

**PENGARUH WAKTU DAN PELARUT EDTA
(Ethylenediaminetetraacetic Acid) PADA EKSTRAKSI FUKOIDAN DARI
RUMPUT LAUT COKELAT *Sargassum binderi Sonder***

***EFFECT OF TIME AND EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid)
SOLVENT ON FUCOIDAN EXTRACTION FROM BROWN SEAWEED
*Sargassum binderi Sonder****

Cindy Rizka Aulia¹, Zulaikha Setya Mega Sari², Herti Utami³, dan Muhammad Hanif⁴
Fakultas Teknik Jurusan Teknik Kimia
Universitas Lampung E-mail: cindyrzk@gmail.com

Dikirim 24 Juni 2020, Direvisi 12 November 2020, Disetujui 24 November 2020

Abstrak: Rumput laut cokelat memiliki beragam polisakarida yang terkandung di dalamnya. Salah satu polisakarida dari rumput laut cokelat yang diketahui memiliki bioaktivitas yang tinggi adalah fukoidan. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa bioaktivitas dari fukoidan antara lain mampu menghambat pertumbuhan sel kanker, anti koagulan, anti virial, dan sebagai immunostimulan. Mengisolasi fukoidan dari rumput laut cokelat telah banyak dilakukan dengan beragam cara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh waktu dan konsentrasi pelarut EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*) pada proses ekstraksi dan karakteristik fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Sargassum binderi Sonder*. Konsentrasi pelarut yang digunakan pada penelitian ini sebesar 0,15% ; 0,3% : 0,5% ; 1% ; dan 1,3% serta waktu ekstraksi selama 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, dan 5 jam. Perbandingan rumput laut dan air adalah 1:30 dengan suhu ekstraksi dilakukan pada 70°C. Dalam penelitian ini didapatkan *yield crude fucoidan* terbesar pada waktu ekstraksi 4 jam dan konsentrasi pelarut 1,3% yaitu sebesar 3,67%. Hasil analisis menunjukkan kandungan total gula dari ekstrak fukoidan dengan *yield* terbesar didapatkan sebesar 36,48% dan kandungan sulfat sebesar 17,16%.

Kata kunci: fukoidan, EDTA, bioaktivitas, rumput laut.

Abstract: Brown seaweed has a variety of polysaccharides contained in it. One of the polysaccharides from brown seaweed that known has high bioactivity is fucoidan. Many studies have shown that the bioactivity of fucoidan, among others, can inhibit the growth of cancer cells, anti-coagulant, anti-virial, and as an immunostimulant. Isolating fucoidan from brown seaweed have been done in various ways. This study aims to determine the effect of time and concentration of EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*) on the extraction process and the characteristics of fucoidan from brown seaweed, *Sargassum binderi Sonder*. The solvent concentration that used in this research were 0.15%; 0.3%: 0.5%; 1%; and 1.3% and the extraction time were 1 hour, 2 hours, 3 hours, 4 hours, and 5 hours. The comparison of seaweed and water was 1:30 with extraction temperature was carried out at 70°C. In this study, the highest yield was obtained at the extraction time of 4 hours and a solvent concentration of 1.3%, that the yield was obtained to be 3.67%. The analysis shows that total sugar content of the fucoidan extract with the largest yield was 36.48% and the sulfate content was 17.16%, respectively.

Keywords: fucoidan, EDTA, bioactivity, seaweed

PENDAHULUAN

Rumput laut telah lama menjadi produk yang banyak dikonsumsi masyarakat dunia. Kegunaannya sebagai bahan pangan dan obat-obatan banyak digunakan oleh bangsa-bangsa seperti Asia Timur maupun di Eropa. Dahulu, masyarakat Indonesia memanfaatkan rumput laut dengan cara dikonsumsi secara

langsung. Seiring dengan kemajuan teknologi, pemanfaatan rumput laut saat ini sudah sangat beragam. Ada produk rumput laut dalam bentuk olahan pangan, pakan ternak, pupuk, kosmetik, dan juga produk farmasi. Kebutuhan dunia akan rumput laut juga sangat tinggi. Tercatat lebih dari 100 negara di dunia menjadi pengimpor rumput laut. Sebagai negara yang memiliki garis pantai terpanjang ke dua di dunia, tentu

Indonesia memiliki potensi rumput laut yang sangat tinggi. Tercatat 555 jenis rumput laut dari sekitar 8000 jenis yang ada di dunia, dapat tumbuh dengan baik di wilayah Indonesia (Wibowo, 2019).

Saat ini, Indonesia telah menjadi salah satu produsen utama rumput laut dunia dengan produksi rumput laut basah mencapai 11,6 juta ton pada tahun 2016. Sebagai perbandingan, pada tahun 2016, produksi rumput laut dunia adalah sekitar 30 juta ton sehingga Indonesia berkontribusi hampir 40% dari total produksi rumput laut dunia (Wibowo, 2019). Dalam perdagangan internasional, data menunjukkan bahwa Indonesia merupakan salah satu pemain utama dengan volume ekspor pada tahun 2018 sebesar 213 ribu ton (peringkat 1 dengan kontribusi 30% dari total ekspor dunia). Namun dari sisi nilai, Indonesia berada di peringkat 3 dengan nilai USD 294 juta atau sekitar 12% dari total nilai ekspor dunia (Wibowo, 2019). Hal ini mengindikasikan bahwa ekspor Indonesia lebih banyak berupa bahan baku atau produk bernilai tambah rendah.

Rumput laut tidak hanya dapat dijadikan sebagai bahan makanan namun juga memiliki beragam polisakarida yang terkandung di dalamnya. Beberapa dari polisakarida tersebut memiliki bioaktivitas yang tinggi, salah satunya adalah dari jenis rumput laut cokelat (*Phaeophyceae*). Polisakarida dari rumput laut cokelat yang menarik perhatian karena bioaktivitasnya adalah fukoidan. Fukoidan merupakan polisakarida yang unik dimana monomer utamanya yaitu fukosa dengan kandungan gugus sulfat yang biasanya ditemukan pada dinding sel rumput laut cokelat memiliki beragam bioaktivitas seperti menghambat pertumbuhan sel kanker, anti koagulan, anti tumor, immunostimulan, antiviral, antioksidan, dan lain-lain. Sedangkan fukoidan dari rumput laut di Indonesia yang sudah diuji bioaktivitasnya antara lain dari jenis *Sargassum crassifolium* sebagai anti

koagulan dan *Sargassum binderi Sonder* sebagai immunostimulan (Sinurat, 2011).

Kandungan polisakarida yang paling banyak dalam rumput laut cokelat adalah alginat (30% hingga 40%). Senyawa lainnya terdapat dalam jumlah kecil yaitu fukoidan (2% hingga 4% per berat kering rumput laut), laminaran paling besar sekitar 30%, dan senyawa bioaktif lainnya (Ragan, 1980). Selain fukosa, di dalam fukoidan juga biasanya masih terkandung monosakarida lain seperti glukosa, galaktosa, raminosa, xilosa, manosa, dan asam uronat. Aktivitas biologis dari fukoidan akan sangat tergantung dari komposisi kimia, berat molekul, komposisi monosakarida, serta dari kandungan dan posisi gugus sulfat yang mana semua itu tidak lepas dari pengaruh spesies rumput lautnya, lokasi geografis, waktu panen, serta metode ekstraksi yang digunakan. Tentunya untuk menghindari perubahan struktur dan hilangnya gugus sulfat dari fukoidan, diperlukan metode ekstraksi yang tepat.

Metode ekstraksi fukoidan umumnya dilakukan dengan menggunakan pelarut asam, air, dan garam kalsium. Ekstraksi fukoidan menggunakan air merupakan metode klasik yang paling umum digunakan dan biasanya dilakukan pada suhu 70 °C hingga 100 °C. Ekstraksi fukoidan menggunakan air selama 4 jam menghasilkan *yield crude fucoidan* 3,36% (Sinurat, 2017). Penggunaan asam pada ekstraksi fukoidan menghasilkan *yield* yang cukup tinggi yaitu sekitar 6% dengan waktu ekstraksi 4 jam, namun ekstraksi dengan menggunakan asam dapat menyebabkan terputusnya gugus sulfat ester, yang mana dapat menurunkan bioaktivitas dari fukoidan. Garam kalsium klorida banyak dipilih untuk menghilangkan komponen yang tidak larut dalam asam dan mendapatkan fukoidan yang murni, namun *yield* yang dihasilkan sangat kecil yaitu 2,57% saat diekstraksi selama 4 jam (Sinurat, 2017). Penelitian yang dilakukan

Zhao *et al.*, (2017) mengekstrak fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Laminaria japonica* menggunakan pelarut *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) menunjukkan hasil yang baik. *Yield crude fucoidan* yang didapatkan tinggi, yaitu sekitar 16% dalam waktu ekstraksi 3 jam yang mana kandungan sulfat tetap dapat dipertahankan. Aktivitas antioksidan yang diperoleh pun tinggi, terkait dengan kandungan sulfat, komposisi monosakarida, dan berat molekul fukoidan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder* yang mana banyak ditemukan di pantai Lampung Selatan dengan menggunakan pelarut *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) dengan variasi konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi.

LANDASAN TEORI

Rumput Laut

Rumput laut secara ilmiah dikenal dengan istilah ganggang atau alga. Rumput laut adalah tumbuhan talus berklorofil. Istilah talus digunakan bagi tubuh rumput laut yang mirip tumbuhan tetapi tidak memiliki akar, batang, dan daun sejati. Rumput laut di alam umumnya melekat pada substrat di dasar perairan yang berupa karang batu mati, karang batu hidup, batu gamping, atau cangkang moluska pada daerah pasang surut (interdial) atau pada saerah yang selalu terendam air (subtidal). Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan rumput laut diantaranya adalah faktor kedalaman perairan, cahaya, substrat, dan gerakan air. Rumput laut tumbuh berkelompok dengan jenis rumput laut lainnya (Aslan, 1999).

Rumput laut memiliki kandungan karbohidrat, protein, sedikit lemak dan abu yang sebagian besar merupakan senyawa garam natrium dan kalium. Rumput laut juga mengandung vitamin-vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B6, B12, C, D, E, dan

K; betakaroten.; serta mineral seperti kalium, kalsium, fosfor, natrium, zat besi, dan yodium. Beberapa rumput laut mengandung lebih banyak vitamin dan mineral penting seperti kalsium dan zat besi bila dibandingkan sayuran dan buah-buahan. Beberapa jenis rumput laut juga mengandung protein yang cukup tinggi. Rumput laut mampu meningkatkan sistem kerja hormonal, limfatik, dan juga saraf. Rumput laut juga bisa meningkatkan fungsi pertahanan tubuh, memperbaiki sistem kerja jantung dan peredaran darah, serta sistem pencernaan. Semua rumput laut kaya akan kandungan serat yang dapat mencegah kanker usus besar. Rumput laut juga membantu pengobatan tukak lambung, radang usus besar, dan gangguan pencernaan lainnya (Anggadiredja, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa rumput laut merupakan komoditi yang memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan lebih lanjut.

Rumput Laut Cokelat

Salah satu jenis rumput laut dalam taksonomi makhluk hidup adalah rumput laut cokelat. Rumput laut cokelat merupakan kelompok alga yang secara umum berwarna cokelat atau pirang. Pada beberapa jenis seperti pada *Sargassum*, warnanya akan sedikit berubah menjadi hijau kebiru-biruan apabila mati kekeringan. Bentuk *thalli* bervariasi dan dapat mencapai ukuran relatif besar. Ukuran *thalli* beberapa jenis dari alga cokelat ini lebih tinggi dari jenis-jenis alga merah dan alga hijau (Atmadja 1996).

Ciri-ciri umum alga cokelat ini yaitu saat bereproduksi alga ini memiliki stadia gamet atau zoospora berbulu cambuk seksual dan aseksual, mempunyai pigmen klorofil a dan c, beta karoten, violasantin dan fukosantin. Persediaan makanan hasil fotosintesis berupa laminaran (beta, 1-3 ikatan glukosa). Pada bagian dalam dinding selnya terdapat asam alginat dan alginat juga mengandung pirenoid dan tilakoid (lembaran fotosintesis). Ukuran dan bentuk *thalli* beragam dari yang berukuran kecil sebagai epifit, sampai yang berukuran besar,

bercabang banyak, berbentuk pita atau lembaran. Cabangnya ada yang sederhana dan ada pula yang tidak bercabang (Aslan, 1999).

Deskripsi dan Klasifikasi *Sargassum*

Sargassum adalah salah satu genus dari kelompok rumput laut cokelat yang merupakan genera terbesar dari Famili Sargassaceae. *Sargassum* merupakan alga cokelat yang terdiri dari kurang lebih 400 jenis di dunia. Jenis-jenis *Sargassum* sp. yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu : *Sargassum duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Rachmat, 1999).



Gambar 1. *Sargassum binderi* Sonder (Sinurat, 2017)

Sargassum binderi Sonder memiliki *thallus* stipe yang gepeng, halus, percabangan teratur, percabangannya kiri kanan, cabang utama saling berdekatan, daun lonjong, pinggir bergerigi, panjang sekitar 5 cm, lebar sekitar 1 cm dan ujung runcing. Habitat jenis ini tumbuh di daerah rata-rata terumbu. Klasifikasi *Sargassum binderi* Sonder adalah sebagai berikut :

Divisi : *Phaeophyta*
 Kelas : *Phaeophyceae*
 Ordo : *Fucales*
 Famili : *Sargassaceae*
 Genus : *Sargassum*

Spesies : *Sargassum binderi* Sonder

(sumber : Anggadireja, 2006)

Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*), terutama di daerah rata-rata pasir (*sand flat*). Daerah ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir, secara sporadis terdapat pula pada karang hidup atau mati. Pada batu-batu ini tumbuh dan melekat rumput laut cokelat.

a. Komposisi Kimia *Sargassum* sp.

Kandungan terbesar yang terkandung dalam rumput laut adalah karbohidrat. Komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potasium) dan air 80-90 %. Komposisi kimia *Sargassum* dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Komposisi Kimia Rumput Laut Jenis *Sargassum Binderi* (Mahata et al., 2015)

No.	Komponen	Kadar, %
1.	Crude protein	6,93
2.	Lemak	1,07
3.	Crude fiber	7,76
4.	Kalsium	0,64
5.	Fosfor	0,62
6.	Alginat	20,89

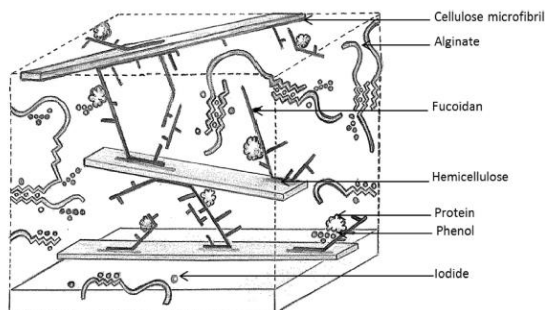
Alga *Sargassum* mudah diperoleh di perairan Indonesia. Kandungan kimia utamanya sebagai sumber alginat dan mengandung protein, vitamin C, tanin, iodium, fenol sebagai obat gondok, anti bakteri, dan anti tumor. Komponen aktif yang terkandung di dalam rumput laut jenis *sargassum* antara lain flavonoid. Flavonoid umumnya terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar dalam bentuk glosida.

Sargassum yang diambil dari pantai Jepara mengandung senyawa bioaktif seperti triterpenoid, steroid dan fenolat.

Secara umum rumput laut cokelat mengandung senyawa kompleks diterpenoid dan terpenoidaromatik, termasuk *Sargassum* sebagai senyawa antimikroba spektrum luas. Rumput laut yang mengandung senyawa fenolat antara lain *Sargassum*, *Chaetopteris*, *Entomorpha*, dan *Fucus*. Pada beberapa jenis rumput laut, senyawa fenolat kadang-kadang diekstraksikan dalam air laut disekitar habitatnya (Yunizal, 2004).

3. Fukoidan

Senyawa bioaktif lain yang terkandung dalam rumput laut cokelat adalah 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, xilosa, asam uronat dan gugus asetil. Berikut adalah gambar posisi fukoidan di dalam dinding sel.



Gambar 2. Skema Dinding Sel Rumput Laut Cokelat (Fernandez, 2018)

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. Kemudian struktur fukoidan dikaji ulang secara luas dan dipublikasikan oleh Berteau dan Mulloy. Nama fukoidan yang dibenarkan dengan aturan IUPAC disebut fukan, fukosan atau fukan sulfat. Struktur fukoidan bervariasi cukup signifikan antar spesies, bergantung pada : iklim setempat,

faktor lingkungan, metode ekstraksi dan pemurnian (Franck, 2004).

Fukoidan dapat ditemukan pada berbagai jenis makhluk hidup yang ada di laut. Makhluk hidup laut tersebut antara lain, timun laut dan rumput laut cokelat. Kandungan fukoidan dari timun laut sangat sederhana hanya terdiri dari fukosa dan golongan sulfat. Sedangkan fukoidan dari rumput laut cokelat memiliki komposisi polisakarida lebih kompleks. Beberapa spesies rumput laut yang sudah diteliti kandungannya sebagai penghasil fukoidan antara lain : *Fucus vesiculosus*, *Sargassum stenophyllum*, *Chorda filum*, *Ascophyllum nodosum*, *Kjellmaniella crassifolia*, *Cladosiphon okamuranus*, *Dictyota menstrualis*, *Padina gymnospora*, *Fucus distichus*, *Fucus serratus*, dan *Hizikia fusiforme*. (Descamps, 2006).

a. Aktivitas Biologi Fukoidan

Fukoidan memiliki beragam manfaat karena bioaktivitasnya. Beberapa manfaat dari aktivitas biologi fukoidan adalah:

1. Antikoagulan

Antikoagulan adalah pencegah pembekuan darah dengan jalan menghambat pembentukan atau menghambat fungsi beberapa faktor pembekuan darah. Kandungan sulfat tinggi sering menunjukkan aktivitas antikoagulan tinggi. Sifat antikoagulan dari fukoidan sangat ditentukan oleh jaringan di dalamnya. Beberapa studi menunjukkan bahwa komposisi gula (fukosa, galaktosa, dan lain-lain) dari fukoidan yang berhubungan dengan aktivitas antikoagulan.

Asam uronat tidak diperlukan untuk aktivitas antikoagulan, tapi dapat meningkatkan aktivitas antikoagulan dengan meningkatkan fleksibilitas jaringan gula. Hasil penelitian menunjukkan bahwa struktur linear sulfat α -L-fukan dan sulfat D L- α -galactan menunjukkan aktivitas antikoagulan, tidak hanya fungsi kepadatan,

tetapi juga pada pola komposisi sulfat dan monosakarida (Sinurat, 2012).

2. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Beberapa studi menunjukkan bahwa fukoidan telah memiliki aktivitas antioksidan *in vitro* signifikan. Fukoidan adalah antioksidan alami dan memiliki potensi untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas (Cumashi, 2007).

3. Anti Komplementari

Sistem komplemen umumnya merupakan komponen utama kekebalan, terutama terlibat dalam bawaan dan respon humoral. Sistem juga menyediakan *link* antara kekebalan bawaan dan adaptasi yang merespon pertahanan diri (Sinurat, 2012).

4. Anti Inflamasi

Kandungan anti inflamasi digunakan untuk meredakan nyeri serta mengurangi peradangan dan juga untuk menurunkan demam. Fukoidan mampu menghambat mobilisasi leukosit serta inflamasi dengan kandungan fukosa dan sulfat. Kemampuan anti inflamasi fukoidan juga berguna untuk mengatasi pembengkakan akibat alergi (Sinurat, 2012).

5. Menurunkan Lipid Darah

Fukoidan adalah salah satu agen aktif yang mirip dengan asam sialic dan dapat meningkatkan muatan negatif permukaan sel seperti menyebabkan efek pada agregasi kolesterol dalam darah, kemudian menurunkan kadar kolesterol. Fukoidan dari *Laminaria japonica* sebenarnya dapat menurunkan total kolesterol, trigliserida, dan LDL-C serta meningkatkan HDLC dalam serum tikus yang menderita hiperkolesterolemia dan tikus dengan hiperlipidemia, dan dicegah secara efisien. Pada pembentukan hiper kolesterolemia melalui percobaan pada tikus, fukoidan juga sebenarnya bisa menurunkan kadar

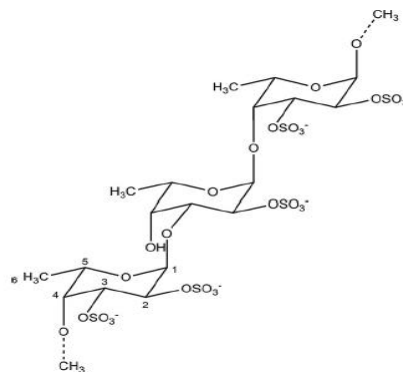
kolesterol dan trigliserida dalam serum penderita hiperlipidemia, tanpa efek samping yang merusak hati dan ginjal (Sinurat, 2012).

b. Metode Isolasi Fukoidan

Beberapa hasil penelitian tentang isolasi fukoidan dari rumput laut cokelat yang sudah dipublikasikan antara lain fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum stenopyllum* dengan cara mengendapkan fukoidan menggunakan CaCl_2 2%, dari hasil isolasi tersebut diperoleh *yield* fukoidan sebesar 2,4% dari tepung rumput laut (Duarte, 2001).

Penelitian lain dimana fukoidan diisolasi dari rumput laut cokelat jenis *Ecklonia cava* kaya akan sulfat (0,92 sulfat/total gula) dengan komposisi utama fukoidan terdiri dari fukosa dan galaktosa dalam jumlah kecil (Athukorala, 2006). Penelitian yang memperoleh fukoidan dari rumput laut *Undaria pinnatifida Sporophyll* dengan *yield* 3,9% dari berat tepung melalui ekstraksi menggunakan asam, diendapkan dengan metanol dan pengendapan berikutnya dengan CaCl_2 2% (W.J. Kim, 2007).

Fukoidan yang sudah dikomersilkan antara lain berasal dari rumput laut cokelat jenis *Fucus vesiculosus*. Struktur fukoidan yang sudah dipublikasikan dari spesies rumput laut cokelat *Fucus vesiculosus* dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 3. Struktur Fukoidan dari Rumput Laut Jenis *Fucus vesiculosus* (Cumashi, 2007)

Penentuan struktur fukoidan dapat dilakukan melalui proses metilasi dan perlakuan alkali. Beberapa struktur fukoidan yang sudah dipublikasikan secara umum perbedaannya berada pada pola spesifik sulfatasi, posisi persambungan glikosida dan konstituen monosakarida dari spesies yang berbeda. Komposisi kimia fukoidan dari *Fucus vesiculosus* relatif lebih sederhana dari fukoidan pada umumnya yang memiliki komposisi kompleks. Pada tahun 1962, Schweiger mengisolasi polisakarida dari *Macrocytis pyrifera* menghasilkan rasio fukosa dan galaktosa 18: 1, dan untuk pertama kalinya menyatakan bahwa fukoidan tidak murni fukan sulfat tetapi heteropolimer fukosa, galaktosa, dan sedikit xilosa (Sinurat, 2012).

Dalam mengekstrak fukoidan, metode ekstraksi yang berbeda dapat menghasilkan kandungan fukoidan yang berbeda. Rumput laut cokelat *Adenocytis utricularis* diekstrak pada suhu ruang, menghasilkan fukoidan dengan komposisi utamanya fukosa, galaktosa dan ester sulfat (Ponce *et al.*, 2003). Dari spesies rumput laut cokelat yang sama diekstrak pada suhu berbeda, menghasilkan fukoidan dengan komposisi utamanya fukosa dan monosakarida dengan jumlah yang berbeda (manosa, glukosa, xylosa, rhamnosa dan galaktosa) serta sejumlah asam uronat.. Selain metode ekstraksi, pengaruh spesies rumput laut, lokasi geografis dan waktu panen juga mempengaruhi kualitas fukoidan.

Metode ekstraksi sangat mempengaruhi *yield* dan mutu fukoidan. Kondisi proses ekstraksi fukoidan yang sangat mempengaruhi *yield*, antara lain pelarut ekstraksi, suhu, dan lama waktu ekstraksi. Umumnya ekstraksi fukoidan dilakukan melalui metode yang berbeda-beda yaitu seperti menggunakan pelarut asam, air dan garam kalsium. Ekstraksi menggunakan asam encer dimaksudkan untuk memecahkan ikatan antara polisakarida dengan protein di dalam sel. Pada ekstraksi menggunakan air, biasanya divariasikan dengan suhu sehingga dapat memecah

interaksi non kovalen antara fukoidan dengan dinding sel. Pada kedua metode tersebut dilakukan penambahan garam kalsium untuk memisahkan alginat dari fukoidan.

Pada ekstraksi fukoidan dari *S. crassifolium* menggunakan larutan HCl 0,1N pada suhu ruang selama 6 jam, diperoleh *yield crude* fukoidan sebanyak 1,46% dengan komposisi penyusun fukoidan fukosa dan galaktosa 1:1,5 (Sinurat, 2011). Ekstraksi fukoidan dari *Undaria pinnatifida* menggunakan larutan CaCl₂ 2% pada suhu 85 °C selama 5 jam memperoleh fukoidan dengan komposisi penyusun yang terdiri dari glukosa 52,3%, asam uronat 26,2% dan sulfat ester 7,4% (W.J. Kim, 2007). Ekstraksi lainnya dengan menggunakan pelarut air destilasi pada suhu ruang, memperoleh komposisi fukoidan yang terdiri dari fukosa 56,6%; sulfat 19% dan asam uronat 3,5% (Duarte *et al.*, 2001).

Pada penelitian lain yang membandingkan pelarut akuabides dengan larutan CaCl₂ 1% pada rumput laut cokelat *Laminaria japonica* diperoleh *yield* yang berbeda di mana ekstraksi menggunakan akuabides memperoleh *yield* yang lebih tinggi (22,67%) dibandingkan dengan menggunakan pelarut CaCl₂ 1% (4,76%) (Wang, 2008).

5. Penelitian Terdahulu

Penelitian yang dilakukan Chen *et al.*, (2012) mengekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Laminaria japonica* membandingkan pengaruh chitosan dan NaOH untuk mendapat ekstrak fukoidan yang optimum. Ekstraksi dilakukan dengan metode flokulasi. Hasil penelitian menunjukkan penambahan chitosan 1% menghasilkan *yield crude fucoidan* sebesar 0,213 g. Lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan NaOH yaitu 0,105 g.

Penelitian ekstraksi fukoidan dengan menggunakan bantuan microwave atau metode *microwave assisted extraction*

(MAE) diantaranya pernah dilakukan oleh Yuan dan Macquarrie (2015). Mereka mengekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Ascophyllum nodosum* dengan variasi waktu ekstraksi 90 °C hingga 150 °C dan waktu ekstraksi 5 hingga 30 menit. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan *yield* tertinggi sebesar 16,08% pada waktu ekstraksi 15 menit dan temperatur 120 °C. Kandungan sulfat pada fukoidan meningkat seiring menurunnya suhu ekstraksi.

Lim *et al.*, (2014) mengekstraksi fukoidan dari rumput laut *Sargassum binderi* dengan pelarut CaCl₂ 2%. Ekstraksi dilakukan pada suhu 85 °C selama 30 menit. Yield yang dihasilkan sebesar 7,5%. Penelitian ini dilakukan untuk menguji antioksidan yang terkandung dalam rumput laut *Sargassum binderi* dari perairan Malaysia.

Liu *et al.*, (2016) mengekstraksi fukoidan dari rumput laut *Sargassum pallidum* yang diambil dari perairan Cina. Ekstraksi dilakukan dengan membandingkan pelarut air panas dan air dingin. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut air panas dilakukan pada suhu 85 °C selama 2 jam. Hasil yang diperoleh yaitu *yield* sebesar 0,96% dan kandungan sulfat sebesar 3,84%. Ekstraksi dengan menggunakan air dingin berlangsung pada suhu 25 °C selama 2 jam dan menghasilkan *yield* sebesar 0,69%. Kandungan sulfat yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan air dingin yaitu sebesar 4,18%.

Ellya Sinurat dan Rinta Kusumawati pada tahun 2017 melakukan optimasi metode ekstraksi fukoidan menggunakan pelarut air, asam, dan larutan CaCl₂ 2%. Penelitian ini dilakukan secara paralel dalam waktu yang bersamaan untuk mendapatkan kandungan fukoidan paling optimum pada rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder*. Penggunaan pelarut air pada penelitian ini menghasilkan *yield* sebesar 3,36%, HCl 6%, dan CaCl₂ 2% sebesar 2,57%. Sulfat

yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan air sebesar 8,1%, HCl 6,64%, dan CaCl₂ 2% sebesar 8,69%. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstraksi menggunakan HCl dapat menghasilkan *yield* fukoidan tertinggi, namun dapat mendegradasi kandungan sulfat yang dalam hal ini sangat mempengaruhi bioaktivitas fukoidan. Ekstraksi optimum fukoidan untuk mendapat sulfat dan *yield* yang lebih tinggi dapat menggunakan pelarut akuades, namun kandungan sulfat tertinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut CaCl₂ 2%.

Proses ekstraksi fukoidan dilakukan oleh Zhao *et al.* (2017) menggunakan rumput laut *Laminaria japonica* dengan mengembangkan proses ekstraksi baru yaitu penggunaan pelarut EDTA 0,5%. *Yield crude fucoidan* yang dihasilkan sebesar 16%, sulfat yang terkandung sebesar 30%. Penggunaan EDTA ternyata mampu menghasilkan metode yang lebih efisien dalam dalam ekstraksi fukoidan. *Yield crude fucoidan* yang didapatkan tinggi serta gugus sulfat yang tetap dapat dipertahankan.

METODOLOGI

Metode Penelitian dilakukan secara beberapa tahapan sebagai berikut:

1. *Persiapan Bahan Baku*

Rumput laut basah dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan dari segala kotoran. Rumput laut yang sudah bersih lalu dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari. Diperlukan waktu sekitar 2 hari untuk mendapat rumput laut yang benar-benar kering. Rumput laut yang sudah kering lalu digiling untuk penggunaan selanjutnya.

2. *Ekstraksi Sargassum Binderi Sonder*

Rumput laut yang sudah digiling sebanyak 50 g dilarutkan ke dalam larutan EDTA dengan konsentrasi berbeda, yaitu sebesar 0,15% ; 0,3%:

0,5%; 1%; dan 1,3% dengan rasio alga dan air 1:30 pada 70°C selama 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, dan 5 jam. Dalam setiap satu waktu ekstraksi, ke dalam *water bath* dimasukkan larutan rumput laut dengan lima variasi konsentrasi berbeda dimana lamanya waktu ekstraksi diukur dengan *stopwatch*.

3. Isolasi Fukoidan

Mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Zhao *et al.*, (2017) larutan hasil ekstraksi didinginkan di suhu ruang kemudian disaring menggunakan kertas saring. Setelah filtrasi, filtrat ditambahkan 0,1 M NaOH hingga pH nya mencapai 7 kemudian ditambahkan etanol anhidrat hingga konsentrasi etanol di dalam filtrat 20%. Hal ini ditujukan untuk mengendapkan alginat.

Campuran tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil kemudian ditambahkan etanol anhidrat ke dalamnya hingga etanol mencapai konsentrasi 60% dengan tujuan untuk mengendapkan fukoidan. Endapan didapatkan setelah dilakukan sentrifugasi. Endapan yang masih tercampur dengan larutan kemudian dievaporasi. Evaporasi dilakukan dengan tujuan mengurangi kadar air yang tercampur dengan endapan fukoidan agar nantinya lebih mudah untuk dilakukan *freeze drying*. *Freeze drying* dilakukan sekitar 20 jam hingga kondisi sampel tidak lagi basah saat disentuh. Jika kondisi sampel sudah seperti ini, fukoidan sudah bisa disimpan pada suhu ruang. Hasil ini disebut sebagai produk akhir fukoidan kasar (*crude fucoidan*).

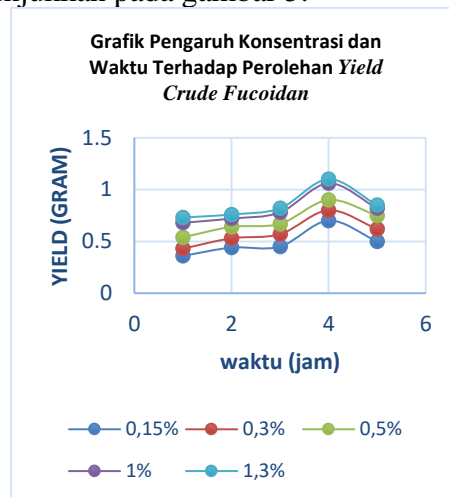
4. Analisis Sampel

Analisa pada produk meliputi uji *yield crude fucoidan*, penentuan total gula, penentuan kandungan sulfat, dan FTIR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh waktu dan

konsentrasi pelarut *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) pada ekstraksi fukoidan diketahui jumlah perolehan hasil ekstraksi dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder* seperti pada gambar 5. Hubungan waktu dan konsentrasi pelarut EDTA terhadap perolehan *yield crude fucoidan* juga ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Grafik pengaruh Konsentrasi dan Waktu Terhadap *Yield Crude Fucoidan*

Dari gambar 5 dapat dilihat bahwa waktu ekstraksi dan konsentrasi pelarut sangat mempengaruhi perolehan *yield crude fucoidan*. Dapat dilihat bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka perolehan *yield* pun semakin meningkat, namun terjadi penurunan secara signifikan pada waktu ekstraksi 5 jam. Dan semakin tinggi konsentrasi pelarut EDTA yang digunakan, perolehan *yield crude fucoidan* semakin besar. Dari penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa waktu dan konsentrasi pelarut EDTA mempengaruhi perolehan *yield* pada ekstraksi fukoidan.

Besar *yield crude fucoidan* yang didapat dalam penelitian ini yaitu sebesar 3,67%. Jika dibandingkan dengan jumlah *yield* yang dihasilkan pada penelitian Sinurat dan Kusumawati (2017) dengan menggunakan berbagai pelarut yaitu HCl, akuades, dan CaCl₂ 2%, jumlah ini tidak lebih besar daripada *yield crude fucoidan*

tertinggi yang didapat pada penelitian tersebut. *Yield* yang dihasilkan dengan pelarut HCl sebesar 6 %, akuades sebesar 3,36%, dan CaCl_2 2% sebesar 2,57%. Berikut akan dijelaskan pengaruh dari masing-masing variabel pada ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder* dengan menggunakan pelarut *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA).

1. Pengaruh Waktu Ekstraksi Terhadap *Yield Crude Fucoidan*

Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi pelarut EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*) yaitu secara berurutan sebesar 0,15% ; 0,3%: 0,5%; 1%; dan 1,3% dan variasi waktu yaitu 1 jam; 2 jam; 3 jam; 4 jam; 5 jam. Waktu ekstraksi sangat mempengaruhi perolehan *yield crude fucoidan* pada proses ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder*. Dari gambar 5 dapat dilihat bahwa waktu ekstraksi yang menghasilkan *yield crude fucoidan* tertinggi yaitu pada waktu 4 jam. Pada waktu ekstraksi 1 jam belum menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah *yield crude fucoidan* yang signifikan. Hal ini dapat dijelaskan bahwa dengan semakin lamanya waktu ekstraksi berlangsung, akan semakin panjang waktu kontak pelarut EDTA dengan rumput laut. Efek pemanasan akan memperbesar pori-pori pada bahan sehingga pelarut dapat masuk ke dalam pori-pori dan melarutkan zat yang terjerap di dalamnya, dalam hal ini adalah fukoidan (Jayanudin, 2014). Kemudian fukoidan yang terlarut akan keluar melalui dinding sel. Semakin panjang waktu ekstraksi berlangsung, akan semakin banyak jumlah fukoidan yang terkumpul dan terlarut ke dalam larutan. Namun grafik di atas menunjukkan pada waktu ekstraksi 5 jam terjadi penurunan jumlah *yield crude fucoidan* secara signifikan.

Selaras dengan penelitian yang dilakukan Zhao *et al.*, (2017) mengekstrak fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Laminaria japonica* menggunakan pelarut *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) menunjukkan hasil *yield* yang menurun pada waktu ekstraksi 9 jam. Menurunnya jumlah *yield* tersebut diakibatkan karena terdegradasinya rantai karbohidrat dari polisakarida sulfat oleh pelarut EDTA yang merupakan asam (Zhao *et al.*, 2017). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Baba *et al.*, (2018) mengekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum sp* dengan variasi waktu 1 jam, 3 jam, dan 5 jam menggunakan pelarut HCl. Ekstrak fukoidan dengan perolehan *yield crude fucoidan* tertinggi diperoleh dari ekstraksi dengan variasi waktu 3 jam pada suhu 65°C. Pelarut asam yang digunakan untuk mengekstrak fukoidan mampu merusak struktur ikatan kimia dari fukosa, polisakarida utama penyusun fukoidan, terlebih jika digunakan untuk mengekstraksi dalam waktu yang lama (Baba *et al.*, 2018).

2. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap *Yield Crude Fukoidan*

Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi pelarut EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*) yaitu secara berurutan sebesar 0,15% ; 0,3%: 0,5%; 1%; dan 1,3% dan variasi waktu yaitu 1 jam; 2 jam; 3 jam; 4 jam; 5 jam. EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*) merupakan senyawa organik yang mampu berperan sebagai *chelating agent* yang memiliki kemampuan mengikat logam berat yang juga dapat berperan sebagai pelarut dalam ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder*. EDTA mampu merusak dinding sel yang mengandung lipo polisakarida dan melepaskan asam lipoat yang mana nantinya mampu menghasilkan *yield* yang tinggi. Lipo polisakarida merupakan suatu molekul besar berupa kompleks antara

senyawa lipid dan polisakarida dengan ikatan kovalen.

EDTA mampu melarutkan polisakarida sehingga menyebabkan semakin tingginya konsentrasi EDTA yang digunakan maka *yield crude fucoidan* yang dihasilkan pun semakin besar (Zhao *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Zhao *et al.*, (2017) juga menunjukkan hasil serupa. Penggunaan pelarut EDTA dengan variasi konsentrasi 0,15%; 0,5%; dan 1% menunjukkan peningkatan *yield crude fucoidan* yang dihasilkan.

Analisis Total Gula

Metode yang digunakan yaitu phenol-asam sulfat sederhana (Dubois, 1956). Sampel fukoidan kasar 10 mg dimasukkan ke tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 ml aquades lalu diaduk. Kandungan total gula diukur dengan menggunakan uji fenol-sulfat dengan penambahan 2.5 ml H₂SO₄ pekat dibiarkan 20 menit lalu ditambahkan 0.5 ml phenol, ditambahkan ke sampel dan dibiarkan sampai dingin selama 30 menit dengan cara direndam dalam air es. Sampel diaduk dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm menggunakan spektrometer UV-VIS dengan larutan standar yaitu D-glucose. Tujuan analisis ini adalah untuk mengetahui total kandungan polisakarida pada hasil ekstraksi rumput laut. Analisis total gula ini menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis Agilent Cary 100. Hasil analisis total kandungan gula didapatkan sebesar 36,84% dengan pembacaan *simple read* pada alat spektrometer UV-VIS. Penelitian sebelumnya yang dilakukan Sinurat dan Kusumawati (2017) mengekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi Sonder* dengan membandingkan beberapa pelarut. Pelarut HCl menghasilkan total gula sebesar 64,85% ; akuades sebesar 76,25% ; CaCl₂ sebesar 64,19%. Pada penelitian ini, total kandungan gula yang dihasilkan dari ekstraksi fukoidan menggunakan EDTA pada rumput laut cokelat *Sargassum binderi*

Sonder tidak lebih besar dari pelarut lain yang telah digunakan pada penelitian sebelumnya. Polisakarida memang memiliki kelarutan yang lebih tinggi di dalam air dibandingkan dengan asam (Sinurat,2017). Fukoidan yang diekstrak dari rumput laut cokelat *Fucus vesiculosus* dan sudah digunakan secara komersil memiliki kandungan total gula fukosa sebesar 44,1% (Li, 2008). Nilai tersebut menjadi harapan setidaknya kandungan total gula fukosa yang dihasilkan dari proses ekstraksi fukoidan adalah sekitar 44,1% jika ingin memenuhi kebutuhan industri secara komersil.

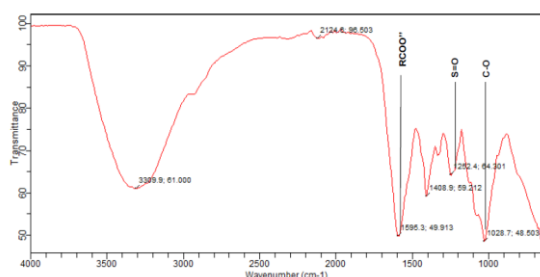
Analisis Kandungan Sulfat

Metode yang digunakan yaitu metode BaCl₂-gelatin yang dilakukan oleh Dodgson *et al.* (1962). Preparasi lautan BaCl₂-gelatin dilakukan dengan melarutkan gelatin sebanyak 2 g ke dalam 400 ml air panas (60 hingga 70 °C) dan dibiarkan semalaman pada suhu 4°C. Sebanyak 2 g BaCl₂ kemudian dilarutkan dalam cairan semigelatin. Larutan keruh yang dihasilkan dibiarkan selama 2 jam sebelum digunakan. Selanjutnya preparasi sampel dengan melarutkan sebanyak 2 mg sampel fukoidan kasar ke dalam 2 ml akuades. TCA 3% sebanyak 30 ml dan BaCl₂-gelatin sebanyak 10 ml kemudian ditambahkan dan diaduk secara mekanik. Sampel dibiarkan 15 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 360 nm menggunakan spektrometer UV-VIS dengan larutan standar yaitu K₂SO₄. Analisis kandungan sulfat ini menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis Agilent Cary 100. Kandungan sulfat pada fukoidan sangat mempengaruhi bioaktivitasnya. Kandungan sulfat yang tinggi akan menghasilkan bioaktivitas yang tinggi pula . Hasil analisis kandungan sulfat yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 17,16 %. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan pelarut lain yang digunakan dalam penelitian Sinurat dan Kusumawati (2017) dimana sampel fukoidan yang dianalisis menunjukkan nilai kandungan sulfat

dengan pelarut HCl sebesar 6,64%; akuades sebesar 8,1%; dan CaCl_2 sebesar 8,69%. Hal ini membuktikan bahwa EDTA tidak mendegradasi gugus sulfat secara berlebihan. Fukoidan yang diekstrak dari rumput laut cokelat *Fucus vesiculosus* sudah digunakan secara komersil dan sulfat yang terkandung sebesar 26,3%. Sulfat yang terkandung dalam fukoidan pada penelitian ini tidak sebesar kandungan sulfat pada fukoidan yang sudah dikomersilkan.

Analisis Gugus Fungsi

Spektrum infra merah merupakan metode yang umum digunakan untuk menentukan posisi sulfat. Hasil spektrum IR memberikan informasi adanya sulfat (S=O) pada fukoidan diperoleh dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1260-1240 cm^{-1} . Sampel 1 mg digerus dengan 200 mg kalium bromide sampai homogen. Selanjutnya serbuk sampel dibuat tablet tipis dan transparan pada tekanan 7000 Pa, lalu dimasukkan ke dalam *simple pan* untuk dibuat rekaman spektrum infra merahnya pada bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . Analisis dilakukan dengan menggunakan FT-IR. Hasil analisis FR-IR dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Spektra FT-IR Fukoidan

Pengujian dengan spektra FT-IR dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi adanya gugus fungsi pada sampel fukoidan yang diperoleh. Pengukuran spektra FT-IR dilakukan pada bilangan gelombang 4000 cm^{-1} . Spektra FT-IR pada 1200-800 cm^{-1} merupakan

rentang informasi tentang adanya polisakarida mayor dalam campuran polisakarida kompleks (Kacurakova, 2000). Puncak serapan di 1600-an cm^{-1} yang terdapat pada spektrum fukoidan diindikasikan merupakan vibrasi karboksilat (Sinurat, 2017). Pita serapan antara 1000 dan 1100 merupakan vibrasi polisakarida (C-O) (Zhao *et al.* 2017).

Puncak serapan di sekitar 1253-1220 cm^{-1} adalah golongan O-sulfat, yaitu karakteristik komponen fukoidan dan polisakarida sulfat pada rumput laut (Pereira, 2009). Pada serapan 1257 cm^{-1} merupakan asimetrik gugus S=O yang mengindikasikan keberadaan sulfat (Hifney, 2016). Pada semua perlakuan ekstraksi fukoidan diperoleh adanya pita serapan di 1250-an dan 840-an yang menindikasikan adanya sulfat pada polisakarida. Dari hasil uji spektra FT-IR yang telah dilakukan dapat dilihat terdapat pita serapan antara 1600-an dan 900-an cm^{-1} . Terdapat pula serapan pada bilangan 1252 cm^{-1} yang menunjukkan adanya polisakarida sulfat sesuai dengan yang dinyatakan Sinurat dan Kusumawati (2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan *yield crude fucoidan* tertinggi yang dihasilkan dari ekstraksi rumput laut cokelat jenis *Sargassum binderi* Sonder adalah sebesar 3,67%. Hasil ini diperoleh dengan waktu ekstraksi 4 jam pada suhu 70°C, perbandingan alga dan air adalah 1 : 30 dan konsentrasi pelarut EDTA yang digunakan sebesar 1,3%. Semakin tinggi konsentrasi EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*) yang digunakan pada ekstraksi fukoidan dari rumput laut cokelat jenis *Sargassumbinderi* Sonder semakin tinggi pula *yield* yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggadiredja. (2006). *Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Aslan, LM. (1999). *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Athukorala, Y., Ki-Wan, L., Se-Kwon, K., You-Jin, J. (2006). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeu Island in Korea., *Bioresource Technology*, Elsevier, Pp 1-6.
- Atmadja, WS. (1996). *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi.
- Baba, B.M., Mustapha, W., Joe, L.S. (2018). Effect of extraction methods on the yield, fucose content and purity of fucoidan from *Sargassum sp.* Obtained from Pulau Langkawi, Malaysia. *The Malaysian Analytical Science Society*, Vol 22 No 1: 87 – 94.
- Chen, X., Yu, H., Xing, R., Liu, Q. (2012). A New Extraction Method of Fucoidan From The Soaked Water of Brown Seaweed (*Laminaria japonica*). *Desalination and Water Treatment*, 204-208.
- Cumashi, A., Ushakova, N.A., Nifantiev, N.E. (2007). A comparative study of anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 17, 541-552.
- Descamps, V., Colin, S., Lahaye, M., Jam, M., Richard, C., Potin, P., Barbeyron, T., Yvin, J. C., Kloareg, B. (2006). Isolation and Culture of a Marine Bacterium Degrading the Sulfated Fucans from Marine Brown Algae. *Marine Biotechnology* 8, 27-39.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K. Rebers, P.A., Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem*, 28, 350-6.
- Dodgson, K. S., Price, R. G. (1962). A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochemistry*, 84, 106-110.
- Franck, H., O'Connell, E., Spence, J., O'Leary, M. G. T., Teranta, G. (2004). Aqua feed: formulation and beyond, *I*(4), 1-5.
- Hifney, A.F., Fawzy, M.A., Gawad, K.M., & Gomaa, M. (2016). Industrial optimization of fucoidan extraction from *Sargassum sp.* And its potential antioxidant and emulsifying activities. *Food Hydrocolloids*, 54, 77-88.
- Jayanudin, Lestari, A.Z., Nurbayati, F. (2014). Pengaruh suhu dan rasio pelarut ekstraksi terhadap rendemen dan viskositas natrium alginat dari rumput laut cokelat (*Sargassum sp.*). *Jurnal Integrasi proses*, 5(1): 51-55.
- Karacukova, M., Capek, P., Sasinkova, V., Wellner, N., Ebringerova, A. (2000). FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydr polym*, 43, 195-203.
- Li, Bo., Rui, X.Z., Xin, J.W. (2008). Anticoagulant activity of fucoidan from *Hizikia fusiforme*. *Agro Food Ind. Hi-Tech*. 19, 22-24.
- Lim, S. J., Aida, W.M., Maskat, M.Y., Mamot, S., Ropien, J., Mohd, D. (2014). Isolation And Antioxidant Capacity of Fucoidan From Selected Malaysian Seaweeds. *Foodhyd*, 2014.03.207.

- Liu, X., Liu, B., Wei, X.L., Sun, Z.L., Wang, C.Y. (2016). Extraction, Fractionation, and Chemical Characterisation of Fucoïdan From The Brown Seaweed *Sargassum pallidum*, *Czech J. Food Sci.*, 34:406-413.
- Mahata, M.E., Y.L.Dewi, M.O.Sativa, S.Riski, Hendro, Zulhaqqi and A.Zahara. (2015). The potency of brown seaweed from Sungai Nipah Beach as poultry feed. *Penelitian Mandiri Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang, Indonesian*.
- Oviedo, C., Rodriguez, J. (2003). EDTA : The Chelating Agent Under Enviromental Scrutiny. *Quim Nova*, vol.26, No. 6, 901-905.
- Pereira, L., Amando, A.M., Critchley, A.T., van de Velde, F., Ribeiro-Claro, P.J.A. (2009). Identification of selected seaweed polysaccharides (*phycocolloids*) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FTRaman). *Food Hydrocolloids*, 23,1903-1909.
- Ponce, A., Pujol, C. A., Damonte, B., Flores, M. L., Stortz, C. A.(2003). Fucoïdians from the brown seaweed *Adenocystis utricularis*: Extraction methods, antiviral activity and structural studies. *Carbohydrate Research*, 338, 153–165.
- Ragan, M.A. Craige J. (1980). Quantitive Studies on Brown Algae Phenols IV Ultraviolet Spectrophotometry of Extracted Polyphenols and Implications for Measuring Dissolved Organic Matter in Sea Water. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 46 (20), 231-239.
- Rachmat, R. (1999). Potensi Algae Coklat di Indonesia dan Prospek Pemanfaatannya. Di dalam : *Prosiding Pra Kipnas VII Forum Komunikasi I Ikatan Fikologi Indonesia (IFI)*. Serpong : Gedung DRN, Puspiptek 31-35.
- Satroutdinov, A.D., Minkevich, E.G., Dedyukhina, T.I., Chistyakova, A.N. Reshetilov. (2000). Degradation of Metal EDTA Complexes by Resting Cells of the Bacterial Strain DSM 9103. *Environ. Sci. technol.* 34:1715- 1720.
- Sinurat, E., Kusumawanti ,R. (2017). Optimasi metode Ekstraksi fukoidan Kasar dari rumput laut cokelat sargassum binderi sonder. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 12 (2), 125-134.
- Sinurat, E., Marraskuranto, E. (2012). Fucoïdan From Brown Seaweed And Its Bioactivity. *Squalen*, Vol 7 No 3: 131 – 138.
- Sinurat, E., Rosmawaty P., Saepudin E. (2011). Ekstraksi dan uji aktivitas fukoidan dari rumput laut cokelat (*Sargassum crassifolium*) sebagaïantikoagulan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 6 (2), 131-138.
- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., & Li, Z. (2008). Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42, 127–132.
- Wibowo, A. (2019, September). *Rumput Laut Komoditas yang Belum Dioptimalkan*. <https://kkp.go.id/djpdspkp/bbp2hp/artikel/14127-rumput-laut->

- komoditas-penting-yang-belum-dioptimalkan.
- W. J. Kim., S. M. Kim., H. G. Kim., H. R. Oh., K. B. Lee., Y. K. Lee., Y. I. Park. (2007). Purification and anticoagulant activity of a Fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyll, *Alga*, 22(3), 247-252.
- Yuan, Y., Macquarrie, D., (2015). Microwave Assisted Extraction of Sulfated Polysaccharides (Fucoidan) From *Ascophyllum nodosum* And Its Antioxidant Activity. *Carbohydrate Polymers, carbpol*, 2015.04.057.
- Yunizal. (2004). *Teknologi Pengolahan Alginat*. Jakarta: Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan.
- Zhao, Dong., Jian Xu., and Xia Xu. (2017). Bioactivity Of Fucoidan Extracted From *Laminaria Japonica* Using A Novel Procedure With High Yield. *Elsevier Food Chemistry*, 0308-8146.
- conditions for preparing carboxymethyl cellulose from corn cobic agricultural waste”. *Waste Biomass Valor*.
- Sri Anggrahini, Djagal Wiseso Marseno, Agus Setiyoko, Amalia Wahyuningtyas. (2017). “Carboxymethyl cellulose (CMC) from Snake Fruit (*Salaca edulis* Reinw) Kernel of “Pondoh Super” : Synthesis and Characterization”. *Indonesia Food and Nutrition Progress*, Vol. 14, Issue 2. ISSN: 0854-6177.
- Yeasmin Mst. Sarmina & Md. Ibrahim H. Mondal. 2015. “Syntesis of Highly Substituted Carboxymethyl Cellulose Depending on Cellulose Particle Size”. *International Journal Biological Macromolecules* 80 (2015) 725-731.
- Zhixiang Cai, Juan Wu, Baiqiao Du, Hongbin Zhang. 2016. “Impact of distribution of carboxymethyl substituents in the stabilizer of carboxymethyl cellulose on the stability of acidified milk drinks”. *Food Hydrocolloids*.

Halaman Kosong