

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

**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**

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

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

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



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

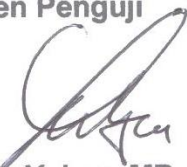
SKRIPSI
DETEKSI SENYAWA BIOAKTIF ENKAPSULAT EKSTRAK KASAR
TEH DAUN ALGA COKLAT *Sargassum cristaefolium*
TERSALUT KITOSAN DAN MALTODEKSTRIN

Oleh:

SRI ARGO PRADANTO
NIM. 125080300111030

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 5 Januari 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji



Dr. Ir. Yahya, MP
NIP. 19630706 199003 1 005
Tanggal: 23 JAN 2017

Menyetujui
Dosen Pembimbing I

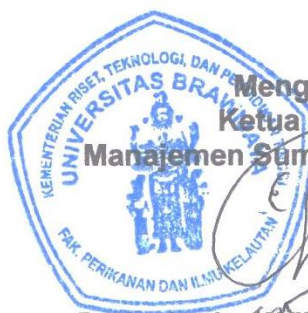


Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 19640726 198903 2 004
Tanggal: 23 JAN 2017

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Kartini Zaelanie, 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

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, 5 Januari 2017

Mahasiswa

Sri Argo Pradanto

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah 'Azza wa Jalla yang telah memberikan karunia kekuatan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan laporan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS. selaku dosen pembimbing I dan Ibu Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MP selaku pembimbing II yang dengan sabar telah menuntun dan memberikan pengarahan serta atas waktu, pikiran dan saran yang telah diberikan kepada penulis selama jalannya penelitian sampai penyusunan laporan skripsi ini hingga selesai.
3. Bapak Dr. Ir. Mimit Primyastanto, MP selaku ketua takmir Masjid Bahrul Ulum Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan yang telah banyak memberi motivasi secara keagamaan baik secara langsung maupun tidak
4. Rekan-rekan tim Skripsi : Sandi, Emak (Nisa), Ais, Sun'an, Leli, Nina, Fildza, Syafi, Krisnatus, Fina, Evi, Iko, Ade Ramanka, Mita, Nita, Eva, Wiwid, Agung Adi
5. Rekan-rekan Forum Komunisasi dan Studi Islam (FOKSI) FPIK UB : Izzuddin, Slamet, Santo, Wisnu, Johando Anam, Agus, Ade Trisna, Zamroni, Dik Husaam, Dik Mahmud, Dik Juahir, Dik Rizal, Dik 'Ainur, kontrakan Al Bahri, Fitri, Iis, Naning, Lusi, Dwi Andini, Dini, Syarifa dan akhawat lainnya.
6. Rekan-rekan pengurus Himathrik periode 2015/2016 (Muda Mengabdikan), rekan-rekan THP 2012 dan rekan-rekan di Masjid Qolbun Salim, Malang : Mas Sibawi, Bayu, Ilham, Sidiq, Rivai, Andri, Hamdan, Mas Jaya, Mas Anton, Pangidoan Siregar, Barik, Kamal, Arsyil, Susilo, Suwitnyo, Mas Bahar. Juga tim IbPE dan rekan-rekan FUPI Malang di Masjid Abu Dzar Al Ghifary dan teman-teman takmir Masjid As Salam.

7. Pak Bambang Sutoto yang suka jahil tapi lucu dan Pak Didin, ibu penjual minuman di kantin yang seringkali direpotkan penulis dengan memesan jus campur yang aneh-aneh,
8. Ustadz Arifuddin, S.Ag., M.Pd.I *hafidzahullah* yang dengan izin Allah bisa bermajlis kepada beliau sebagai penuntut ilmu syar'i terutama ruqyah syar'iyah, Ustadz Rohmat *hafidzahullah* dan juga pada asatidzah lainnya yang dengan izin Allah penulis bisa belajar kepada mereka.
9. Kedua orang tua tercinta penulis yaitu Bapak Sunaryoto dan Ibu Sri Ardiwinarsih yang sudah mendukung penulis dengan doa dan usaha, juga adik tercinta Sri Wigantono yang juga menjadi motivasi bagi penulis.

Malang, Januari 2017

Penulis



RINGKASAN

SRI ARGO PRADANTO. Skripsi tentang Deteksi Senyawa Bioaktif Enkapsulat Ekstrak Kasar Teh Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Tersalut Kitosan dan Maltodekstrin (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** dan **Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MP**).

Salah satu hasil laut yang cukup melimpah dan berpotensi untuk dikembangkan adalah rumput laut atau alga. Alga coklat merupakan salah satu jenis alga yang memiliki banyak spesies, salah satu di antaranya adalah *Sargassum cristaefolium*. Pemanfaatan paling dominan dari alga coklat adalah sebagai bahan baku produksi alginat, sedangkan pengembangan usaha untuk menghasilkan senyawa bioaktif dari alga jenis ini di Indonesia tergolong masih sedikit. Di sisi lain, alga coklat masih belum dimanfaatkan secara optimal, bahkan seringkali dianggap mengganggu dan diabaikan.

Penelitian mengungkapkan bahwa alga coklat memiliki berbagai jenis senyawa bioaktif yang bermanfaat. Alga coklat *Sargassum* dilaporkan mengandung senyawa bioaktif antioksidan berupa fenol dan turunannya (flavonoid). Adapun penelitian tentang spesies alga coklat *S. cristaefolium* telah dilaporkan bahwa spesies tersebut mengandung senyawa flavonoid. Namun, salah satu kelemahan senyawa bioaktif tersebut adalah mudah mengalami kerusakan sehingga diperlukan perlindungan dengan enkapsulasi yang salah satunya menggunakan bahan penyalut berupa kitosan dan maltodekstrin.

Ekstrak *S. cristaefolium* yang telah tersalut kemudian harus terlepas kembali (*release*) dari penyalutnya saat dikonsumsi agar bioaktif dari ekstrak teh tersebut dapat diserap dan dimanfaatkan oleh tubuh. Selain itu, sifat enkapsulat yang dihasilkan akan menentukan pengaplikasiannya pada bidang pangan. Diduga di salah satu kondisi pH saluran pencernaan tersebut penyalut dapat mulai terlepas sehingga menyebabkan keluarnya senyawa bioaktif. Adapun untuk aplikasi bidang pangan yang sesuai diduga enkapsulat mampu melindungi senyawa yang disalut saat diaplikasikan. Setelah melewati tahap pelepasan tersebut, perlu diketahui senyawa bioaktif yang masih berada pada enkapsulat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis senyawa bioaktif yang terkandung dalam enkapsulat ekstrak kasar the daun *S. cristaefolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin setelah mengalami perlakuan pH. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juni 2016. Metode yang digunakan adalah metode eksploratif-deskriptif untuk mendapatkan kesimpulan senyawa bioaktif dari enkapsulat ekstrak the daun *S. cristaefolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin dengan data yang diperoleh dari pengujian kromatografi metode KLT, perhitungan rendemen, pengujian SEM, spektrofotometri UV-Vis metode $AlCl_3$, FTIR dan LC-MS metode ESI positif.

Hasil penelitian menunjukkan 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 λ^{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 sanyawa 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 $C_{17}H_{14}O_6$.



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah subhanahu wa ta'aala, atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi yang berjudul Deteksi Senyawa Bioaktif Enkapsulat Ekstrak Kasar Teh Daun Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* Tersalut Kitosan dan Maltodekstrin. Tidak lupa semoga shalawat serta salam senantiasa tetap tercurah untuk Nabi Muhammad shallallahu 'alayhi wa sallam. Khatamul anbiya.

Alga coklat dan senyawa bioaktif saat ini sangat menarik untuk diteliti bagaimana keterkaitannya dan bagaimana pemanfaatannya. Laporan skripsi ini menyajikan pokok-pokok bahasan meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, materi dan metode penelitian, hasil dan pembahasan, serta kesimpulan dan saran terkait hal tersebut. Dalam pembuatan laporan, penulis mengambil referensi-referensi baik dari buku, internet, artikel serta jurnal untuk dijadikan tinjauan pustaka yang dapat mendukung penyusunan laporan ini. Selain itu bantuan dari berbagai pihak yang turut memudahkan dalam memahami ilmu yang diperoleh serta dalam penelitian dan penyusunan laporan skripsi ini.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, masih dirasakan banyak kekurangan di sana sini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga persembahan sederhana ini dapat bermanfaat bagi para pembaca khususnya bagi mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

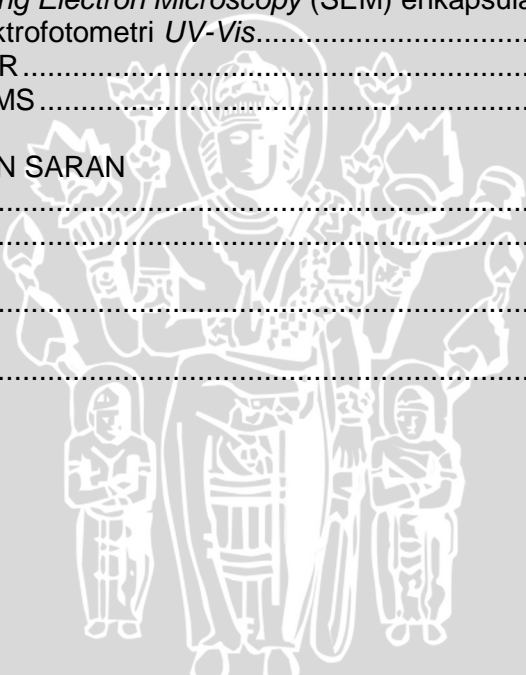
Malang, Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

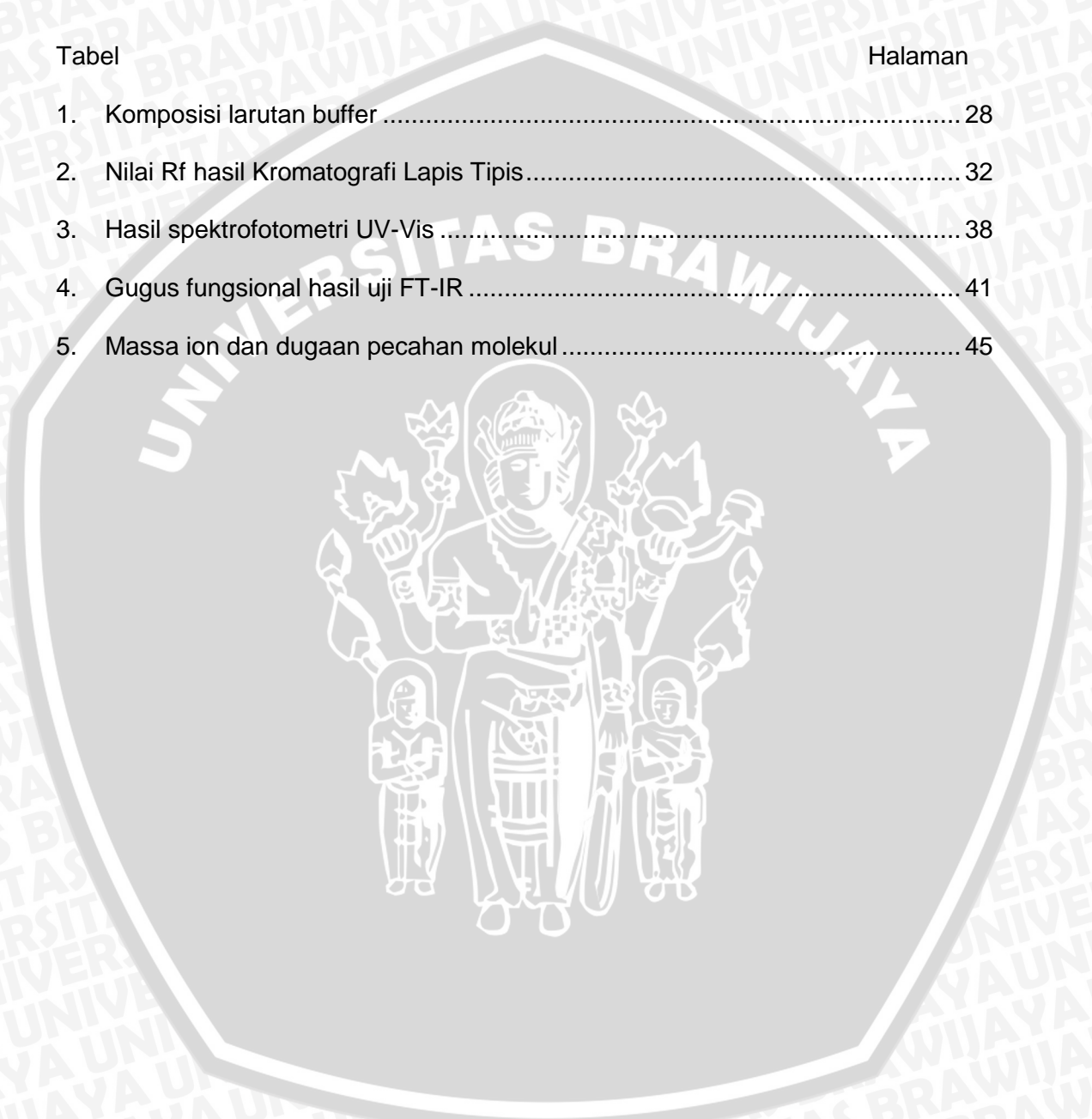
	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Orisinalitas.....	iii
Ucapan Terima Kasih	iv
Ringkasan.....	vi
Kata Pengantar.....	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Perumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian	4
1.4 Kegunaan penelitian.....	4
1.5 Tempat dan waktu penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Klasifikasi dan deksripsi <i>Sargassum cristaefolium</i>	5
2.2 Teh	6
2.3 Senyawa bioaktif.....	7
2.4 Ekstraksi	9
2.5 Kitosan	11
2.6 Maltodekstrin	12
2.7 Enkapsulasi	14
2.8 <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).....	16
2.9 Spektrofotometri Ultra Violet dan Tampak (<i>UV-Visible</i>).....	16
2.10 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) <i>spectroscopy</i>	17
2.11 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	18
2.12 <i>Liquid Chromatography–Mass Spectrometry</i> (LC-MS)	19
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi penelitian	22

3.1.1	Bahan penelitian	22
3.1.2	Alat penelitian.....	23
3.2	Metode penelitian	23
3.3	Prosedur penelitian.....	24
3.3.1	Pembuatan teh daun alga coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	24
3.3.2	Pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat <i>Sargassum cristaefolium</i>	25
3.3.3	Uji total padatan	26
3.3.4	Enkapsulasi.....	26
3.3.5	Perhitungan rendemen.....	27
3.3.6	Perlakuan pH	27
3.3.7	Uji kromatografi metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	28
3.3.8	Uji spektrofotometri UV-Vis metode kolorimetri $AlCl_3$	29
3.3.9	Uji <i>Scanning Electron Microscopy</i>	31
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Pendugaan senyawa dengan uji kromatografi metode KLT	32
4.2	Hasil perhitungan rendemen	33
4.3	Hasil <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) enkapsulat	34
4.4	Hasil uji spektrofotometri UV-Vis.....	38
4.5	Hasil uji FT-IR	40
4.6	Hasil uji LC-MS	42
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Kesimpulan.....	47
5.2	Saran.....	47
	DAFTAR PUSTAKA.....	48
	LAMPIRAN	56



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi larutan buffer	28
2. Nilai Rf hasil Kromatografi Lapis Tipis	32
3. Hasil spektrofotometri UV-Vis	38
4. Gugus fungsional hasil uji FT-IR	41
5. Massa ion dan dugaan pecahan molekul	45



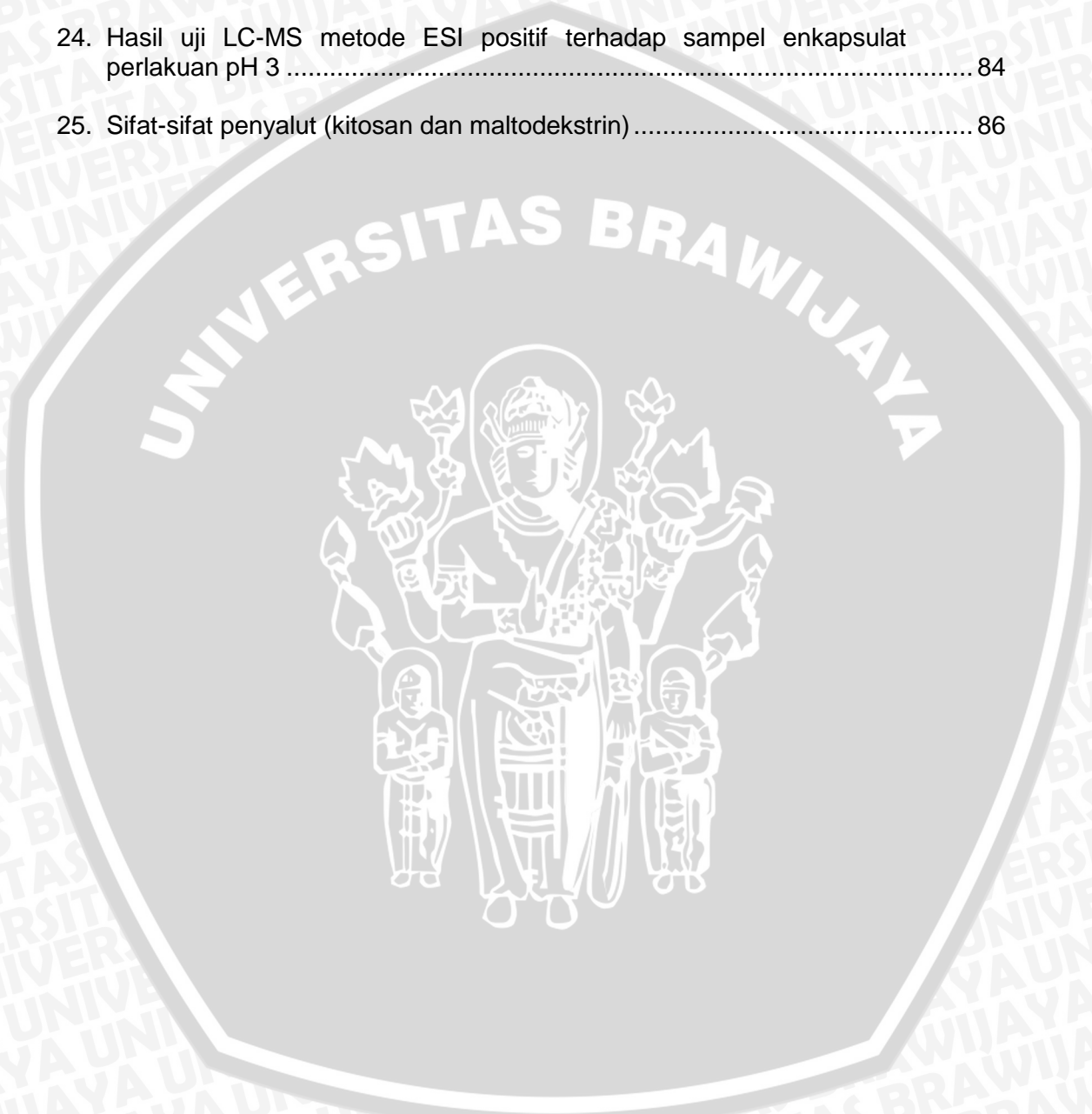
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum cristaefolium</i>	5
2. Struktur flavonoid	9
3. Polifenol jenis flavonoid	9
4. Struktur methanol (kiri) dan etanol (kanan)	11
5. Struktur kitosan	12
6. Struktur maltodekstrin	13
7. Persebaran inti kapsul (a) tepat di tengah kapsul (b) menyebar di seluruh kapsul	14
8. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis, senyawa dugaan (kiri) dan kuersetin sebagai standar (kanan)	32
9. Struktur enkapsulat ekstrak kasar teh alga coklat <i>S. cristaefolium</i> menggunakan penyalut kitosan dan maltodekstrin setelah proses <i>freeze drying</i> perbesaran 2500 kali	34
10. Struktur enkapsulat ekstrak the daun <i>S. cristaefolium</i> setelah perlakuan pH : (A) pH 3, (B) pH 6, (C) pH 8 perbesaran 2500 kali	36
11. Proses keluarnya senyawa inti dari kapsul	38
12. Puncak-puncak serapan hasil uji FT-IR kuersetin sebagai kontrol	40
13. Puncak-puncak serapan hasil uji FT-IR enkapsulat ekstrak kasar teh daun <i>S. cristaefolium</i> tersalut kitosan dan maltodekstrin	41
14. Spektrum LC (a) kuersetin sebagai kontrol dan (b) enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat <i>S. cristaefolium</i>	43
15. Spektrum MS kuersetin sebagai kontrol	43
16. Spektrum MS enkapsulat ekstrak kasar teh daun <i>S. cristaefolium</i>	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur penelitian secara umum.....	56
2. Skema proses pembuatan teh daun alga coklat <i>S. cristaefolium</i>	57
3. Skema proses pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat <i>S. cristaefolium</i>	58
4. Skema proses uji KLT	59
5. Skema proses enkapsulasi	60
6. Skema proses perlakuan pH.....	61
7. Skema proses pembuatan larutan induk kuersetin dan pengukuran panjang gelombang maksimal kuersetin	62
8. Skema proses pembuatan larutan standar kuersetin untuk pembuatan kurva baku	63
9. Skema proses pengukuran absorbansi sampel kapsulat tiap perlakuan pH	64
10. Prosedur perhitungan rendemen.....	65
11. Gambar proses pembuatan teh daun alga coklat <i>S. cristaefolium</i>	66
12. Gambar proses pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat <i>S. cristaefolium</i>	67
13. Gambar proses enkapsulasi	68
14. Perhitungan total padatan	69
15. Perhitungan larutan stok untuk buffer.....	70
16. Perhitungan nilai Rf.....	71
17. Perhitungan rendemen	72
18. Perhitungan total flavonoid setelah perlakuan pH	73
19. Hasil Spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang maksimal kuersetin.....	76

20. Kurva baku kuersetin	78
21. Hasil FT-IR kuersetin	80
22. Hasil FT-IR senyawa dugaan	81
23. Hasil uji LC-MS metode ESI positif terhadap kuersetin sebagai kontrol	82
24. Hasil uji LC-MS metode ESI positif terhadap sampel enkapsulat perlakuan pH 3	84
25. Sifat-sifat penyalut (kitosan dan maltodekstrin)	86



1. PENDAHULUAN

1.1 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 cristaefolium*.

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. cristaefolium* sendiri di daerah tertentu di Indonesia pemanfaatannya masih belum optimal dan cenderung diabaikan oleh penduduk setempat. Adapun penelitian terhadap *S. cristaefolium* 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 rumput laut 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 antioksidan (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. cristaefolium* 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.cristaeofolium*.

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. cristaeofolium* dengan memperhatikan penyalut campuran kitosan dan maltodekstrin dengan metode *freeze drying* yang menyalut senyawa bioaktif ekstrak teh daun alga coklat *S. cristaeofolium* sesudah perlakuan pH.

1.2 Perumusan masalah

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

1.3 Tujuan penelitian

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

1.4 Kegunaan 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 enkapsulat senyawa bioaktif dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan untuk dapat diaplikasikan pada bidang pangan.

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

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan deskripsi *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium secara normal merupakan tumbuhan musiman. Tumbuhan ini menempel pada batu dan karang dengan *holdfast* berbentuk cakram dari bawah zona intertidal pada batuan di daerah dangkal dan kolam tidal sampai zona subtidal dengan kedalaman sekitar 2 meter. Cabang utama agak pipih hingga kompres dengan atau tanpa tonjolan pada bagian basal yang memiliki panjang 10-40 cm dan lebar 2-4 mm. Daun seperti spatula dengan bentuk *oblanceolate* hingga *lanceolate* yang memiliki panjang 10-20 mm dan lebar 10-20 mm. Mampu menduplikasi dengan mudah, *stipitate* pendek dengan dasar simetris, batang daun tidak kentara dan menghilang pada pertengahan jalur menuju *apex* (ujung) daun. Girigi tepi daun tidak jelas hingga berbentuk tak beraturan. Sebagian vesikel berbentuk elips dengan atau tanpa *appendage* kecil. Reseptakel terkompres dengan duri-duri kecil yang melingkar dan berbentuk kait secara tidak beraturan. Ia memiliki panjang 5-10 mm dan lebar 0,5-1,0 mm dengan sebuah *stipe* tanpa isi (Soe-Htun dan Tadao, 1986). Gambar *Sargassum cristaefolium* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum cristaefolium* (Dokumen pribadi)

Klasifikasi *S. cristaefolium* menurut Guiry (2015), adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Chromista
Filum	: Ochrophyta
Superkelas	: Fucistia
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Subgenus	: <i>Sargassum (Sargassum)</i>
Spesies	: <i>Sargassum (Sargassum) cristaefolium</i>

Sargassum sp. menurut Tamayo dan Del Rosario (2014), memiliki kadar abu $27,11 \pm 0,62$ %, serat kasar $12,50 \pm 0,39$ %, lemak kasar $0,54 \pm 0,02$ %, protein kasar $6,99 \pm 0,03$ %, ekstrak bebas nitrogen $51,43 \pm 0,73$ %, dan kelembapan $13,93 \pm 0,06$ %. Adapun *Sargassum cristaefolium* menurut Wang *et al.* (2015), memiliki komposisi kimia yang meliputi kandungan protein sebesar (rerata \pm SD) $3,83 \pm 0,81$ %, lemak sebesar $1,51 \pm 0,14$ %, kadar abu sebesar $24,80 \pm 0,08$ %, dan total karbohidrat $69,87 \pm 0,83$ %.

2.2 Teh

Tanaman teh merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di daerah subtropis. Tanaman ini banyak ditanam di daerah dataran tinggi. Lingkungan fisik yaitu iklim dan tanah sangat mempengaruhi pertumbuhan teh. Tanaman teh di Indonesia hanya ditanam di dataran tinggi. Ketinggian sangat mempengaruhi pertumbuhan perdu teh. Semakin rendah ketinggian maka suhu udara semakin tinggi dan sebaliknya. Perbedaan suhu yang terjadi karena perbedaan ketinggian ini akan mempengaruhi pertumbuhan perdu teh. Adapun penggunaan tanaman teh, bangsa Cina telah menggunakannya sejak 2737 tahun sebelum masehi dan bangsa Jepang baru ditanam pada tahun 800 masehi dan saat ini telah menjadi komoditi global (Setyamidjaja, 2000).

Kandungan senyawa kimia dalam daun teh dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok besar. Kelompok besar tersebut yaitu senyawa fenol, senyawa bukan

fenol, senyawa aromatis dan enzim. Golongan fenol yang ada pada daun teh antara lain flavanol (katekin) dan flavonol (kuersetin, kaemferol dan mirisetin) (Towaha dan Balittri, 2013).

Selain teh yang terbuat dari tumbuhan teh, juga terdapat teh yang dibuat dari bagian tanaman jenis lain seperti bunga, daun, dan bagian lain. Disebut pula sebagai “teh” karena cara menikmati dan penyajiannya sama dengan cara penyajian teh biasa yaitu dengan cara diseduh terlebih dahulu (Somantri dan Tanti, 2011). Rumput laut juga dapat dijadikan sebagai minuman teh karena khasiat dari tanaman rumput laut tersebut. Secara tradisional *Sargassum* digunakan sebagai teh herbal di Cina. Banyak herbalis di Cina yang meresepkan kepada pasiennya *Sargassum* bubuk yang terkemas dalam kantong kertas seberat 0,5 gram. Kantong berisi bubuk *Sargassum* harus dilarutkan dalam air hangat dan diminum sebagai teh. Khasiat teh ini dipercaya mampu membuang kelebihan dahak (Alura *et al.*, 2016).

2.3 Senyawa bioaktif

Rumput laut dikenal akan kekayaan polisakarida, mineral dan sebagian vitamin (Arasaki dan Arasaki, 1983). Namun, selain itu rumput laut juga mengandung substansi bioaktif seperti polisakarida, protein, lipid dan polifenol, dengan fungsinya sebagai antibakterial, antiviral, dan antifungal sebaik senyawa lain (Kumar *et al.*, 2008).

Senyawa bioaktif adalah senyawa esensial dan non-esensial (seperti vitamin dan polifenol) yang terdapat di alam. Ia merupakan bagian dari rantai makanan, dan terbukti memiliki efek kesehatan pada manusia (Biesalski *et al.*, 2009). Lebih lanjut, Biesalski *et al.* (2009), menjelaskan bahwa, kebanyakan secara alami zat bioaktif adalah non-esensial untuk tubuh manusia (tidak diproduksi dalam tubuh). Hal ini memberi arti bahwa gejala khusus tidak bisa

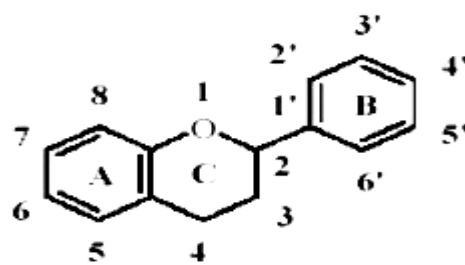
diketahui bila zat ini tidak dikonsumsi secara teratur. Sebagai contoh adalah vitamin C. Asupan yang kurang dari vitamin ini pada akhirnya menyebabkan sindrom klasik dari kekurangan vitamin C yaitu kudis. Namun sindrom tersebut secara alami tidak terjadi pada zat potensial yang dipromosikan sebagai senyawa kesehatan seperti flavonoid, polifenol, fitoestrogen dan lainnya.

Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang berikatan langsung dengan satu cincin aromatik. Sedangkan pada senyawa polifenol terdapat lebih dari satu gugus hidroksil fenol yang berikatan dengan satu atau lebih cincin aromatik. Keberadaan cincin aromatik sangat mempengaruhi kestabilan ikatan atom oksigen dengan atom hidrogen pada gugus hidroksil. Sifat ini menjadikan golongan fenol dan polifenol termasuk salah satu senyawa antioksidan (Vermerris dan Nicholson, 2006).

Polifenol memiliki nilai kosmeseutikal dan farmakologis karena aktivitas antioksidannya dan juga telah menunjukkan efek lain seperti pelindung dari radiasi, antibiotik dan antidiabetes. Polifenol tertentu bekerja sebagai obat pencegahan untuk masalah seperti penyakit kardiovaskular, kanker, arthritis dan gangguan autoimun dengan membantu melindungi jaringan terhadap stres oksidatif (Garbisa *et al.*, 2001; Maliakal *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2003).

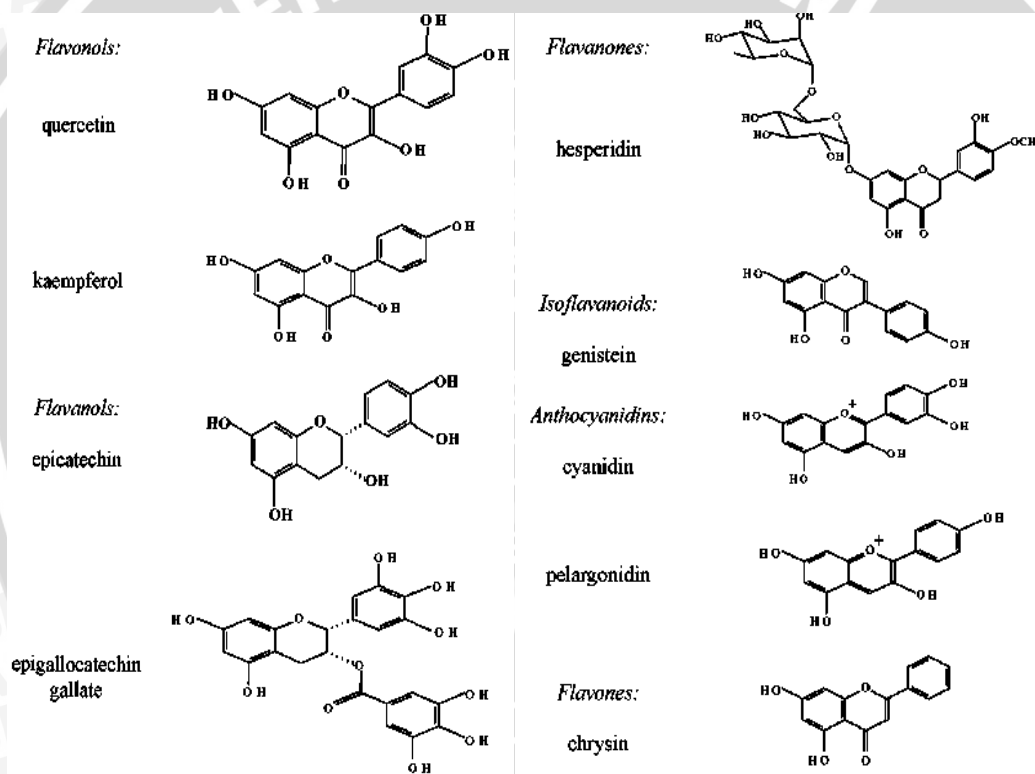
Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari sintesis asam piruvat lewat metabolisme asam amino. Flavonoid termasuk golongan fenol terbesar yang ditemukan pada berbagai tumbuhan. Flavonoid terdiri dari C6-C3-C6 dan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih gugus hidroksil fenolik (Sirait, 2007; Bhat *et al.*, 2009).

Struktur flavonoid seperti disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid mempunyai 10 jenis, yaitu proantosianidin, antosianin, khalkon, flavanol, flavon, flavanon, isoflavon, glikoflavon, auron, dan biflavonil (Harborne, 1987). Struktur beberapa jenis flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Polifenol jenis flavonoid (Semenova dan Dickinson, 2010)

2.4 Ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk memperoleh zat dari suatu bahan adalah metode ekstraksi. Metode ekstraksi dipilih tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Target ekstraksi perlu ditentukan terlebih

dahulu sebelum menentukan metode ekstraksi yang akan dilakukan. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Sarker *et al.*, 2006): senyawa bioaktif yang tidak diketahui senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme dan sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural

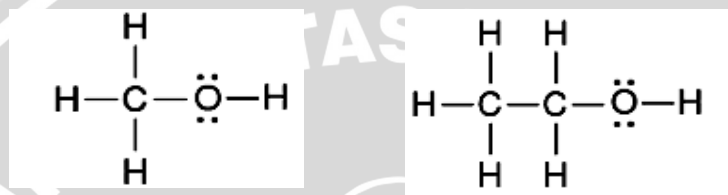
Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah dimulai dengan 1) pengelompokan bagian tumbuhan, pengeringan dan penggilingan, 2) pemilihan pelarut, 3) jenis pelarut yang bersifat polar seperti air, metanol, etanol, dan lainnya, 4) pelarut yang bersifat semipolar seperti diklorometan, etil asetat, dan lainnya serta 5) pemilihan pelarut yang memiliki sifat nonpolar seperti n-heksan, kloroform, petroleum eter, dan sebagainya. Adapun jenis-jenis metode ekstraksi di antaranya adalah maserasi, *ultrasound – asissted solvent extraction*, perkolasi, *soxhlet*, *reflux* dan distilasi uap (Mukhriani, 2014).

Maserasi menurut Wijaya (2013), merupakan proses paling tepat untuk tanaman obat yang sudah halus dan memungkinkan untuk direndam hingga meresap dan melunakkan susunan sel. Pelunakan ini membuat mudah pengeluaran zat-zat yang mudah larut. Maserasi dilakukan dengan pengadukan pada suhu kamar dan relatif mudah dengan perelatan yang sederhana.

Polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa merupakan hal penting yang harus diperhatikan. Bahan yang memiliki polaritas sama dengan pelarutnya akan mudah larut pada pelarut tersebut (Septiana dan Asnani, 2012). Pelarut kualitas *food grade* yang biasa digunakan untuk ekstraksi diantaranya adalah aseton, methanol, etanol, heksan, air atau pencampuran di antaranya. Pelarut-pelarut tersebut digunakan dengan menyesuaikan senyawa yang diinginkan berdasarkan polaritasnya. Antioksidan seperti asam kafeat dan flavonoid dapat

diekstrak dalam jumlah besar dengan menggunakan pelarut polar seperti methanol dan etanol (Donald dan Keague, 2015).

Etanol dan methanol jika diperhatikan sekilas memiliki kemiripan. Akan tetapi, bila diteliti lebih lanjut maka etanol (C_2H_5OH) masih aman dikonsumsi dalam jumlah sedang. Ada pun methanol (CH_3OH), meskipun dikonsumsi dalam jumlah yang kecil dapat menyebabkan kebutaan bahkan kematian (Kumar, 2009). Struktur Lewis etanol dan metanol diperlihatkan pada Gambar 4.

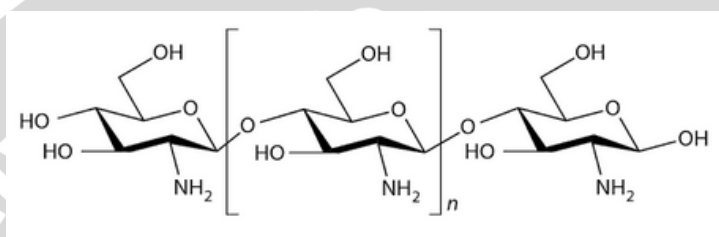


Gambar 4. Struktur metanol (kiri) dan etanol (kanan) (Carey dan Sundberg, 2007).

2.5 Kitosan

Kitosan, poli- $\beta(1\rightarrow4)$ -2-amino-deoxy-D-glucosa, adalah produk deasetilasi dari kitin yang merupakan polisakarida kedua yang paling banyak ditemukan pada dinding sel fungi dan penyusun skeletal krustasea (Hwang dan Stupp, 2000). Kitosan adalah polimer kationik glukosamin yang memiliki nilai pK antara 6,3 dan 7,0. Kitosan memiliki sifat kationik relatif unik untuk polisakarida netral atau bermuatan negatif lainnya. Hal ini dikarenakan muatan positif kitosan mampu membentuk kompleks dengan protein anionik dan senyawa lainnya. Kitosan menjadi sangat populer di kalangan peneliti biomedis karena merupakan polimer alami non-toksik murah yang kompatibel dengan jaringan hidup. Selain itu, kitosan memiliki sifat antijamur dan antimikroba, setelah kelompok amino terprotonasi (NH_3^+) di kitosan dapat mengikat situs anion pada permukaan dinding sel bakteri dan jamur (Semena dan Eric, 2010).

Kitosan dan turunannya telah mendapat banyak perhatian dalam beberapa tahun terakhir. N-alkil turunan kitosan rakitan bisa dibuat untuk membentuk misel polimer dalam media berair (Zhang *et al.*, 2006). Misel polimer memiliki potensi untuk distribusi yang terkendali dan enkapsulasi. Selain itu, nanopartikel kitosan, yang dibentuk oleh gelas ionik dari kitosan dengan anion tripolifosfat, sudah diuji coba dengan penambahan quercetin dan menunjukkan bioavailabilitas yang baik (Zhang *et al.*, 2008). Struktur kitosan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur kitosan (Kim, 2013).

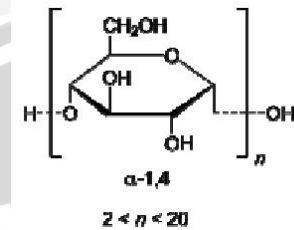
2.6 Maltodekstrin

Maltodekstrin adalah pati terhidrolisis yang memiliki Derajat Polimerisasi (DP) 5-20. Maltodekstrin dan Malto-oligosakarida adalah produk hidrolisis pati yang dihasilkan oleh katalis asam atau perlakuan enzimatik yang spesifik. Sebagian besar residu interglukosa dalam produk komersial penting ini berasal dari bahan baku yang melimpah yang sesuai dengan ikatan- α -D-(1 \rightarrow 4), DE (dextrosa ekuivalen, berdasarkan daya reduksi yang diberikan oleh kelompok pereduksi akhir tunggal; ukuran kebalikan dari jumlah unit anhydro α -D-Glc, massa molar 162 per molekul) sebagai karakteristik analisis penting. Hidrolisis pati jenis ini yang memiliki DE <20 menggunakan istilah maltodekstrin dan untuk DE >20 istilah yang digunakan adalah padatan sirup jagung (Stephen *et al.*, 2006).

Maltodekstrin memiliki rumus kimia $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$ (Kennedy *et al.*, 1995).

Adapun rumus bangun maltodekstrin dapat dilihat pada Gambar 6. Maltodekstrin

memiliki sifat fisik berwarna putih agak kekuningan, bau seperti malt-dekstrin, rasa kurang manis dan cenderung hambar, kadar air 6%, *Dextrose Equivalent* ≤ 20 , pH 4,5-6,5, *TPC* 1500/g dan *sulfated ash* maksimum 6% (Blanchard dan Katz, 1995).



Gambar 6. Struktur maltodekstrin (Rasyid, 2010).

Maltodekstrin seringkali digunakan dalam proses enkapsulasi. Keuntungan menggunakan maltodekstrin adalah fungsinya yang baik dalam melindungi bahan yang dienkapsulasi. Bahan-bahan tersebut seperti untuk cairan beku, bahan sensitif panas dan bahan lain yang tidak larut dalam pelarut yang biasa dapat dienkapsulasi (Semenova dan Dickinson, 2010). Maltodekstrin memiliki konstanta dielektrik 3,4 dengan sifat khusus yaitu mudah mengalir, sudut tenang $< 30^\circ$, mudah padat, dan bersifat higroskopik (Anonim, 2016).

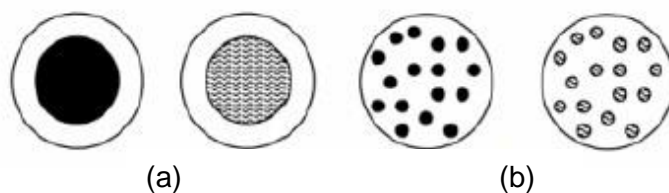
Pati yang terhidrolisis sebagian (dextrin and maltodextrin dengan Derajat Polimerisasi (DP) 5–20) memiliki viskositas larutan yang rendah dan sifat pembentuk film yang sangat baik. Banyak aplikasi maltodekstrin dan sirup glukosa tergantung pada karakteristik tekstur dari hidrolisat, yang disebabkan adanya sakarida yang lebih tinggi. Seperti yang diharapkan dari komposisi mereka, sirup yang memiliki DE rendah memiliki viskositas tinggi, yang memberikan kontribusi kekenyalan dan kesan nyaman di mulut untuk produk makanan, selain itu sifat higroskopik akan meningkat seiring meningkatnya DE (*Dextrose Equivalent*). Dengan kata lain maltodekstrin memiliki sifat higroskopik yang rendah (Stephen *et al.*, 2006).

2.7 Enkapsulasi

Enkapsulasi adalah teknologi yang berkembang pesat dengan banyak aplikasi potensial dalam berbagai bidang termasuk industri farmasi dan makanan. Ini adalah sebuah proses di mana partikel-partikel kecil dari bahan inti yang dikemas dalam bahan dinding untuk membentuk kapsul. Metode enkapsulasi dipergunakan untuk melindungi senyawa bioaktif (polifenol, zat gizi mikro, enzim, antioksidan, dan nutraseutikal) dan dalam aplikasi terakhir untuk melindungi mereka dari lingkungan yang merugikan dan juga untuk pelepasan yang terkendali di situs yang ditargetkan (Gouin, 2004).

Teknik enkapsulasi telah banyak dikembangkan, diantaranya dengan teknik fisika, kimia atau kombinasi keduanya. Metode fisika antara lain seperti *spray drying*, *spray cooling and chilling*, *cocrystallization*, *freeze drying* dan *fluidized bed coating*. Metode kimia meliputi *molekuler inclusion* dan *interfacial polymerization*. Sedangkan metode *physicochemical* antara lain *coacervation*, *organic phase* dan *liposome entrapment* (Jafari *et al.*, 2008).

Mikrokapsul adalah partikel yang memiliki diameter antara 3 dan 800 μm (Meena *et al.*, 2011). Pada prinsipnya mikroenkapsulasi yaitu mengemas suatu zat padat, cair atau gas dalam bentuk mikrokapsul. Mikrokapsul ini sewaktu-waktu dapat melepaskan zat-zat tersebut kembali pada kondisi tertentu (Sarifudin, 2007). Gambar model letak inti yang disalut pada proses enkapsulasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Persebaran inti kapsul (a) tepat di tengah kapsul dan (b) menyebar di seluruh kapsul (Wukirsari, 2006).

Interaksi yang terjadi antara bahan pengenkapsulat (*cell material*), inti (*core material*), dan teknik mikroenkapsulasi yang tepat akan bekerja secara sinergis dalam proses mikroenkapsulasi. Inti adalah bahan yang akan diberi penyalut, sedangkan penyalut sendiri adalah bahan yang digunakan untuk menyalut inti (pengkapsulat). Pemilihan bahan penyalut yang tepat dalam proses enkapsulasi akan menentukan keberhasilan proses tersebut (Kondo, 1979; Mosilhey, 2003).

Freeze drying (pengeringan beku) atau yang dikenal juga sebagai liofilisasi adalah sebuah proses yang digunakan untuk dehidrasi hampir semua bahan yang peka terhadap panas dan bau (Anandharamakrishnan *et al.*, 2010). *Freeze drying* adalah operasi multi tahap yang menstabilkan bahan selama empat tahap utama yaitu pembekuan, sublimasi (pengeringan primer), tahap desorpsi (pengeringan sekunder) dan terakhir adalah tahap penyimpanan. Hasil *freeze drying* pada produk kualitas unggul memiliki masa simpan yang lama.

Inti dari proses *freeze drying* atau liofilisasi adalah tahap di mana produk beku menjadi kering karena es yang terbentuk tersublimasi secara langsung. Selama fase tersebut bagian yang kering tenggelam ke bahan beku dari atas ke bawah atau dari luar ke dalam yang meninggalkan lapisan teratas atau sekitar kulit dari bahan yang mempunyai pori halus. Matriks kering yang dihasilkan terbentuk selama pembekuan vakum. Untuk menjaga sifat ini massa yang dibekukan harus menjaga struktur ketika es menghilang dan uap air keluar. Untuk itu, maka *bulking agent* harus ditambahkan untuk membangun struktur apabila larutan terlalu encer. Laktosa, sukrosa, mannitol, PVP, dekstrosa, metil selulosa, glisin, dan banyak yang lainnya digunakan sebagai *bulking agent* (Rey, 2010).

2.8 Scanning Electron Microscopy (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah salah satu jenis mikroskop yang pada prinsipnya menggunakan berkas elektron untuk mendapatkan gambar profil permukaan suatu benda. Berkas elektron dengan intensitas tinggi dipantulkan pada satu arah. Lalu detektor yang ada di dalam SEM mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan tadi. Arah tersebut memberikan informasi mengenai profil permukaan benda seperti kelandaian dan arah kemiringan. Saat pengamatan, lokasi permukaan yang ditembak dengan berkas elektron dipindai ke seluruh area pengamatan. Informasi ini kemudian diolah menggunakan program pengolah gambar pada komputer. Analisis ini disebut *Scanning Electron Microscopy* (Abdullah dan Khairurrijal, 2009).

SEM juga menggambarkan sebuah *Energy Dispersive X-ray spectrometer* (EDX) yang dapat digunakan untuk menentukan komposisi unsur dari sampel. Saat suatu sampel ditembak dengan berkas elektron, sinar X-ray juga diemisikan oleh EDX karena unit EDX mampu menentukan setiap unsur yang merespon emisi tersebut. Data ini dapat menjadi tambahan untuk disertakan pada gambar SEM untuk menghasilkan sebuah peta unsur sebenarnya dari permukaan sampel (Hendrawan, 2010).

2.9 Spektrofotometri Ultra Violet (UV) dan Sinar Tampak (Visible)

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu dari teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) dari sinar tampak (λ 380-780 nm) dan ultraviolet dekat (λ 190-380 nm) dengan menggunakan instrumen spektrofotometer. Dalam spektrofotometri UV-Vis energi elektronik yang dibatkan cukup besar pada molekul yang dianalisis, hal ini menyebabkan spektrofotometri UV-Vis lebih banyak digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Kusnanto, 2012).

Daerah UV sekitar 10 nm – 380 nm, tetapi penggunaannya secara analitik paling banyak dari 200 – 380 nm dan disebut sebagai UV pendek (dekat). Udara dapat mengabsorpsi apabila panjang gelombang di bawah 200 nm sehingga instrumen harus dioperasikan dalam kondisi vakum. Daerah tampak (visibel) memiliki cakupan yang sangat kecil. Panjang gelombang yang dikaitkan dengan cahaya tampak itu mampu mempengaruhi selaput pelangi pada manusia, dan oleh karena itu menimbulkan kesan subyektif akan ketampakan (vision). λ daerah tampak dari 380 nm – sekitar 780 nm (Kristianingrum, 2016).

2.10 *Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy*

Fourier Transform Infrared (FT-IR) adalah sebuah instrumen yang menggunakan prinsip spektroskopi. Spektroskopi yang dimaksud adalah spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi fourier untuk mendeteksi dan menganalisis hasil spektrum dari sampel yang diteliti (Anam et al., 2007). Prinsip dari FT-IR adalah atom-atom yang berada dalam suatu molekul bervibrasi (bergerak) dan bukan diam. Molekul-molekul yang ada pada suatu cuplikan dapat menyerap (mengabsorpsi) energi apabila radiasi inframerah dilewatkan melalui cuplikan tersebut. Kemudian terjadilah transisi diantara tingkat vibrasi (*ground state*) dan tingkat vibrasi tereksitasi (*excited state*). Pengabsorpsian energi pada berbagai frekuensi dapat dideteksi oleh spektrofotometer infrared. Jumlah radiasi infra merah yang diteruskan melalui cuplikan sebagai fungsi frekuensi (atau panjang gelombang) radiasi diplotkan oleh spektrofotometer infrared tadi. Plot tersebut adalah spektrum infra merah yang memberikan informasi penting tentang gugus fungsional suatu molekul (Kristianingrum, 2016).

Spektroskopi inframerah ini sangat berguna apabila ingin mengidentifikasi senyawa organik. Vibrasi dan rotasi molekular akan menghasilkan pita serapan

di daerah spektrum sinar infra merah (Saputro, 2015). Kelompok fungsional pada senyawa organik, masing-masing dapat menyerap sinar inframerah pada frekuensi yang unik.

Spektroskopi inframerah sangat baik untuk mendeteksi gugus fungsional, akan tetapi tentunya tidak dapat digunakan untuk menjelaskan struktur lengkap dari sebuah molekul yang tidak diketahui. Seringkali sebuah spektrum inframerah tidak mengandung cukup informasi, membingungkan, atau mengandung informasi yang kontradiktif. Hal ini tidak memungkinkan untuk membuat determinasi utuh sebuah struktur yang tidak diketahui. Maka, untuk memecahkan masalah tersebut dibutuhkan teknik spektroskopi molekular lain seperti *NMR*, spektrometri massa, spektroskopi UV/VIS, dan *Raman scattering* (Smith, 1996).

2.11 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode pemisahan yang cukup murah dan sering dilakukan secara preparatif untuk berbagai keperluan. Misalnya untuk mencari sistem eluen saat dilakukan kromatografi kolom atau untuk mengecek kemurnian senyawa (Hostettmann *et al.*, 1986). Prinsip kerjanya adalah berdasarkan adsorpsi dan partisi. Sampel akan berpisah berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Sampel akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut dengan semakin dekatnya kepolaran antara sampel dengan eluen (Soebagio, 2002).

KLT terdiri dari fase diam dan fase gerak. Fase diam berupa padatan penyerap yang dihasilkan pada sebuah plat datar. Plat yang digunakan berasal dari gelas, alumina atau plastik. Pelapisan padatan penyerap pada plat akan menghasilkan lapisan dengan ketebalan tertentu. Pelapis plat yang digunakan biasanya adalah silika gel, alumina, selulosa, dan kieselgur (tanah diatome) (Padmawinata, 1991). Adapun fase gerak atau eluen yang bisa digunakan

adalah tergantung dari sifat kelarutan komponen terhadap pelarut yang akan digunakan (Sastrohamidjojo, 2005).

Identifikasi terhadap senyawa terpisah pada kromatografi lapis tipis menurut Padmawinata (1985), dapat diperoleh dengan melihat faktor retensi (Rf), yaitu dengan membandingkan jarak tempuh senyawa terlarut dengan jarak tempuh pelarut yang digunakan. Rumus harga Rf seperti berikut ini :

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak tempuh pelarut dari titik asal}}$$

Senyawa yang memiliki Rf lebih besar berarti memiliki kepolaran yang rendah, demikian juga sebaliknya. Hal ini terjadi karena fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah. Rf KLT yang bagus berkisar antara 0,2 - 0,8. Jika Rf terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya (Gandjar dan Abdul, 2007).

2.12 *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)*

Perpaduan MS dengan LC (LC-MS) merupakan kelanjutan nyata namun kemajuannya di bidang ini terbatas selama bertahun-tahun karena ketidakcocokan relatif sumber ion MS yang ada dengan aliran cairan kontinyu. Beberapa antarmuka dikembangkan tetapi rumit untuk digunakan dan tidak dapat diandalkan, sehingga penggunaan oleh laboratorium klinis sangat terbatas. Situasi ini berubah dengan perkembangan sumber ion electrospray oleh Fenn pada 1980-an (Fenn *et al.*, 1989). Manufaktur secara cepat mengembangkan instrumen yang dilengkapi dengan sumber electrospray, yang memiliki dampak yang besar pada biokimia protein dan peptida.

Electrospray ionization (ESI) merupakan salah satu metode yang digunakan dalam proses deteksi senyawa dengan menggunakan LC-MS. Prinsip utama dari metode ESI adalah menggunakan energi listrik untuk membantu transfer ion dari larutan ke dalam fase gas sebelum penganalisisan oleh spektrometri massa. Dengan demikian spesies ionik dalam larutan dapat dianalisis dengan ESI-MS dengan meningkatkan sensitivitas. Senyawa netral juga dapat dikonversi ke bentuk ionik dalam larutan atau dalam fase gas oleh protonasi atau kationisasi (misalnya kationisasi logam), dan sehingga dapat dipelajari oleh ESI-MS (Ho *et al.*, 2003). Lebih lanjut Ho *et al.* (2003), menjelaskan bahwa transfer spesies ion dari larutan ke dalam fase gas oleh ESI melibatkan tiga langkah: (1) penyebaran semprotan halus tetesan (*droplets*) bermuatan, yang selanjutnya diikuti oleh (2) penguapan pelarut dan (3) pelemparan ion dari *droplets* bermuatan tinggi. Tabung, yang dipertahankan pada tegangan tinggi (misal 2,5-6,0 kV) relatif terhadap dinding ruang sekitarnya. Kabut dari *droplets* bermuatan tinggi memiliki polaritas yang sama dengan tegangan kapiler yang dihasilkan. Penerapan pembuatan nebula gas (kabut nitrogen), yang memotong di sekitar larutan sampel yang dielus, meningkatkan laju aliran sampel yang lebih tinggi.

Ada sejumlah aplikasi klinis lain dari LC-MS, dan teknik ini lebih umum berlaku dibandingkan dengan GC-MS dan LC dengan detektor konvensional. Spektrometer massa beroperasi dengan mengubah molekul analit menjadi bermuatan (terionisasi), dengan analisis berikutnya dari ion dan fragmen ion lain yang dihasilkan selama proses ionisasi, berdasarkan massa mereka untuk mengisi rasio (m/z). Beberapa teknologi yang berbeda yang tersedia untuk kedua ionisasi dan analisis ion, mengakibatkan berbagai jenis spektrometer massa dengan kombinasi yang berbeda dari dua proses. Dalam prakteknya, ada beberapa konfigurasi yang jauh lebih fleksibel daripada yang lain. Sumber ion saat ini mampu menangani berbagai laju aliran dan komposisi fase gerak

sehingga pemisahan LC yang ada sering dapat langsung digabungkan ke spektrometer massa. Namun, sejumlah faktor dapat mempengaruhi kualitas data MS dan beberapa modifikasi pemisahan LC mungkin diinginkan untuk meningkatkan kinerja assay (Pitt, 2009).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi penelitian

Materi penelitian terdiri dari bahan penelitian dan alat penelitian. Bahan dan alat pada penelitian ini antara lain:

3.1.1 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 CaCO₃. 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 GF₂₅₄ 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 (C₆H₈O₇•H₂O), natrium hidrogen fosfat (Na₂HPO₄), aquades, kertas saring *whatman* 41, tissue, dan kertas label. Bahan-bahan untuk spektrofotometri UV-Vis antara lain kuersetin (SIGMA ALDRICH), aquades, NaNO₂ (Teknis), NaOH, AlCl₃. Serta bahan pendukung lainnya yaitu berupa air, kertas label, dan tisu.

3.1.2 Alat 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).

3.2 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* dengan uji SEM, uji UV-Vis dengan metode Kolorimetri $AlCl_3$, Uji FTIR metode transmisi, uji

LC-MS metode *Electrospray Ionization* (ESI) positif dan uji kromatografi metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan diperkuat pustaka sebagai penunjang.

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).

3.3 Prosedur penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan teh *S. cristaefolium*, pembuatan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium*, pengujian total padatan, pembuatan bahan enkapsulasi, perlakuan pH, perhitungan rendemen, pengamaman enkapsulat dengan SEM, pengujian flavonoid dengan spektrofotometri UV-VIS, FT-IR, LC-MS, dan Uji KLT. Prosedur penelitian secara umum disajikan pada Lampiran 1.

3.3.1 Pembuatan teh daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* (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 (CaCO_3) pada kisaran pH 11 dengan perbandingan air : kapur : alga adalah 250 : 1 : 12,5 (v/b/b). Tujuan perendaman menggunakan air kapur adalah agar bau amis yang ada pada rumput laut berkurang. Kemudian dilakukan perendaman selama 24 jam dengan air tawar

dengan pergantian air tiap pagi dan sore. Tujuan dari pergantian tiap pagi dan sore ini adalah untuk menghilangkan sisa-sisa zat kapur yang menempel pada daun rumput laut. 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°C selama 15-30 menit sampai sampel terlihat kering. Skema proses pembuatan teh daun *S. cristaefolium* dapat dilihat pada Lampiran 2 dan gambar proses pada Lampiran 11.

3.3.2 Pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat *Sargassum cristaefolium* (Metode 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, tujuan menggunakan ayakan 60 mesh ini agar supaya partikel-partikel halus dan memperluas permukaan untuk mempermudah proses ekstraksi. 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°C selama kurang lebih 3 jam fungsi pengadukan menggunakan *magnetic stirer* ini adalah agar tidak terjadi penggumpalan pada sampel yang dilarutkan dengan etanol sehingga sampel homogen secara merata.

Setelah 3 jam larutan kemudian dimasukkan ke dalam cuvet dan *disentrifugasi* dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Sentrifugasi ini bertujuan agar padatan dan laurtan dapat terpisah sehingga mempermudah proses filtrasi yang dilakukan dengan menggunakan kertas *Whatman* nomor 41. Kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu 40°C dengan kecepatan 45 rpm, dan didapatkan hasil ekstraksi pekat teh daun alga coklat *Sargassum*

cristaefolium. Skema proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 3 dan dambar proses pada Lampiran 12.

3.3.3 Uji total padatan (SNI 06-6989.26, 2005 yang telah dimodifikasi)

Uji total padatan ini dilakukan untuk menentukan volume yang ditambahkan pada larutan penyalut (formulasi enkapsulat). Sebelum dilakukan uji, terlebih dahulu dilakukan preparasi botol timbang, di mana botol timbang dengan tutup setengah tertutup dioven dengan suhu 105°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 yang dihasilkan dari evaporasi 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^o 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). Kadar padatan total kemudian dihitung (Lampiran 14).

3.3.4 Enkapsulasi (menggunakan metode Fernadez *et al.*, 2014; Laokuldilok *et al.*, 2016; dan Saikia *et al.*, 2015 yang telah dimodifikasi).

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°C. Kemudian 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 (5 gram) dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* kecepatan penuh kurang lebih 5 menit. Setelah itu dilakukan pengeringan menggunakan *freeze dryer* pada suhu $-70,8^{\circ}\text{C}$ kurang lebih selama 38 jam dan dihasilkan enkapsulat ekstrak kasar teh daun *S. cristaefolium*. Skema proses enkapsulasi disajikan pada Lampiran 5 dan gambar proses pada Lampiran 13.

3.3.5 Perhitungan rendemen (menggunakan metode Aulia, 2012 telah dimodifikasi).

Rendemen adalah persentase dari perbandingan antara berat bagian bahan yang dapat dimanfaatkan dengan berat total bahan. Kegunaan nilai rendemen adalah untuk mengetahui nilai ekonomis suatu produk atau bahan. Apabila nilai rendemen suatu produk atau bahan semakin tinggi, maka nilai ekonomisnya juga semakin tinggi. Dengan demikian pemanfaatannya dapat menjadi lebih efektif. Prosedur analisa rendemen dapat dilihat pada Lampiran 10. Nilai rendemen yang dihasilkan berdasarkan metode penelitian Aulia (2012), yang dimodifikasi. Perhitungan rendemen enkapsulat ekstrak kasar teh alga coklat *S. cristaefolium* didasarkan pada rumus berikut :

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

Keterangan:

A = berat awal sampel (g)

B = berat akhir sampel (g)

3.3.6 Perlakuan pH (Gad, 2008 dan Desai *et al.*, 2008 yang telah dimodifikasi)

Hal yang perlu dilakukan untuk perlakuan pH, tahap awal yang harus dilakukan adalah membuat stok larutan. Larutan buffer pH dibuat dengan melarutkan natrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M dan asam sitrat monohidrat

($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 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. Untuk 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 (perhitungan pada Lampiran 15).

Tahap selanjutnya untuk pembuatan buffer pH 3, 6 dan 8 dengan mencampurkan larutan natrium fosfat 0,2 M dan asam sitrat monohidrat 0,1 M dengan volume di tunjukkan pada tabel berikut (untuk tiap larutan buffer volume akhir 20 ml). Komposisi larutan buffer dapat dilihat pada Tabel 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

Setelah larutan buffer siap, 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 ± 5 jam agar pelepasan inti maksimal. Kemudian disaring untuk memisahkan residu dan filtrat. Residu kemudian dikeringkan dengan dibiarkan pada suhu ruang (skema proses pada Lampiran 6). Setelah residu kering, didapatkan sampel yang siap untuk diuji SEM, Spektrofotometri UV-Vis, FTIR, dan LC-MS.

3.3.7 Uji kromatografi metode Kromatografi Lapis Tipis (Kualitatif) (Maobe *et al.*, 2012)

Uji kromatografi dengan metode KLT bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif senyawa apa yang terkandung dalam sampel. 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 (skema proses pada Lampiran 4), selanjutnya dihitung nilai Rf dengan rumus sebagai berikut.

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

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

3.3.8 Uji spektrofotometri UV-Vis metode kolorimetri AlCl_3 (Tambe dan Bambhar, 2014 yang telah dimodifikasi)

Uji spektrofotometri UV-Vis menggunakan metode kolorimetri AlCl_3 . 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. Lalu ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari 800.00 nm sampai 200.1 nm untuk mendapatkan panjang gelombang maksimal (skema proses pada Lampiran 7).

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 (Skema proses pada Lampiran 8).

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_2 5 % dan ditunggu selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,3 mL AlCl_3 10% dan ditunggu selama 5 menit. Lalu 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 (skema proses pada Lampiran 9). Hitung konsentrasi kuersetin dan total flavonoid berdasar rumus :

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

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

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

Keterangan : C = total flavonoid (mg/g)
 C_1 = konsentrasi kuersetin (mg/L)
FP = faktor pengenceran
 m = massa sampel (g)
 V = volume larutan sampel

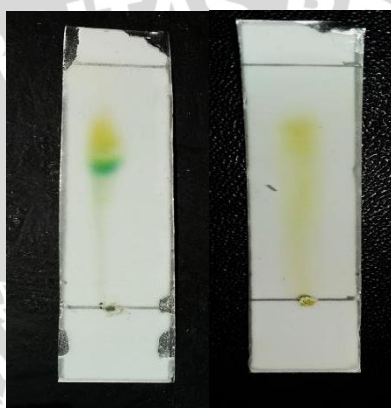
3.3.9 Uji *Scanning Electron Microscopy* (Gunawan dan Azhari, 2010)

Sampel dianalisa menggunakan *Scanning Electron Microscope* (Hitachi TM 3000 TableTop SEM dengan pembesaran 2500 kali). Digunakan untuk mempelajari profil morfologi permukaan enkapsulat setelah perlakuan pH. 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. SEM sangat baik digunakan dalam kondisi yang membutuhkan pengamatan permukaan kasar dengan pembesaran pada kisaran 20 kali sampai 500.000 kali. *Scanning raster* mendefinisikan berkas elektron yang dipantulkan untuk memindai permukaan sampel sebelum melalui lensa elektromagnetik terakhir, di mana hasil pemindaian tersinkronisasi dengan tabung sinar katoda dan gambar sampel akan tampak pada area yang dipindai. Tingkat kontras yang tampak pada tabung sinar katoda timbul sebagai akibat refleksi yang berbeda-beda dari sampel. Berkas sinar elektron yang dihasilkan berasal dari filament yang dipanaskan dan disebut sebagai *electron gun*.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pendugaan senyawa dengan uji kromatografi metode KLT

Senyawa hasil ekstraksi menggunakan etanol diuji menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian ini dilakukan untuk menguatkan data yang diperoleh. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis, senyawa dugaan (kiri) dan kuersetin sebagai standar (kanan) (Dokumentasi pribadi).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) membandingkan nilai Rf sampel dengan Rf standar senyawa dugaan. Senyawa dugaan tersebut adalah flavonoid sehingga digunakanlah kuersetin sebagai standar. Hasil perhitungan nilai Rf dapat dilihat pada Tabel. 2 berikut ini.

Tabel 2. Nilai Rf hasil Kromatografi Lapis Tipis

Sampel	Rf (x100)
Ekstrak kasar <i>S. cristaefolium</i>	80
Quercetin	80
Quercetin (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 (perhitungan nilai Rf dapat dilihat pada Lampiran 16). Sedangkan berdasarkan penelitian Daud *et al.* (2011), uji KLT pada kuersetin sebagai standar menggunakan pengembang metanol : kloroform (9:7) memberikan hasil Rf 0,8 dan bercak berwarna coklat pada cahaya tampak. Menurut Markham (1975), flavonoid muncul sebagai bercak gelap dengan latar belakang hijau fluoresen ketika diamati pada sinar UV (254 nm) pada pelat yang mengandung indikator UV-fluoresen (seperti silika gel F₂₅₄). Pada sinar UV 365 nm, tergantung pada jenis strukturnya, flavonoid menunjukkan warna kuning gelap, hijau, atau biru fluoresen yang semakin intensif dan berubah dengan penggunaan reagen semprot.

4.2 Hasil perhitungan rendemen

Rendemen dihitung dari bahan mentah berupa ekstrak kasar teh daun alga coklat setelah evaporasi dicampur dengan bahan penyalut hingga menjadi enkapsulat. Rendemen merupakan nilai efisiensi sebuah proses. Rendemen dapat dipengaruhi oleh proses, bahan baku dan bahan enkapsulasi.

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* (perhitungan pada Lampiran 17). 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.

4.3 Hasil *Scanning Electron Microscopy* (SEM) enkapsulat

Pengamatan untuk mengetahui mikrostruktur dari penyalut yang telah diberi perlakuan pH 3, pH 6, dan pH 8 dilakukan dengan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM). Berdasarkan hasil pengamatan menggunakan SEM dengan perbesaran 2500 kali terlihat bahwa perlakuan pH berbeda memberi pengaruh kenampakan permukaan yang berbeda. Adapun 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 9.

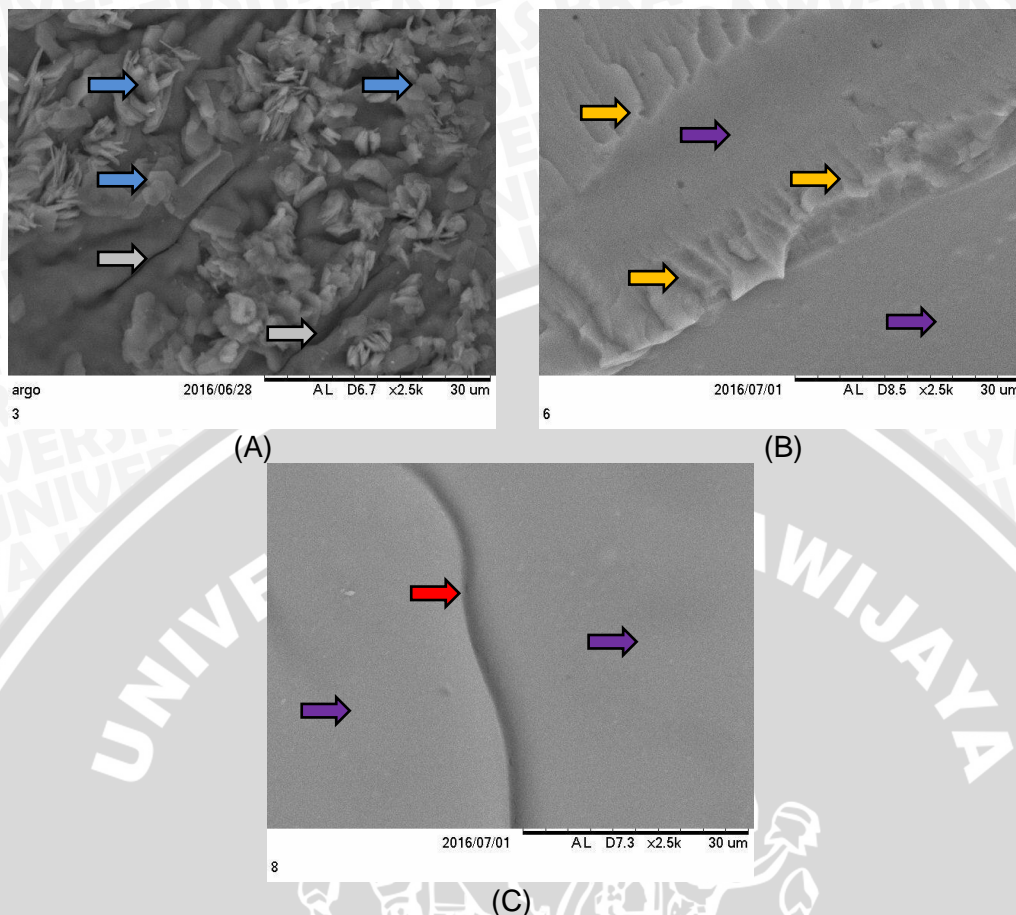


Gambar 9. Struktur enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* menggunakan penyalut kitosan dan maltodekstrin setelah proses *freeze drying* perbesaran 2500 kali
Sumber : Nursiamah, 2015.

Struktur permukaan enkapsulat kitosan dan maltodekstrin perlakuan pH 3 (A) terlihat bahwa permukaan sangat berkerut dan ada cekungan/ lipatan ke bawah permukaan. Selain itu, juga terbentuk tonjolan-tonjolan kasar bergerigi menyerupai sisik ikan pada permukaan penyalut. Adapun struktur permukaan penyalut kitosan-maltodekstrin perlakuan pH 6 (B) terlihat bahwa pada permukaannya terdapat terdapat kerutan yang cukup banyak dan kasar. Namun, sebagian permukaan juga tampak halus dan rata tanpa adanya kerutan. Sedangkan struktur permukaan penyalut kitosan-maltodekstrin perlakuan pH 8 (C) terlihat bahwa 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 ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* setelah perlakuan pH disajikan pada Gambar 10.

Mikrostruktur pada enkapsulat yang mendapat 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 (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. Selain itu pembengkakan (*swelling*) juga terjadi pada ikatan polimer yang mengakibatkan terputusnya ikatan pada molekul kitosan.



Gambar 10. Struktur enkapsulat ekstrak kasar teh daun *S. cristaefolium* setelah perlakuan pH : (A) pH 3, (B) pH 6 dan (C) pH 8 perbesaran 2500 kali

Sumber : Laboratorium Institut Biosains Universitas Brawijaya, 2016

Keterangan :

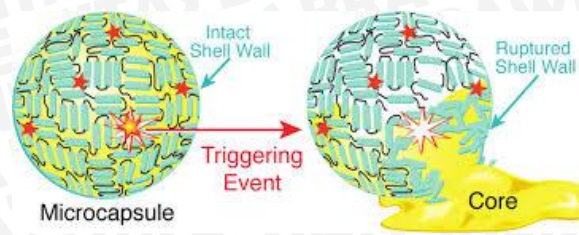
-  : tonjolan kasar berbentuk menyerupai sisik ikan
-  : kerutan kasar
-  : permukaan halus/ rata
-  : kerutan dan cekungan
-  : tonjolan memanjang

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-asetilglukosamin.

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

Menurut Deman (1997) enzim maupun asam dapat menghidrolisis 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. Pelepasan senyawa tersalut sebagaimana disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Proses keluarnya senyawa inti dari kapsul (Kahn *et al.*, 2010)

Adapun pada pH diatas 6,5 ukuran agregat terpisah dan terjadi pemisahan fase. Sehingga polimer dapat mengalami koagulasi dan dapat diambil sebagai padatan amorf. Kondisi asam merupakan kondisi optimal untuk hidrolisis kitosan (Muzarelli, 1998).

4.4 Hasil uji spektrofotometri UV-Vis

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 (Lampiran 19). 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 (perhitungan pada Lampiran 18 dan kurva baku kuersetin pada Lampiran 20) 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

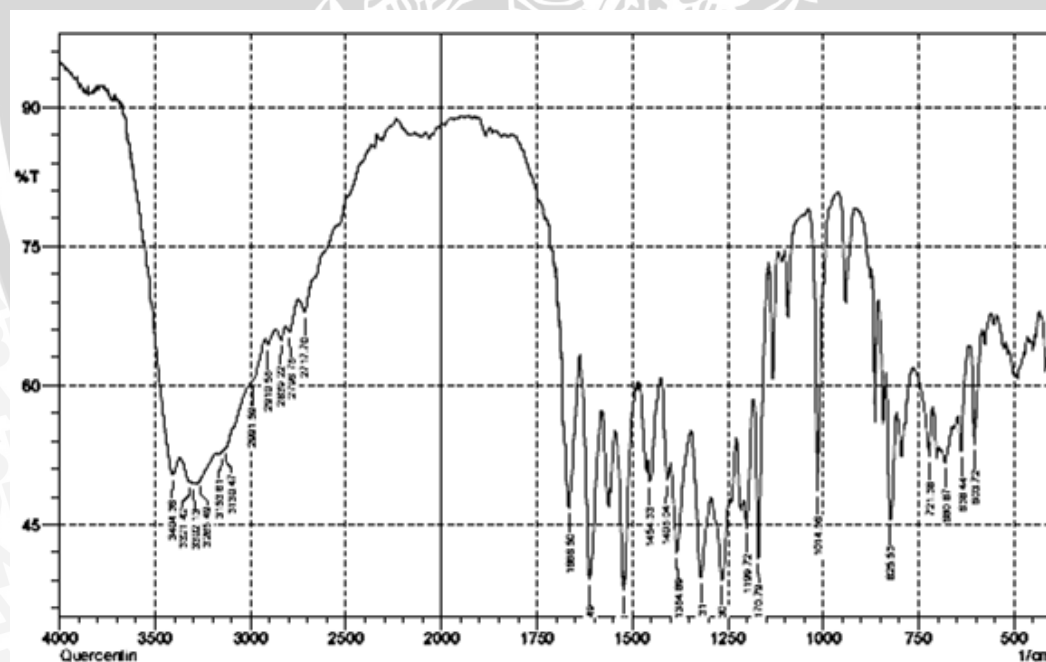
Berdasarkan uji spektrofotometri UV-Vis seperti yang tertera pada tabel, diketahui bahwa sampel mengandung senyawa flavonoid. Sampel dengan perlakuan pH 3 memiliki nilai absorpsi tertinggi. Tingginya nilai absorpsi ini diduga karena penyalut yang menjadi kapsul ekstrak teh daun alga coklat *S. cristaefolium* mengalami keretakan sehingga senyawa yang ada pada enkapsulat merembes keluar dari penyalutnya. Total flavonoid juga berbanding lurus dengan nilai absorpsi di mana kadar ekuivalen tertinggi dimiliki oleh penyalut yang mendapat perlakuan pH 3. Tingginya nilai absorpsi 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. Senyawa flavonoid yang keluar dari enkapsulat akan terurai dan teroksidasi. Menurut Luthana (2008), pada penelitiannya tentang ekstrak bawang putih menyatakan bahwa pada pH 4 didapatkan total flavonoid tertinggi. Hal ini dapat dikarenakan flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang stabil pada pH asam. Dengan demikian, pada pH netral sampai pH basa kandungan total flavonoid akan cenderung menurun. Menurut Markham (1988), flavonoid memiliki sifat yang

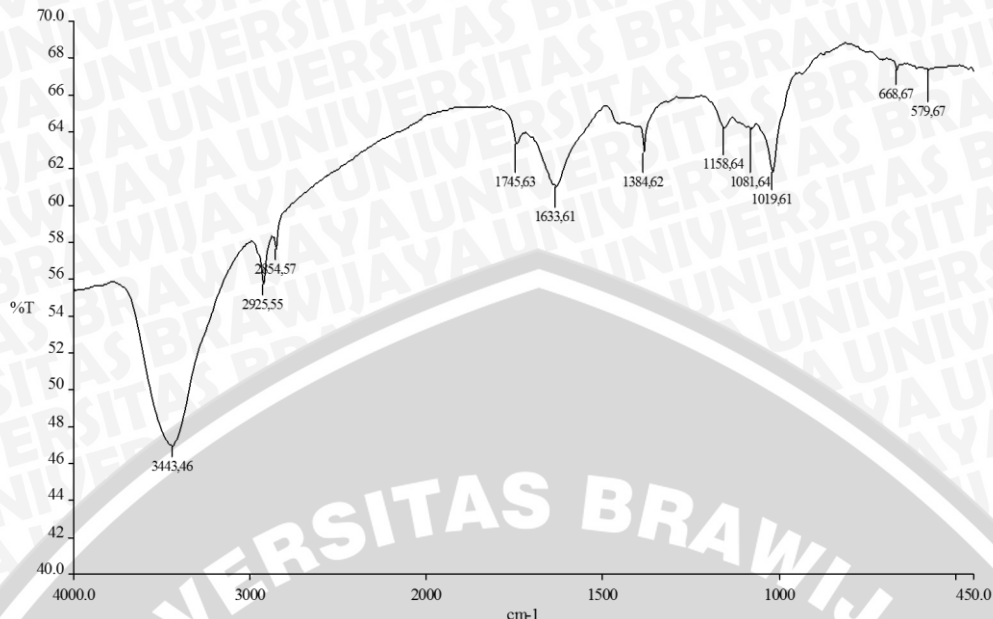
asam dan dapat larut dalam basa. Flavonoid bila dibiarkan dalam larutan basa, pada akhirnya banyak yang akan terurai dan teroksidasi.

4.5 Hasil uji FT-IR

Pengujian dengan menggunakan FT-IR menunjukkan gugus-gugus fungsional yang diduga terdapat pada enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* yang telah diberi perlakuan pH. Gambar 12 menunjukkan puncak-puncak dari gugus fungsional dari sampel kuersetin sebagai kontrol yang terdeteksi dari uji FT-IR sedangkan Gambar 13 menunjukkan puncak-puncak dari gugus fungsional dari sampel enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* yang terdeteksi dari uji FT-IR (hasil uji FT-IR kuersetin pada Lampiran 21 dan hasil uji FT-IR sampel pada Lampiran 22). Gugus fungsional hasil uji FT-IR disajikan pada Tabel 4.



Gambar 12. Puncak-puncak serapan hasil uji FT-IR kuersetin sebagai kontrol



Gambar 13. Puncak-puncak serapan hasil uji FT-IR enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristefolium* tersalut kitosan dan maltodekstrin

Tabel 4. Gugus fungsional hasil uji FT-IR

Gugus	Kuersetin standard		Gugus	Sampel senyawa	
	Daerah serapan (cm ⁻¹)			Daerah serapan (cm ⁻¹)	
	Hasil*	Literatur***		Hasil**	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		
Ester C-O	1199,72-1170,79	1300-1050	Ester C-O	1158,64 & 1081,64	1300-1050
Ulur			Ulur		
Keton C=O	1666,5	1690-1660	Keton C=O	1745,63	1750-1740
Ulur			Ulur		
Aromatik C=C	1612,49-1523,76	1600-1500	Aromatik C=C	1633,61	1680-1620
Ulur					
Ulur	825,53-680,87	900-680	Ulur	1019,61	1225-950

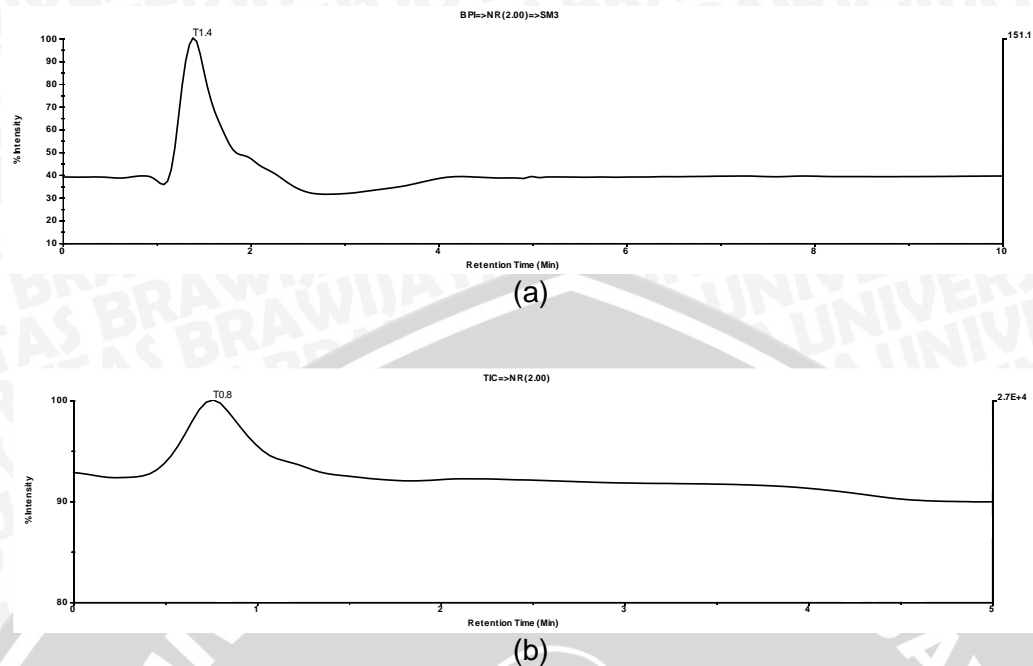
* : Laboratorium Mineral dan Material Maju FMIPA Universitas Negeri Malang, 2016; ** : Laboratorium Farmasi Unair, 2016; *** : Williams dan Fleming, 2007.

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⁻¹

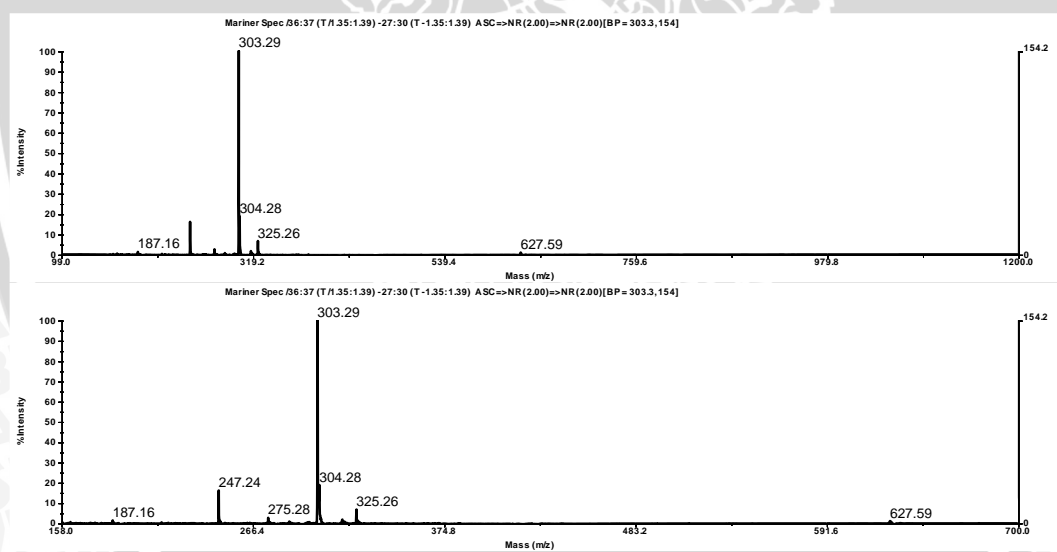
merupakan regangan hidroksil O-H. Hal ini diperkuat dengan munculnya ulur pada bilangan gelombang $1384,62\text{ cm}^{-1}$. Gugus alkil C-H muncul pada puncak gelombang $2925,55\text{ cm}^{-1}$ dan $2854,57\text{ cm}^{-1}$. Adanya regang C-O ester ditunjukkan oleh pita serapan pada bilangan gelombang $1158,64\text{ cm}^{-1}$ dan $108,641\text{ cm}^{-1}$. Adanya regang C=O keton ditunjukkan oleh pita serapan pada bilangan gelombang $1745,63\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan aromatik C=C ditunjukkan dengan adanya puncak pada pita serapan $1633,61\text{ cm}^{-1}$ dan $1019,61\text{ cm}^{-1}$. Hasil tersebut tidak terlalu berbeda jauh dengan daerah serapan dan gugus-gugus fungsional kuersetin. Ketiadaan ulur aromatik C=C diduga karena reaksi antara penyalut dan senyawa flavonoid serta kondisi media pelarut saat perlakuan pH.

4.6 Hasil uji LC-MS

Identifikasi untuk menemukan profil senyawa dan berat molekul yang terdapat pada mikroenkapsul ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* dengan menggunakan uji LC-MS metode *electrospray ionization* (ESI) positif dengan pelarut metanol (MeOH). Hasil uji LC-MS untuk kuersetin sebagai kontrol menunjukkan 1 puncak waktu retensi yaitu 1,4 menit (hasil uji LC/MS pada Lampiran 23). Sedangkan hasil uji LC-MS untuk sampel enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* perlakuan pH 3 menunjukkan 1 puncak waktu retensi yaitu 0,8 menit (hasil uji LC/MS pada Lampiran 24). Pola spektrum LC kuersetin dan sampel dapat dilihat pada Gambar 14 sedangkan pola spektrum MS kuersetin pada Gambar 15 dan pola spektrum MS sampel enkapsulat perlakuan pH 3 pada Gambar 16.

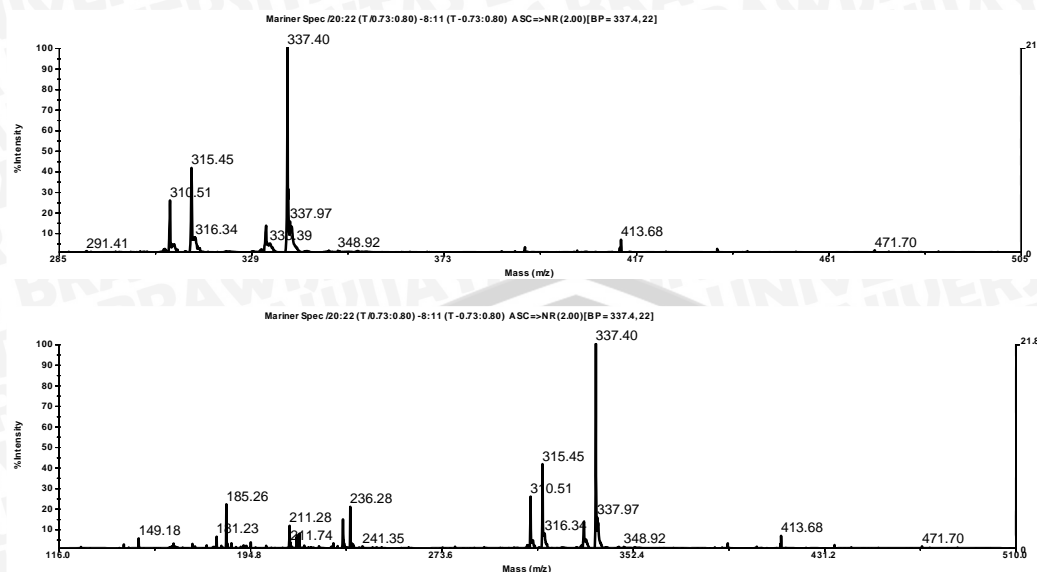


Gambar 14. Spektrum LC (a) kuersetin sebagai kontrol dan (b) enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium*



Gambar 15. Spektrum MS kuersetin sebagai kontrol





Gambar 16. Spektrum MS kapsul ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* 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 $[M+Na]^{\pm}$ dan 303,29 m/z $[M+H]^{\pm}$ —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 kapsul ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium* 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 $[M+H]^{\pm}$. *Peak-peak* yang diduga ion molekuler ini menunjukkan fragmentasi

senyawa dengan berat molekul 314 m/z (Tabel 5). 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.

Tabel 5. Massa ion dan dugaan pecahan ion molekul

Sampel	Massa ion (m/z)	Dugaan pecahan ion molekul	Massa senyawa dugaan (m/z)
Kuersetin	303,29	$C_{15}H_{10}O_7-H$	302
	325,26	$C_{15}H_{10}O_7-Na$	
	627,59	$2(C_{15}H_{10}O_7)-Na$	
Enkapsulat ekstrak kasar teh daun alga coklat S. <i>cristaefolium</i> perlakuan pH3	315,45	$C_{17}H_{14}O_6-H$	314
	337,40	$C_{17}H_{14}O_6-Na$	

Senyawa $C_{15}H_{10}O_7$ dan $C_{17}H_{14}O_6$ kemudian dihitung berdasarkan berat tiap atom untuk memastikan bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul 302 dan 314. Perhitungan dilakukan sebagai berikut.

H = 1,0078
 C = 12,0096
 O = 15,999

Perhitungan = $C_{15}H_{10}O_7$

C	= 15 x 12,0096	= 180,144
H	= 10 x 1,0078	= 10,078
O	= 7 x 15,999	= 111,993
		+
		= 302,215
		= 302,21
		= 302

Perhitungan = $C_{17}H_{14}O_6$

C	= 17 x 12,0096	= 204,1632
H	= 14 x 1,0078	= 14,1092
O	= 6 x 15,999	= 95,994
		<hr/>
		= 314,2664
		= 314,27
		= 314



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 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 λ^{\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'-dimetoksiflavan dengan rumus kimia $C_{17}H_{14}O_6$,

5.1 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

- Abdullah, M dan Khairurrijal. 2009. Review : Karakterisasi Nanomaterial. *Jurnal Nanosains & Nanoteknologi*. **2** (1) : 1-9.
- Alura, N.C., D.P. Alura dan I.C. Casilano. 2016. Sargassum Tea : Its Acceptability and Quality. *International Journal of Current Research*. **8** (7) : 34582-34586.
- 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.
- Anaelle, 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
- Anandharamkrishnan, C., C.D. Rielly, dan A.G.F. Stapley. 2010. Spray-freeze-drying of whey proteins at sub-atmospheric pressures. *Dairy Science & Technology*. **90** : 321–334.
- Anonim. 2016. Material Characteristic Guide. www.omega.com/green/pdf/MaterialChar_Guide.pdf. Diakses tanggal 26 September 2016.
- Arasaki S, dan T. Arasaki. 1983. Low Calorie, High Nutrition Vegetables from the Sea to Help You Look and Feel Better. Japan Publications : Tokyo, hal. 196.
- 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. Skripsi
- Basmal, J., B.S.B. Utomo, Tazwir, Murdinah, Thamrin W, Endar M, Rinta K. 2014. Membuat Alginat dari Rumput Laut Sargassum. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi and S. Meenakshi. 2009. Natural Products : Chemistry and Application. Narosa Publishing House : New Delhi. India.
- Biesalski, H.-K., L.O. Dragsted, I. Elmadfa, R. Grossklaus, M. Mu"ller, D. Schrenk, P. Walter, and P. Weber. 2009. Biactive Compounds : Definition and Assessment of Activity. *Nutrition*. **25** (11-12) : 1202-1205.
- 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.

- Blancard, P. H. dan F. R. Katz. 1995. *Starch Hydrolysis in Food Polysaccharides and Their Application*. Marcell Dekker, Inc. : New York.
- 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.
- Carey, F.A. dan R.J. Sundberg. 2007. *Advanced Organic Chemistry : Part A : Structure and Mechanism*. Springer : New York.
- 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 Nnaosensors 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.
- Donald, R. B., and J. M. Keague. 2015. *Rosemary and Sage Extracts as Antioxidants for Food Preservation – Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. Elsevier: Cambridge.
- Dumitriu, S. 2004. *Polysaccharides: Stuctural Diversity and Fucntional 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.
- Fenn JB, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, C.M. Whitehouse. 1989. Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules. *Science*. **246** : 64–71.
- 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 Rumput 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.

- Garbisa, S., L. Sartor, S. Biggin, B. Salvato, R. Benelli, A. Albini. 2001. Tumor Gelatinases and Invasion Inhibited by the Green Tea Flavanol Epigallocatechin-3-gallate. *Cancer*. **91** : 822–832
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trends. *Trends in Food Science and Technology*. **15** (7–8) : 330–347.
- Guiry, M. D. (2015). *Sargassum (Sargassum) cristaefolium* J. Agardh, 1820. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=211933>. Diakses tanggal 10 Oktober 2016.
- 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 Cristaefolium*. [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).
- Hendrawan, A. 2010. Adsorpsi Unsur Pengotor Larutan Natrium Silikat Menggunakan Zeolit Alam Karangnunggal. [Skripsi]. Univesitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah : Jakarta.
- Herpandi. 2005. Aktivitas Hipokolesterolemik Tepung Rumput Laut pada Tikus Hiperkolesterolemia. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ho, C.S., C.W.K. Lam, M.H.M. Chan, R.C.K Cheung, L.K. Law, L.C.W. Lit, K.F. Ng, M.W.M. Suen, dan H.L. Tai. 2003. Electrospray Ionisation Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications. *Clin Biochem Rev*. **24** : 3-12.
- Hostettman, K., M. Hostettman, A. Marston. 1986. Preparative Chromatography Techniques. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Inggris.
- Hwang, JJ dan S.I. Stupp. 2000. Poly(amino acid) Bioadhesive for Tissue Repair. *J Biomater Sci Polymer Edn*. **11** : 1023-1038.
- Jafari, S. M., E. Assadpoor., Y. He., B. Bhandari. 2008. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Journal of Drying Technology*. **26** : 816-835.
- Kahn, A. P. E., N. R. Sottos, S. R. White and J. S. Moore. 2010. Programmable Microcapsules from Self-Immolative Polymers. *J. am. Chem. Soc*. **40**: 1-3.
- Kang, K., Y. Park, H.J. Hwang, S.H. Kim, J.G. Lee, dan H.C. Shin. 2003. Antioxidative Properties of Brown Algae Polyphenolics and Their Perspectives as Chemopreventive Agents Against Vascular Risk Factors. *Arch Pharm Res*. **26** : 286–293.

- Kennedy, J. F., C. J. Knill and D. W. Taylor. 1995. Maltodextrins – Handbook of Starch Hydrolysis Products and Their Derivatives. Springer: New York.
- Kim, See-Kwon (Ed). 2013. Chitin and Chitosan Derivatives: Advances in Drug Discovery and Developments. CRC Press : Boca Raton.
- Klaypradit, W., dan Y.-W. Huang,. 2008. Fish Oil Encapsulation with Chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT – FoodScience and Technology*. **41** : 1133-1139.
- Kondo .1979. Microcapsule Processing And Technology. Marcel Dekker : New York.
- Kristianingrum, S. 2016. Handout Spektroskopi Ultra Violet dan Sinar Tampak (Spektroskopi UV – VIS). <http://staff.uny.ac.id/sites/default/files/pendidikan/Susila%20Kristianingrum,%20Dra.,%20M.Si./Handout-INSTRUMEN-UV-VIS-Susi.pdf>. Diakses tanggal 26 September 2016.
- _____. 2016. Handout Spektroskopi Inframerah. <http://staff.uny.ac.id/sites/defaultfiles/pendidikan/Susila%20Kristianingrum,%20Dra.,%20M.Si./Handout-INSTRUMEN-IR-Susi.pdf>. Diakses tanggal 26 September 2016.
- Kumar, C.S., P. Ganesan, P.V. Suresh, N. Bhaskar. 2008. Seaweeds as A Source of Nutritionally Beneficial Compounds —a review. *J Food Sci Technol*. **45** : 1–1.
- 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*). *Pharmacon*. **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.
- Maliakal, P.P., P.F. Coville, S. Wanwimolruk. 2001. Tea Consumption Modulates Hepatic Drug Metabolizing Enzymes in Wistar Rats. *J Pharm Pharmacol*. **53** : 569–577
- 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.
- Markham, K.R. 1975. Isolation techniques for flavonoids, dalam The Flavonoids, Harborne, J.B., Mabry, T.J., and Mabry, H., Eds., Academic Press, New York, chap. 1.
- _____. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah: Padmawinata, K. Penerbit ITB : Bandung.
- 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.
- Meena, K.S., N.K. Bairwa, dan B. Parashar. 2011. Formulation and In Vitro Evaluation of Verapamil Hydrochloride Loaded Microcapsule Food Bioprocess Technol Using Different Polymer. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. **1** (3) : 528–538.
- Mosilhey. 2003. Influence of Difference Capsule Material on the Physiological Properties of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Dissertation. Rheinischen Friedrich-Wilhelms University, Bonn.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. **7** (2) : 361-367.
- Mukti W, K.. 2012. Analisis Spektroskopi UV-Vis “Penentuan Konsentrasi Permanganat (KMNO₄)”. <http://kusnantomukti.blog.uns.ac.id/files/2012/06/laporan-UV-Vis.pdf>. Diakses tanggal 26 September 2016.
- Muzarelli, R.A.A. 1998. Colorimetric Determination of Chitosan. *Analytical Biochemistry*. **260** (2) : 255-257.
- Nursiamah, E. 2015. Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Penyalut Kitosan dan Maltodekstrin terhadap Kualitas Enkapsulat Ekstrak Teh Alga Coklat *Sargassum cristaefolium* 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
- Padmawinata, K. dan I. Soediro. 1985. Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi. Penerbit ITB. Bandung. Terjemahan : *Drugs Analisis by Chromatography and Microscopy*, Stahl, E., Michigan.
- Padmawinata, K. 1991. Pengantar Kromatografi. Edisi Ke dua, ITB Press, Bandung. Terjemahan: *Introduction to Chromatography*, Gritter, R.J.: J. M. Bobbit; A. E Schwarting, 1985, Holden Day Inc., USA.
- Pitt, J.J. 2009. Principles and Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry. *Clin Biochem Rev*. **30** (1) : 19-34.
- Ponce-Cevallos, P.A., M.P Buera dan Elizalde, B.E. 2010. Encapsulation of Cinnamon and Thyme Essential Oil Components (Cinnamaldehyde and

Thymol) in β -Cyclodextrin : Effect of Interactions with Water on Complex Stability. *Journal of Food Engineering*. **99** : 70-75.

Rasyid, H.A. 2010. Pemanfaatan Asap Cair Tempurung Kelapa sebagai Bahan Pengawet Ikan Teri Nasi (*Stelophorus commersonii*, Lac) Segar Untuk Tujuan Transportasi. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor : Bogor.

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.

Saputro, A.N.C. 2015. Buku Ajar : Konsep Dasar Kimia Koordinasi. Penerbit Deepublish : Sleman.

Sarifudin, A. 2007. Bandrek Instan, Siap Seduh Tak Perlu Repot. *Inovasi*. **5** : 45-46.

Sarker, S.D., Z. Latif, & A.I., Gray. 2006. Natural Products Isolation. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. hal. 6-10, 18.

Sastrohamidjojo, H. 2005. Kromatografi. Liberty: Yogyakarta.

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. *Agointek*. **6** (1) : 22-28.

Setyamidjaja, D. 2000. Teh Budidaya dan Pengolahan Pasca Panen. Kanisius : Yogyakarta.

Sirait, M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Institut Teknologi Bandung : Bandung.

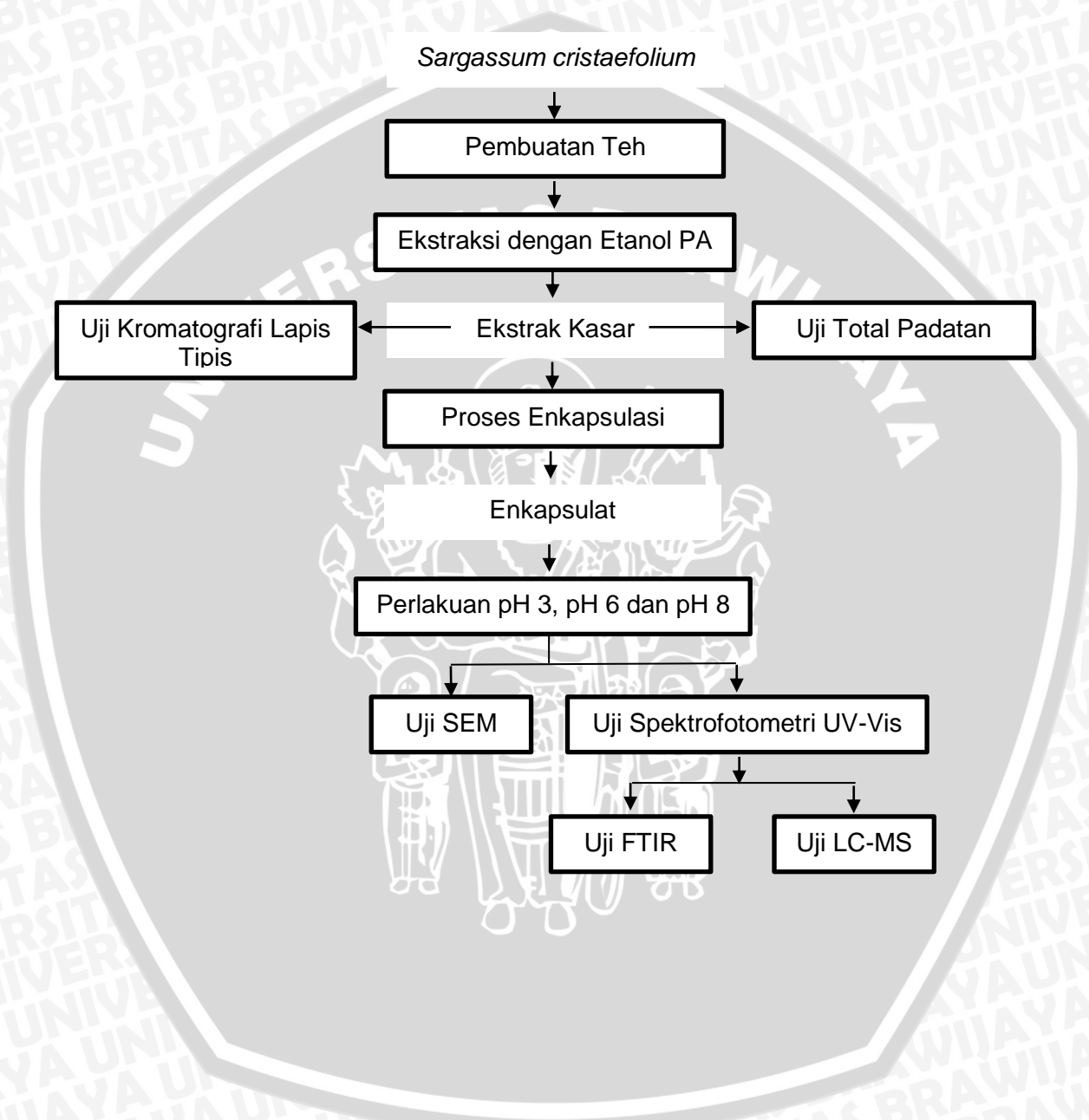
- Smith, B.C. 1996. Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy. CRC Press : Boca Raton. Florida.
- Soe-Htun, U dan T. Yoshida. 1986. Studies on Morphological Variations in *Sargassum cristaefolium* C. Agardh (Phaeophyta, Fucales). *Jap. J. Phycol. (Sorui)*. **34** (4) : 275-281.
- Somantri, R., dan K. Tanti. 2011. Kisah dan Khasiat Teh. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- 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.
- Stephen, A.M., G.O. Phillips, dan P.A. Williams. 2006. Food Polysaccharides and Their Applications. CRC Press : Boca Raton. Florida.
- Suhardjono. 1995. Pengetahuan, Ilmu, Filsafat Ilmu dan Penelitian. Universitas Brawijaya Malang.
- Tamayo, J.P. And E.J. Del Rosario, 2014. Chemical Analysis and Utilization of *Sargassum* sp. as Substrate for Ethanol Production. *Iranica Journal of Energy and Environment*, **5**(2):202-208.
- Tambe, V.D. dan R.S. Bhambar. 2014. Estimation of Total Phenol, Tanin, Alkaloid and Flavonoid in *Hibiscus tiliaceus* Linn. Wood Extracts. *Reserach and Riview : Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **2**(4) : 41-47.
- Thinh, 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.
- Towaha, J., dan Balitri. 2013. Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camellia sinensis*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. **19**: 12-16.
- Vermerris, W., dan R. Nicholson. 2006. Phenolic Compound Biochemistry (Ed.). Springer : Belanda.
- Wang, C., T.-C. Wu, S.-L. Hsieh, Y.-H. Tsai, C.-W. Yeh, C.-Y. Huang. 2015. Antioxiant Activity and Growth Inhibition of Human Colon Cancer Cells by Crude and Purified Fucoidan Preparations Extracted from *Sargassum cristaefolium*. *Journal of Food and Drug Analysis*. **23** : 766-777.
- 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

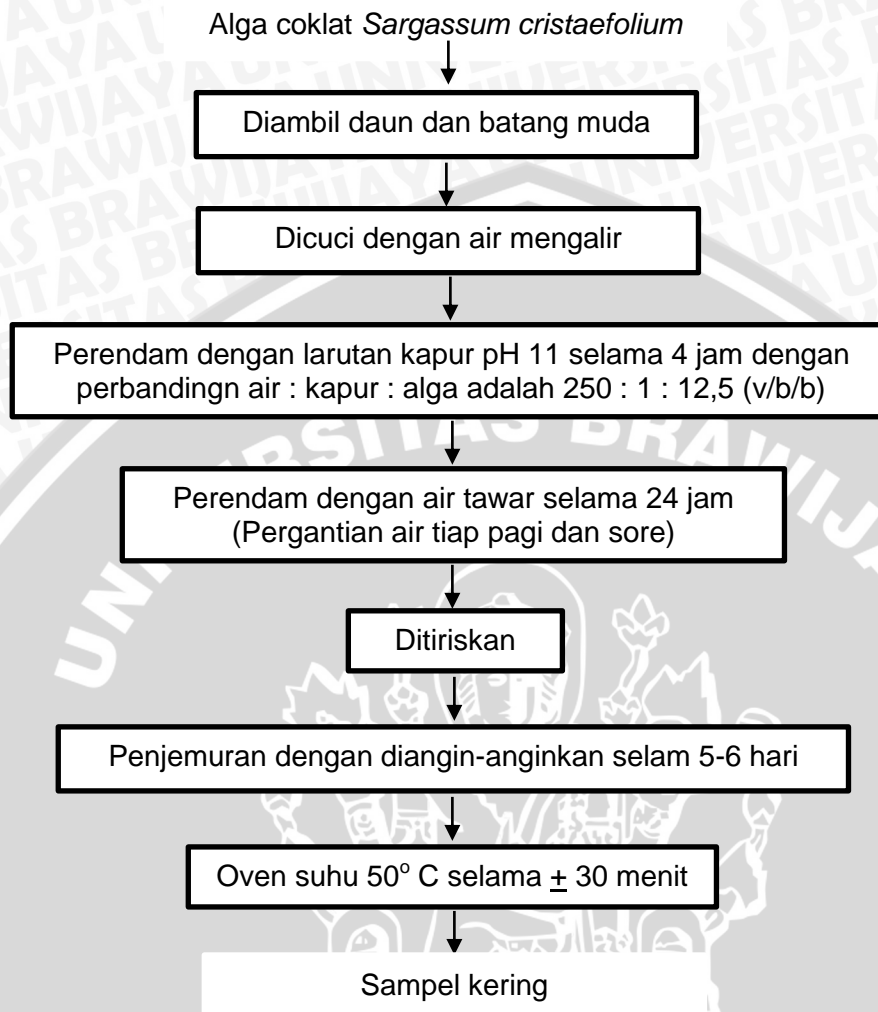
- Wukirsari, T. 2006. Enkapsulasi Ibuprofen dengan Penyalut Alginat dan Kitosan. [Skripsi]. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Yuan, C. W., T.C. Wu, S. L. Hsieh, Y. H. Tsai, C.W. Yeh and C. Y. Huang. 2015. Antioxidant Activity and Growth 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.
- Zhang, C., Y. Ding, Q.E. Ping, L.L. Yu. 2006. Novel Chitosan-Derived Nanomaterials and Their Micelle-Forming Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **54** : 8409-8416.
- Zhang, Y., Y. Yang, K. Tang, X. Hu, dan G. Zou. 2008. Physicochemical Characterization and Antioxidant Activity of Quercetin-Loaded Chitosan Nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science.* **107** : 891-897.



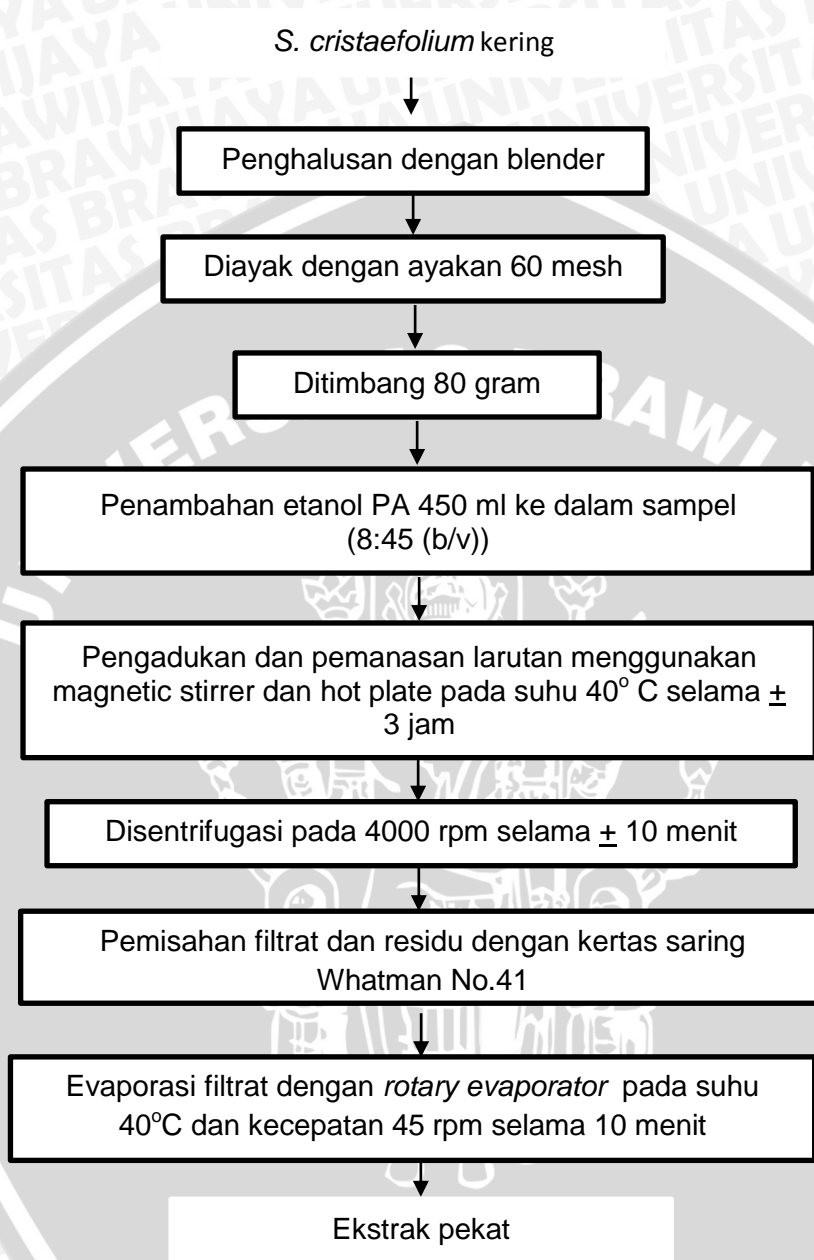
LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur penelitian secara umum



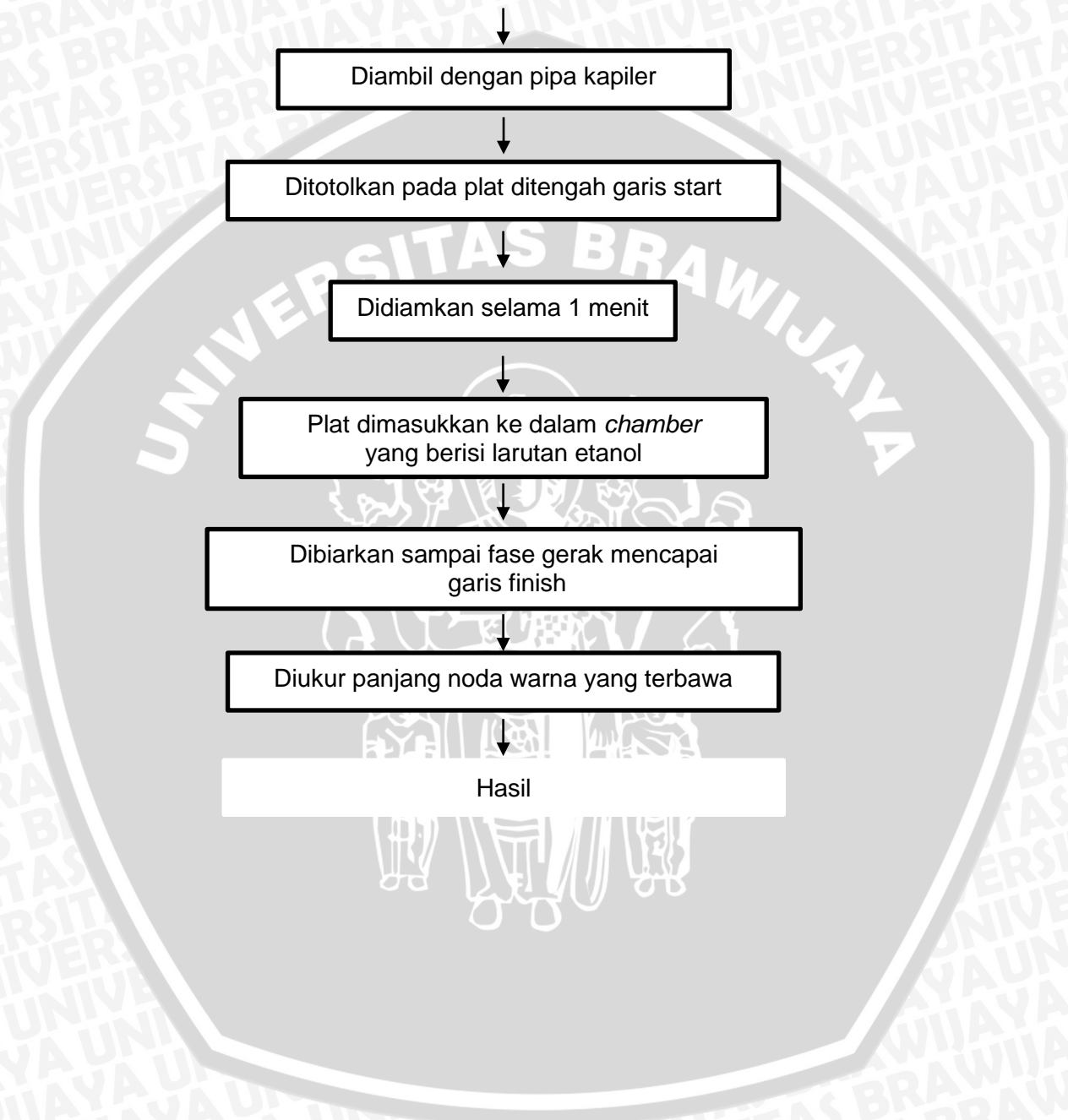
Lampiran 2. Skema proses pembuatan teh daun alga coklat *S. cristaefolium*

Lampiran 3. Skema proses pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristaefolium*

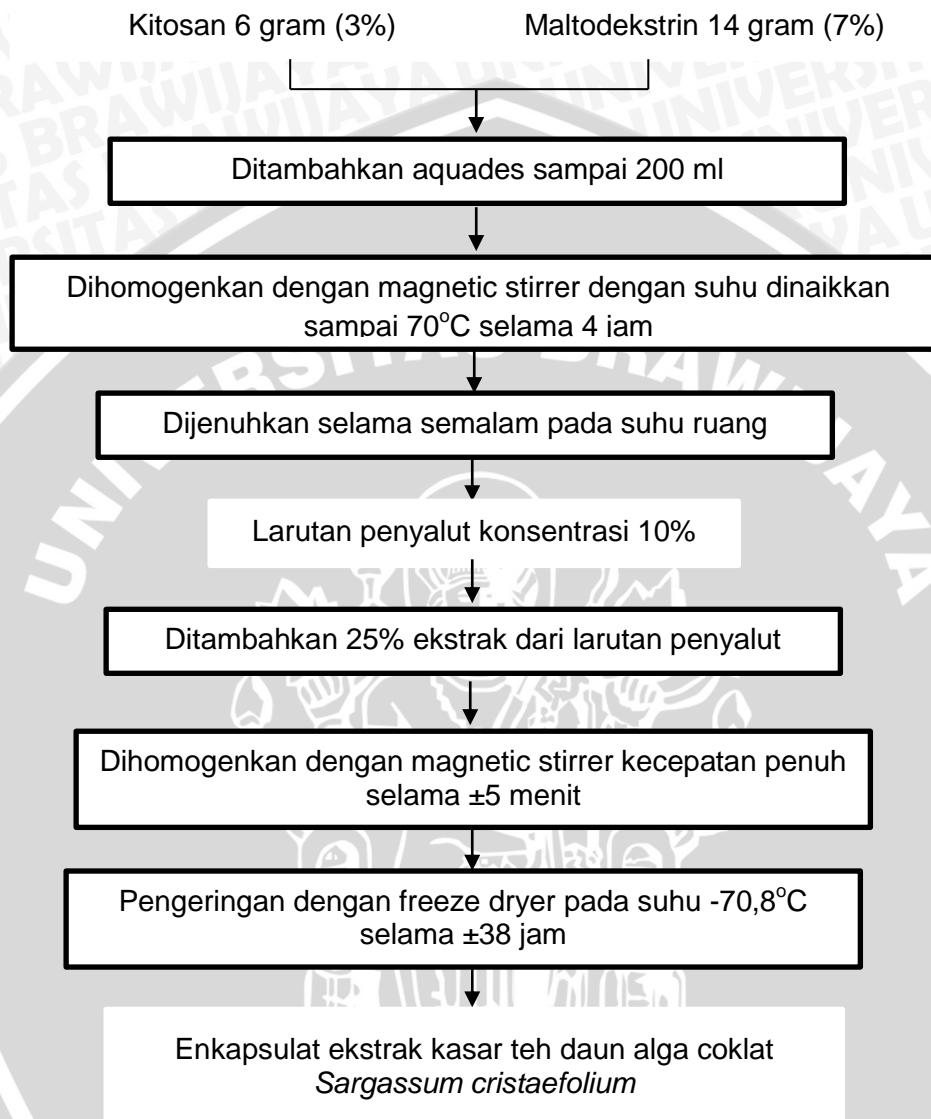


Lampiran 4. Skema proses uji KLT

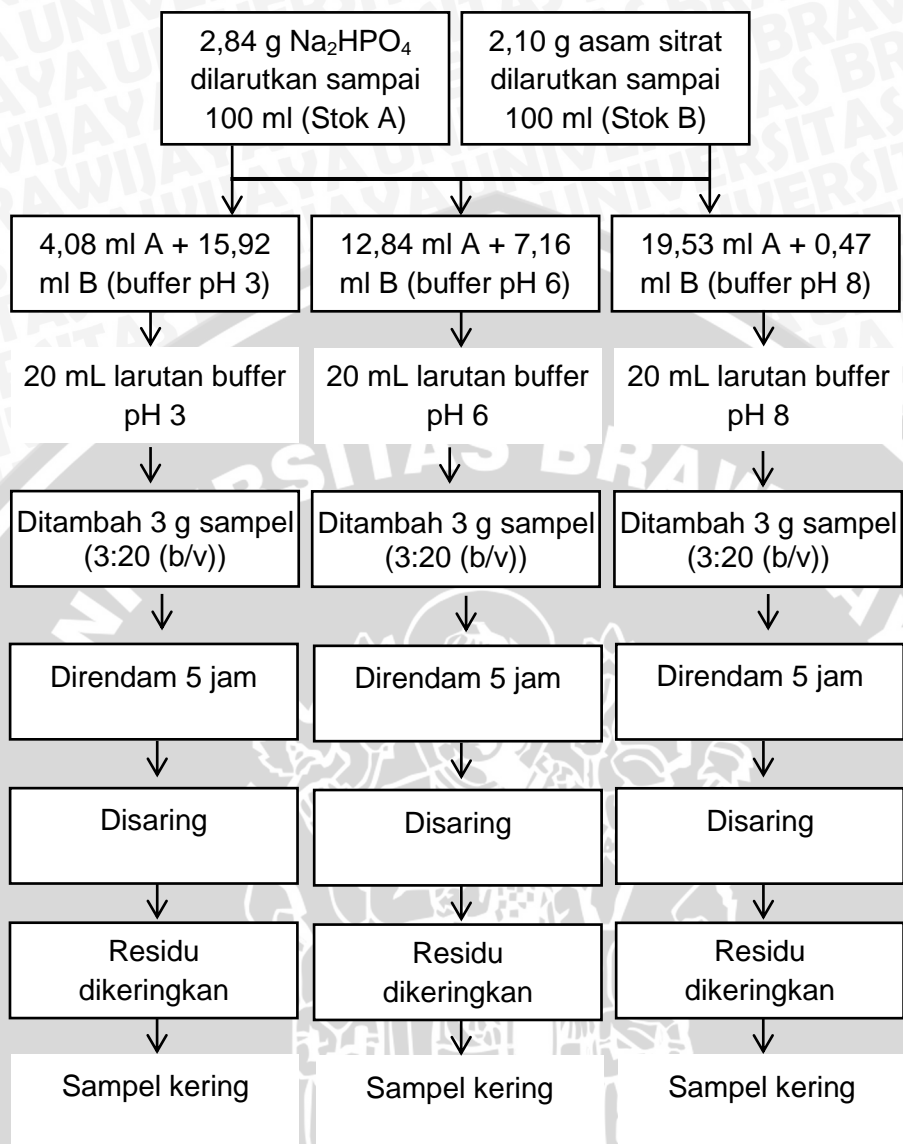
Ekstrak kasar teh daun alga coklat *Sargassum cristaefolium*



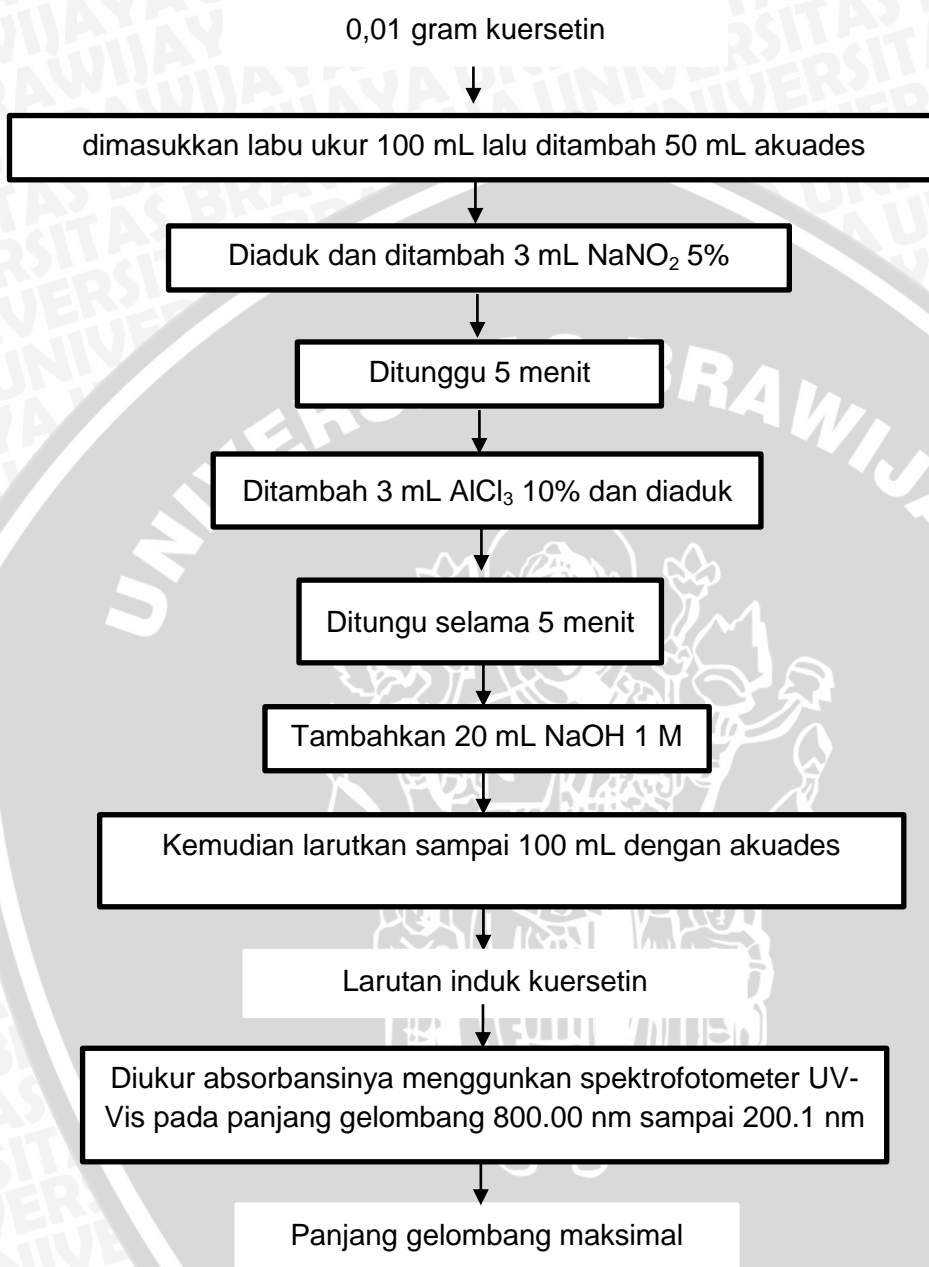
Lampiran 5. Skema proses enkapsulasi

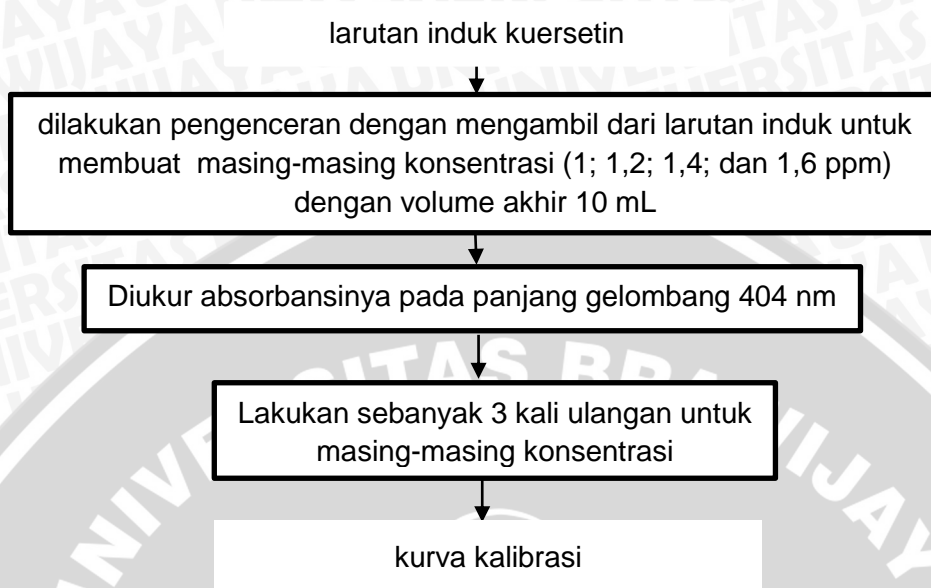


Lampiran 6. Skema proses perlakuan pH

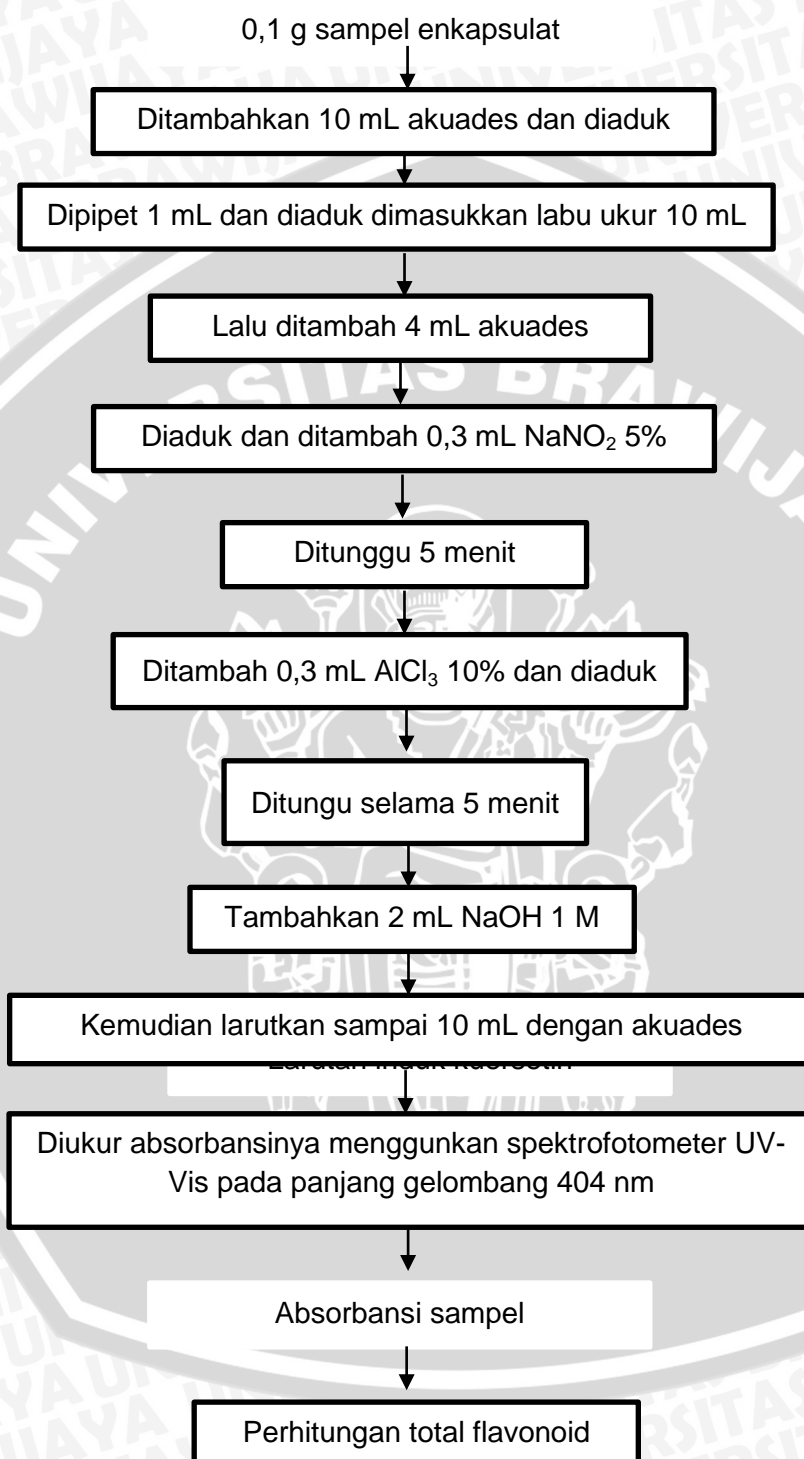


Lampiran 7. Skema proses pembuatan larutan induk kuersetin dan pengukuran panjang gelombang maksimal kuersetin



Lampiran 8. Skema proses pembuatan larutan standar kuersetin untuk pembuatan kurva baku

Lampiran 9. Skema proses pengukuran absorbansi sampel enkapsulat tiap perlakuan pH



Lampiran 10. Prosedur perhitungan rendemen (Aulia, 2012)

Prosedur analisis perhitungan rendemen adalah sebagai berikut :

1. Timbang berat bahan awal (a)
2. Timbang berat enkapsulat setelah proses enkapsulasi (b)
3. Hitung dengan memasukkan pada rumus berikut :

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

Keterangan :

A = berat awal sampel (g)

B = berat akhir sampel (g)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 11. Gambar proses pembuatan teh daun alga coklat *S. cristaeifolium*



Lampiran 12. Gambar proses pembuatan ekstrak kasar teh daun alga coklat *S. cristefolium*



Teh *S. cristefolium* kering



Dihaluskan



Diayak



Direndam dengan diaduk



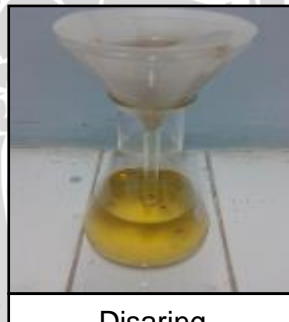
Ditambah etanol PA 450 ml



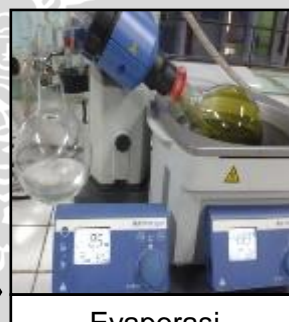
Ditimbang 60 g



Disentrifugasi



Disaring



Evaporasi



Ekstrak pekat

Lampiran 13. Gambar proses enkapsulasi



Lampiran 14. Perhitungan total padatan

Total Padatan

Ulangan	Berat (g)		Kadar Total Padatan (g/ml)
	A	B	
1	22,3301	32,9276	0,4239
2	22,5746	32,9296	0,4142
3	22,4965	36,2090	0,5485
Rata-rata Kadar Total Padatan			0,4622

Jadi, satu ml ekstrak pekat mengandung 0,4622 g padatan

Total padatan yang akan dikapsul sebesar 25% dari 10% penyalut (1:4)

Total padatan yang akan dikapsul = $\frac{25}{100} \times 20 \text{ gram} = 5 \text{ gram}$

Volume ekstrak yang ditambahkan = $\frac{5}{0,4622} = 10,82 \text{ ml}$



Lampiran 15. Perhitungan larutan stok untuk buffer

- Kebutuhan dinatrium fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M untuk larutan 100 ml

$$M = \frac{\text{massa } \text{Na}_2\text{HPO}_4}{Mr} \times \frac{1000}{p}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{massa } \text{Na}_2\text{HPO}_4}{141,96} \times \frac{1000}{100}$$

$$\text{Massa } \text{Na}_2\text{HPO}_4 = 2,84 \text{ g}$$

- Kebutuhan asam sitrat monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0,1 M untuk larutan 100 ml

$$M = \frac{\text{massa } \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}}{Mr} \times \frac{1000}{p}$$

$$0,1 \text{ M} = \frac{\text{massa } \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}}{210,14} \times \frac{1000}{100}$$

$$\text{Massa } \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O} = 2,10 \text{ g}$$



Lampiran 16. Perhitungan nilai Rf

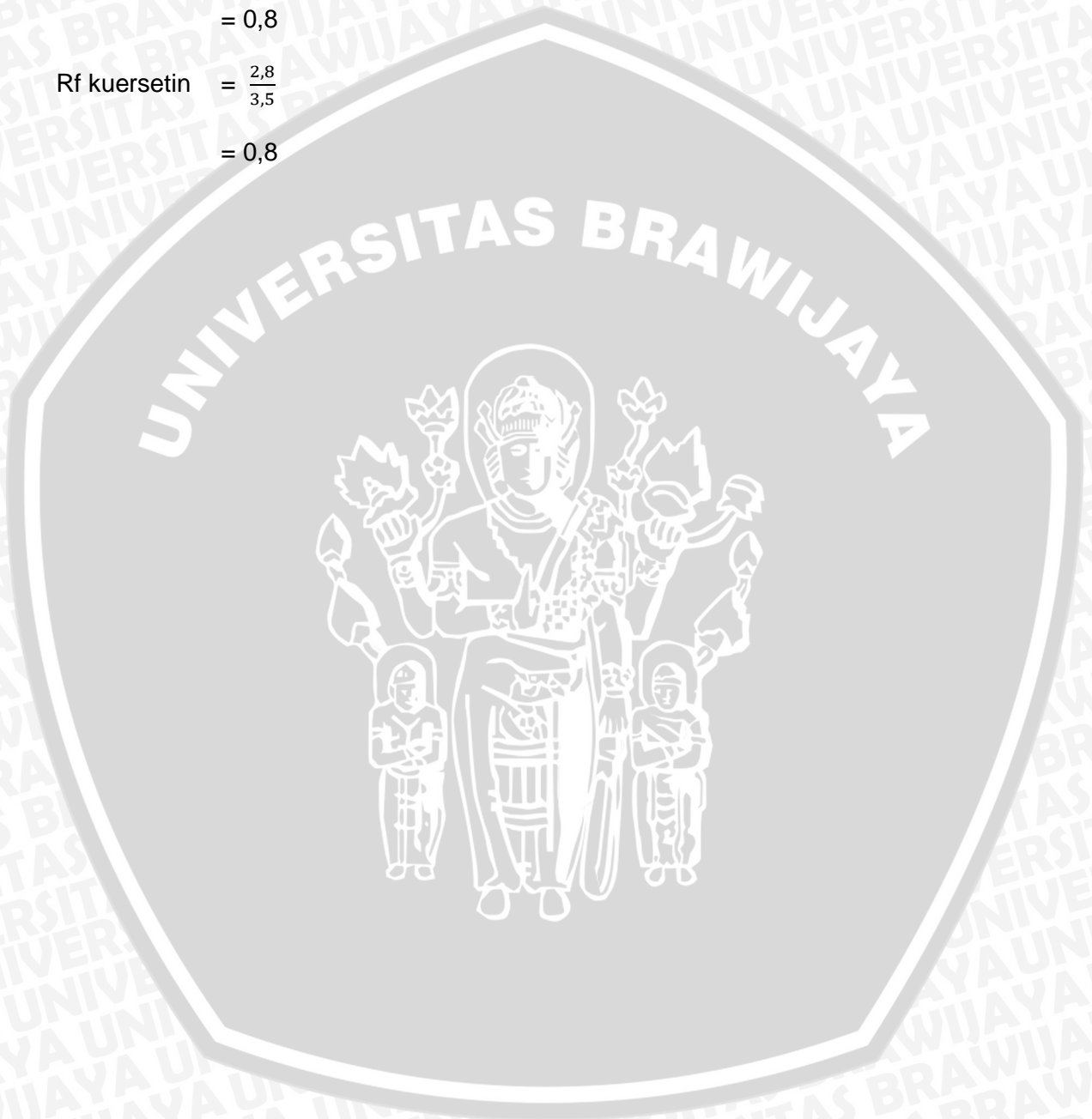
$$Rf \text{ sampel} = \frac{\text{jarak yang ditempuh noda sampel}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

$$= \frac{2,8}{3,5}$$

$$= 0,8$$

$$Rf \text{ kuersetin} = \frac{2,8}{3,5}$$

$$= 0,8$$



Lampiran 17. Perhitungan rendemen

Rendemen:

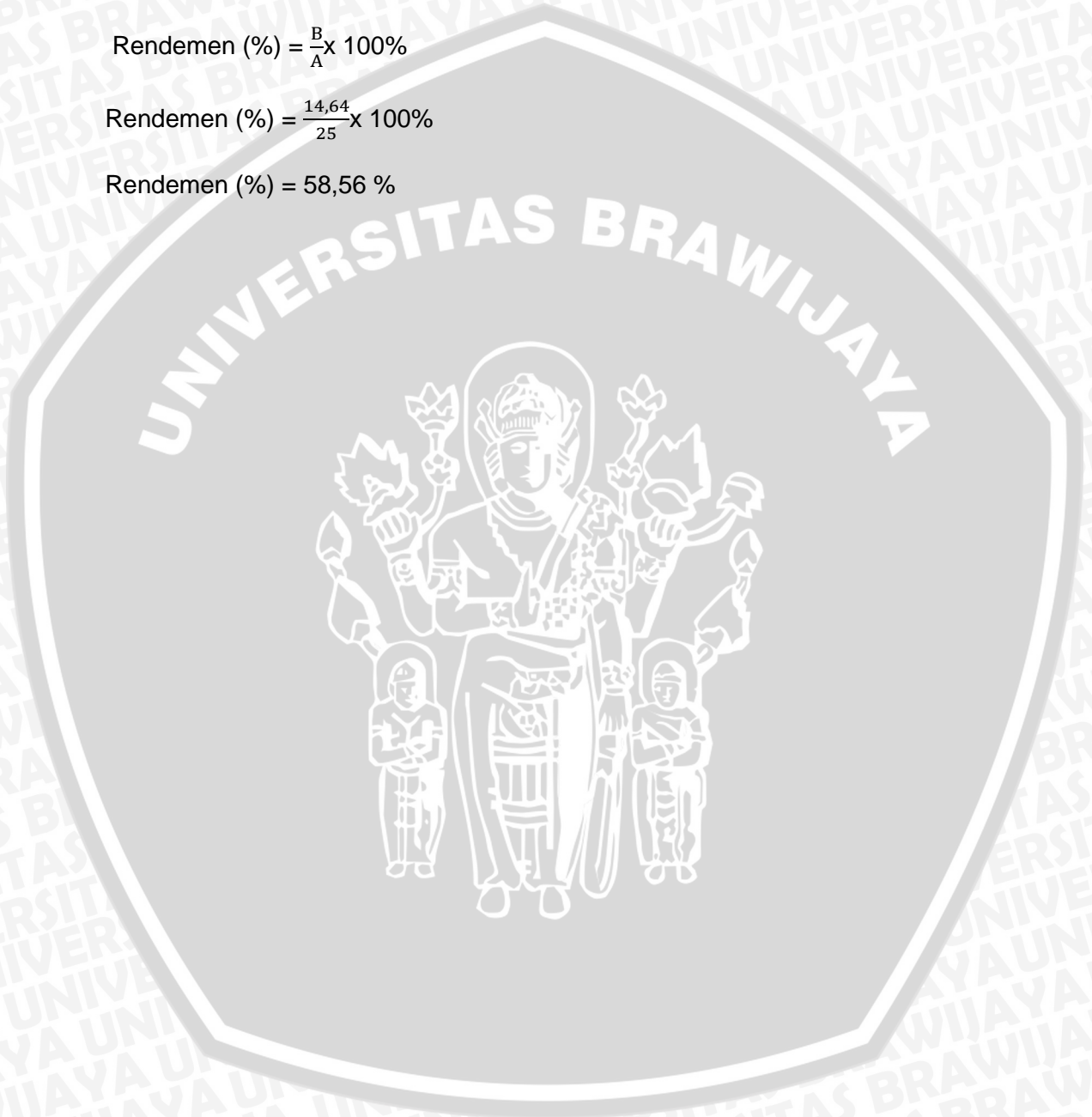
Berat sampel (A) : 25 gram

Berat akhir (enkapsulat) (B) : 14,64 gram

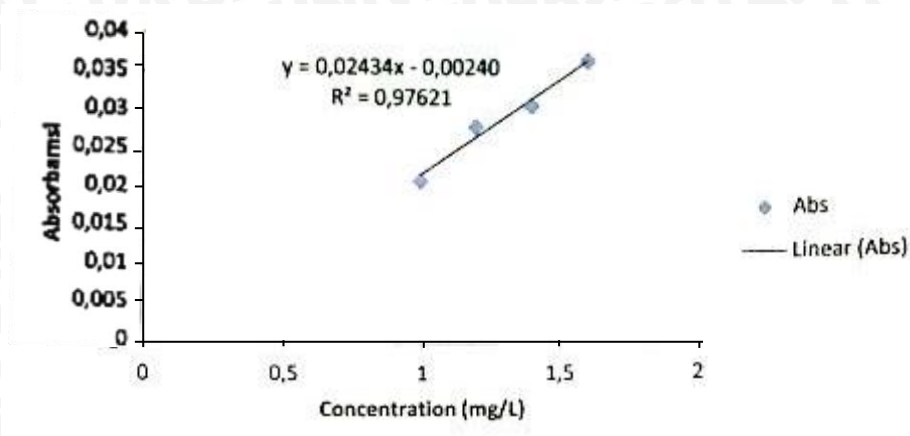
$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{B}{A} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{14,64}{25} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 58,56 \%$$



Lampiran 18. Perhitungan total flavonoid setelah perlakuan pH



Keterangan :

y = absorbansi

x = konsentrasi kuersetin (mg/L)

R² = koefisien korelasi

Rumus perhitungan total flavonoid :

$$C = C1 \times \frac{V}{m} \times FP$$

Keterangan :

C = Total flavonoid (mg/g ekstrak)

C1 = konsentrasi kuersetin berdasarkan kurva kalibrasi (mg/L)

FP = Faktor pengencer

m = Berat ekstrak (g)

V = volume ekstrak (L)

Perlakuan	Absorbansi (404 nm)			
	Ulangan			Rerata
	I	II	III	
pH 3	0,6961	0,6988	0,7084	0,7011
pH 6	0,1616	0,1737	0,1703	0,1685
pH 8	0,0210	0,0200	0,0199	0,0203

1. Perlakuan pH 3

Absorbansi : 0,7011

$$y = 0,02434 x - 0,00240$$

$$0,7011 = 0,02434 x - 0,00240$$

$$x = \frac{0,7011 + 0,00240}{0,02434}$$

$$x = 28,9030 \text{ mg/L}$$

masukkan x sebagai C1

$$\begin{aligned} C &= C1 \times \frac{V}{m} \times FP \\ &= 28,9030 \text{ mg/L} \times \frac{0,001 \text{ L}}{0,1 \text{ g}} \times 10 \\ &= 2,8903 \text{ mg QE/g ekstrak} \end{aligned}$$

2. Perlakuan pH 6

Absorbansi : 0,1685

$$y = 0,02434 x - 0,00240$$

$$0,1685 = 0,02434 x - 0,00240$$

$$x = \frac{0,1685 + 0,00240}{0,02434}$$

$$x = 7,02136 \text{ mg/L}$$

masukkan x sebagai C1

$$\begin{aligned} C &= C1 \times \frac{V}{m} \times FP \\ &= 7,02136 \text{ mg/L} \times \frac{0,001 \text{ L}}{0,1 \text{ g}} \times 10 \\ &= 0,7021 \text{ mg QE/g ekstrak} \end{aligned}$$

3. Perlakuan pH 8

Absorbansi : 0,0203

$$y = 0,02434 x - 0,00240$$

$$0,0203 = 0,02434 x - 0,00240$$

$$x = \frac{0,0203+0,00240}{0,02434}$$

$$x = 0,93262 \text{ mg/L}$$

masukkan x sebagai C1

$$C = C1 \times \frac{V}{m} \times FP$$

$$= 0,93262 \text{ mg/L} \times \frac{0,001 \text{ L}}{0,1 \text{ g}} \times 10$$

$$= 0,0933 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 19. Hasil spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang maksimal kuersetin

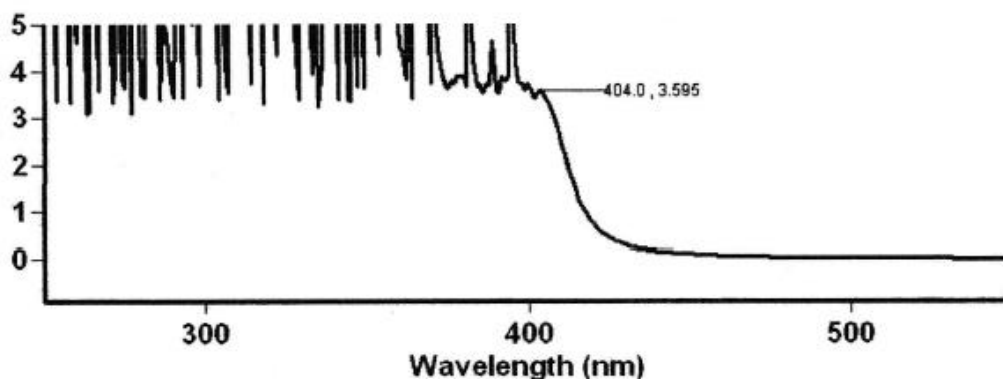
5/18/2016

Laboratorium Kimia – Fakultas Saintek

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Lamdha Maks Quercetin 100 ppm

Tanggal Analisa : 18 Mei 2016



Scan Analysis Report

Report Time : Wed 18 May 08:14:46 AM 2016

Method:

Batch: D:\Layanan Analisa\UB\Fitria Tahta A\Lamdha Maks Quercetin 100 ppm (18-05-2016).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Quercetin

Collection Time

5/18/2016 8:15:51 AM

Peak Table

Peak Style

Peak Threshold

Range

Peaks

0.0100

800.0nm to 200.1nm

Wavelength (nm)	Abs	Wavelength (nm)	Abs
404.0	3.595	297.0	10.000
400.0	3.750	295.0	10.000
395.0	10.000	292.0	10.000
391.9	3.896	287.0	5.095
389.0	4.652	284.9	10.000
387.0	3.753	282.0	10.000
385.0	3.714	279.0	10.000
382.0	10.000	276.0	10.000
380.0	3.896	273.0	10.000
376.0	3.803	270.0	10.000
371.0	10.000	266.0	10.000
369.0	10.000	262.0	10.000
363.0	10.000	259.0	10.000
358.9	10.000	257.0	10.000
353.0	10.000	253.1	10.000
348.1	10.000	246.9	10.000
346.0	10.000	243.0	10.000
343.1	10.000	241.0	10.000
340.0	10.000	238.0	3.986
334.0	10.000	235.0	10.000
332.0	10.000	232.1	3.559
327.0	10.000	230.0	10.000
320.9	10.000	225.0	10.000
317.0	10.000	222.0	4.499
313.0	10.000	219.1	4.118
305.0	10.000	217.0	4.060
303.0	10.000	215.0	3.874



5/18/2016

Laboratorium Kimia - Fakultas Saintek
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Wavelength (nm)	Abs
211.1	3.769
208.1	4.126
204.0	3.862



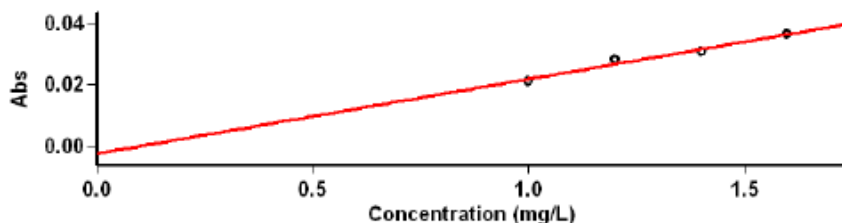
Lampiran 20. Kurva baku kuersetin

8/31/2016

Laboratorium Kimia – Fakultas Saintek
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Kurva Baku Quercetin Konsentrasi 1.0-1,6 ppm

Tanggal Analisa : 31 Agustus 2016



Concentration Analysis Report

Report time 8/31/2016 8:18:12 AM
 Method
 Batch name D:\Layanan Analisa\UB\Fitria Tahta A\Kurva Standar Quercetin lppm -1.6 ppm (31-08-2016)
 Application Concentration 3.00(339)
 Operator Susi

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 404.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Standard/Sample averaging OFF
 Weight and volume corrections OFF
 Fit type Linear
 Min R² 0.95000
 Concentration units mg/L

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1270)	404.0

Calibration

Collection time 8/31/2016 8:19:11 AM

Standard	Concentration mg/L	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Std 1	1.0		0.0213	0.0004	1.87	0.0217
						0.0213
						0.0209
Std 2	1.2		0.0282	0.0002	0.84	0.0280
						0.0280
						0.0284
Std 3	1.4		0.0309	0.0001	0.28	0.0309
						0.0309
						0.0308



8/31/2016

Laboratorium Kimia – Fakultas Saintek
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Std 4					0.0364
					0.0368
	1.6	0.0366	0.0002	0.56	0.0366

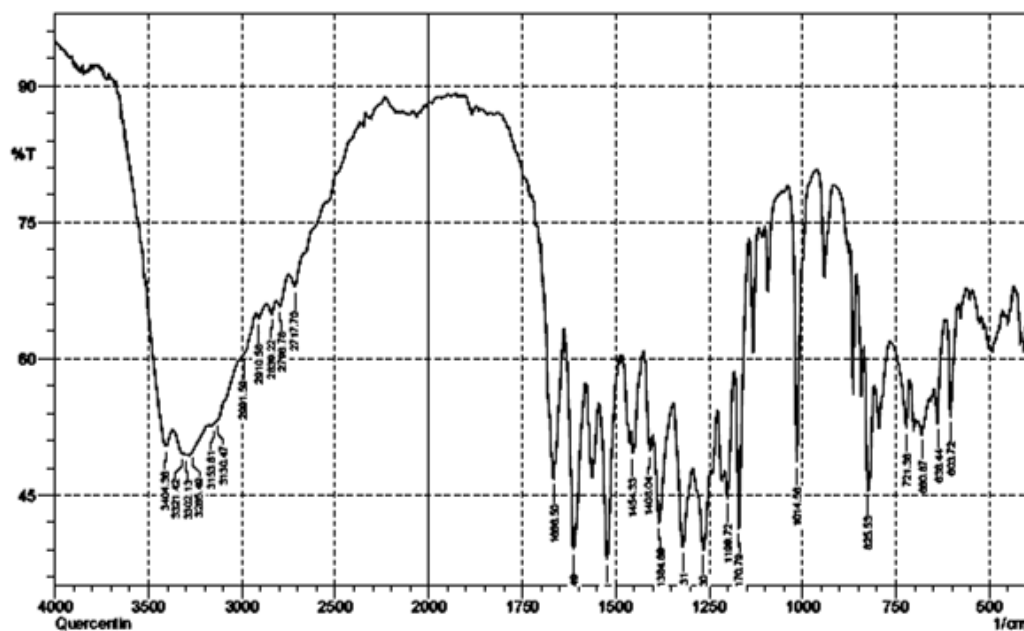
Calibration eqn Abs = 0.02434*Conc -0.00240
 Correlation Coefficient 0.97621
 Calibration time 8/31/2016 8:21:40 AM

Results Flags Legend

U = Uncalibrated O = Overrange
 N = Not used in calibration R = Repeat reading



Lampiran 21. Hasil FT-IR kuersetin



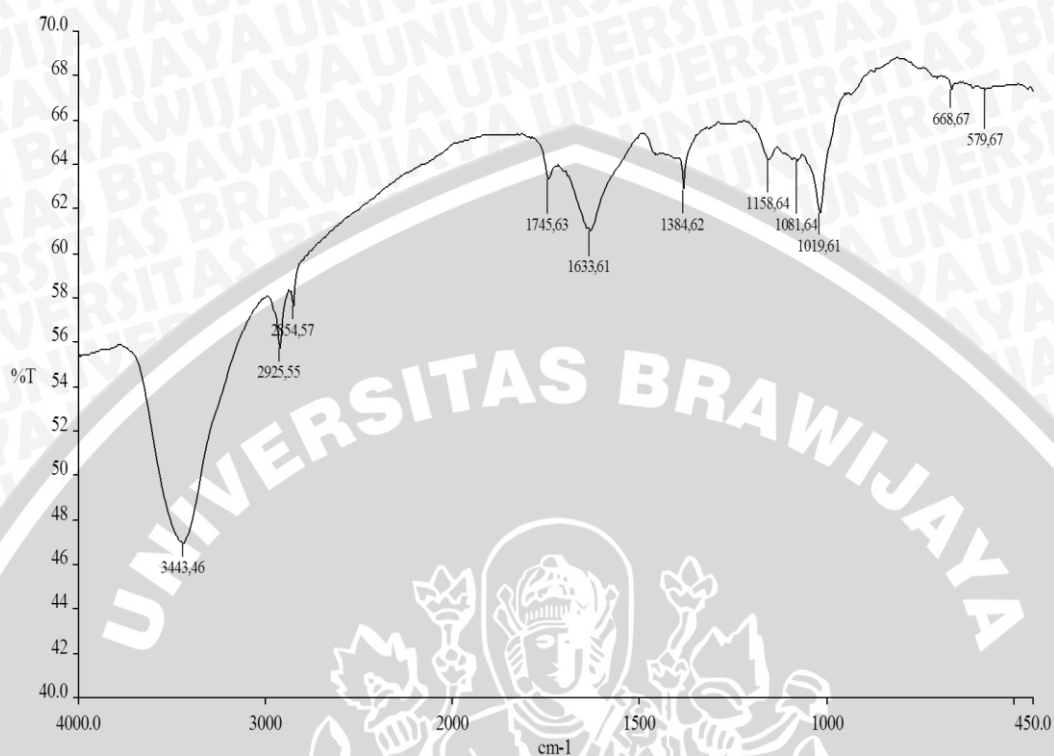
Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area	
1	603.72	53.632	11.322	617.22	584.43	7.105	1.001
2	638.44	52.862	5.996	646.15	619.15	6.234	0.378
3	680.67	51.662	2.149	688.59	661.58	7.372	0.239
4	721.38	52.386	5.96	765.74	713.66	12.313	0.664
5	825.53	45.484	14.394	835.18	808.17	7.837	1.858
6	1014.56	48.675	25.297	1037.7	1001.06	6.599	1.98
7	1170.79	41.349	21.582	1182.38	1143.79	9.45	2.447
8	1199.72	44.852	6.655	1207.44	1184.29	6.914	0.593
9	1265.3	39.021	8.704	1292.31	1247.94	16.04	1.795
10	1319.31	39.29	12.197	1344.38	1294.24	17.325	2.758
11	1384.89	41.994	10.679	1400.32	1346.31	16.82	2.122
12	1408.04	49.871	3.773	1425.4	1402.25	6.236	0.337
13	1454.33	49.687	3.496	1458.18	1427.32	8.007	0.369
14	1523.76	37.978	19.015	1544.98	1492.9	18.106	3.568
15	1612.49	39.106	21.365	1635.64	1581.63	16.631	4.617
16	1668.5	46.799	20.618	1701.22	1637.58	15.593	4.826
17	2717.7	67.973	2.587	2750.49	2551.82	27.854	0.91
18	2796.78	65.722	1.542	2816.07	2752.42	11.015	0.297
19	2839.22	64.891	1.351	2866.22	2818	8.831	0.202
20	2910.58	64.365	0.897	2924.09	2868.15	10.398	0.135
21	2991.59	60.431	0.152	2993.52	2926.01	13.788	0.133
22	3130.47	53.24	0.148	3132.4	3016.67	28.691	0.084
23	3153.61	52.75	0.06	3155.54	3134.33	5.86	0.014
24	3265.49	49.72	0.081	3267.41	3192.19	21.919	0.019
25	3302.13	49.422	0.128	3315.63	3296.35	5.89	0.011
26	3321.42	49.58	0.27	3371.57	3317.56	15.856	0.052
27	3404.38	50.42	5.725	3558.74	3373.5	41.708	4.51

Comment;
Quercetin

Date/Time: 7/18/2016 10:38:12 AM
No. of Scans; 40
Resolution; 4 [1/cm]
Apodization; Happ-Genzel



Lampiran 22. Hasil FT-IR senyawa dugaan



Kitosan & Malto pH3 (Freeze).pk

Kitosan & Malto pH3 (Freeze).001 3551 4000 450 46 68 4 %T 1 0

REF 4000 55 2000 64 600

3443 46 2925 55 2854 57 1745 63 1633 61

1384 62 1158 64 1081 64 1019 61 668 67

579 67

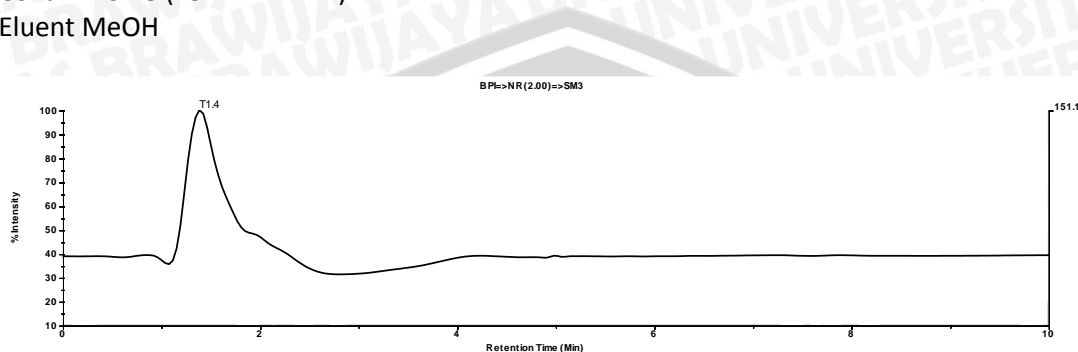
END 11 PEAK(S) FOUND



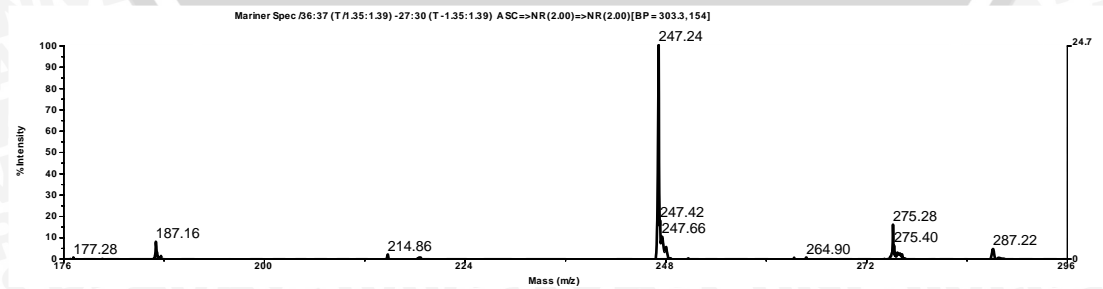
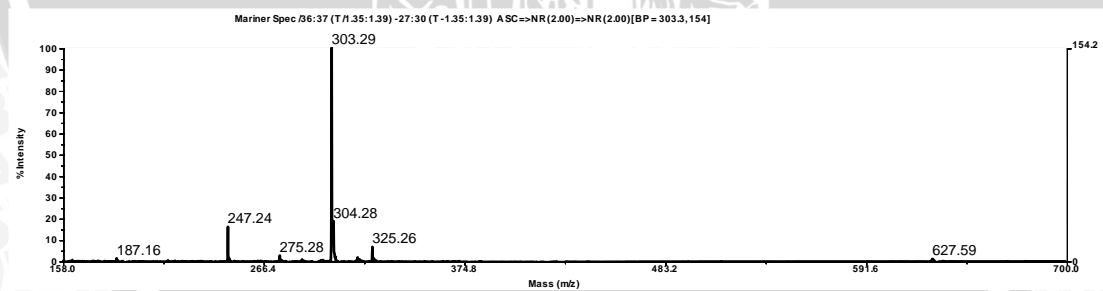
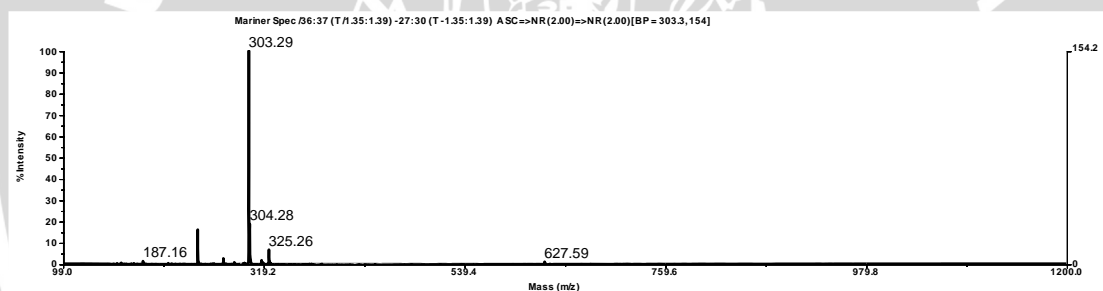
Lampiran 23. Hasil uji LC-MS metode ESI positif terhadap kuersetin sebagai kontrol

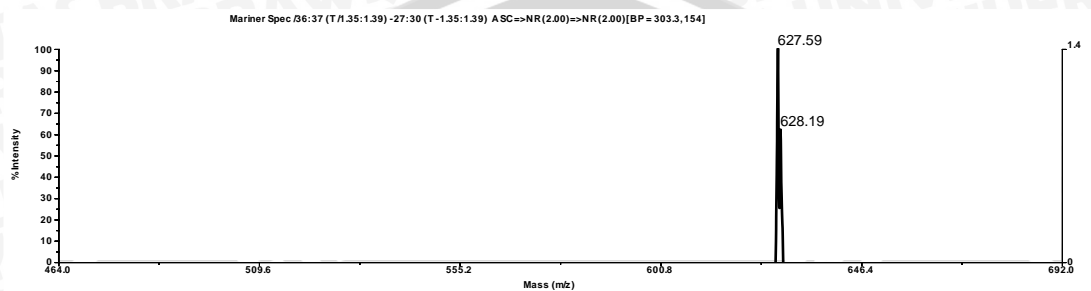
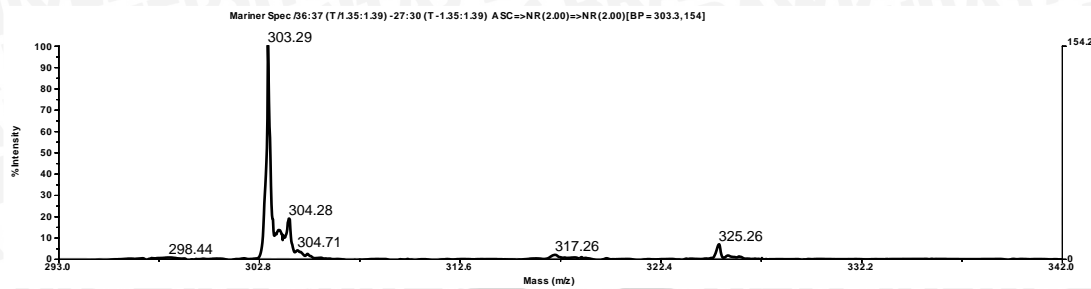
Mhs UB Fitria Standar Quercetin
 Vol injection 2ul
 Flow 0.1 ml/min
 Collumn C-18 (15mm x 1mm)
 Eluent MeOH

LC MS –ESI pos ion



Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	1.389167	1.118950	2.741450	151	1422.92





M+H = 303.29

M+Na = 325.26

2M+Na = 627.59



Lampiran 24. Hasil uji LC-MS metode ESI positif terhadap sampel kapsulat perlakuan pH 3

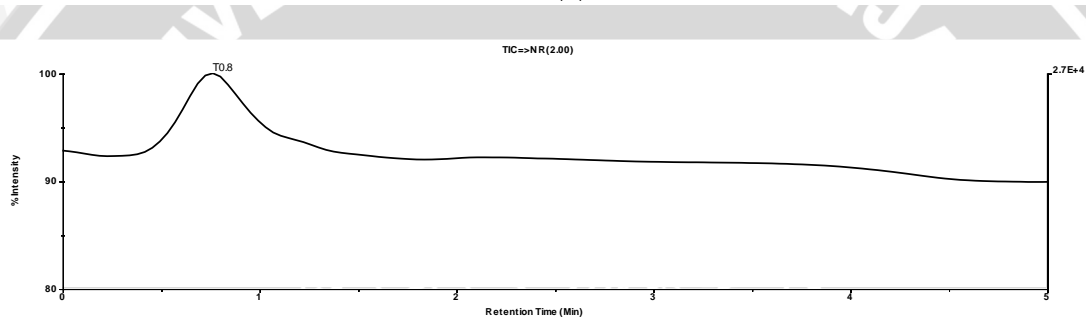
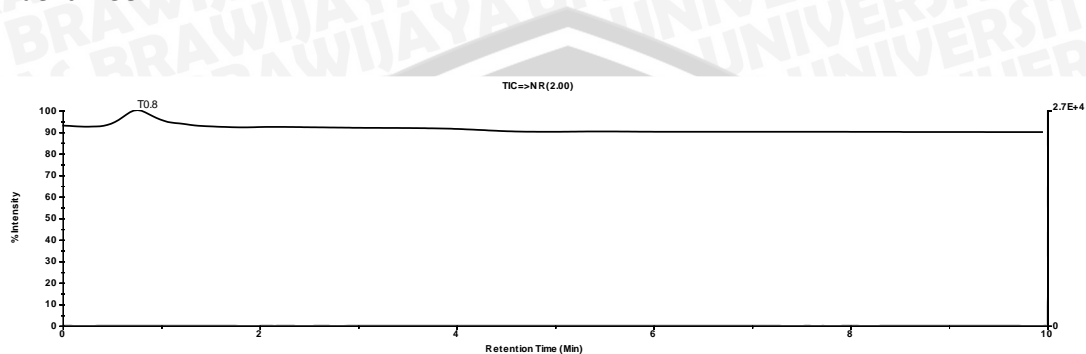
Mhs UB Argo kitosan malto freeze Direct inject

LC MS –ESI pos ion

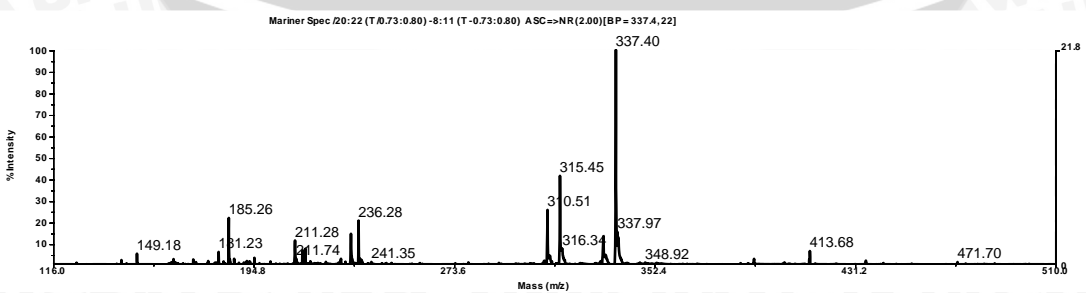
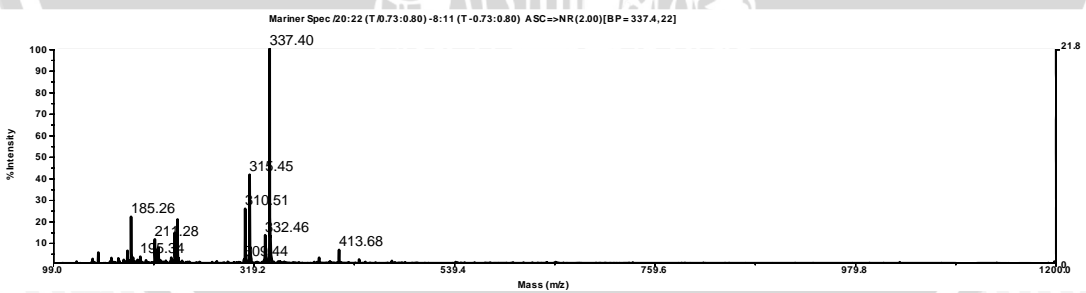
Vol injection 2ul

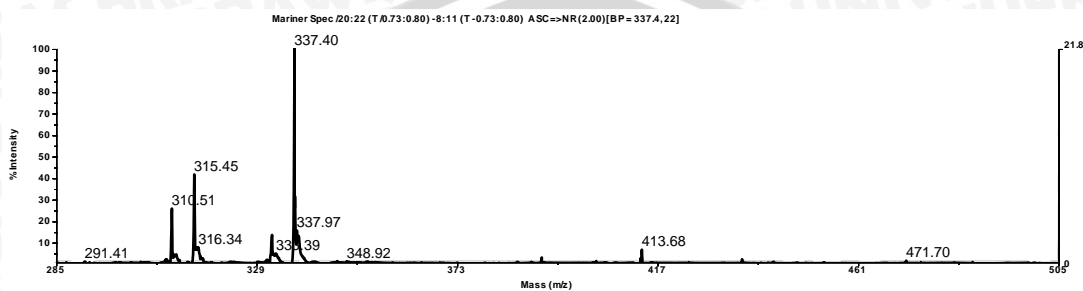
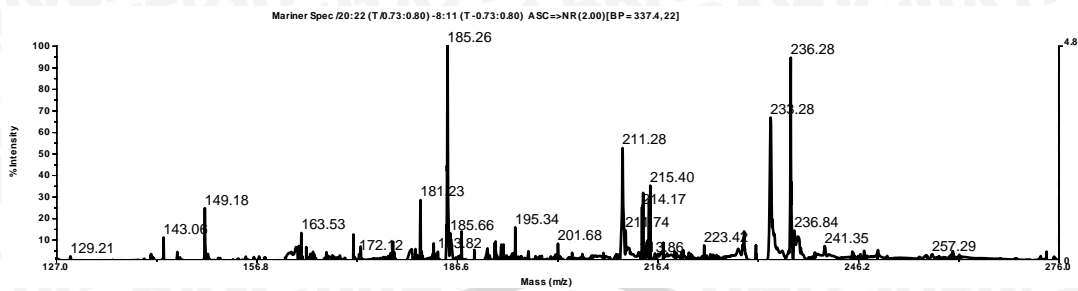
Flow 0.1 ml/min

Eluent MeOH

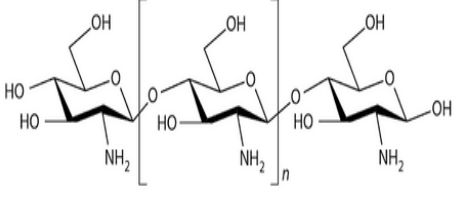
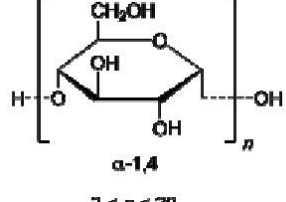


Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	0.764100	0.303267	1.799417	26828	26300.95





Lampiran 25. Sifat-sifat penyalut (kitosan dan maltodekstrin)

Spesifikasi	Kitosan	Maltodekstrin
Rumus molekul	$C_{24}H_{36}O_{25}S_2^{-2}$	$(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$
Struktur kimia		 <p style="text-align: center;">α-1,4 $2 < n < 20$</p>
Berat molekul	3.800 dan 500.000 g/mol	504.437 g/mol
Konstanta dielektrik	3,94	2,42
Jumlah unit (n)	2000-3000	3 – 20
Sifat	<ul style="list-style-type: none"> - Berat molekul yang tinggi, - sifat polielektrolit, - keberadaan gugus fungsional, - kemampuan untuk membentuk gel pada kondisi asam, - kemampuan mengadsorpsi. - sifat bioaktif, - pengkelat, - tidak beracun, - kitosan dapat dimodifikasi secara kimia dan enzimatik dan bersifat biodegradabel dan biokompatibel dengan sel dan jaringan manusia. - Keterbatasan penggunaan kitosan saat ini adalah karena sifatnya yang tidak larut dalam air. - Kitosan juga tidak larut dalam beberapa pelarut organik seperti alkohol, aseton, dimetil formamida dan dimetilsulfoksida - tetapi kitosan larut baik dalam asam asetat dan asam format berkonsentrasi rendah - Kelarutan kitosan dipengaruhi oleh bobot molekul, derajat deasetilasi, dan rotasi spesifiknya yang beragam, bergantung pada sumber dan metode isolasi serta transformasinya 	<ul style="list-style-type: none"> - Dalam bentuk sol mengalami hidrasi dan pembengkakan. - Pada konsentrasi tinggi membentuk Kristal. - Transisi sol menjadi gel terjadi cukup lambat, diikuti proses hidrasi dan penggabungan dengan ikatan heliks lain. - Gel bersifat kurang stabil terhadap mekanik, elastisitasnya rendah, sangat kaku dan sangat keruh, serta sifat pelelehannya rendah saat dipanaskan. - Konstanta dielektrik mempengaruhi sifat gelasinya, dimana semakin tinggi KD maka semakin tidak tergelatinisasi dan sebaliknya.