

Studi eksperimen isolasi fukoidan dari rumput laut *Sargassum binderi* Sonder: Efek suhu dan waktu ekstraksi

Experimental study of isolation fucoidan from seaweed of *Sargassum binderi* Sonder: The effect of temperature and extraction time

Herti Utami^{1,*}, Zulaikha S.M. Sari¹, Muhammad Hanif^{1,2}, Yuli Darni¹, Simparmin br Ginting¹, dan Elida Purba¹

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Lampung, Bandar Lampung – Indonesia

²Department of Chemical Engineering, National Tsing Hua University, Hsinchu City – Taiwan

*Email: herti.utami@eng.unila.ac.id

Abstrak

Fukoidan adalah senyawa bioaktif yang merupakan polisakarida sulfat dengan penyusun utamanya yaitu L-fukosa dan sulfat. Fukoidan ini terdapat pada rumput laut coklat jenis *Sargassum binderi* Sonder. Fukoidan berfungsi sebagai antikoagulan, antioksidan, antikomplementari, anti pembengkakan, pelindung lambung, anti kanker, immunostimulan dan pengatur kadar lipid darah. Terdapat berbagai pelarut untuk mengekstrak fukoidan dari rumput laut coklat, diantaranya memakai pelarut etanol, HCl, air, CaCl₂, dan asam etilen diamin tetra asetat. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan pengaruh suhu serta waktu ekstraksi dengan pelarut asam etilen diamin tetra asetat dalam ekstraksi rumput laut coklat jenis *Sargassum binderi* Sonder. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu 50 °C, 60 °C, 70 °C, dan 90 °C, dan waktu 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam dan 5 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *yield crude fucoidan* tertinggi yaitu pada suhu 90 °C dan waktu 2 jam sebesar 8,19 %, namun *yield* tertinggi dengan karakteristik terbaik pada suhu 70 °C dan waktu 2 jam sebesar 7,98 %. Berdasarkan hasil analisis didapatkan total kandungan gula sebesar 38,54 % dan kandungan sulfat sebanyak 13,91 %.

Kata Kunci: fukoidan, rumput laut coklat, *crude fucoidan*, asam etilen diamin tetra asetat

Abstract

Fucoidan is bioactive compound that it's sulphate polysaccharide which substantially consists L-fucosa and sulphate group. Fucoidan is in brown seaweed Sargassum binderi Sonder. Fucoidan exhibits various bioactivities such as anticoagulant, antioxidant, anticomplementary, anti inflammation, gastric protector, anti-cancer, immunostimulant and blood lipid level control. There are various solvents for extracting fucoidan from brown seaweed, such as using ethanol, HCl, water, CaCl₂, and ethylenediaminetetraacetic acid as solvents. This research aimed to determine the influence of temperature and time with ethylenediaminetetraacetic acid as solvent in extracting Sargassum binderi Sonder brown seaweed. The temperatures used are 50 °C, 60 °C, 70 °C, and 90 °C and extraction times used are 1 hour, 2 hours, 3 hours, 4 hours and 5 hours. The results showed that crude fucoidan yield was highest at 90 °C and 2 hours. The highest crude fucoidan yield was obtained 8.19 %, but the crude fucoidan yield with the best characteristic was at 70 °C and 2 hours. The crude fucoidan yield was obtained 7.98 %. Based on the results of the analysis, the total sugar content was 38.54 % and sulfate content was 13.91 %.

Keywords: *fucoidan, brown seaweed, crude fucoidan, ethylenediaminetetraacetic acid*

1. PENDAHULUAN

Sebagai negara dengan kepulauan terbesar di dunia, 77 % luas wilayah Indonesia adalah perairan. Makro alga atau disebut dengan rumput laut adalah cukup banyak sebagai sumber daya hayati yang terdapat di sepanjang garis pantai di Indonesia. Makro alga ini mengandung berbagai zat yang dapat dimanfaatkan bagi kehidupan manusia yaitu sebagai bahan makanan, kosmetik, maupun untuk kesehatan. Senyawa bioaktif dari rumput laut yang telah digunakan dalam bidang kesehatan salah satunya yaitu fukoidan yang terdapat pada rumput laut jenis *Sargassum*.

Sargassum termasuk makro alga yang klasifikasinya masuk dalam kelas *Phaeophyceae*. Makro alga coklat diketahui mengandung beberapa polisakarida yang bersifat bioaktif. *Sargassum sp.* adalah makro alga yang banyak ditemui di perairan Indonesia (Puspita, dkk., 2020). Polisakarida paling dominan pada rumput laut coklat ada 3 jenis yaitu alginat, laminaran dan fukoidan (Fauziee, dkk., 2021). Rumput laut coklat mengandung sejumlah besar polisakarida alginat, laminaran dan fukoidan dalam rentang 40-80 % dari berat rumput laut kering (Sinurat, dkk., 2015). Beberapa jenis rumput laut coklat telah dilaporkan mengandung senyawa fukoidan, yang konsentrasinya bervariasi yaitu 19 % dalam *Ecklonia radiata* sampai dengan 51,2 % dalam *Cladosiphon sp.* Di antara jenis rumput laut yang mengandung fukoidan ini salah satunya yaitu jenis *Sargassum binderi* Sonder (Latif, dkk., 2022). Fukoidan adalah suatu polisakarida sulfat yang komponen penyusun yang paling dominan adalah fukosa yang mengandung sulfat dan yang lainnya adalah monosakarida diantaranya yaitu: galaktosa, manosa, xilosa dan glukosa. Fukoidan tersebut terkandung dalam rumput laut coklat dan timun laut (Sinurat, dkk., 2015).

Studi yang berkaitan dengan bioaktivitas senyawa fukoidan sudah banyak dilakukan, antara lain fukoidan sebagai antioksidan, antikoagulan, anti kanker, antikomplementari, anti pembengkakan, pelindung lambung, immunostimulan dan pengatur kadar lipid dalam darah. Selain manfaat fukoidan yang berkaitan dengan kesehatan seperti yang sudah disebutkan, ternyata fukoidan juga dapat berfungsi sebagai *biofertilizer* (Yang dan Koo, 2021). Cabral, dkk. (2021) telah meneliti pengaruh fraksi berat molekul fukoidan dari makroalga *Fucus vesiculosus* sebagai anti mikroba dan antikanker. Sung, dkk (2022) telah melakukan penelitian mengekstraksi fukoidan dari *Sargassum hemiphyllum* dan membuktikan fukoidan berpotensi sebagai terapi antikanker. Wang, dkk. (2022) telah meneliti bahwa fukoidan dari *Sargassum fusiforme* dapat sebagai antiinflamasi (anti pembengkakan). Lin, dkk. (2022) telah mengekstrak fukoidan dari rumput laut jenis *Sargassum cristaefolium* dan fukoidan yang didapatkan dengan berat molekul yang lebih rendah. Hasil ini lebih baik digunakan sebagai antioksidan,

anti pembengkakan dan anti *photoaging*, dan dapat diaplikasikan sebagai krim untuk obat kulit. Sinurat dan Kusumawati (2017) sudah meneliti dan menguji bioaktivitas dari fukoidan yang diekstrak dari rumput laut di Indonesia sebagai anti koagulan pada jenis *Sargassum crassifolium*. Dan juga menguji bioaktivitas fukoidan sebagai immunostimulan dari jenis rumput laut *Sargassum binderi* Sonder.

Penelitian yang berkaitan dengan ekstraksi fukoidan dari berbagai jenis rumput laut telah dilakukan beberapa peneliti. Sinurat dan Kusumawati (2017) telah melakukan optimasi ekstraksi fukoidan dari makro alga coklat jenis *Sargassum binderi* Sonder dengan berbagai pelarut yaitu air, asam, dan larutan CaCl_2 2 %. Kandungan fukoidan yang paling optimum didapatkan dengan mengekstrak fukoidan dengan beberapa pelarut atau pelarut. Pada ekstraksi yang pertama HCl 0,1 N digunakan sebagai pelarut pada suhu kamar selama 6 jam. Hasil penelitian menunjukkan *yield crude fucooidan* sebesar 3,23 %, dan hasil analisis total gula 64,85 %, kandungan sulfat 5,55 % serta asam uronat 0,36 %. Ekstraksi kedua HCl 0,1 N digunakan sebagai pelarut namun pada suhu 85 °C dan waktu ekstraksi 4 jam. Diperoleh hasil *yield crude fucooidan* sebesar 6 %, dan hasil analisis total gula 55,40 %, kandungan sulfat 6,64 % serta asam uronat 2,68 %. Ekstraksi ketiga dengan menggunakan pelarut akuades pada suhu 85 °C. Hasil penelitian menunjukkan *yield crude fucooidan* yang dihasilkan *yield crude fucooidan* sebesar 3,36 %, dan hasil analisis total gula 76,25 %, kandungan sulfat 8,1 % serta asam uronat 0,48 %. Ekstraksi keempat menggunakan larutan CaCl_2 2 %. Hasil yang didapat yaitu *yield crude fucooidan* sebesar 2,57 %, total gula 64,19 %, kandungan sulfat 8,69 % serta asam uronat 0,58 %. Dari hasil yang didapatkan dapat menunjukkan bahwa ekstraksi memakai HCl sebagai pelarut pada kondisi suhu 85 °C dan waktu 4 jam didapatkan *yield* tertinggi, tetapi cukup rendah kandungan sulfatnya. Bioaktivitas fukoidan ini sangat dipengaruhi oleh kandungan sulfat. Dari hasil penelitian tersebut dengan menggunakan pelarut CaCl_2 pada konsentrasi 2 % didapatkan kandungan sulfat tertinggi. Pelarut asam yang digunakan pada proses ekstraksi, menjadikan gugus sulfat pada polisakarida dapat terputus. Hal ini akan menyebabkan turunnya bioaktivitas dari fukoidan (Pomin dkk., 2005).

Proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh beberapa parameter, dan akan mempengaruhi hasil ekstraksi yang diperoleh. Pengaturan parameter yang benar seperti suhu, pH dan waktu ekstraksi berpengaruh besar pada *yield* fukoidan dan akan mencegah kemungkinan terjadinya penggantian struktur dari polisakarida sulfat (Hahn, dkk., 2012).

Zhao, dkk. (2018) telah melakukan penelitian yaitu mendapatkan fukoidan dari makro alga jenis *Laminaria japonica* dengan asam etilen diamin tetraasetat atau *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) sebagai pelarut, dengan konsentrasi 0,5 % pada suhu

70 °C, diperoleh *yield crude fucooidan* yang cukup besar, yaitu 16 % dengan lama ekstraksi adalah 3 jam. Hasil ini juga menunjukkan bahwa kandungan sulfat pada fukoidan tetap bisa dipertahankan. Aktivitas fukoidan sebagai antioksidan cukup besar, dan ini berkaitan adanya komposisi monosakarida, sulfat, serta berat molekul dari fukoidan. Ekstraksi menggunakan pelarut asam etilen diamin tetra asetat merupakan prosedur yang lebih efisien karena proses ekstraksi dan penghilangan pigmen rumput laut coklat bisa dilakukan dalam satu langkah.

Liu, dkk. (2020) membandingkan beberapa pelarut ekstraksi fukoidan dari *Sargassum fusiforme* yaitu air panas, HCl dan CaCl₂. Hasil penelitian ini *yield* tertinggi dengan pelarut HCl (11,24 %). Komposisi monosakarida dari ketiganya menunjukkan hasil sama, hanya berbeda molar rasionya. Hasil analisis menunjukkan bahwa dengan pelarut HCl berat molekul, kandungan sulfat dan asam uronat lebih rendah dibanding dengan pelarut lainnya. Knudsen, dkk. (2023) telah mengekstraksi fukoidan dengan teknik ekstraksi enzimatik diperoleh jumlah fukosa dan sulfat yang tinggi serta kandungan glukosa, laminaran dan alginate yang rendah. Devi, dkk. (2022) mengisolasi fukoidan dari rumput laut *Sargassum ilicifolium* dengan metode sonifikasi dengan *microwave* dan air panas. Hasil fukoidan yang diperoleh dan studi aplikasinya mengindikasikan bahwa fukoidan berpotensi sebagai biomaterial untuk regenerasi tulang.

Studi pada penelitian ini terfokus pada proses ekstraksi fukoidan dari rumput laut coklat jenis *Sargassum binderi Sonder*. Pelarut yang dipilih adalah asam etilen diamin tetra asetat dan yang divariasikan pada proses ekstraksi adalah waktu dan suhu ekstraksi. Bahan baku rumput laut jenis *Sargassum binderi Sonder* ini terdapat di sepanjang perairan Sebalang, Lampung.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini menggunakan bahan-bahan antara lain yaitu rumput laut jenis *Sargassum binderi Sonder* yang berasal dari pantai Sebalang, akuades dari Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung, asam etilen diamin tetra asetat konsentrasi 0,5 % (b/v), NaOH padat (Merck) dan etanol anhidrat 96 % (v/v) dari dari Bratachem Bandar Lampung

Pada penelitian ini menggunakan peralatan diantaranya yaitu: alat penggiling *hammer mill*, neraca *digital*, cawan petri, *erlenmeyer*, gelas beaker, gelas ukur, *waterbath shaker* Julabo SW22, kertas saring, baskom, kertas pH, corong, pipet tetes, *centrifuge* Hitachi CF16RX II, *stopwatch*, *evaporator* dan *freeze dryer*.

2.1. Persiapan Bahan dan Proses Ekstraksi Fukoidan.

Makro alga jenis *Sargassum binderi Sonder* atau rumput laut basah dicuci dengan air sampai

bersih dari kemungkinan kotoran yang masih terikut. Setelah itu rumput laut tersebut dilakukan pengeringan dengan cara penjemuran sinar matahari, selama 2 hari. Rumput laut kering lalu dihaluskan dan diambil berat 50 g dimasukkan pada erlenmeyer Duran 1000 mL dan diberikan pelarut asam etilen diamin tetra asetat dengan konsentrasi 0,5 % dan rasio bahan rumput laut dan pelarut adalah 1:30. Ekstraksi dilakukan dengan variasi waktu 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, dan 5 jam dan variasi suhu 50 °C, 60 °C, 70 °C, dan 90 °C. Erlenmeyer dimasukkan ke dalam *water bath*, setelah mencapai suhu yang diinginkan, mulai dihitung waktu ekstraksi dengan *stopwatch*. Hal ini dilakukan untuk setiap variasi waktu dan suhu ekstraksi. Setelah tercapai waktu ekstraksi erlenmeyer diambil lalu diletakkan pada suhu ruang.

2.2. Isolasi Fukoidan

Pada penelitian ini mengambil metode yang dilakukan oleh Zhao, dkk., yaitu menggunakan pelarut asam etilen diamin tetra asetat (Zhao, dkk., 2018). Larutan hasil ekstraksi yang sudah dingin kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Lalu filtrat diperoleh dan diberikan larutan 0,1 M NaOH sampai diperoleh pH-nya 7. Etanol anhidrat lalu dimasukkan sampai jumlah etanol yang ada di filtrat sebanyak 20 %. Tujuan penambahan etanol anhidrat tersebut untuk mendapatkan endapan alginat. Endapan dari campuran tersebut lalu disentrifugasi dengan kecepatan putaran 6000 rpm dalam waktu 10 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan lalu ditambahkan etanol anhidrat sehingga jumlah etanol menjadi 60 % yang bertujuan agar fukoidan terendapkan. Setelah sentrifugasi dilakukan, maka endapan fukoidan bisa diperoleh. Tetapi endapan ini masih ada larutannya, dan dapat dipisahkan dengan proses evaporasi. Langkah evaporasi ini dilakukan pada suhu 100 °C dan memiliki tujuan untuk menguapkan etanol dan air yang masih ada dalam endapan fukoidan. Proses *freeze drying* selanjutnya akan lebih mudah dilakukan. Lama proses *freeze drying* berlangsung selama 36 jam sehingga diperoleh fukoidan kering dan ketika ditimbang beratnya sudah konstan. Fukoidan yang didapat ini lalu bisa disimpan pada suhu kamar. Fukoidan yang sudah ditimbang inilah yang dinyatakan sebagai hasil fukoidan mentah (*crude fucooidan*). Produk *crude fucooidan* dihitung *yield*-nya dengan menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Yield} = \frac{\text{berat kering fukoidan (g)}}{\text{berat kering rumput laut (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3. Analisis

Produk *crude fucooidan* dianalisis untuk menentukan total gula, menentukan kandungan sulfat, dan juga menentukan gugus fungsi dengan FT-IR. Pada analisis total gula memakai cara phenol-asam sulfat sederhana (Dubois, dkk., 1956).

Sebanyak 10 mg fukoidan setiap sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dituang 1 mL akuades, dan dikocok. Pengukuran kadar total gula memakai uji phenol-sulfat, caranya yaitu menambahkan 2,5 mL H₂SO₄ pekat kemudian dibiarkan dalam waktu 20 menit. Langkah berikutnya 0,5 mL phenol ditambahkan, lalu larutan tersebut didinginkan dan dalam waktu 30 menit diletakkan masuk air es. Pengadukan sampel dilakukan dan absorbansinya dihitung pada panjang 490 nm dengan memakai *spectrofotometer* UV-Vis Cary 100 dan menggunakan larutan standar *D-Glucose*. Analisis ini memiliki tujuan untuk mendapatkan kadar *D-Glucose* pada sampel, karena *D-Glucose* merupakan kandungan dari fukoidan. Kandungan sulfat pada fukoidan perlu diketahui karena ini sangat berpengaruh pada bioaktivitasnya (Ale, dkk., 2011). Untuk menentukan kandungan sulfat ini dengan metode menggunakan BaCl₂-gelatin. Metode ini sudah digunakan oleh Dodgson dan Price (1962). Langkah yang dilakukan adalah menyiapkan dua preparasi. Preparasi yang pertama yaitu *barium chloride-gelatin reagent*. Sebanyak 2 g gelatin ditambahkan sebanyak 400 mL air panas agar larut pada suhu sekitar 60-70 °C, kemudian didinginkan selama semalam suhu pada 4 °C. BaCl₂ sejumlah 2 g lalu ditambahkan semigelatin dalam bentuk cairan agar larut. Hasilnya akan diperoleh larutan keruh dan ini didiamkan selama 2 jam sebelum dipakai. Preparasi kedua yaitu preparasi sampel dengan mengambil ekstrak *crude fucoidan* 2 mg ditambahkan dengan 2 mL akuades agar larut dan diletakkan dalam tabung tertutup. Kemudian asam trikloro asetat (TCA) 4 % ditambahkan sebanyak 5 mL dan pemanasan dilakukan dalam *waterbath* pada suhu 100 °C dan dalam waktu 4 jam. Kemudian didinginkan pada suhu ruang, sebelum dibuka tabung digoyang-goyangkan. Hasil hidrolisis diambil 1 mL dan ditambahkan larutan BaCl₂ -gelatin sebanyak 1 mL serta asam trikloro asetat 1,4 mL lalu diaduk secara mekanik selama 60 detik dan pengukuran dilakukan pada panjang gelombang (λ) 360 nm. Analisis sampel dilakukan dengan

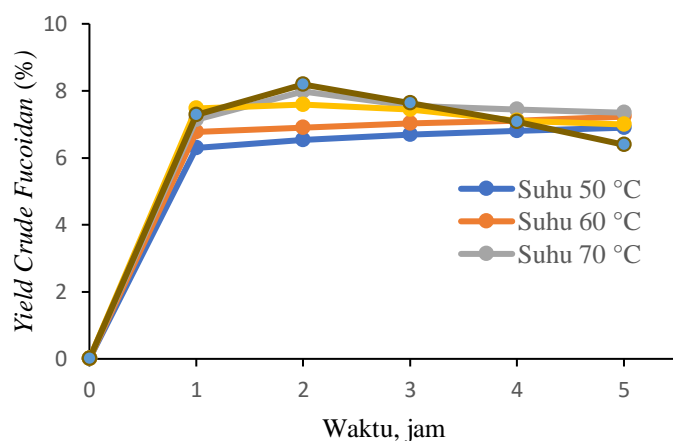
spectrofotometer UV-Vis Cary 100 sebagai standar digunakan K₂SO₄. Kandungan sulfat ini menentukan adanya bioaktivitas pada rumput laut (Kim dkk., 2007).

Analisis gugus fungsi dilakukan dengan *Fourier Transmission Infrared* (FT-IR) Cary 360. FT-IR adalah teknik yang digunakan untuk mempelajari perubahan komposisi kimia dalam tumbuhan antara lain rumput laut coklat (Sheng, dkk., 2004). Untuk menentukan posisi sulfat digunakan metode yang sering digunakan yaitu spektrum infra merah. Sejumlah 1 mg sampel dan kalium bromida sebanyak 200 mg digerus atau dihaluskan sehingga tercampur merata. Langkah berikutnya serbuk sampel dapat dibuat tablet tipis yang kondisi tekanannya 7000 Pa, kemudian diletakkan pada *sample* pan. Dapat diperoleh rekaman spektrum infra merah di rentang panjang gelombang 4000-500 cm⁻¹.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Ekstraksi *Crude Fucoidan*

Pelarut yang digunakan pada eksperimen di laboratorium adalah asam etilen diamin tetra asetat dengan konsentrasi 0,5 % dan rasio bahan rumput laut jenis *Sargassum binderi Sonder* dan pelarut adalah 1:30. Variasi suhu proses ekstraksi dilakukan pada suhu 50 °C, 60 °C, 70 °C, dan 90 °C, dan waktu 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam dan 5 jam. Pada hasil ekstrak *yield crude fucoidan* yang terbanyak dan terbaik kemudian dianalisis. Karakteristik mutu fukoidan yang ditinjau yaitu dengan penentuan total gula, penentuan sulfat, dan analisis gugus fungsi. Hasil *yield crude fucoidan* yang didapatkan bisa ditunjukkan pada Gambar 1. Sedangkan pada waktu ekstraksi 2 jam dapat dilihat hasil *yield crude fucoidan* seperti pada Gambar 2.



Gambar 1. Pengaruh waktu dan suhu terhadap *yield crude fucoidan* dengan pelarut asam etilen diamin tetra asetat konsentrasi 0,5 %

Berdasarkan hasil ekstraksi seperti pada Gambar 1 dan Gambar 2, *yield crude fucooidan* terbesar terdapat pada suhu 90 °C dan lama ekstraksi 2 jam sebesar 8,19 %. Berdasarkan pengamatan, ekstrak yang diperoleh berwarna coklat kehitaman yang diduga karena suhu tinggi mengakibatkan fukoidan mengalami kerusakan. Analisis dilakukan pada produk *crude fucooidan* saat *yield* terbesar kedua dengan karakteristik terbaik yaitu berwarna coklat yang menunjukkan *yield crude fucooidan* pada suhu 70 °C serta waktu 2 jam sebanyak 7,98 %.

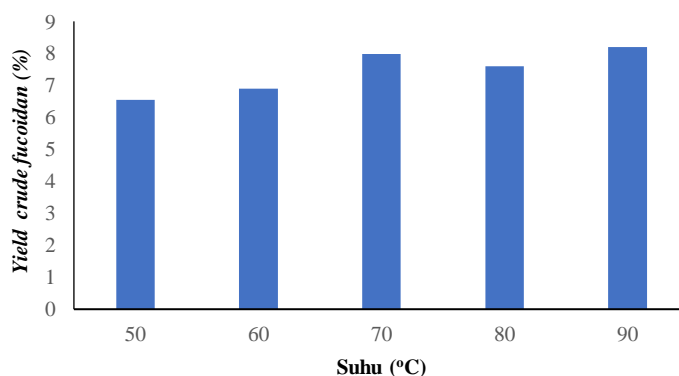
Dari Gambar 1 dapat diketahui bahwa suhu serta waktu mempengaruhi *yield crude fucooidan*. Berdasarkan grafik tersebut terlihat bahwa ketika suhu 50 °C dan 60 °C makin lama proses ekstraksi berlangsung *yield crude fucooidan* yang didapatkan semakin besar, namun pada suhu 70 °C dan 90 °C pada waktu antara 1 jam ke 2 jam mengalami peningkatan yang cukup signifikan dan kemudian setelah lebih dari 2 jam, *yield crude fucooidan* mengalami penurunan. Semakin lama waktu ekstraksi dan suhu di bawah 70 °C maka *yield crude fucooidan* semakin besar. Pada suhu lebih dari 70 °C dan waktu 2 jam merupakan titik maksimum perolehan peningkatan *yield crude fucooidan*. Pada hasil eksperimen, suhu lebih dari 70 °C dan waktu 2 jam maka perolehan *yield crude fucooidan* semakin sedikit. Hal ini disebabkan kemungkinan ada fukoidan yang sudah mengalami degradasi dan tidak terekstrak.

Secara teori pada proses ekstraksi makin tinggi suhu maka *yield* ekstrak semakin besar. Suhu ekstraksi yang lebih tinggi akan memudahkan pecahnya dinding sel pada bahan, dalam hal ini rumput laut sehingga zat yang terkandung di dalamnya akan lebih mudah terekstrak keluar. Efek kenaikan suhu membuat pori-pori pada rumput laut lebih terbuka sehingga pelarut dapat mendifusi ke dalam bahan dan selanjutnya fukoidan dilarutkan oleh pelarut ini. Ekstrak fukoidan yang larut dalam pelarut lalu mendifusi melalui dinding sel rumput

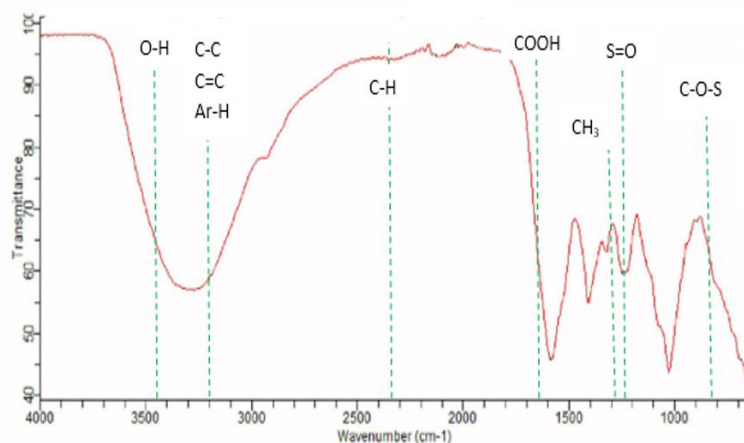
laut dan menuju ke *bulk* larutan. Semakin lama waktu ekstraksi berlangsung, maka semakin banyak jumlah fukoidan yang terekstrak dan terlarut dalam larutan. Dari Gambar 1 menunjukkan pada waktu ekstraksi lebih dari 2 jam terjadi pengurangan jumlah *yield* cukup signifikan. Zhao dan Xu (2018) telah meneliti dan mengambil fukoidan dari rumput laut coklat jenis *Laminaria japonica* dengan pelarut yang sama yaitu asam etilen diamin tetra asetat dan mengalami peningkatan *yield* pada waktu 6 jam, namun *yield* berkurang pada proses ekstraksi selama 9 jam. Zhao dan Xu (2018) mengamati penurunan *yield* yang disebabkan ada ikatan rantai karbohidrat atau polisakarida pada polisakarida sulfat yang mengalami degradasi. Pengurangan hasil *yield crude fucooidan* juga terjadi pada penelitian ini, dan memiliki trend yang sama.

3.2. Analisis Crude Fucooidan

Kandungan total gula dianalisis dengan tujuan untuk mengetahui total kandungan polisakarida pada ekstrak yang diperoleh pada ekstrak fukoidan. Total kandungan gula dari hasil analisis didapatkan sebesar 38,54 %, ini menyatakan persentase kandungan polisakarida dalam *crude fucooidan* penelitian ini. Nilai tersebut lebih rendah dari hasil penelitian sebelumnya yang juga meneliti fukoidan dari makro alga coklat *Sargassum binderi Sonder* dan menggunakan bermacam pelarut (Sinurat dan Kusumawati, 2017). Hasil analisis diperoleh hasil total gula sebesar 64,85 % dengan pelarut HCl; hasil 76,25 % dengan pelarut akuades; dan hasil 64,19 % dengan pelarut CaCl₂. Hasil analisis total gula berbeda untuk setiap pelarut, karena kemampuan kelarutan polisakarida berbeda untuk setiap pelarut. Kandungan total gula ini dipengaruhi oleh metode ekstraksi, perbedaan spesies, variasi musim, masa tumbuh/panen, lingkungan tempat tumbuh, dan pelarut (Sinurat, dkk., 2015).



Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap *yield crude fucooidan* pada waktu ekstraksi 2 jam



Gambar 3. Spektra FT-IR fukoidan

Kandungan sulfat diukur karena menentukan adanya bioaktivitas fukoidan pada rumput laut (Kim, dkk., 2007). Ini sudah diuji pada uji bioaktivitas fukoidan sebagai imunostimulan dengan konsentrasi fukoidan yang sama dan kandungan sulfat yang berbeda, menunjukkan bahwa kandungan sulfat yang lebih tinggi memiliki bioaktivitas imunostimulan yang lebih tinggi juga (Sinurat, dkk., 2016). Hasil analisis kadar sulfat pada penelitian ini didapatkan sebesar 13,91 %. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, kadar tersebut lebih tinggi meskipun jenis pelarutnya berbeda (Sinurat dan Kusumawati, 2017). Dari penelitian tersebut, kandungan sulfat dengan pelarut HCl sebanyak 6,64 %; hasil 8,1 % dengan pelarut akuades; dan hasil 8,69 % dengan pelarut CaCl₂. Diperoleh hasil kandungan sulfat yang berbeda untuk pelarut yang berbeda, karena kemungkinan pelarut asam selain mengekstrak fukoidan, juga mendegradasi sulfat yang terikat pada fukoidan.

Analisis FTIR dilakukan pada rentang gelombang 4000-650 cm⁻¹ tertera pada Gambar 3. Spektrum IR yang dihasilkan dapat memberikan informasi keberadaan gugus sulfat (S=O) yang terdapat di sampel fukoidan. Didapatkan pita serapan pada rentang panjang gelombang 1260-1240 cm⁻¹. Spektrum menunjukkan beberapa puncak untuk mengetahui beberapa gugus fungsi dalam sampel fukoidan. Keberadaan polisakarida mayor pada campuran polisakarida kompleks ditunjukkan pada rentang panjang gelombang 1200-800 cm⁻¹ (Kacurakova, dkk., 2000). Puncak serapan 1617,6 cm⁻¹ dan 1625 cm⁻¹ merupakan kelompok karboksilat dari asam uronat (Hifney, dkk., 2016).

Hasil dari golongan O-sulfat ditunjukkan pada kedua puncak serapan 1222,7 dan 1244,9 cm⁻¹, ini menyatakan karakteristik polisakarida sulfat serta senyawa fukoidan pada rumput laut (Pereira, dkk., 2009). Serapan pada gelombang 2700-3000 cm⁻¹ didominasi vibrasi ulur dari gugus fungsi C-H untuk CH₃, CH₂ dan CHO. Serapan 3429 cm⁻¹ mengindikasikan O-H (Zhao, dkk., 2018). Serapan 1259,8 cm⁻¹ mengindikasikan grup sulfat (Immanuel, dkk., 2012).

Hasil analisis FT-IR pada serapan panjang gelombang 1620-1700 cm⁻¹ merupakan C=O yang berasal dari gugus karbonat, serapan lebar 3100-3400 cm⁻¹ merupakan vibrasi dari OH dapat berasal dari senyawa polifenol, polisakarida atau adanya serapan air. Gugus sulfat C-O-S and S-O berupa *stretching vibration* pada sekitar 800 and 1250 cm⁻¹. Pada bilangan gelombang sekitar 2800-2900 cm⁻¹ merupakan *stretching vibration* dari gugus C-H alifatik.

Hasil analisis dari penelitian ini dibandingkan dengan hasil penelitian Sinurat dan Kusumawati (Sinurat dan Kusumawati, 2017). Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah asam etilen diamin tetra asetat sedangkan pada penelitian tersebut, pelarut yang digunakan adalah HCl, akuades dan CaCl₂. Secara keseluruhan, perbandingan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dan penelitian tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Dari hasil penelitian ini, *yield crude fucoidan* dan kadar sulfat lebih tinggi sedangkan kadar gula jauh lebih rendah.

Tabel 1. Perbandingan Penelitian ini dengan Penelitian Terdahulu (Sinurat dan Kusumawati, 2017)

Analisis	Sinurat dan Kusumawati (2017)	Penelitian ini
Yield (%)	6	7,98
Gula (%)	76,25	38,54
Sulfat (%)	8,69	13,91

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, diperoleh bahwa semakin tinggi suhu maka perolehan *yield crude fucoidan* semakin besar, dan maksimum pada suhu 70 °C pada waktu 2 jam. Semakin lama waktu ekstraksi, *yield crude fucoidan* semakin besar dan kemudian mengalami penurunan. Diperoleh *yield crude fucoidan* terbesar pada suhu 90 °C dan waktu 2 jam adalah sebanyak 8,19 %, tetapi secara fisik penampakan ekstrak kurang baik. Ekstrak dengan hasil terbaik yaitu pada suhu 70 °C dan waktu 2 jam dengan *yield crude fucoidan* sebesar 7,98 %. Penggunaan suhu yang lebih tinggi menghasilkan *yield* lebih tinggi dari hasil ekstraksi. Hasil uji statistik diperoleh variabel yang lebih berpengaruh adalah variabel suhu. Hasil analisis total kandungan gula didapatkan sebesar 38,54 % dan kandungan sulfat yang didapatkan sebesar 13,91 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Kepala UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung dan laboran yang telah mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ale, M. T., Mikkelsen, J. D., dan Meyer, A. S. 2011. Important determinants for fucoidan bioactivity: A critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs*. 9: 2106-2130.
- Cabral, E.M., Mondala, J.R.M., Oliveira, M., Przyborska, J., Fitzpatrick, S., Rai, D.K., Sivagnanam, S.P., Vaquero, M.G., O'shea, D., Devereux, M., Tiwari, B.K., dan Vurtin, J. 2021. Influence of molecular weight fractionation on the antimicrobial and anticancer properties of a fucoidan rich-extract from the macroalgae *Fucus vesiculosus*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 186: 994-1002.
- Devi G.V., Y., Nagendra, A.H., Shenoy P., S., Chatterjee, K., dan Venkatesan, J. 2022. Isolation and purification of fucoidan from *Sargassum ilicifolium*: Osteogenic differentiation potential in mesenchymal stem cells for bone tissue engineering. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 136: 104418.
- Dodgson, K. S., dan Price, R. G. 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochemistry*. 84: 106-110.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., dan Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.
- Fauziee, N.A., Chang, L.S., Mustapha, W.A.W., Nor, A.R.M., dan Lim, S.J. 2021. Functional polysaccharides of fucoidan, laminaran and alginate from Malaysian brown seaweeds (*Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornate* and *Padina boryana*). *International Journal of Biological Macromolecules*. 167: 1135-1145.
- Hahn, T., Lang, S., Ulber, R., dan Muffler, K. 2012. Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. *Process Biochemistry*. 47: 1691-1698.
- Hifney, A. F., Fawzy, M. A., Abdel-Gawad, K. M., dan Gomaa, M. 2016. Industrial Optimization of fucoidan extraction from *Sargassum* SP. and its potential antioxidant and emulsifying activities. *Food Hydrocolloids*. 54: 77-88.
- Immanuel, G., Sivagnanavelmurugan, M., Marudhupandi, T., Radhakrishnan, S., dan Palavesam, A. 2012. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). *Fish and Shellfish Immunology*. 32: 551-564.
- Kacurakova, M., Capek, P., Sasinkova, V., Wellner, N., dan Ebringerova, A. 2000. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*. 43: 195-203.
- Kim W.J., Kim, S.M., Kim, H.G., Oh, H.R., Lee, K.B., Lee, Y.K., dan Park, Y.I. 2007. Purification and anticoagulant activity of fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyl. *Journal Algae*. 2 (3): 247-252.
- Knudsen, N.R., Weiss, D.R., dan Horn, S.J. 2023. Extraction of high purity fucoidans from brown seaweeds using cellulases and alginate lyases. *International Journal of Biological Macromolecules*. 229: 199-209.
- Latif, H.M.R.A., Dawood, M.A.O., Alagawany, M., Faggio, C., Nowosad, J., dan Kucharczyk, D. 2022. Health benefits and potential applications of fucoidan (FCD) extracted from brown seaweeds in aquaculture: An updated review. *Fish and Shellfish Immunology*. 122: 115-130.
- Lin, E.T., Lee, Y.C., Wang, H.M.D., Chiu, C.Y., Chang, Y.K., Huang, C.Y., Chang, C.C., Tsai, P.C., dan Chang, J.S. 2022. Efficient fucoidan extraction and purification from *Sargassum cristaefolium* and preclinical dermal biological activity assessments of the purified fucoidans. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineering*, 137:104294.
- Liu, J., Wu, S.Y., Chen, L., Juan Li, Q., Shen, Y.Z., Jin, L., Zhang, X., Chen, P.C., Wu, M.J., Choi, J., dan Tong, H.B. 2020. Different extraction methods bring about distinct physicochemical properties and antioxidant activities of

- Sargassum fusiforme fucoidans. *International Journal of Biological of Macromolecules*. 155: 1385-1392.
- Pereira, L., Amado, A.M., Critchley, A.T., van de Velde, F., dan Ribeiro-Claro, P.J.A. 2009. Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman. *Food Hydrocolloids*. 23:1903-1909.
- Pomin, V.H. Valente, A.P., Pereira, M.S., dan Mourao, P.A. S. 2005. Mild acid hydrolysis of sulfated fucans: A Selective 2-desulfation reaction and an alternative approach for preparing tailored sulfated oligosaccharide, *Glycobiology*. 15: 1376-1385.
- Puspita, M., Setyawidati, N.A.R., Pouvreau, V.S., Vandanjon, L., Widowati, I., Radjasa, O.K., Bedoux, G., dan Bourgougnon, N. 2020. Chapter Five - Indonesian Sargassum species bioprospecting: potential applications of bioactive compounds and challenge for sustainable development, *Advances in Botanical Research*. 95: 113-161.
- Sheng, P. X., Ting, Y.P., Chen, J.P. dan Hong, L. 2004. Sorption of lead copper, cadmium, Zinc and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. *J. Coll. Inter. Sci.*, 275: 131-41.
- Sinurat, E., Peranginangin, R., dan Saepudin, E. 2015. Purification and characterization of fucoidan from the brown seaweed Sargassum binderi Sonder. Squalen, *Bulletin of Marine and Fisheries Post harvest and Biotechnology*. 10 (2): 79-87.
- Sinurat, E., Saepudin, E., Peranginangin, R., dan Hudiyo, S..2016. Immunostimulatory activity of brown seaweed-derived fucoidans at different molecular weights and purity levels towards white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp Litopenaeus vannamei. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(10), 082-091.
- Sinurat, E., dan Kusumawati, R. 2017. Optimasi Metode Ekstraksi dari Rumput Laut Cokelat Sargassum binderi Sonder. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- Sung, J.C., Wang, H.H., Sun, K.H., Hsieh, C.C., Huang, R., Sun, G.H., dan Tang, S.J. 2022. Fucoidan from Sargassum hemiphylum inhibits the stemness of cancer stem cells and epithelial mesenchymal transitions in bladder cancer cells. *International Journal of Biological of Macromolecules*. 221: 623-633.
- Wang, L., Cui, Y.R., Wang, K., Fu, X., Xu, J., Gao, X., dan Jeon, Y.J. 2022. Anti-inflammatory effect of fucoidan isolated from fermented Sargassum fusiforme in in vitro and in vivo model. *International Journal of Biological of Macromolecules*. 222: 2065-2071.
- Yang, S.H., Seo, J., dan Koo, Y. 2021. Alginate and fucoidan changes the bacterial community in different directions and the alginate or fucoidan degrading bacteria isolated from paddy soil promotes the plant growth. *Archives of Microbiology*. 203:5183-519.
- Zhao, D., Xu, J., dan Xu, X. 2018. Bioactivity of Fucoidan Extracted from Laminaria Japonica Using a Novel Procedure with High Crude fucoidan. *Food Chemistry*. 245: 911-918.