

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alga merupakan tumbuhan batang yang habitatnya di air tawar, air laut, maupun yang lembab atau basah. Alga melekatkan dirinya pada karang, lumpur, pasir, batu dan benda keras lainnya. Secara umum, alga juga sering dijumpai tumbuh di daerah perairan yang dangkal atau di daerah pasang surut (*intertidal* dan *sublitoral*) yang masih dapat ditembus oleh sinar matahari dengan kondisi dasar perairan berpasir (Anggadiredja, *et al.*, 2010). Salah satu jenis alga yang mudah ditemukan di Indonesia adalah alga coklat *Sargassum*.

Sargassum merupakan golongan alga yang memiliki kandungan berupa protein, lemak, karbohidrat, alginat, vitamin, mineral, iodin serta kandungan antioksidan sebagai penangkal radikal bebas yang berupa senyawa polifenol (Lim *et al.*, 2002). *Sargassum cristaefolium* memiliki ciri-ciri *thalli* agak gepeng, licin, batang utama agak bulat kasar, *holdfast* cakram menggaruk, pangkal keras atau bagian batang umumnya berbentuk silinder dan bercabang rimbun. *Sargassum cristaefolium* memiliki 3 bagian salah satunya adalah batang. Batang merupakan bagian dari rumput laut yang hidup diperairan dangkal atau langsung menempel pada batu karang (*coral reef*). Batang memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, permukaan halus dan licin. Batang mempunyai morfologi yang kompleks, tubuhnya mempunyai akar dan pada bagian tangkai daun terdapat cabang-cabang yang lateral.

Percabangan batang pada *Sargassum cristaefolium* membentuk dua formasi tidak beraturan yang berlawanan sisi sepanjang batang utama disebut sebagai *pinnate alternative*. Batang yang menyerupai daun tumbuh melebar dan bergerigi dengan permukaan yang licin. Batang pada makroalga umumnya terdiri dari *stipe*, *holdfast* dan *blade*. *Stipe* yaitu berbentuk seperti batang

berfungsi untuk mendukung *blade*, *holdfast* berbentuk seperti akar yang berfungsi untuk menempel pada substrat dan *blade* yaitu bentuk yang menyerupai daun yang berperan dalam proses fotosintesis. *Blade* pada alga terjadi karena diferensiasi sel-sel yang disebut meristem (Docstoc, 2007). Menurut Sumarsih (2013) batang *Sargassum* berfungsi sebagai pengikat ion logam berat logam Pb dan Hg. Logam Pb dan Hg merupakan contoh jenis bahan pencemar yang ditemukan di laut sehingga dapat menyebabkan kerusakan perairan.

Sargassum cristaefolium sering dianggap sebagai sampah dan memiliki penampakan yang tidak menarik, bau amis dan mudah busuk sehingga selama ini belum banyak dimanfaatkan. Pemanfaatan *Sargassum cristaefolium* sebagai produk pangan sangat sulit jika hanya dimanfaatkan dalam keadaan segar. Hal ini, karena *Sargassum cristaefolium* bersifat mudah busuk. *Sargassum cristaefolium* bisa dimanfaatkan dalam kondisi kering, seperti halnya masyarakat Cabiya, Talango, Madura. Masyarakat Cabiya menyebut *Sargassum cristaefolium* sebagai alga berdaun lebar karena bentuk daunnya yang lebar. Masyarakat Cabiya memanfaatkan *Sargassum cristaefolium* dengan membuat teh. Di Vietnam bagian selatan masyarakat telah memanfaatkan *Sargassum* sebagai minuman teh yang berkhasiat medis. Pemanfaatan teh *Sargassum* oleh masyarakat Vietnam ini telah dilakukan sejak lama (Susanto, 2009).

Teh merupakan salah satu jenis minuman yang sangat digemari. Selain rasa dan aromanya yang khas teh sangat bermanfaat bagi kesehatan. Di dalam teh terdapat komponen katekin yang memiliki sifat antioksidan yang sangat kuat dibandingkan dengan vitamin C sehingga sangat bermanfaat bagi kesehatan (Zhu *et al.*, 1997). Selama ini teh dibuat dari pucuk daun muda tanaman teh *Camelia sinensis*, tidak ada yang menggunakan batang. Salah satu bahan baku pembuatan teh yang telah dimanfaatkan masyarakat Sumenep adalah alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Menurut Firdhayani *et al.*, (2010) rumput laut *Sargassum spp* dapat diolah menjadi produk teh herbal

dan bernilai ekonomis. Hal ini dikarenakan dapat membuang zat-zat sisa dalam tubuh, seperti lemak dan sel-sel mati akibat radikal bebas. *Sargassum cristaefolium* termasuk alga coklat yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan alga coklat dapat digunakan sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan dan menghambat aktivitas enzim. Komponen bioaktif, yakni polifenol yang secara optimal terdapat dalam daun teh yang muda dan utuh. Selain senyawa polifenol teh juga mengandung katekin. Katekin adalah senyawa dominan dari polifenol teh hijau dan terdiri dari *epicatechin* (EC), *epicatechin gallate* (ECG), *epigallocatechin* (EGC), *epigallocatechin gallate* (EGCG), *catechin* (C) dan *galocatechin* (GC) (Sibuea, 2003).

Epigalokatekin galat (EGCG) merupakan antioksidan yang terdapat dalam teh hijau, dimana mempunyai kemampuan 100 kali lebih efektif daripada vitamin C dan 25 kali lebih efektif daripada vitamin E dalam melindungi sel. EGCG terdiri dari 10-50% dari total katekin. Satu cangkir teh hijau mengandung 10-40 mg polifenol dan mempunyai aktivitas antioksidan lebih besar daripada yang terdapat pada brokoli, bayam, wortel atau strawberi (Tea Research Association, 2003). EGCG terdapat pada membran sel maupun ekstraseluler dalam tubuh dan mempunyai sifat menghambat atau mencegah kerusakan sel akibat reaksi oksidasi (Widjaya, 1997).

Penelitian mengenai Epigalokatekin galat (EGCG) dalam teh hijau dilakukan oleh Nurhayati *et al.*, (2003), Nirmaladewi (2012) dan Widyaningrum (2013). Penelitian mengenai Epigalokatekin galat (EGCG) dalam alga coklat Jepang dilakukan Santoso *et al.*, (2004). Saat ini, belum ditemukan penelitian mengenai kadar epigalokatekin galat (EGCG) pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*. Menurut Rohmah (2011), *Sargassum cristaefolium* termasuk alga coklat yang menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian ini

dilakukan untuk menggali lebih dalam mengenai kadar epigalokatekin galat (EGCG) pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan menggunakan metode HPLC - LC-MS.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah berapakah kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*?

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah untuk memberi informasi kepada masyarakat, lembaga dan institusi lain mengenai proses pembuatan “teh” alga coklat *Sargassum cristaefolium*, mengetahui kadar Epigalokatekin galat (EGCG) pada “teh” batang alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

1.5 Waktu dan Tempat

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

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga coklat *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium merupakan salah satu golongan alga coklat yang memiliki senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavanoid. Senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa biokatif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan (Fahri *et al.*, 2010). Gambar *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1. Menurut Algaebase (2014), klasifikasi *Sargassum cristaefolium* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Chromista
Subkingdom	: Chromobiota
Infrakingdom	: Heterokonta
Phylum	: Ocrophyta
Subphylum	: Phaeista
Class	: Phaeophyceae
Order	: Fucales - Kylin
Family	: Sargassaceae
Genus	: Sargassum
Specific descriptor	: cristaefolium – C. Agardh
Scientific name	: <i>Sargassum cristaefolium</i> C. Agardh



Gambar 1. *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium memiliki ciri-ciri thalli agak gepeng, licin, batang utama agak bulat kasar, *holdfast* cakram menggaruk, cabang pertama timbul dibagian pangkal sekitar 1 cm dari *holdfast*. Percabangan berselang-seling teratur, daun oval memanjang, 40 x 10 mm. Batang alga coklat hidupnya

langsung menempel pada batu karang (coral reef). Batang *sargassum* umumnya berwarna coklat kekuningan dilengkapi dengan gelombang udara yang berfungsi sebagai pelampung sehingga memungkinkan alga coklat dapat terapung. Batang alga coklat juga dikenal mengandung kapur, sehingga tekstur batang alga umumnya lebih keras dari batang alga merah dan alga hijau seperti pada spesies *Padina sp.* (Atmadja, 1996). Panjang batang umumnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat 3 spesies yang panjangnya 3 meter). Pangkal keras pada bagian batang berbentuk silinder, pipih dan bercabang rimbun sederhana dengan segmen yang lebih pendek. Batang yang menyerupai daun (*blade*) tumbuh melebar dan bergerigi dengan permukaan yang licin. Pada setiap percabangan *Sargassum* terdapat gelembung udara berbentuk bulat (*bladder*) yang berguna untuk menopang cabang-cabang batang yang terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari (Kadi, 2005). *Sargassum sp.* telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas, dan lain-lain. Di bidang kosmetika *Sargassum* diaplikasikan dalam pembuatan sabun, krim, lotion, dan sampo. Di bidang farmasi *Sargassum* diaplikasikan dalam pembuatan suspensi, emulsi, tablet dan salep. Komposisi kimia *Sargassum spp.* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia *Sargassum sp.* dari Kepulauan Seribu

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

Sumber: Luhur (2006)

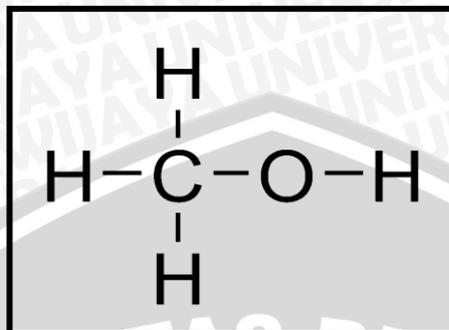
2.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisahkan dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Nofianti, 2012).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Maserasi dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati direndam menggunakan pelarut non polar misalnya etanol encer selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku kefarmasiannya (Puspita, 2012). Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil diklorida, etanol, heksana, isopropyl alkohol dan metanol (Setiyowati, 2007). Penelitian Septiana dan Asnani (2012) menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut metanol memiliki sifat fitokimia terbaik pada *Sargassum duplicatum*.

Metanol adalah salah satu senyawa hidrokarbon dari golongan alkohol ($C_nH_{2n+2}O$) dengan gugus alkilhidroksil (OH). Alkohol memiliki keisomeran fungsi dengan eter. Rumus umum metanol adalah CH_4O . Metanol mempunyai sifat mudah menguap, berbentuk cairan yang ringan, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol (Risa, 2012). Metanol merupakan pelarut polar yang mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tannin, gula, asam amino dan glikosida. Metanol juga dapat disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar, dapat juga mengekstrak

komponen nonpolar seperti lilin dan lemak (Ayuningrat, 2009). Struktur kimia metanol dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. Struktur Kimia Metanol

2.3 Senyawa Bioaktif Rumput Laut

Senyawa bioaktif merupakan senyawa yang terdapat pada antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Senyawa bioaktif pada rumput laut terdapat metabolit sekunder dan metabolit primer. Metabolit primer digunakan untuk pertumbuhan dan kehidupan organisme serta dibentuk dalam jumlah terbatas (Nofiani, 2008). Metabolit primer dari *Sargassum* adalah senyawa polisakarida hidrokoloid berupa alginat. Senyawa hidrokoloid tersebut telah digunakan dalam berbagai industri, terutama industri makanan, kosmetik dan obat-obatan.

Metabolit sekunder adalah 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 sekunder pada kondisi stress (Bhat *et al.*, 2009). Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Menurut penelitian Risjani dan Kenty (2009), senyawa pada ekstrak *Sargassum cristaefolium* adalah golongan flavonoid.

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 (Sirait, 2007). Flavonoid termasuk golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat *et al.*, 2009). Di dalam teh banyak terdapat jenis-jenis flavonoid, tetapi yang memiliki nilai gizi hanya dibagi menjadi 6 kelompok. Menurut Mahmood *et al.*, (2010) jenis-jenis flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jenis-jenis Flavonoid

FLAVONOID	CONTOH
Flavanols	EGCG, EG, ECG and Catechin
Flavonols	Kaempferol and Quercetin
Anthocyanidins	Malvidin, Cyanidin and Delphinidin
Flavones	Apigenin and Rutin
Flavonones	Myricetin
Isoflavonoids	Genistein and Biochanin A

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

2.4 “Teh” Alga Coklat

Teh merupakan salah satu jenis minuman yang sangat digemari. Selain rasa dan aromanya yang khas teh sangat bermanfaat bagi kesehatan karena terdapat kandungan komponen bioaktif utama yaitu polifenol khususnya jenis katekin dan turunannya yang berperan sebagai antioksidan. Senyawa polifenol berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksil (OH[·]) sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein dan DNA dalam sel (Sibuea, 2003).

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 Alginat dan 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.

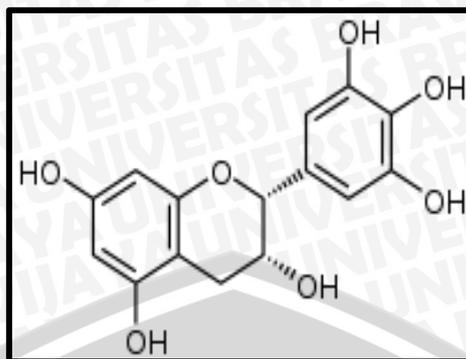
2.5. Katekin

Katekin merupakan kerabat tanin terkondensasi yang disebut polifenol karena terdapat banyak gugus fungsi hidroksi. Katekin pada teh hijau tersusun atas senyawa-senyawa katekin (C), epikatekin (EC), galokatekin (GC), epigalokatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), galakatekin galat (GCG) dan epigalokatekin galat (EGCG). Perbedaan dari beberapa jenis katekin dilihat dari jumlah gugus hidroksilnya (Robinson, 1995).

2.6 Epigalokatekin galat (EGCG)

Epigalokatekin galat (EGCG), yang juga dikenal dengan nama Epigallocatechin 3-gallate, adalah senyawa ester dari epigalokatekin dan asam gallat, dan merupakan tipe dari katekin. Pada umumnya epigalokatekin galat (EGCG) terdapat pada teh yang bermanfaat sebagai kesehatan. EGCG mempunyai komponen aktif yang paling signifikan di dalam teh hijau. EGCG dalam teh hijau mempunyai efek antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, antiviral, efek antienzimatik, dan probiotik pada manusia dan hewan. Bagian tanaman teh yang paling banyak mengandung EGCG adalah bagian puncak daun dan daun muda. EGCG umumnya terdapat pada daun teh, daun pisang, daun teh hijau *Camellia sinensis* dan beberapa jenis tanaman lainnya (Purwanto, Djoko, 2011).

EGCG berbentuk serbuk berwarna putih sampai merah muda dengan titik leleh 218°C yang larut dalam air dan pelarut organik seperti ethanol dan metanol. EGCG stabil di dalam suhu kamar. Epigalokatekin galat (EGCG) mempunyai kemampuan 100 kali lebih efektif daripada vitamin C dan 25 kali lebih efektif daripada vitamin E dalam melindungi sel dan DNA (Tea Research Association, 2003). Adapun struktur kimia Epigalokatekin galat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia Epigalokatekin Galat (EGCG)

2.7 Fitokimia

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

Uji fitokimia bertujuan untuk menentukan komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan. Uji fitokimia yang biasa dilakukan adalah uji alkaloid dengan tiga pereaksi yakni pereaksi Dragendroff, Meyer dan Wagner; uji steroid; uji flavonoid; uji saponin atau uji busa; uji fenol hidrokuinon dengan pereaksi FeCl_3 ; uji molisch; uji benedict; uji biuret dan uji ninhidrin (Romansyah, 2011).

2.8 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak

reaktif stabil. Senyawa fenolik dan flavanoid merupakan sumber antioksidan alami yang biasanya terdapat dalam tumbuhan (Oktariana, 2008). Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu antioksidan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik mempunyai efektivitas tinggi, namun belum tentu aman bagi kesehatan. Antioksidan alami memiliki keuntungan yaitu aman karena tidak terkontaminasi zat kimia dan mudah diperoleh. Antioksidan berfungsi untuk mencegah terjadinya oksidasi atau menetralkan senyawa yang teroksidasi dengan cara menyumbangkan hidrogen atau elektron (Silalahi, 2006).

Berdasarkan fungsinya antioksidan dapat dibedakan menjadi 5 (lima) yaitu: (1) Antioksidan primer merupakan jenis antioksidan enzimatis, yang mampu memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil (Winarsi, 2007). Antioksidan Primer, berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru, karena dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya. (2) Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang tidak diproduksi secara alami oleh tubuh dan didapatkan dari asupan makanan maupun minuman. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan. (3) Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. (4) *Oxygen Scavenger* termasuk antioksidan yang mengikat oksigen, sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, misalnya vitamin C. (5) *Chelators* atau *Sequesstrants*, mengikat logam yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi misalnya asam sitrat dan asam amino (Kumalaningsih, 2006).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan

elektron. Beberapa tanaman yang memiliki potensi antioksidan alami adalah *Camellia sinensis*, *Hibiscus sabdariffa*, dan *Phaleria macrocarpa* (Mardiah, *et al.*, 2009).

2.9 Metode HPLC - LC-MS

Menurut Ginting (2012), LC-MS merupakan teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Dua komponen penting dalam proses LC-MS adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menseleksi ion. Sistem LC-MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa. Metode LC-MS telah banyak digunakan sebagai metode pemisahan dan identifikasi untuk senyawa organik. Metode ini sangat sensitif dan selektif dibandingkan metode deteksi dengan sinar UV biasa (Ortelli *et al.*, 2000). Prinsip kerja metode ini adalah terbentuknya campuran pelarut (fase gerak HPLC) dan analit yang bermuatan listrik dengan berpotensi listrik tinggi (4-5 kV). Metode ESI dapat menggunakan pengionan positif atau negatif. Pengionan positif akan membuat analit menjadi terprotonasi atau menjadi kation, sedangkan pengionan negatif akan membuat analit menjadi anion atau mengalami deprotonasi (Kazakevich dan Lobrutto, 2007). Kation yang sering terbentuk dalam metode ESI adalah ion pseudomolekul hasil adisi antara analit dengan proton (H^+). Oleh karena itu, nilai m/z dalam spektra akan sering bernilai $(M^+H)^+$ atau $(2M^+H)^+$, dengan M adalah bobot molekul analit (Kazakevich dan Lobrutto, 2007).