

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI POLISAKARIDA SULFAT (ULVAN)  
DARI ALGA HIJAU *Ulva lactuca* SERTA UJI AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS TERHADAP *Artemia salina***

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF SULFATED  
POLYSACCHARIDES (ULVAN) FROM GREEN ALGAE *Ulva lactuca*  
WITH IT'S ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOXICITY FOR *Artemia salina*

**MIRA KHAERUNNISA**

**H012201002**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI POLISAKARIDA SULFAT (ULVAN)  
DARI ALGA HIJAU *Ulva lactuca* SERTA UJI AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS TERHADAP *Artemia salina***

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

MIRA KHAERUNNISA

H012201002

Kepada

**PROGRAM MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**TESIS**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI POLISAKARIDA SULFAT (ULVAN)  
DARI ALGA HIJAU *Ulva lactuca* SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
DAN TOKSISITAS TERHADAP *Artemia salina***

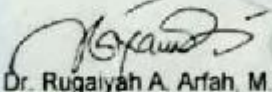
**MIRA KHAERUNNISA**

**NIM: H012201002**

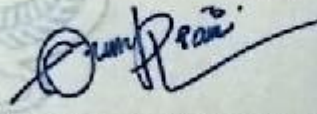
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam  
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Kimia Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 26 Januari 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui**

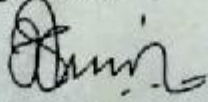
Pembimbing Utama

  
Dr. Rugayah A. Arfah, M.Si  
NIP. 196112311987022002

Pembimbing Pendamping

  
Dr. Nur Umriani Permatasari  
NIP. 196112092006042003

Ketua Program Studi  
Magister Kimia

  
Dr. Hasnah Natsir, M.Si  
NIP. 196203201967112001

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin

  
Dr. Erig. Amrullah, M.Si  
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS  
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mira Khaerunnisa  
NIM : H012201002  
Program Studi : Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Polisakarida Sulfat (Ulvan) dari Alga Hijau *Ulva lactuca* serta Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas terhadap *Artemia salina*" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di *AIP Conference Proceeding* sebagai artikel dengan judul "*Isolation of Sulfate Polysaccharides (Ulvan) from the Green Algae of Ulva lactuca and Characterization of its Functional Groups*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 25 Februari 2023

A 10,000 Rupiah Indonesian postage stamp is placed over the signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA' and '10000'. The signature is written in black ink over the stamp.

Mira Khaerunnisa

NIM. H012201002

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmananirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“ISOLASI DAN KARAKTERISASI POLISAKARIDA SULFAT (ULVAN) DARI ALGA HIJAU *Ulva lactuca* SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS TERHADAP *Artemia salina*”**.

Shalawat dan salam tak lupa tercurahkan kepada Baginda Rasulullah SAW, kepada keluarganya, para sahabatnya, dan kepada umatnya hingga akhir zaman. Berhasilnya penulis dalam menyelesaikan penyusunan tesis ini menandakan berakhirnya salah satu dimensi perjuangan sebagai syarat dalam memperoleh gelar magister di Pascasarjana Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Kepada kedua orang tua tercinta, bapak **Muhammad Jufri** dan ibu **Hartati** terima kasih untuk setiap semangat, motivasi, bantuan, kasih sayang dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada saya, semoga Allah senantiasa memberikan rahmat berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas agama Allah, dan kemuliaan bukan hanya di dunia tapi juga di akhirat Insya Allah.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini, terutama kepada ibunda **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** dan ibunda **Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si** selaku penasehat yang menjadi orang tua di kampus dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan arahan yang baik, terutama dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda **Dr. Eng Amiruddin, S.Si, M.Si** selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta semua staf pegawai.
2. **Dr. Hasnah Natsir, M.Si**, selaku ketua program studi S2 Ilmu Kimia Universitas Hasanuddin, beserta dosen dan staf yang telah membantu penulis dalam perjalanan menyelesaikan pendidikan ini.

3. Dosen penguji ujian, yaitu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S, Dr. Syarifuddin Liong, M.Si** dan **Dr. Siti Fauziah, M.Si**.
4. Seluruh **Analisis Laboratorium** di Departemen Kimia, terkhusus untuk **Kak Mahdalia, S.Si, M.Si** selaku analis Laboratorium Biokimia atas bantuan serta arahnya selama penelitian berlangsung.
5. **Pak Irsan dan Ibu Kiki**, terima kasih telah membantu dan mempermudah dalam pengurusan berkas.
6. Rekan partner peneliti Biokimia **Nure, Kak Jumardi, Besse, Kak Inal, Ade dan Kak Sarni**. Terima kasih telah mendengarkan keluh kesah, sebagai tempat bertanya, memberikan semangat serta selalu siap membantu dalam hal apapun.
7. **Ifah, Nunung, Eni, Elfa** serta teman-teman **Angkatan 2020 Ganjil**, terima kasih atas semangat, penghibur dikala suka dan duka.
8. Teman-teman Akhwat Kimia, terima kasih telah menjadi tempat berkeluh kesah, terima kasih atas motivasi, saran dan dukungannya.
9. Seluruh pihak yang terkait dalam penyelesaian tesis ini, terima kasih telah membantu dalam segala hal.

Penulis sadar bahwa laporan tesis ini tidak sempurna dan banyak kekurangan baik materi maupun teknik penulisannya, karena sejatinya kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis berharap saran dan kritikan yang bersifat membangun dari pembaca, dan semoga dapat memberikan manfaat bagi siapa saja dalam pengembangan ilmu pengetahuan kimia khususnya bidang biokimia.

Makassar, Februari 2023

Penulis

## ABSTRAK

MIRA KHAERUNNISA. **Isolasi dan Karakterisasi Polisakarida Sulfat (Ulvan) dari Alga Hijau *Ulva lactuca* serta Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas terhadap *Artemia salina*** (dibimbing oleh Rugaiyah A. Arfah dan Nur Umriani Permatasari)

Ulvan merupakan salah satu jenis polisakarida sulfat yang diisolasi dari alga hijau kelas Ulvophyceae. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum dalam ekstraksi ulvan, menentukan rendemen, kadar gula total dan kadar sulfat pada kondisi optimum. Selain itu, untuk menentukan karakteristik struktur, fisik dan aktivitas biologis. Metode respon permukaan (*Response surface methode*) digunakan dalam menentukan kondisi optimum ekstraksi ulvan dengan menggunakan 2 variabel yaitu variabel bebas terdiri atas suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ), konsentrasi HCl (M) dan waktu pemanasan (jam) dan variabel terikat yaitu massa ulvan (b/b). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa ekstraksi ulvan dapat dilakukan pada kondisi optimum yaitu suhu  $73^{\circ}\text{C}$ , konsentrasi HCl 0,3 M dan pemanasan selama 4 jam. Rendemen yang diperoleh pada keadaan optimum sebesar 25,07% (b/b) dengan kadar gula total sebesar 0,1767 mg/mL dan kadar sulfat 0,3143 mg/mL. Karakteristik struktur diidentifikasi secara spektroskopi FTIR dan NMR menunjukkan adanya serapan FTIR di daerah  $850,6-1112,93\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan daerah sidik jari khas polisakarida sulfat dan spektrum  $^1\text{H-NMR}$  menunjukkan karakteristik sinyal pada daerah geseran kimia berkisar antara 1,1-5,2 ppm. Karakteristik fisik diidentifikasi dengan SEM, XRD dan TGA. Karakteristik fisik polisakarida sulfat menunjukkan bahwa ulvan merupakan material yang bersifat amorf dengan ukuran partikel 18,0482 nm menunjukkan kestabilan termal pada suhu  $71-127^{\circ}\text{C}$  yang terdegradasi pada suhu  $174-209^{\circ}\text{C}$ . Hasil uji aktivitas biologis ulvan yaitu aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode DPPH diperoleh persen inhibisi sebesar 30,52% untuk menangkal radikal bebas dan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) diperoleh data  $\text{LC}_{50}$  sebesar 288,978 ppm. Hasil uji BSLT menunjukkan sampel ulvan bersifat toksik.

Kata kunci: Antioksidan, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), Ekstraksi, *Response Surface Methode* (RSM), *Ulva lactuca*, Ulvan

## ABSTRACT

MIRA KHAERUNNISA. **Isolation and Characterization of Sulfate Polysaccharides (Ulvan) from *Ulva lactuca* Green Algae with Its Antioxidant Activity and Toxicity Tests for *Artemia salina*** (guided by Rugaiyah A. Arfah and Nur Umriani Permatasari)

Ulvan is a type of sulfate polysaccharide isolated from green algae class Ulvophyceae. The purpose of this study was to determine the optimum conditions in ulvan extraction, determine the yield, total sugar content and sulfate content at optimum condition from ulvan production. In addition, the determine of the characteristics of the structure, physics and biological activity of ulvan. The response surface methode (RSM) are used in determining the optimum conditions for ulvan extraction by using 2 variables, namely the independent variable consisting of temperature (°C), HCl concentration (M) and heating time (hours) and the dependent variable is ulvan mass (w/w). Based on the result study, it was found that ulvan extraction could be carried out at the optimum conditions, the temperature optimum is 73°C, concentration of HCl is 0,3 M and the heating time for 4 hours. The yield of ulvan extraction obtained at the optimum condition was 25,07% (w/w) with a total sugar content of 0,1767 mg/mL and a sulfat content of 0,3143 mg/mL. The structural characteristics identified by FTIR and NMR spectroscopy showed FTIR absorption in the area of 850,6-1112,93  $\text{cm}^{-1}$  which is a typical fingerprint region of sulfated polysaccharides and the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum showed signal characteristics in the chemical shift between 1,1-5,2 ppm. Physical characteristic identified by SEM, XRD and TGA. The physical characteristics of sulfated polysaccharides indicate that ulvan is an amorphous material with a particle size of 18,0482 nm thermal stability at a temperature of 71-127°C which degrades at a temperature of 174-209°C. The result of the ulvan biological activity test, antioxidant activity which was analyzed using the DPPH method, obtained an inhibition percentage of 30,52% to counteract free radicals and toxicity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method, obtained  $\text{LC}_{50}$  data of 288,978 ppm. The result of the BSLT showed that ulvan sample was toxic.

Keywords: Antioxidant, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), Extraction, *Response Surface Methode* (RSM), *Ulva lactuca*, Ulvan



## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Tinjauan Umum Tentang Alga.....	7
2.2 Tinjauan Umum Alga Hijau ( <i>Ulva lactuca</i> ).....	10
2.3 Polisakarida Sulfat (Ulvan) .....	13
2.4 Metode Analisis dan Karakterisasi Ulvan .....	16
2.5 Tinjauan tentang Antioksidan dan Toksisitas.....	20
2.5.1 Antioksidan.....	20
2.5.2 Toksisitas dengan Metode BSLT.....	21
2.6 Kerangka Pikir.....	22
2.7 Hipotesis.....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	25

3.2.1 Alat Penelitian .....	25
3.2.2 Bahan Penelitian .....	26
3.3. Pelaksanaan Penelitian .....	26
3.3.1 Persiapan Sampel.....	26
3.3.2 Analisis Proksimat.....	27
3.3.3 Optimasi Ekstraksi Ulvan.....	30
3.3.4 Produksi Ulvan.....	31
3.3.5 Penentuan Kadar Gula Total .....	32
3.3.6 Penentuan Kandungan Sulfat.....	33
3.3.7 Analisis dan Karakterisasi Ulvan .....	34
3.3.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	35
3.3.9 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT .....	36
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1 Pengambilan Sampel Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	37
4.2 Analisis Proksimat.....	38
4.3 Ekstraksi dan Optimasi Produksi Ulvan .....	39
4.4 Analisis Kadar Gula Total dan Kadar Sulfat Ulvan.....	43
4.5 Analisis dan Karakterisasi Ulvan .....	46
4.5.1 Karakterisasi Struktur Ulvan dengan FTIR dan NMR .....	46
4.5.2 Karakterisasi Ulvan dengan XRD .....	49
4.5.3 Analisis Morfologi Ulvan dengan SEM .....	51
4.5.4 Analisis Kestabilan Termal Ulvan dengan TGA .....	53
4.6 Uji Aktivitas Biologis Ulvan .....	52
4.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	54
4.6.2 Uji Toksisitas Ulvan dengan Metode BSLT .....	56
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>58</b>
5.1 Kesimpulan .....	58
5.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN.....	68

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>		<b>halaman</b>
1.	Beberapa Penelitian terkait aktivitas biologis ulvan .....	15
2.	Design Eksperimental Response Surface Methode.....	31
3.	Hasil Analisis proksimat <i>Ulva lactuca</i> .....	38
4.	ANOVA respon optimalisasi produksi ulvan.....	40
5.	Hasil analisis kandungan gula total dan kandungan sulfat .....	45
6.	Hasil identifikasi nilai geseran kimia <sup>1</sup> H-NMR ulvan.....	49
7.	Hasil pengukuran aktivitas antioksidan .....	55
8.	Hasil uji BSLT ulvan hasil ekstraksi dan standar polisakarida .....	57

## DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Berbagai jenis alga: a. Alga Merah <i>Euchema spinosum</i> ; b. Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> ; c. Alga coklat <i>Sargassum</i> sp .....	9
2. a. <i>Ulva lactuca</i> (dokumentasi pribadi); b. <i>Ulva lactuca</i> (Referensi) ...	11
3. Jalur Biosintesis beberapa gula nukleotida penyusun ulvan .....	12
4. Struktur Ulvanobiuronate-3-sulfat type A.....	14
5. Response surface plot .....	17
6. Spektrum FTIR ulvan .....	18
7. a. <sup>1</sup> HNM <sub>r</sub> Ulvan; b. <sup>13</sup> CNMR ulvan .....	19
8. Kerangka Pikir .....	23
9. Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	37
10. Serbuk Kering <i>Ulva lactuca</i> .....	38
11. Plot kontur pengaruh konsentrasi HCl, suhu dan waktu pemanasan terhadap produksi ulvan.....	42
12. Penentuan titik optimum produksi ulvan.....	43
13. Reaksi penentuan kadar gula total .....	44
14. Spektrum FTIR (a) ulvan hasil ekstraksi, (b) standar polisakarida ....	47
15. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR ulvan.....	49
16. Hasil XRD Ulvan dan Standar polisakarida .....	50
17. Material ulvan hasil ekstraksi dan standar polisakarida .....	51
18. Analisis struktur morfologi menggunakan SEM.....	52
19. Kurva hasil analisis TGA (a) ulvan hasil ekstraksi dan (b) standar polisakarida .....	53
20. Mekanisme Penghambatan DPPH oleh Ulvan .....	55

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>nomor</b>	<b>halaman</b>
1. Lokasi Pengambilan Sampel Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	68
2. Skema Persiapan Sampel Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	69
3. Skema Proses Optimasi Ekstraksi Ulvan .....	70
4. Skema Proses Produksi Ulvan .....	71
5. Skema Analisis Kandungan Gula Total .....	72
6. Skema Analisis Kadar Sulfat .....	73
7. Skema Uji Aktivitas Antioksidan .....	74
8. Skema Uji Toksisitas Ulvan Metode BSLT .....	75
9. Hasil Uji Identifikasi Spesies Alga Hijau <i>Ulva lactuca</i> .....	76
10. Analisis Proksimat <i>Ulva lactuca</i> .....	77
11. Analisis RSM untuk Mengetahui Kondisi Optimum Ekstraksi Ulvan..	80
12. Analisis Kadar Gula Total Ulvan Metode Fenol-Asam Sulfat.....	86
13. Analisis Kadar Sulfat Ulvan Metode Barium Klorida-Gelatin .....	88
14. Hasil Analisis FTIR .....	90
15. Hasil Analisis <sup>1</sup> H-NMR .....	93
16. Hasil Analisis XRD .....	95
17. Hasil Analisis SEM .....	101
18. Hasil Analisis TGA .....	103
19. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	116
20. Hasil Uji Toksisitas .....	122
21. Dokumentasi .....	125

## DAFTAR ARTI LAMBANG/SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
,Å	Angstrom
ABTS	<i>2,2-Azino-bis (3-etilbenzthiazole-6-sulfat)</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
BBD	<i>Box-Behnken Design</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
b/b	Berat per berat
CTX	<i>Cyclophosphamide</i>
DMEM	<i>Dulberccos Modified Eagle Medium</i>
DPPH	1,1 diphenyl-2-picryhidrazyl
FTIR	<i>Fourier Transform InfraRed</i>
IC <sub>50</sub>	<i>Inhibitor Concentration</i>
LC <sub>50</sub>	<i>Lethality Concentration</i>
MDA	<i>Methane dicarboxylic Aldehyde</i>
MHz	<i>Megahertz</i>
mg/mL	Milligram per milli liter
Nm	Nano meter
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
Ppm	<i>Part per million</i>
RPM	<i>Revolution Per Minute</i>
RSM	<i>Response Surface Methodology</i>
SEM	<i>Scenning Electron Microscope</i>
TGA	<i>Termal Gravimetry Analysis</i>
T-SOD	<i>Total Superoxide dismutase</i>
XRD	<i>X-Ray Diffraction</i>
µg	mikrogram
°C	Derajat Celcius
,δ	Geseran kimia

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rumput laut atau alga laut merupakan salah satu sumber daya hayati yang sangat melimpah di perairan Indonesia yaitu sekitar 8,6% dari total biota di laut (Dahuri, 1998 dalam Kepel dkk., 2019). Luas wilayah yang menjadi habitat rumput laut di Indonesia mencapai 1,2 juta hektar atau terbesar di dunia (Lestari dkk., 2020). Potensi rumput laut perlu terus dieksplorasi, mengingat tingginya keanekaragaman rumput laut di perairan Indonesia. Van Bosse melalui ekspedisi laut Siboga pada tahun 1899-1900, melaporkan bahwa Indonesia memiliki kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut yang terdapat di dunia atau dengan kata lain, perairan Indonesia sebagai wilayah tropis memiliki sumber daya plasma nutfah rumput laut sebesar 6,42% dari total biodiversitas rumput laut dunia (Merdekawati dan Santoso dkk., 2009).

Secara umum rumput laut terdiri dari 3 jenis yaitu rumput laut merah, hijau dan coklat. Rumput laut dari kelas alga merah (*Rhodophyceae*) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, setelah itu alga hijau (*Chlorophyceae*) sekitar 196 jenis dan alga coklat (*Phaeophyceae*) sekitar 134 (Winarno, 1996 dalam Oktiana dkk., 2015). Rumput laut merupakan sumber makromolekul yang kaya dengan karakteristik fisiko-kimia yang unik, sehingga banyak sekali yang dapat dieksplorasi dari kandungan rumput laut (Figuera dkk., 2020). Polisakarida merupakan salah satu jenis senyawa yang paling banyak terkandung dalam rumput laut dan saat ini sedang gencar dikembangkan karena memiliki potensi besar baik dalam bidang pangan, industri dan kesehatan (Kidgell dkk., 2019).

Polisakarida yang terkandung dalam rumput laut dikelompokkan menjadi polisakarida sulfat dan non sulfat, variasi struktur memberikan beberapa perbedaan dari jenis polisakarida. Polisakarida sulfat menunjukkan aktivitas antioksidan karena sifat fisikokimianya misalnya berat molekul dan kandungan ester sulfat dan polifenol (Indahyani dkk., 2019). Polisakarida sulfat juga bermacam-macam tergantung dari jenis rumput lautnya, seperti pada alga merah

yang umum dikenal yaitu keragenan dengan karakteristik dinding sel berasal dari keluarga galaktan, Jenis polisakarida ini paling banyak digunakan dengan aplikasi sebagai emulsifier, stabilizer atau pengental (Cunha dan Grenha, 2016). Terdapat pula fukoidan ditemukan pada alga coklat dengan karakteristik dinding sel utama yaitu L-fukosa (Zhong dkk., 2020). Fukoidan banyak digunakan untuk pengembangan obat-obatan baru dan penggunaannya pada makanan fungsional karena secara komersial mudah didapatkan serta memiliki harga yang terjangkau (Cunha dan Grenha, 2016).

Polisakarida sulfat selain dari alga merah dan alga coklat, terdapat juga pada alga hijau, yang dikenal dengan sebutan ulvan. Meskipun ulvan tidak dikenal luas tetapi beberapa fisikokimia dan biologis dari ulvan yang berpotensi sehingga menarik untuk dikembangkan dalam berbagai bidang seperti pangan, farmasi, pertanian dan kimia. Ulvan ditemukan pada alga hijau *Ulva* sp. atau yang umum dikenal dengan selada laut yang memiliki kelimpahan sangat besar, mudah ditemui di wilayah pesisir dan laut terutama di kawasan timur Indonesia dan pertumbuhannya sangat cepat mencapai 30% per hari (Oktiana dkk., 2015). Namun kurangnya pengetahuan dan teknologi masyarakat sehingga *Ulva* sp. kurang dimanfaatkan (Kidgell dkk., 2019).

Ulvan terdiri atas 18,4% ramnosa, 4,4% glukosa, 1,9% xilosa, 0,9% mannosa, 0,9% galaktosa, 15,2% asam uronat, 15,8% sulfat dan 23,7% kadar abu berdasarkan berat kering dari ekstrak (Lahaye dan Robic, 2007). Beberapa aktivitas biologis ulvan diantaranya sebagai antikoagulan (Zhang dkk., 2008), antioksidan (Morelli dan Chiellini, 2010), sebagai antitumor dan immunomodulatori (Zhao dkk., 2020), digunakan dalam pembuatan nanofibers (Toskas dkk., 2011), hidrogel (Morelli dkk., 2016) dan sebagai anti penuaan dini (Adrein dkk., 2017). Aktivitas biologis dari ulvan dapat ditentukan berdasarkan metode ekstraksi dalam mengisolasi ulvan (Wahlstrom dkk., 2020).

Ekstraksi yang digunakan umumnya menggunakan akuades dengan suhu 80-90°C dengan tambahan senyawa pengkelat seperti amonium oksalat. Polisakarida yang dihasilkan mencapai 8-29% dari berat kering *Ulva* sp. tergantung pada ekstraksi dan prosedur pemurnian. Ulvan juga dapat diekstraksi menggunakan air panas dengan penambahan natrium oksalat (Lahaye dan Robic, 2007), amonium oksalat yang diasamkan (Robic dkk., 2009) dan ekstraksi menggunakan asam klorida (Glasson dkk., 2017). Ekstrak ulvan diendapkan dengan menggunakan etanol 96% diikuti dengan pengeringan beku atau



dikeringkan dengan oven. Pigmen warna dapat dihilangkan dengan pelarut organik seperti etanol (Kitada dkk., 2008) atau arang aktif (Alves dkk., 2010).

Peasura dkk. (2015) melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa berbagai jenis pelarut juga memiliki pengaruh signifikan terhadap karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan. Polisakarida sulfat yang diekstraksi dengan asam menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstraksi menggunakan akuades panas dan basa. Tetapi pada umumnya polisakarida sulfat diekstraksi menggunakan air panas dengan suhu ekstraksi 80-90°C dapat menghasilkan kadar polisakarida sulfat lebih tinggi dibandingkan ekstraksi menggunakan pelarut lain. Selanjutnya untuk ekstraksi menggunakan basa dilakukan untuk menghilangkan senyawa yang mengandung protein pada *Ulva* sp. Metode kimiawi dan sumber isolasi polisakarida sulfat dapat mempengaruhi karakteristik fungsi biologis dan struktur (Oliviera dkk., 2016).

Shi dkk. (2020), melakukan ekstraksi polisakarida dari tepung jiwawut (*foxtail millet*) menggunakan asam klorida dengan melakukan optimasi untuk mengetahui konsentrasi optimum dalam memproduksi rendemen polisakarida terbaik. Menurut Shi dkk. (2020), metode ekstraksi polisakarida menggunakan larutan asam klorida dapat meningkatkan kemurnian, hasil dan aktivitas biologis dari polisakarida yang diekstraksi, namun pada konsentrasi asam yang berlebihan tidak dapat digunakan untuk meningkatkan hasil polisakarida karena larutan yang terlalu asam dapat mempercepat degradasi polisakarida, sehingga konsentrasi asam klorida terbaik dalam memproduksi polisakarida berkisar antara 0,1-0,4 M dengan perbandingan 19,3:1 pelarut:sampel, pada suhu 80°C selama 1,2 jam diperoleh hasil polisakarida sebesar 5,2-18 %.

Proses ekstraksi yang menjadi poin penting dalam menghasilkan rendemen polisakarida terbaik perlu didukung dengan metode pendekatan statistik, seperti menggunakan metode respon permukaan atau *response surface methode* (RSM), dimana metode respon permukaan ini digunakan untuk mengeksplorasi hubungan antara beberapa variabel bebas dengan satu atau lebih variabel terikat. Fokus utama respon permukaan adalah menggunakan urutan eksperimen yang dirancang untuk mendapatkan respon yang optimal sehingga memudahkan proses optimasi karena percobaan lebih mudah diatur dan menggunakan lebih sedikit bahan dalam prosesnya (Zhu dkk., 2010)

Zhu dkk (2010) melakukan penelitian dengan mengekstraksi polisakarida menggunakan metode respon permukaan menjadikan proses optimasi lebih

dimudahkan, dimana rendemen polisakarida yang diperoleh sebesar 21,83% sangat sesuai dengan nilai yang diprediksi oleh model dengan nilai  $R^2$  96% dan nilai probabilitas ( $P=0,0002$ ), sehingga model ini, dapat dijadikan referensi dasar untuk penelitian selanjutnya karena sesuai dengan prediksi dari ekstraksi. Li dkk. (2019) menyatakan bahwa berbagai prosedur ekstraksi mempengaruhi sifat struktural, termal dan biologis dari ulvan, misalnya ekstraksi menggunakan asam dengan pH 1,5 menunjukkan aktivitas antioksidan lebih baik daripada ekstraksi menggunakan enzimatik dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $13,56 \mu\text{g/mL}$ . Sifat struktural, termal dan biologi ulvan dapat dikarakterisasi dengan berbagai instrumen.

Karakterisasi untuk menentukan struktur polisakarida sulfat yang diperoleh dari ekstraksi, pemurnian dan proses isolasi dapat menggunakan berbagai instrumen seperti analisis termogravimetri (TGA) yang digunakan untuk menentukan persentase kehilangan massa karena proses ekstraksi juga dapat mengungkapkan efek suhu pada saat ekstraksi terhadap kualitas ulvan yang dihasilkan. Instrumen lain yang digunakan yaitu FTIR dan NMR merupakan instrumen yang sangat efektif untuk mengukur komponen tunggal ulvan dengan cepat dan akurat. Poin penting dalam mengkarakterisasi ulvan yang diekstraksi adalah memperhatikan komponen peralatan dan waktu yang diperlukan untuk analisis, untuk analisis kandungan ulvan dengan proses yang cepat digunakan uji kolorimetri untuk menentukan kadar gula seperti asam uronat, ramnosa dan xilosa, sedangkan untuk menganalisis kadar sulfat menggunakan uji turbidimetri (Mo'o dkk., 2020).

Shao dkk. (2013), melakukan penelitian terhadap polisakarida sulfat dari *Ulva fasciata* (UFP) dengan ekstraksi ultrasonik dan kromatografi aliran radial. Hasil yang diperoleh dengan membandingkan aktivitas antioksidan dan antitumor yang diidentifikasi secara *in vitro* menunjukkan bahwa polisakarida UFP memiliki kandungan sulfat yang rendah tetapi menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat baik dalam pengujian radikal superoksida yaitu sebesar 81,45%, uji ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzthiazoline-6-sulfat) sebesar 36,34% dan uji DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sebesar 37,63%.

Polisakarida dari alga hijau *Ulva lactuca* menurut Zhao dkk. (2020), diidentifikasi sebagai polisakarida tersulfasi yang terdiri dari konfigurasi  $\alpha$  – dan  $\beta$ - pyronose dengan komposisi 6 tipe unit ikatan. Polisakarida sulfat (ulvan) telah teridentifikasi sebagai antiinflamasi, antioksidan dan antitumor serta dapat meningkatkan kadar Imunoglobulin M dan T-SOD (*Total superoxide dismutase*),

menurunkan kadar MDA (*Methane dicarboxylic aldehyde*) dan menghambat aktivitas jalur PI3K/AKT/mTOR. Selain itu menunjukkan aktivitas antitumor dengan efek samping yang lebih sedikit dibandingkan CTX (*cyclophosphamide*) serta dapat menghambat proliferasi abnormal sel tumor, memperbaiki sel atypia dan kerusakan sistem imun yang disebabkan oleh tumor. Ulvan memiliki potensi yang tinggi sebagai obat dan layak dikembangkan sebagai biomaterial yang diterapkan dalam aplikasi medis untuk manusia.

Berbagai aktivitas biologis dan farmakologis lainnya dari ulvan misalnya dari *Monostroma nitidum* merupakan penghambat trombin poten yang dimediasi oleh kofaktor heparin II yang menunjukkan aktivitas antikoagulan. Selain itu, ulvan dari *Ulva lactuca* menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menginduksi reaktivitas sel terhadap europaeus-1 lektin (Lahaye, 1999). Ulvan juga memiliki aktivitas antivirus terhadap virus influenza manusia dan unggas dengan menekan reproduksi virus (Serkedjieva dkk., 1999).

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengisolasi ulvan dari alga hijau *Ulva lactuca* menggunakan pelarut asam klorida dengan beberapa variasi konsentrasi, suhu pemanasan dan waktu ekstraksi untuk menghasilkan kondisi optimum dalam mengisolasi ulvan menggunakan pendekatan metode respon permukaan atau *Response Surface Methode* (RSM). Setelah diperoleh kondisi optimum menggunakan RSM dilakukan proses produksi untuk menghasilkan ulvan yang selanjutnya dikarakterisasi strukturnya menggunakan FTIR dan NMR, karakterisasi fisik dan kestabilan termalnya menggunakan SEM, XRD dan TGA dengan membandingkan karakteristik antara ulvan hasil ekstraksi dengan polisakarida sulfat standar serta menganalisis aktivitas biologisnya diantaranya aktivitas antioksidan dan sifat toksisitasnya terhadap *Artemia salina*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. berapa konsentrasi HCl, suhu dan waktu ekstraksi optimum dalam proses ekstraksi ulvan dari alga hijau *Ulva lactuca* menggunakan metode *Response Surface methode* (RSM)?,
2. berapa rendemen, kadar gula total dan kadar sulfat dari ulvan hasil optimasi?,
3. bagaimana karakteristik ulvan hasil optimasi yang dianalisis dengan FTIR, NMR, SEM, XRD dan TGA?,
4. bagaimana aktivitas antioksidan dan toksisitas ulvan?.

## 1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah maka tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. menentukan konsentrasi HCl, suhu dan waktu ekstraksi optimum dalam proses ekstraksi ulvan dari alga hijau *Ulva lactuca* menggunakan metode *Response Surface Methode* (RSM),
2. menentukan rendemen, kadar gula total dan kadar sulfat dari ulvan hasil optimasi,
3. menentukan karakteristik ulvan hasil optimasi yang dianalisis dengan FTIR, NMR, SEM, XRD dan TGA,
4. menganalisis aktivitas antioksidan dan toksisitas ulvan.

## 1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini untuk memberikan informasi terkait proses ekstraksi, karakteristik dan aktivitas biologis dari ulvan yang masih belum dikenal secara luas di masyarakat sehingga kedepannya dapat dikembangkan sebagai salah satu bahan biopolimer yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi diantaranya dalam bidang biomaterial, pangan, kesehatan, kecantikan dan industri lainnya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1 Tinjauan Umum tentang Alga

Alga atau rumput laut merupakan tumbuhan tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun, meskipun tampak seperti ada perbedaan tetapi sebenarnya bagian tubuhnya dinamakan *thallus* (Kepel dan Mantiri 2019). Summich (1992) dalam Meriam dkk. (2016) menyebutkan bahwa struktur alga terdiri dari 3 bagian utama, pertama dikenal dengan *blade*, yaitu struktur yang menyerupai daun pipih yang biasanya berbentuk lebar; kedua *stipe*, yaitu struktur yang menyerupai batang yang lentur dan berfungsi alat pertahanan diri dari terpaan ombak; dan ketiga *holdfast* yaitu bagian yang menyerupai akar yang berfungsi sebagai tempat melekatkan tubuhnya pada substrat.

Umumnya alga terdapat pada zona intertidal sampai pada kedalaman dimana cahaya matahari dapat tembus. Di perairan yang jernih beberapa alga laut masih dapat hidup sampai pada kedalaman 150 meter. Alga dapat dijumpai dalam bentuk yang sangat halus dan berbentuk membran, serta dapat pula ditemui di daerah yang cukup dalam. Alga juga dapat tumbuh di berbagai wilayah pantai dan pulau-pulau karang (Kepel dkk., 2018).

Distribusi alga dapat dibagi berdasarkan kedalaman yaitu pada perairan dangkal biasanya didominasi oleh alga hijau, kemudian diikuti oleh alga coklat dan yang sering ditemukan pada perairan yang lebih dalam yaitu alga merah (Meriam dkk., 2016). Terdapat 2 cara reproduksi dalam perkembangbiakan alga yaitu cara aseksual dan seksual yang digunakan untuk mempertahankan keberadaan populasi alga di alam, agar tidak mengalami kepunahan karena predasi kompetisi, hama dan penyakit serta umur (Nyabakken dkk., 1992).

Secara umum alga terbagi atas 3 kelompok utama yaitu alga hijau, alga coklat dan alga merah, dimana pigmennya berbeda dalam melaksanakan fotosintesis. Rumput laut dibedakan berdasarkan kandungan pigmen yang menimbulkan warna merah, ungu dan lembayung yaitu fikoeritrin dan

mendominasi zat warna biru sampai kehijauan yaitu fikosianin. Rumput laut coklat didominasi oleh pigmen fukosantin yang menimbulkan warna coklat dan rumput laut hijau didominasi oleh pigmen klorofil b yang memberikan warna hijau (Setyobudiandi dkk., 2009).

Pembagian dan karakteristik alga menurut Setyobudiandi dkk., 2009 adalah:

#### 1. Alga Merah (*Rhodophyta*)

Alga merah berasal dari pigmen fikobilin yang terdiri dari fikoeritrin yang berwarna merah dan fikosianin yang berwarna biru. Dalam kondisi ini alga merah dapat melakukan penyesuaian pigmen dengan kualitas pencahayaan sehingga dapat menimbulkan berbagai warna pada thalli. Warna-warna yang terbentuk antara lain: merah tua, merah muda, pirang, coklat, kuning dan hijau. Secara umum, bentuk alga ini berupa silinder yang berukuran sedang sampai kecil. Alga merah ditemukan luas di seluruh perairan Indonesia yang dijumpai pada zona intertidal sampai dengan rataan terumbu dan bersosialisasi dengan jenis alga lainnya. Reproduksi dapat terjadi secara seksual dengan karpoginia dan spermatia.

#### 2. Alga Hijau (*Chlorophyta*)

Alga hijau menghasilkan warna dari pigmen klorofil warna hijau untuk proses fotosintesis yang mengandung klorofil a, b, beta dan gamma karoten serta xantofil. Bentuk alga hijau berbagai macam mulai dari lembaran tipis, silinder dan bentuk benang yang tebal atau menyerupai rambut. Alga hijau umumnya dijumpai di daerah pasang surut dan di daerah genangan yang dangkal, kadang berbatasan dengan daerah air tawar dengan cahaya matahari yang berlimpah.

#### 3. Alga coklat (*Phaeophyta*)

Warna coklat dari alga coklat berasal dari pigmen tambahan yang menutupi warna klorofil hijaunya yang mengandung klorofil a dan c, beta karoten, violasantin dan fukosantin. Fotosintesis terjadi karena alga mengandung pigmen pirenoid dan tikaloid. Dengan demikian, alga coklat mempunyai cakupan yang luas ke perairan yang lebih dalam dan pigmen coklat lebih efisien melakukan fotosintesis dibandingkan pigmen warna hijau. Variasi bentuk dari alga coklat cukup banyak, beberapa diantaranya mempunyai ukuran yang lebar dan panjang serta umumnya dijumpai di rataan terumbu karang yang berhadapan langsung dengan samudera. Berbagai contoh jenis alga dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Berbagai jenis alga: (A) Alga Merah *Euchema spinosum* (Fitri, 2020), (B) Alga Hijau *Ulva lactuca* (Dewi, 2018) dan (C) Alga Coklat *Sargassum sp* (Pakidi dan Suwoyo, 2017).**

Alga merupakan mikroorganisme aerobik fotosintetik yang mempunyai 3 macam pigmen fotosintetik yaitu klorofil, karotenoid dan fikobilin yang ketiganya terdapat dalam kloroplas. Sebagian besar hasil fotosintesisnya yaitu untuk menyimpan berbagai produk makanan cadangan sebagai granula atau globula di dalam sel-selnya. Seperti alga hijau menyimpan pati yang terdapat pada tumbuhan serta jenis alga lain dapat menyimpan bermacam-macam karbohidrat, minyak ataupun protein, dari kandungan-kandungan tersebut sehingga banyak sekali manfaat yang dapat dikembangkan dalam alga.

Sejak tahun 600 SM, dari total 221 spesies rumput laut yang dikenal di dunia, sekitar dua pertiga rumput laut telah tercatat dalam sejarah sebagai makanan manusia (Yu-Qing dkk., 2016). Secara khusus rumput laut telah dikonsumsi sebagai sayuran sejak zaman prasejarah di Asia Timur. Tradisi inilah yang menyebabkan banyak penelitian tentang rumput laut. Sebagian besar penelitian menunjukkan rumput laut memberikan efek yang baik untuk kesehatan terutama dalam pengobatan kanker (Hiqasyi-Okaj dkk., 1999). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa komposisi nutrisi dari rumput laut bervariasi berdasarkan spesies, wilayah, geografis, musim dalam setahun dan suhu air, dimana rumput laut mungkin dapat diisyaratkan untuk merangsang atau menghambat biosintesis berbagai komponen nutrisi. Terlepas dari variasi nutrisi yang dimiliki, rumput laut yang dapat dikonsumsi menunjukkan sebagian besar rumput laut mengandung sejumlah protein, vitamin, mineral dan nutrisi penting untuk manusia (Tabarsa dkk., 2012).

Sebagian besar jenis alga yang banyak dikembangkan atau dibudidayakan berasal dari jenis alga merah dan coklat, seperti keragenan dan agar yang merupakan jenis polisakarida yang telah banyak dimanfaatkan dalam bidang industri. Di sisi lain terdapat jenis alga hijau yang meskipun ada beberapa jenis

sudah memiliki nilai ekonomi dan dibudidayakan ada juga jenis alga hijau yang belum dikenal secara luas serta belum banyak dibudidayakan seperti alga hijau dari kelas Ulvophyceae atau lebih dikenal dengan nama selada laut.

## 2.2 Tinjauan Umum Alga Hijau (*Ulva lactuca*)

Alga hijau merupakan kelompok protista fotoautotrofik yang paling heterogen yang menghuni biosfer dan menunjukkan variabilitas yang sangat luas baik bentuk, ukuran maupun habitat. Warna yang dihasilkan dari alga hijau berkisar dari hijau ke orange dan ungu. Pengetahuan terbaru tentang alga hijau bahwa secara taksonomi alga hijau telah berevolusi di dua garis keturunan utama: *Chlorophytes clade* (misalnya *Cladophora*, *Chlamydomonas*) dan *Charophytes clade* misalnya *Chara* dan *Spirogyra* (Naselli-Flores dan Barone, 2009).

Alga hijau telah dimanfaatkan sebagai bahan makanan alternatif diberbagai negara. Salah satunya *Ulva* sp. yang kemungkinan besar jenis ini menawarkan banyak manfaat dalam bidang farmasi. Alga hijau kaya akan serat baik larut dalam air maupun tidak larut serta mineral-mineral penting seperti vitamin, polisakarida, klorofil, protein dan kandungan lipid yang rendah. Oleh karena itu, alga hijau dikenal sebagai makanan berenergi rendah karena kandungan lipidnya yang rendah tetapi karbohidratnya tahan dalam pencernaan dan dalam proses fermentasi. Mayoritas polisakarida pada alga termasuk ulvan, resisten terhadap enzim pencernaan manusia, sehingga sangat baik diaplikasikan sebagai sumber serat pangan yang baik dibandingkan tanaman darat lainnya (Shirbu dkk., 2019).

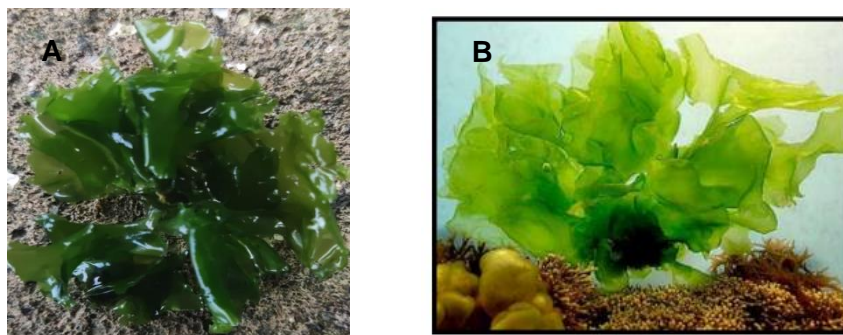
*Ulva* sp. atau yang lebih dikenal dengan selada laut merupakan jenis rumput laut yang sudah banyak dimanfaatkan tetapi belum sepopuler *Eucheama*, *Kappaphycus* dan *Gracilaria*. *Ulva* sp. saat ini sudah banyak dimanfaatkan bahkan Balai Bio Industri Laut LIPI tengah mengembangkan teknologi budidaya selada laut untuk dilakukan di darat (*inland farming*) agar ketersediaannya tidak hanya mengandalkan dari alam mengingat kandungan serat yang tinggi sehingga dapat meningkatkan kesehatan sistem pencernaan, serta polisakarida sulfat yang terkandung di dalamnya memiliki aktivitas biologis sebagai immunomodulator, antijamur, antibakteri, antivirus, antioksidan, antikoagulan, antihiperlipidemia dan antikanker (Kidgell, 2019).

*Ulva lactuca* (Gambar 2) merupakan salah satu jenis dari suku Ulvaceae (Divisi Chlorophyta). Berdasarkan data hasil identifikasi Laboratorium



Produktivitas dan Kualitas Perairan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin, secara sistematis *Ulva lactuca* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Chlorophyta  
 Kelas : Ulvophyceae  
 Ordo : Ulvales  
 Family : Ulvaceae  
 Genus : *Ulva*  
 Spesies : *Ulva lactuca* Linnaeus 1753



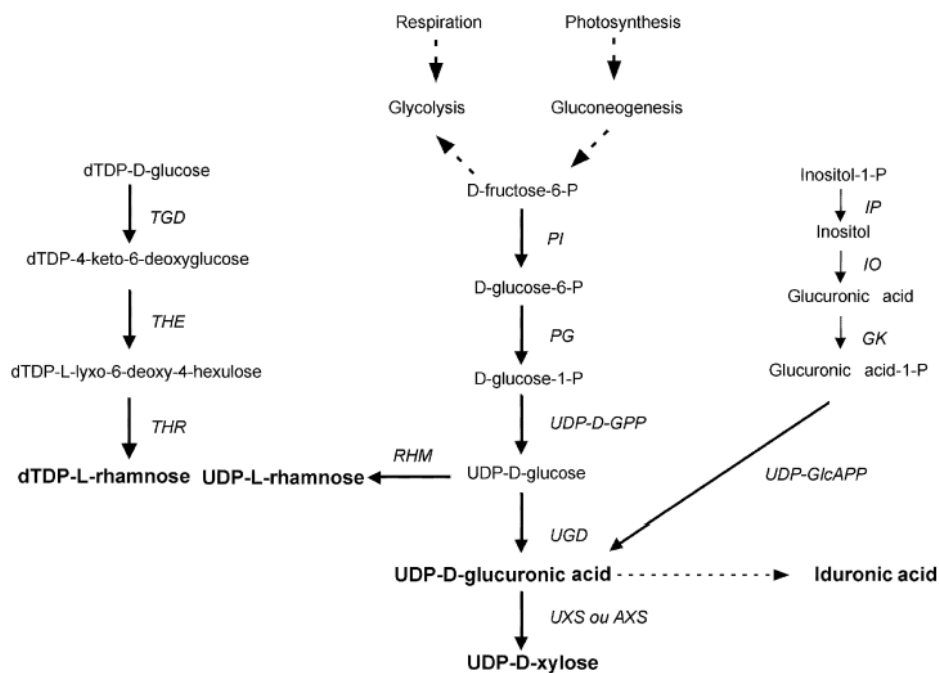
**Gambar 2. (A) *Ulva lactuca*** (dokumentasi pribadi); **(B) *Ulva lactuca*** (Ginneken, 2018)

Lembaran thallus merupakan faktor penentu untuk membedakan jenis *Ulva*. *Ulva lactuca* memiliki thallus tipis, lembaran licin, tepi lembaran berombak dan di bagian pangkal terdapat penebalan. *Ulva fasciata* memiliki thallus menyerupai lembaran halus dengan pinggiran ikal yang berombak, lebar lembarannya mencapai 5-25 cm. *Ulva reticulata* memiliki thallus berupa lembaran kecil ukuran 2 mm membentuk rumpun menyerupai jaring (Handayani, 2016).

Mekanisme dimana unit penyusun ulvan disintesis, disusun dan diintegrasikan ke dalam dinding sel alga akan mempengaruhi ekstraksi dan sifat-sifat polisakarida, meskipun belum ada penelitian khusus yang membahas mengenai jalur biosintesis ulvan, skema umum dapat dibuat dengan mempertimbangkan kemajuan terbaru yang dibuat dalam biosintesis matriks polisakarida dalam organisme berbeda. Biosintesis ini melibatkan pembentukan prekursor gula nukleotida di sitoplasma, polimerasi prekursor dalam sistem endomembran seluler, ekspor dan perakitan dinding sel (Lahaye dan Robic, 2007).

Monosakarida dalam sintesis polisakarida umumnya digabung dari beberapa donor gula nukleotida yang sesuai. Donor ini sebagian besar muncul

dari interkonversi UDP-Glc. Sintesis asam glukuronat, ramnosa dan prekursor xilosa di ulvan dapat dilihat pada Gambar 3. UDP-GlcA muncul dari UDP-Glc atau dari intisol. UDP-Xyl kemudian dibentuk oleh interkonversi UDPGlcA. Prekursor nukleotida ramnosa kemungkinan terbentuk dari TDP-LRha seperti pada bakteri atau UDP-L-Rha seperti yang disarankan pada tanaman secara umum. Sebaliknya, asam iduronat dalam ulvan dapat terbentuk pada polimer bertingkat seperti untuk biosintesis glikosaminoglikan pada hewan dengan aksi epimerase yang mengubah asam glukuronat menjadi asam iduronat. Konversi tersebut diketahui terjadi pula pada dinding sel alga coklat, yaitu epimerisasi asam manuronat menjadi asam guluronat dalam alginat (Lahaye dan Robic, 2007).



**Gambar 3. Jalur biosintesis beberapa gula nukleotida penyusun Ulvan (Lahaye dan Robic, 2007)**

Prekursor gula nukleotida diangkut dalam apparatus Golgi oleh transpoter tertentu atau oleh glikosiltransferase yang berfungsi sebagai substrat untuk mengikat glikosiltransferase dan kompleks sintase dalam biosintesis polisakarida. Cabang dan sulfasi dapat terjadi secara bersamaan dan beruntun ke rantai polimerisasi dan secara terpadu untuk menghasilkan perbedaan domain berulang pada struktur ulvan. Meskipun sulfasi dari ulvan oleh sulfotransferase spesifik dapat terjadi di Golgi seperti yang terjadi pada hewan dan polisakarida sulfat alga coklat, sulfasi langsung di dinding sel dalam alga merah tidak dapat dikecualikan.

Kemudian, vesikel yang mengandung polisakarida yang terbentuk dibuang di apoplast. Mekanisme perakitan polisakarida dinding sel tumbuhan yang lebih tinggi tetap tidak jelas tetapi melibatkan pemrosesan lebih lanjut di dinding sel polisakarida oleh enzim sebagai respon terhadap berbagai faktor biologis dan lingkungan. Dalam biosintesis ulvan, seperti yang telah disebutkan di atas, epimerisasi asam glukuronat menjadi asam iduronat, sulfasi dan desulfasi juga dapat terjadi seperti yang dilaporkan untuk glikosaminoglikan dalam matriks sel hewan atau alga galaktan, terutama berhubungan terhadap pertumbuhan dan faktor lingkungan (Lahaye dan Robic, 2007).

*Ulva* sp. pada daerah tropis biasanya terdapat di air dangkal (zona intertidal) bagian atas sampai kedalaman 10 meter. Pada substrat yang tepat, seringkali melakukan asosiasi dengan daerah yang memiliki nutrisi yang tinggi contohnya bakau atau sumber air tawar (Dewi, 2018).

Di Sulawesi Selatan jenis alga hijau ini dapat tumbuh di hampir seluruh wilayah pesisir atau perairan dangkal. Untuk spesies *Ulva* sendiri, biasanya ditemukan di sekitar Pulau Barung Lompo dan Barung Caddi Makassar hanya saja karena mudahnya terseret arus sehingga sulit untuk dilakukan budidaya secara besar-besaran. Potensi *Ulva* untuk dikembangkan salah satunya karena terdapat kandungan polisakarida sulfat yang sangat melimpah dan dapat memberikan banyak manfaat untuk manusia kedepannya.

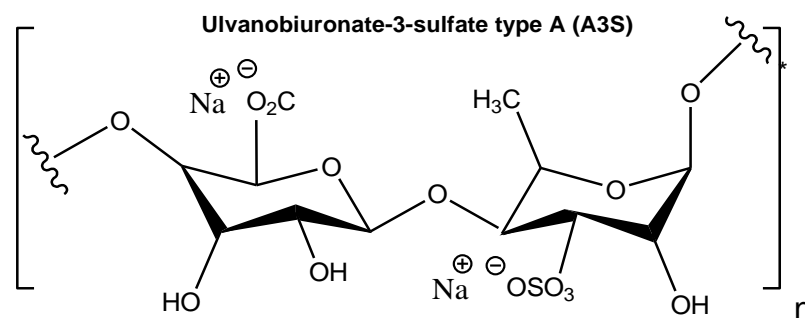
### **2.3 Polisakarida Sulfat (Ulvan)**

Polisakarida sulfat terbentuk secara alami biasanya ditemukan dalam tiga kelompok utama alga laut: alga coklat (*Phaeophyta*), alga merah (*Rhodophyta*) dan alga hijau (*Chlorophyta*). Studi tentang polisakarida sulfat dari alga laut pada umumnya terfokus pada fukoidan, ascophyllan, sargassan dan glukuronoxylukan dari alga coklat dan agar serta keraginan dari alga merah karena sifatnya sebagai antikoagulan, antitumor, antivirus, antibakteri, immunomodulator, antiinflamasi dan antioksidan (Muawanah, 2015).

Polisakarida sulfat dari alga hijau atau yang dikenal dengan sebutan ulvan, baru-baru ini ditemukan menunjukkan berbagai aktivitas biologis dan farmakologis (Kidgell dkk., 2019). Ulvan terutama terdiri dari selulosa, ramnosa dan xiloglukan dengan berbagai jenis gula lainnya dengan kandungan mannosa, galaktosa dan arabinosa yang rendah (Guidara dkk., 2019).

Ulvan merupakan polisakarida heteropolianionik dengan komposisi gula dominan ramnosa (45%), asam glukoronat (22,5%), asam iduronat (5%) dan xilosa (9,6%) (Kidgell dkk., 2019). Sifat fisik dan kimia dari komponen aktif yang terkandung dalam ulvan seperti hidrasi, polaritas, sifat emulsi dan viskositas berkaitan erat dengan stabilitas dan efek fisiologi yang tergantung pada proses ekstraksi (Mo'o dkk., 2020).

Ulvan terdiri atas  $\alpha$ - dan  $\beta$ -(1,4)- monosakarida terkait (ramnosa, xilosa, asam glukoronat dan asam iduronat) dengan unit disakarida berulang yang khas. Dua unit pengulangan disakarida utama adalah asam aldobiuronat yang disebut sebagai asam ulvanobiuronat (tipe A dan B); aldobiosis disakarida minor disebut sebagai ulvanobiosis (tipe U) meskipun tipe A dan B jauh lebih umum ditemukan dalam ulvan. (Lahaye, dkk., 1998). Struktur ulvan dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4. Struktur Ulvanobiuronate-3-sulfat type A (Kidgell dkk., 2019)**

Ulvan memiliki berbagai manfaat biologi yang berpotensi untuk digunakan sebagai bahan terapi kesehatan oleh manusia. Ulvan menyumbangkan sebagian besar energi saat dikonsumsi. Ulvan dalam beberapa tahun terakhir telah banyak dikembangkan dalam berbagai bidang seperti pangan, farmasi dan aplikasi biomedis. Kandungan sakarida yang mendominasi pada ulvan dapat dikembangkan dengan prospek yang menjanjikan. (Mo'o dkk., 2020) telah berhasil melakukan penelitian terhadap ulvan yaitu sebagai stabilizer dan emulsifier untuk mempertahankan agen fungsional dalam aplikasi makanan dan kosmetik berdasarkan sifat ampipiliknya. Sifat fisikokimia menunjukkan ulvan merupakan molekul yang khas dengan sifat agregasi yang tidak mudah ditemukan di polimer alami lainnya sehingga sangat menarik untuk dieksplorasi lebih mendalam. Beberapa aktivitas biologis lain dari ulvan dapat dilihat pada Tabel 1:

**Tabel 1. Beberapa penelitian terkait aktivitas biologis ulvan (Mo'o dkk., 2020).**

<b>Aplikasi dalam Biomedical</b>	<b>Objek</b>	<b>Tipe</b>
Antioksidan	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) penangkal radikal	<i>In vitro</i>
	ORAC (oxygen radical absorbance capacity)	<i>In vitro</i>
	Uji kekuatan antioksidan pereduksi besi; metode pemutihan untuk beta karoten asam linoleate	<i>In vitro</i>
	AAPH Assays	<i>In vitro</i>
	Nitrit oksida	<i>In vitro</i>
Anti-inflamasi	Tes Edema telinga tikus topical	<i>In vivo</i>
	Penggunaan Vero Cells (efek antiinflamasi karena infeksi)	<i>In vivo</i>
Anti kanker	<i>HepG2 cells</i>	<i>In vitro</i>
	<i>MCF-7 Cells</i>	<i>In vitro</i>
	Caco-2 cells (kanker usus besar manusia)	<i>In vitro</i>
	A549 cells (karsinoma paru-paru manusia)	<i>In vitro</i>
	Fem-x cells	<i>In vitro</i>
Anti bakteri	HeLa cells	<i>In vitro</i>
	<i>Escherichia coli, Pneumonia dan Salmonella thypi</i>	<i>In vivo</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37 RV strain	<i>In vitro</i>
Antivirus	Virus influenza	<i>In vivo</i>
	Japanese encephalitis virus	<i>In vivo</i>
	H1/N1 virus	<i>In vivo</i>
	Matriks antigen encephalitis	<i>In vitro</i>
Immunomodulator	Sel makrofag J7774A.1	<i>In vitro</i>
	Makrofag murine RAW264.7	<i>In vitro</i>
Anti hiperlipidemia	Senegalese sole	<i>In vivo</i>
	MDA ( <i>Mice induced malondialdehyde</i> ), SOD ( <i>superoxide dismutase</i> ), CAT ( <i>catalase</i> ), dan GSH-Px ( <i>Glutathione peroxidase</i> )	<i>In vitro</i>
Rekayasa jaringan organ	Ulvan dapat digunakan dalam rekayasa jaringan tulang rawan	<i>In vitro dan in vivo</i>

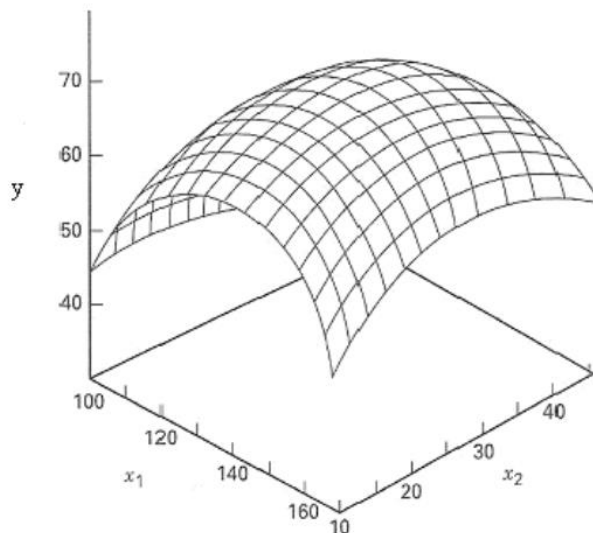
## 2.4 Metode Analisis dan Karakterisasi Ulvan

Ulvan diekstraksi dengan menggunakan pelarut asam, kelebihan ekstraksi menggunakan asam yaitu menghasilkan aktivitas biologis yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut lainnya. Selain pelarut, faktor pendukung untuk menghasilkan rendemen ulvan terbaik terdapat pada proses optimasi, dimana proses optimasi yang sesuai akan menghasilkan keadaan optimum yang dapat menghasilkan rendemen terbaik. Proses optimasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan pendekatan respon permukaan atau *response surface methode* (RSM).

Metode *response surface* adalah sekumpulan teknik matematika dan statistik yang berguna untuk menganalisis permasalahan dimana beberapa variabel tidak tetap mempengaruhi variabel respon (Montgomery, 2009). Indeks metode respon permukaan merupakan gabungan dari teknik matematika dan statistik yang digunakan untuk membuat model dan menganalisis suatu respon  $y$  yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas atau faktor  $x$  guna mengoptimalkan respon tersebut. Metode respon permukaan dapat dikatakan juga sebagai desain dan model untuk dikembangkan secara kontinyu ketika menemukan titik optimal. Tujuan pertama dari respon permukaan adalah untuk menemukan respon yang optimal, saat terdapat lebih dari satu tanggapan maka penting untuk menemukan kompromi yang optimal, tidak hanya mengoptimalkan satu respon saja. Ketika terdapat kendala pada desain data, maka desain percobaan harus memenuhi persyaratan kendala. Tujuan kedua adalah untuk memahami bagaimana respon berubah dalam arah tertentu dengan menyesuaikan variabel desain. Secara umum respon permukaan dapat divisualisasikan secara grafis. Grafik itu berguna untuk melihat bentuk permukaan respon, perbukitan, lembah dan garis punggung. Oleh karena itu, fungsi  $f(x_1, x_2)$  dapat diplot antara  $X_1$  dan  $X_2$  berdasarkan Gambar 5.

Keberhasilan metode *response surface methode* (RSM) bergantung pada estimasi  $y$  pada lokasi yang berbeda di permukaan respon. Oleh karena itu, sebelum eksperimen analisis respon permukaan dimulai, Hill dan Hunter menguraikan empat langkah untuk analisis permukaan diantaranya, melakukan percobaan yang dirancang secara statistik, memperkirakan koefisien dalam persamaan respon permukaan, memeriksa kecukupan persamaan melalui uji ketidaksesuaian dan mempelajari respon permukaan di wilayah yang diminati (Montgomery, 2005). Langkah-langkah penting yang dapat membantu dalam

eksperimen menggunakan metode respon permukaan diantaranya mengetahui berapa banyak replikasi yang diperlukan, letak daerah optimum, jenis fungsi aproksimasi yang diperlukan, pilihan desain eksperimen yang tepat dan layak tidaknya transformasi pada tanggapan atau salah satu variabel proses diperlukan.



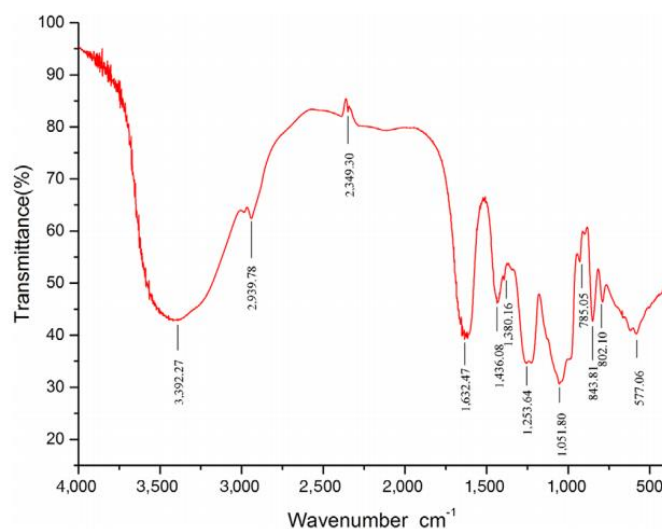
**Gambar 5. Response surface plot**

Ulvan yang diperoleh dari hasil produksi menggunakan kondisi optimum selanjutnya dikarakterisasi menggunakan beberapa instrumen diantaranya *Fourier Transform InfraRed* (FTIR), *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *X-Ray Diffraction* (XRD). Instrumen yang digunakan bertujuan untuk menganalisis gugus fungsi, penentuan susunan jumlah atom hidrogen, ukuran partikel dan morfologi ulvan.

Spektroskopi FTIR dan NMR adalah analisis cepat dan non-destruktif yang memberikan informasi mendasar tentang polisakarida ulvan. Figuera (2020), melakukan penelitian dengan mengkarakterisasi ulvan dari *Ulva* sp yang diambil dari alam dan hasil budidaya menunjukkan bahwa ulvan terdiri dari ramnosa, asam iduronat dan asam glukuronat, sulfat dan xilosa.

Spektroskopi FTIR yang direkam pada daerah  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  digunakan untuk mendeteksi ulvan (Gambar 6). Dalam spektrum, getaran O-H yang kuat dari cincin gula diamati pada daerah  $3.392,27\text{ cm}^{-1}$ . Puncak serapan  $2.939,78\text{ cm}^{-1}$  merupakan pita vibrasi ulur C-H dari metil atau metilen. Dua puncak peregangan di daerah  $1.436,08$  dan  $1.380,16\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi C-H pada cincin gula. Selain itu, pita lemah pada daerah  $1,051,80\text{ cm}^{-1}$  diindikasikan merupakan gugus

CH<sub>3</sub> dari gugus asetil dan virasi ulur C-O dari cincin ester C-O-C masing-masing. Karakteristik penyerapan pada daerah 823,81 dan 891,26 cm<sup>-1</sup> menunjukkan bahwa gugus sulfat berada pada posisi vertikal yaitu, posisi C-2 atau C-3 yang merupakan ramnosa (Zhao dkk., 2020).

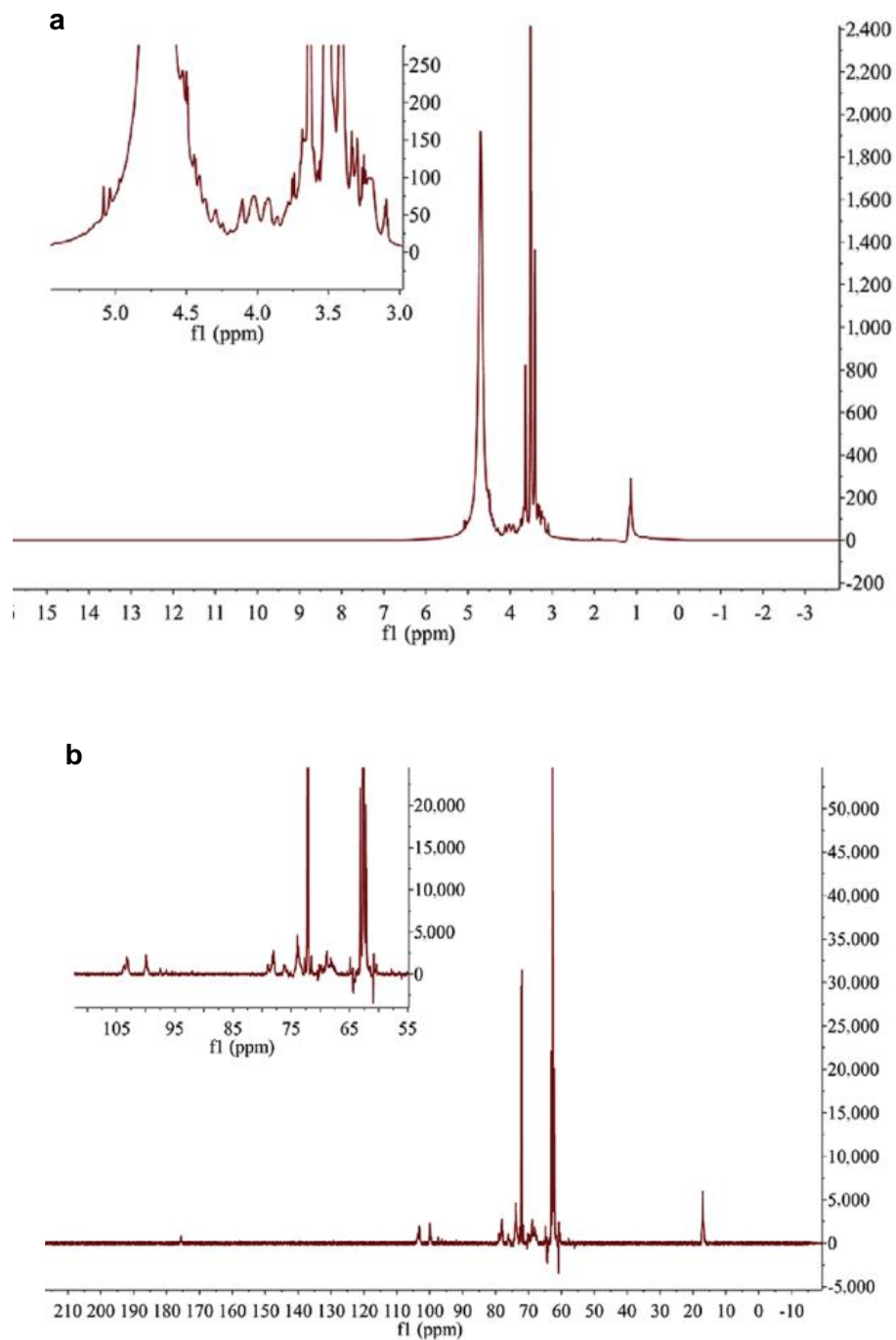


**Gambar 6. Spektrum FTIR ulvan** (Zhao dkk., 2020)

Spektroskopi NMR satu dan dua dimensi digunakan untuk mengkarakterisasi konfigurasi anomerik dan struktur yang tepat dari ulvan. Dalam <sup>1</sup>H NMR spektrum ulvan (Gambar 7a), puncak yang kuat berada pada sekitar 4,60 ppm menunjukkan bahwa ulvan terutama mengandung ikatan β-glikosida, sedangkan sinyal lemah pada 5,01-5,52 ppm menunjukkan bahwa ulvan terdiri dari sedikit ikatan α-glikosida. Sinyal disekitar δH 1,17 ppm diidentifikasi merupakan kelompok metil dalam residu ramnosil.

Spektrum <sup>13</sup>C-NMR (Gambar 7b), dari δC 69,0 sampai 82,0 ppm ditetapkan sebagai sinyal C2-C5 dalam residu monosakarida. Sinyal pada δC 67,0-70,0 ppm dikonfirmasi adanya ikatan (1→6) glikosidik. Sinyal di sekitar δC 17,09 ppm dikonfirmasi merupakan CH<sub>3</sub> pada residu ramnosil. Selain itu, sinyal lemah pada daerah sekitar δC 175,00-176,70 ppm dikonfirmasi merupakan karbon karboksil. Spektrum <sup>13</sup>C-NMR menunjukkan terdapat karbon anomerik dalam residu piranosil (100,01-105,70 ppm). Hasil sinyal NMR satu dimensi menunjukkan adanya kesamaan pada struktur FTIR ulvan.





**Gambar 7. a.  $^1\text{H}$  NMR Ulvan; b.  $^{13}\text{C}$  NMR Ulvan (Zhao dkk., 2020)**

Karakterisasi ulvan selanjutnya menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) merupakan sejenis mikroskop yang menggunakan elektron sebagai pengganti cahaya untuk melihat benda dengan resolusi tinggi. Analisis SEM bermanfaat untuk mengetahui mikrostruktur (termasuk porositas dan bentuk retakan) benda padat. Berkas sinar elektron dihasilkan dari filamen yang

dipanaskan, disebut *electron gun* (Kroschwitz, 1990). Instrumen selanjutnya yaitu *Thermal Gravimetry Analysis* (TGA) untuk mengetahui kestabilan ulvan terkait dengan penurunan massa terhadap perlakuan suhu. Kemudian XRD untuk mempelajari sifat kristalinitas dari ulvan.

## 2.5 Tinjauan tentang Antioksidan dan Toksisitas

### 2.5.1 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya secara cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kursia, 2013). Terdapat 3 jenis antioksidan diantaranya antioksidan yang berasal dari dalam tubuh, biasanya berupa enzim katalase, glutathion peroksidase (GSH.Prx), superoksida dismutase (SOD), asam urat dan ubiquinol. Antioksidan yang berasal secara alami biasanya diperoleh dari tanaman atau hewan contohnya tokoferol, vitamin C, polyphenol, indol, monoterpen, katekin, enzim, flavonoid dan karatenoid (Pokorni, 2001). Serta terdapat pula antioksidan sintetik yang biasanya berasal dari bahan-bahan kimia seperti *butylated hidroksianisol* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *Tertiary-Butylhydroquinone* (TBHQ) yang ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak (Kursia, 2013).

Jenis antioksidan tersebut dapat menghambat atau memperlambat stress oksidatif pada molekul target atau radikal bebas. Radikal bebas adalah atom yang tidak memiliki pasangan elektron dipermukaan kulit terluarnya. Secara teoritis radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen. Radikal bebas mempunyai reaktivitas yang sangat tinggi dan mudah bereaksi dengan molekul lain seperti DNA, protein, karbohidrat dan molekul lainnya (Muawanah, 2015).

Radikal bebas dianggap sangat berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektron. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel. Kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas antara lain kerusakan membran sel, protein, DNA dan lipid. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti katarak, kanker, arteriosklerosis dan proses penuaan (Muhilal, 1991).

Pengujian aktivitas antioksidan secara umum biasanya menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil). Molekul DPPH merupakan radikal bebas yang stabil akibat delokalisasi elektron pada keseluruhan molekul, sehingga molekul DPPH tersebut tidak dimerisasi. Delokalisasi elektron ini akan memberikan warna ungu dalam larutan metanol yang terukur pada Panjang gelombang 515 nm (Molyneux, 2004).

Senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, ditandai dengan semakin memudarnya warna ungu. Parameter untuk menghasilkan interpretasi dengan pengujian adalah  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*). Jika  $IC_{50} < 50$  ppm maka daya antioksidan sangat kuat,  $IC_{50}$  50-100 daya antioksidan kuat,  $IC_{50}$  101-250 daya antioksidan sedang dan lemah apabila  $IC_{50}$  250-500 ppm.  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. (Molyneux, 2004).

### 2.5.2 Toksisitas dengan Metode BSLT

Salah satu metode yang digunakan untuk skrining awal tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker adalah uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. Metode yang menggunakan larva udang dikenal dengan sebutan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). BSLT merupakan salah satu metode toksisitas yang bertujuan untuk menelusuri senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metode ini dapat digunakan sebagai *bioassay-guided fractionation* dari bahan alam karena mudah, cepat, murah dan cukup akurat. Selain itu hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker (Meyer dkk., 1982).

Pengujian terhadap kadar toksisitas dilakukan dengan mengamati tingkat kematian (mortalitas) yang ditimbulkan oleh senyawa terhadap larva udang jenis *artemina salina* Leach. Kemudian dilakukan pengujian dengan menentukan deret konsentrasi terlebih dahulu. Sepuluh ekor Nupli *Artemia* sp dimasukkan dalam masing-masing sampel pada setiap seri konsentrasi dan didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam. Persentase kematian didapatkan dengan cara menghitung mortalitas Nauplii *Atermia* sp. yang terjadi setelah dilakukan pemaparan pada sampel. Kurva  $LC_{50}$  dibuat dengan nilai % penghambatan sebagai sumbu Y dan seri konsentrasi sebagai sumbu X.

Batas aktivitas biologis adalah dengan nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  (Meyer dkk., 1982). Semakin kecil nilai  $LC_{50}$  yang dimiliki senyawa maka akan semakin toksik dan semakin berpotensi untuk memiliki aktivitas biologi/efek farmakologi. Menurut Meyer dkk., (1982), suatu senyawa dapat dianggap sangat toksik apabila memiliki nilai  $LC_{50}$  dibawah 30 ppm, toksik bila memiliki nilai  $LC_{50}$  30-1000 ppm dan tidak toksik nilai memiliki nilai  $LC_{50}$  lebih dari 1000 ppm.

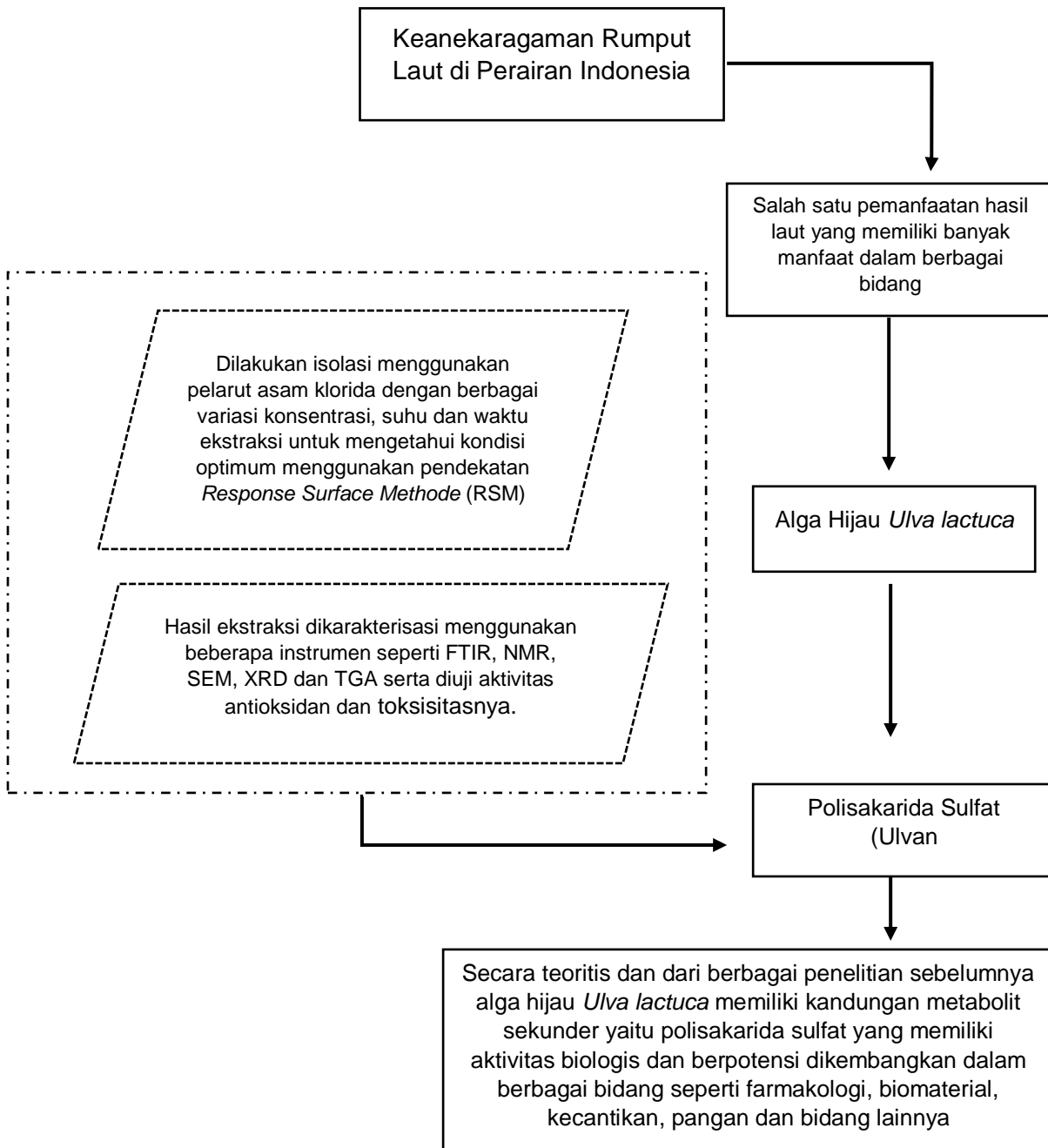
## 2.6 Kerangka Pikir

Alga merupakan salah satu biota laut yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan sehingga kedepannya dapat diaplikasikan sebagai bahan baku yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang seperti dalam kesehatan, pangan, kecantikan dan industri lainnya. Alga diketahui memiliki kandungan metabolit primer yang telah banyak penelitian mengungkapkan bahwa alga memiliki aktivitas biologis yang potensial terkait dengan bidang farmakologi seperti sebagai antioksidan, antikoagulan, immunomodulatori, antitumor, antibakteri dan aktivitas biologis lainnya. Jenis metabolit primer yang dikembangkan yaitu jenis polisakarida sulfat yang umumnya diisolasi dari alga merah dan alga coklat. Tetapi potensi polisakarida sulfat juga dapat dikembangkan dari alga hijau salah satunya pada jenis *Ulva* sp.

*Ulva* sp. merupakan salah satu kelas dalam alga hijau yang belum banyak dikembangkan dan belum banyak dikenal oleh masyarakat, meskipun demikian, *Ulva* sp memiliki kandungan polisakarida sulfat yang dikenal dengan nama ulvan yang memiliki potensi sebagai bahan biomaterial dengan berbagai karakteristik fisik dan kimia serta aktivitas biologisnya.

Penelitian ini diawali dengan mengisolasi senyawa Ulvan dari alga hijau *Ulva lactuca* melalui proses ekstraksi dengan 3 tahap yaitu perendaman dengan pelarut asam klorida, pemanasan dan pengendapan dengan etanol 96% untuk menghasilkan ekstrak kasar ulvan. Ekstraksi ulvan dilakukan dengan menentukan kondisi optimum (konsentrasi HCl, suhu dan waktu ekstraksi) untuk menghasilkan ekstrak kasar ulvan terbanyak yang menurut teori sekitar 29% dari berat kering sebelum ekstraksi melalui pendekatan metode respon permukaan (*Response surface methode*). Ulvan selanjutnya dikarakterisasi morfologinya dengan SEM, karakterisasi strukturnya dengan FTIR dan NMR, analisis ukuran partikel dan sifat kristalinitasnya menggunakan XRD serta analisis stabilitas termal menggunakan TGA. Kemudian dilakukan analisis proksimat, kadar sulfat dan kandungan gula

total. Terakhir dilakukan uji aktivitas biologis yaitu uji antioksidan metode DPPH dan toksisitas dengan metode BSLT.



**Gambar 8. Kerangka Pikir**

## 2.7 Hipotesis

Berdasarkan beberapa hal yang telah diuraikan, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. dapat menentukan konsentrasi HCl, suhu dan waktu ekstraksi optimum dalam proses ekstraksi ulvan dari alga hijau *Ulva lactuca* dengan menggunakan metode *Response Surface Methode* (RSM).
2. dapat menentukan rendemen, kadar gula total dan kadar sulfat dari ulvan hasil optimasi,
3. dapat menentukan karakteristik ulvan hasil optimasi menggunakan FTIR, NMR, SEM, XRD dan TGA,
4. dapat menganalisis sifat antioksidan dan toksisitas dari ulvan.