidak hanya waktu retensi yang diamati namun juga pemisahan ion suatu senyawa (Turnipsoed *et al.*, 2008; Lutter *et al.*, 2011). Kromatogram standar kuersetin 152.50-153.50 m/z dapat ditemukan pada waktu retensi 3.06 menit dapat dilihat pada Gambar 7 dan persamaan kurva standar kuersetin yang diperoleh yaitu $Y = 11241x + 3892,1$ ini dapat dilihat pada lampiran 8. Hasil kromatogram kuersetin dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 7. Kromatogram Standar Kuersetin

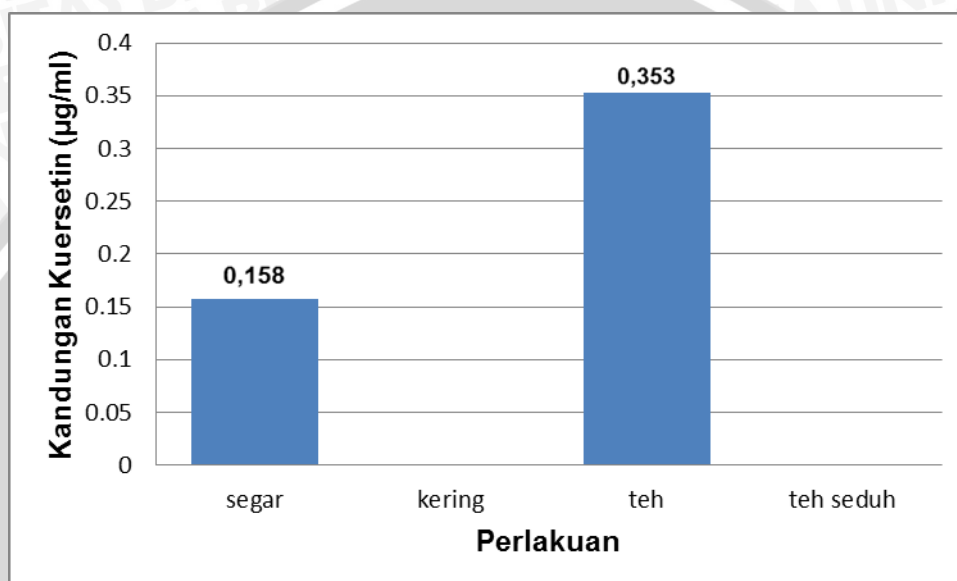




Gambar 8. (a). Kromatogram Kuersetin Literatur Chih Lin *et al.*, 2008
(b). Kromatogram Kuersetin Sampel Segar
(c). Kromatogram Kuersetin Sampel ‘teh’
(d). Kromatogram Kuersetin Sampel kering
(e). Kromatogram Kuersetin Sampel teh seduh

Hasil analisa kromatogram dari *Sargassum cristaefolium* sampel segar, kering dan ‘teh’ diidentifikasi dengan perbandingan massa dengan muatan (m/z) sebesar 152.50-153.50 m/z , selanjutnya dibandingkan dengan literatur Chih Lin *et al.*, (2008) yang sama dengan perbandingan massa dengan muatan (m/z) sebesar 303.3-153.2 m/z . Dari gambar diatas, hasil analisa menunjukkan bahwa menurut literatur Chih Lin *et al.*, (2008), kandungan kuersetin muncul pada sampel dengan berat molekul sebesar 303.3-153.2 m/z . Pada hasil penelitian sampel segar *sargassum cristaefolium* didapatkan adanya kandungan kuersetin

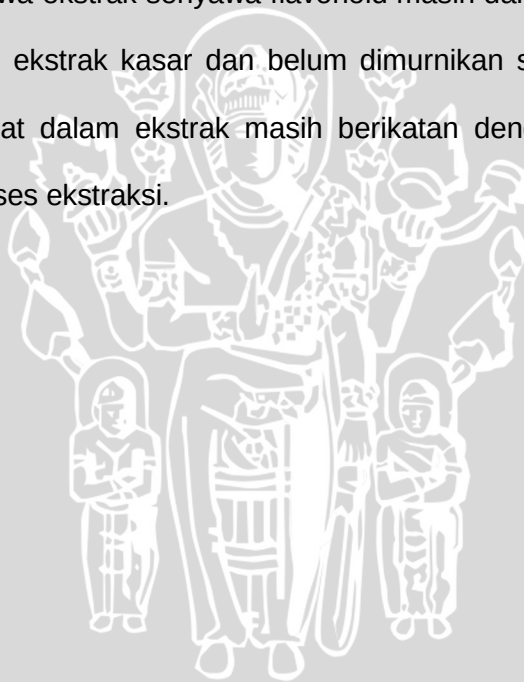
dengan berat 0,158 $\mu\text{g/ml}$ dengan berat molekul sebesar 152,50–153,50 m/z. Sedangkan pada sampel “teh” didapatkan kandungan kuersetin dengan berat sebesar 0,353 $\mu\text{g/ml}$ dan berat molekul 152,50–153,50 m/z, ini sesuai dengan berat molekul standart kuersetin sebesar 152.50-153.50 m/z dan Chih Lin *et al.*, (2008) yang menunjukkan berat molekul kuersetin sebesar 303.3 - 153.2 m/z.



Gambar 9. Hasil Pengukuran Kandungan Kuersetin pada Batang Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*

Gambar 9 menjelaskan kandungan kuersetin pada batang alga coklat *sargassum cristaefolium*. Pada beberapa perlakuan yang berbeda didapatkan hasil yang berbeda. Perlakuan batang segar *sargassum cristaefolium* di dapatkan kandungan kuersetin sebesar 0,158 $\mu\text{g/ml}$, untuk perlakuan ‘teh’ didapatkan kandungan kuersetin terbesar dengan jumlah 0,353 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan penelitian Santoso *et al.*, (2004), terdapat kandungan kuersetin pada alga coklat *Undara pinnarifida* asal Jepang sebesar $202 \pm 26 \mu\text{g/g}$. Penelitian lain tentang kandungan kuersetin juga telah dilakukan oleh Aguirre *et al.*, (2011), yang meneliti kandungan kuersetin pada anggur merah sebesar 0.84 mg/100 g.

Perbedaan kadar kuersetin pada perlakuan kering dan teh di sebabkan adanya proses pemanasan sehingga mengakibatkan kandungan kuersetin hilang, pada perlakuan kering di lakukan dengan menggunakan sinar matahari dan teh seduh yang di seduh dengan menggunakan air panas, selain itu adanya kontak udara dengan sampel dan umur tanaman dari spesies rumput laut yang digunakan pada penelitian, dan adanya jeda waktu pengujian karena masa penyimpanan sampel yang terlalu lama dan juga senyawa flavonoid pada ekstrak yang digunakan kurang murni sehingga mengakibatkan hasil yang didapatkan kurang maksimal. Ini senada dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ridho (2013), yang menyatakan bahwa ekstrak senyawa flavonoid masih dalam bentuk ekstrak yang tidak murni atau ekstrak kasar dan belum dimurnikan sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak masih berikatan dengan senyawa lain yang terikut ketika proses ekstraksi.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai identifikasi kandungan kuersetin pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* diperoleh hasil bahwa “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* mengandung senyawa fitokimia berupa flavonoid dan tanin. Kadar kuersetin pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebesar 0,353 µg/ml.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menganalisa senyawa flavonoid lain yang terkandung dalam batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* seperti myercetin atau rutin. Pada saat penelitian lanjutan diharapkan dilakukan penghalusan sampel terlebih dahulu agar didapatkan hasil yang lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguirre, L., N. Arias; M.T. Macarulla ; A. Gracia ; dan M.P. Portillo, 2011. Beneficial Effects Of Quercetin On Obesity and Diabetes. *Open Nutraceuticals Journal*. 4: 189-198.
- Ahmad, M.A. 2011. Alga Coklat (*Phaeophyceae*). Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Khairun. Ternate.
- Algaebase. 2014. Klasifikasi *Sargassum cristaefolium*. http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=4088. Diakses pada 26 Mei 2014 pukul 21.38 WIB.
- Ananda, A. D. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Organoleptik Minuman Fungsional Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Rempah Instan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Andayani, R., Y. Lisawati dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanumlycopersium* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. **13** (1) : 1410-0177.
- Atmadja, W. S., A. Kadi, Sulistijo dan R. Satari. 1996. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Balasubramanian. 2009. Total Flavonoid and In Vitro Antioxidant Activity of Two Seaweed of Rameshwaram Coast. *Global Journal of Pharmacology*, **3** (2) : 59-62.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi and S. Meenakshi. 2009. Natural Products : Chemistry and Application. Narosa Publishing House, New Delhi. India.
- Dawson. 1996. An Intrduction To Marine Science Backie Academic and Profesional. London.
- Elfrida, 2009. Peningkatan Daya Serap Alga Coklat *Turbinaria Decurrence* Terhadap Ion Logam Tembaga Dan Seng Dengan Memodifikasi Gugus Karbosilnya. *Jurnal Mangrove Dan Pesisir* **9** (1) : 9-11
- Erlund I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research* ; 24: 851–874.
- Fahri, M., Y. Risjani., dan P. sasangka. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Serta Uji Toksisitas Ekstrak Metanol dari Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*). *Jurnal. Fakultas Perikanan. 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)*, **8** (21): 1-2

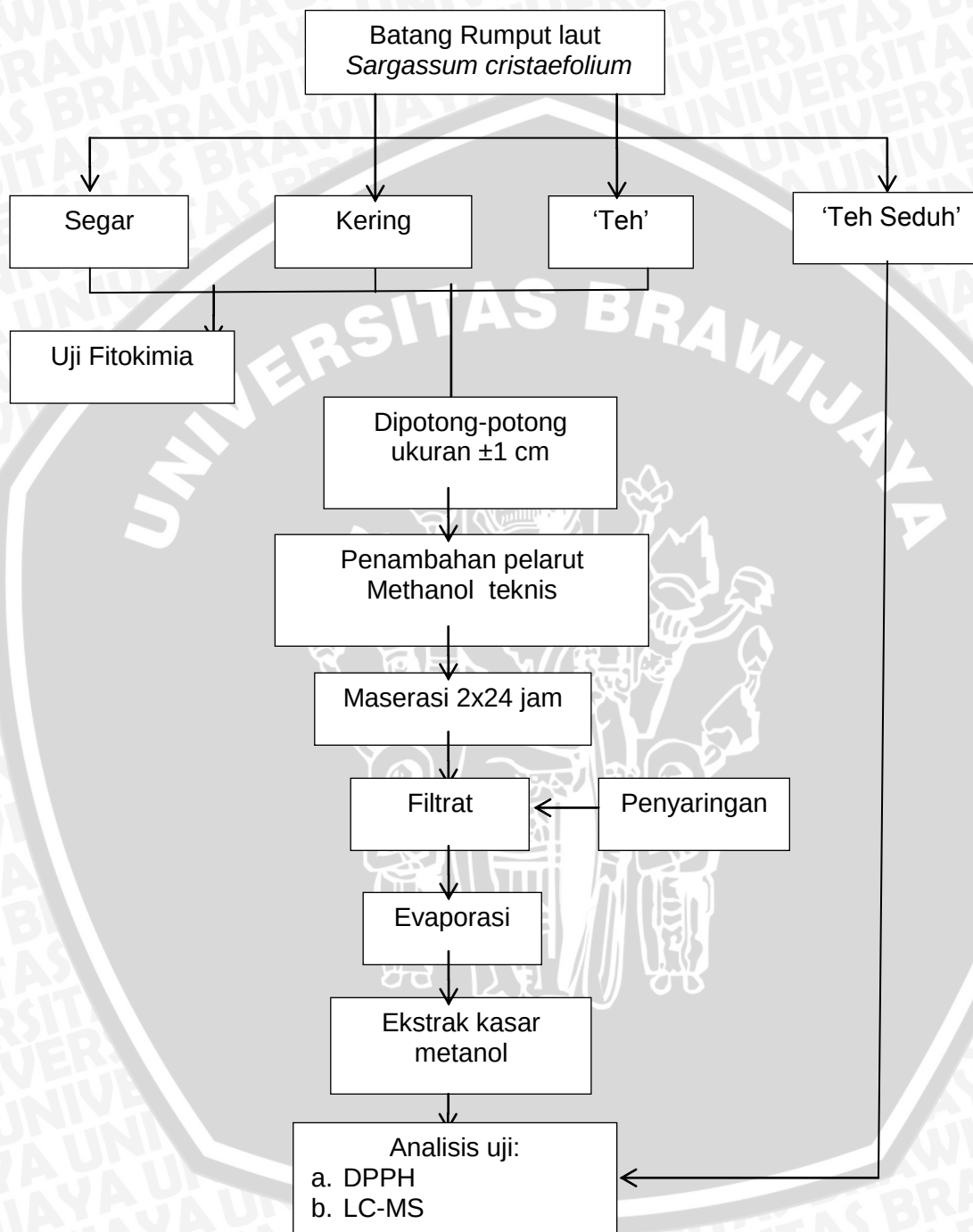
- Hagerman, 2002. Hagerman, Ann, E. 2002. Tannin Handbook. Miami University.USA
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi ke-2. Institut Teknologi Bandung. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro.
- Hartoyo, A. 2003. Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan. Kanasius. Yogyakarta. Hlm: 15.
- 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. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hernawan, A. M. 2011. Perbedaan pH Perendaman Alga Coklat (*Sargassum polypendulla*) dalam Larutan Kapur ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dengan Pengeringan Microwave Terhadap Kualitas Kimia Teh Alga Coklat. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hertog, M.G.L ; P.C.H. Hollman ; M.B. Katan 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. J. Agric. Food Chemistry., 1992b, 40, 2379–2383. Indonesia. Oseanografi, **30** (4) : 19-29.
- Jeyabalan, J. P. P. and J. Marimuthu. 2012. Preliminary Phytochemical Analysis of *Sargassum myriocystum* J. Ag. and *Turbinaria ornata* (Turner) J. Ag. from The Southern Coast of Tamil Nadu, India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, **12** (5) : 1-4.
- Juniarti, D. Osmeli dan Yuhernita, 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazil*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* 1.). *Makara Sains* **13** (1): 50-54.
- Kadi, A. 2005. Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia. *Oseanografi*. **21** (2): 9-19.
- Kleemann, R. ; L. Verschuren ; M., Morrison ; S. Zadelaar ; M.J. van Erk ; P.Y. Wielinga ; T. Kooistra 2011. Anti-inflammatory, anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models. *Atherosclerosis* 218: 44-52.
- Komayaharti, A., dan Paryanti. 2012. Ekstrak Daun Sirih Sebagai Antioksidan pada Minyak Kelapa. Laporan Penelitian. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Lamson, D.W. dan M.S. Brignall. 2000. Antioxidant and Cancer III. Quercetin. *Journal Medical Reference*. **5** (3) ; 196-208.
- Lisdawati, V., L. Broto dan S. kardono. 2006. Aktivitas Antioksidan dan kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa*) L. *Jurnal Teknologi, dan Industri pangan*. **29** (2) : 131-138.

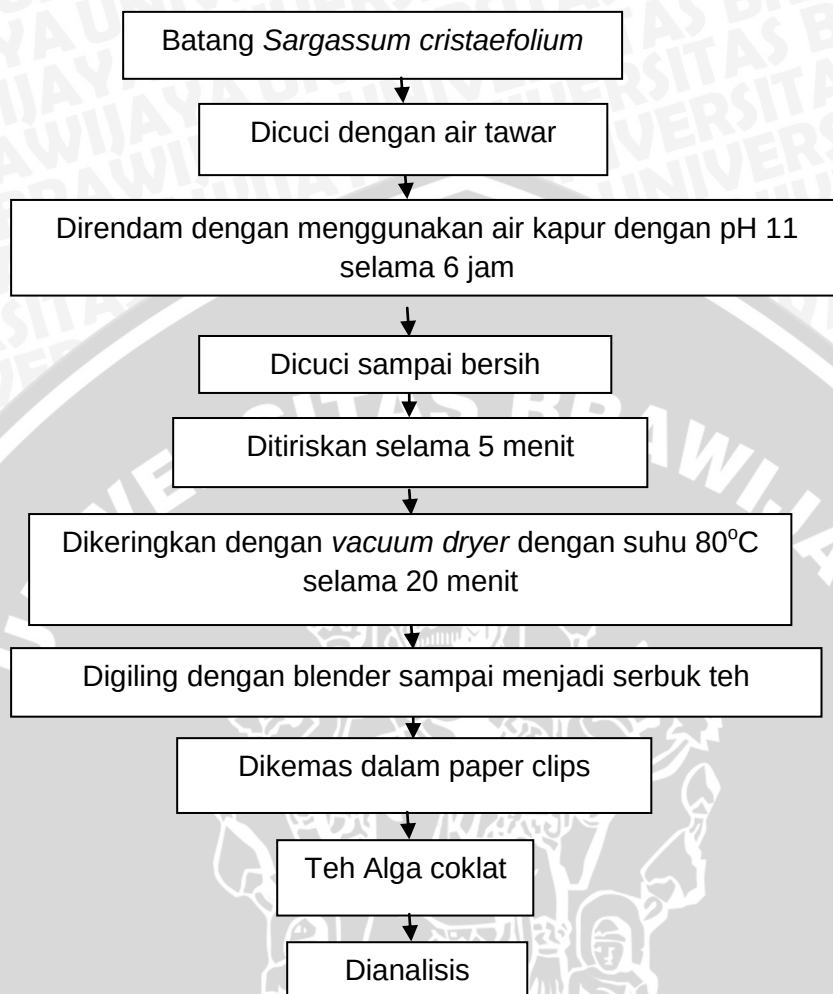
- Lowlor S.M., and O'Brien M.N., 1995, Astaxanthin: Antioxidant effect in chicken embryo fi broblast, *Journal Nutrition. Research.* **20** (4) : 12-15
- Marianingsih, P., E., Amalia dan T., Santoso. 2013. Inventarisasi dan Identifikasi Makroalga di Perairan Pulau Untung Jawa. Prosiding Semirata. Universitas Lampung. Lampung.
- Matanjun. P.S ; Mohamed ; NM. Mustapha ; K. Muhammad; and CH. Ming. 2008. Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweed from north Borneo. *Journal Seaweed.* **13** (20) : 367-373
- Meenakshi.S. ; D.M.Gnanambigai ; S.T.Mozhi ; M.Arumugam ; and T. Teh. <http://rumputlaut.org/tag/sargassum/>. Yayasan Rumput Laut Indonesia (YRLI). [24 Maret 2010]. Diakses pada 29 Mei 2014 pukul 20.00 WIB.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science Technology* 26(2):211-219.
- Murakami, A. ; H. Ashida ; J.Terao, 2008. Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Research.* 269: 315-325.
- Novaczek, I dan A. Asthy, 2001. Sea Vegetable Recipes For The Pacific Island. Fiji Island : Community Fisheries Training Pasific Series. 3B
- Novianti, N.D. 2007. Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Jambo-jambo [*Kjelbergiodendron celebicus* (Koord) Merr.]. Universitas Indonesia. Depok. Skripsi
- Nurmillah, O.Y. 2009. Kajian Aktifitas Antioksidan Dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang Dan Daun Tanaman Jarak Pagar *Jatropha curcas* L. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Skripsi
- Nur, M. A ; dan H. A. Adijuwana. 1989. Teknik Pemisahan Dalam Analisis Biologi Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Oktavianus, S. 2013. Daya Hambat Ekstrak Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Fakultas Ilmu Kesehatan Dan Perikanan. Universitas Hassanudin. Makassar. Skripsi
- Oktarianan, E. W. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eranol Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galangan*) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil). Fakultas Pertanian. Universitas Diponegoro. Semarang. Skripsi
- Omar, M ; K.S. Khoo ; Y.Y Lim ; and Y. L. Chem, 2007, Antioxidant Activity of Yhree Seaweeds from Two Areas In South East Asia, www.B/serier.com/locate/lwt, Diakses tanggal 17 juli 2014 pukul 20.00 WIB

- Podungge, F. 2012. Kandungan Fenol, Senyawa Fitokimia, dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Padina australis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Thesis
- Sari, P. U, Djumarti dan L. 2010. Evaluasi Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan Minuman Ringan Fungsional Teh-Mengkudu pada Berbagai Formulasi. Universitas Jember. Jember
- Renhoran, M. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum*. Institut Pertanian. Bogor. Thesis
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Institut Teknologi Bandung. Bandung. (Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata).
- Romansyah, Y. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. Alami dan Transplantasi di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Skripsi
- Rusdi. 1990. Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Rustanti, E. 2009. Uji Efektifitas Antibakteri Dan Identifikasi Senyawa Katekin Dari Isolasi Daun Teh *Camellia sinensis*. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. Skripsi
- Sandjaja, B., dan A. Heriyanto. 2006. Panduan Penelitian. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta. Hlm: 109-110
- Joko, S. Y Yoshie dan T Suzuki. 2004. *Polyphenolic Compounds from Seaweed: Distribution and Their Antioxidative Effect*. Tokyo University of Fisheries. Japan
- Septiana, A, T dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*. **6** (1) : 12-13
- Sheikh TZB ; C.L.Yong ; and M.S Lian. 2009. In vitro antioxidant activity of the hexane and methanolic extracts of *Sargassum baccularia* and *Cladophora patentiramea*. *Journal of Applied Sciences*. **13**(9): 2490-2493
- Sirait, M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sudarmadji, S ; B. Haryono ; dan Suhardi. 1989. Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Surachmad, T. D. 1994. Dasar-Dasar Pengawetan. Buku. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suradikusumah, E. 1989. Kimia Tumbuhan. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Susanto AB. 2009. Potensi Rumput Laut Sebagai Bahan Campuran Minuman Teh. <http://rumputlaut.org/tag/sargassum/>. Yayasan Rumput Laut Indonesia (YRLI). Diakses pada 28 Mei 2014 pukul 22.00 WIB.
- Susanti, Tri. 2009. Studi Biosorpsi Ion Logam Cr (VI) Oleh Biomassa Alga Hijau Yang Dimobilisasi Pada Kalium Alginat. FMIPA. Universitas Depok. Depok. Skripsi
- Swasono R.T ; W. Thamrin ; S. Lina ; Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **5** (1) : 31-36
- Tarigan, J. Br., C. F. Zuhra dan H. Sitohang. 2008. Skrining Fitokimia Tumbuhan yang Digunakan Oleh Pedagang Jamu Gendong untuk Merawat Kulit Wajah di Kecamatan Medan Baru. *Jurnal Biologi Sumatera*. **3** (1): 1-6.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. Buku Taksonomi Tumbuhan : Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Hlm. 123-124
- Tuarita, M. Z., Kartikaningsih, H., Nursyam H., 2013. Karakteristik Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Polifenol Teh Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*) dengan Pelarut Metanol. *THPi Student Journal*. **1** (2) 61-70.
- Wagner, H ; and S. Bladt 1996. Plant Drug Analysis : A thin layer chromatography atlas, 2nd edition. 349-364. Springer-Verlag, Berlin.
- Waji, R.A ; dan S. Andis. 2009. Flavonoid (Quercetin). Fakultas Ilmu Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hassanudin. Makassar
- Wakhidaur, R. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak *Sargassum cristaefolium* Dengan Berbagai Pelarut Terhadap *Escherichia choly* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Thesis
- Winarsi, Hery. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta.
- Yunisas, A. S. 2014. Aktivitas Ekstrak Metanol Rumput Laut *Sargassum crassifolium* sebagai Imunomodulator pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). Universitas Padjajaran. Jatinangor. Skripsi
- Yunizal. 2004. Teknik Pengolahan Alginat. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Zaif,A. 2009. Phaeophyta (Alga Coklat). <http://zaifbio.wordpress.com/2009/01/30/phaeophyta-alga-coklat>. Diakses pada 2 september 2014 pukul 22.00 WIB.

LAMPIRAN 1. Skema Kerja Prosedur Penelitian

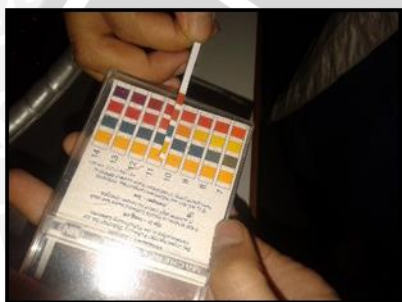


LAMPIRAN 2. Skema Pembuatan 'Teh' Alga Coklat (Hernawan. 2012)

LAMPIRAN 3. FOTO-FOTO PEMBUATAN TEH ALGA COKLAT



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



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



Perendaman dalam Larutan Kapur dengan pH 11 selama 6 jam



Pemotongan menjadi ukuran yang lebih kecil

Vacuum dryer dengan suhu
80 °C selama 20 menit



LAMPIRAN 4. FOTO-FOTO PROSES EKSTRAKSI PADA SAMPEL



Sampel segar digunting



Diangin-anginkan



Ditimbang sampel sebanyak 5 g (untuk perlakuan segar) dan 10 g (untuk perlakuan kering dan basa kering)



Dimaserasi dengan metanol selama 2x24 jam dan dibungkus aluminium foil



Disaring menggunakan kertas saring



Diuapkan pada rotary evaporator



Hasil ekstrak disimpan pada botol yang telah dibungkus aluminium foil

LAMPIRAN 5. Skema Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**- Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH**

Dipipet 3,8 ml larutan DPPH 0,2 mMol dan ditambahkan 0,2 ml metanol



Dibungkus alufo dan dibiarkan di tempat gelap selama 30 menit



Diukur serapan larutan dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 515 nm



- **Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan**

Dipipet ekstrak sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan dengan 10 ml metanol (diperoleh konsentrasi 1 ppm)

Dilakukan pengenceran dengan menambahkan metanol hingga diperoleh sampel dengan konsentrasi 5,10,15 dan 20 ppm

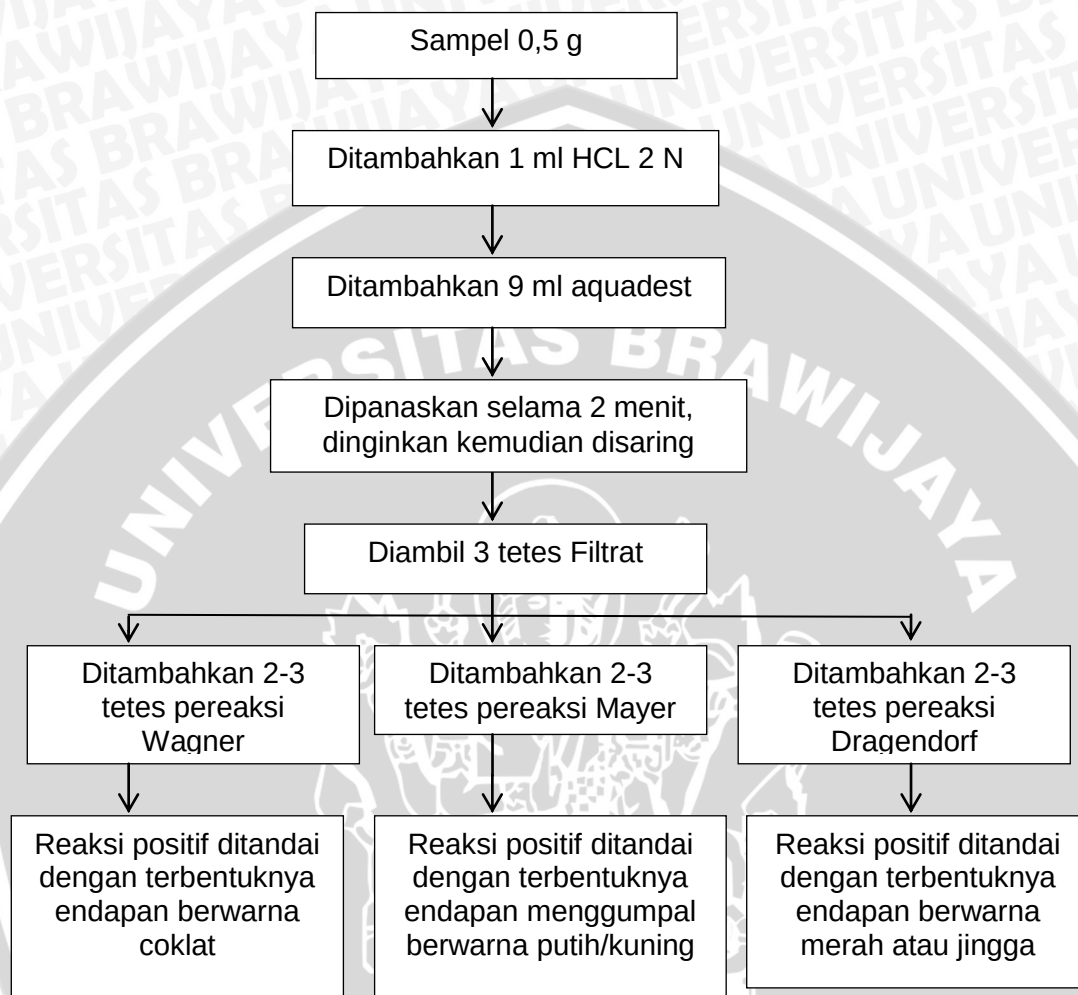
Dipipet 0,2 ml larutan sampel dengan pipet mikro dan dimasukkan dalam botol vial

Ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH 0,2 mMol ke dalam larutan ekstrak

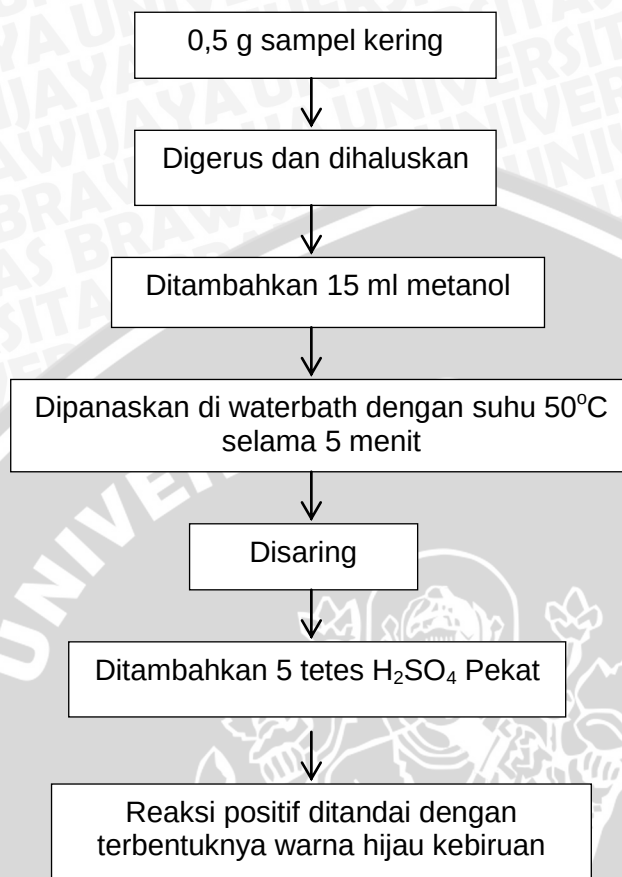
Dibungkus dengan alufo dan diberi label. Lalu dimasukkan dalam oven 30°C selama 30 menit untuk menghomogenkan sampel dengan DPPH

Diukur absorbansi dengan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 515 nm, lalu dihitung persen inhibisi, dimasukkan grafik analisa regresi lalu dihitung nilai IC₅₀ dengan memasukkan persamaan garis

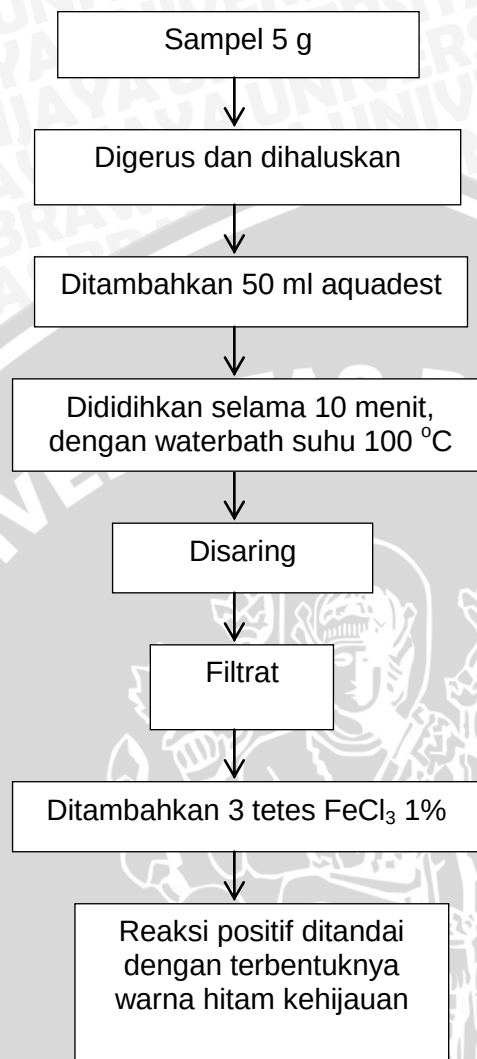
Hasil

LAMPIRAN 6 . Skema Uji Fitokimia**➤ Alkaloid (Tarigan et al., 2008)**

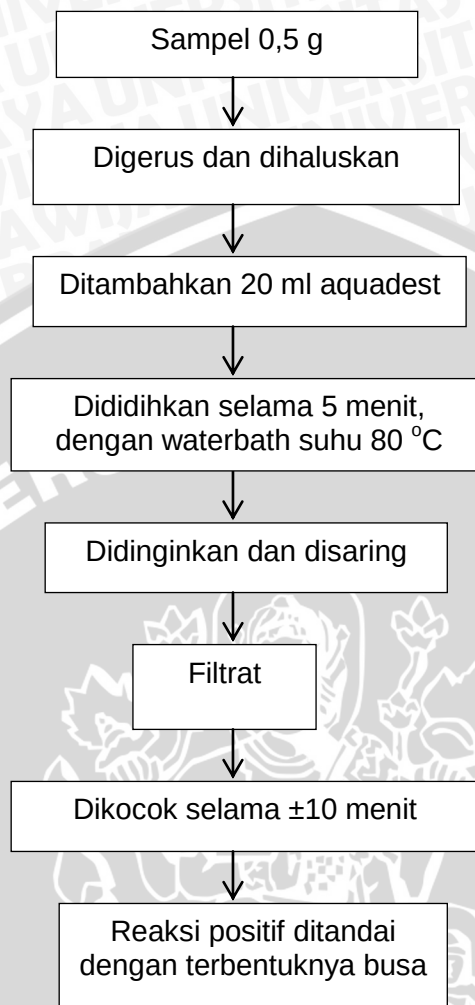
➤ **Flavonoid (Harborne, 1987)**



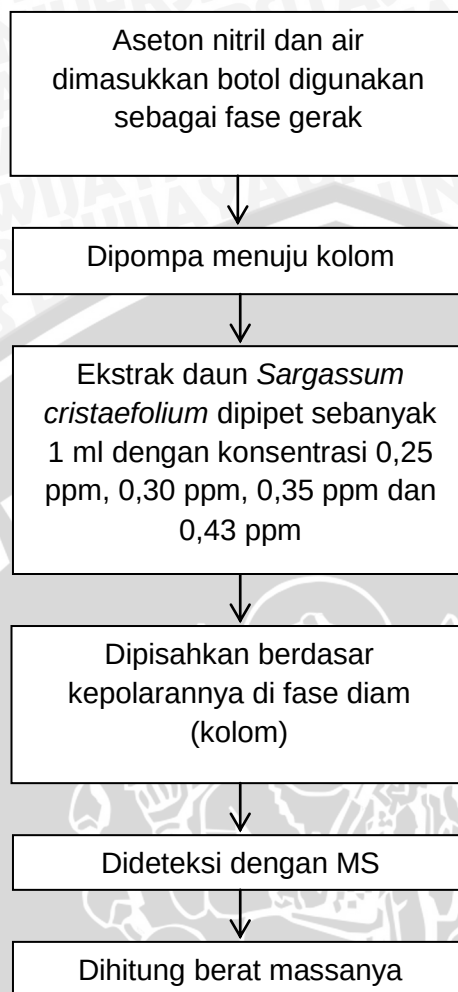
➤ **Tanin (Harborne, 1987)**



➤ Saponin (Harborne, 1987)

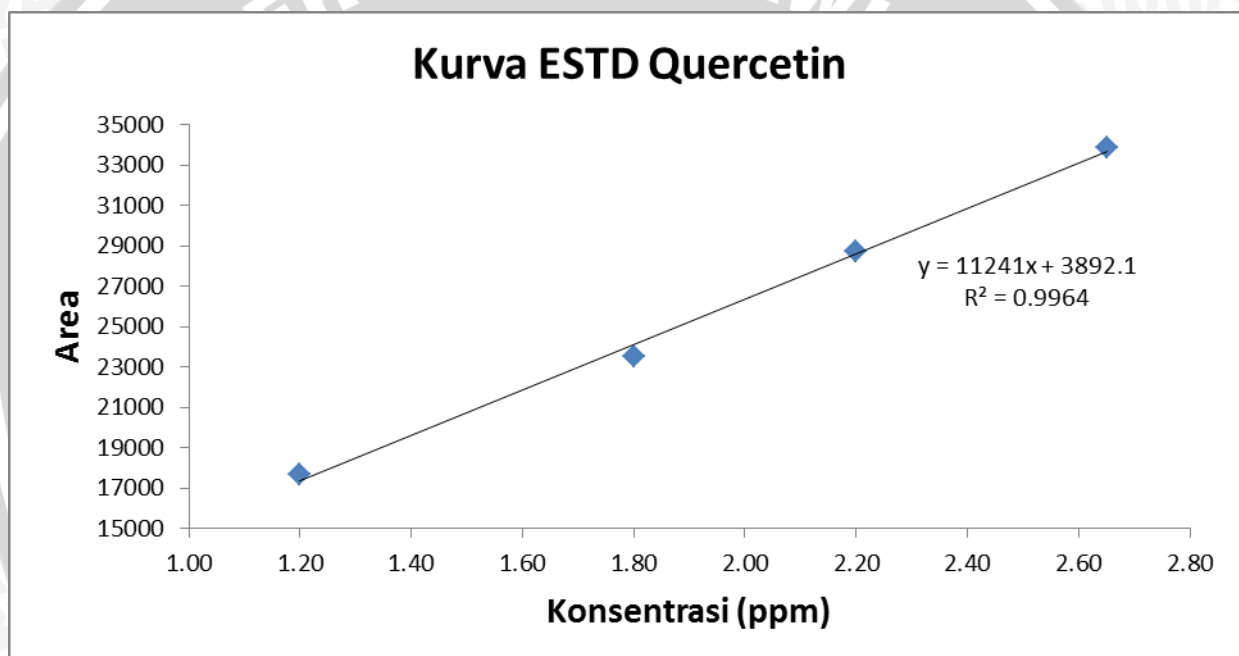


Lampiran 7. Skema Uji LC-MS



**LAMPIRAN 8. Analisis Kadar Quercetin (Standar Quercetin) Batang Alga
Coklat *Sargassum cristaefolium***

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



LAMPIRAN 9. Data Hasil Uji LC-MS

No	Nama Sampel	Nama File	Berat (g)			Area	Teukur (µg/ml)	Terhitung (µg/ml)
			Sampel	Spike	Total			
1	Teh Seduh	ISRM_SPL_4_INJ3	0,9925	0,8465	1,839	17,70	TT	TT
2	Batang Kering	ISRM_SPL_8_INJ3	0,7778	0,8304	1,6082	167,92	TT	TT
3	Teh	ISRM_SPL_10_INJ3	0,7623	0,8273	1,5896	4.813,79	0,169	0,353
4	Batang Segar	ISRM_SPL_14_INJ3	0,9587	0,8559	1,8146	3.808,77	0,084	0,158

Perhitungan Uji LC-MS

Rumus :

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

Sampel batang segar

$$\begin{aligned}
 \text{Terhitung} &= \frac{(0,084 \times 1,8146) - (0,2 \times 0,8559)}{0,9587} \\
 &= \frac{0,15242 - 0,17118}{0,9587} \\
 &= \frac{0,15269}{0,7478} \\
 &= 0,158
 \end{aligned}$$

Sampel batang basa kering

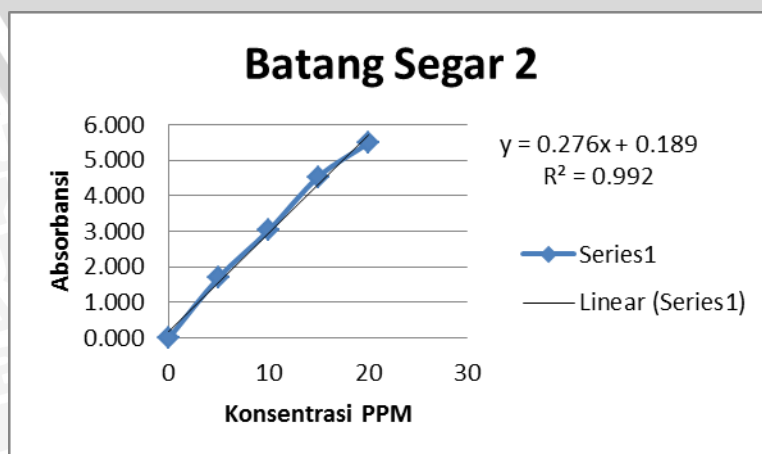
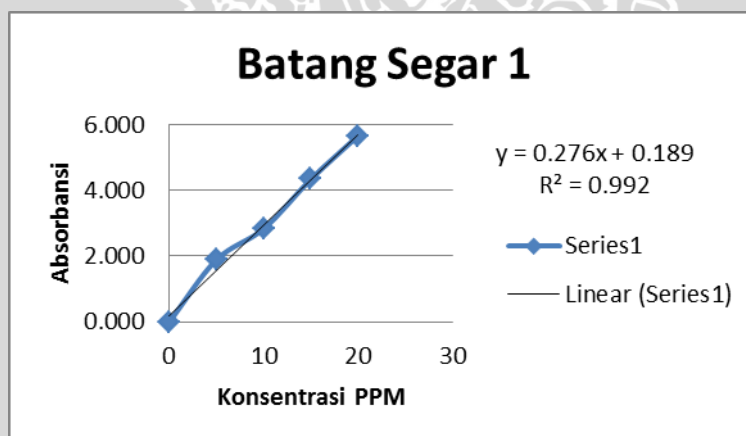
$$\begin{aligned}
 \text{Terhitung} &= \frac{(0,169 \times 1,5896) - (0,2 \times 0,8273)}{0,7623} \\
 &= \frac{0,26864 - 0,16546}{0,7623} \\
 &= \frac{0,10318}{0,7623} \\
 &= 0,353
 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 10. Data Uji DPPH

Batang Segar Ulangan 1

Aktivitas Antioksidan (DPPH)

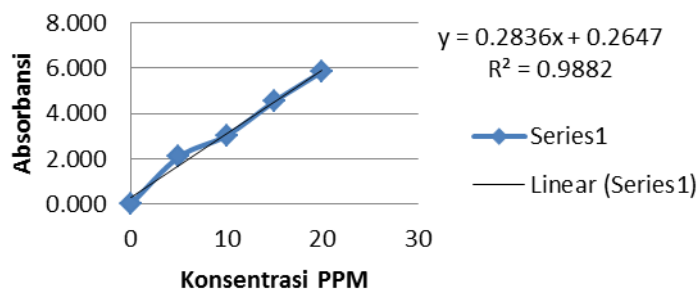
Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktvts	IC 50 (ppm)		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	181,844	181,844	181,844
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,519	1,890			
	2	0,2	0,52	1,701			
10	1	0,2	0,514	2,836			
	2	0,2	0,513	3,025			
15	1	0,2	0,506	4,348			
	2	0,2	0,505	4,537			
20	1	0,2	0,499	5,671			
	2	0,2	0,5	5,482			



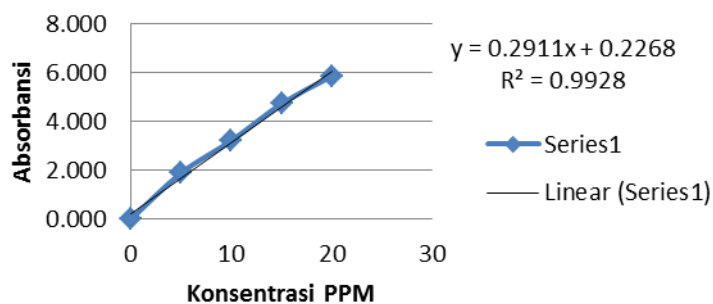
Batang Segar Ulangan 2 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	177,23	172,54	174,885
	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	0,512	3,214			
15	1	0,2	0,505	4,537			
	2	0,2	0,504	4,726			
20	1	0,2	0,498	5,860			
	2	0,2	0,498	5,860			

Batang Segar 2 Ulangan 1

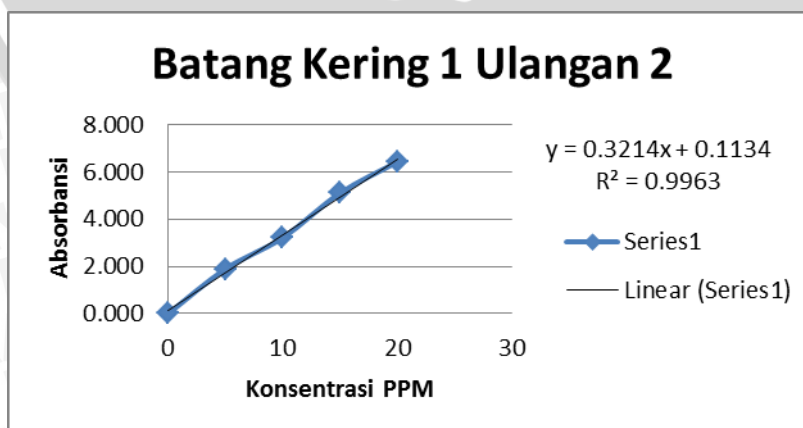
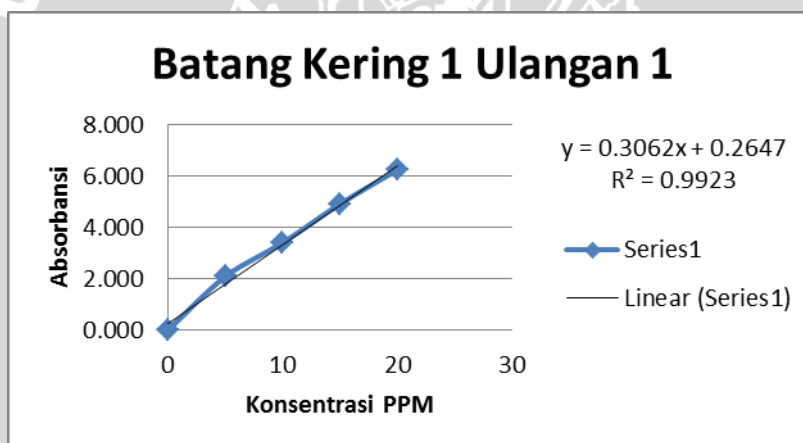


Batang Segar 2 Ulangan 2



Batang Kering Ulangan 1 Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	164,156	155,922	160,039
	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	0,511	3,403			
	2	0,2	0,512	3,214			
15	1	0,2	0,503	4,915			
	2	0,2	0,502	5,104			
20	1	0,2	0,496	6,238			
	2	0,2	0,495	6,427			

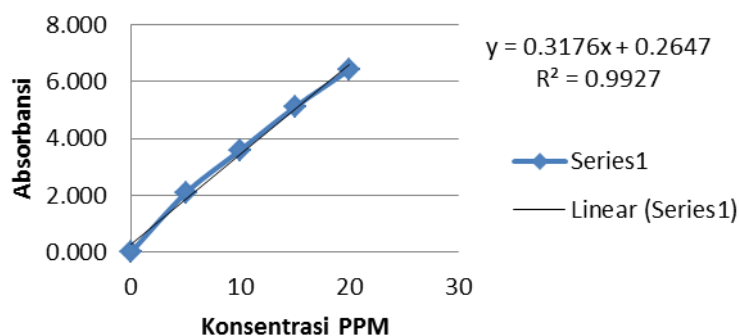


Batang Kering Ulangan 2

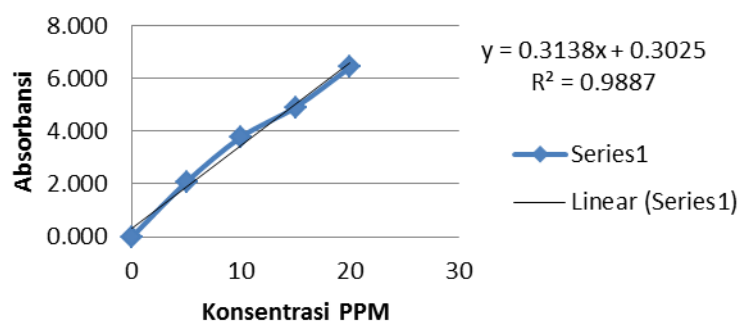
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	158,264	160,301	159,2825
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,518	2,079			
	2	0,2	0,518	2,079			
10	1	0,2	0,51	3,592			
	2	0,2	0,509	3,781			
15	1	0,2	0,502	5,104			
	2	0,2	0,503	4,915			
20	1	0,2	0,495	6,427			
	2	0,2	0,495	6,427			

Batang Kering 2 Ulangan 1



Batang kering 2 Ulangan 2

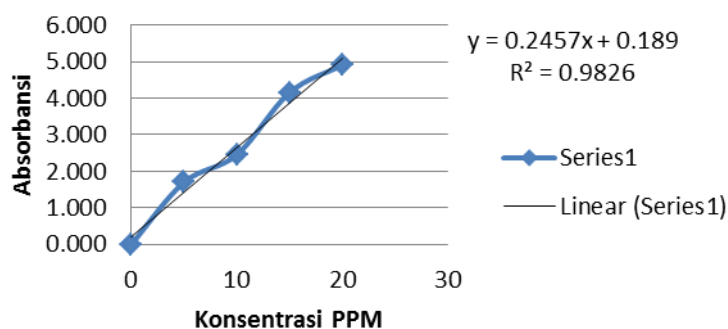


Batang 'Teh' Ulangan 1

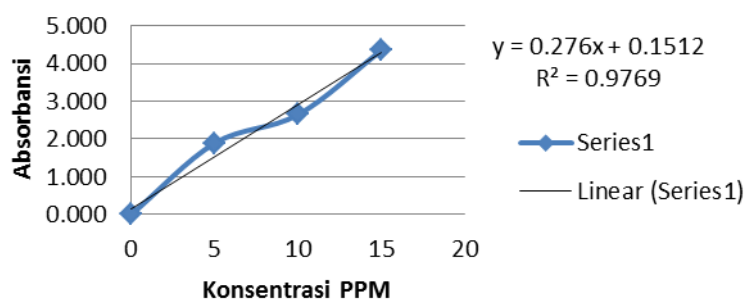
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	204,269	181,707	192,988
	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	0,516	2,457			
	2	0,2	0,515	2,647			
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	0,504	4,726			

'Teh' 1 Ulangan 1

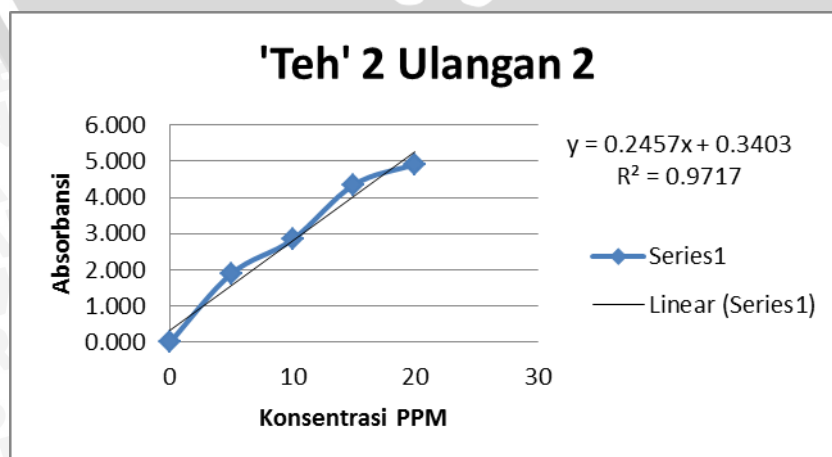
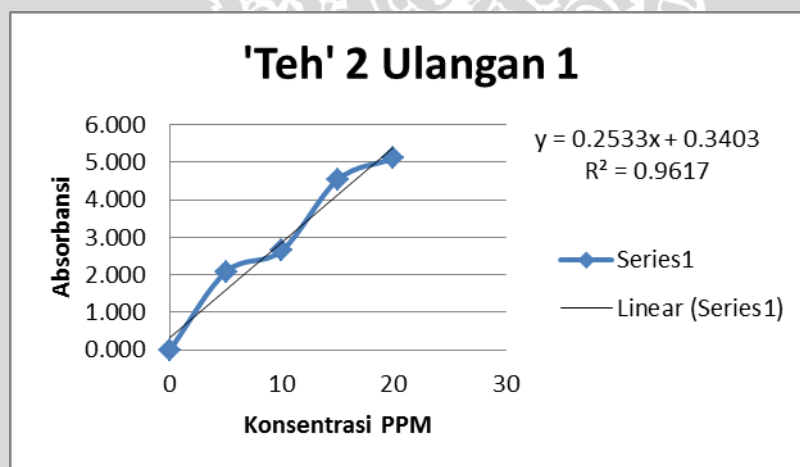


'Teh' 1 Ulangan 2



Batang 'Teh' Ulangan 2
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

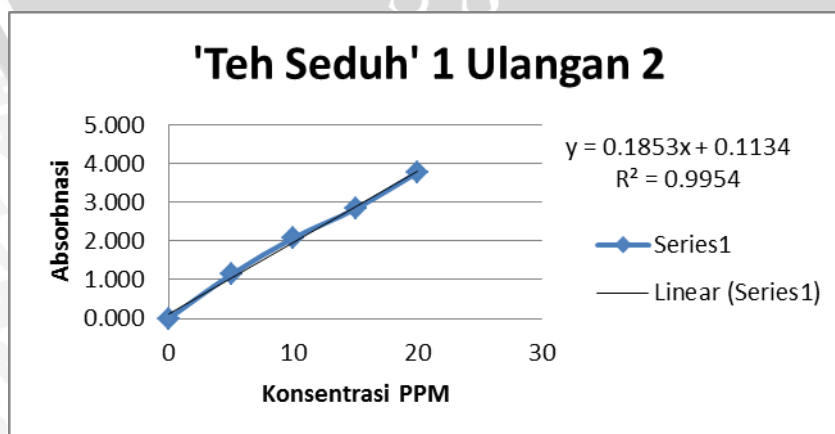
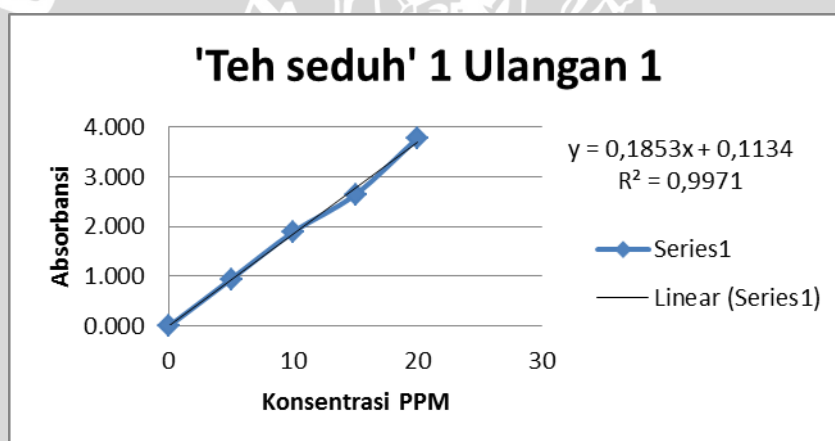
Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Re
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	198.737	204,885	201
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,518	2,079			
	2	0,2	0,519	1,890			
10	1	0,2	0,515	2,647			
	2	0,2	0,514	2,836			
15	1	0,2	0,505	4,537			
	2	0,2	0,506	4,348			
20	1	0,2	0,502	5,104			
	2	0,2	0,503	4,915			



Batang 'Teh Seduh' Ulangan 1

Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	270,444	270,444	270,444
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,524	0,945			
	2	0,2	0,523	1,134			
10	1	0,2	0,519	1,890			
	2	0,2	0,518	2,079			
15	1	0,2	0,515	2,647			
	2	0,2	0,514	2,836			
20	1	0,2	0,509	3,781			
	2	0,2	0,509	3,781			

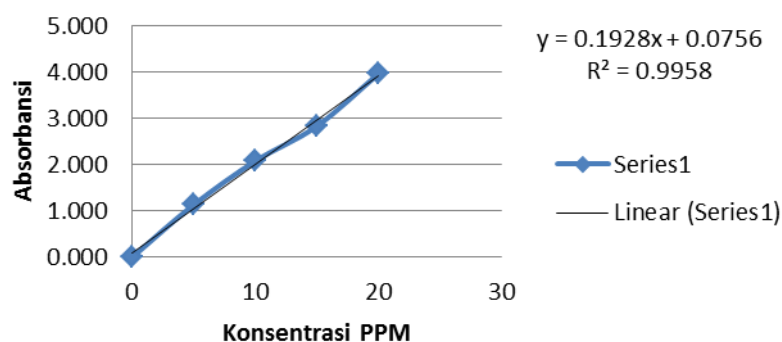


Batang 'The Seduh' Ulangan 2

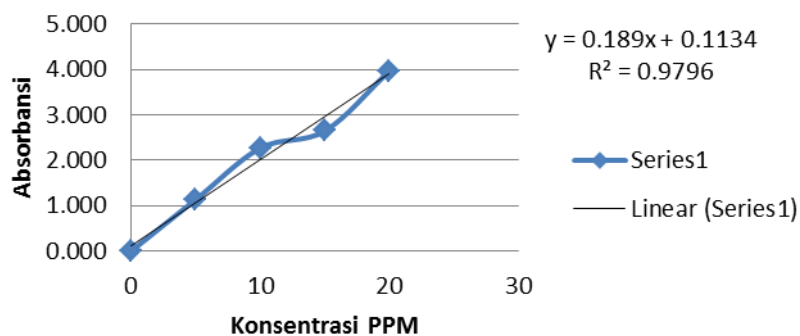
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	Ulangan	m smpl	Abs	% aktivitas	IC 50		Rerata
					1	2	
0	1	0,2	0,529	0,000	259,728	265,150	262,439
	2	0,2	0,529	0,000			
5	1	0,2	0,523	1,134			
	2	0,2	0,523	1,134			
10	1	0,2	0,518	2,079			
	2	0,2	0,517	2,268			
15	1	0,2	0,514	2,836			
	2	0,2	0,515	2,647			
20	1	0,2	0,508	3,970			
	2	0,2	0,508	3,970			

'Teh Seduh' 2 Ulangan 1



'Teh Seduh' 2 Ulangan 2

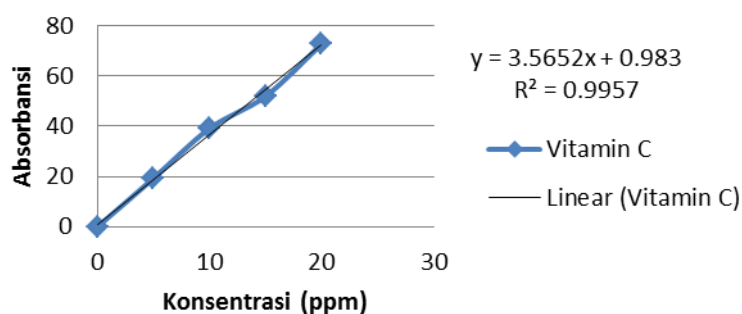


Vitamin C

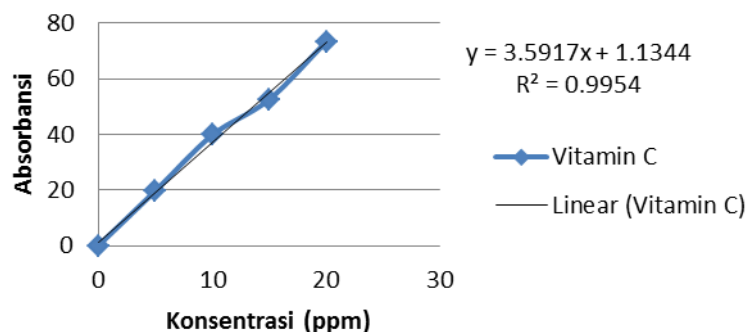
Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Konsentrasi (ppm)	ulangan	m smpl	Abs	% Aktivitas	IC 50 (ppm)		Rerata
					1	2	
0	1	0.2	0.529	0.000	13,749	13,608	13,678
	2	0.2	0.529	0.000			
5	1	0.2	0.427	19.282			
	2	0.2	0.425	19.660			
10	1	0.2	0.322	39.130			
	2	0.2	0.319	39.698			
15	1	0.2	0.254	51.985			
	2	0.2	0.251	52.552			
20	1	0.2	0.144	72.779			
	2	0.2	0.141	73.346			

Vitamin C Ulangan 1



Vitamin C Ulangan 2



LAMPIRAN 11. FOTO UJI FITOKIMIA

✓ Uji Alkaloid



Perlakuan Segar



Perlakuan "Teh"

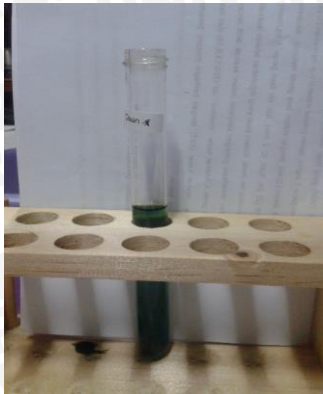


Perlakuan "teh seduh"



Perlakuan kering

✓ Uji Flavonoid



Perlakuan Segar



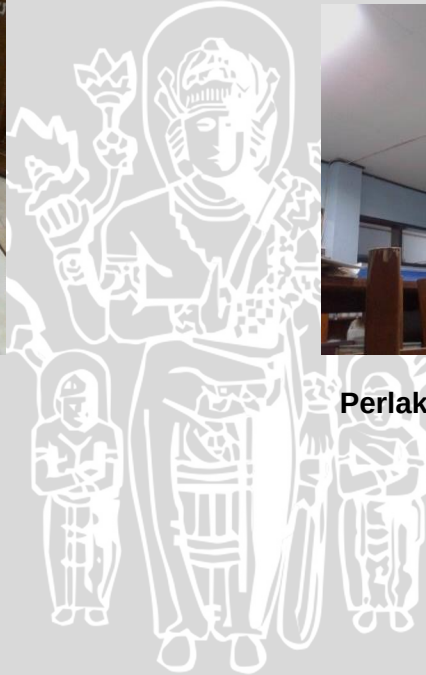
Perlakuan "Teh"



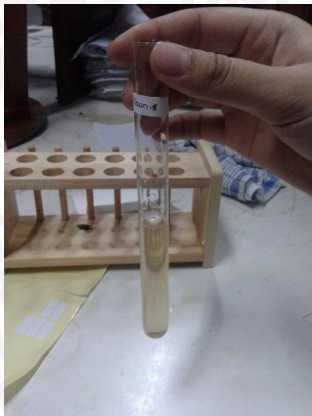
Perlakuan Kering



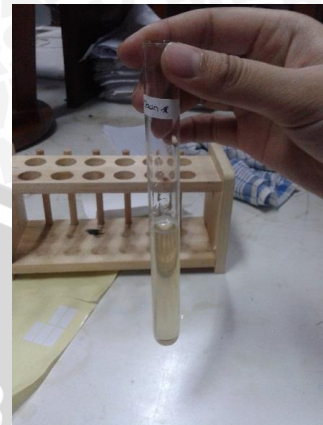
Perlakuan "teh seduh"



✓ Uji Saponin



Perlakuan Segar



Perlakuan "Teh"



Perlakuan Kering



Perlakuan "Teh seduh"



✓ Uji Tanin



Perlakuan Segar



Perlakuan "Teh"



Perlakuan Kering



Perlakuan "Teh seduh"