

**DETEKSI SENYAWA BIOAKTIF ENKAPSULAT EKSTRAK KASAR  
TEH DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium*  
TERSALUT KITOSAN DAN MALTODEKSTRIN**

**ARTIKEL SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:  
**SRI ARGO PRADANTO**  
NIM. 125080300111030



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

**DETEKSI SENYAWA BIOAKTIF ENKAPSULAT EKSTRAK KASAR  
TEH DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium*  
TERSALUT KITOSAN DAN MALTODEKSTRIN**

**Artikel Skripsi  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

**Oleh:  
SRI ARGO PRADANTO  
NIM. 125080300111030**

**Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I**



**Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS  
NIP. 19640726 198903 2 004  
Tanggal: 23 JAN 2017**

**Menyetujui,  
Dosen Pembimbing II**



**Dr. Ir. Kartini Zaclanie, MP  
NIP. 19550503 198503 2 001  
Tanggal: 23 JAN 2017**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan**



**Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal: 23 JAN 2017**

## DETEKSI SENYAWA BIOAKTIF ENKAPSULAT EKSTRAK KASAR TEH DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium* TERSALUT KITOSAN DAN MALTODEKSTRIN

Sri Argo Pradanto<sup>1</sup>, Hartati Kartikaningsih<sup>2</sup>, Kartini Zaelanie<sup>3</sup>  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

### ABSTRAK

Alga yang hidup di laut atau juga sering disebut rumput laut memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai sumber senyawa bioaktif. Salah satu spesies alga coklat yaitu *Sargassum cristaefolium* dilaporkan mengandung senyawa flavonoid. Namun, senyawa bioaktif ini rentan mengalami kerusakan sehingga harus dilindungi salah satunya dengan cara enkapsulasi dengan menggunakan penyalut berupa campuran kitosan dan maltodekstrin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis senyawa bioaktif yang terkandung dalam enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin. Metode yang digunakan adalah metode eksploratif-deskriptif dengan data yang diperoleh dari pengujian kromatografi metode KLT, SEM, spektrofotometri UV-Vis metode  $AlCl_3$ , FTIR dan LC-MS metode ESI positif serta perhitungan rendemen. Hasil penelitian dengan uji KLT, ekstrak kasar positif mengandung flavonoid yang diduga kuersetin. Rendemen enkapsulat sebesar 58,56%. Identifikasi senyawa dengan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan adanya serapan pada  $\lambda^{max}$  404 nm dengan absorbansi dan total flavonoid tertinggi pada perlakuan pH 3 sebesar 0,7001 dan 2,8903 mgQE/g. Hasil SEM menunjukkan enkapsulat dengan perlakuan pH 3 memiliki struktur permukaan yang paling rusak. Hasil uji FT-IR dan LC-MS terhadap sampel tersebut, gugus-gugus yang terdeteksi antara lain O-H, C=O, C-O, C-H, dan C=C dan berat molekul sanyawa dugaan sebesar 314 m/z (Rt 0,8) yang diduga sebagai senyawa flavonoid, yaitu 3,7-Dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavan dengan rumus kimia  $C_{17}H_{14}O_6$ . Saran penerapan enkapsulat adalah pada produk makanan yang bersifat basa. Serta perlu dilakukan pemurnian ekstrak dan deteksi menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) untuk mengetahui struktur senyawa secara pasti.

**Kata kunci:** enkapsulasi, *Sargassum cristaefolium*, flavonoid, kitosan, maltodekstrin

<sup>1</sup> Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

<sup>2,3</sup> Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

## BIOACTIVE COMPOUNDS DETECTION OF ENCAPSULATED CRUDE EXTRACT OF TEA OF BROWN ALGAE *Sargassum cristaefolium* LEAVES COATED BY CHITOSAN AND MALTODEXTRIN

Sri Argo Pradanto<sup>1</sup>, Hartati Kartikaningsih<sup>2</sup>, Kartini Zaelanie<sup>3</sup>  
Faculty of Fisheries and Marine Sciences Brawijaya University

### ABSTRACT

Algae that live in the sea or also commonly known as seaweed has potential to be developed as a source of bioactive compounds. One species of brown algae *Sargassum cristaefolium* was reported containing flavonoids. However, these bioactive compounds vulnerable to damage and should be protected. It can be encapsulated by chitosan and maltodextrin. The purpose of this study was to determine the type of bioactive compounds in crude extract of tea of brown algae *Sargassum cristaefolium* leaves encapsulated and coated by chitosan and maltodextrin. The method was used exploratory-descriptive method with data obtained from the testing of chromatography TLC method, SEM, UV-Vis spectrophotometry  $AlCl_3$  method, FTIR and LC-MS positive ESI method and calculations of yield. From the TLC test, the crude extract positively contained flavonoids that suspected as quercetin. The yield of encapsulate was 58.56%. Identification of compounds with UV-Vis spectrophotometry showed a  $\lambda^{max}$  absorbance at 404 nm with higher absorbance and total flavonoids in the treatment of pH 3 at 0,7001 and 2,8903 mgQE/g. SEM results showed encapsulate with pH 3 treatment had the most damaged surface structure. Test results of FT-IR and LC-MS from the sample, the groups were detected among others O-H, C=O, C-O, C-H, and C=C and molecular weight was 314 m/z (at Rt 0.8) that was alleged as flavonoids compounds, namely 3,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone with the chemical formula  $C_{17}H_{14}O_6$ . Suggestion for application, it should be applied in alkaline manufacturing food products. As well as necessary to extract purification and detection using *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

**Keywords:** encapsulation, *Sargassum cristaefolium*, flavonoids, chitosan, maltodextrin

<sup>1</sup> Student at Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Brawijaya University

<sup>2,3</sup> Lecture at Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Brawijaya University



## PENDAHULUAN

### Latar belakang

Salah satu hasil laut yang cukup melimpah saat ini dan potensial untuk dikembangkan adalah rumput laut atau yang dikenal dengan *seaweed*. Rumput laut termasuk dalam golongan alga. Rumput laut pada umumnya banyak digunakan sebagai bahan mentah untuk memproduksi karaginan, agar-agar, dan alginat. Selain menghasilkan hidrokoloid, rumput laut juga menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa bioaktif (Limantara dan Heriyanto, 2010).

Rumput laut coklat atau alga coklat (*Phaeophyceae*) di perairan Indonesia yang teridentifikasi sebanyak 28 spesies yang berasal dari enam genus diantaranya *Sargassum*, *Turbinaria*, *Dyctyota*, *Padina*, *Hormophysa*, dan *Hydroclathrus*. Genus *Sargassum* sp. diketahui memiliki 15 spesies (Basmal *et al.*, 2014). Salah satu di antara spesies tersebut adalah *Sargassum cristaeifolium*.

Penggunaan alga coklat saat ini yang paling dominan yaitu sebagai bahan baku produksi alginat. Indonesia sendiri membutuhkan alginat sekitar 1.100 ton per tahun (Wouthuyzen *et al.*, 2016). Sedangkan usaha untuk menghasilkan senyawa bioaktif mulai banyak dikembangkan saat ini. *S. cristaeifolium* sendiri di daerah tertentu di Indonesia pemanfaatannya masih belum optimal dan cenderung diabaikan oleh penduduk setempat. Adapun penelitian terhadap *S. cristaeifolium* yang berasal dari perairan Indonesia masih minim.

Alga coklat seringkali dianggap mengganggu oleh sebagian orang karena pertumbuhannya yang cepat dan mengambang di permukaan serta memiliki bau yang cukup amis bila tersapu ke pantai (Williams, 2007).

Padahal alga coklat memiliki berbagai senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat seperti antibakteri (Devi *et al.*, 2012), antikolesterol (Herpandi, 2005), antitumor (Zandi *et al.*, 2010), antikanker (Thinh *et al.*, 2013), biofuel (Lenstra *et al.*, 2011), dan biofertilizer (Erulan *et al.*, 2009; Sridhar and Rengasamy, 2010). Ekstrak *Sargassum* sp. juga berpotensi sebagai antioskidan (Firdaus *et al.*, 2009).

Komponen utama senyawa antioksidan dari *Phaeophyceae* diduga adalah senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) (Budhiyanti *et al.*, 2012). Hapsari (2015), dalam penelitiannya melaporkan bahwa flavonoid positif terkandung pada rumput laut *S. cristaeifolium* baik dalam kondisi segar, kering maupun teh pada bagian yang menyerupai batang dan daun. Flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang peka terhadap cahaya dan oksidasi (Lompas *et al.*, 2012).

Banyak senyawa bioaktif yang memiliki banyak ikatan tak jenuh dalam molekul mereka. Maka diperlukan perlindungan terhadap oksidasi dan degradasi dalam kondisi lingkungan yang ekstrim (suhu tinggi, paparan cahaya, pH, kekuatan ion, dll.) untuk mempertahankan stabilitas fisik dan kimia mereka, serta aktivitas biologis mereka, selama pengolahan makanan, penyimpanan produk, dan pencernaan dalam saluran pencernaan setelah pemberian oral (Semenova dan Eric, 2010).

Salah satu masalah pemanfaatan senyawa bioaktif adalah ketika senyawa tersebut dimasukkan ke dalam tubuh manusia melalui sistem pencernaan. Sistem pencernaan memiliki pH yang berbeda-beda. Menurut Gad, (2008) lambung memiliki pH antara 1,2 hingga 3,5 (asam kuat). Sedangkan usus duabelas jari memiliki pH antara 5 hingga 6 (asam mendekati

netral). Adapun pada usus halus dan usus besar memiliki pH antara 6,5 hingga 8 (asam lemah, netral sampai basa lemah). Selain itu, aplikasi senyawa bioaktif dalam dunia pangan juga terkendala akibat sifatnya yang mudah terdegradasi baik selama proses, aplikasi ke produk pangan dan penyimpanannya hingga ke konsumen.

Enkapsulasi dapat memberikan solusi atas permasalahan tersebut. Enkapsulasi merupakan teknik untuk melindungi bahan inti (*core*) yang semula berbentuk cair menjadi bentuk padatan. Hal ini memudahkan penanganannya serta dapat melindungi bahan inti dari kehilangan zat inti. Dalam proses enkapsulasi, hal yang perlu diperhatikan adalah jenis penyalut yang digunakan (Ponce-Cevallos *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Nursiamah (2015), penyalut kitosan dan maltodekstrin dengan perbandingan 3 : 7 dapat digunakan sebagai bahan penyalut ekstrak *S. cristaefolium*.

Kondisi pH yang berbeda pada tiap bagian sistem pencernaan memberikan dugaan bahwa pada salah satu bagian sistem pencernaan menyebabkan penyalut mulai melepaskan senyawa bioaktif yang dikandungnya karena penyalut bereaksi dengan cairan yang ada baik dari luar maupun yang disekresikan oleh organ-organ pencernaan. Selain itu, pada produk pangan memiliki kondisi pH yang berbeda-beda sehingga diperlukan penelitian untuk menentukan pada jenis produk apa hasil enkapsulasi dapat diterapkan. Berdasarkan latar belakang tersebut, diperlukan penelitian untuk memberikan dasar teoritis dan bukti-bukti ilmiah untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid *S. cristaefolium* dengan memperhatikan penyalut campuran kitosan dan maltodekstrin dengan metode *freeze drying* yang menyalut

senyawa bioaktif ekstrak teh daun alga coklat *S. cristaefolium* sesudah perlakuan pH.

#### **Perumusan masalah**

Rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah senyawa bioaktif apa yang terkandung dalam ekstrak kasar teh alga coklat *S. cristaefolium* yang telah disalut maltodekstrin dan kitosan dengan metode *freeze drying* setelah perlakuan pH.

#### **Tujuan penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* yang telah disalut maltodekstrin dan kitosan dengan metode *freeze drying* setelah perlakuan pH.

#### **Manfaat penelitian**

Kegunaan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada masyarakat secara umum dan sebagai bahan penelitian lanjutan bagi peneliti selanjutnya terkait pemanfaatan alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebagai sumber senyawa bioaktif dan penanganan senyawa bioaktif hasil ekstraksi dengan cara enkapsulasi metode *freeze drying* guna menjaga mutu senyawa bioaktif hasil ekstraksi alga coklat *S. cristaefolium*. Selain itu enkapsulasi senyawa bioaktif dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan untuk dapat diaplikasikan pada bidang pangan.

#### **Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya (FPIK UB), Malang, Laboratorium UPT Budidaya Air Tawar Sumberpasir FPIK UB, Laboratorium Instut Biosains UB, Malang; Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang, Laboratorium Mineral dan Material Maju FMIPA Universitas Negeri Malang,



Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Laboratorium Kimia Fakultas SAINTEK UIN Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Kimia PUSPITEK LIPI Serpong pada bulan Maret – Juni 2016.

## METODE PENELITIAN

### Materi penelitian

Materi penelitian terdiri dari bahan-bahan dan peralatan yang digunakan dalam penelitian. Bahan-bahan dan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut.

### Bahan-bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan utama yaitu alga coklat jenis *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari Desa Cabbiya, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur pada koordinat 7°05'58.8"S 113°58'22.1"E. Alga coklat dikirim dengan jasa ekspedisi dengan diwadahi kantung plastik besar lalu dibungkus karung untuk menjaga kondisi alga. Kemudian bahan-bahan yang digunakan untuk proses pembuatan teh yaitu bagian *thallus* yang menyerupai daun dari alga coklat *S. cristaefolium*, air tawar, dan CaCO<sub>3</sub>. Bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi teh daun *S. cristaefolium* adalah etanol *Pro Analysis* (PA), kertas saring *Whatmann* 41, aluminium foil, plastik *wrap*, tissue dan kertas label. Bahan yang digunakan untuk pengujian KLT antara lain: plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> MERCK, kuersetin (SIGMA ALDRICH) dan etanol *Pro Analysis* (PA). Bahan yang digunakan untuk uji total padatan adalah kertas saring *Whatmann* nomor 41. Bahan-bahan yang digunakan untuk enkapsulasi adalah kitosan, maltodekstrin, aquades, aluminium foil, plastik *wrap*, tissue, kertas label. Bahan yang digunakan dalam perlakuan pH 3, pH 6 dan pH 8 adalah

asam sitrat monohidrat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>•H<sub>2</sub>O), natrium hidrogen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), aquades, kertas saring *whatman* 41, tissue, dan kertas label. Bahan-bahan untuk spektrofotometri UV-Vis antara lain kuersetin (SIGMA ALDRICH), aquades, NaNO<sub>2</sub> (Teknis), NaOH, AlCl<sub>3</sub>. Serta bahan pendukung lainnya yaitu berupa air, kertas label, dan tisu.

### Peralatan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat yang digunakan pada proses pembuatan teh *S. cristaefolium* yaitu gunting, terpal, ember, selang, karung, pH meter, oven, blender, ayakan 60 mesh, kuas kecil, toples ukuran sedang, sendok, baskom, timbangan digital, botol timbang, dan nampan. Alat-alat yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah sendok bahan, pipet tetes, *beaker glass* 1000 ml, gelas ukur 100 ml, spatula, timbangan digital, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *centrifuge* 3000 rpm, *rotary evaporator*, cuvet, corong, botol kaca 250 ml. Peralatan uji KLT antara lain: *chamber*, gelas ukur 10 ml, pipa kapiler, pensil dan penggaris. Peralatan uji total padatan antara lain: botol timbang, loyang, oven, desikator, *crushable tang*, gelas ukur 100 ml, dan timbangan analitik. Alat-alat yang digunakan untuk enkapsulasi adalah *beaker glass* 100 ml, gelas ukur 100 ml, spatula, sendok bahan, botol kaca ukuran 250 ml, timbangan digital, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *freeze dryer* (VirTis BenchTop "K" series). Alat yang digunakan untuk pengujian meliputi spektrofotometri UV-Vis Cary 50 dan peralatan umum uji spektrofotometri UV-Vis, *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Hitachi TM3000 TableTop SEM), *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FTIR) (Shimadzu IRPrestige21 dan Bruker Tensor 37), *Liquid Chromatograph-Mass*

*Spectrometer* (LC-MS) (Mariner Biospectrometry Hitachi L 6200).

#### Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode deskriptif-eksploratif untuk mendapatkan kesimpulan mengenai kandungan senyawa bioaktif yang ada pada ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* Metode deskriptif adalah suatu metode dalam meneliti status sekelompok manusia, suatu objek, suatu kondisi, suatu sistem pemikiran atau suatu kelas peristiwa yang terjadi sekarang. Tujuan dari metode deskriptif ini adalah memaparkan secara sistematis, aktual, dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat dari populasi tertentu. Data dikumpulkan sesuai tujuan dan secara rasional kesimpulan diambil dari data-data tersebut (Suhardjono, 1995). Adapun penelitian eksploratif umumnya digunakan untuk memperoleh data dasar. Data ini akan dipakai sebagai dasar penelitian selanjutnya (Ritonga, 2005).

#### Prosedur penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan teh *Sargassum cristaefolium*, ekstraksi, enkapsulasi, dan perlakuan pH serta analisis uji.

#### Pembuatan teh daun alga coklat *S. cristaefolium*

Pembuatan teh berdasar metode Yuan *et al.* (2015) dan Masduqi *et al.* (2014) yang telah dimodifikasi. Sampel alga coklat *Sargassum cristaefolium* dicuci terlebih dahulu kemudian diambil daunnya dengan menggunakan gunting atau *cutter*, setelah itu direndam selama 4 jam dengan air kapur ( $\text{CaCO}_3$ ) pada kisaran pH 11 dengan perbandingan air : kapur : alga adalah 250 : 1 : 12,5 (v/b/b). Kemudian dilakukan perendaman selama 24 jam dengan air tawar dengan pergantian air tiap pagi dan sore. Setelah

1 hari perendaman kemudian ditiriskan dan dikering anginkan supaya kandungan air yang ada pada rumput laut dapat berkurang atau hilang, setelah itu baru dikeringkan menggunakan oven bersuhu  $50^\circ\text{C}$  selama 15-30 menit sampai sampel terlihat kering.

#### Pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* metode maserasi

Ekstraksi teh metode maserasi berdasarkan Anaelle *et al.* (2013), Ambika dan Sujatha (2015), Septiana dan Asnani (2012), serta Devi *et al.* (2012), yang telah dimodifikasi. Sampel rumput laut kering diblender kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh. Setelah itu serbuk rumput laut ditimbang sebanyak 80 gram dan dilakukan perendaman menggunakan etanol PA sebanyak 450 ml. Kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirer* dan *hot plate* pada suhu  $40^\circ\text{C}$  selama kurang lebih 3 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam cuvet dan *disentrifugasi* dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Proses filtrasi yang dilakukan dengan menggunakan kertas *Whatman* nomor 41. Kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu  $40^\circ\text{C}$  dengan kecepatan 45 rpm, dan didapatkan hasil ekstraksi pekat teh daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*.

#### Uji total padatan metode gravimetri

Uji total padatan berdasar SNI 06-6989.26 (2005), yang telah dimodifikasi. Uji ini dilakukan untuk menentukan jumlah ekstrak yang akan digunakan. Terlebih dahulu dilakukan preparasi botol timbang, di mana botol timbang dengan tutup setengah tertutup dioven dengan suhu  $105^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Setelah 1 jam, botol timbang dimasukkan desikator selama 15 menit/sampai dingin kemudian ditimbang beratnya. Proses tersebut diulang sampai diperoleh berat botol timbang konstan (A).



Untuk pengujian, ekstrak pekat dikocok agar persebaran padatan dapat merata, lalu diukur sebanyak 25 ml dan dimasukkan dalam botol timbang, kemudian dipanaskan pada *hot plate* sampai kering. Setelah itu, botol timbang di oven dengan menggunakan suhu 105<sup>o</sup> C selama 1 jam lalu dimasukkan ke desikator selama 15 menit kemudian ditimbang dengan timbangan analitik. Botol timbang selanjutnya dimasukkan kedalam desikator kembali dan ditimbang kembali sampel sehingga diperoleh berat konstan (B). Total padatan dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar padatan total (g/ml)} = \frac{(B-A)}{\text{ml sampel}}$$

#### Enkapsulasi metode fisika : teknik *freeze drying*

Enkapsulasi berdasarkan Fernandez *et al.* (2014), Laokuldilok *et al.* (2016), dan Saikia *et al.* (2015), yang telah dimodifikasi. Pertama-tama adalah pembuatan larutan penyalut. Kitosan sebanyak 3% (b/v) (6 gram) dan maltodekstrin sebanyak 7% (b/v) (14 gram) dilarutkan dalam 200 ml aquades dingin kemudian di homogenkan dengan *magnetic stirrer* dengan suhu larutan dinaikkan hingga mencapai 70<sup>o</sup>C. Lalu larutan penyalut tersebut dijenuhkan selama semalam pada suhu ruang dalam wadah botol gelap yang ditutup aluminium foil, dan didapatkan larutan penyalut 10%. Kemudian ditambahkan 25% ekstrak dari konsentrasi penyalut yaitu sebanyak 10,82 ml ekstrak pekat dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* kecepatan penuh kurang lebih 5 menit. Lalu dikeringkan menggunakan *freeze dryer* pada suhu -70,8<sup>o</sup> C kurang lebih selama 38 jam dan dihasilkan enkapsulat ekstrak kasar teh daun *S. cristaeifolium*.

#### Perhitungan rendemen

Perhitungan rendemen berdasarkan Aulia (2012). Langkah pertama adalah menimbang massa bahan awal dan disebut sebagai A. Kemudian menimbang massa dari enkapsulat setelah proses enkapsulasi dengan metode *freeze drying* dan disebut sebagai B. Hitung rendemen dengan rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{B}{A} \times 100\%$$

#### Perlakuan pH

Perlakuan pH berdasarkan Gad (2008), dan Desai *et al.* (2008), yang telah dimodifikasi. Stok larutan buffer pH dibuat dengan melarutkan natrium hidrogen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 0,2 M dan asam sitrat monohidrat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>•H<sub>2</sub>O) 0,1 M. Pembuatan larutan stok natrium hidrogen fosfat 0,2 M dilakukan dengan melarutkan 2,84 gram natrium hidrogen fosfat dengan aquadest sampai 100 ml, lalu dihomogenkan. Pembuatan larutan stok asam sitrat monohidrat 0,1 M dilakukan dengan melarutkan 2,10 gram asam sitrat monohidrat dengan aquades sampai 100 ml, lalu di homogenkan. Tahap selanjutnya untuk pembuatan buffer pH 3, 6 dan 8 dengan mencampurkan larutan natrium hidrogen fosfat 0,2 M dan asam sitrat monohidrat 0,1 M dengan volume sebagaimana ditampilkan pada Table 1.

Tabel 1. Komposisi larutan buffer

pH	Natrium Hidrogen Fosfat (0,2 M) (ml)	Asam asetat monohidrat (0,1 M) (ml)
3	4,08	15,92
6	12,84	7,16
8	19,53	0,47

Kemudian sampel enkapsulat ditimbang, untuk masing-masing buffer ditambah 3 gram sampel dalam 20 mL larutan buffer (3 : 20 (b/v)). Sampel kemudian dibiarkan terendam



sampai  $\pm 5$  jam agar pelepasan inti maksimal. Kemudian disaring untuk memisahkan residu dan filtrat. Residu kemudian dikeringkan dengan dibiarkan pada suhu ruang

#### Uji kromatografi metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Uji kromatografi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) dilakukan berdasarkan Maobe *et al.* (2012). Sebelum dilakukan pengujian, dilakukan preparasi terlebih dahulu, di mana 0,5 g sampel dan kuersetin (standar) masing-masing dilarutkan dalam 2 ml pelarut, sedangkan *chamber* dijenuhkan dengan fase gerak yaitu eluen etanol PA (*Pro Analysis*) sekitar 10 ml dan fase diam berupa plat KLT dipotong dengan ukuran 5x1 cm lalu diberi garis start sekitar 1 cm dari ujung bawah dan garis finish sekitar 0,5 cm dari ujung atas. Setelah sampel, *chamber* dan plat siap, kemudian sampel dan standar masing-masing ditotolkan di tengah garis start plat KLT menggunakan pipa kapiler lalu ditunggu sekitar 1 menit untuk memastikan sampel diserap oleh plat.

Plat dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah jenuh dan terisi oleh fase gerak yaitu eluen etanol PA dengan bagian start di bawah (tercelup fase gerak) lalu *chamber* ditutup dan ditunggu sampai fase gerak mencapai garis finish. Setelah mencapai garis finish, plat diambil dari dalam *chamber* dan noda berwarna yang terbawa oleh fase gerak pada plat ditandai dengan pensil lalu diukur jaraknya dari garis start, selanjutnya dihitung nilai  $R_f$  dengan rumus sebagai berikut.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh noda sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Untuk tujuan analisis kualitatif maka  $R_f$  sampel dibandingkan dengan  $R_f$  standar otentik yang telah dielusi bersama-sama dengan sampel.

#### Uji spektrofotometri UV-Vis metode kolorimetri $AlCl_3$

Uji spektrofotometri UV-Vis menggunakan metode kolorimetri  $AlCl_3$  menurut Tambe dan Bambhar (2014), yang telah dimodifikasi. Langkah pertama adalah membuat larutan induk kuersetin. Sebanyak 0,01 gram kuersetin ditimbang dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Lalu ditambahkan 50 mL aquades dan aduk. Kemudian ditambahkan 3 mL  $NaNO_2$  5% dan tunggu selama 5 menit. Kemudian sebanyak 3 mL  $AlCl_3$  10% ditambahkan dan aduk merata sekali dan tunggu selama 5 menit. Kemudian tambahkan 20 mL  $NaOH$  1 M dan kemudian larutkan sampai 100 mL dengan aquades. Selanjutnya ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari 800.00 nm sampai 200.1 nm untuk mendapatkan panjang gelombang maksimal.

Larutan standar kuersetin dibuat dengan membuat larutan dengan konsentrasi yang berbeda (1; 1,2; 1,4; dan 1,6 ppm). Larutan standar kuersetin dibuat dengan cara mengencerkan larutan dari larutan induk untuk masing-masing konsentrasi yang diinginkan (masing-masing konsentrasi sebanyak 10 mL). Masing-masing larutan dengan berbagai konsentrasi tadi kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 404 nm (didapat dari panjang gelombang maksimal larutan induk kuersetin) sehingga didapat absorbansi tiap konsentrasi. Masing-masing tiga kali ulangan. Kurva kalibrasi diperoleh dari hubungan konsentrasi kuersetin dengan absorbansi.

Pengukuran absorbansi sampel dilakukan dengan cara menimbang 0,1 gram sampel enkapsulat dan dilarutkan dalam 10 mL aquades. Kemudian sebanyak 1 mL dari larutan sampel

diambil dan dimasukkan dalam labu ukur. Lalu diambil 4 mL aquades dan dicampur dengan larutan sampel. Lalu ditambahkan 0,30 mL NaNO<sub>2</sub> 5 % dan ditunggu selama 5 menit. Kemudian selanjutnya ditambahkan 0,3 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan ditunggu selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 2 mL NaOH 1 M dan dilarutkan sampai 10 mL dengan aquades. Lalu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 404 nm. Masing-masing sampel dilakukan dengan tiga kali ulangan. Kemudian dihitung konsentrasi kuersetin dan total flavonoid yang ada dengan rumus berikut.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi kuersetin : } y &= a + bx \\ bx &= y - a \\ x &= \frac{y-a}{b} \end{aligned}$$

Keterangan : y = variabel terikat (absorbansi)  
 a = *intercept*  
 b = *slope*/ koefisien regresi  
 x = variabel bebas (konsentrasi kuersetin (mg/L))

$$\text{Total Flavonoid : } C = C_1 \times \frac{V}{m} \times FP$$

Keterangan : C = total flavonoid (mg/g)  
 C<sub>1</sub> = konsentrasi kuersetin (mg/L)  
 FP = faktor pengenceran  
 m = massa sampel (g)  
 V = volume larutan sampel

**Uji Scanning Electron Microscopy (SEM) metode Back-scattered Electron (BSE)**

Sampel dianalisa menggunakan *Scanning Electron Microscope* menurut Gunawan dan Azhari (2010), memakai alat SEM Hitachi TM 3000 TableTop SEM dengan pembesaran 2500 kali. Sampel enkapsulat ditempelkan pada SEM stubs dengan diameter 10 mm menggunakan pita perekat dua sisi. Kemudian sampel *dicoating*/ dilapisi dengan emas. Pelapisan emas dilakukan untuk bahan yang tidak konduktor. Setelah pelapisan, sampel kemudian di lihat

pada pembesaran 2500 kali pada voltase 15 kV dengan kondisi vakum rendah.

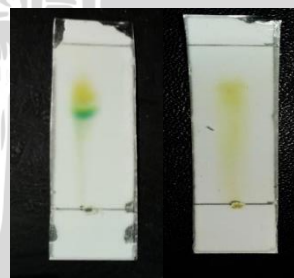
**Uji spektroskopi FT-IR metode transmisi dan LC-MS metode ESI positif**

Uji FT-IR memakai alat *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FTIR) merk Shimadzu IRPrestige21 dan Bruker Tensor 37 dengan metode tranmisis dan LC-MS dilakukan dengan alat LC-MS merk Mariner Biospectrometry Hitachi L 6200 sistem ESI modus positif dengan eluen MeOH. Sampel diinjeksi secara langsung sebanyak 2µL dengan laju aliran 0,1mL/menit.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Deteksi senyawa bioaktif menggunakan metode KLT Preparatif**

Senyawa yang diduga ada pada sampel adalah flavonoid sehingga digunakanlah kuersetin sebagai standar. Nilai R<sub>f</sub> sampel dengan R<sub>f</sub> standar senyawa dugaan yang didapat dibandingkan. Hasil pengujian dengan metode KLT preparatif dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis, senyawa dugaan (kiri) dan kuersetin sebagai standar (kanan)

Hasil perhitungan nilai R<sub>f</sub> dapat dilihat pada Tabel. 2 berikut.

Tabel 2. Nilai R<sub>f</sub> hasil Kromatografi Lapis Tipis

Sampel	R <sub>f</sub> (x100)
Ekstrak kasar <i>S. cristaeifolium</i>	80
Kuersetin	80
Kuersetin (Harborne, 1987)	76





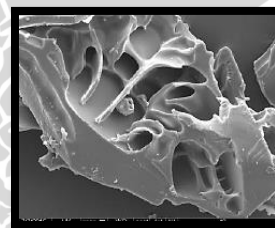
Hasil uji menunjukkan bahwa antara nilai Rf sampel ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* dengan Rf kuersetin memiliki nilai yang sama dan memiliki Rf yang tidak terlalu jauh dengan Rf kuersetin menurut Harborne (1987). Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid. Sedangkan berdasarkan penelitian Daud *et al.* (2011), uji KLT pada kuersetin sebagai standar menggunakan pengembang metanol : kloroform (9:7) memberikan hasil Rf 0,8.

#### Perhitungan rendemen

Rendemen yang dihasilkan dari enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin perbandingan 3%: 7% setelah proses enkapsulasi dengan metode *freeze drying* adalah 58,56% yaitu 14,64 gram massa enkapsulat dari 25 gram massa total penyalut dan ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium*. Rendemen enkapsulat hasil *freeze drying* ini lebih tinggi dari rendemen hasil penelitian Nursiamah (2015), dengan penyalut dan konsentrasi yang sama yaitu sebesar 55,97%. Lebih tingginya rendemen daripada penelitian sebelumnya diperkirakan karena proses *freeze drying* berlangsung baik dan alat yang dalam kondisi baik. Adapun berkurangnya rendemen diduga dikarenakan menguapnya larutan dan senyawa mudah larut lainnya selama proses *freeze drying*. Hal ini karena inti dari *freeze drying* adalah tahap di mana produk beku menjadi kering karena es yang terbentuk tersublimasi secara langsung (Rey, 2010). Tingginya nilai rendemen yang dihasilkan dari proses enkapsulasi ini dibandingkan penelitian sebelumnya memberikan harapan terbukanya peluang untuk produksi yang lebih besar.

#### Hasil *Scanning Electron Microscopy* (SEM) metode *Back-scattered Electron* (BSE)

Berdasarkan hasil pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* metode *Back-scattered Electron* (BSE) dengan perbesaran 2500 kali terlihat bahwa perlakuan pH berbeda memberi pengaruh kenampakan permukaan yang berbeda. Struktur enkapsulat teh alga coklat tersalut kitosan dan maltodekstrin setelah proses enkapsulasi berdasarkan penelitian Nursiamah (2015), memiliki struktur yang berlekuk-lekuk dan berongga yang diduga sebagai akibat proses sublimasi selama *freeze drying* sebagaimana yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* menggunakan penyalut kitosan dan maltodekstrin setelah proses *freeze drying* perbesaran 2500 kali

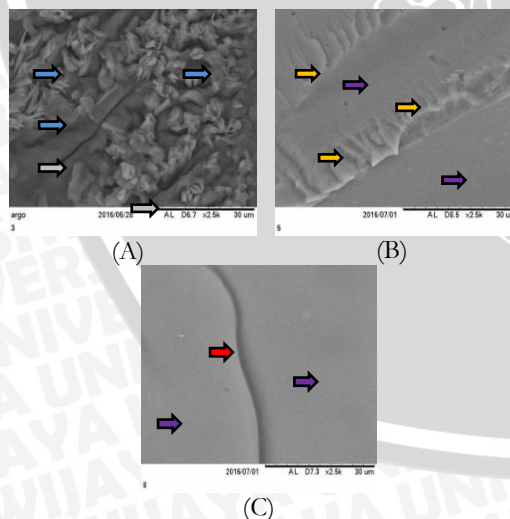
Sumber : Nursiamah, 2015.

Struktur permukaan enkapsulat kitosan dan maltodekstrin perlakuan pH 3 (A) memiliki permukaan sangat berkerut dan cekungan-cekungan serta tonjolan-tonjolan kasar bergerigi menyerupai sisik ikan pada permukaan penyalut. Sedangkan pada perlakuan pH 6 (B) pada permukaan enkapsulat terdapat kerutan yang cukup banyak dan kasar. Namun, sebagian permukaan tampak halus dan rata. Pada perlakuan pH 8 (C) terlihat bahwa struktur permukaan terdapat tonjolan yang memanjang. Permukaan cenderung lebih halus daripada permukaan penyalut kitosan-maltodekstrin dengan perlakuan pH 3 dan pH 6. Hasil

pengamatan dengan SEM enkapsulat disajikan pada Gambar 3.

Mikrostruktur pada enkapsulat perlakuan pH 3 terlihat sangat berbeda dari perlakuan pH 6 dan pH 8, di mana mikrostruktur pada pH 3 lebih berkerut dan kasar. Sifat kedua penyalut sangat mempengaruhi hasil dari perlakuan. Kitosan memiliki sifat mampu menciptakan senyawa kompleks. Hal ini dikarenakan muatan positif kitosan mampu membentuk kompleks dengan protein anionik atau senyawa lain. Amino terprotonasi ( $\text{NH}_3^+$ ) di kitosan dapat mengikat situs anion (Semenova dan Eric, 2010).






Gugus-gugus amino kitosan pada pH asam dapat mengalami protonasi. Hal ini akan menyebabkan kitosan dapat larut dalam air. Distribusi gugus *N-acetyl* dan gugus amino bebas sangat memengaruhi kelarutan kitosan (Sannan *et al.*, 1976). Menurut Nystrom *et al.* (1999), grup amino kitosan kebanyakan terprotonasi pada pH di bawah 4. Pembengkakan (*swelling*) juga terjadi pada ikatan polimer yang mengakibatkan terputusnya ikatan pada molekul kitosan.



Gambar 3. Struktur enkapsulat ekstrak kasar teh daun *S. cristaeifolium* setelah perlakuan pH : (A) pH 3, (B) pH 6 dan (C) pH 8 perbesaran 2500 kali

Sumber : Laboratorium Institut Biosains Universitas Brawijaya (2016)

Keterangan :

-  : tonjolan kasar berbentuk menyerupai sisik ikan
-  : kerutan kasar
-  : permukaan halus/ rata
-  : kerutan dan cekungan
-  : tonjolan memanjang

Flavonoid memiliki keterbatasan daya larut dalam air bahkan jika mereka berada dalam bentuk glikosida. Memiliki bioavailabilitas yang buruk dan dapat dengan mudah diubah oleh faktor lingkungan seperti suhu, pH dan cahaya. Mekanisme penyerapan gastrointestinal flavonoid cukup kompleks di mana flavonoid sulit diserap dalam bentuk alami mereka di usus (Bilia *et al.*, 2014).

Laplante *et al.* (2005), serta Klaypradit dan Huang (2008), menyatakan bahwa kitosan secara individu tidak bisa menghasilkan emulsi yang stabil. Oleh karena itu harus dicampur dengan komponen lain untuk mendapatkan emulsi yang lebih stabil. Hal tersebut menunjukkan bahwa kapasitas emulsifikasi dari kitosan adalah menggabungkan dua mekanisme stabilisasi yaitu elektrosterik dan *viscosifying* (pengentalan). Selain itu, kitosan adalah polisakarida dengan sifat kationik dengan zona hidrofilik yang kaya glukosamin dan zona hidrofobik yang kaya N-asetil-glukosamin.

Sedangkan maltodekstrin meskipun merupakan hasil hidrolisis sebagian dengan menggunakan asam, ia akan tetap terurai menjadi gugus gula yang lebih kecil atau glukosa bebas apabila proses asam terus berlanjut (Dumitriu, 2004). Amilosa sebagai bahan baku dalam pembuatan maltodekstrin disusun dalam bentuk heliks di mana bagian permukaan



luarnya memiliki sifat hidrofilik (karena gugus hidroksil) dan permukaan dalamnya bersifat hidrofobik (karena atom hidrogen) (Loret dan Frith, 2003).

Menurut Deman (1997) enzim maupun asam dapat menghidrolisi ikatan glikosidik, akan tetapi pada pH basa ikatan ini stabil. Hal ini sesuai dengan hasil perlakuan di mana pada pH 3 memiliki struktur permukaan yang lebih rusak dari pada perlakuan pH 6 dan pH 8 permukaan yang lebih halus. Selain itu, sifat kitosan yang memiliki grup amino yang mana kebanyakan terprotonasi pada pH di bawah 4 (dalam kondisi asam berair), maka gugus amino ( $-NH_2$ ) kitosan akan menangkap  $H^+$  dari lingkungannya, sehingga gugus aminonya terprotonasi menjadi  $-NH_3^+$ . Selain itu pada ikatan polimer yang membengkak mengakibatkan terputusnya ikatan pada molekul kitosan dan mengakibatkan pelepasan senyawa yang disalut.

#### Hasil uji spektrofotometri UV-Vis metode kolorimetri $AlCl_3$

Sampel enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* dengan perlakuan pH yang berbeda diuji dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang 404 nm. Penggunaan panjang gelombang tersebut didasarkan pada hasil uji panjang gelombang absorbansi maksimum kuersetin. Persamaan regresi yang diperoleh berdasarkan pengujian larutan standar yaitu  $y = 0,02434x - 0,00240$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) yaitu 0,97621 dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yaitu 0,95000. *Slope* yang bernilai positif menunjukkan hubungan bahwa semakin meningkat konsentrasi maka absorbansi juga meningkat. Hasil absorbansi sampel dan total flavonoid dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil spektrofotometri UV-Vis

Sampel	Absorbansi (404 nm)	Total flavonoid (mgQE/g)
pH 3	0,7011	2,8903
pH 6	0,1685	0,7021
pH 8	0,0203	0,0933

Sumber: Lab. Kimia Fakultas SAINTEK UIN Malik Ibrahim Malang, 2016

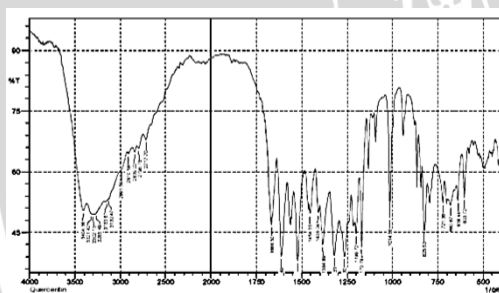
Berdasarkan uji spektrofotometri UV-Vis seperti yang tertera pada tabel, diketahui bahwa sampel mengandung senyawa flavonoid. Sampel dengan perlakuan pH 3 memiliki nilai absorbansi tertinggi. Tingginya nilai absorbansi ini diduga karena penyalut yang menjadi kapsul ekstrak teh daun alga coklat *S. cristaefolium* mengalami keretakan sehingga senyawa yang ada pada enkapsulat merembes keluar dari penyalutnya. Total flavonoid juga berbanding lurus dengan nilai absorbansi di mana kadar ekuivalen tertinggi dimiliki oleh penyalut yang mendapat perlakuan pH 3. Tingginya nilai absorbansi pada penyalut kitosan-maltodekstrin dengan perlakuan pH 3 selaras dengan hasil uji SEM.

Hasil uji SEM penyalut kitosan-maltodekstrin dengan perlakuan pH 3 memiliki banyak kerutan tak beraturan, terdapat banyak benjolan-benjolan kasar bergerigi, dan memiliki banyak cekungan pada permukaannya. Hal ini dapat dikarenakan flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang stabil pada pH asam. Selain itu, kitosan memberikan perlindungan yang baik terhadap inti dan dapat mengikat senyawa aktif seperti fenol, sementara maltodekstrin baik untuk melindungi flavor dari oksidasi (Saloko *et al.*, 2012). Adapun total flavonoid pada perlakuan pH 6 dan 8 yang cenderung lebih kecil diduga karena penyalut kurang terurai pada kondisi tersebut. Selain itu diduga karena sifat flavonoid yang asam

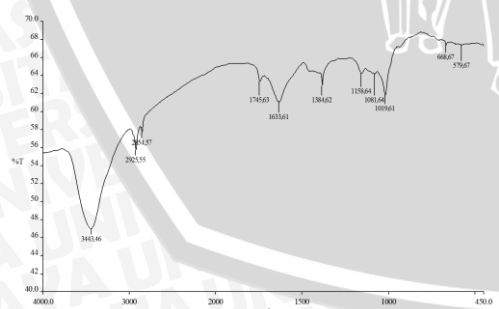
sehingga mudah larut pada suasana basa yang menyebabkan nilai flavonoid semakin rendah.

#### Hasil uji spektroskopi FT-IR metode transmisi

Pengujian dengan menggunakan FT-IR menunjukkan gugus-gugus fungsional yang diduga terdapat pada enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaeifolium* yang telah diberi perlakuan pH. Gambar 4 menunjukkan puncak-puncak dari gugus fungsional dari sampel kuersetin sebagai kontrol yang terdeteksi dari uji FT-IR sedangkan Gambar 5 menunjukkan puncak-puncak dari gugus fungsional dari sampel enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaeifolium* yang terdeteksi dari uji FT-IR. Gugus fungsional hasil uji FT-IR disajikan pada Tabel 4.



Gambar 4. Puncak-puncak serapan hasil uji FT-IR kuersetin sebagai control



Gambar 5. Puncak-puncak serapan hasil uji FT-IR enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaeifolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin

Tabel 4. Gugus-gugus fungsional

Gugus	Kuersetin standard		Gugus	Sampel senyawa	
	Daerah serapan (cm <sup>-1</sup> )	Literatur***		Daerah serapan (cm <sup>-1</sup> )	Literatur**
Alkohol O-H	3404,36-3130,47	3600-3200	Alkohol O-H	3443,46	3600-3200
Ulur	1408,04-1265,3	1410-1260	Ulur	1384,62	1410-1260
Alkil C-H	2910,58	2960-2850	Alkil C-H	2925,55 & 2854,57	2960-2850
Ulur	1454,33	1470-1430	Ulur	1158,64	1300-1050
Ester C-O	1199,72-1170,79	1300-1050	Ester C-O	1158,64 & 1081,64	
Ulur	1666,5	1690-1660	Ulur	1745,63	1750-1740
Keton C=O	1612,49-1523,76	1600-1500	Keton C=O	1633,61	1680-1620
Aromatik C=C			Aromatik C=C	1633,61	1680-1620
Ulur	825,53-680,87	900-680	Ulur	1019,61	1225-950

\* : Laboratorium Mineral dan Material Maju FMIPA Universitas Negeri Malang, 2016;  
 \*\* : Laboratorium Farmasi Unair, 2016;  
 \*\*\* : Williams dan Fleming, 2007.

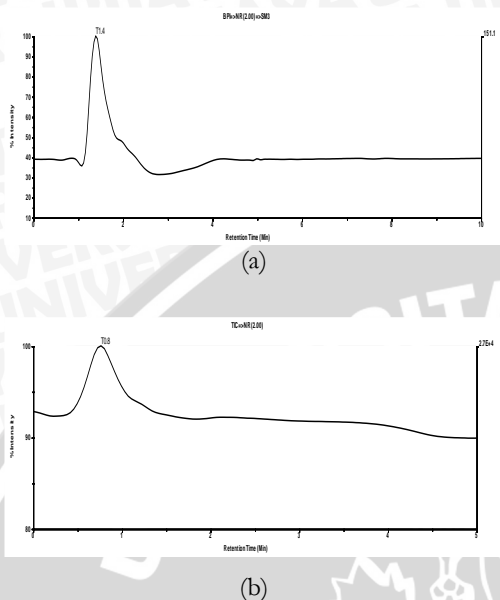
Berdasarkan hasil FT-IR dapat diketahui puncak-puncak serapan dari gugus yang ada. Diketahui terdapat gugus O-H (alkohol, fenol), C-H (alkil), C-O (eter), C=O (keton), C=C (aromatik). Puncak gelombang 3443,46 cm<sup>-1</sup> merupakan regangan hidroksil O-H. Hal ini diperkuat dengan munculnya ulur pada bilangan gelombang 1384,62 cm<sup>-1</sup>. Gugus alkil C-H muncul pada puncak gelombang 2925,55 cm<sup>-1</sup> dan 2854,57 cm<sup>-1</sup>. Adanya regang C-O ester ditunjukkan oleh pita serapan pada bilangan gelombang 1158,64 cm<sup>-1</sup> dan 1081,64 cm<sup>-1</sup>. Adanya regang C=O keton ditunjukkan oleh pita serapan pada bilangan gelombang 1745,63 cm<sup>-1</sup>. Sedangkan aromatik C=C ditunjukkan dengan adanya puncak pada pita serapan 1633,61 cm<sup>-1</sup> dan 1019,61 cm<sup>-1</sup>. Hasil tersebut tidak terlalu berbeda jauh dengan daerah serapan dan gugus-gugus fungsional kuersetin. Ketiadaan ulur aromatik C=C diduga karena reaksi antara penyulut dan senyawa flavonoid serta kondisi media pelarut saat perlakuan pH.

#### Hasil uji LC-MS metodeESI positif

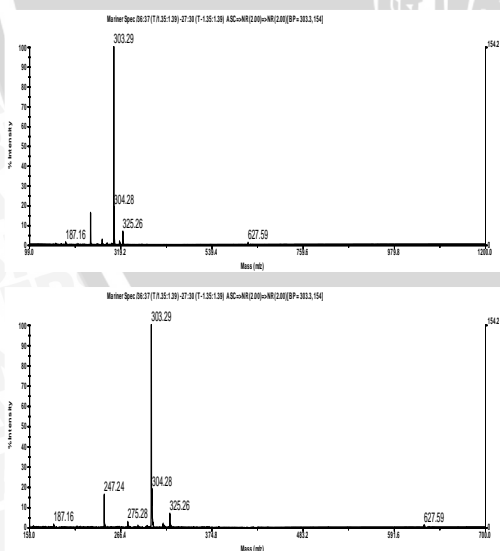
Uji LC-MS menunjukkan terbentuknya 1 puncak waktu retensi yaitu 1,4 menit untuk kuersetin sebagai kontrol dan 0,8 menit pada sampel. Pola spektrum LC kuersetin dan sampel dapat dilihat pada Gambar 6 sedangkan pola



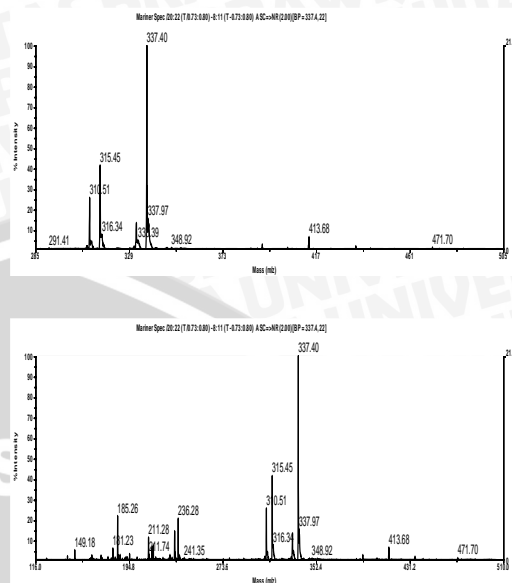
spektrum MS kuersetin pada Gambar 7 dan pola spektrum MS sampel enkapsulat perlakuan pH 3 pada Gambar 8.



Gambar 6. Spektrum LC (a) kuersetin sebagai kontrol dan (b) enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaeifolium*



Gambar 7. Spektrum MS kuersetin sebagai kontrol



Gambar 8. Spektrum MS enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaeifolium* perlakuan pH 3

Berdasarkan pengujian terhadap kuersetin sebagai kontrol, didapat hasil spektrum LC-MS berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa *peak* yang ada terdapat fragmentasi senyawa dengan berat molekul sebesar 627,59 yang diduga sebagai ion molekuler  $[2M+Na]^+$ . *Peak* lain yang juga diduga sebagai ion molekuler adalah 325,26 m/z  $[M+Na]^+$  dan 303,29 m/z  $[M+H]^+$  diduga sebagai *base peak* dan sebagai ion molekuler. *Peak-peak* yang diduga ion molekuler ini menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 302 m/z (Tabel 5) dan berdasarkan penelusuran pada massbank merupakan berat dari senyawa kuersetin dengan rumus kimia  $C_{15}H_{10}O_7$ .

Sedangkan pengujian terhadap sampel enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaeifolium* perlakuan pH 3, didapat hasil spektrum LC-MS berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa *peak* yang ada terdapat fragmentasi senyawa dengan berat molekul sebesar 337,40

m/z yang diduga sebagai *base peak* dan diduga sebagai ion molekuler  $[M+Na]^+$ . *Peak* lain yang juga diduga sebagai ion molekuler adalah 315,45 m/z  $[M+H]^+$ . *Peak-peak* yang diduga ion molekuler ini menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 314 m/z (Tabel 5).

Tabel 5. Massa ion dan dugaan pecahan ion molekuler

Sampel	Massa ion (m/z)	Dugaan pecahan ion molekuler	Massa senyawa dugaan (m/z)
Kuer-setin	303,29	$C_{15}H_{10}O_7-H$	302
	325,26	$C_{15}H_{10}O_7-Na$	
	627,59	$2(C_{15}H_{10}O_7)-Na$	
Enkap-sulat	315,45	$C_{17}H_{14}O_6-H$	314
	337,40	$C_{17}H_{14}O_6-Na$	

Berdasarkan penelusuran pada massbank, diperoleh hasil bahwa senyawa dengan berat molekul 314 m/z tersebut diduga adalah senyawa flavonoid yaitu 3,7-Dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavin dengan rumus kimia  $C_{17}H_{14}O_6$ . Penambahan atom C dan H serta pengurangan atom O diduga karena adanya reaksi antara senyawa flavonoid yang terkapsul dengan penyalut serta reaksinya dengan media pelarut saat perlakuan pH.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin berdasarkan hasil uji KLT positif mengandung flavonoid yang diduga kuersetin yang ditandai dengan bercak kuning. Rendemen enkapsulat sebesar 58,56%. Hasil identifikasi senyawa dengan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa terdapat serapan pada  $\lambda^{max}$  404 nm dengan absorbansi tertinggi dan total

flavonoid tertinggi pada perlakuan pH 3 sebesar 0,7001 dan 2,8903 mgQE/g. Hasil pengamatan dengan SEM menunjukkan enkapsulat dengan perlakuan pH 3 memiliki struktur permukaan yang paling rusak. Hasil uji FT-IR, dan LC-MS terhadap sampel tersebut, gugus-gugus yang terdeteksi antara lain O-H, C=O, C-O, C-H, dan C=C dan berat molekul senyawa dugaan sebesar 314 m/z (Rt 0,8). Dengan demikian, enkapsulat ekstrak kasar teh daun *S. cristaefolium* diduga mengandung senyawa flavonoid yaitu 3,7-Dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavin dengan rumus kimia  $C_{17}H_{14}O_6$ .

### Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan ekstrak yang telah difraksinasi/dimurnikan yang dilanjutkan identifikasi dengan analisis NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) sehingga diketahui struktur senyawa secara mutlak. Sedangkan saran aplikasi enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* adalah untuk produk pangan yang memiliki sifat basa serta perlu dilakukan penelitian terkait.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambika, S., and K. Sujatha. 2015. Antifungal Activity of Aqueous and Ethanol Extracts of Seaweeds Against Sugarcane Red Rot Pathogen (*Colletotrichum falcatum*). *Academic J.* **10**(6): 232-235.
- Anaëlle, T., E.S. Leorn, V. Laurent, I. Elena, J. A. Mendiola, C. Stephane, K. Nelly, L. B. Stephane, M. Luc and S.P. Valerie. 2013. Green Improved Processes to Extract Bioactive Phenolic Compounds from Brown Macroalgae Using *Sargassum muticum* as Model. *J. Talanta.* **104**: 44-52.
- Anam, C., Sirojudin dan K.S. Firdausi. 2007. Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin Dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FT-IR. *Berkala Fisika.* **10** (1) : 79–85.



- Aulia, L. P. 2012. Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona murica* L) Metode MAE (*Microwave Assisted Ekstraktion*) dengan Respon Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol. [Skripsi] Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Basmal, J., B.S.B. Utomo, Tazwir, Murdinah, Thamrin W, Ender M, Rinta K. 2014. Membuat Alginat dari Rumpun Laut Sargassum. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Bilia, A.R., B. Isacchi, C. Righeschi, C. Guccione, M.C. Bergonzi. 2014. Flavonoids Loaded in Nanocarriers: An Opportunity to Increase Oral Bioavailability and Bioefficacy. *Food and Nutrition Sciences*. **5**: 1212-1227.
- Budhiyanti, S.A., S. Raharjo, D.W. Marseno, I.Y.B. Lelana. 2012. Antioxidant activity of brown algae Sargassum species extract from the coastline of Java Island. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. **7**(3): 337-346.
- Daud, M.F., E.R. Sadiyah, dan E. Rismawati. 2011. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu (*Psidium guajava* L.) Biji Berdaging Putih. *Prosiding Seminar Nasional dan PKMSains, Teknologi, dan Kesehatan*. **2** (1) : 55-62.
- Demam, J. M. 1997. Kimia Makanan. Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Desai, A. S., V.M. Chauhan, A.P.R. Johnston, T. Esler and J.W. Aylott. 2014. Fluorescent Nanosensors for Intracellular Measurements: Synthesis, Characterization, Calibration and Measurement. *Frontiers in Physiology*. **4**: 1-15.
- Devi, K.N., T.T.A. Kumar, K.V. Dhaneesh, T. Marudhupandi and T. Balasubramanian. 2012. Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Properties from Brown Seaweed, Sargassum Wightii (Greville, 1848) Against Human Bacterial Pathogens. *Academic Sciences*. **4** (3) : 143-149.
- Dumitriu, S. 2004. Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility. CRC Press: New York.
- Erulan, V., P. Soundarapandian, G. Thirumaran and G. Ananthan. 2009. Studies on The Effect of Sargassum polycystum (C. Agardh, 1824) Extract on The Growth and Biochemical Composition of *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. *American-Eurasian J. Agricultural & Environment Science*. **6** (4) : 392-399.
- Fernandes, R.V.B., S.V. Borges dan D.A. Botrel. 2014. Gum Arabic/Starch/Maltodextrin/Inulin as Wall Materials on the Microencapsulation of Rosemary Essential Oil. *Carbohydrate Polymers*. **101**: 524-532.
- Firdaus, M., S. S. Karyono dan M. Astawan. 2009. Penapisan Fitokimia dan Identifikasi Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*). (abstrak). *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. **21** (1) : 60-65.
- Gad, S. C. 2008. Preclinical Development Handbook: ADME and Biopharmaceutical Properties. Wiley-Interscience : Canada.
- Gunawan, B. dan C.D. Azhari. 2010. Karakteristik Spektrofotometri IR dan Scanning Electron Microscopy (SEM) Sensor Gas dari Bahan Polimer Poly Ethelyn Glycol (PEG). Jurusan Kimia FMIPA ITS Surabaya. *Jurnal Kimia*. : 5(2): 1979-6870.
- Hapsari, N. Z. 2015. Studi Kadar Kuersetin Pada "Teh" Batang Daun Alga Coklat Sargassum Cristaeofolium. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya: Malang.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Institut Teknologi Bandung, Bandung. (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro).
- Herpandi. 2005. Aktivitas Hipokolesterolemik Tepung Rumpun Laut pada Tikus Hiperkolesterolemia. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Klaypradit, W., dan Y.-W. Huang, 2008. Fish Oil Encapsulation with Chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT – Food Science and Technology*. **41** : 1133-1 139.
- Laokuldilok, N., P. Thakew, P. Kopermsub and N. U. Ang. 2016. Optimisation of Microencapsulation of Turmeric Extract

- for Masking Flavor. *Food Chem.* **194**: 695-704.
- Laplante, S., S.L. Turgeon dan P. Paquin. 2005. Emulsion Stabilizing Properties of Various Chitosans in the Presence of Whey Protein Isolate. *Carbohydrate Polymers.* **59**: 425–434.
- Lenstra, W. J., J. W. van Hal and J. H. Reith. 2011. Ocean Seaweed Biomass for Large Scale Biofuel Production. The Ocean Seaweed Biomass, Conferences Bremerhaven, Germany.
- Limantara, L dan Heriyanto. 2010. Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Ilmu Kelautan.* **15** (1) : 23-32.
- Lompas, R. A., H. J. Edy dan A. Yudistira. 2012. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Pharmacoin.* **1** (2) : 59-63.
- Loret, C., and W. J. Frith. 2003. Influence of Preparation Conditions of Maltodextrin Gel on Food Texture. *International Symposium on Food Rheology and Structure.* **3**: 515-516.
- Maobe, M. A. G., L. Gitu, E. Gatebe and H. Rotich. 2012. Phytochemical Analysis of Phenol and Flavonoid in Eight Selected Medicinal Herbs Used for the Treatment of Diabetes, Malaria and Pneumonia in Kisii, Kenya. *Academic J. Cancer Research.* **5**: 31-39.
- Masduqi, A.F., M. Izzati dan E. Prihastanti. 2014. Efek Metode Pengeringan Terhadap Kandungan Bahan Kimia Dalam Rumput Laut *Sargassum polycystum*. *Buletin Anatomi Fisiologi.* **22**: 1-9.
- Nursiamah, E. 2015. Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Penyalut Kitosan dan Maltodekstrin terhadap Kualitas Enkapsulat Ekstrak Teh Alga Coklat *Sargassum cristaeifolium* dengan Metode *Freeze Drying*. [Skripsi]. Universitas Brawijaya : Malang.
- Nyström, B., A.-L. Kjøniksen, and C. Iversen .1999. Characterization of Association Phenomena in Aqueous Systems of Chitosan of Different Hydrophobicity. *Adv Colloid Interf Sci.* **79**:81–103.
- Ponce-Cevallos, P.A., M.P Buera dan Elizalde, B.E. 2010. Encapsulation of Cinnamon and Thyme Essential Oil Components (Cinnamaldehyde and Thymol) in  $\beta$ -Cyclodextrin : Effect of Interactions with Water on Complex Stability. *Journal of Food Engineering.* **99** : 70-75.
- Rey, L. 2010. Glimpses into the Realm of Freeze-Drying : Classical Issues and New Ventures. Dalam Louis Rey dan Joan C. May (Eds). *Freeze Drying/ Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*. Informa Healthcare : London.
- Ritonga, P. 2005. Bahasa Indonesia untuk Mahasiswa. Bartong Jaya: Medan.
- Saikia. S., N.K. Mahnot, C.L. Mahanta. 2015. Optimisation of Phenolic Extraction from *Averrhoa carambola pomace* by Response Surface Methodology and its Microencapsulation by Spray and Freeze Drying. *Food Chem.* **171** : 144-152.
- Saloko, S., P. Darmadji , B. Setiaji, Y. Pranoto, dan A.K. Anal. 2013. Encapsulation of Coconut Shell Liquid Smoke in Chitosan-Maltodextrin Based Nanoparticles. *International Food Research Journal.* **20** (3) : 1269-1276.
- SNI 06-6989.26. 2005. Air dan Air Limbah – Bagian 26: Cara Uji Kadar Padatan Total secara Gravimetri. BSN: Jakarta.
- Sannan, T., K. Kurita dan Y. Iwakura. 1976. Studies on Chitin. 2. Effect of Deacetylation on Solubility. *Makromolekular Chemistry.* **177**: 3589-3600.
- Semenova, M.G. dan E. Dickinson. 2010. Biopolymers in Food Colloids: Thermodynamics and Molecular Interactions. Koninklijke Brill NV: Leiden.
- Septiana, A.T.dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstaksi. *Agrointek.* **6** (1) : 22-28.
- Sridhar, S. and R. Rengasamy. 2010. Studies on the Effect of Seaweed Liquid Fertilizer on



the Flowering Plant *Tagetes erecta* in Field Trial. *Advances in Bioresearch*. **1** (2) : 29-34.

Suhardjono. 1995. Pengetahuan, Ilmu, Filsafat Ilmu dan Penelitian. Universitas Brawijaya Malang.

Tambe, V.D. dan R.S. Bhambar. 2014. Estimation of Total Phenol, Tanin, Alkaloid and Flavonoid in *Hibiscus tillaceus* Linn. Wood Extracts. *Reserach and Riview : Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **2**(4) : 41-47.

Thin, P. D., R. V. Menshova, S. P. Ermakova, S. D. Anastyuk, B. M. Ly and T. N. Zvyagintseva. 2013. Structural Characteristics and Anticancer Activity of Fucoidan from The Brown Alga *Sargassum mclurei*. *Marine Drugs*. **11** : 1456-1476.

Williams, A. M. 2007. Analysis of Benefits of *Sargassum* on Galveston Island and Indications for Beach Management Policy. [Thesis]. Graduate Studies of Texas A & M University. Texas. USA.

Wouthuyzen, S., S.M.C. Herandarudewi dan T. Komatsu. 2016. Stock Assessment of Brown Seaweeds (*Phaeophyceae*) Along the Bitung-Bentena Coast, North Sulawesi Province, Indonesia for Alginate Product Using Satellite Remote Sensing. *Procedia Environmental Sciences*. **33** : 553 – 561.

Yuan, C. W., T.C. Wu, S. L. Hsieh, Y. H. Tsai, C.W. Yeh and C. Y. Huang. 2015. Antioxidant Activity and Growth Inhibition of Human Colon Cancer Cells by Crude and Purified Fucoidan Preparations Extracted from *Sargassum cristaefolium*. *J. Food and Drug Analys.* **23**: 766-777.

Zandi, K., S. Ahmadzadeh, S. Tajbakhsh, Z. Rastian, F. Yousefi, F. Farshadpour, K. Sartavi. 2010. Anticancer Activity of *Sargassum oligocystum* Water Extract Against Human Cancer Cell Lines. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. **14** : 669-673.

