

**POTENSI SENYAWA BIOAKTIF PADA *SARGASSUM Sp.*
SEBAGAI ANTIINFLAMASI: STUDI PENDAHULUAN**

**Faisal
J045 181 005**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**Potensi Senyawa Bioaktif Pada *Sargassum Sp.* Sebagai
Antiinflamasi: Studi Pendahuluan**

***POTENTIAL BIOACTIVE COMPOUNDS OF SARGASSUM Sp.
AS AN ANTI-INFLAMMATORY: A PRELIMINARY STUDY***

Faisal



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**POTENSI SENYAWA BIOAKTIF PADA *SARGASSUM SP*
SEBAGAI ANTIINFLAMASI: STUDI PENDAHULUAN**

Karya Tulis Akhir

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial

**Program Studi
PPDGS Bedah Mulut dan Maksilofasial**

Disusun dan di ajukan oleh

Faisal

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**POTENSI SENYAWA BIOAKTIF PADA *SARGASSUM SP* SEBAGAI
ANTIINFLAMASI: STUDI PENDAHULUAN**

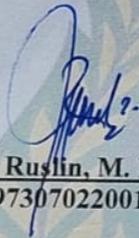
FAISAL

NIM: J045 181 005

Setelah membaca karya tulis akhir ini dengan seksama menurut pertimbangan kami,
Karya Tulis Akhir ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, Desember 2022

Pembimbing I



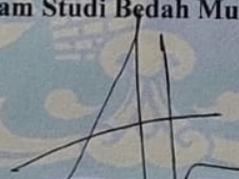
Prof. drg. Muhammad Ruslin, M. Kes., Ph.D., Sp.BM (K)
NIP 197307022001121001

Pembimbing II



drg. Mohammad Gazali, MARS., Sp.BM (K)
NIP 196912121999031006

Mengetahui
Ketua Program Studi Bedah Mulut Dan Maksilofasial,



drg. Andi Tajrin, M.Kes., Sp.BM (K)
NIP 197410102003121002

KARYA TULIS AKHIR

POTENSI SENYAWA BIOAKTIF PADA *SARGASSUM Sp*
SEBAGAI ANTIINFLAMASI: STUDI PENDAHULUAN

Yang disusun dan diajukan oleh

FAISAL

NIM: J045 181 005

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 29 Desember 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing I

Prof. drg. Muhammad Ruslin, M. Kes., Ph.D., Sp.BM(K)
NIP. 197307022001121001

Pembimbing II

drg. Mohammad Gazali, MARS, Sp.BM(K)
NIP. 196912121999031006

Ketua Program Studi Bedah Mulut Dan Maksilofasial



drg. Andi Tajrin, M. Kes., Sp.BM(K)
NIP. 197410102003121002

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp. Pros(K)
NIP. 196311041994011001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertandatangan dibawah ini

Nama : Faisal
NIM : J045181005
Program Studi : PPDGS Bedah Mulut dan Maksilofasial

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis akhir yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan tesis yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan dengan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah, dan etika pedoman penulisan karya tulis akhir.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 29 Desember 2022

Yang menyatakan



Faisal

PRAKATA

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir yang berjudul “**Potensi Senyawa Bioaktif pada *Sargassum sp* Sebagai Antiinflamasi: Studi Pendahuluan**”. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW. Saya mengucapkan terima kasih atas bimbingan dan arahan dari Prof. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes.,Ph.D.,Sp.BM(K) dan drg. Mohammad Gazali, MARS., Sp.BM(K) sebagai pembimbing pertama dan kedua dalam penelitian dan penyusunan karya tugas akhir ini.

Tesis ini disusun untuk memenuhi persyaratan tugas akhir studi yang dijalani penulis di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Ketua Program Studi Bedah Mulut dan Maksilofasial FKG Unhas, drg. Andi Tajrin, M.Kes.,Sp.BM(K), kepada para dosen dan konsulen yang telah membimbing kami dan mencurahkan ilmu pengetahuan dan perhatian selama menempuh pendidikan yang insya Allah akan menjadi berkah dan amal jariyah bagi guru-guru kami semua. Terima kasih juga saya ucapkan kepada ibu Asmi Citra Malina, S.Pi.,M.Agr.,Ph.D yang telah memberi banyak masukan berharga selama penelitian.

Terima kasih yang tidak terhingga bagi orangtua-orangtua saya yang tercinta, ayahanda H. Hamzah dan H. Ir. Burhan Hamading,M.H, ibunda Hj. Samsiar dan Hj. Rosida Thalib, SH.,M.H atas segala dukungan, kasih sayang , doa yang tulus disetiap shalat yang senantiasa mencerahkan dan menghadirkan kebaikan bagi diri

penulis. Ungkapan terima kasih dan kasih sayang yang tidak terhingga saya tujukan kepada istri tercinta Fadhillah Wardhani Burhan atas dukungan penuh dan kesabaran yang luar biasa dalam mendampingi penulis, membimbing dan mengasuh putra-putri tercinta Faiqah Siti Adzahreena dan Fatih Muhammad Hafidzabqary, semoga kita senantiasa mendapatkan keberkahan dalam mengarungi bahtera rumah tangga dan mewujudkan cita-cita terbaik kedepannya dan menjadi keluarga sakinah, mawaddah, warahmah. Aamiin yaa Rabbal Alamin.

Akhirnya, dengan rasa bangga saya haturkan terima kasih kepada teman-teman seperjuangan, pioner Bedah Mulut dan Maksilofasial FKG Unhas, Rahmad Ritangga, Husni Mubarak, Arwiny Wulandari Hipi, dan Fadel Reza Rafsan Hasmi. Terima kasih juga kepada seluruh teman-teman residen BM Unhas tanpa terkecuali atas supportnya, semoga kita semua bisa mengharumkan dan membanggakan institusi serta profesi Bedah Mulut dan Maksilofasial.

Penulis menyadari bahwa karya tulis akhir ini masih banyak kekurangan. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menghasilkan karya tulis yang lebih baik baik di kemudian hari. Semoga KTA ini dapat bermanfaat bagi Ilmu Kedokteran Gigi pada umumnya serat secara khusus bagi perkembangan Ilmu Bedah Mulut dan Maksilofasial dan pemanfaatan biota laut di Sulawesi Selatan. Wassalamu'alaikum Wr. Wbr.

Makassar, Agustus 2022

Faisal

POTENSI SENYAWA BIOAKTIF PADA SARGASSUM SP SEBAGAI ANTIINFLAMASI: STUDI PENDAHULUAN

ABSTRAK

Latar Belakang: *Sargassum sp* merupakan alga cokelat yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* yang memiliki senyawa bioaktif dengan potensi antiinflamasi. Inflamasi adalah respon tubuh terhadap cedera yang terkait dengan efek berbahaya dalam kondisi kronis.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif *Sargassum sp* yang berpotensi sebagai bahan antiinflamasi.

Metode: Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium, dengan desain penelitian observasional. Sampel dipreparasi dan dilakukan ekstraksi senyawa aktif *Sargassum sp* dengan metode maserasi. Dilakukan identifikasi fukosterol dengan analisis LC-MS dan analisis GC-MS, kemudian dilakukan uji FTIR senyawa aktif *Sargassum sp*.

Hasil: Terdapat kandungan fukosterol pada sampel ekstrak *Sargassum sp* yang diidentifikasi dengan analisis GC-MS.

Kata kunci: *Brown Algae, Sargassum, fukosterol, antiinflamasi, analisis kromatografi, spektrometri massa.*

POTENTIAL BIOACTIVE COMPOUNDS IN SARGASSUM SP AS AN ANTI-INFLAMMATORY: A PRELIMINARY STUDY

ABSTRACT

Background: *Sargassum sp* is one of the brown algae from class *Phaeophyceae* which has bioactive compounds with anti-inflammatory potential. Inflammation is the host's response to injury which is associated with harmful effects in chronic conditions.

Objective: This study aims to identify the bioactive compound *Sargassum sp* which has the potential as an anti-inflammatory activity

Method: This type of research is laboratory experimental, with an observational research design. The sample was prepared and extracted from the active compound *Sargassum sp* using the maceration method. Identification of fucosterol was carried out by LC-MS and GC-MS analysis, and then FTIR test was carried out for the active compound *Sargassum sp*.

Result: There was a fucosterol content in the *Sargassum sp* extract which was identified by GC-MS analysis.

Keywords: *Brown Algae, Sargassum, fukosterol, anti-inflammatory, chromatographic analysis, mass spectrometry.*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR	v
PRAKATA	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Alga Cokelat	5
B. Sargassum sp.	7
C. Komponen Aktif Sargassum Sp.	8
D. Mekanisme Anti Inflamasi Senyawa Aktif Sargassum Sp	12
E. Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS)	15
F. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS).....	17
G. Uji Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (FTIR)	19
BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP	21
A. Kerangka Teori	21
B. Kerangka Konsep	22
C. Hipotesis Penelitian	22
BAB IV METODE PENELITIAN	23
A. Rancangan Penelitian	23
B. Waktu dan Tempat Penelitian	23
1. Waktu Penelitian	23
2. Tempat Penelitian	23
C. Variabel dan Definisi Operasional Penelitian	24
1. Variabel Penelitian	24
2. Definisi Operasional Penelitian	24
D. Teknik Pengambilan Sampel	25
E. Kriteria Sampel	25
1. Kriteria Inklusi	25
2. Kriteria Eksklusi	25

F. Alat dan Bahan	25
1. Alat	25
2. Bahan	27
G. Prosedur Penelitian	28
1. Pengambilan sampel Sargassum Sp.	28
2. Identifikasi morfologi Sargassum Sp.	29
3. Preparasi Sampel	29
4. Pembuatan simplisia dan ekstraksi metode Maserasi	29
6. Analisis Senyawa Aktif Sargassum Sp dengan GC-MS	31
7. Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier.	32
H. Analisis Data	32
I. Alur Penelitian	33
BAB V HASIL PENELITIAN	34
A. Identifikasi komponen fitokimia dengan analisis LC-MS	34
B. Identifikasi komponen fitokimia dengan analisis GC-MS	37
C. Hasil Uji FTIR pada Fukosterol.	41
BAB VI PEMBAHASAN	48
BAB VII PENUTUP	52
A. Kesimpulan	52
B. Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Sargassum sp</i>	8
Gambar 2.2 Struktur kimia metabolit yang berasal dari alga coklat.....	10
Gambar 2.3 Diagram skematik sistem LC-MS	16
Gambar 3.1 Bagan kerangka teori	21
Gambar 3.2 Bagan kerangka konsep	22
Gambar 4.1 Sistem High Performance Liquid Chromatography	26
Gambar 4.2 Gas Chromatography (GC) unit	27
Gambar 4.3 Fourier Transferred Infra Red (FTIR)	27
Gambar 4.4 Bagan alur penelitian.	33

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Komposisi fitokimia yang teridentifikasi dari ekstrak <i>Sargassum</i> sp melalui analisis LC-MS dengan pelarut air.....	35
Tabel 5.2 Komposisi fitokimia yang teridentifikasi dari ekstrak <i>Sargassum</i> sp melalui analisis LC-MS dengan pelarut etanol.....	36
Tabel 5.3 Komposisi fitokimia yang teridentifikasi dari ekstrak <i>Sargassum</i> sp melalui analisis GC-MS dengan pelarut air.....	38
Tabel 5.4 Komposisi fitokimia dari ekstrak <i>Sargassum</i> sp melalui analisis GC-MS dengan pelarut air atau etanol.....	40
Tabel 5.5 Identifikasi panjang gelombang komponen fitokimia <i>Sargassum</i> sp dari analisis FTIR.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian	58
Lampiran 2. Pengambilan dan pembersihan sampel <i>Sargassum Sp.</i>	59
Lampiran 3. Pencucian dua tahap dengan air tawar, dan akuades.....	59
Lampiran 4. Proses pengeringan sampel <i>Sargassum Sp.</i>	60
Lampiran 5. Pengurangan kandungan air pada sampel <i>Sargassum Sp.</i>	60
Lampiran 6. Hasil simplisia kering sampel <i>Sargassum Sp.</i>	61

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Dalam dekade terakhir ekosistem laut telah menarik perhatian peneliti karena banyak organisme yang menghasilkan senyawa dengan aktivitas biologis yang tinggi, tumbuhan laut yang sangat potensial untuk dilakukan penelitian dan diversifikasi manfaat adalah makroalga. Makroalga khususnya alga cokelat merupakan salah satu tumbuhan laut yang banyak mendapat perhatian karena pemanfaatannya sebagai bahan makanan khususnya di wilayah Asia Timur. Makroalga ini kaya akan serat makanan, protein, peptida, karotenoid, polisakarida, mineral, dan metabolit potensial. Selain itu metabolit yang berasal dari makroalga juga memiliki aktivitas biologis potensial seperti aktivitas antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, anti-HIV, dan antikanker.^{1,2}

Indonesia adalah negara yang beriklim tropis serta memiliki wilayah laut yang sangat luas. Ekosistem laut Indonesia sangat penting bagi warisan alam dunia, yang membentuk keanekaragaman hayati laut secara global. Sekitar 78 % wilayah Indonesia merupakan laut dan merupakan negara kepulauan dengan wilayah pengembangan rumput laut yang luas (11.109 km²). Alga laut dibagi menjadi tiga divisi berdasarkan pigmentasi dan komposisi kimia yaitu: hijau (filum *Charophyta* dan filum *Chlorophyta*), merah (filum *Rhodophyta*), dan cokelat (filum *Ochrophyta*, kelas *Phaeophyta*).³ Alga cokelat mengandung sekitar 265 marga dan 2040 spesies, sekitar 95% dari spesies ini adalah organisme laut yang paling banyak ditemukan di perairan dingin hingga beriklim sedang.^{1,4} Rumput laut dari kelas alga

merah (*Rhodophyceae*) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, setelah itu alga hijau (*Chlorophyceae*) sekitar 196 jenis dan alga cokelat (*Phaeophyceae*) sekitar 134 jenis.⁵

Alga cokelat (*Phaeophyceae*) merupakan sumber yang kaya akan senyawa bioaktif alami dengan aktivitas biologis yang kuat, terutama florotanin dan fukosterol. Beberapa penelitian menunjukkan tumbuhan laut seperti alga memiliki komponen-komponen bioaktif yang memiliki potensi untuk pengembangan bahan atau agen terapeutik. Sebagian besar penelitian tentang florotanin serta fukosterol menunjukkan potensinya sebagai antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antiproliferatif, dan efek terapeutik lainnya terutama potensi neuroprotektif. Senyawa bioaktif fukosterol pada alga cokelat merupakan suatu modulator kuat dari beberapa proses biokimia yang berhubungan dengan gangguan proses homeostasis pada penyakit kronis. Sifat kronis dari beberapa penyakit yang muncul, ditambah dengan kurangnya terapi preventif dan kuratif yang efektif, sehingga membuat peneliti memfokuskan pencarian sumber baru senyawa bioaktif dengan berbagai modalitas.^{6,7}

Proses inflamasi merupakan hasil dari aktivasi sistem imun pada manusia yang mengkoordinasikan mekanisme pertahanan normal tubuh kita dalam merespon infeksi mikroba, iritasi atau kerusakan jaringan/organ. Proses ini merupakan akar dari beberapa proses patofisiologi berbagai penyakit, selain itu terdapat interaksi yang kompleks antara proses peradangan dan reaksi alergi. Sebagai bagian dari sistem kekebalan bawaan kita, proses inflamasi adalah salah

satu respons paling umum yang bertujuan untuk mengontrol kerusakan pada tubuh kita setelah cedera jaringan/organ atau infeksi oleh bakteri atau virus.⁸

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai analisis total flavonoid pada alga cokelat belum melakukan identifikasi secara menyeluruh kandungan senyawa bioaktif pada *Sargassum sp*, sehingga diharapkan melalui penelitian ini dapat mengidentifikasi senyawa-senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai efek terapeutik yang lain, proses identifikasi ini menggunakan metode analisis kromatografi yang memiliki hasil dengan akurasi dan reproduibilitas yang tinggi, selain itu dari hasil studi literatur berupa *systematic review* yang dilakukan sebelumnya menunjukkan adanya potensi efek terapeutik khususnya sifat antiinflamasi dari *Sargassum sp*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah alga cokelat khususnya *Sargassum sp* memiliki kandungan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai anti-inflamasi?

C. Tujuan Penelitian:

1. Tujuan Umum:

Mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terdapat dalam alga cokelat (*Phaeophyta*) *Sargassum sp* yang berpotensi sebagai bahan antiinflamasi.

2. Tujuan Khusus:

Mengidentifikasi senyawa bioaktif alga cokelat (*Phaeophyta*) *Sargassum sp* dari perairan Selat Makassar dengan melihat perbandingan analisis LC-MS GC-MS, dan uji FTIR.

D. Manfaat

Merujuk ke Rencana Induk Penelitian Universitas Hasanuddin (RIP) yaitu tema kemaritiman dan sejalan dengan roadmap penelitian yang ada di Fakultas Kedokteran Gigi Unhas yaitu pemanfaatan tanaman herbal sebagai bahan pengobatan atau perawatan di bidang kedokteran gigi, maka penelitian ini memiliki beberapa manfaat dan keutamaan untuk dilakukan penelitian.

1. Manfaat pengembangan ilmu

- a. Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam alga cokelat *Sargassum sp.*
- b. Menjadi bahan pertimbangan dalam penyusunan penelitian pemanfaatan bahan aktif tumbuhan alga cokelat dibidang medis khususnya untuk penggunaan antiinflamasi.
- c. Menjadi salah satu acuan yang bisa digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan dibidang Kedokteran Gigi, Bedah Mulut dan Maksilofasial pada khususnya.

2. Manfaat penelitian

- a. Memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Sargassum sp.*
- b. Meningkatkan nilai tambah alga cokelat Indonesia utamanya jenis *Sargassum sp* asal Selat Makassar untuk menjadi salah satu bahan baku pembuatan obat atau bahan terapeutik dalam bidang Kedokteran Gigi.
- c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data atau informasi tambahan terhadap kemajuan penelitian alga cokelat di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Alga Cokelat

Makroalga laut adalah kelompok multiseluler mirip tumbuhan yang dapat diklasifikasikan menjadi kelompok prokariotik *Cyanophyceae* (alga hijau biru) dan eukariotik *Ochrophyta* atau *Phaeophyta* (alga cokelat), *Rhodophyta* (alga merah), dan *Chlorophyta* (alga hijau), hal yang membedakan diantara kelompok alga ini terutama dalam komposisi pigmentasi, sifat dinding sel, dan kandungan polisakarida.^{9,10} Pigmen yang bertanggung jawab atas warna cokelat *Phaeophyta* adalah fucoxanthin, warna merah *Rhodophyta* berasal dari *phycobilins*, dan beberapa pigmen yang bertanggung jawab atas warna hijau *Chlorophyta* seperti klorofil a dan b, *karoten*, dan *xantofil*. Komposisi kimiawi makroalga sangat bervariasi antar spesies, perbedaan musim panen, habitat pertumbuhan, dan kondisi lingkungan. Bahkan dalam wilayah geografis yang kecil, laju pertumbuhan dan komposisi kimiawi dapat bervariasi tergantung pada musim panen, sinar matahari, salinitas, kedalaman arus air laut lokal, atau kedekatan dengan tanaman akuakultur. Sebagian besar alga cokelat mengandung pigmen *fucoxanthin*, yang bertanggung jawab atas warna cokelat kehijauan khas sesuai namanya.^{11,12} Alga cokelat adalah jenis rumput laut yang paling banyak dipelajari. Alga cokelat merupakan bagian penting dari biomassa laut, ada lebih dari 1300 senyawa kimia telah diisolasi dari alga cokelat dan kelompok substansi kimia ini mewakili lebih dari 5% dari semua produk alami yang berasal dari laut. Mereka terdiri dari polisakarida bioaktif potensial seperti fucoidan. Fucoidan terutama berasal dari *Fucus vesiculosus*,

Sargassum wightii, *Undaria pinnatifida*, *Ecklonia kurome*.¹³ Diantara berbagai alga cokelat, spesies *Sargassum* mendapat perhatian lebih karena sejumlah besar polisakarida dinding selnya yang sebagian besar dalam bentuk polisakarida sulfat.

Dalam filum ini, komposisi fitokimia spesies yang termasuk dalam famili *Sargassaceae* dan *Dictyotaceae* telah diteliti secara intensif, lebih dari 1100 metabolit sekunder telah dideskripsikan dari alga cokelat tersebut. Lebih khusus lagi, diantara spesies *Sargassaceae*, beberapa di antaranya dikenal karena kemampuannya menghasilkan terpenoid dalam jumlah tinggi, terutama diterpenoid asiklik dan meroditerpenoid.¹³

Alga cokelat juga menghasilkan berbagai komponen aktif termasuk metabolit sekunder yang unik seperti florotanin dan fukosterol, banyak di antaranya memiliki aktivitas biologis spesifik yang dapat memberi manfaat ekonomi. Sebagai salah satu produsen utama dan basis rantai makanan di lautan, alga berperan penting dalam mendukung keanekaragaman hayati laut. Alga laut juga berguna sebagai indikator lingkungan seperti kekeringan, suhu tinggi, dan persaingan dengan fauna dan flora pesisir. Meskipun alga laut biasanya beradaptasi dengan baik dengan kondisi suhu lingkungan habitatnya, akan tetapi suhu dapat mempengaruhi fungsi enzimatis dan metabolisme alga laut dan dapat mengakibatkan kerusakan seluler yang dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan dan perkembangan.¹⁴

Alga laut telah menjadi salah satu sumber terkaya dan paling menjanjikan dari metabolit bioaktif primer dan sekunder. Mereka mensintesis berbagai senyawa seperti karotenoid, terpenoid, xantofil, klorofil, vitamin, asam lemak jenuh dan tak jenuh ganda, asam amino, asetogenin, polifenol, alkaloid, dan polisakarida. Terutama, berbagai produk alami dari alga laut diketahui memiliki spektrum

bioaktivitas yang luas, termasuk aktivitas antikoagulan, antivirus, antioksidan, antialergi, antikanker, antiinflamasi, dan antiobesitas. Oleh karena itu, alga laut diyakini memiliki sumber potensial untuk menyediakan tidak hanya zat aktif biologis baru untuk pengembangan obat-obatan tetapi juga senyawa penting untuk nutrisi manusia.¹⁵

Alga laut tumbuh dalam berbagai ukuran dengan lebih dari 10.000 spesies yang tumbuh menyebar di seluruh dunia dalam berbagai bentuk dan warna. Alga laut adalah tanaman primitif yang menempel atau mengambang bebas yang tidak memiliki akar, batang, dan daun sejati, dan merupakan sumber daya hayati laut yang penting dan dapat diperbarui. Mereka tumbuh di daerah laut dalam hingga kedalaman 180 m, di muara, dan juga di air hitam pada substrat padat seperti kerikil, batuan, karang mati, cangkang, dan bahan tanaman, dan melekat pada dasar di pesisir berbatu yang relatif dangkal, terutama pada kondisi mereka terpapar saat air surut, dan merupakan salah satu sumber daya kehidupan laut yang penting.¹⁴

B. *Sargassum sp*

Alga cokelat (*Phaeophyceae*) merupakan sumber yang kaya akan senyawa bioaktif alami dengan kapasitas biologis yang kuat, terutama florotanin dan fukosterol.⁶ Alga cokelat, khususnya dari spesies *Sargassum*, telah diketahui memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan. *Sargassum sp* merupakan rumput laut yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae* (Gambar 2.1). Di Indonesia, *Sargassum sp* memiliki wilayah sebaran yang luas dan sangat bervariasi. Alga cokelat *Sargassum sp* tumbuh sepanjang tahun, dapat hidup pada kondisi cuaca dan iklim di Indonesia. *Sargassum sp* tumbuh dengan kondisi berumpun dengan untaian cabang-cabang, panjang *thallus*

mencapai 1-3 meter. *Fitton* melaporkan bahwa pola hidup tumbuhan *Sargassum* di Asia Timur yang menggunakannya sebagai bahan makanan memiliki hubungan dengan rendahnya angka kejadian kanker di wilayah tersebut. Penelitian lain juga telah melaporkan bahwa konsumsi alga cokelat (*S. Fulvellum* dan *S. Fusiforme*) berkontribusi terhadap penurunan inflamasi sistemik dan resistensi insulin pada tikus yang mengalami obesitas. Masyarakat di China menggunakan berbagai macam jenis *Sargassum* untuk mengobati scrofula, edema, arteriosklerosis, penyakit kulit, kondisi hipertensi, pembesaran organ hati, neurosis, angina pectoris, esophagitis, dan bronkitis kronis. *Sargassum fulvellum* dikenal sebagai *Hejo* digunakan sebagai makanan tambahan dan tercatat memiliki banyak kegunaan dalam pengobatan pembengkakan dan nyeri skrotum, dan masalah buang air kecil tanpa efek samping dalam buku teks kedokteran *Oriental Donguibogam*.¹⁴



Gambar 2.1. *Sargassum sp*

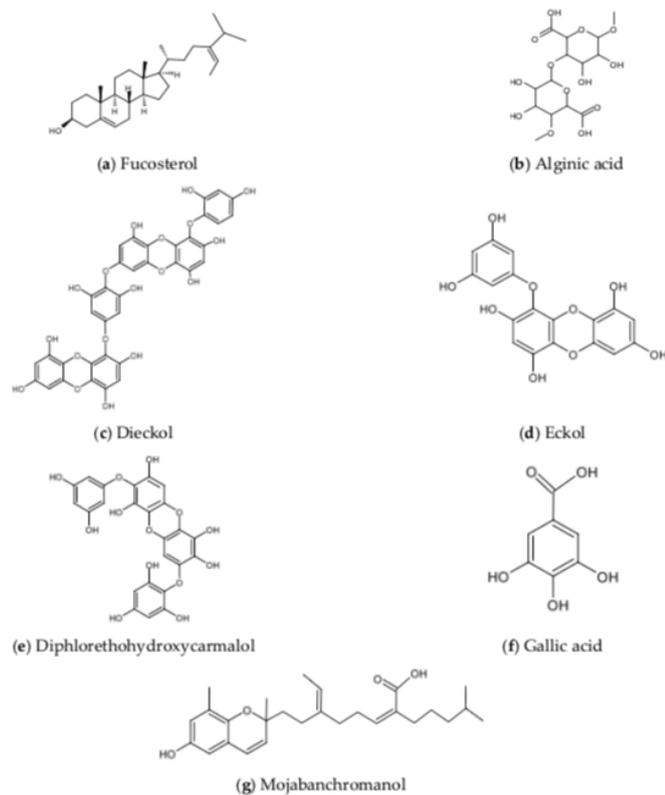
C. Komponen Aktif *Sargassum sp*

Alga laut merupakan sumber yang baik untuk metabolit sekunder atau metabolit khusus. Metabolit khusus ini dapat dimanfaatkan dalam pertahanan

melawan patogen. Alga cokelat tumbuh dalam kondisi yang keras dan terkena tekanan biotik dan abiotik, mereka memiliki jalur metabolisme yang unik untuk menghasilkan metabolit sekunder dengan sifat biofungsional yang dapat membantu kelangsungan hidup mereka, hal ini menjadikan alga cokelat dipertimbangkan sebagai bahan yang memiliki komponen terapeutik. Florotanin, fukosterol, dan polifenol merupakan kelompok metabolit sekunder yang menonjol yang banyak ditemukan pada alga cokelat. Variasi senyawa dalam kelompok tertentu memainkan peran penting dalam banyak aktivitas biologis.^{9,16}

Fitosterol adalah kelompok senyawa utama lipid yang ditemukan dalam alga cokelat dan memiliki berbagai efek terapeutik yang bermanfaat. Mereka adalah konstituen alami dari membran sel tumbuhan dengan kesamaan struktur kolesterol, tetapi dengan perbedaan kecil dalam posisi gugus etil dan metil (Gambar 2.2). Fukosterol adalah pitosterol yang paling banyak ditemukan di alga cokelat.^{12,16}

Fukosterol sangat reaktif dan dapat mengalami degradasi. Dengan demikian, telah ditunjukkan bahwa keberadaan saringosterol dalam alga cokelat *Ascophyllum nodosum* pada penelitian yang dilakukan Knights pada tahun 1970 atau pada *Cystoseira crinite* yang dilakukan oleh Milkova dkk pada tahun 1997 sebenarnya merupakan artefak yang timbul dari autooksidasi selama pengeringan udara alga, sedangkan bahan segar hanya mengandung fukosterol.



Gambar 2.2 Struktur kimia metabolit yang berasal dari alga cokelat, (a) Fukosterol, (b) Asam alginat, (c) Dieckol, (d) Eckol, (e) Diphlorethohydroxycarmalol, (f) Asam galat, (g) Mojabanchromanol.¹⁷

Alga cokelat mengandung fitosterol dalam jumlah yang cukup besar, yang membentuk kelompok penting di antara steroid dan mungkin memiliki aktivitas biologis tertentu termasuk aktivitas antidiabetes, antikanker, efek antiinflamasi dan antioksidatif. Namun, penentuan yang akurat dari aktivitas biologis masing-masing fitosterol saat ini sulit karena fakta bahwa fitosterol murni mahal dan hampir tidak tersedia. Fukosterol dan *24-methylenecholesterol* adalah sterol karakteristik alga cokelat seperti *Sargassum fusiforme* dan *Undaria pinnatifida* yang memberikan beberapa manfaat kesehatan bagi manusia. Studi yang dilakukan oleh Wong dkk. menunjukkan bahwa fukosterol menunjukkan sifat penghambat kolinesterase ganda dan adanya potensi efek neuroprotektif terhadap peradangan saraf yang

diinduksi LPS dan A β dengan kemampuannya untuk mengatur produksi mediator proinflamasi. Studi ini juga menunjukkan kemungkinan penerapan fukosterol dalam pengobatan gangguan neurodegeneratif multifaktorial.^{10,18}

Lebih dari 150 jenis florotanin atau fukosterol telah diidentifikasi dari beberapa spesies alga cokelat, tetapi heterogenitas struktural dan kompleksitas senyawa ini membuat profil mereka menjadi bidang penelitian yang hampir tidak terbatas. Florotanin dibiosintesis melalui jalur *asetat-malonat* secara eksklusif pada alga cokelat (*Ochrophyta*, *Phaeophyceae*) yang disimpan dalam vesikel terikat membran khusus, *physodes*, atau terikat pada dinding sel. Florotanin yang terikat pada *physodes*, diketahui lebih tinggi daripada florotanin yang terikat dinding sel, mewakili hingga 25% dari berat kering alga. Florotanin diketahui memiliki peran penting pada alga cokelat, sebagai komponen integral dari dinding sel dan bertindak sebagai barrier kimiawi terhadap perubahan kondisi lingkungan (misalnya, tingkat salinitas, ketersediaan nutrisi dan cahaya, serta radiasi ultraviolet).⁷

Sejumlah senyawa yang kuat telah diisolasi dan diidentifikasi dari berbagai jenis rumput laut, termasuk florotanin, polisakarida sulfat, pigmen karotenoid seperti fucoxanthin dan astaxanthin, sterol, katekin, dan asam amino mirip mikosporin. Florotanin, metabolit sekunder polifenol dominan yang hanya ditemukan pada alga cokelat (*Phaeophyta*). Florotanin merupakan polimer khas yang disintesis oleh alga cokelat (*Phaeophyta*) yang secara struktur, sifat kimia dan peran fisiologis mirip dengan kandungan tannin pada tumbuhan vaskular yang hidup di daratan. Florotanin bersifat sangat hidrofilik, dengan berat molekul berkisar antara 126 Da hingga 650 kDa.¹⁹ Mereka terdiri dari rantai polimer residu *floroglucinol* (1,3,5-trihidroksibenzena) yang terhubung melalui rantai C–C

dan/atau C–O–C. Fungsi biologis dari florotanin pada rumput laut belum sepenuhnya diketahui. Namun, mereka diyakini memiliki peran penting dalam struktur dinding sel, perlindungan UV dan sebagai mekanisme pertahanan terhadap herbivora.^{2,20,21}

Sebagian besar florotanin telah diisolasi dari alga cokelat golongan *Fucaceae*, *Alariaceae*, *Sargassaceae*, *Cystoseiraceae*, *Laminariaceae* dan *Ishigeaceae*.² Florotanin pada alga cokelat seperti *Sargassum sp* seperti *eckol*, *dieckol*, *6,6'*- atau *8,8'-bieckol* dan *phlorofucofuroeckol (PFF)-A* sudah dikenal luas (Gambar 2.2). Florotanin alga cokelat dapat menghambat aktivitas *fosfolipase A2*, *lipoxigenase*, *cyclooxygenase-2* dan *hyaluronidase* yang berperan dalam reaksi inflamasi dan alergi.²² Kandungan polimer yang sangat kompleks dari struktur isomer florotanin pada *Sargassum sp* membuat proses identifikasi yang akurat dari ekstrak kasar mungkin agak sulit dilakukan. Berbagai teknik telah dilakukan untuk mengidentifikasi dan menentukan karakteristik dari florotanin yang ada dalam ekstrak *Sargassum sp* salah satunya melalui teknik *Mass Spectrometry* (MS) yang dikombinasikan dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).^{21,23} Untuk menghasilkan profil florotanin yang baik, beberapa langkah protokol harus dipertimbangkan. Persiapan sampel yang sesuai (misalnya, pemilihan ekstraktan terbaik) sangat penting dalam analisis matriks alami, dan pemurnian primer dari ekstrak kasar juga bermanfaat untuk senyawa target dan untuk meningkatkan resolusi kromatografi.²³

D. Mekanisme Anti Inflamasi Senyawa Aktif *Sargassum sp*

Proses inflamasi merupakan mekanisme pertahanan host terhadap patogen yang merupakan hasil dari aktivasi sistem imun pada manusia yang

mengkoordinasikan mekanisme pertahanan normal tubuh kita dalam merespon infeksi mikroba, iritasi atau kerusakan jaringan/organ. Sel proinflamasi, terutama makrofag teraktivasi, memediasi sebagian besar patofisiologi seluler dan molekuler inflamasi dengan memproduksi oksida nitrat (NO), prostaglandin E2 (PGE2), dan sitokin seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan interleukin-6 (IL-6). *Inducible nitric oxide synthase* (iNOS), yang mengkatalisis proses deaminasi oksidatif L-arginin, untuk menghasilkan NO dalam jumlah besar. Manfaat dari proses inflamasi adalah untuk menjaga agar kerusakan tetap terkendali dan berkontribusi pada pemulihan struktur jaringan normal, tetapi proses ini menjadi sumber masalah ketika tubuh mengalami proses inflamasi yang tidak terkontrol dan berkepanjangan (inflamasi kronis) yang ditandai dengan produksi NO yang berlebih. Hal ini berperan penting dalam patogenesis berbagai penyakit seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, kanker, inflamasi pada saluran cerna, asma, dan penyakit Alzheimer. Inflamasi kronis juga berimplikasi pada kerusakan jaringan tubuh melalui timbulnya syok septik, multiple sklerosis, rheumatoid arthritis, lupus eritematosus sistemik, dan penyakit autoimun lainnya.^{8,24}

Enzim proinflamasi, iNOS untuk produksi NO dan *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang menghasilkan prostaglandin, telah terbukti berperan penting dalam proses inflamasi. Selain itu, neutrofil juga bermigrasi menuju lokasi jaringan yang rusak pada awal fase inflamasi akut. Neutrofil yang terstimulasi dapat menghasilkan anion superoksida dan elastase yang terkait dengan proses fagositosis organisme patogen.⁸

Peradangan kronis mempunyai pengaruh yang penting dalam patogenesis dari sebagian besar penyakit. Beberapa jenis obat antiinflamasi yang saat ini

tersedia dikaitkan dengan beberapa efek samping yang merugikan. Oleh karena itu, banyak riset dan penelitian pada senyawa antiinflamasi berbahan alami. Senyawa berbasis laut yang unik dan telah terbukti berpotensi untuk mengurangi dan mengobati proses inflamasi. Yang dkk (2016) melaporkan bahwa *Eclonia cava* yang kaya florotanin dapat digunakan untuk mengobati sepsis. Eom dkk (2017) juga meneliti efek antiinflamasi eckol pada *Propionibacterium acnes* yang diinduksi sel keratinosit kulit manusia (HaCaT). Fungsi eckol dalam produksi oksida nitrat, *matriks metaloproteinase 2 dan 9*, sintesis NO, COX-2 dan *necrosis factor- α* juga diteliti. Eckol secara signifikan menghambat ekspresi atau pembentukan mediator proinflamasi dan sitokin dalam sel HaCaT.²⁸

Proses inflamasi merupakan hasil dari aktivasi sistem imun pada manusia yang mengkoordinasikan mekanisme pertahanan normal tubuh kita dalam merespon infeksi mikroba, iritasi atau kerusakan jaringan/organ. Fukosterol dari *Sargassum* merupakan fitosterol paling banyak ditemukan, yang telah terbukti merupakan kelompok senyawa utama lipid yang menunjukkan efek antiinflamasi. Fukosterol secara signifikan menurunkan jumlah mediator-mediator inflamasi (COX-2, PGE2, dan iNOS) dan sitokin proinflamasi (TNF- α), IL-6, dan interleukin-beta (IL-1 β)) dengan menghambat jalur NF- κ B dan MAPKs.¹⁶

Pada sebagian besar penelitian, LPS (lipopolisakarida) digunakan untuk menginduksi peradangan pada sel RAW 264,7. Kang dkk (2015) melaporkan bahwa *diphloretohydroxycarmalol* mengurangi IL-6, DPHC (12,5 dan 100 mM) dan menekan proses fosforilasi dan *nuclear translocation NF-kappa* (NF κ B). Dalam studi lain, Wijesinghe dkk pada tahun 2013 melaporkan bahwa ekstrak produk fermentasi *E. cava* kaya florotanin dalam dosis tertentu dapat menghambat

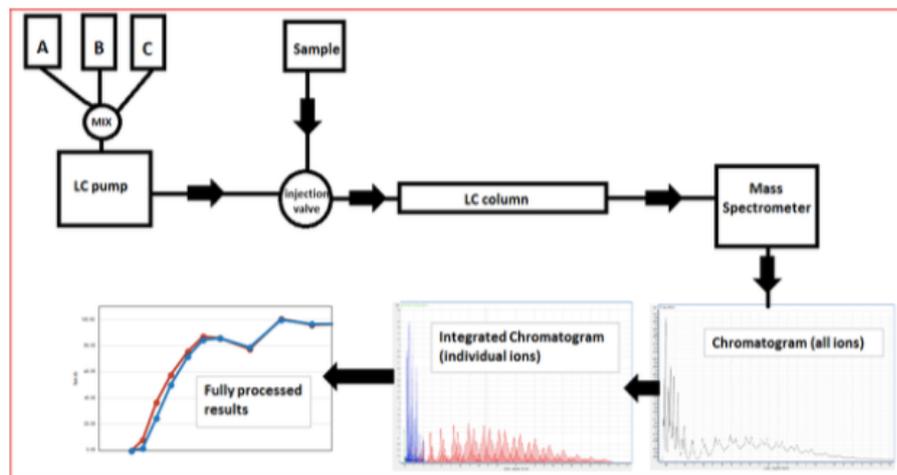
produksi prostaglandin-E2 dan menekan sintesis NO dan COX-2 yang diinduksi oleh LPS pada sel RAW 264,7. Sugiura dkk (2013) melaporkan efek penghambatan pelepasan histamin dari sel basofil leukemia pada tikus (RBL) 2H3.²

E. Kromatografi Cair/*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS).

Kromatografi cair adalah salah satu teknik analisis yang paling umum digunakan dalam industri farmasi untuk penentuan dan kuantifikasi kandungan obat dan zat yang terkait, teknik ini diketahui memiliki tingkat akurasi dan reproduktifitas yang tinggi. *Liquid Chromatography* memisahkan komponen-komponen yang terdapat dalam campuran zat yang akan dianalisis dengan melewati kolom kromatografi. Umumnya, komponen yang dipisahkan tersebut tidak dapat diidentifikasi langsung hanya dengan teknik LC, sehingga perlu dikombinasikan dengan spektrometri massa. Spektrometri massa ini juga digunakan untuk identifikasi senyawa aktif baik yang telah diketahui maupun yang tidak diketahui dan untuk menjelaskan struktur kimianya. Metode ini merupakan metode yang cukup akurat dalam analisis dan identifikasi senyawa flavonoid. Hal ini sebagian besar dianggap sebagai alat kualitatif karena kurangnya standar yang tersedia untuk menghadapi efek kuantitatif dalam MS seperti efek matriks. Spektrometri massa telah sering digunakan digabungkan ke berbagai sistem LC untuk mengamati pola fragmentasi senyawa saat mereka terelusi pada kolom.^{9,25}

Analisis *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC/MS-MS) merupakan teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari *liquid chromatography* dengan kemampuan identifikasi yang spesifik dari *mass spectrometry*. Kromatografi cair memisahkan komponen-komponen sampel dan ion yang bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa. Data LC-MS dapat

digunakan untuk mendapatkan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu, senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak). Komponen elusi dari kolom kromatografi kemudian diteruskan ke spektrometer massa melalui antarmuka khusus, prinsipnya adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya, alatnya terdiri dari atas kolom (sebagai fase diam) dan larutan tertentu sebagai fase geraknya, terdapat tekanan tinggi yang berfungsi untuk mendorong fase gerak. Campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolaran dan kecepatannya untuk sampai ke detektor, mekanisme dan prinsip kerja dari LC-MS ini terlihat pada diagram skematik pada gambar 2.3. Terdapat perbedaan kecepatan dari masing-masing analit, hal ini disebabkan adanya perbedaan waktu retensi dari masing-masing analit, perbedaan ini teramati pada spektrum yang puncaknya terpisah.



Gambar 2.3 Diagram skematik sistem LC-MS.²⁶

Komponen dari kromatografi cair antara lain:

- a. Pompa: Ada tiga jenis utama yang digunakan (*reciprocating pump*, *syringe pumps*, dan *constant pressure pumps*).

- b. Injektor sampel: digunakan untuk memasukkan sampel kedalam sistem kromatografi.
- c. Kolom: terbuat dari bahan silika dan dikombinasikan dengan rantai karbon.
- d. Detektor dan *recorder*: detektor merupakan komponen yang terpenting pada LC. Ada beberapa jenis detektor yang digunakan yaitu *UV-Visible detectors*, *PDA detectors*, *Refractive index (RI) detectors*, detektor elektrokimia, detektor fluorescence, dan detektor konduktivitas.

Spektrometri massa adalah teknik analisis yang berdasarkan pengukuran rasio massa terhadap muatan ion pada senyawa aktif yang diteliti (m/z). MS dapat digunakan untuk menentukan massa molekul dan komposisi unsur senyawa aktif serta adanya gambaran struktur yang detail dari senyawa tersebut. Komponen penyusun MS antara lain *Ionization source and Interfaces* dan *Mass Analysers*.^{27,25}

F. Kromatografi Gas/*Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)

Sensitivitas dan penggunaan yang luas dari teknik separasi kromatografi yang dipadukan dengan spektrometri massa (yaitu, GC-MS, LC-MS, dan kapiler elektroforesis-spektrometri massa/CE-MS) merupakan pilihan terbaik untuk analisis isomer baik prosedur identifikasi dan membedakan suatu senyawa. Separasi kromatografi dibutuhkan untuk identifikasi isomer yang akurat, dan spektrometri massa memungkinkan untuk membandingkan pola-pola fragmentasi dengan standar yang autentik dengan sensitifitas yang baik.²⁸

Metode analitik berbasis GC-MS untuk analisis asam lemak meliputi tiga langkah: (1) ekstraksi asam lemak dari matriks sampel, (2) derivatisasi asam lemak, dan (3) analisis GC-MS. Ada berbagai macam protokol ekstraksi yang digunakan, dan umumnya, metode ekstraksi ini dapat diterapkan pada jenis sampel yang

berbeda; Namun, untuk mendapatkan hasil akurat untuk analisis sampel, diperlukan beberapa optimasi dan metode separasi yang efisien.²⁹

Analisis GC-MS ekstrak etanol *Sargassum sp* dinilai dengan menggunakan teknologi kromatografi gas kapiler *Agilent* (7890A) bersama dengan spektrometer massa. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler berbahan silika yang diserap dari 95% *dimetil-poli-siloksan* dan 5% fenil (HP-5MSI; panjang: 90 m, diameter: 0,250 mm dan film: 0,25 µm). Suhu injektor 250°C, suhu oven fontal pada 90°C dinaikkan perlahan ke 200°C pada kecepatan 3 C/menit selama 2 menit dan peningkatan terakhir menjadi 280°C pada 15 C/menit selama 2 menit, dan ini adalah parameter untuk deteksi GC-MS. Total waktu pengoperasian GC-MS adalah 36 menit, dengan Helium 99,999% sebagai gas pembawa, digunakan pada laju aliran kolom 1 mL/menit. Suhu *interface* tetap GC ke MS adalah 280°C dan MS dalam suasana pemindaian diatur pada sistem ionisasi elektron. Suhu sumber MS *quad* diatur pada rentang 150 dan 230°C, masing-masing di mana rentang massa yang diteliti adalah 50–550 m/z. Setiap komponen digunakan untuk mencari dan diidentifikasi oleh *NIST-MS Library 2009*. Pengukuran jumlah persentase relatif dari masing-masing senyawa aktif ditentukan dengan menggunakan ekspresi area puncak "TIC" (kromatogram ionik total), dengan perhitungan yang dilakukan secara otomatis.³⁰

Asam lemak adalah molekul penting dalam sistem biologis dan memiliki beberapa fungsi biologis yang penting, termasuk sebagai konstituen membran sel dan mengatur aktivitas enzim dan proses inflamasi. Asam lemak adalah asam karboksilat jenuh atau rantai alifatik tak jenuh. Mereka dapat dibagi menjadi empat kelompok, yaitu asam lemak rantai pendek (<C6), rantai sedang asam lemak (C6-

C12), asam lemak rantai panjang (C13-C21) dan asam lemak rantai sangat panjang >(C22).²⁹

Identifikasi konstituen dilakukan dengan kromatografi gas yang digabungkan dengan spektrometri massa (GC/MS). Sampel disuntikkan, dengan pembagian aliran 1:20, dalam kromatografi Agilent 6890 (*Palo Alto, CA*) yang digabungkan ke detektor massa selektif *Agilent 5973N* pada suhu 250°C. Kolom kapiler HP-5MS (5% - fenil-95%-dimetilpolisiloksan, 30 m x 0,25 mm x 0,25 m) digunakan dengan helium sebagai pembawa gas (1,0 mL min⁻¹). Suhu oven diprogram dari 60 hingga 240°C dengan kecepatan 3°C min⁻¹. Detektor massa dioperasikan dalam mode ionisasi elektronik (70 eV) pada kecepatan pemindaian 3,15 s⁻¹ dan rentang massa 40 hingga 450. Jalur *transfer* dipertahankan pada suhu 260°C, sumber ion pada suhu 230°C dan *analyzer (quadrupole)* pada suhu 150 sampai 117°C. Untuk kuantifikasi, sampel disuntikkan ke dalam kromatografi *Agilent 7890A* dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala (FID) yang beroperasi pada suhu 280°C, di bawah kondisi analitis yang sama kecuali untuk gas, di mana hidrogen digunakan sebagai gantinya, pada laju aliran 1,5 mL min⁻¹. Komposisi persentase diperoleh dengan integrasi elektronik sinyal FID, membagi luas masing-masing komponen dengan luas total (luas %). Identifikasi konstituen diperoleh dengan membandingkan spektrum massa dan indeks retensi linier dengan perpustakaan data instrumen dan dengan literatur.³¹

G. Uji Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (FTIR)

Untuk mengidentifikasi bahan yang diekstraksi sebagai florotanin, dilakukan uji puritas dengan analisis FTIR (Shimadzu FTIR-8400S). Hasil analisis yang diekstraksi tersebut dibandingkan dengan nilai standar.¹¹ Studi spektral FTIR

umumnya dipilih karena metodenya yang tidak merusak, mudah untuk dilakukan dan persyaratan kuantitas sampel yang sedikit. WF I yang menunjukkan kandungan total fenolik tertinggi dan aktivitas antioksidan tertinggi dicirikan oleh FTIR Perkin Elmer System One (Perkin Elmer Pvt. Ltd., Maharashtra, India) antara 450-4000 cm^{-1} , pada 64 pemindaian, 4 cm^{-1} bilangan gelombang, dan mode transmisi resolusi di bawah kondisi lingkungan standar. Spektrum FTIR diperoleh dan sinyal dibandingkan dengan spektrum latar belakang yang dikumpulkan dari KBr pada suhu kamar.⁹