EKSTRAKSI FUKOIDAN DARI RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum binderi*) DAN APLIKASINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

SKRIPSI

OLEH:
JEFFRY MINANGA
11 22 155

PROGRAM STUDI AGROINDUSTRI SARJANA TERAPAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PANGKAJENE DAN KEPULAUAN
2015

HALAMAN PENGESAHAN

EKSTRAKSI FUKOIDAN DARI RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum binderi*) DAN APLIKASINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

SKRIPSI

JEFFRY MINANGA
11 22 155

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Studi
Pada Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene dan Kepulauan

Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh:

Muh. Ali Arsyad, S.Pi, M.Si.	**Ir. Muhammad Fitri, M.P.**
Pembimbing I	**Pembimbing II**

Diketahui Oleh:

Ir. Andi Asdar Jaya, M.Si.	**Rivaldi, ST, M.Si**
Direktur	**Ketua Program Studi**

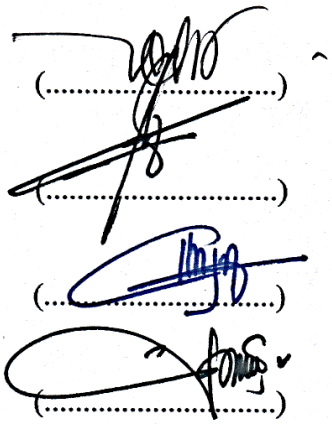
Tanggal Lulus : 12 Agustus 2015

HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI

Judul	: Ekstraksi Fukoidan Dari Rumput Laut Cokelat (*Sargassum binderi*) dan Aplikasinya Sebagai Antioksidan
Nama Mahasiswa	: Jeffry Minanga
NIM	: 11 22 155
Program Studi	: Agroindustri Sarjana Terapan
Tanggal Lulus	: 12 Agustus 2015

Disahkan Oleh:

1. Muh. Ali Arsyad, S.Pi, M.Si. (.....)
2. Ir. Muhammad Fitri, M.P. (.....)
3. A.Ita Juwita, S.Si, M.Si. (.....)
4. Nur Fitriani Usdyana Attahmid, S.Pt, M.Si. (.....)



SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Jeffry Minanga

NIM : 11 22 155

Program Studi : Agroindustri Sarjana Terapan

Perguruan Tinggi : Politeknik Pertanian Negeri Pangkep

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: "*Ekstraksi Fukoidan Dari Rumput Laut Cokelat (Sargassum binderi) dan Aplikasinya Sebagai Antioksidan*" adalah benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa keseluruhan skripsi ini merupakan hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Pangkep, Agustus 2015

Yang Menyatakan

(Jeffry Minanga)

ABSTRACT

Jeffry Minanga, 11 22 155. "*Ekstraction Fucoidan From Brown Seaweed (Sargassum binderi) and It Applicated As an Antioxidant*". Supervised By Muh. Ali Arsyad and Muhammad Fitri. 2015

Fucoidan is a sulfate polysaccharide existed in the cell wall that contains some types of monosaccharides. The main component of fucoidan are α-L-fucose and sulfate. In addition there are several other monosaccharide components namely galactose, mannose, xylose, uronic acid and acetyl group. Fucoidan compound were found from brown seaweed are salts calcium compound and ethersulfate carbohydrates with formula $C_6H_9O_3.SO_4$. Generally fucoidan molecules contained 38,3% sulfate, 56,7% L-fucose, and 8,2% of metal ions. Some studies showed that fucoidan has *in vitro* bioactivity function as an antioxidant. Fucoidan are natural antioxidant and potential to prevent diseases caused by free radicals.

This research was conducted on March – April 2015 in Central Research and Development Product Processing and Biotechnology Of Marine and Fisheries, Jakarta. The purpose of this study are to determine the value of crude fucoidan characteristics and how much the concentration (ppm) of crude fucoidan which can be using to inhibit 50% by DPPH free radicals. The tested parameters consist of fucose contents analyzed, uronic acid contents, yield, and IC_{50} value of fucoidan as an antioxidant. The treatments that were applied in this study are type of brown seaweed (*Sargassum binderi*) that was extracted (wet and dry) and the extractor solution (HCl 0,1 N and $CaCl_2$ 2%). Results has been showed that the best crude fucoidan which can forwarded at the stage of fucoidan purification is wet samples of *Sargassum binderi* that was extracted with $CaCl_2$ 2% extractor solution (A1B2) as obtained the average 1,48 by fucose contents, 0,23 by uronic acid contents, and 9517,5 ppm by IC_{50} antioxidant activity. While the highest yield obtained from hydrochloric acid (HCl 0,1 N) solution.

Keywords : *Antioxidant, Brown Seaweed, Crude Fucoidan*.

RINGKASAN

Jeffry Minanga, 11 22 155. "*Ekstraksi Fukoidan Dari Rumput Laut Cokelat (Sargassum binderi) dan Aplikasinya Sebagai Antioksidan*". Dibimbing oleh Muh. Ali Arsyad dan Muhammad Fitri. 2015.

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang terdapat pada dinding sel mengandung beberapa jenis monosakarida. Komponen utama fukoidan adalah α-L-fukosa dan sulfat. Selain itu terdapat beberapa komponen monosakarida lainnya yaitu galaktosa, mannosa, xylosa, asam uronat, dan gugus asetil. Senyawa fukoidan yang terdapat pada rumput laut cokelat merupakan senyawa garam kalsium dan karbohidrat etersulfat dengan rumus $C_6H_9O_3.SO_4$. Molekul fukoidan secara umum mengandung 38,3% sulfat, 56,7% L-fukosa, dan 8,2% ion logam. Beberapa kajian memperlihatkan bahwa fukoidan mempunyai fungsi bioaktivitas *in vitro* sebagai antioksidan. Fukoidan merupakan antioksidan alami dan sangat potensial mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – April 2015 di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jakarta. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan nilai karakteristik ekstrak kasar fukoidan serta berapa konsentrasi (ppm) ekstrak kasar fukoidan yang dapat digunakan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Parameter pengujian terdiri dari analisa kadar fukosa, kadar asam uronat, rendemen, dan nilai IC_{50} fukoidan sebagai antioksidan. Perlakuan yang diaplikasikan pada penelitian ini adalah jenis rumput laut cokelat (*Sargassum binderi*) yang akan diekstrak (basah dan kering) dan larutan pengekstrak yang digunakan (HCl 0,1 N dan $CaCl_2$ 2%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar fukoidan yang baik untuk diteruskan pada tahap pemurnian fukoidan yaitu pada sampel *Sargassum binderi* basah yang diekstrak menggunakan pengekstrak $CaCl_2$ 2% (A1B2) karena diperoleh rerata kadar fukosa 1,48, asam uronat 0,23, dan nilai IC_{50} aktivitas antioksidannya 9517,5 ppm. Sementara rendemen terbanyak diperoleh dari larutan pengekstrak asam klorida (HCl 0,1 N).

Kata Kunci: *Antioksidan, Ekstrak Kasar Fukoidan, Rumput Laut Cokelat*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas limpahan berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "*Ekstraksi Fukoidan Dari Rumput Laut Cokelat (Sargassum binderi) dan Aplikasinya Sebagai Antioksidan*" tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Terapan di program studi Agroindustri Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

Dengan selesainya skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Ayahanda dan Ibunda tercinta serta segenap keluarga yang telah memberikan dukungan moril maupun materi kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga menghaturkan ucapan terima kasih kepada :

1. Ir. Andi Asdar Jaya, M.Si selaku Direktur Politeknik Pertanian Negeri Pangkep;
2. Muh. Ali Arsyad, S.Pi, M.Si dan Ir. Muhammad Fitri, M.P selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, serta nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
3. A. Ita Juwita, S.Si, M.Si dan Nur Fitriani Usdyana Attahmid, S.Pt, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan, serta saran kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini;
4. Ellya Sinurat, S.Si, M.Si selaku pembimbing lapangan sekaligus pemimpin proyek penelitian yang telah mengalokasikan dana untuk kegiatan penelitian serta memberikan tenaga dan pikirannya dalam membimbing penulis saat malaksanakan kegiatan penelitian;
5. A. Ita Juwita, S.Si, M.Si selaku penasehat akademik yang telah memberikan nasehat dan motivasi selama penulis melaksanakan studi di kampus Politeknik Pertanian Negeri Pangkep;
6. Dosen, staf dan pegawai di program studi Agroindustri Politeknik Pertanian Negeri Pangkep;

7. Seluruh Staf dan Teknisi laboratorium di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) Jakarta;
8. Seluruh mahasiswa Agroindustri angkatan 2011, khususnya rekan-rekan seperjuanganku di BBP4BKP Abd. Rahman, Sri Dewi, Nur Rahmi Herman, Siti Aisyah, Rosna, Wahyuni Ahmad, dan Susi;
9. Pembina, rekan-rekan, serta adik-adikku tercinta di Persekutuan Mahasiswa Kristen Politeknik Pertanian Negeri Pangkep (PERMAKRISTANI-NP) atas dukungan doanya kepada penulis dalam penyelesaian studi di kampus Politeknik Pertanian Negeri Pangkep;
10. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, AMIN.

Pangkep, Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN i
HALAMAN PERSETUJUAN PENGUJI ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN iii
ABSTRACT iv
RINGKASAN v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 2
1.3 Tujuan 2
1.4 Manfaat 2
II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Rumput Laut Coklat *Sargassum binderi* 3
2.2 Komposisi Kimia Rumput Laut Coklat 5
2.3 Fukoidan 5
2.4 Ekstraksi Fukoidan 7
2.5 Fukosa dan Asam Uronat 8
2.6 Bioaktifitas Fukoidan Sebagai Antioksidan 8
2.7 DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) 9
III METODOLOGI
3.1 Waktu Dan Tempat 11
3.2 Bahan dan Alat 11
3.3 Prosedur Pelaksanaan 11
3.4 Jenis, Desain Penelitian, dan Rancangan Percobaan 14
3.5 Parameter Pengamatan 14

IV HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Hasil 18
4.2 Pembahasan 19
V KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan 26
5.2 Saran 26
DAFTAR PUSTAKA 27
LAMPIRAN 29

DAFTAR TABEL

No	*Teks*	Halaman
1.	Daerah Penyebaran Rumput Laut *Sargassum* di Indonesia	4
2.	Komposisi Kimiawi Rumput Laut Cokelat	5
3.	Komposisi Kimiawi Fukoidan Berbagai Jenis Alga Cokelat	6
4.	Desain Penelitian	14
5.	Hasil Pengujian Karakteristik Ekstrak Kasar Fukoidan	18
6.	Hasil Pengujian Antioksidan Ekstrak Kasar Fukoidan	18
7.	Tabel Analisa Fukosa	20
8.	Tabel Analisa Asam Uronat	22

DAFTAR GAMBAR

No	*Teks*	Halaman
1.	Rumput Laut *Sargassum binderi*	3
2.	Struktur Percabangan Fukoidan	7
3.	Persamaan Reaksi Uji DPPH	9
4.	Histogram Hubungan Antara Jenis Sampel *Sargassum binderi* (A) Dengan Larutan Pengekstrak (B) Terhadap Kadar Fukosa Ekstrak Kasar Fukoidan	19
5.	Histogram Hubungan Antara Jenis Sampel *Sargassum binderi* (A) Dengan Larutan Pengekstrak (B) Terhadap Kandungan Asam Uronat Ekstrak Kasar Fukoidan	21
6.	Histogram Hubungan Antara Jenis Sampel *Sargassum binderi* (A) Dengan Larutan Pengekstrak (B) Terhadap Rendemen Ekstrak Kasar Fukoidan	23
7.	Histogram Hubungan Antara Jenis Sampel *Sargassum binderi* (A) Dengan Larutan Pengekstrak (B) Terhadap IC_{50} Antioksidan Ekstrak Kasar Fukoidan	25

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia dikenal sebagai negara maritim dimana wilayah lautnya mencakup tiga perempat luas Indonesia atau 5,8 juta km^2 dengan garis pantai sepanjang 81.000 km^2, sedangkan luas daratannya hanya mencapai 1,9 juta km^2. Wilayah laut yang sangat luas tersebut mengandung sumber daya alam perairan yang sangat melimpah, salah satu sumberdaya yang memiliki potensi yang cukup besar adalah rumput laut. Potensi rumput laut di Indonesia mempunyai prospek yang cukup cerah karena diperkirakan terdapat 555 spesies rumput laut yang tersebar di perairan Indonesia dengan total luas lahan perairan yang dapat dimanfaatkan sebesar 1,2 juta hektar (Nindyaning., 2007).

Pada umumnya, rumput laut (alga) dikelompokkan menjadi tiga kelas, yaitu alga hijau (*Chlorophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*), dan alga merah (*Rhodophyceae*). Rumput laut cokelat (*Phaeophyceaea*) merupakan rumput laut yang belum dioptimalkan pemanfaatannya dibandingkan dengan rumput laut lainya seperti dari jenis rumput laut merah (Hambali., 2004).

Pemanfaatan rumput laut cokelat dalam dunia industri khususnya sebagian besar pada produk alginat. Kandungan lain dari ekstrak rumput laut cokelat dapat meningkatkan kepentingan industri farmasi oleh karena potensinya sebagai bahan farmasi. Salah satu dari kandungan tersebut adalah fukoidan yang merupakan kelompok polisakarida sulfat yang diperoleh dari hewan laut invertebrata dan rumput laut cokelat (Mak *et al*., 2013).

Struktur fukoidan dari beberapa sumber rumput laut cokelat dan spesies yang berbeda menunjukkan kemampuan aktivitas yang berbeda (Sinurat *et al*., 2011). Fukoidan diketahui menunjukkan banyak bioaktivitas antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antivirus, antikoagulan, dan antitumor. Fukoidan berpotensi sebagai antikoagulan plasma darah pada konsentrasi minimal 100 µg/ml setelah inkubasi selama 2 atau 4 jam pada suhu 37^0C (Sinurat., 2011).

Fukoidan dari rumput laut cokelat *Undaria pinnatifida* ditemukan memiliki aktifitas antioksidan terbaik terhadap DPPH yang diekstrak dengan air yang ditambahkan $CaCl_2$ (Mak., 2012). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat (*Sargassum binderi*) dan diaplikasikan sebagai antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana perlakuan yang tepat untuk mengekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat (*Sargassum binderi*) sehingga didapatkan ekstrak kasar fukoidan yang baik yang nantinya dapat dilanjutkan ketahap pemurnian fukoidan hingga diperoleh fukoidan komersil.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat (*Sargassum binderi*) dan menentukan nilai Rendemen, Fukosa, dan Asam Uronat ekstrak kasar fukoidan tersebut;
2. Menentukan aktivitas antioksidan ekstrak kasar fukoidan yang diekstrak terhadap radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang bagaimana perlakuan ekstraksi fukoidan yang baik sebagai acuan untuk dilanjutkan ketahap pemurnian fukoidan hingga didapatkan fukoidan komersil.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut Cokelat *Sargassum binderi*

Alga cokelat (*Phaeophyceaea*) mempunyai bentuk yang bervariasi tetapi hampir sebagian besar berwarna cokelat atau pirang. Warna tersebut tidak berubah walaupun alga ini dikeringkan. Hal ini disebabkan kandungan beberapa pigmen fotosintetik yaitu karoten, fukosantin, klorofil *a*, dan klorofil *c* (Merdekawati & Susanto., 2009).

Adapun klasifikasi *Sargassum binderi* adalah sebagai berikut (Yunizal., 2004; Nursid *et al*., 2013):

Devisi : Phaeophyta
Kelas : Phaephyceae
Ordo : Fucales
Family : Sargassaceae
Genus : Sargassum
Spesies : *Sargassum binderi*



Gambar 1. Rumput Laut *Sargassum binderi*

Alga *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun, dapat hidup pada setiap musim barat maupun musim timur. *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang, panjang thallus mencapai 1-3 meter. Pada tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat (*bladder*) yang berguna untuk mengapung kepermukaan air agar mendapatkan intensitas cahaya matahari yang cukup (Basmal *et al.*, 2013).

Adapun sebaran rumput laut *Sargassum* di beberapa perairan di Indonesia adalah sebagai beru77ikut:

Tabel 1. Daerah Penyebaran Rumput Laut *Sargassum* di Indonesia

Nama Lokasi	Nama Alga
P.P. Anambas dan sekitarnya	*Sargassum Duplicatum, S. Polycystum*
P.P. Bangka-Belitung dan sekitarnya	*Sargassum Duplicatum, S. Polycystum*
P.P. Natuna dan sekitarnya	*Sargassum Duplicatum, S. Polycystum*
Selat Sunda: Pantai Merak, Anyer, Cilurah, Sambolo, Cidatu	*Sargassum Binderi, S. Crassifolium, S. Echinocarpum, S. Gracillimum, S. Mollerii, S. Polycystum, Sargassum Sp.*
Teluk Lampung: P. Puhawang, P. Tegal, P. Tangkil, P. Sebesi, P. Sebuku	*Sargassum Binderi, S. Crassifolium, S. Echinocarpum, S. Gracillimum, S. Mollerii, S. Polycystum, Sargassum Sp.*
P.P. Seribu, P.Pari, P. Tikus, P. Burung, P. Untung Jawa, P. Genteng, P.Bira, P. Kayu Angin Besar, P. Pramuka, P. Opak, dan P. Kotok	*Sargassum Binderi, S. Crassifolium, S. Echinocarpum, S. Gracillimum, S. Mollerii, S. Polycystum, S. Sinereum.*
P.P. Karimunjawa, P. Menjangan Besar, P. Menyawakan, dan P. Kembar	*Sargassum Binderi, S. Crassifolium, S. Echinocarpum, S. Polycystum*.
Pantai Selatan Pulau Jawa: Binuangeun, Pameungpeuk, Pangandaran, Pantai Krakal, Pantai Sentolo, Hutan Purwo, dan Teluk Grajagan	*Sargassum Binderi, S. Crassifolium, S. Duplicatum, S. Hystrix, Sargassum Sp.*
Pantai Bali: Tanjung Benoa dan sekitarnya	*Sargassum Binderi, S. Duplicatum, S. Hystrix, S.Polycystum*
Pantai Lombok: Tj. Sirah, Kuta, Tk. Gerupuk, dan Tk. Sepi	*Sargassum Duplicatum, S. Polycystum*
Pantai-pantai Sumbawa: Prajak, Bima, dan Sanggar	*Sargassum Cinereum, S. Duplicatum, S. Polycystum*
Pantai Sumba: Waingapu, Melolo, dan Kayusi	*Sargassum Duplicatum, S. Polycystum*
Kupang: Pantai paradiso, Pantai Semau, dan P.Kera	*Sargassum Duplicatum, S. Hystrix, S. Polycystum*
Kalimantan Timur: P.P.Dermawan, Sangalaki, Panjang, Samama, Kakaban	*Sargassum Duplicatum, S.Polycystum*
P.P. Selayar: P. Bonerate, Taka, dan Garlarang	*Sargassum Gracillimum, S.Polycystum, S. Siliquosum*

Sumber : (Basmal et al., 2013)

2.2 Komposisi Kimia Rumput Laut Cokelat

Komposisi kimia dan pigmen yang terdapat pada rumput laut cokelat adalah hasil dari fotosintesa yang jumlahnya sangat bervariasi, karena tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangannya, dan kondisi tempat tumbuhnya (Yunizal., 2004).

Setiap jenis rumput laut mempunyai pigmen khlorofil a dan β-karoten, serta pigmen khasnya. Pada rumput laut cokelat terdapat pigmen santofil, violasantin, fukosantin, flavosantin, neosantin A dan B. Pigmen fukosantin keberadaannya pada rumput laut coklat menutupi pigmen lainnya dan memberikan warna cokelat. Polisakarida yang terpenting dan jumlahnya paling banyak pada rumput laut coklat adalah asam alginat dan polisakarida laut seperti laminaran, fukoidan, selulosa, manitol, dan senyawa bioaktif lainnya terdapat dalam jumlah yang relatif sedikit. Disamping itu rumput laut cokelat juga mengandung karbohidrat, protein, lemak, serat kasar, dan vitamin serta mineral (*trace element*). Secara umum rumput laut cokelat mengandung 31 – 72% fukosa, 5 – 31% galaktosa, dan 3 – 29% xylosa. (Yunizal., 2004). Adapun komposisi kimiawi rumput laut cokelat adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Komposisi Kimiawi Rumput Laut Cokelat

Jenis Rumput Laut	**Karbohidrat (%)**	**Protein (%)**	**Lemak (%)**	**Air (%)**	**Abu (%)**	**Serat Kasar (%)**
Sargassum sp	19,06	5,53	0,74	11,71	34,57	28,39
Turbinaria sp	44,90	4,79	1,66	9,73	22,54	16,38
Padina sp	39,12	4,74	0,96	10,74	41,50	3,04

Sumber: (Yunizal., 2004)

2.3 Fukoidan

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang terdapat pada dinding sel mengandung beberapa jenis monosakarida. Komponen utama fukoidan adalah α-

L-fukosa dan sulfat. Selain itu terdapat beberapa komponen monosakarida lainnya yaitu galaktosa, mannosa, xylosa, asam uronat, dan gugus asetil (Sinurat., 2011).

Senyawa fukoidan yang terdapat pada rumput laut cokelat merupakan senyawa garam kalsium dan karbohidrat etersulfat dengan rumus $C_6H_9O_3.SO_4$. Molekul fukoidan secara umum mengandung 38,3% sulfat, 56,7% L-fukosa, dan 8,2% ion logam (Yunizal., 2004).

Isolasi fukoidan pertama kali ditemukan oleh Kylin pada tahun 1913. Namun struktur fukoidan dan aplikasinya dijelaskan lebih dalam lagi oleh seorang ahli kimia Elisabeth Percival tahun 1960. Nama fukoidan yang dibenarkan dengan aturan IUPAC disebut fukan, fukosan, atau fukan sulfat (Sinurat., 2011).

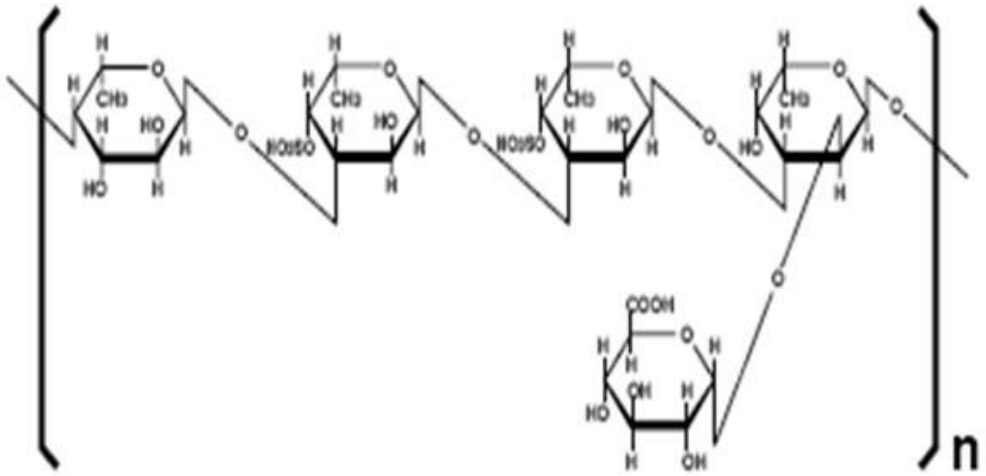
Hasil biosintesis *Sargassum stenophyllum* diperoleh dua fukoidan yang berbeda, fukoidan pertama adalah kadar glicoacidnya tinggi dan sedikit sulfat sementara fukoidan kedua mengandung unit gula fukosa sebagai komponen utama dan selebihnya monosakarida seperti galaktosa, mannosa, glukosa, dan xylosa (Yunizal., 2004).

Tabel 3. Komposisi Kimia Fukoidan Berbagai Jenis Alga Cokelat

Jenis Rumput Laut	Komposisi Kimia
F. Vesiculosus	Fukosa, Sulfat
F. Evanescens C. Ag	Fukosa/Sulfat/Asetat (1/1.23/0.36)
Undaria Pinnatifrida (Mekabu)	Fukosa/Galaktosa (1/1.1)
Padina Pavonia	Fukosa, Xylosa, Mannosa, Glukosa, Galaktosa, Sulfat
Laminaria Angustata	Fukosa, Galaktosa, Sulfat (9/1/9)
Sargassum Stenophyllum	Fukosa, Galaktosa, Mannosa, Glc A, Glukosa, Xylosa, Sulfat
Adenocytis Utricularis	Fukosa, Galaktosa, Mannosa, Sulfat
Hizikia Fusiforme	Fukosa, Galaktosa, Mannosa, Xylosa, Glc A, Sulfat
Dictyota Menstrualis	Fukosa/Xylosa/Asam Uronat/Galaktosa/Sulfat (1/0.8/0.7/0.8/0.4) dan (1/0.3/0.4/1.5/1.3)
Spatoglossum Schroederi	Fukosa/Xylosa/Galaktosa/Sulfat (1/0.5/2/2)

Sumber : (Yunizal., 2004; Sinurat., 2011)

Hasil ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Okinawa muzuku* yang dilakukan oleh Kawamoto (2006), ditemukan struktur fukoidan rumput laut tersebut adalah sebagai berikut:



Sumber: (Kawamoto, 2006)

Gambar 2. Struktur Percabangan Fukoidan

2.4 Ekstraksi Fukoidan

Berbagai cara ekstraksi fukoidan telah dipelajari dan telah dipakai dalam industri untuk memproduksi dan mempertahankan kualitas fukoidan yang tinggi. Banyak ekstraksi fukoidan cenderung mengandung beraneka macam komponen fukoidan, biasanya disebut ekstrak kasar fukoidan (Mak., 2012).

Bahan baku rumput laut umumnya diekstrak dengan larutan asam atau basa sebagai pelarutnya. Ekstraksi menggunakan pelarut asam seperti asam klorida (HCl) menghasilkan rendemen yang tinggi dari ekstrak kasar fukoidan (Kawamoto *et al*., 2006) tetapi diperoleh hasil ekstraksi yang tidak diinginkan karena mengandung asam alginat, logam, dan juga menyebabkan terjadinya degradasi rantai fukosa (Hagiwara *dalam* Mak., 2012).

Ekstraksi dengan menggunakan garam seperti kalsium klorida ($CaCl_2$) sangat efektif dalam menghilangkan komponen yang dapat mempengaruhi kemurnian dari fukoidan (Kawamoto *et al*., 2006) tetapi sebaliknya menghasilkan rendemen fukoidan yang rendah (Hagiwara *dalam* Mak., 2012).

2.5 Fukosa dan Asam Uronat

Fukosa adalah monosakarida yang merupakan komponen umum dari ikatan N dan O dari glikan dan glikolipid yang diproduksi dari sel mamalia dan alga. Struktur yang membedakan fukosa dengan gula karbon yang lain adalah kurangnya kelompok hidroksil karbon (C) dan konfigurasi (L-) (Becker *et al*., 2003). Modifikasi struktural glikan termasuk fukosilat telah dilakukan dan memberikan sifat fungsional yang unik yaitu pengatur selama ontogeni dan diferensiasi sel. Fukosa merupakan monosakarida yang telah diimplementasikan dalam dunia farmasi (Becker *et al*., 2003).

Asam uronat merupakan gula reduksi dari relevansi biologis yang terlibat dalam fungsi metabolisme obat dan merupakan senyawa endogen seperti glikosaminoglikan, pektin, dan karagenan yang diisolasi dari mamalia, tumbuhan dan ganggang. Beberapa metode telah dilakukan untuk mensintesis glikosida asam glukoronat dari bahan alam (Wadouachi *et al*., 2011). L-glukoronat telah menjadi subjek yang berhubungan dengan turunan hepairin termasuk dalam fungsi bioaktivitasnya (Wadouachi *et al*., 2011).

2.6 Bioaktifitas Fukoidan Sebagai Antioksidan

Fukoidan dilaporkan memiliki berbagai macam bioaktivitas *in vitro* dan *in vivo* seperti antikoagulan, antitrombotik, antiviral, termasuk anti-HIV, antioksidan, dan antitumor (Thanh *et al.,* 2013). Ekstrak rumput laut coklat dari jenis *Laminaria* yaitu L-aminin yang merupakan asam amino turunan dari L-lysine yang mempunyai sifat sebagai anti koagulasi darah dan sebagai aktivator lipase. Senyawa ini merupakan fraksi dari fukoidan yang berfungsi sebagai anti koagulan (Angka & Maggy., 2000).

Nursid *et al*.,(2013) menemukan bahwa adanya pengaruh fukosantin sebagai antioksidan yang diekstrak dari *Padina Australis* dengan nilai hambatan terhadap radikal bebas DPPH sebesar 53%. Ruperez *et al*.,(2002) mendemonstrasikan bahwa kandungan fukosa pada fukoidan dapat digunakan

sebagai antiradikal dan menyarankannya untuk digunakan sebagai bahan potensial antioksidan alami dari industri pangan.

Antioksidan sendiri adalah zat yang dapat mencegah atau memperlambat oksidasi oleh radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan dalam mencegah penyakit adalah menetralkan dan menghancurkan radikal bebas, karena radikal bebas akan merusak biomolekul seperti DNA, protein, lipoprotein didalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif terutama kanker dan penyakit jantung koroner (Wikanta *et al*., 2010).

2.6 DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) merupakan reagen yang sangat baik untuk menapiskan senyawa-senyawa antioksidan yang spesifik bereaksi dengan mekanisme menetralisir radikal bebas melalui pemecahan rantai bebas. DPPH berbentuk kristal prisma besar yang berwarna ungu kegelapan, dengan sifat yang mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol.

Donor proton atau hidrogen dari senyawa antioksidan kepada radikal bebas DPPH akan memecah rantai radikal bebas hingga membentuk senyawa yang tidak radikal (DPPH-A). Perubahan warna ungu (DPPH) menjadi kuning menunjukkan adanya pengaruh aktivitas antioksidan (Szabo *et al*.,2007). Persamaan reaksi uji DPPH dapat dilihat pada gambar berikut (Mak., 2012).

$$\underset{(\textit{Warna Ungu})}{(DPPH^*)} + \underset{(\textit{Antioksidan})}{(H\text{-}A)} \longrightarrow \underset{(\textit{Warna Kuning})}{DPPH\text{-}A} + \underset{(\textit{Radikal Baru})}{H^*}$$

Gambar 3. Persamaan Reaksi Uji DPPH

Menurut Yen *dalam* Tholib.,(2006), konsentrasi senyawa antioksidan yang diperlukan untuk menghambat setengah dari radikal bebas DPPH disebut IC_{50}. Nilai IC_{50} didapat dari persamaan matematis x dan y; dimana data konsentrasi antioksidan dan persen (%) hambatannya yang berkolerasi terhadap garis x dan y.

Kelemahan dari DPPH yaitu mudah rusak oleh cahaya dan udara sehingga pada saat pengujian larutan harus dibungkus dengan aluminium foil atau ditempatkan pada botol gelap dan setiap kali pengujian harus dibuat larutan DPPH yang baru (*Daily Fresh*) (Maryati *dalam* Tholib., 2006).

III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2015 yang bertempat di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Biteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) Jakarta.

3.2 Bahan dan Alat

a. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut cokelat jenis *Sargassum binderi* yang diperoleh dari Batam sebagai bahan baku pembuatan fukoidan dan bahan kimia tambahan seperti HCl, $CaCl_2$, etanol, metanol, kloroform serta bahan kimia lain yang menunjang jalannya penelitian.

b. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan laboratorium seperti *Hot Plate*, sentrifuge, *Freeze dryer*, Tabung dialisis dan Spektrofotometer UV-VIS multiscan 60, serta alat-alat laboratorium lain yang menunjang jalannya penelitian.

3.3 Prosedur Pelaksanaan

Prosedur kerja yang digunakan meliputi dua tahap yakni tahap maserasi (ekstraksi dingin) kemudian tahap ekstraksi panas. Adapun prosedur ekstraksi fukoidan adalah sebagai berikut:

a. Prosedur Maserasi Sampel (Mak *et al*., 2013)

Maserasi atau perendaman rumput laut dilakukan menggunakan metanol:kloroform:air (4:2:1) dengan tujuan untuk menghilangkan lemak, protein, dan pigmen warna (Mak *et al*., 2013). Adapun prosedur kerjanya adalah sebagai berikut:

1. Sampel rumput laut cokelat dikeluarkan dari dalam *Cold Storage*;
2. Pencucian dan sortasi dilakukan untuk menghilangkan garam, karang, dan jenis rumput laut lainnya yang menempel lalu ditimbang;
3. Rumput laut direndam dalam wadah menggunakan larutan dengan komposisi metanol : kloroform : aquadest (4:2:1) hingga seluruh bagian rumput laut terendam. Didiamkan selama semalam;
4. Rumput laut ditiriskan kemudian dikeringkan di atas talang aluminium setelah itu dilakukan penepungan.

b. Prosedur Ekstraksi Panas

Ekstraksi dilakukan menggunakan HCl, dan $CaCl_2$ pada suhu 85^0C. Metode ini merupakan modifikasi hasil penelitian terdahulu oleh (Yang *et al*., 2008 dan Bilan *et al*., 2002 *dalam* Sinurat., 2011).

Adapun metode yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Menggunakan Pengekstrak HCl 0,1 N (Larutan asam)

1. Sebanyak 15 gram tepung rumput laut diekstrak dengan HCl 0,1 N dalam air selama 5 jam pada suhu 85^0C;
2. Disaring ke dalam erlenmeyer dengan menggunakan planktonet, diambil filtratnya;
3. Dinetralkan dengan NaOH 0,1 N setetes demi setetes hingga pH filtrat menjadi netral;
4. Ditambahkan $CaCl_2$ 4 M untuk mengendapkan alginat yang dikandung oleh rumput laut cokelat;
5. Disentrifuge dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan endapan dari filtratnya;
6. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan ethanol perbandingan (1:2) untuk mengendapkan fukoidan yang ada dalam filtrat;
7. Disentrifuge kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan endapan dari filtratnya;
8. Endapan yang dihasilkan diambil, lalu dilarutkan dengan aquabidest menggunakan stirer hingga larut;

9. Didialisis dengan NaCl 0,5 M selama 12 jam untuk menghilangkan kandungan garam dari dalam sampel (proses difusi);
10. Didialisis kembali dengan aquabidest selama 8 jam untuk menghilangkan sisa-sisa NaCl yang ada pada sampel maupun plastik membran yang digunakan;
11. Dimasukkan ke dalam tabung counical lalu dibekukan dalam freezer kemudian dikeringkan menggunakan *freeze drying* hingga diperoleh ekstrak kasar fukoidan (*crude fucoidan*) dalam bentuk bubuk.

2. Menggunakan Pengekstrak air ditambah $CaCl_2$ 2% (Larutan garam)
    1. Sebanyak 15 gram tepung rumput laut diekstrak dengan $CaCl_2$ 2% dalam air selama 5 jam pada suhu 85^0C;
    2. Disaring ke dalam erlenmeyer dengan menggunakan planktonet, diambil filtratnya;
    3. Disentrifuge dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan endapan dari filtratnya;
    4. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan ethanol perbandingan (1:2) untuk mengendapkan fukoidan yang ada dalam filtrat;
    5. Disentrifuge kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan endapan dari filtratnya;
    6. Endapan yang dihasilkan diambil, lalu dilarutkan dengan aquabidest menggunakan stirer hingga larut;
    7. Didialisis dengan NaCl 0,5 M selama 12 jam untuk menghilangkan kandungan garam dari dalam sampel (proses difusi);
    8. Didialisis kembali dengan aquabidest selama 8 jam untuk menghilangkan sisa-sisa NaCl yang ada pada sampel maupun plastik membran yang digunakan;
    9. Dimasukkan ke dalam tabung counical lalu dibekukan dalam freezer kemudian dikeringkan menggunakan *freeze drying* hingga diperoleh ekstrak kasar fukoidan (*crude fucoidan*) dalam bentuk bubuk.

3.4 Jenis, Desain Penelitian, dan Rancangan Percobaan

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen. Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel, gambar, diagram dan diolah secara deskripsi kuantitatif. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) yang diolah menggunakan program SPSS 16 dan Microsoft Exel 2007. Data yang digunakan adalah data kuantitatif dari hasil perhitungan serta data primer yang menunjang kegiatan penelitian.

Variabel pengamatan yang digunakan yaitu (A) Jenis Sampel *Sargassum binderi* yang digunakan dan (B) larutan pengekstrak yang digunakan.

A_1 : Sampel basah *Sargassum binderi*

A_2 : Sampel kering *Sargassum binderi*

B_1 : Larutan Pengekstrak HCl 0,1 N

B_2 : Larutan Pengekstrak air ditambah $CaCl_2$ 2%

Tabel 4. Desain Penelitian

Perlakuan	B_1	B_2
A_1	A_1B_1	A_1B_2
A_2	A_2B_1	A_2B_2

Keterangan:

A_1B_1 : Sampel basah dengan Larutan Pengekstrak HCl 0,1 N

A_1B_2 : Sampel basah dengan Larutan Pengekstrak air ditambah $CaCl_2$ 2%

A_2B_1 : Sampel kering dengan Larutan Pengekstrak HCl 0,1 N

A_2B_2 : Sampel kering dengan Larutan Pengekstrak air ditambah $CaCl_2$ 2%

3.5 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini adalah karakteristik ekstrak kasar fukoidan meliputi uji fukosa, uji asam uronat, dan rendemen fukoidan serta uji bioaktivitasnya sebagai antioksidan.

a. Analisa Fukosa (Dubois *et al*., 1956 *dalam* Sinurat., 2011)

Prosedur kerja analisa fukosa diukur dengan menggunakan metode Dubois *et al*., 1956 *dalam* Sinurat., (2011). Larutan standar 1 gram dalam 100 ml (10.000

ppm) dilakukan pengenceran menjadi 50, 100, 200, 400, 800 dan blanko. 10 mg sampel ditambah 2 ml aquabidest kemudian disentrifuge 8000 rpm selama 10 menit. Filtrate ditambah 5 ml phenol 0.5% dan ditambah 2.5 ml H_2SO_4 pekat sambil didinginkan dalam es batu selama 30 menit. Dipipet 200 µL dalam mikroplate diukur pada λ 490 nm.

b. Analisa Asam Uronat (Thanh *et al*., 2013)

Prosedur kerja asam uronat menggunakan carbazole dengan standar asam glukoronat tertentu (Thanh *et al*., 2013). Standar yang digunakan yaitu 0; 50; 100; 150; 200; 250 ppm. Adapun prosedur kerjanya adalah sebagai berikut:

1. Sampel 0,4 ml (20 mg) ditambah 2,4 ml $Na_2B_2O_7$ dilarutkan dengan aseton dan etanol absolut 9:1;
2. Divortex dan diinkubasi dalam waterbath 100^0C selama 5 menit;
3. Didinginkan sampai suhu ruang;
4. Ditambahkan carbazole 20 µL, diukur pada panjang gelombang (λ) 520 nm

c. Menghitung Rendemen Fukoidan (Mak., 2012)

Rendemen merupakan persentase produk yang didapatkan dari perbandingan berat awal bahan dengan berat akhirnya, sehingga diketahui kehilangan beratnya pada saat proses pengolahan. Rumus penentuan rendemen adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen Fukoidan} = \frac{\text{Berat Fukoidan}}{\text{Berat Tepung Rumput Laut Coklat}} \times 100\%$$

d. Uji Bioaktifitasnya sebagai antioksidan (Mak., 2012)

Bioaktifitas fukoidan sebagai antioksdian dilakukan dengan cara menghitung rata-rata absorbansi sampel terhadap radikal bebas DPPH kemudian dihitung persen hambatan dari setiap seri dosis yang digunakan dan dihitung nilai IC_{50} nya dengan menggunakan persamaan regresi antara konsentrasi dosis yang digunakan (x) dan nilai persen hambatannya (y).

1. Pembuatan larutan 0.0005 N DPPH (*1,1difenil-2-pikrilhidrazil*)

Larutan DPPH 0.0005 N dibuat dengan melarutkan 2.955 mg DPPH dalam 15 mL methanol, kemudian ditempatkan pada vial yang telah dibungkus dengan aluminium foil.

2. Pengujian *Crude* fukoidan

Pengujian dilakukan dengan menggunakan mikroplate 96 sumuran (*well*). 1000 mg sampel dimasukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan 100 ml methanol sebagai larutan induk 10.000 ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi ekstrak sampel dengan mengencerkan larutan induk 10.000 ppm menjadi 125, 250, 500, 1000, 2000, dan 4000 ppm. Sampel pada setiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 160 µL. Kemudian kedalam sumuran yang sudah berisi sampel ditambahkan larutan DPPH masing-masing 40 µL. Sebagai kontrol setiap contoh sebanyak 160 µL sampel dimasukkan kedalam sumuran lalu ditambahkan 40 µL methanol. Kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak dibuat dengan cara menambahkan 160 µL methanol dengan 40 µL DPPH dan sebagai blanko 200 µL methanol. Mikroplate kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Diukur dengan Spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang (λ) 517 nm. Kemudian dihitung nilai IC-50nya.

3. Pengujian vit. C terhadap DPPH sebagai pembanding

Pengujian dilakukan dengan menggunakan mikroplate 96 sumuran (*well*). 1000 mg asam askorbat dimasukkan kedalam vial, lalu ditambahkan 100 ml methanol sebagai larutan induk 10.000 ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi ekstrak sampel dengan mengencerkan larutan induk 10.000 ppm menjadi 125, 250, 500, 1000, 2000, dan 4000 ppm. Sampel pada setiap seri konsentrasi dimasukkan kedalam sumuran sebanyak 160 µL. Kemudian kedalam sumuran yang sudah berisi sampel ditambahkan larutan DPPH masing-masing 40 µL. Sebagai control setiap contoh sebanyak 160 µL sampel dimasukkan kedalam sumuran lalu ditambahkan 40 µL methanol. Kontrol negativ tanpa pemberian ekstrak dibuat dengan cara menambahkan 160 µL methanol dengan 40 µL DPPH dan sebagai blanko 200 µL methanol. Mikroplate kemudian diinkubasi pada suhu

ruang selama 30 menit. Diukur dengan Spektrofotometer UV-VIS dengan penjang gelombang (λ) 517 nm. Kemudian dihitung nilai IC-50nya.

Rumus menghitung persen (%) hambatan antioksidan dengan menggunakan DPPH adalah:

$$(\%)\text{Hambatan} = \frac{(\text{C} - \text{D}) - (\text{A} - \text{B})}{(\text{C} - \text{D})} \times 100\%$$

Keterangan:

A : Rata-rata Absorbansi Sampel (Sampel + DPPH)

B : Rata-rata Absorbansi Kontrol Sampel (Sampel + Metanol)

C : Rata-rata Absorbansi Blanko (Metanol)

D : Rata-rata Absorbansi Kontrol Negatif (DPPH + Metanol)