

**PENGARUH CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP
KADAR *FUCOXANTHIN* PADA *Sargassum
polycystum* ASAL KABUPATEN TAKALAR YANG
DIANALISIS SECARA HPLC**

**EFFECT OF EXTRACTION SOLVENTS ON
FUCOXANTHIN CONTENT IN *Sargassum
polycystum* FROM TAKALAR DISTRICT ANALYZED
BY HPLC**

**PUTRI ARDINASRAYANTI ASRI
N011 19 1064**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGARUH CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP KADAR
FUCOXANTHIN PADA *Sargassum polycystum* ASAL KABUPATEN
TAKALAR YANG DIANALISIS SECARA HPLC**

**EFFECT OF EXTRACTION SOLVENTS ON *FUCOXANTHIN* CONTENT
IN *Sargassum polycystum* FROM TAKALAR DISTRICT ANALYZED
BY HPLC**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

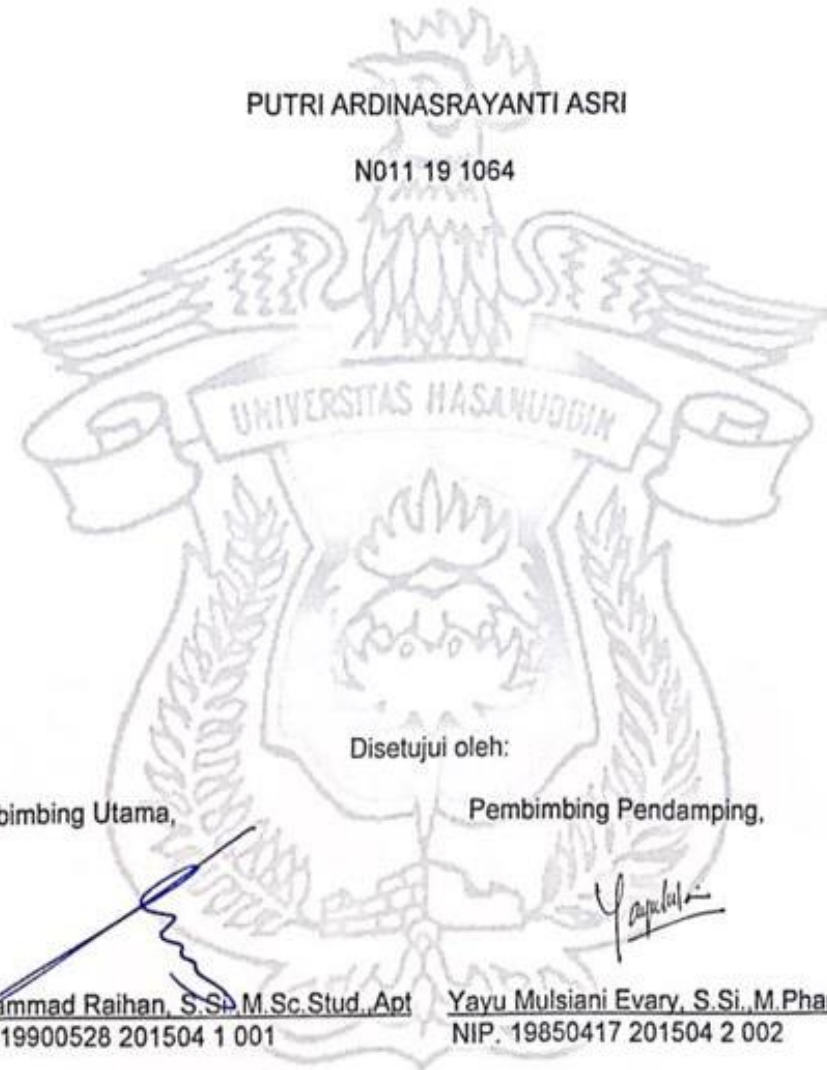
**PUTRI ARDINASRAYANTI ASRI
N011 19 1064**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PENGARUH CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP KADAR
FUCOXANTHIN PADA *Sargassum polycystum* ASAL KABUPATEN
TAKALAR YANG DIANALISIS SECARA HPLC

PUTRI ARDINASRAYANTI ASRI

N011 19 1064



Pada tanggal, 9 Maret 2023

SKRIPSI

PENGARUH CAIRAN PENGEKSTRAKSI TERHADAP KADAR
FUCOXANTHIN PADA *Sargassum polycystum* ASAL KABUPATEN
TAKALAR YANG DIANALISIS SECARA HPLC

EFFECT OF EXTRACTION SOLVENTS ON FUCOXANTHIN CONTENT
IN *Sargassum polycystum* FROM TAKALAR DISTRICT ANALYZED
BY HPLC

Disusun dan diajukan oleh:


PUTRI ARDINASRAYANTI ASRI
N011 19 1064


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 24 Februari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

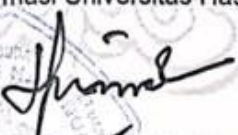
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm Sci., Apt
NIP. 19850417 201504 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 198601162 201012 2 009



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Ardinasrayanti Asri

Nim : N011 19 1064

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Pengaruh Cairan Pengekstraksi Terhadap Kadar *Fucoxanthin* Pada *Sargassum polycystum* Asal Kabupaten Takalar Yang Dianalisis Secara HPLC" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 8 Maret 2023

Yang menyatakan,



Putri Ardinasrayanti Asri

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah *Subhanallah Wata'ala*, Tuhan Yang Maha Mengetahui, pemilik segala ilmu, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi untuk memenuhi persyaratan dalam penyelesaian studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Dengan segala kerendahan hati, penulis menghaturkan terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dan tenaga, membimbing, mengarahkan, serta memberi motivasi dan masukan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Bapak Muhammad Nur Amir, S.Si.,M.Si. Apt. selaku penguji atas saran dan masukannya demi hasil penelitian yang maksimal.
3. Dekan dan para Wakil Dekan yang senantiasa memberikan fasilitas serta pendidikan kepada penulis dalam menunjang proses penyelesaian skripsi.

4. Ibu Dra.Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku dosen penasihat akademik yang senantiasa memberikan dukungan dan motivasi dalam proses studi hingga penyelesaian skripsi.
5. Para Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang senantiasa memberikan ilmu, motivasi, dan fasilitas dalam menunjang proses penyelesaian skripsi.
6. Seluruh staf Fakultas Farmasi atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
7. Orang tua tercinta, Ibunda Dr. Dinarwati dan Almarhum Ayah tercinta yang senantiasa memberikan pelajaran, dukungan yang begitu besar dan restu kepada penulis, serta Kakak tercinta Hardianto Putra Pratama dan keluarga yang telah memberi dukungan moril, dan doa yang tiada hentinya.
8. Asmaria, Rabihul Fauziah, dan Fitriah Prana Mulya selaku teman-teman tim penelitian alga coklat untuk bantuan tenaga, waktu, doa dan semangat yang telah diberikan
9. Rekan-rekan Korps Asisten Farmakognosi-Fitokimia serta laboran yang memberi dukungan, ilmu, menuntun, dan menyediakan fasilitas kepada penulis selama melaksanakan penelitian.
10. Teman-teman Terdekat selama masa perkuliahan dan Tems Squad, Nurul Azizah Hamid, Della Asmayani, Zahra Aranda Rizal, Rahma Desti Ayu, Titi Payung, Regina Aulia Puspita, Nurul Isnaini, Giska

Andinna, dan Wahdaniyah Muslimin untuk bantuan, doa dan semangat yang diberikan

11. Teman-teman terdekat yang layak nya saudara, Annisa Ashabul Jannah, Sitti Hajar Auliannisa, Hidayah Fajria, Nurul Aulia Sukri, Fathona Fathuljannah D, yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan bantuan selama 6 tahun.

12. Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada teman-teman angkatan 2019 Farmasi (Dexigen) atas dukungan, motivasi, dan bantuan dalam penyusunan skripsi. Serta kepada seluruh pihak yang telah membantu namun tidak sempat disebutkan namanya satu persatu. Semoga semua kebaikan yang diberikan mendapatkan balasan yang berlipat ganda.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan tanggapan dari berbagai pihak.

Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kedepannya.

Makassar, 8 Maret 2023

Putri Ardinarrayanti Asri

ABSTRAK

PUTRI ARDINASRAYANTI ASRI. Pengaruh Cairan Pengekstraksi Terhadap Kadar *Fucoxanthin* Pada *Sargassum polycystum* Asal Kabupaten Takalar Yang Dianalisis Secara Hplc (dibimbing oleh Muhammad Raihan dan Yuyu Mulsiani Evary).

Sargassum polycystum merupakan salah satu spesies alga coklat yang melimpah di Kabupaten Takalar meskipun tidak dibudidayakan. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya ialah *Fucoxanthin* yang memiliki beberapa aktivitas biologis. Efek pelarut dalam proses ekstraksi *Fucoxanthin* memiliki hasil yang berbeda di setiap makroalga, dan akan berpengaruh pada kadar *Fucoxanthin* yang didapatkan. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cairan pengekstraksi terhadap perolehan kadar *Fucoxanthin* *Sargassum polycystum* asal kabupaten Takalar dengan menggunakan HPLC. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 4 variasi cairan pengekstraksi yaitu etanol, aseton, etil asetat, dan heksan. Hasil ekstraksi menunjukkan % rendamen sebesar 0,188%, 0,109%, 0,083%, dan 0,87 % secara berturut-turut untuk pelarut etanol, aseton, etil asetat dan heksan. Analisis HPLC dilakukan menggunakan fase gerak Metanol : Asetonitril (70:30, v/v), Kolom C18 (ODS) ukuran partikel 0,3 x 15 mm, *Flow rate* 0,7 ml/min, Detektor PDA, Panjang gelombang 450 nm, dan volume injeksi 20 µL. Diperoleh kadar *Fucoxanthin* ialah ekstrak etanol 0,0588 mg/mg ± 0,0029, ekstrak aseton 0,20159 mg/mg ± 0,0027, ekstrak etil asetat 0,0112 mg/mg ± 0,0003, dan ekstrak Heksan sebesar 0,0102 mg/mg ± 0,0001, perbedaan jenis cairan pengekstraksi menunjukkan kadar *Fucoxanthin* yang berbeda secara signifikan $p < 0,05$.

Kata kunci : *Sargassum polycystum*, *Fucoxanthin*, HPLC, cairan pengekstraksi

ABSTRACT

PUTRI ARDINASRAYANTI ASRI. Effect Of Extraction Solvents on *Fucoxanthin* Content In *Sargassum Polycystum* From Takalar District Analyzed By Hplc.

Sargassum polycystum is a brown algae species that is abundant but not widely cultivated in Takalar District. One of the secondary metabolites content in *Fucoxanthin*, which has several biological properties. The solvents effect in the *Fucoxanthin* extraction process has different results for each microalgae, and will affect the levels of *Fucoxanthin* content. So this study aims to determine the most appropriate type of extracting solvent in the extraction of *Sargassum polycystum* from Takalar District for the acquisition of *Fucoxanthin* content analyzed by HPLC. Extraction was carried out by maceration method using 4 variations of extracting solvents : ethanol, acetone, ethyl acetate, and hexane. HPLC analysis was performed using the mobile phase of Methanol: Acetonitrile (70:30,v/v), Column C18 (ODS) particle size 0.3 x 15 mm, Flow rate 0.7 ml/min, PDA detector, Wavelength 450 nm, and an injection volume of 20 μ L. The *Fucoxanthin* levels obtained were 0.0588 mg/mg \pm 0.0029 ethanol extract, 0.20159 mg/mg \pm 0.0027 acetone extract, 0.0112 mg/mg \pm 0.0003 ethyl acetate extract, and 0.0003 Hexane extract. 0102 mg/mg \pm 0.0001, different types of extracting fluids showed significantly different levels of *Fucoxanthin* p <0.05.

Key words: *Fucoxanthin*, *Sargassum polycystum*, HPLC, extraction solvents.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Uraian Tanaman	5
II.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
II.1.2 Morfologi Tanaman	5
II.1.3 Kandungan Kimia	6
II.1.4 Khasiat	6
II.2 Ekstraksi	7
II.2.1 Pengertian Ekstraksi	7
II.2.2 Metode Ekstraksi	8

II.3 Penguapan	11
II.3.1 Pengertian Penguapan	11
II.3.2 Metode Penguapan Pelarut	12
II.4 <i>Fucoxanthin</i> dan Strukturnya	13
II.5 Kromatografi	15
II.5.1 Pengertian Kromatografi	15
II.5.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	15
II.6 Validasi Metode Analisis	16
II.6.1 Analisis Kesesuaian Sistem	17
II.6.2 Akurasi	18
II.6.3 Presisi	18
II.6.4 Linieritas	19
II.6.3 LOD (<i>Limit of Detection</i>) dan LOQ (<i>Limit of quantification</i>)	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
III.1 Alat dan Bahan	21
III.2 Metode Penelitian	21
III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel	21
III.2.2 Ekstraksi dan Penguapan Sampel	21
III.2.3 Skrining Fitokimia	22
III.2.4 Analisis dengan HPLC	22
III.2.5 Pembuatan Gravitasi Kurva baku dan Penentuan waktu retensi	23
III.2.6 Penetapan Kadar Sampel	23
III.3 Pengumpulan Data dan Analisis Data	24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
IV.1 Ekstraksi	25
IV.2 Skrining Fitokimia	26
IV.3 Analisis HPLC	27
IV.4 Pengaruh Cairan Pengekstraksi Terhadap Kadar <i>Fucoxanthin</i>	31
BAB V PENUTUP	33
V.1 Kesimpulan	33
V.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Titik Didih Jenis-Jenis Pelarut	11
2. Kriteria Rentang <i>Recovery</i> yang dapat diterima	18
3. Kriteria KV yang dapat diterima	19
4. Hasil Persen Rendemen	25
5. Nilai Rf Masing-masing Ekstrak yang Diamati	27
6. Data Kurva Baku <i>Fucoxanthin</i>	28
7. Hasil Analisis Kandungan <i>Fucoxanthin</i> pada Setiap Pelarut	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. <i>Sargassum polycystum</i>	5
2. Metode Ekstraksi Maserasi	8
3. <i>Ultrasound-Assisted Solvent Extraction</i>	9
4. Alat Freeze-Dryer	12
5. <i>Rotary Evaporator</i>	13
6. Struktur <i>Fucoxanthin</i>	13
7. Kromatogram penentuan kesesuaian sistem	17
8. Profil KLT Hasil skrining fitokimia senyawa <i>Fucoxanthin</i> yang diamati dibawah UV 254 nm (a) dan UV 366 nm (b)	26
9. Kurva Baku <i>Fucoxanthin</i>	29
10. Kurva Perbandingan Kadar <i>Fucoxanthin</i> setiap pelarut	30
11. Pengambilan Sampel <i>Sargassum polycystum</i>	54
12. Pemisahan dan Pembersihan Sampel	54
13. Proses Maserasi Sampel <i>Sargassum polycystum</i>	54
14. Penyaringan Sampel	54
15. Pemekatan Sampel menggunakan <i>Rotary evaporator</i>	54
16. Ekstrak Kental	54
17. Proses KLT	55
18. Proses elusi	55
19. Alat HPLC	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja	39
2. Identifikasi Sampel	40
3. Hasil Analisis HPLC	42
4. Perhitungan	47
5. Uji Statistik Kadar <i>Fucoxanthin</i> dari HPLC	53
6. Dokumentasi Penelitian	54

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Alga coklat merupakan salah satu jenis makroalga yang memiliki potensi biodiversitas hayati laut yang dapat memberikan nilai tambah terutamanya pada bidang farmasi (Gazali, 2018). *Sargassum polycystum* merupakan salah satu spesies alga coklat yang melimpah dan tidak banyak dibudidayakan di Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan (Rahadiati,2018).

Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada alga coklat *Sargassum polycystum* antara lain ialah alginat, laminarin, fucoidan diterpene, bromofenol, oxylipin, glikoprotein, chromene, polifenol dan *Fucoxanthin* (Sulistiyani, 2021). *Fucoxanthin* adalah pigmen berwarna coklat kekuningan yang merupakan 70% dari karotenoid yang terdapat dalam alga coklat yang memiliki potensi besar sebagai molekul bioaktif (Meresse,2020). *Fucoxanthin* dihasilkan oleh semua makro dan mikro alga coklat yang akan menutupi warna klorofil dan memberikan karakteristik warna coklat pada alga coklat (Pajot,2022). Senyawa ini memiliki struktur unik karena adanya ikatan allenic dan 5,6-monoepoksida obligasi, sehingga *Fucoxanthin* memiliki beberapa sifat biologis seperti antioksidan, antiinflamasi, anti obesitas, anti angiogenik, anti malaria dan hepatoprotektif (Sulistiyani, 2021). *Fucoxanthin* memiliki aktivitas antiproliferative dalam berbagai jenis sel kanker, seperti payudara dan

paru-paru (Padua *et al.*, 2015, Ming *et al.*, 2020). Oleh karena itu, senyawa *Fucoxanthin* dijadikan sebagai target dalam penelitian ini, dan untuk memperoleh senyawa *Fucoxanthin* dari alga coklat dapat dilakukan dengan berbagai proses, salah satunya yaitu ekstraksi.

Pada proses ekstraksi harus mempertimbangkan jenis cairan penyari yang tepat dengan menerapkan prinsip "*like dissolve like*", senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, dan senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar (Rasul,2018). Menurut penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa rendamen *Fucoxanthin* sangat bergantung pada pelarut ekstraksi. Studi kelarutan terkait *Fucoxanthin*, didapatkan bahwa senyawa *Fucoxanthin* dapat larut dalam cairan penyari seperti n-hexan, aseton, etil asetat, methanol dan etanol (Savira, 2021).

Menurut penelitian Kim *et al* tahun 2012, *Fucoxanthin* dari *Phaeodactylum tricornutum* telah berhasil diekstraksi dari beberapa pelarut. Etanol merupakan pelarut yang paling baik untuk memaksimalkan ekstraksi *Fucoxanthin Phaeodactylum tricornutum*, hasil ekstrak yang didapatkan ialah sebesar 15,71 mg/g, sedangkan untuk n-hexan tidak efektif untuk mengekstraksi *Fucoxanthin Phaeodactylum tricornutum*. Pelarut aseton menghasilkan sekitar sepertiga dari hasil ekstraksi etanol yaitu sebesar 4,6 mg/g, dan untuk pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak *Fucoxanthin* sebesar 2,26 mg/g yang diekstraksi menggunakan kondisi yang sama dengan pelarut yang lainnya (Kim,2012).

Berdasarkan hasil penelitian Reboloso tahun 2011 dilaporkan hasil kandungan *Fucoxanthin P.tricornotum* dari pelarut aseton sebesar 3,03 mg/g (Zhao,2022). Efek pelarut dalam proses ekstraksi *Fucoxanthin* memiliki hasil yang berbeda di setiap mikroalga, sebagai contoh *Porphyridium purpureum* memiliki hasil terbaik menggunakan pelarut air, sedangkan mikroalga lainnya diekstraksi dengan etanol (Reboloso,2001). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengukuran pengaruh cairan pengekstraksi terhadap kadar *Fucoxanthin* pada *Sargassum polycystum*, pengukuran kadar *Fucoxanthin* dapat dilakukan menggunakan metode HPLC.

Metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) merupakan salah satu metode instrumental yang dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif, HPLC akan memisahkan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dalam bentuk kromatogram (Susanti,2014). Pengukuran kadar *Fucoxanthin* dilakukan menggunakan HPLC karena metode ini memiliki kelebihan yaitu terletak pada ketepatan analisis dan kepekaan yang tinggi serta cocok untuk senyawa *non volatile* yang tidak rusak pada pemanasan. Instrumen ini dapat digunakan dalam perhitungan kadar senyawa termasuk kadar senyawa *Fucoxanthin* pada *Sargassum polycystum* (Noviendri,2011).

Melihat besarnya variabilitas dan keragaman hasil-hasil penelitian diatas, dapat diperkirakan adanya pengaruh tertentu pada ekstraksi

senyawa *Fucoxanthin* terhadap pelarut yang berbeda-beda. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cairan pengekstraksi terhadap kadar *Fucoxanthin Sargassum polycystum* yang dianalisis menggunakan HPLC.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh jenis cairan pengekstraksi terhadap kadar *Fucoxanthin* terhadap *Sargassum polycystum* asal Kabupaten Takalar yang dianalisis secara HPLC?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui jenis cairan pengekstraksi yang paling tepat dalam ekstraksi *Sargassum polycystum* asal Kabupaten Takalar terhadap perolehan kadar *Fucoxanthin*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman *Sargassum polycystum*

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kingdom : Plantae
Divisi : Phaeophyta
Kelas : Phaeophyceae
Family : Sargassaceae
Genus : Sargassum
Subgenus : Sargassum
Species : *Sargassum polycystum* (Htun,2012).



Gambar 1. *Sargassum polycystum*
(Hemlatha et al., 2017)

II.2.2 Morfologi Tanaman

Morfologi *Sargassum polycystum* tidak jauh berbeda dengan ciri-ciri umum aeophyta. Talus silindris berduri-duri kecil merapat, *holdfast* membentuk kram kecil dan di atasnya terdapat perakaran/stolon yang rimbun berekspansi segala arah. Panjang talus sekitar 35 cm, warna thallus coklat kekuning-kuningan, holdfast berbentuk discoid berrhizoid, dengan axis silindris. Mempunyai talus bentuk batang dan vesikel. Talus batang pendek, percabangan utama tumbuh rimbun di bagian ujungnya. Panjang talus bentuk daun 1,3 - 4,2 cm. Lebar talus bentuk daun 0,25 - 1,15 cm. Pada umumnya berbentuk membujur dan runcing atau membulat, dengan tepi bergerigi. Cryptostoma jelas, urat daun tidak begitu jelas (Widyartini,2012).

Vesikel berbentuk oval atau spherical, berukuran kecil, jumlah banyak pada talus dewasa, dengan diameter 1,5 - 3 mm. Ujung berduri dan membulat, melekat pada talus batang primer atau sekunder, dapat secara bergerombol atau sendiri-sendiri. Reseptakel bulat memanjang atau gepeng dengan pinggir berduri-duri terdapat dalam satu rangkaian bersama daun dan vesikel (Widyartini,2012).

II.1.3 Kandungan

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada alga coklat *Sargassum polycystum* antara lain ialah alginat, laminarin, fucoidan diterpene, bromofenol, oxylipin, glikoprotein, chromene, polifenol dan *Fucoxanthin* (Sulistiyani, 2021).

Sargassum sp. mengandung senyawa-senyawa aktif steroida, alkaloida, fenol, dan triterpenoid berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan anti jamur (Masduqi et al., 2014). *Sargassum* sp. mengandung fucoidan dan komponen fenolik Jenis komponen fenolik yang banyak dijumpai pada rumput laut coklat adalah phlorotanin yang berkisar antara 0,74% sampai 5,06% (Septiana, 2012).

II.1.4 Khasiat

Menurut Alamsyah et al. (2014), menyebutkan manfaat senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum polycystum* dibidang kesehatan seperti antikanker, antijamur, antivirus. Menurut Santi et al. (2014), *Sargassum* sp. jenis *Sargassum echinocarpum*, *Sargassum duplicatum* dan *Sargassum polycystum* perairan Jepara mampu menghambat

pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Menurut Hardouin *et al.* (2013), menyebutkan senyawa bioaktif pada *Sargassum* sp. di perairan Perancis yang diekstraksi secara hidrolisa enzimatis memiliki aktivitas bioaktif sebagai antivirus. Selain itu, senyawa bioaktif *Sargassum* sp. sebagai antibakteri memiliki sifat resisten terhadap berbagai antibiotic (Hardouin, 2013).

Kandungan Fucoxantin *Sargassum polycystum* berasal dari biosintesis karotenoid sehingga menghasilkan pigmen yang berperan penting dalam proses fotosintesis (Sulistiyani, 2021). Selain memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, fucoxantin memiliki efek biologis lain seperti antikanker, antidiabetes, antiobesitas, antibakteri, antimelanogenesis dan aktivitas antiinflamasi (Rajauria, 2013). Fucoxantin juga telah banyak digunakan pada industri sebagai tambahan makanan yang bernilai ekonomi tinggi. Meskipun fucoxantin dapat disintesis secara artifisial, namun fucoxantin alami merupakan alternatif yang lebih baik karena ketersediaan melimpah, ramah lingkungan dan lebih ekonomis (Sulistiyani, 2021).

II.2 Ekstraksi

II.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Prinsip ekstraksi didasarkan pada

difusi dan osmosis melalui 4 tahapan, yaitu (a) pelarut berpenetrasi ke dalam matriks serbuk simplisia, (b) zat aktif dalam simplisia melarut dalam pelarut, (c) zat aktif berdifusi keluar dari matrix, dan (d) zat aktif yang telah terekstraksi dapat dikumpulkan (Zhang,2018).

II.2.2 Metode Ekstraksi

a. Maserasi



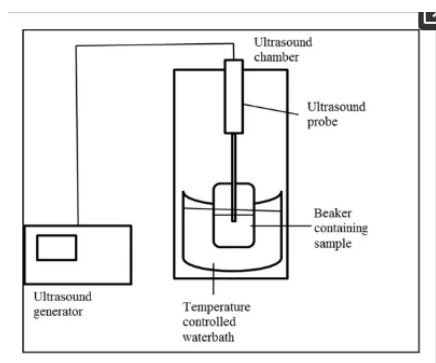
Gambar 2. Metode Ekstraksi Maserasi (Humadi,2019).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani,2014).

Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi

dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa bersifat termolabil (Mukhriani,2014).

b. *Ultrasound – Assisted Solvent Extraction*



Gambar 3. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction* (Zahari,2020).

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasound* dan *ultrasonic*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhriani,2014).

c. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak

homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani,2014).

d. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani,2014).

e.Reflux dan Destilasi uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap Terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini

adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegrasi (Mukhriani,2014).

f. *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*

Supercritical Fluid Extraction menggunakan cairan superkritis (SF) sebagai solven ekstraksi. SF memiliki kelarutan yang mirip dengan cairan dan memiliki difusi yang mirip dengan gas, dan dapat melarutkan banyak variasi produk natural. Properti pelarutnya berubah drastic saat dekat di titik kritis akibat tekanan rendah dan perubahan suhu. *Supercritical carbon dioxide* (S-CO₂) digunakan secara luas pada SFE karena temperatur kritis yang rendah, selektivitas, inert, murah, non-toksik, dan kapabilitas untuk mengekstraksi komponen yang termolabil (Ahmad, 2019).

II.3 Penguapan

II.3.1 Pengertian Penguapan

Penguapan pelarut atau yang dikenal sebagai evaporasi adalah proses untuk memekatkan suatu larutan dengan mengurangi jumlah pelarut sehingga konsentrasi ekstrak yang didapatkan akan lebih tinggi. Jenis-jenis pelarut yang digunakan pada metode ekstraksi terbagi atas 3, yaitu pelarut polar, semi-polar, dan non-polar. Pelarut polar terdiri dari pelarut aprotik polar dan protik polar, aprotik polar merupakan pelarut yang kekurangan hydrogen sehingga tidak dapat memberikan ion OH⁻ seperti pelarut etil asetat. Sedangkan pelarut protik polar memiliki atom hydrogen yang terikat pada oksigen dan dapat memberikan ion OH⁻, Sehingga lebih mudah berinteraksi dengan gugus fungsional yang polar,

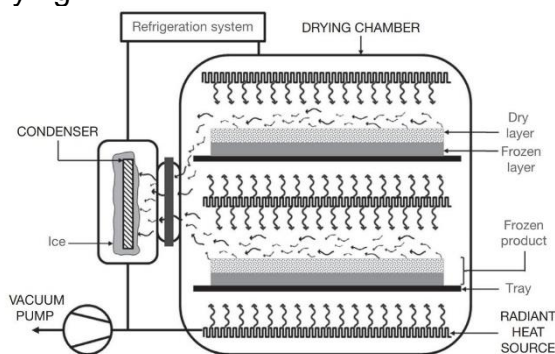
contoh pelarut polar protik ialah air, methanol dan etanol. Titik didih dari tiap jenis pelarut yang lazim digunakan tertera pada tabel di bawah ini (Nansyanka,2020).

Tabel 1. Titik didih jenis-jenis pelarut (Nansyanka,2020).

Jenis Pelarut	Nama Pelarut	Titik Didih (°C)
Protik Polar	Air	100
	Etanol	79
	Metanol	64,7
Aprotik Polar	DMSO	189
	Aseton	56
	Asetonitril	82
Non-polar	Toluen	111
	Heksana	69
	Kloroform	61

II.3.2 Metode Penguapan pelarut

a. Freeze-Drying



Gambar 4. Alat Freeze-Dryer

Freeze-drying adalah metode yang dilakukan dengan langsung menghasilkan ekstrak kering dengan alat yang dinamakan freeze-dryer.

b. Rotary evaporator

Metode penguapan menggunakan *rotary evaporator* merupakan alat yang paling sering digunakan. Alat ini menggunakan prinsip vakum destilasi, sehingga tekanan akan menurun dan pelarut menguap di bawah titik didihnya. Pemanasan dibantu oleh penangas air dan dibantu rotavapor yang memutar labu berisi ekstrak. Pada proses juga dilakukan

penurunan tekanan pada labu agar penguapan terjadi lebih cepat. Pompa vakum digunakan untuk menguapkan larutan agar naik ke kondensor sehingga akan diubah ke bentuk cair. Biasanya senyawa yang memiliki titik didih di atas 200°C sulit dipisahkan oleh karena temperatur tinggi dapat menyebabkan senyawa terdekomposisi oleh karena itu prinsip ini lebih baik karena mengurangi kemungkinan senyawa terdekomposisi karena suhu tinggi (Kristanti, 2008).

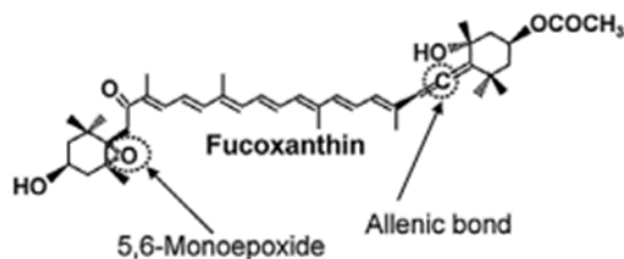
Metode penguapan menggunakan *rotary evaporator* merupakan alat yang paling sering digunakan. Alat ini menggunakan prinsip vakum destilasi, sehingga tekanan akan menurun dan pelarut akan menguap di bawah titik didihnya (persamaan $PV = nRT$) (Nasyanka, 2020 & Kristanti, 2008).



Typical Rotary Evaporator

Gambar 5. *Rotary Evaporator* (Pratt, 2010).

II.4 *Fucoxanthin* dan Strukturnya



Gambar 6. Struktur *Fucoxanthin*

Fucoxanthin adalah pigmen berwarna coklat kekuningan yang merupakan 70% dari karotenoid yang terdapat dalam alga coklat (Koduvayur Habeebullah et al., 2018) dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Senyawa ini memiliki struktur unik karena adanya ikatan *allenic 5,6-monoepoxide obligasi* (Sulistiyani et al., 2021). *Fucoxanthin* berasal dari biosintesis karotenoid sehingga menghasilkan pigmen yang berperan penting dalam proses fotosintesis (Sulistiyani et al., 2021). Selain memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, *Fucoxanthin* memiliki efek biologis lain seperti antikanker, antidiabetes, anti obesitas, antibakteri, anti melanogenesis dan aktivitas antiinflamasi (Rajauria & Abu-Ghannam, 2013). *Fucoxanthin* memiliki sedikit efek samping pada sel normal dan tidak terdeteksi baik secara in-vitro maupun in-vivo. Studi toksisitas pada dosis oral berulang untuk tikus selama 28 hari menunjukkan bahwa *Fucoxanthin* tidak memberikan efek toksisitas yang jelas (Peng et al., 2011).

Perbedaan struktural *Fucoxanthin* dengan karotenoid lainnya adalah adanya karbon allenic (C-7), 5,6-monoepoxide, dua gugus hidroksil, gugus karbonil dan gugus asetil di cincin terminal *Fucoxanthin*. Ikatan allenic

tersebut berperan penting dalam aktivitas antioksidan *Fucoxanthin*. Selain itu, *Fucoxanthin* memiliki 6 atom oksigen sehingga lebih sensitif terhadap radikal bebas terutama dalam kondisi anoksik (Sulistiyani et al., 2021).

II.5 Kromatografi

II.5.1 Pengertian Kromatografi

Kromatografi pertama kali dikembangkan oleh ahli botani dari Rusia Mikhail S. Tswett (1872-1919) yang melakukan teknik pemisahan pigmen tanaman berwarna. Teknik ini dalam publikasi kemudian dinamakannya "*chromatography*" yang merupakan penggabungan dari dua kata dari bahasa Yunani, yaitu *chroma* (bahasa Inggris: *color*) yang berarti warna dan *graphein* (bahasa Inggris: *to write*) yang berarti menulis, jadi kromatografi berarti menulis dengan warna untuk mengindikasikan pita-pita warna yang teramati oleh Tswett dalam risetnya. Pada saat yang bersamaan Tswett juga berhasil melakukan pemisahan bahan-bahan yang tidak berwarna dengan tekniknya tersebut (Rubiyanto,2017).

Menurut International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) definisi dari kromatografi adalah suatu metode yang khususnya digunakan dalam pemisahan komponen-komponen dalam suatu sampel yang terdistribusi dalam dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Rubiyanto,2017).

II.5.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi atau KCKT atau biasa juga disebut HPLC yang diterima secara luas untuk analisis bahan obat dalam cairan

biologis (Rohman, 2009). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan suatu metoda pemisahan canggih dalam analisis farmasi yang dapat digunakan sebagai uji identitas, uji kemurnian dan penetapan kadar. Titik beratnya adalah untuk analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap dan tidak stabil pada suhu tinggi, yang tidak bisa dianalisis dengan Kromatografi Gas. Banyak senyawa yang dapat dianalisis, dengan KCKT mulai dari senyawa ion anorganik sampai senyawa organik makromolekul. Untuk analisis dan pemisahan obat atau bahan obat campuran rasemis optis aktif dikembangkan suatu fase pemisahan kiral yang mampu menentukan rasemis dan isomer aktif (Putra, 2004).

Adapun prinsip dari KCKT yaitu suatu sampel berupa larutan diinjeksikan kedalam kolom yang berisi fase diam dan fase gerak, kemudian diberikan tekanan tinggi sehingga fase gerak dapat mengelusi sampel keluar dari kolom dan terdeteksi oleh detektor yang kemudian dihasilkan kromatogram (Kardila dan Saputri, 2017).

II.6 Validasi metode analisis

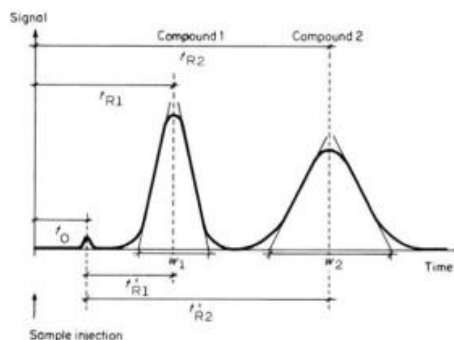
Validasi metode analisis adalah suatu Tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi syarat untuk penggunaannya (Effendy, 2004). Pemilihan parameter validasi atau verifikasi tergantung pada beberapa faktor seperti aplikasi, sampel uji, tujuan metode, dan peraturan lokal atau international. Validasi dilakukan terhadap suatu metode baku sebelum digunakan, bermaksud untuk membuktikan bahwa

instrument yang digunakan dapat menganalisis dengan hasil yang valid (Gholib, 2018).

Pengukuran terhadap setiap analit dalam matriks biologi harus mengalami proses validasi terlebih dahulu. Parameter-parameter yang dinilai pada validasi metode analisis adalah akurasi, presisi, selektivitas, sensitivitas, *reproducibilitas*, dan stabilitas. Dalam validasi metode, kinerja yang akan diuji adalah keselektifan, seperti uji akurasi (ketetapan) dan presisi (kecermatan), Dua hal ini merupakan hal yang penting minimal harus dilakukan dalam validasi sebuah metode (Gholib,2018).

II.6.1 Analisis kesesuaian sistem

Uji kesesuaian sistem adalah salah satu bagian dalam pengukuran dengan menggunakan instrumen yang terintegrasi dari banyak prosedur analisis. Tujuan dilakukan uji ini adalah untuk memastikan bahwa instrument yang digunakan, analisis dan sampel yang dianalisis merupakan sistem terintegrasi yang dapat dievaluasi (Ermer,2005). Parameter-parameter yang dapat digunakan untuk menetapkan kesesuaian sistem sebelum analisis seperti bilangan lempeng teoritis (N), faktor *tailing*, faktor kapasitas dan nilai standar deviasi relatif (RSD) tinggi puncak dan luas puncak dari serangkaian injeksi (USP,2005).



Gambar 7. Kromatogram penentuan kesesuaian sistem (Meyer,2004)

II.6.2 Akurasi

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan, Kriteria rentang *recovery* yang dapat diterima dalam dilihat pada tabel dibawah ini (Harmita,2004).

Tabel 2. Kriteria rentang *recovery* yang dapat diterima (Harmita,2004).

Analit pada matriks sampel (%)	Rentang <i>recovery</i> yang diperoleh
100	98-102
>10	98-102 %
>1	97-103 %
>0,1	95-105 %
0,01	90-107 %
0,001	90-107 %
0,0001 (1 ppm)	80-110 %
0,00001 (10 ppb)	80-110 %
0,000001 (10 ppb)	60-115 %
0,0000001 (1 ppb)	40-120 %

II.6.3 Presisi

Presisi atau keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran

hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita,2004). Presisi dinyatakan dalam koefisien variasi (KV), suatu metode dapat dinyatakan memiliki presisi yang baik apabila memiliki KV < 2 % tetapi kriteria ini tergantung dari kondisi analit yang diperiksa, jumlah sampel dan kondisi instrumen. Berikut tabel nilai KV yang dapat diterima (Hermita,2004).

Tabel 3. Kriteria KV yang dapat diterima (Harmita,2004).

Kadar Analit	KV (%)
≥1%	2,5
0,1 %	5
1 ppm	16
1 ppb	32

II.6.4 Linieritas

Linieritas merupakan parameter untuk menunjukkan kemampuan metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai berdasarkan konsentrasi analit yang terkandung dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Rentang linearitas dapat ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi dari beberapa set larutan baku pembanding yang konsentrasinya telah diketahui (Ermel, 2005). Dari kurva kalibrasi larutan baku didapatkan persamaan garis lurus yang selanjutnya dapat diperoleh nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya. Persyaratan data linearitas yang bisa diterima jika memenuhi nilai koefisien korelasi (r) > 0,99 (Gholib, 2018).

II.6.5 LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limites of Quantification*)

LOD atau batas deteksi adalah jumlah terkecil senyawa yang terkandung dalam sampel yang dapat diukur oleh metode analisis dan memberikan respon signifikan disbanding blanko. LOQ atau Batas kuantitas adalah konsentrasi terkecil senyawa didalam sampel yang dapat diukur secara kuantitatif dengan kondisi presisi dan akurasi yang cocok (Harmita,2004). LOD dan LOQ dapat ditentukan melalui persamaan garis lurus dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis $y = a + bx$, dan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Harmita,2004). Penentuan batas deteksi dan batas kuantitas dapat diketahui melalui persamaan dibawah ini :

$$Q = \frac{k \times (s_{y/x})}{SI}$$

Ket :

Q= Batas deteksi dan batas kuantitas

k= 3 untuk batas deteksi dan 10 untuk batas kuantitas

Sb = Simpanan baku residual

SI = Arah garis linear dari kurva antara respon terhadap konsentrasi
(Slope atau b pada persamaan garis $y = ax + b$)