

ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA FENOLIK EKSTRAK ALGA *Sargassum polycystum* DARI PANTAI SELATAN, GUNUNG KIDUL, YOGYAKARTA

PHENOLIC CONTENT ANALYSIS OF ALGAE EXTRACT *Sargassum polycystum* FROM SOUTH BEACH, GUNUNG KIDUL, YOGYAKARTA

Radipta Lailatussifa^{1*}, Maria Madalena Pereira²

¹Program Studi Teknik Pengolahan Produk Perikanan, Politeknik KP Sidoarjo, Sidoarjo

²Graduate Student of Fisheries Science Department, Pukyong National University, Busan, Korea

*E-mail: rr.radipta@gmail.com

ABSTRACT

Sargassum sp. is one of the abundant brown algae on the South Coast of Yogyakarta. This algae has pharmacological activity in the form of metabolite biological activity, one of which is as an antioxidant. Regarding its ability as an antioxidant, information is needed regarding the polyphenol content in the algae *S. polycystum*. The aims from this research were to determine of phenolic content analysis of *Sargassum polycystum* brown algae from South Beach, Gunung Kidul, Yogyakarta quantitatively related to its total phenolic content and qualitatively consisting of Thin Layer Chromatography (TLC) and HPLC (High Performance Liquid Chromatography) tests. Polyphenol was extracted with ethanol 96% and calculated the yield. The yield from fresh algae to powdered algae was 9%, while the yield from fresh algae to ethanolic extract was 5.1%. The value of the total phenolic content extract at a concentration of 1000 ppm was $59.30 \pm 0,58$ g GAE/100 g dried extract. The TLC test was performed using gallic acid and phloroglucinol standard, while the HPLC test was performed using gallic acid, phloroglucinol and phenol standard. The TLC dan HPLC results showed that ethanolic extract of *Sargassum polycystum* was suspected to contain polyphenols that resembled of gallic acid and phenol standards.

Keywords: ethanolic extract, High Performance Liquid Chromatography, *Sargassum polycystum*, Thin Layer Chromatography, Total Phenolic Content

ABSTRAK

Sargassum sp. merupakan salah satu alga cokelat yang melimpah di Pantai Selatan Yogyakarta. Alga ini mempunyai aktivitas farmakologi berupa aktivitas biologis metabolit, salah satunya sebagai antioksidan. Terkait kemampuannya sebagai antioksidan, diperlukan informasi terkait kandungan polifenol pada alga *S. polycystum*. Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisis kandungan senyawa fenol dari alga cokelat *S. polycystum* yang berasal dari Perairan Pantai Selatan, Gunung Kidul, Yogyakarta, secara kuantitatif terkait kandungan total fenolnya dan secara kualitatif yang meliputi uji Kromatografi Lapis Tipis dan HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Polifenol diekstrak dengan etanol 96% dan dihitung rendemennya. Rendemen yang dihasilkan dari alga segar menjadi alga bubuk sebesar 9%, sedangkan rendemen dari alga segar menjadi ekstrak etanolik alga sebesar 5,1%. Nilai kandungan total fenol ekstrak sebesar $59,30 \pm 0,58$ g GAE/100 g ekstrak kering. Uji KLT dilakukan dengan standar asam galat dan floroglusinol, sedangkan uji HPLC dilakukan dengan standar asam galat, floroglusinol dan fenol. Hasil Uji KLT dan HPLC menunjukkan bahwa ekstrak etanolik dari *Sargassum polycystum* mengandung polifenol yang menyerupai standar asam galat dan fenol.

Kata Kunci: ekstrak etanolik, High Performance Liquid Chromatography, *Sargassum polycystum*, Kromatografi Lapis Tipis, Kandungan Total Fenol

I. PENDAHULUAN

Organisme laut merupakan suatu sumber yang secara struktur dan biologisnya menyediakan metabolit sekunder aktif. Alga laut mempunyai banyak fitokimia dengan variasi bioaktivitas meliputi antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Lordan *et al.*, 2011). Alga laut juga diketahui kaya akan vitamin, mineral, polisakarida, protein, dan polifenol (Kuda *et al.*, 2005). *Sargassum* sp. merupakan alga coklat yang kaya kandungan polifenol, seperti *fucol*, *fucophlorethol*, *fucodiphloroethol G*, *ergosterol*, serta florotanin (Heo *et al.*, 2005).

Komponen fenolik merupakan salah satu antioksidan paling efektif yang terkandung pada alga coklat (Nagai and Yukimoto, 2003). Menurut Zubia *et al.* (2007), senyawa fenol digolongkan menjadi senyawa fenolik sederhana dan polifenol. Polifenol meliputi tanin, flavonoid, dan florotanin. Tanin digolongkan menjadi asam galat, katekin, dan epikatekin. Beberapa aktivitas polifenol bagi kesehatan tubuh manusia adalah antioksidan, antimikroba, anti hipertensi, dan efek hipoglikemik. Polifenol digunakan dalam bidang farmakologi dan kosmetik dikarenakan aktivitas antioksidan tinggi, antibiotik, antidiabetik dan dapat digunakan sebagai pelindung radiasi (Holdt and Stefan, 2011).

Analisis kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan metode *folin-ciocalteau*. Pengukuran dilakukan dengan cara melihat kemampuan reduksi dari komponen fenol dengan standar yang digunakan adalah asam galat. Kerja dari polifenol sebagai antidiabetes serupa dengan acarbose, yaitu memperpanjang waktu perombakan karbohidrat dan menghambat absorpsi glukosa (You and Barnett, 2004). Polifenol berperan sebagai antioksidan karena senyawa ini mempunyai sifat pereduksi yakni agen pendonor atau penyumbang hydrogen, *scavenger* radikal, serta pengelat logam besi dan tembaga sehingga dapat menghambat pembentukan

radikal bebas yang dikatalisis oleh logam (Firdaus, 2011).

Berbagai manfaat yang terdapat dalam senyawa polifenol, maka dilakukan penelitian tentang analisis kandungan polifenol yang terdapat dalam alga coklat *Sargassum polycystum* secara kuantitatif melalui kadar total fenol maupun kualitatif melalui uji Kromatografi Lapis Tipis dan High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

II. METODE PENELITIAN

2.1.Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga coklat *S. polycystum* yang diperoleh dari pantai Pok Tunggal Gunungkidul Yogyakarta, ethanol 96%, HCl 1 N, asam galat, floroglusinol, fenol, reagen Folin Ciocalteau, natrium karbonat (Na_2CO_3) 7,5%, kloroform (pro analis), methanol (pro analis), akuades dan asam asetat (pro analis).

Alat yang digunakan meliputi plat silika (TLC Silica Gel 60 F₂₅₄ E-Merck) untuk KLT (Kromatografi Lapis Tipis), HPLC Shimadzu, detector UV (*Ultra Violet Product 3 UV Lamp*), *microplate reader* Japan, *microplate 96-well plate*, baskom, blender, timbangan analitik (Shimadzu BX 6000 dan Shimadzu BX320D), saringan 40 mesh, kertas laksus pH, pH meter, botol vial, *white tip*, *yellow tip*, *blue tip*, mikropipet Dragon Lab ukuran 0,5-10 μl dan 20-200 μl , mikropipet Socorex ukuran 100-1000 μl , hematokrit, mortar, hot plate stirrer (*Thermolyne Nouva Stir Plate*), magnet stirrer, pengaduk, alumunium foil, corong plastik, *rotary evaporator* (IKA RV 10 *basic*), dan *freeze dryer* (*Virtis SP Scientific*).

2.2.Koleksi dan Identifikasi Sampel

Sampel *S. polycystum* (No: BF/220/Ident/Det/V/2014) dikoleksi dari Pantai Selatan, Gunungkidul, Yogyakarta kemudian dicuci dan ditimbang berat

basahnya. Sampel dikering anginkan dalam ruangan selama 4-5 hari. Sampel yang sudah kering selanjutnya dipotong kecil-kecil (0,5-1 cm) dan diblender atau dihaluskan, sedangkan sampel segar yang masih utuh digunakan untuk identifikasi di Laboratorium Taksonomi Tanaman, Fakultas Biologi, UGM. Rendemen serbuk alga kering dihitung sebagai berikut.

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{\text{Berat serbuk}}{\text{Berat rumput laut segar}} \times 100\%$$

2.3. Ekstraksi Alga

Ekstrak etanolik dengan metode Kang *et al.* (2010) yang telah dimodifikasi, yaitu masing-masing sebanyak 200 gram bubuk rumput laut diekstrak menggunakan ethanol 96% (1.875 ml) pada pH 4 dan diatur dengan HCl 1 N pada suhu ruang dan diaduk selama 4 jam. Selanjutnya dilakukan pengendapan selama 2x24 jam dan disaring dengan kertas Whatmann. Selanjutnya filtrat diambil dan dilakukan evaporasi dengan *Rotary Evaporator* 60°C, 135-150 rpm. Setelah itu dikeringbekukan, ditimbang dan disimpan pada suhu -20°C. Rendemen polifenol dihitung sebagai berikut.

$$\text{Rendemen polifenol (\%)} = \frac{\text{Berat polifenol}}{\text{Berat rumput laut kering}} \times 100\%$$

2.4. Analisis Kandungan Total Fenol

Kandungan total fenol dilakukan dengan modifikasi metode Kang *et al.* (2010). Larutan standar asam galat konsentrasi 1 mg/ml dibuat seri pengenceran sebanyak 6x, yaitu konsentrasi 200 µg/ml; 100 µg/ml; 50 µg/ml; 25 µg/ml; 12,5 µg/ml; dan 6,25 µg/ml. Ekstrak polifenol sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 1 ml akuades dan dilakukan seri pengenceran sebanyak 6x, yaitu konsentrasi 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, dan 31,25 µg/ml. Kemudian diambil sebanyak 10 µl masing-masing konsentrasi larutan standar dan ekstrak polifenol, dimasukkan ke dalam *microplate 96-well plate*. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 50 µl reagen *Folin-Ciocalteu* 2 N (Merck, Sigma-Aldrich) ke dalam *microplate* dan inkubasi selama 5 menit. Setelah 5 menit, ditambahkan 40 µl 7,5% Na₂CO₃ dan diinkubasi selama 2 jam pada ruang gelap dengan suhu ruang (25°C). Absorbansi supernatan dibaca pada panjang gelombang 750 nm. Kurva dibuat dengan cara memplotkan konsentrasi (µg/ml) *versus* absorbansi (nm). Persamaan regresi dari kurva standar $y=ax+b$, $R^2=c$, dimana x adalah konsentrasi dan y adalah absorbansi.

Total fenol akan dinyatakan dalam gram GAE (*Gallic Acid Equivalents*) per 100 gram ekstrak.

2.5. Analisis Kandungan Polifenol *S. polycystum* dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Uji KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak berupa kloroform : metanol : air : asam asetat (65:25:4:3) (Shibata *et al.*, 2004). Hasil ekstraksi polifenol *S. polycystum* diambil menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan di bagian bawah plat silika lalu direndam dalam chamber berisi campuran larutan pengembang. Selanjutnya dilakukan penentuan nilai Rf. Nilai Rf merupakan jarak yang ditempuh oleh senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. Nilai Rf sampel dibandingkan dengan nilai Rf standar. Standar yang digunakan berupa floroglusinol dan asam galat.

2.6. Analisis Kandungan Polifenol *S. polycystum* dengan HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Uji HPLC dilakukan dengan metode Shibata *et al.* (2008). Sampel diuji lebih

lanjut dengan HPLC menggunakan kolom ODS-3. Larutan sampel dan standar dibuat sebanyak 1% dan dimasukkan ke dalam kuvet. Elusi HPLC dilakukan dengan fase gerak berupa air : methanol : asam asetat glasial (69:28:3) kecepatan aliran 1,0 ml/menit. Detektor UV diset pada panjang gelombang 290 nm. Standar tetap digunakan adalah floroglusinol, asam galat, dan fenol. Waktu retensi dicatat untuk masing-masing puncak yang terbaca.

2.7. Analisis Data

Desain penelitian yang digunakan adalah analisis Deskriptif. Data yang diperoleh diplotkan dalam grafik sehingga diperoleh persamaan regresi linier. Berdasarkan persamaan regresi tersebut akan diperoleh nilai kadar total fenol dalam satuan ekivalen asam galat (*Gallic Acid Equivalent* atau GAE).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Rendemen Ekstrak *S. polycystum*

Alga basah, alga yang telah berbentuk serbuk dan ekstrak etanolik alga kemudian dihitung rendemennya. Rendemen menyatakan nilai efisiensi dari proses pengolahan sehingga dapat diketahui ekstrak yang dihasilkan dari bahan dasar awalnya. Rendemen pengeringan alga diperoleh sebesar 9% dengan berat awal alga segar 20 kg dan berat serbuk alga 1.800 g. Rendemen ekstrak etanolik alga sebesar 5,1% dengan berat ekstrak 91,72 gram.

Rendemen ekstrak etanol *S. polycystum* lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen ekstrak etanol *Padina pavonica* pada penelitian Husni *et al.* (2014) sebesar 2,77%, rendemen ekstrak metanol *Kappaphycus alvarezii* sebesar 0,034% (Lantah *et al.*, 2017) dan lebih rendah dibandingkan rendemen ekstrak metanol *S. hystrix* sebesar 15% (Husni *et al.*, 2018). Banyak sedikitnya persentase rendemen yang didapatkan dari hasil ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: jenis pelarut, rasio berat bahan dengan

volume pelarut, suhu, pengadukan, waktu ekstraksi, ukuran padatan, dan lamanya perendaman (Gazali *et al.*, 2018). Semakin rendah persentase rendemen alga menunjukkan semakin rendah komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya dan berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya (Lantah *et al.*, 2017).

3.2. Analisis Kandungan Total Fenol

Kandungan total fenol dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip metode *Folin-Ciocalteu* adalah reaksi oksidasi dan reduksi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa fenolik dalam sampel uji (oksidasi gugus fenolik hidroksil). Preaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali), mereduksi asam heteropolik menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W). Selama berlangsungnya reaksi, gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* membentuk kompleks fosfotungsat-fosfomolibdat berwarna biru dapat dideteksi dengan spektrofotometer atau microplate reader (Khadijah *et al.*, 2017).

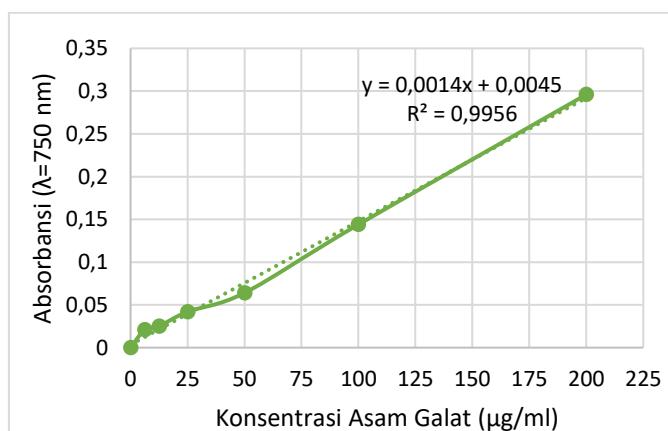
Penetapan kurva standar asam galat dibuat dengan cara memplotkan hasil absorbansi asam galat pada berbagai variasi konsentrasi yang telah dikurangi dengan absorbansi larutan blanko (akuades). Persamaan garis kurva regresi linier asam galat, yaitu $y = 0,0014x + 0,0045$ dengan nilai $R^2 = 0,9956$. Nilai R^2 yang diperoleh mendekati 1, sehingga telah terjadi hubungan linier sempurna antara kenaikan konsentrasi asam galat dengan kenaikan nilai Absorbansi (A) berupa garis lurus. Hasil pengukuran absorbansi asam galat sebagai standar dapat dilihat pada kurva standar asam galat yang tertera dalam Gambar 1.

Ekstrak polifenol *Sargassum polycystum* sebanyak 5 mg/ml dibuat seri pengenceran sebanyak 6x dengan variasi konsentrasi 31,25 μ g/ml; 62,5 μ g/ml; 125 μ g/ml; 250 μ g/ml; 500 μ g/ml; dan 1000 μ g/ml lalu diukur absorbansinya pada

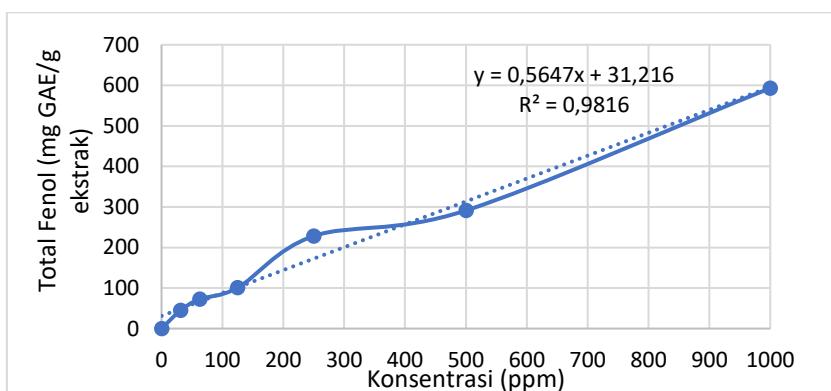
panjang gelombang 750 nm. Nilai absorbansi polifenol *Sargassum polycystum* pada berbagai konsentrasi dibuat menjadi 3x ulangan, selanjutnya diplotkan pada kurva regresi linier sebagai nilai y dan dimasukkan ke dalam persamaan garis kurva standar asam galat $y = 0,0014x + 0,0045$. Nilai x diperoleh sebagai kandungan total fenol sampel yang dinyatakan dalam satuan ekivalen asam galat. Hasil pengukuran kadar total fenol ekstrak *Sargassum polycystum* dalam ekivalen asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.

Kandungan total fenol ekstrak *S. polycystum* terjadi kenaikan nilai pada konsentrasi sampel yang semakin meningkat. Nilai kandungan total fenol pada konsentrasi 1000 ppm (1000 µg/ml atau 1 mg/ml) sebesar $59,30 \pm 0,58$ g GAE/100 g ekstrak. Hasil ini tergolong lebih tinggi jika dibandingkan dengan kandungan total fenol

pada *S. horneri* yaitu sebesar 12,2 g GAE/100 g ekstrak (Luo *et al.* 2010); *S. binderi* sebesar 0,03 g GAE/100 g ekstrak (Boonchum *et al.*, 2011); *S. kjelmanianum* sebesar 16,3 g GAE/100 g ekstrak (Luo *et al.*, 2010); *S. thunbergii* sebesar 11,5 g GAE/100 g ekstrak (Heo *et al.*, 2005); dan *S. vulgare* sebesar 7,09 g GAE/100 g ekstrak (Plaza *et al.*, 2010). Kandungan total fenol ekstrak *S. polycystum* lebih rendah dibandingkan kandungan total fenol pada *Sargassum muticum* sebesar $230,8 \pm 17,1$ mg/100 g berat kering (Farvin and Jacobsen, 2013). Tinggi rendahnya kandungan total fenol dipengaruhi oleh faktor intrinsik (spesies sampel dan jenis sampel, umur sampel, tempat pengambilan sampel) maupun faktor ekstrinsik (iklim, suhu, salinitas, kedalaman, zona tidal, dan siklus tidal) (Lann *et al.*, 2012).



Gambar 1. Kurva hubungan absorbansi dengan konsentrasi asam galat



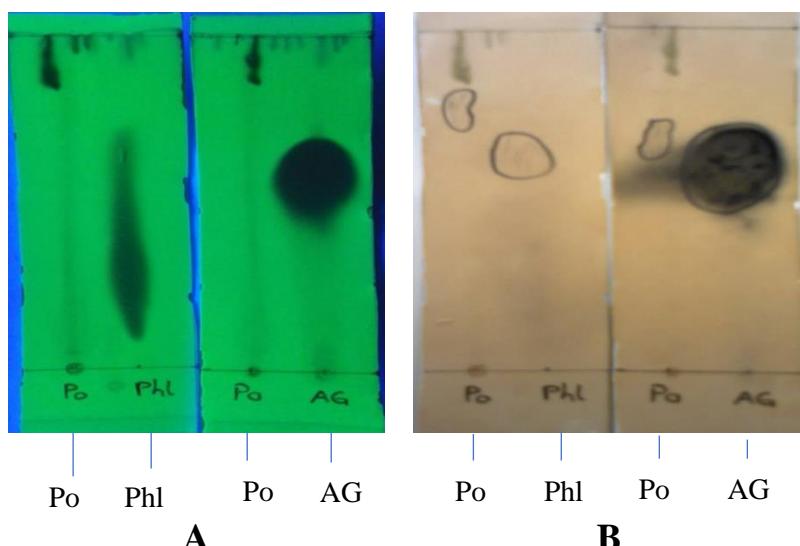
Gambar 2. Kurva kandungan total fenol ekstrak *Sargassum polycystum*

3.3. Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Uji KLT dilakukan terhadap senyawa polifenol ekstrak *S. polycystum* menggunakan senyawa standar asam galat dan floroglusinol. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah waktu retensi (Rf) senyawa ekstrak sama dengan Rf senyawa standar dan mengetahui standar yang lebih sesuai dalam menduga adanya senyawa polifenol pada ekstrak *S. polycystum*. Fase gerak berupa kloroform:metanol:air:asam asetat dengan perbandingan 65:25:4:3 (Shibata *et al.*, 2004), sedangkan fase diam digunakan plat silika gel GF₂₅₄.

Hasil KLT ekstrak sebelum dan setelah penyemprotan FeCl₃ 1% dapat dilihat pada Gambar 3. Ekstrak etanolik *S. polycystum* diduga mengandung polifenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna kehitaman pada noda setelah disemprot dengan pereaksi FeCl₃ 1%. Jika

dibandingkan dengan standar phloroglucinol, nilai Rf ekstrak *S. polycystum* agak berbeda yang ditunjukkan dengan nilai Rf phloroglucinol sebesar 0,63 sedangkan nilai Rf ekstrak *S. polycystum* sebesar 0,77. Hal ini disebabkan phloroglucinol merupakan salah satu jenis florotannin yang merupakan sebagian kecil dari polifenol, sehingga dimungkinkan jenis senyawanya tidak begitu sama dengan polifenol yang masih mengandung berbagai senyawa lain selain florotannin. Akan tetapi, jika dibandingkan dengan standar asam galat, nilai Rf ekstrak *S. polycystum* tidak begitu berbeda yang ditunjukkan dengan nilai Rf asam galat sebesar 0,60 sedangkan nilai Rf ekstrak *S. polycystum* sebesar 0,67. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *S. polycystum* diduga mengandung senyawa polifenol yang menyerupai standar asam galat.



Gambar 3. Hasil KLT ekstrak sebelum (A) dan sesudah (B) disemprot larutan FeCl₃ 1% dari kiri ke kanan: Po (Polifenol ekstrak *S. polycystum*), AG (Asam Galat), dan Phl (floroglusinol)

3.4. Uji HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

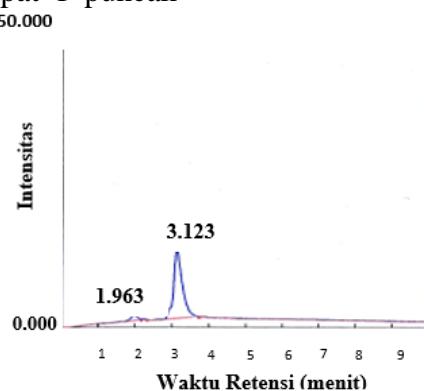
Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Analit merupakan senyawa

kimia hasil dari pemisahan sampel yang diinjeksikan ke dalam kolom. Pemisahan analit sesuai dengan perbedaan afinitasnya (Sorban *et al.*, 2013). Pengujian HPLC dilakukan pada senyawa sampel (ekstrak

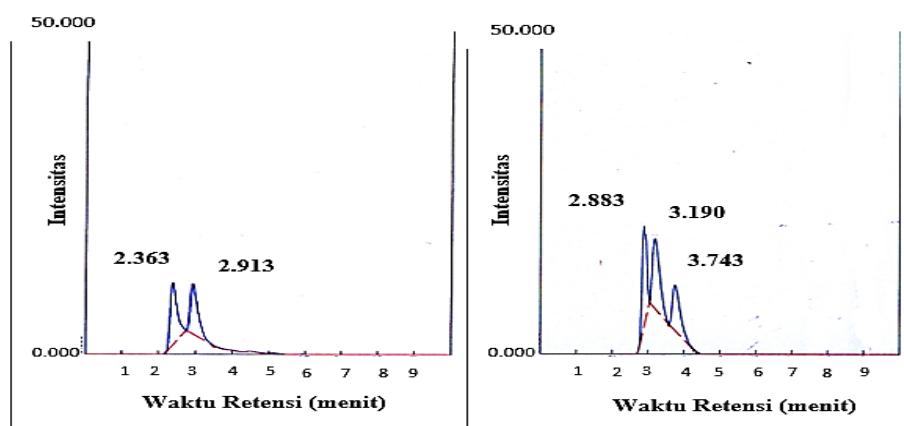
etanolik *S. polycystum*), senyawa standar (asam galat, floroglusinol dan fenol), dan senyawa sampel yang ditambah dengan senyawa standar (asam galat, floroglusinol dan fenol). Hasil HPLC senyawa standar floroglusinol dapat dilihat pada Gambar 4.

Senyawa standar floroglusinol mempunyai tingkat kemurnian yang cukup tinggi, meskipun masih terdapat 1 puncak

lainnya yang diduga sebagai senyawa pengotor. Puncak analit dominan mempunyai luas area sebesar 94,587% dengan waktu retensi 3.123. Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* dapat dilihat pada Gambar 5 (A) dan hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* yang ditambah floroglusinol dapat dilihat pada Gambar 5 (B).



Gambar 4. Hasil HPLC senyawa standar floroglusinol



Gambar 5. (A) Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* (a), (B) Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* (a) di-spiking dengan floroglusinol

Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* yang telah dicampur dengan floroglusinol, terdapat 1 puncak dengan waktu retensi sebesar 3.190 yang mendekati waktu retensi senyawa standar floroglusinol (3.123) (Gambar 5B). Akan tetapi puncak yang terbentuk menjadi 3 macam. Selain itu, luas area yang terbentuk pada puncak dengan waktu retensi 3.190 sebesar 39.0607% menunjukkan terjadinya penurunan luas area

jika dibandingkan dengan luas area ekstrak *S. polycystum* sebelum dilakukan *spiking* pada waktu retensi 2.913 yakni 46.4827%. Dengan demikian, sampel ekstrak *S. polycystum* tidak mengandung senyawa floroglusinol (salah satu monomer florotannin) yang merupakan bagian dari senyawa polifenol.

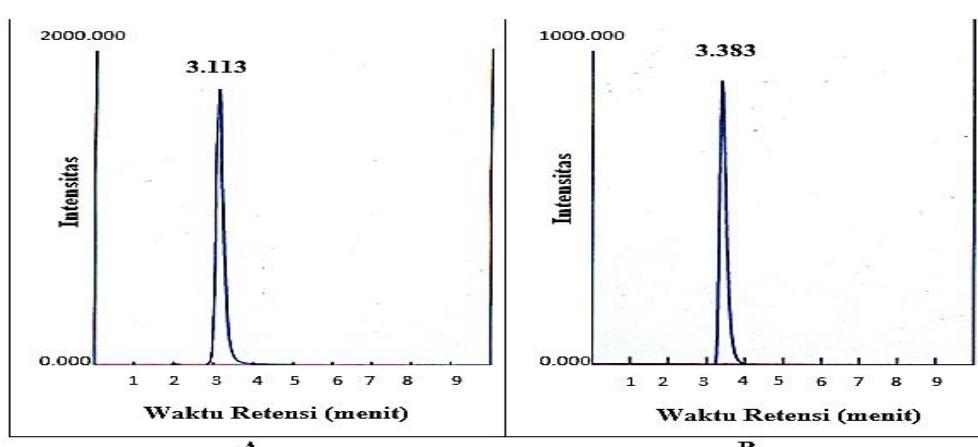
Hasil HPLC senyawa standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 6 (A),

sedangkan senyawa standar fenol dapat dilihat pada Gambar 6 (B). Puncak analit senyawa standar asam galat mempunyai luas area sebesar 100% dan waktu retensi 3.113, sedangkan puncak analit senyawa standar fenol mempunyai luas area sebesar 100% dengan waktu retensi 3.383. Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* dapat dilihat pada Gambar 7. Ekstrak *S. polycystum* memiliki dua puncak analit pada waktu retensi 3.153 dengan luas area 69,1846% dan waktu retensi 3.693 dengan luas area 30.8154%. Terdapat 1 puncak dengan waktu retensi yang mendekati waktu retensi senyawa standar asam galat dan fenol, yakni pada puncak analit dengan waktu retensi 3.153.

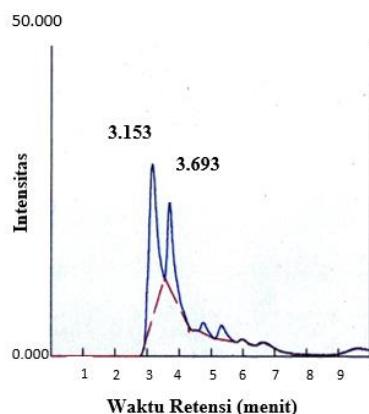
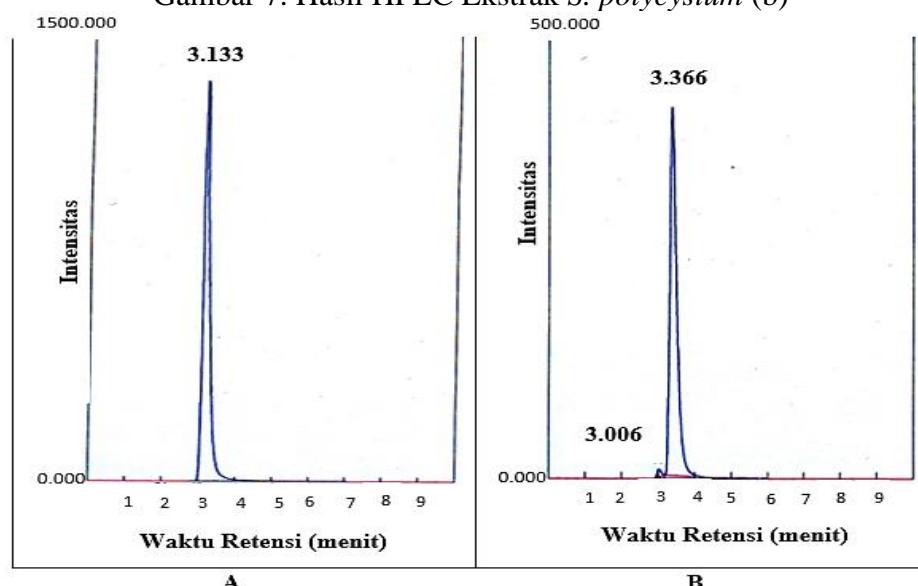
Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* yang ditambah asam galat dapat dilihat pada Gambar 8 (A) dan hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* yang ditambah fenol dapat dilihat pada Gambar 8 (B). Puncak analit ekstrak *S. polycystum* sebelum di-spiking dengan waktu retensi 3.153 mempunyai luas area sebesar 69,1846%. Setelah dilakukan *spiking*, hanya terbentuk 1 puncak analit

dengan peningkatan luas area menjadi 100%. Hal ini menunjukkan ekstrak *S. polycystum* mengandung senyawa asam galat yang merupakan salah satu jenis tannin (salah satu jenis polifenol).

Puncak analit ekstrak *S. polycystum* sebelum di-spiking terdapat 2 puncak analit, yakni puncak analit dengan waktu retensi 3.153 mempunyai luas area sebesar 69,1846% dan puncak analit dengan waktu retensi 3.693 mempunyai luas area sebesar 30,8154%. Puncak analit sampel yang mendekati puncak analit standar adalah puncak analit dengan waktu retensi 3.153 yang mempunyai luas area sebesar 69,1846%. Puncak analit setelah dilakukan *spiking* pada waktu retensi 3.366 mempunyai luas area sebesar 98,8246%. Luas area sampel setelah dilakukan *spiking* meningkat jika dibandingkan luas area sampel sebelum dilakukan *spiking*. Hal ini menunjukkan ekstrak *S. polycystum* mengandung senyawa fenol murni yang merupakan monomer dari polifenol.



Gambar 6. (A) Hasil HPLC senyawa standar asam galat, (B) Hasil HPLC senyawa standar fenol

Gambar 7. Hasil HPLC Ekstrak *S. polycystum* (b)Gambar 8. (A) Hasil HPLC ekstrak *S. polycystum* (b) yang di-spiking asam galat, (B) HPLC ekstrak *S. polycystum* yang di-spiking fenol

IV. KESIMPULAN

1. Kandungan total fenol ekstrak etanolik *S. polycystum* pada konsentrasi 1000 ppm sebesar $59,30 \pm 0,58$ g GAE/100 g ekstrak.
2. Ekstrak etanolik *S. polycystum* mengandung senyawa polifenol yang menyerupai standar asam galat berdasarkan uji KLT.
3. Ekstrak etanolik *S. polycystum* mengandung senyawa polifenol dalam bentuk asam galat dan fenol berdasarkan uji HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- Boonchum, W., Y. Peerapornpisal, D. Kanjanapothi, J. Pekkoh, C. Pumas, U. Jamjai. 2011. Antioxidant

Activity of Some Seaweed from the Gulf of Thailand. *Int. J. Agric. Biol.*, 13: 95-99.

Farvin, K. H. S., & Charlotte Jacobsen. 2013. Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Selected Species of Seaweeds from Danish Coast. *Food Chem.*, 138: 1670-1681.

Firdaus, M. 2011. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum echinocarpum*) sebagai Pencegah Disfungsi Sel Endothelium Aorta Tikus Diabetes Mellitus. Disertasi Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Gazali, M., Nurjanah, N.P. Zamani. 2018. The exploration of bioactive

- compound to brown algae *Sargassum* sp. Agardh as antioxidant from west of Aceh Coastal. *JPHPI*, 21(1): 167-178.
- Heo, S. J., E.J. Park, K.W. Lee, Y. J. Jeon. 2005. Antioxidant Activities of Enzymatic Extracts from Brown Seaweed. *Bioresour. Technol.*, 96(14): 1613–1623.
- Holdt, S. L. and K. Stefan. 2011. Bioactive Compounds in Seaweed : Functional Food Applications and Legislation. *J. Appl. Phycol.*, 23 : 543-597.
- Husni, A., R. Wijayanti, Ustadi. 2014. Inhibitory activity of α -amilase and α -glucosidase by *Padina pavonica* extracts. *J. Biol. Sci.*, 14(8): 515.
- Husni, A., T. Pratiwi, Ustadi, A.G. Samudra, A.E. Nugroho. 2018. In vitro antidiabetic activity of *Sargassum hystrix* and *Eucheuma denticulatum* from Yogyakarta Beach of Indonesia. *Proc. of the PAS: B. Life and Environmental Sciences*, 55(3): 1-8.
- Kang, C., Y.B. Jin, H. Lee, M.Cha, E. Sohn, J. Moon, C. Park, S. Chun, E. Jung, J. Hong, S.B. Kim, J. Kim, E. Kim. 2010. Brown Alga *Ecklonia cava* Attenuates Type 1 Diabetes by Activating AMPK and Akt Signaling Pathways. *Food Chem. Technol.*, 48: 509-516.
- Khadijah, A.M. Jayali, S. Umar, I. Sasmita. 2017. Penentuan total fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun samama (*Anthocephalus macrophyllus*) Asal Ternate, Maluku Utara. *JKM*, 15(1): 11-18.
- Kuda, T., Tsunekawa, M. Goto, H. Araki. 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *JFCA*, 18: 625–633.
- Lann, K. L., C. Ferret, E. VanMee, C. Spagnol, M. Lhuillary, C. Payri, V. Stiger-Pouvreau. 2012. Total Phenolic, Size-Fractioned Phenolics and Fucoxanthin Content of Tropical Sargassaceae (Fucales, Phaeophyceae) from the South Pacific Ocean: Spatial and Specific Variability. *J. Phycol. Res.*, 60: 37-50.
- Lantah, P.L., L.A.D.Y. Montolalu, A.R. Reo. 2017. Kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak methanol rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. *JMTHP*, 5(3): 73-79.
- Lordan, S., R.P. Ross, C. Stanton. 2011. Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Mar. Drug*, 9: 1056–1100.
- Luo, H. Y., B. Wang, C.G. Yu, Y.I. Qu, G.I. Su. 2010. Evaluation of Antioxidant Activities of Five Selected Brown Seaweeds from China. *J. Med. Plant Res.*, 4: 2557-2565.
- Nagai, T. and T. Yukimoto. 2003. Preparation and functional Properties of Beverages Made from Sea Algae. *Food Chem.*, 81: 327-332.
- Plaza, M., M. Amigo-Benavent, M.D. del Castillo, E. Ibanez, M. Herrero. 2010. Facts about the Formation of New Antioxidants in Natural Samples after Subcritical Water Extraction. *Int. Food Res. J.*, 43: 2341-2348.
- Shibata, T., S. Kawaguchi, Y. Hama, M. Inagaki, K. Yamaguchi, and T. Nakamura. 2004. Local and Chemical Distribution of Phlorotannins in Brown Algae. *J. Appl. Phycol.*, 16: 291-296.
- Sorban, C., Moldoveanu, Victor David. 2013. Chapter 9- HPLC Analysis. Essentials in Modern HPLC Separations. p. 465-519.
- You, T., and S. M. Barnett. 2004. Effect of Light Quality on Production of Extracellular Polysaccharides and Growth Rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochem. Eng. J.*, 19 : 251–258.

- Zubia, M., D. Robledo, Y. Freile-Pelegrin.
2007. Antioxidant Activities in
Tropical Marine Macroalgae from
Yucatan Peninsula, Mexico. *J. Appl.*
Phycol., 19: 449-458.

Received: 2021-11-05

Reviewed :2022-01-03

Accepted : 2022-04-24