

ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUKOIDAN DARI ALGA COKLAT *Sargassum sp*

Sugiono
Agribisnis Perikanan Universitas Islam Madura
Email: yonosugiono78@yahoo.co.id

ABSTRAK

Fukoidan dari alga coklat Sargassum sp. dengan ekstraksi satu tahap degradasi awal gelombang ultrasonik. Optimasi ekstraksi dengan rancangan komposit pusat dari RSM. Kondisi degradasi awal gelombang ultrasonik pada amplitudo 80% selama 15 menit. Alga coklat dilarutkan dalam larutan 0,03 M HCl ratio 1:20 (b/v) pada suhu 70-90°C waktu 3-5 jam, dievaluasi selama proses untuk mendapatkan kondisi ekstraksi yang maksimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi ekstraksi yang optimal respon rendemen fukoidan Sargassum sp. Hasil penelitian didapatkan semua faktor ekstraksi berpengaruh nyata terhadap rendemen fukoidan ($p < 0,05$). Kondisi ekstraksi optimal terjadi pada suhu 81,0°C dan waktu 4,04 jam. Pada titik optimal ekstraksi didapatkan rendemen fukoidan $7,15 \pm 5,58\%$. Karakterisasi fukoidan berdasarkan spektrum infra merah didapatkan fukoidan Sargassum sp. tersusun dari gugus sulfat.

Kata kunci: Sargassum sp., fukosa, metode ekstraksi

ABSTRACT

Fucoidan were recovered from Sargassum polycystum by single-step extraction with ultrasonic wave pretreatment. Extraction were optimized using central composite design of respon surface method. Ultrasonic wave pretreatment conditions were 80% amplitude, for 15 minute. Alga solution in 0.03 M HCl ratio 1:20 (b/v) at 70-90°C for 3-5 hour were evaluated during this process to establish a condition to maximize the extraction. The aim this research is getting the optimum conditions extraction yield fucoidan Sargassum sp. Result this reseach all extraction factors had significant effects on fucoidan yield ($p < 0,05$). The optimum conditions were extracting temperature 81°C, extracting time 4,04 h. Under this condition, the experimental yield of crude fucoidan $7,15 \pm 5,58\%$. Based on the characterization result of fucoidan by fourier transform-infrared spectroscopy, we foundthat fucoidan Sargassum sp.is composed sulfate group.

Keyword: Sargassum sp., fucose, extraction method

PENDAHULUAN

Fukoidan merupakan polisakarida yang terdapat pada matrix dinding sel dari alga coklat, tersusun dari L-fukosa dan sulfat, dalam jumlah kecil galaktosa, mannose, xylose, glukosa dan rhamnosa (Shiroma *et al.*, 2008). Fukoidan mempunyai aktivitas biologi beraneka ragam yang bermanfaat sebagai herbal alami bagi tubuh untuk pengobatan berbagai macam penyakit terutama tumor dan kanker (Ermakova *et al.*, 2011). Fukoidan dapat diekstrak dari alga coklat *Sargassum sp* (Chotigeat *et al.*, 2004).

Potensi produksi *Sargassum sp.* ini begitu besar, alga coklat ini terdapat melimpah hampir di semua perairan pantai di Indonesia (Kadi, 2004). Pemanfaatan *Sargassum sp.* masih sangat terbatas, alga coklat ini

tergolong sebagai sampah laut dan harganya relatif sangat murah. Harga *Sargassum sp.* Rp. 1500/kg ditingkat petani dan harga ekspor Rp. 3000/kg (0,3\$), sedangkan harga fukoidan impor sangat mahal berkisar antara Rp. 990.000/kg hingga Rp. 4.050.000/kg sesuai dengan tingkat kemurniannya (PT. Marinal Indoprima, 2011).

Metodologi ekstraksi fukoidan secara umum dilakukan ekstraksi dengan air panas, larutan asam, larutan alkali, dan ditambahkan CaCl_2 untuk mengendapkan alginat (Rioux et al., 2007; Cumashi et al., 2007). Ermakova et al., (2011) melakukan ekstraksi fukoidan *Sargassum horneri* pada suhu 60°C dengan 0,1 M HCl selama 4 jam 2 tahap ekstraksi, pengendapan dengan 4 volume etanol 96%. Li et al., (2006) melakukan ekstraksi fukoidan *Hizikia fusiforme* 3 tahap ekstraksi suhu 70°C selama 6 jam, pengendapan dengan CaCl_2 dan etanol. Ale et al., (2011a) melakukan ekstraksi fukoidan *Sargassum henslowianum* suhu 90°C selama 5 jam. Ekstraksi fukoidan ini memerlukan waktu yang lama dan didapatkan rendemen yang relatif rendah.

Teknik ekstraksi gelombang ultrasonik telah diaplikasikan Kwong et al., (2011) untuk ekstraksi fukoidan dari alga coklat *Laminaria japonica*. Krishnaiah et al., (2007) melakukan ekstraksi polisakarida dari *Eucheuma denticulatum* dengan gelombang ultrasonik. Teknik ekstraksi gelombang ultrasonik ini memerlukan waktu yang relatif cepat namun dihasilkan rendemen yang masih rendah. Oleh karena itu diperlukan metode ekstraksi yang tepat sehingga didapatkan fukoidan yang bagus yaitu teknik kombinasi ekstraksi degradasi awal ultrasonik yang dilanjutkan dengan ekstraksi pemanasan *waterbath*. Metode kombinasi ekstraksi ini merupakan metode ekstraksi yang tepat dan dilakukan optimasi untuk mendapatkan titik optimal ekstraksi.

Optimasi ekstraksi polisakarida dari alga coklat telah dilakukan Ale et al., (2011a) di Denmark optimasi ekstraksi fukoidan dari *Sargassum henslowianum* dengan metode permukaan respon, alga coklat berasal dari Vietnam. Qiao et al., (2009) melakukan optimasi ekstraksi dengan metode permukaan respon, purifikasi dan karakterisasi polisakarida dari *Hyriopsis cumii* alga coklat yang berasal dari China. Sedangkan optimasi ekstraksi fukoidan dari *Sargassum sp.* dengan degradasi awal gelombang ultrasonik yang akan dilakukan pada penelitian ini masih belum ada yang meneliti. Pada penelitian ini dilakukan optimasi ekstraksi fukoidan dari *Sargassum sp.* dengan metode permukaan respon dan dikarakterisasi dengan FTIR.

MATERI DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Sargassum sp.* yang didapatkan dari perairan pantai pulau Poteran Sumenep Madura. Chloroform, methanol, aquades, hydrochloric acid (HCl) 37%, etanol 99,8%, NaOH, CaCl_2 , trifluoroacetic acid (TFA) 99%, H_2SO_4 , D-glucose and D-xylose, L-rhamnose (Sigma-Aldrich) dan L-fucose (Santa Cruz). Semua bahan kimia mempunyai derajat kemurnian *pro analys* (p.a) didapatkan dari Biolab Scientific Gamma dan Makmur Sejati Chemical.

DESAIN EKSPERIMEN

Rancangan percobaan dalam metode permukaan respon yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan faktorial dua level (2^k) ditambah dengan lima titik pusat untuk eksperimen orde pertama dan rancangan komposit pusat untuk eksperimen orde kedua. Eksperimen orde pertama menggunakan

rancangan faktorial dua level ditambah dengan lima titik pusat (5-9) sehingga didapatkan 9 perlakuan. Optimasi proses ekstraksi menggunakan metode rancangan komposit pusat dari RSM dengan 2 variabel yaitu suhu ekstraksi (x_1) dan waktu ekstraksi (x_2). Tahap optimasi proses ekstraksi mempunyai 13 perlakuan diurut secara acak dengan 5 ulangan titik pusat (perlakuan 9-13). Dua variabel yang dikaji pada penelitian ini adalah suhu dan waktu ekstraksi. Variasi suhu 70, 80, 90°C dan waktu ekstraksi 1, 3 dan 5 jam.

Berdasarkan data eksperimen, dilakukan analisa regresi dan kesesuaian model persamaan polynomial orde ke dua:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j \quad (1)$$

Dimana Y adalah variabel respon, β_0 merupakan koefisien intercept; β_i , β_{ii} , β_{ij} adalah koefisien regresi masing-masing linear, kuadratik, interaksi, dan x_i , x_j kode dari dua variabel bebas suhu ekstraksi dan waktu ekstraksi ($i \neq j$).

Ekstraksi fukoidan satu tahap

Sampel alga coklat *Sargassum sp.* sebanyak 10 kg diambil dari pulau Poteran kabupaten Sumenep Madura. *Sargassum sp.* dicuci dengan air tawar untuk menghilangkan kotoran, pasir dan lumpur kemudian dikeringkan dijemur pada sinar matahari hingga kering kadar air 17%. Sampel *Sargassum sp.* kering dihaluskan dengan dimilling menggunakan OBH Nordia mill 100 watt kemudian diayak dengan sieve 500 μm dan pretreatment dengan MeOH-CHCl₃-H₂O (4:2:1) pada suhu kamar untuk menghilangkan warna, komponen fenol dan lemak.

Sejumlah gram *Sargassum sp.* dan larutan asam klorida (0,03 M HCl) dengan rasio 1:20 (b/v) didegradasi dengan gelombang ultrasonik (amplitudo 80%, 15 menit). Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi secara pemanasan *waterbath* suhu 70-90°C dan waktu ekstraksi 3-5 jam, setelah diekstrak filtrat disaring dengan saringan nilon. Supernatant (cairan filtrat) ditambahkan 1 M CaCl₂ (w/v) dibiarkan semalam suhu 4°C untuk mengendapkan alginat, kemudian endapan alginat dipisahkan dengan cara disaring. Supernatant ditambahkan 3 volume etanol 96% disimpan selama 8 jam suhu 4°C untuk mengendapkan fukoidan, fukoidan yang mengendap diambil dengan disentrifugasi (kecepatan 10.600 g selama 15 menit suhu 4°C), pellet (ekstrak kasar fukoidan) dikumpulkan dan dipindahkan ke cawan petri. Pellet yang didapatkan dikeringkan dengan oven semalam pada suhu 45°C (Modifikasi metode Ale *et al.*, 2011a). Kemudian dihitung rendemen sebagai rasio antara berat fukoidan hasil ekstrak dengan berat sampel awal (cip *Sargassum sp.*) yang digunakan dikalikan 100%.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat fukoidan hasil ekstraksi}}{\text{Berat sampel (cip) awal sebelum diekstrak}} \times 100\%$$

Karakterisasi fukoidan

Identifikasi gugus fungsi fukoidan *Sargassum sp.* dengan FT-IR dengan metode pellet potassium bromide (Rodriguez *et al.*, 2011). Analisa gugus fungsi dengan Infra Red Analysis Spectroscopy (FT-IR) tipe a Perkin-Elmer 16 PC spectrometer (Boston-USA) menggunakan 16 scan dan range frekuensi 400-4000 cm⁻¹. Fukoidan dihaluskan secara spektroskopik dengan bubuk potassium

bromide kemudian dipress menjadi pellet 1 mm. Frekuensi vibrasi transisi tiap spektrum dikoreksi pada baseline dan absorbansi dinormalisasi antara 0 dan 1.

Analisa komposisi monosakarida fukoidan dilakukan dengan menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC), 10-15 mg ekstrak kasar fukoidan dihidrolisis dengan 2 M trifluoroacetic acid (0,5 ml) pada suhu 121°C selama 2 jam, dalam tabung gelas ditutup dengan gas N₂. Kemudian tabung gelas didinginkan dengan es-waterbath, disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit, fraksi cairan dinetralisasi dengan 2 M NaOH hingga pH 7. Kemudian sample diinjeksikan pada system HPLC. Sistem HPLC KNAUER manager 5000, pump 1000, column oven 4050, detektor indeks refraksi S2300, Kolom aminex HPX 87H, suhu 65°C, fase gerak H₂SO₄ 0,005 M dengan kecepatan aliran 0,6 ml/menit, volume injeksi 20 µl (Rodriguez *et al.*, 2011).

Analisa data dan statistik

Analisa data dan statistik menggunakan *Software Design Expert* versi 7. Parameter yang diukur respon rendemen. Analisa data keakuratan hasil eksperimen validasi dilakukan dengan membandingkan antara hasil validasi dengan nilai prediksi data program *DesignExpert* versi pada taraf kepercayaan 0,05 (5%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa Permukaan Respon Orde Pertama

Penelitian pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap respon rendemen fukoidan *Sargassum sp.* eksperimen orde pertama, proses ekstraksi dilakukan pada suhu 70-90 °C dan waktu ekstraksi 3-5 jam. Hasil penelitian eksperimen orde pertama didapatkan respon rendemen fukoidan berkisar antara 5,18% hingga 7,06%. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap rendemen fukoidan disajikan pada Tabel 1.

Hasil penelitian didapatkan rendemen fukoidan meningkat pada suhu ekstraksi 60-80°C dan waktu 3-4 jam, menurun pada suhu ekstraksi 90°C dan waktu 3-5 jam. Hasil analisa ragam respon rendemen fukoidan menunjukkan bahwa model regresi linier memiliki nilai *F* hitung 0,77 lebih kecil dari nilai *F* tabel ($\alpha=0,05$) yaitu 5,14. Hal ini mengindikasikan bahwa model regresi linier bersifat tidak signifikan terhadap respon pada taraf kepercayaan ($\alpha=0,05$). Uji parameter simpangan dari model (*curvature*) mempunyai nilai *F* hitung 7,51 lebih besar dari nilai *F* tabel ($\alpha=0,05$) sebesar 6,94 yang berarti *curvature* bersifat signifikan pada taraf kepercayaan 0,05. Montgomery (2005) menyatakan uji *curvature* mempunyai nilai *F* hitung lebih besar dari *F* table 0,05 berarti *curvature* bersifat signifikan pada taraf kepercayaan 0,05. Hal ini menunjukkan model polinomial berbentuk kuadratik respon optimal berada disekitar suhu 80°C dan waktu 4 jam.

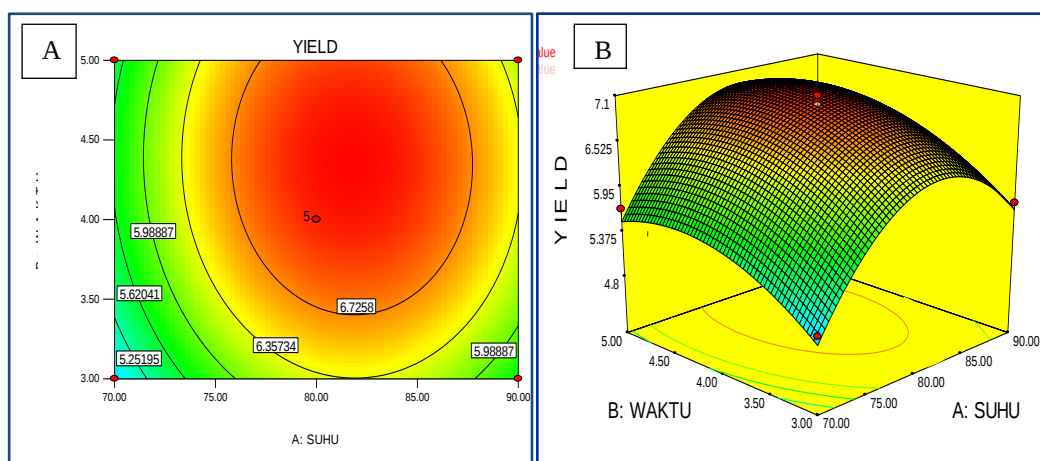
Eksperimen orde kedua

Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Rendemen Fukoidan

Penelitian pengaruh suhu dan waktu ekstraksi yang berbeda terhadap rendemen fukoidan *Sargassum sp.*, proses ekstraksi dilakukan pada suhu 70-90°C dan waktu ekstraksi 3-5 jam. Hasil penelitian didapatkan rendemen fukoidan *Sargassum sp.* berkisar antara 4,27% hingga 7,10%. Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap rendemen fukoidan disajikan pada Gambar 1B.

Perlakuan suhu dan waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata terhadap terhadap meningkatnya rendemen. Hasil penelitian Gambar 1B didapatkan nilai rendemen fukoidan cenderung meningkat dengan semakin tingginya suhu

ekstraksi 70-90°C dan waktu ekstraksi 3-5 jam, setelah mencapai titik optimal ekstraksi (80°C, 4 jam) rendemen mulai terjadi penurunan. Rendemen fukoidan terendah sebesar 4,27% terjadi pada suhu ekstraksi 65,68°C dan waktu 4 jam, nilai rendemen fukoidan tertinggi sebesar 7,10% terjadi pada suhu 80°C dan waktu ekstraksi 4 jam, sedangkan pada suhu ekstraksi 90°C dan waktu 5 jam rendemen fukoidan menurun yaitu sebesar 6,36%. Kondisi ini diduga dinding sel dari alga coklat *Sargassum sp.* semakin porous dengan semakin tingginya suhu ekstraksi (70-80°C) dan waktu ekstraksi (3-4 jam) alga coklat yang terdegradasi meningkat fukoidan yang keluar dari jaringan intersellular semakin banyak dan larut dalam pelarut HCl 0,03 M, sedangkan pada suhu ekstraksi 90°C dan waktu 5 jam dalam larutan HCl 0,03 M fukoidan mulai terdegradasi sehingga sifat kelarutannya relatif mengalami penurunan akibatnya didapatkan rendemen yang rendah. Ale *et al.*, (2011a) menyatakan matrik dinding sel *Sargassum henslowianum* dalam larutan asam lemah (0,2 M HCl) cenderung porous dan mengkerut akibat meningkatnya suhu dan waktu ekstraksi, rendemen meningkat pada suhu ekstraksi (30-60°C) dan waktu (1-3 jam), pada suhu 90°C dan waktu ekstraksi 5 jam fukoidan mengalami degradasi sehingga didapatkan rendemen yang rendah.



Gambar 1. (A) *Contour Plot* (B) Grafik pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap rendemen fukoidan *Sargassum sp.*

Prediksi model dan analisa statistik

Prediksi model persamaan polinomial kuadrat respon rendemen fukoidan hasil analisa regresi program *Design Expert* versi 7 dinyatakan dalam bentuk persamaan polinomial orde kedua, yaitu :

$$y = 7,01 + 0,37x_1 + 0,29x_2 - 1,03x_1^2 - 0,40x_2^2 - 0,022x_1x_2, \quad R^2 = 0,984$$

Uji *Lack of Fit* didapatkan nilai p (0,0567) menunjukkan bahwa ketidaktepatan model tidak signifikan terhadap galat murni, persamaan model adalah tepat. Liu *et al.*, (2010) menyatakan uji *Lack of Fit* nilai p lebih besar dari 0,05 menunjukkan model kuadrat bersifat tidak signifikan terhadap ketidaktepatan model. Model mempunyai koefisien determinasi 0,9840 dan nilai *Adj R-Squared* (0,9726) hal ini menunjukkan model sangat bagus dan dari nilai *Adj R-Squared* ditunjukkan bahwa 97% total variasi dari rendemen fukoidan ditentukan oleh variabel independen dan sekitar 3% total variasi yang tidak bisa dijelaskan dengan model.

Permukaan respon dan contour plot

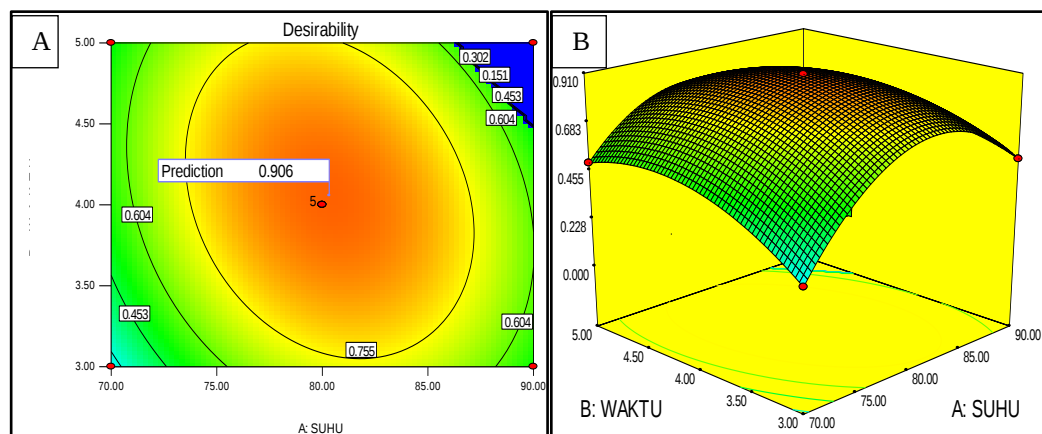
Kurva 3D permukaan respon dan 2D contour plot representatif dari persamaan regresi respon rendemen fukoidan *Sargassum sp.* (Gambar 1). Kurva permukaan respon dan contour plot menunjukkan hubungan variabel bebas dengan respon dan tipe interaksi dua variabel yang diuji.

Pengaruh interaksi suhu dan waktu ekstraksi tidak bersifat signifikan terhadap respon rendemen fukoidan, hal ini terlihat dari bentuk dua dimensi *contour plot* respon rendemen yang berbentuk melingkar (sirkular) (Gambar 1A) yang menunjukkan bahwa pengaruh interaksi suhu dan waktu ekstraksi terhadap rendemen fukoidan sangat kecil. Claver *et al.*, (2010) menyatakan bentuk *contour plot* sirkular atau eliptikal menandakan mutu interaksi antar variabel bebas signifikan atau tidak. *Contour plot* sirkular menunjukkan interaksi variabel bebas lemah, *Contour plot* eliptikal menandakan mutu interaksi variabel bebas sangat signifikan terhadap respon.

Optimasi Ekstraksi dan Validasi

Optimasi Ekstraksi

Optimasi ekstraksi fukoidan *Sargassum sp.* perlakuan suhu dan waktu ekstraksi dianalisa secara statistik menggunakan *software Design-Expert versi 7*. Hasil perhitungan sistem komputerisasi program *Design Expert* didapatkan solusi titik optimum ekstraksi fukoidan *Sargassum sp.* dengan degradasi awal gelombang ultrasonik (amplitude 80%, 15 menit) yang disarankan oleh program adalah suhu ekstraksi 81,00°C dan waktu ekstraksi 4,04 jam. Grafik perlakuan suhu dan waktu ekstraksi pada titik optimum yang memberikan hasil optimal respon rendemen fukoidan *Sargassum sp.* ditentukan pada kurva permukaan respon pada Gambar 2.



Gambar 2. (A) *Contour Plot*, (B) Grafik suhu dan waktu ekstraksi titik optimal respon rendemen fukoidan *Sargassum sp.*.

Maksimum prediksi program respon rendemen fukoidan pada titik optimal suhu ekstraksi 81,00°C dan waktu ekstraksi 4,04 jam dengan degradasi awal gelombang ultrasonik (amplitude 8%, 15 menit) yaitu sebesar 7,04%. Solusi titik optimum suhu dan waktu ekstraksi hasil komputerisasi program *Design Expert* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Solusi titik optimum terpilih program *Design Expert* versi 7

Respon	Titik optimal ekstraksi suhu (81,00°C) dan Waktu (4,04 jam)
Rendemen (%)	7,0458
<i>Desirability</i>	0,906

Ale *et al.*, (2011a) melaporkan optimasi ekstraksi fukoidan *Sargassum henslowianum* yang diekstrak secara pemanasan *waterbath* dengan pelarut HCl 0,03 M titik optimum terjadi pada suhu 90°C dan waktu ekstraksi 4 jam. Hasil penelitian Qiao *et al.*, (2009) didapatkan titik optimal ekstraksi polisakarida *Hyriopsis cumii* terjadi pada suhu 80°C dan waktu ekstraksi 4,5 jam. Hal ini menunjukkan titik optimal ekstraksi fukoidan *Sargassum sp.* yang didegradasi awal dengan ultrasonik (amplitude 8%, waktu 15 menit) terjadi pada suhu (81°C) yang lebih rendah dari titik optimal ekstraksi fukoidan *Sargassum Henslowianum* hasil penelitian Ale *et al.*, (2011a) yaitu pada suhu 90°C, sedangkan waktu optimal ekstraksi fukoidan *Sargassum sp.* (4 jam) lebih cepat dari hasil penelitian Qiao *et al.*, (2009) dengan waktu ekstraksi 4,46 jam. Hal ini menunjukkan bahwa degradasi awal dengan ultrasonik dan dilanjutkan ekstraksi dengan pemanasan *waterbath* lebih efektif dibandingkan dengan ekstraksi secara manual pemanasan *waterbath*. Kondisi ini disebabkan getaran gelombang ultrasonik pada degradasi awal memecah dinding sel *Sargassum sp.* dan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sel sehingga fukoidan yang ada dalam sel dapat keluar dengan mudah. Cameron and Jane (2006) dalam Sari *dkk.* (2012) menyatakan efek mekanikal dari ultrasonik meningkatkan penetrasi cairan menuju membran sel, mendukung pelepasan komponen sel, dan meningkatkan transfer massa. Kavitas ultrasonik menghasilkan daya patah yang akan memecah dinding sel secara mekanis dan meningkatkan transfer material sehingga komponen yang ada dalam sel dapat keluar dengan mudah (Sari *dkk.*, 2012).

Validasi Titik Optimal

Hasil validasi titik optimal membuktikan solusi titik optimum variable bebas dari program *Design Expert* memberikan hasil respon yang benar-benar optimal sesuai solusi dari program. Validasi dilakukan dengan membandingkan nilai respon hasil percobaan sebenarnya dengan nilai respon hasil perhitungan program *Design Expert*. Kesesuaian variable titik optimal ekstraksi fukoidan dilakukan lima eksperimen validasi titik optimal ekstraksi berdasarkan variable: degradasi awal dengan gelombang ultrasonik (amplitude 8%, 15 menit), suhu ekstraksi 81,0°C dan waktu ekstraksi 4,04 jam. Hasil perhitungan eksperimen validasi titik optimal ekstraksi fukoidan didapatkan nilai rerata rendemen fukoidan sebesar 7,15±0,07%. Hasil eksperimen validasi dan nilai prediksi titik optimal ekstraksi fukoidan *Sargassum sp.* disajikan pada Table 2.

Table 2. Eksperimen validasi dan prediksi

Variable Ekstraksi		Rendemen fukoidan(%)	
Suhu(°C)	Waktu(jam)	Aktual	Prediksi
81.00	4.04	7.15	7.05
81.00	4.04	7.04	7.05
81.00	4.04	7.23	7.05
81.00	4.04	7.20	7.05
81.00	4.04	7.12	7.05

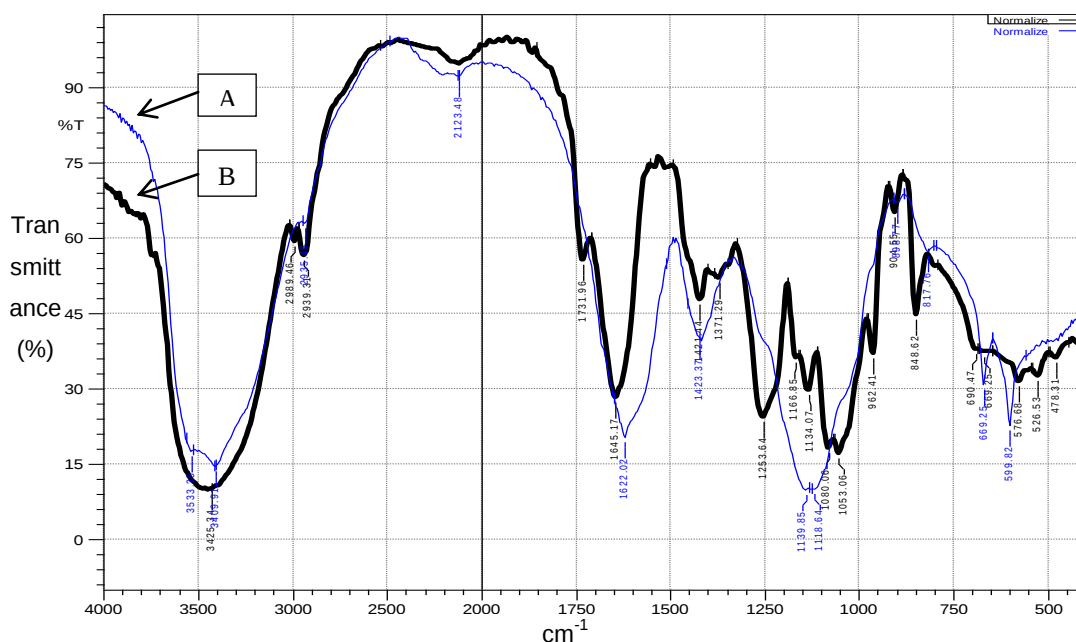
Perbedaan nilai respon rendemen hasil validasi dan nilai prediksi maksimal program *Design Expert* yaitu 1,45%. Perbedaan nilai respon hasil validasi dengan nilai prediksi program *Design Expert* kurang dari 5%, hal ini mengindikasikan bahwa nilai variable bebas titik optimal sudah cukup sesuai untuk menghasilkan respon yang optimal. Sun *et al.*, (2011) menyatakan hasil eksperimen validasi dan nilai prediksi dari program memiliki tingkat kesalahan kurang dari 5% membuktikan bahwa nilai variable titik optimum tersebut memiliki kesesuaian yang tinggi. Validasi titik optimal ekstraksi fukoidan *Sargassum henslowianum* hasil penelitian Ale *et al.*, (2011a) mempunyai tingkat validitas 0,891. Qiao *et al.*, (2009) melaporkan hasil eksperimen validasi titik optimal ekstraksi polisakarida *Hyriopsis cumingi* memiliki tingkat kesesuaian 0,9823 tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 0,05 antara hasil eksperimen dan nilai prediksi, hasil eksperimen bagus sesuai dengan nilai prediksi program.

Karakterisasi fukoidan

Karakterisasi gugus fungsi

Karakteristik fukoidan *Sargassum sp.* hasil validasi titik optimal ekstraksi dianalisa gugus fungsional dengan FTIR pada scan panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} , dibandingkan dengan fukoidan komersial *Fucus vesiculosus* disajikan pada Gambar 2.

Pita absorbansi fukoidan *Sargassum sp.* kuat dan lebar nampak pada bilangan gelombang 3409,10 cm^{-1} dan 3533,35 cm^{-1} , fukoidan standar *Fucus vesiculosus* pada bilangan gelombang 3425,34 cm^{-1} hal ini diduga vibrasi dari gugus fungsi OH peregangan dari karbohidrat. Menurut Coates (2000) pita serapan gugus fungsi OH berada pada kisaran bilangan gelombang 3600-3200 cm^{-1} . Ji *et al.*, (2011) menyatakan pita serapan gugus OH dari fukoidan *Sargassum pallidum* terdapat pada bilangan gelombang 3447,6 cm^{-1} . Qiao *et al.*, (2009) melaporkan peregangan gugus OH polisakarida dari alga coklat *Hyriopsis cumingi* terdapat pada bilangan gelombang 3400 cm^{-1} . Pita puncak pada bilangan gelombang 2935,46 cm^{-1} fukoidan *Sargassum sp.*, bilangan gelombang 2989,46 cm^{-1} dan 2939,31 cm^{-1} fukoidan standar *Fucus vesiculosus* menunjukkan vibrasi C-H peregangan dari karbohidrat. Coates (2000) menyatakan pita serapan pada kisaran bilangan gelombang 3000-2500 cm^{-1} menunjukkan vibrasi C-H. Ji *et al.* (2011) melaporkan vibrasi C-H fukoidan *Sargassum pallidum* didapatkan pada bilangan gelombang 2940,9 cm^{-1} .



Gambar 3. Spektrum FT-IR krude fukoidan *Sargassum sp.* (A), Spektrum FT-IR krude fukoidan komersil *Fucus vesiculosus* (B).

Pita puncak bilangan gelombang $1622,02 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan *Sargassum sp.* dan puncak $1645,17 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan standar *Fucus vesiculosus* menunjukkan vibrasi C=C indikasi absorbansi asam uronat. Ale *et al.*, (2011c) melaporkan pita serapan pada 1610 cm^{-1} fukoidan *Sargassum henslowianum* dan 1620 cm^{-1} fukoidan standar *Fucus vesiculosus* (sigma) menandakan absorbansi dari asam uronat. Pita puncak bilangan gelombang $1417,58 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan *Sargassum sp.* dan $1421,44 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan *Fucus vesiculosus* menunjukkan peregangan gugus C-H dari fukosa dan indikasi gugus sulfat yang terikat pada C2 dan C4 dari fukosa serta beragam vibrasi bayangan dari polisakarida yang terdiri dari glukosa, mannosa, xylosa dan rhamnosa. Fukosa memiliki serapan gugus C-H pada bilangan gelombang $1452,30$ dan $1414,69 \text{ cm}^{-1}$. Puncak pada $1420,3\text{--}1384,4 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan beragam vibrasi C-H dari polisakarida terdiri dari D-glukosa, D-mannosa, D-Xylosa dan asam galakturonat (Ji *et al.*, 2011). Ale *et al.*, (2011c) menyatakan pita serapan pada kisaran $1470\text{--}1400 \text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan *scissoring* vibrasi dari CH_2 (galaktosa dan mannosa).

Pita serapan pada bilangan gelombang $1139,85 \text{ cm}^{-1}$ dan $1118,64 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan *Sargassum sp.*, fukoidan *Fucus vesiculosus* pada $1134,07$; $1080,06$ dan $1053,06 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi CH dari fukosa dan indikasi terdapat sulfat, fukosa memiliki absorbansi kuat pada bilangan gelombang $1200\text{--}1050 \text{ cm}^{-1}$. Puncak kuat antara $910,34\text{--}1126,35 \text{ cm}^{-1}$ karakteristik dari fukosa dan indikasi vibrasi peregangan S=O terikat pada axial posisi C-4 (Kim *et al.*, 2010 ; Ji *et al.*, 2011). Pita serapan pada $898,77 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan *Sargassum sp.* dan $904,55 \text{ cm}^{-1}$ fukoidan *Fucus vesiculosus* menunjukkan vibrasi C-H bend dari polisakarida diduga terdiri dari galaktosa, rhamnosa, mannose, glukosa. Zhang (1994) dalam Yang and Zhang (2009) melaporkan glukosa mempunyai pita serapan pada kisaran $905\text{--}876 \text{ cm}^{-1}$, galaktosa pada kisaran $914\text{--}866 \text{ cm}^{-1}$, mannosa pada kisaran $898\text{--}888 \text{ cm}^{-1}$ dan arabinosa $855\text{--}840 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan pada 850 cm^{-1} dan 820 cm^{-1} merupakan pita gugus sulfat C-O-S, sulfat terikat pada posisi ekuator C-2 dan C-3 dari L-fukosa, dan posisi axial C-4 (Park *et al.*, 2012). Ale *et al.*, (2011c) melaporkan gugus sulfat fukoidan *Sargassum henslowianum* dan

Fucus vesiculosus terdapat pada bilangan gelombang 817 cm^{-1} dan 822 cm^{-1} sulfat terikat pada posisi C-2 dan C-3 dari L-fukosa, pita serapan 840-850 cm^{-1} sulfat terikat pada fukosa posisi axial C-4 (Kim *et al.*, 2010). Gugus sulfat fukoidan standar *Fucus vesiculosus* terdapat pada 848,62 cm^{-1} terikat pada fukosa posisi axial C-4. Gugus sulfat fukoidan *Sargassum sp.* terdapat pada 817,76 cm^{-1} terikat pada L-fukosa posisi ekuator C-2 dan C-3. Pita absorbansi fukoidan *Sargassum sp.* pada 817,76 cm^{-1} nampak tidak tajam, diduga karena banyak pengotor dan numpuk dengan komponen monosakarida yang lain.

Pita puncak pada 669,25 cm^{-1} fukoidan *Sargassum sp.* dan fukoidan *Fucus vesiculosus* pada bilangan gelombang 690,47; 669,26 menunjukkan vibrasi $\text{CH}_2\text{-S}$ sulfat terikat pada fukosa dan diindikasikan terdapat xylosa. Coates (2000) menyatakan pita serapan kisaran 710-685 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari $\text{CH}_2\text{-S}$. Zhang (1994) dalam Yang and Zhang (2009) melaporkan xylosa mempunyai pita serapan pada kisaran 760-740 cm^{-1} . Pita puncak pada 599,82 cm^{-1} fukoidan *Sargassum sp.* dan fukoidan *Fucus vesiculosus* pada 576,68 cm^{-1} menunjukkan vibrasi $\text{CH}_3\text{-S}$ diduga sulfat terikat pada fukosa posisi C-2 dan C-3. Coates (2000) menyatakan pita serapan kisaran 660-630 cm^{-1} menunjukkan vibrasi $\text{CH}_3\text{-S}$. Pita serapan 582-586 cm^{-1} asimetri deformasi kelompok $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ dikonfirmasi terdapat sulfat dalam jumlah yang signifikan (Kim *et al.*, 2010).

Komponen Monosakarida

Hasil analisis HPLC komponen monosakarida *Sargassum sp.* tersusun dari fukosa, xylose, rhamnosa dan glukosa. Kadar masing-masing komponen monosakarida perberat kering fukoidan *Sargassum sp.* sebagai berikut : fukosa 48,64 mg/g, xylose 35,29 mg/g, rhamnosa 21,93 mg/g, glukosa 5,72 mg/g. Hasil ini menunjukkan bahwa kadar komponen monosakarida fukoidan *Sargassum sp.* relatif lebih tinggi dari fukoidan *Sargassum henslowianum* hasil penelitian Ale *et al.*, (2011a) yang melaporkan bahwa komponen monosakarida penyusun fukoidan *Sargassum henslowianum* yang diekstrak pada titik optimal ekstraksi (90°C, 4 jam) mempunyai komponen monosakarida yang terdiri dari fukosa 31,4 mg/g, rhamnosa 2,0 mg/g, arabinosa 0,1 mg/g, galaktosa 0,1 mg/g, glukosa 0,8 mg/g, xylose 0,1 mg/g dan mannose 0,3 mg/g.

Tabel 3. Komponen monosakarida fukoidan *Sargassum sp.* setelah dihidrolisis dengan 2 M TFA

Peak	Komponen Monosakarida	Waktu Retensi (menit)	Kadar (mg/g)
1	Glukosa	8,32	5,72
2	Xylose	8,90	35,29
3	Rhamnosa	9,33	21,93
4	Fukosa	10,27	48,64

PENUTUP

Ekstraksi fukoidan *Sargassum sp.* pada suhu 70-90°C dan waktu ekstraksi 3-5 jam didapatkan titik optimal suhu ekstraksi 81,0°C dan waktu ekstraksi 4,04 jam. Hasil validasi titik optimal ekstraksi mempunyai nilai rendemen $7,15 \pm 5,58\%$. Perbedaan nilai respon hasil validasi dan nilai prediksi maksimal program *Design Expert* sebesar 1,45%. Berdasarkan Karakterisasi FTIR dan HPLC didapatkan komponen monosakarida *Sargassum sp.* tersusun dari fukosa, rhamnosa, xylose, glukosa dan sulfat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ale, M.T., Mikkelsen J.D. and Meyer A.S., 2011a. Designed optimization of a single-step extraction of fucose-containing sulfated polysaccharides from *Sargassum* sp. *J. Appl. Phycol.* doi:10.1007/s10811-011-9690-3.
- Ale, M. T., Mikkelsen J. D. and Meyer A. S., 2011b. Review: Important determinants for fucoidan bioactivity: A Critical Review of Structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Mar. Drugs*. 9, 2106-2130 ; doi:10.3390/md9102106.
- Ale, M.T., Maruyana H., Taumachi H., Mikkelsen J. D. and Meyer J. D., 2011c. Article: Fucose-Containing Sulfated Polysaccharides from Brown Seaweeds Inhibit Proliferation of Melanoma Cells and Induce Apoptosis by Activation of Caspase-3 *in Vitro*. *Mar. Drugs*. 9, 2605-2621.
- Chotigeat, W., Tongsupa, Supamataya K. and Phongdara A., 2004. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. *J. Agriculture*. Elsevier 233.23-30.
- Claver I. P., Zhang H., Li Q., Kexue Z., and Zhou H., 2010. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from chinese malted sorghum using response surface methodology. *Pakistan Journal of nutrition* 9 (4): 336-342.
- Coates J., 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. *Encyclopedia of analytical chemistry*. John Wiley and sons Ltd. pp. 10815–10837
- Cumashi, A., Ushakova N. A., Preobrazhenskaya M. E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E. and Berman A. E., 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*. 5, 541–552.
- Ermakova, S, Sokolova R, Kim SM, Um B, Isavakov V. and Zvyaginseva T., 2011. Fucoidans from brown seaweeds *Sargassum horneri*, *Eclonia cava*, *Costaria costata*: Structural characteristics and anticancer activity. *Appl Biochem Biotechnol*. 164:841–850.
- Ji A., Yao Y., Che O., Wang B., Sun L., Li X. and Xu F., 2011. Isolation and characterization of sulfated polysaccharide from the *Sargassum pallidum* (Turn) C. Ag. and its sedative/hypnotic activity. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5(21), pp.5240-5246.
- Kadi A., 2004. Rumput laut nilai ekonomis dan budidayanya. Pusat Penelitian Oseonografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. LIPI. Jakarta. ISBN : 979-3378-19-0.
- Kim W. J., Kim S. M., Kim H. Y., Hye-Rim O, Lee K. B., Lee L. K. and Park Y., 2007. Purification and Anticoagulant Activity of a Fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyll. *Algae*. Volume 22(3): 247-252.
- Kim W. J., Koo Y. K., Jung M. K., Moon H. R., Kim S. M., Synytsya I., Hye Sook Yun-Choi H. S. Y., Kim Y. S., Park J. K. and Park Y., 2010. Anticoagulating Activities of Low-Molecular Weight Fuco-Oligosaccharides Prepared by Enzymatic Digestion of Fucoidan from the Sporophyll of Korean *Undaria pinnatifida*. *Arch Pharm Res* Vol 33, No 1, 125-131.
- Krishnaiah D, Prasad D.M.R., Bono A. and Sarbatly R., 2007. Optimization of ultrasonic extraction parameters of Iota-carrageenan from seaweed *Euclima denticulatum*. *Caledonian Journal of Engineering*. Volume 03, Number 02, 1-11.

- Kwong B. W., Mao Z., and Xiaoyan W., 2011. Kelp fucoidan optimization of ultrasonic extraction of brown algae *Laminaria japonica*. Guangdong College of Pharmacy. 26 (2). 3-6.
- Li, B., Wei X. J., Sun J. L. and Xu S.Y., 2006. Structural investigation of a fucoidan containing a fucose-free core from the brown seaweed *Hizikia fusiforme*. *Carbohydr. Res.* 341, 1135–1146.
- Montgomery D. C., 2005. Response surface methods and designs. John Wiley and Sons. Inc.
- Nuryanti dan Salimy D. H., 2008. Metode permukaan respon dan aplikasinya pada optimasi eksperimen kimia. *Risalah Lokakarya Komputasi dalam Sains dan Teknologi Nuklir*: 373-391.
- Park K., Cho E., In M., Kim D. C. and Chae H. J., 2012. Physicochemical properties and bioactivity of brown seaweed fucoidan prepared by ultra high pressure-assisted enzyme treatment. *Korean J. Chem. Eng.*, 29(2), 221-227.
- PT. Marinal Indoprima, 2011. Daftar Harga Ekspor Rumput Laut. Data Internal PT. Marinal Indoprima. Surabaya. tidak dipublikasikan
- Qiao D., Hu B., Gan D., Sun Y., Ye. and Zeng X., 2009. Extraction optimized by using response surface methodology, purification and preliminary characterization of polysaccharide from *Hyriopsis cumingi*. *Journal Home page. Carbohydrate polymer*. 76. 422-429.
- Rioux L. E., Turgeon S. L., and Beaulieu M., 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrates polymers*. 69. 530-537.
- Rodriguez-Jasso R. M., Mussatto S. I., Pastrana L., Aguilar C. N. and Teixeira J. A., 2011. Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed, *Carbohydrate Polymers*. doi:10.1016/j.carbpol.06.006.
- Sari D. K., Wardhani D. H. dan Prasetyaningrum A., 2012. Pengujian kandungan total fenol *Kappahycus alvarezzi* dengan metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi suhu dan waktu. *Prosiding SNST ke-3*. ISBN 978-602-99334-1-3.
- Yang L. and Zhang L. M., 2009. Review: Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*. 76 (2009) 349–361.