

**ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI STRUKTUR
SENYAWA FUKOIDAN DARI ALGA COKLAT *Sargassum
polycystum* YANG DIPEROLEH DARI PERAIRAN
KABUPATEN TAKALAR**

ISOLATION, PURIFICATION AND STRUCTURAL
CHARACTERIZATION OF FUCOIDAN FROM BROWN
ALGAE *Sargassum polycystum* COLLECTED FROM
TAKALAR WATERS

ARIANSYAH

N012211046



**PROGRAM STUDI MAGISTER FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI STRUKTUR
SENYAWA FUKOIDAN DARI ALGA COKLAT *Sargassum
polycystum* YANG DIPEROLEH DARI PERAIRAN
KABUPATEN TAKALAR**

Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ARIANSYAH

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI STRUKTUR
SENYAWA FUKOIDAN DARI ALGA COKLAT *Sargassum
polycystum* YANG DIPEROLEH DARI PERAIRAN
KABUPATEN TAKALAR**

Disusun dan diajukan oleh

ARIANSYAH

NIM N012211046

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Magister Program Studi Magister Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

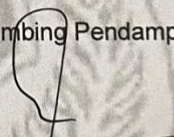
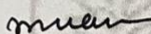
Pada tanggal: 13 Agustus 2024

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

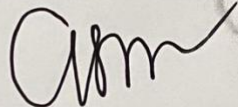


Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau
NIP. 19670319 199203 2 002

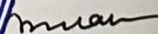
Prof. Dr. apt. Elly Wahyudin, DEA.
NIP. 1956014 198601 2 001

Ketua Program Studi Magister
Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



apt. Muhammad Aswad, Ph. D.
NIP. 19800101 20031 2 1004



Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ariansyah
NIM : N012211046
Program studi : Farmasi
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi Struktur Senyawa Fukoidan dari Alga Coklat *Sargassum polycystum* yang Diperoleh dari Perairan Kabupaten Takalar

adalah tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain bahwa tesis yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis hasil ini karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 2024
Yang menyatakan,



Ariansyah
N012211046

PRAKATA

Alhamdulillah rabbil'alamiin, puji syukur kepada Allah S.W.T. karena atas rahmat, kasih sayang dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagai syarat memperoleh gelar magister di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Tak lupa penulis mengucapkan salam dan shalawat kepada baginda Rasulullah Muhammad S.A.W. yang menjadi rahmatan lil a'lamin bagi setiap ummat dimuka bumi ini.

Dalam kesempatan kali ini, penulis juga ingin menyampaikan bahwasan ilmu atau pengetahuan yang diperoleh adalah titipan dan akan dipertanggung jawabkan diakhirat kelak dan semoga apa yang telah tertulis dalam penelitian ini dapat bermanfaat dunia dan akhirat dan membuat penulis semakin tawaddu akan tambahan ilmu yang diperoleh selama menempuh pendidikan. Satu prinsip yang selalu ditanamkan dalam diri bahwa sebaik-baiknya manusia yang paling bermanfaat dan tidak menyusahkan orang lain. Semoga menjadi motivasi bagi penulis secara pribadi.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun tesis ini begitu banyak kendala yang penulis alami. Namun, karena adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, akhirnya penulis mampu menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Terkhusus kepada Allah S.W.T atas segala limpahan rahmat, kasih sayang, kemudahan dan pertolongan yang diberikan kepada penulis

hingga hari ini dan tak lupa Rasulullah Muhammd S.A.W. atas limpahan keberkahan untuk kehidupan dunia dan akhirat kelak.

2. Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau dan Prof. Dr. apt. Elly Wahyudin, DEA. selaku pembimbing yang telah memberi masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.
3. Prof. Yulia Yusrini Djabir, MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt., Prof. Andi Dian Permana, S. Si., M. Si., Ph.D, Apt., dan bapak Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku tim Komisi Penguji yang telah memberikan banyak kritik dan saran yang sangat membantu dalam penyusunan tesis ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, Bapak-Ibu dosen, khususnya dosen Penasihat Akademik (PA) Prof. Dr. rer-nat. apt. Marianti A. Manggau dan bapak apt. Muhammad Aswad, M.Si, Ph.D. selaku ketua program studi magister serta seluruh staf karyawan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah mendidik, memberikan sarana dan memotivasi penulis dari awal memasuki bangku kuliah hingga saat ini.
5. Terkhusus kepada prof. Dr. Elly Wahyuddin dan Ibu Dr. rer-nat. Elmi Zainuddin yang telah memberikan semangat, bantuan dan solusi sehingga penulis mampu menyelesaikan studi dan penelitian ini.
6. Kepada adik-adik mahasiswa S1 sekaligus rekan penelitian yaitu Destia, Kansul, Julianti, Vitha, dan Eka yang telah saling membantu dalam menyelesaikan semua tahap-tahap proses penelitian.
7. DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst) yang telah memberikan beasiswa pendidikan magister hingga penulis dapat menyelesaikan studi.

8. Terkhusus saya ucapkan terima kasih kepada orangtua Ummi Nurhayati dan Bapak Abdullah, mertua mama Marasia, Ibu ustadz dan bapak ustadz atas segala doa, semangat, dukungan yang telah diberikan, serta saudara-saudara penulis yaitu kaka Herman, kaka Fitri, kaka Ismail, adik alam, adik fita dan seluruh keluarga yang selalu memberi semangat dan dukungan.
9. Terkhusus buat istri tercinta, hanan Emilia. Terima kasih atas doa, dukungan dan semangat sehingga peneliti mampu bertahan dan menyelesaikan tesis ini.
10. Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Muhammad Nur Amir, bapak Habibi, dan Ibu Syamsiah atas dukungan semangat dan bantuannya dalam proses penelitian ini.
11. Rekan-rekan magister pascasarjana Farmasi Unhas yang telah banyak membantu, khususnya, Frederika Tandililing, Anwar Sam, Mukarram Mudjahid, Alghifary, Stefani, kak Mita, rekan-rekan DAAD dan adik-adik asisten biofarmasi dan farmakologi.
12. Semua pihak yang terlibat, yang tidak sempat tersebut namanya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun, di dunia tak ada satupun yang sempurna karena kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk meningkatkan kualitas dari hasil penelitian penulis. Akhir kata, semoga semoga hasil perjuangan dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan menjadi amal jariyah bagi penulis dan orang-orang terlibat didalamnya.

Makassar,

2024

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ariansyah', written in a cursive style.

Ariansyah

ABSTRAK

ARIANSYAH. Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi Struktur Senyawa Fukoidan dari Alga Coklat *Sargassum polycystum* yang Diperoleh dari Perairan Kabupaten Takalar

(Pembimbing: Marianti A. Manggau dan Elly Wahyudin)

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat unik dengan bioaktivitas beragam, seperti antikoagulan, antioksidan, antikanker, antivirus, dan antiinflamasi. Bioaktivitas dan struktur fukoidan bergantung pada habitat dan metode ekstraksinya. Senyawa fukoidan diisolasi dari alga coklat *Sargassum polycystum* yang diperoleh dari perairan kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan, Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, menganalisis pengaruh perbedaan waktu dan suhu, mempurifikasi, dan mengkarakterisasi senyawa fukoidan dari alga coklat. Fukoidan diisolasi melalui beberapa tahap seperti maserasi, ekstraksi, hidrolisis dan pemurnian. Selanjutnya, fukoidan dimurnikan dan dihidrolisis dengan metode asam-basa dan dikarakterisasi menggunakan FTIR, HPLC, dan NMR. Rendamen tertinggi fukoidan adalah $2,70\% \pm 2,64\%$ pada suhu $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Spektrum FTIR pada posisi 3.441 cm^{-1} , 1.257 cm^{-1} 1.633 cm^{-1} secara berurutan mengkonfirmasi senyawa karbohidrat dari gugus O-H, ester sulfat dari ikatan S=O, dan asam uronik dari ikatan C=C. Hasil analisis komposisi monosakarida dengan HPLC menghasilkan 3 kromatogram yang tersisa pada waktu retensi (Rf) 11,878 detik, 17,481 detik, dan 19,887 detik, yang jelas terdiri dari monomer fukosa (Rf. 11,878 detik) dan monomer lain, dan kemungkinan mirip dengan fukosa standar (Rf. 11,982 detik). Hasil analisis spektrum ^1H NMR, dengan sinyal $\delta 5,28\text{ ppm}$, $\delta 4,86\text{ ppm}$ $1[\text{H}]$, menunjukkan adanya $\alpha\text{-L-Fucose}$ dan 3-linked $\alpha\text{-L-Fucose}$. Spektrum fukoidan dari proton cincin (H-2 hingga H-5) pada sinyal $\delta 3,28\text{ ppm}$ sampai $\delta 4,37\text{ ppm}$ menunjukkan adanya berbagai jenis gugus fukosa sulfat, dan sinyal muncul pada $\delta 1,25\text{ ppm}$ sampai $\delta 2,54\text{ ppm}$ mendeteksi L-fukopiranosa (L-FucP) dari H-6 sinyal proton termetilasi.

Kata Kunci: Fukoidan, *Sargassum polycystum*, FTIR, HPLC, dan NMR

ABSTRACT

ARIANSYAH. Isolation, Purification and Structural Characterization of Fucoidan from Brown Algae *Sargassum Polycystum* Collected from Takalar Waters

(Supervisor: Marianti A. Manggau dan Elly Wahyudin)

Fucoidan is a unique sulfated polysaccharide with diverse bioactivities, including anticoagulant, antioxidant, anticancer, antiviral, and anti-inflammatory effects. The bioactivity and structure of fucoidan depend on its habitat and extraction method. Fucoidan was isolated from the brown algae *Sargassum polycystum*, collected from the waters of Takalar Regency, South Sulawesi, Indonesia. This research aims to isolate, analyze different times and temperatures, purify, and characterize fucoidan compounds from brown algae. Fucoidan was isolated through several stages, including maceration, extraction, hydrolysis, and purification. Fucoidan was purified and hydrolyzed using the acid-base method and characterized using FTIR, HPLC, and NMR. The highest yield of fucoidan was $2.70\% \pm 2.64\%$ at 80°C . The FTIR spectrum at bands 3.441 cm^{-1} , 1.257 cm^{-1} , and 1.633 cm^{-1} confirmed the presence of carbohydrate compounds from the O-H group, sulfate ester from the S=O bond, and uronic acid from the C=C bond, respectively. The analysis of monosaccharide composition using HPLC detected three chromatograms at retention times (Rf) of 11.878 s, 17.481 s, and 19.887 s, clearly indicating the presence of a fucose monomer (Rf 11.878 s) and other monomers similar to standard fucose (Rf 11.982 s). Furthermore, the ^1H NMR spectrum, with signals appearing at $\delta 5.28\text{ ppm}$ and $\delta 4.86\text{ ppm}$, indicated the presence of $\alpha\text{-L-fucose}$ and 3-linked $\alpha\text{-L-fucose}$. The fucoidan spectrum from ring protons (H-2 to H-5) at signals of $\delta 3.28\text{ ppm}$ to $\delta 4.37\text{ ppm}$ indicates the presence of various types of fucose sulfate groups, and the signal appearing at $\delta 1.25\text{ ppm}$ to $\delta 2.54\text{ ppm}$ confirmed L-fucopyranose (L-FucP) of H-6 methylated proton.

Keywords: Fucoidan, *Sargassum polycystum*, FTIR, HPLC, and NM

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iii
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	4
I.3. Tujuan Penelitian.....	4
I.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1. Uraian Umum Alga Coklat.....	6
II.1.1. Alga Coklat <i>Sargassum polycystum</i>	6
II.1.2. Klasifikasi Alga Coklat.....	7
II.1.3. Morfologi Alga Coklat.....	8
II.2. Senyawa Fukoidan.....	9
II.2.1. Manfaat Senyawa Fukoidan.....	9
II.2.2. Struktur Senyawa Fukoidan.....	10

II.3. Karakterisasi Struktur Senyawa Fukoidan.....	11
II.3.1. FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy).....	11
II.3.2. HPLC (High Performance Liquid Chromatography).....	12
II.3.3. ¹ H-NMR (Nuclear Magnetic Resonance).....	13
BAB III. METODE PENELITIAN.....	16
III.1. Rencana dan Lokasi Penelitian.....	16
III.2. Penyiapan Alat dan Bahan.....	16
III.3. Pengambilan dan Penyiapan Sampel.....	17
III.4. Identifikasi Morfologi Sampel.....	17
III.5. Isolasi Senyawa Fukoidan.....	17
III.5.1. Maserasi dan Pengendapan Serbuk Alga Coklat.....	17
III.5.2. Isolasi Senyawa Fukoidan.....	18
III.5.3. Pengenceran dan Penyaringan Fukoidan.....	18
III.6. Pemurnian Senyawa Fukoidan.....	19
III.7. Hidrolisis Senyawa Fukoidan.....	19
III.8. Karakterisasi Struktur Senyawa Fukoidan.....	19
III.8.1. Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR.....	19
III.8.2. Analisis Komposisi Monosakarida dengan HPLC.....	20
III.8.3. Analisis Struktur Anomerik dengan ¹ H-NMR.....	20
III.9. Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan.....	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
IV.1. Pengambilan dan Penyiapan Sampel Alga Coklat.....	22
IV.2. Identifikasi Karakter dan Morfologi Alga Coklat.....	23

IV.3. Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Fukoidan.....	23
IV.4. Hasil Rendamen Fukoidan dari Variasi Suhu dan Waktu.....	25
IV.5. Pemurnian dan Hidrolisis Senyawa Fukoidan.....	26
IV.6. Karakterisasi Senyawa Fukoidan.....	28
IV.6.1. Analisis FTIR Senyawa Fukoidan.....	28
IV.6.2. Analisis ¹ H-NMR Komponen Senyawa Fukoidan.....	30
IV.6.3. Analisis HPLC Komponen Senyawa Fukoidan.....	32
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1. Kesimpulan.....	34
V.2. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Rendamen senyawa fukoidan <i>Sargassum polycystum</i> dari beberap suhu ekstraksi.....	25
Tabel 2. Analisis FTIR gugus fungsi senyawa fukoidan <i>Sargassum</i> <i>polycystum</i>	25
Tabel 3. Komposisi monosakarida senyawa fukoidan <i>Sargassum</i> <i>polycystum</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Alga coklat <i>Sargassum polycystum</i>	7
Gambar 2. Struktur senyawa fukoidan <i>Sargassum polycystum</i>	10
Gambar 3. Ekstraksi dan inkubasi dengan beberapa variasi konsentrasi etanol 99%, 30% dan 70%.....	24
Gambar 4. Kromatogram fukoidan <i>Sargassum polycystum</i> tanpa hidrolisis.....	27
Gambar 5. Analisis spektrum FTIR senyawa fukoidan <i>Sargassum polycystum</i>	28
Gambar 6. Analisis HPLC komposisi monosakarida senyawa fukoidan <i>Sargassum polycystum</i>	29
Gambar 7. Analisis spektrum ¹ H NMR senyawa fukoidan <i>Sargassum polycystum</i>	31
Gambar 8. Pengambilan sampel.....	54
Gambar 9. Pencucian sampel.....	55
Gambar 10. Pengeringan sampel.....	55
Gambar 11. Penghalusan sampel.....	56
Gambar 12. Pengayakan Sampel.....	56
Gambar 13. Penimbangan sampel.....	57
Gambar 14. Maserasi alga coklat.....	57
Gambar 15. Sentrifugasi larutan sampel.....	58
Gambar 16. Ekstraksi panas dengan variasi suhu.....	58

Gambar 17. Pemisahan alginat dengan CaCl ₂	59
Gambar 18. Pengenceran bertingkat 99%, 30% dan 70%.....	59
Gambar 19. Hasil pemurnian fukoidan.....	59
Gambar 20. Hidrolisis fukoidan.....	60
Gambar 21. Standar monosakarida.....	60
Gambar 22. Analisis FTIR dengan software Origin.....	61
Gambar 23. Analisis NMR dengan software Mesrenofa.....	61
Gambar 23. Analisis NMR dengan software Mesrenofa.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Skema kerja penelitian.....	51
Lampiran 2. Perhitungan pengenceran.....	53
Lampiran 3. Gambar penelitian.....	54
Lampiran 4. Surat keterangan identifikasi alga coklat <i>Sargassum polycystum</i>	63

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

FTIR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
TLC	: Thin Layer Chromatography
BRIN	: Badan Riset Nasional
MIPA	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
MHz	: Megaheartz
μm	: Mikrometer
μmL	: Mikromililiter
μL	: Mikroliter
CaCl_2	: Calcium Chloride
D_2O	: Deuterium Oxide
HCl	: Hydrogen Chloride
H_2SO_4	: Sulfuric Acid
Kbr	: Kalium Bromide
NaOH	: Sodium Hydroxide
TFA	: Trifluoroacetic Acid
O-H	: Hidroksil
S=O	: Sulfat
C-S	: Sulfida
C=O	: Karboksill
C=C	: Karbonil

C-H	: Alkil
PPM	: Part Per Million
Rt	: Retention Time ^{xvi}
WITA	: Waktu Indonesia Tengah
Gr	: Gram
RPM	: Revolution Per Minute

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Alga laut telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang ilmu pengetahuan seperti kedokteran, farmasi, kelautan dan perikanan. Alga laut telah menarik banyak perhatian selama bertahun-tahun dalam ilmu farmasi untuk penemuan senyawa bioaktif. Saat ini, alga laut telah banyak dikembangkan sebagai obat, kosmetik, produk nutrasetikal, pangan fungsional, dan untuk merancang sistem penghantaran obat [1].

Alga laut digolongkan menjadi tiga jenis berdasarkan fotosintesisnya, yaitu alga laut hijau (Chlorophyta), alga laut coklat (Phaeophyta), dan alga laut merah (Rhodophyta) [2]. Alga coklat yang ditemukan di perairan Indonesia didominasi oleh *Sargassum sp.* Rumput laut coklat, jenis alga paling besar dan kompleks di dunia, biasanya berwarna kuning kecokelatan. Sekitar 1,800 spesies ganggang laut coklat tersebar di lautan tropis hingga wilayah lautan kutub di dunia [3,4].

Alga coklat, termasuk dalam jenis *Sargassum sp.*, *Turbinaria sp.*, dan *Padina sp.*, mengandung sejumlah besar senyawa bioaktif seperti polisakarida (fukoidan), alginat, dan laminarin yang menyumbang 40-80% dari komponen ekstrak alga [4]. Kandungan dan struktur fukoidan yang diperoleh dari berbagai lokasi bergantung pada spesies habitat dan musim panen [5]. Polisakarida sulfat tersusun atas makromolekul bioaktif kompleks

yang ditemukan di alam dan berbagai organisme termasuk mamalia dan invertebrata [6].

Sampai saat ini, penelitian menunjukkan bahwa polisakarida yang diisolasi dari spesies alga yang berbeda kemungkinan memiliki struktur polisakarida yang berbeda, keragaman struktur yang unik dan potensi aktivitas farmakologi baru. *Sargassum polycystum* yang telah diisolasi sebelumnya menunjukkan kandungan fukosa paling tinggi, diikuti dengan galaktosa, mannosa dan xilosa secara garis besar, namun perlu dianalisis lebih mendalam terkait pola strukturnya yang beragam khususnya posisi alfa, beta, karbon kiral C2-C4, posisi rantai sulfat (-SO₃-) yang beragam dari *Sargassum sp* yang kemudian dapat menghasilkan perbedaan aktivitas. Sehingga dapat disimpulkan bahwa eksplorasi lebih dalam struktur dan aktivitas untuk melihat kemungkinan perbedaan senyawa fukoidan yang diisolasi meskipun dari spesies yang sama [7,8,9,10,11].

Fukoidan terdiri dari sekelompok polisakarida sulfat yang mengandung L-fukosa dan sejumlah kecil galaktosa, glukosa, xilosa, mannosa, dan asam uronat [10,11], yang dapat diekstraksi dari rumput laut coklat seperti *Sargassum polycystum*. dan *Fucus sp.* [11,12]. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan jenis dan konsentrasi monosakarida yang diperoleh sangat dipengaruhi oleh habitat, teknik ekstraksi, musim panen, dan tingkat kematangan alga [13,14,15]. Berat molekul dan karakteristik struktur fukoidan juga bervariasi tergantung pada lokasi geografis, musim panen, dan spesies [12,13,14,16].

Banyak penelitian yang melaporkan berbagai aktivitas biologis dari fukoidan [5,17] seperti antikoagulan [18], anti-tumor [19], anti-inflamasi [20], anti-diabetes [21], antioksidan [22], anti-virus [23], dan anti-trombotik [24], anti-tumor, imunomodulator [25], anti-gastritis [26]. Aktivitas biologis fukoidan dapat dipengaruhi oleh berat molekul, posisi dan kandungan gugus sulfat [27], dan komposisi gula monosakarida, asam glukuronat dan kandungan fukosa [27,28,29], dan fukoidan dengan berat molekul rendah memiliki kelarutan dan aktivitas biologis lebih baik [24].

Karakteristik struktural fukoidan kemungkinan besar bergantung pada teknik ekstraksi [30], musim panen, lokasi geografis spesies alga laut, [4], dan kematangan alga laut (31). Berat molekul fukoidan juga dapat bervariasi tergantung pada musim panen, lokasi geografis dan spesies [13,14,15,16]. Fukoidan dapat diekstraksi dan dimurnikan dari alga coklat melalui berbagai tahapan proses yang melibatkan pengenceran asam-basa, pemanasan, dan teknik enzimatik. Banyak tahap pemurnian dan fraksinasi menggunakan volume pelarut yang besar dan waktu ekstraksi yang lama digunakan untuk mendapatkan fukoidan murni [32].

Berbagai teknik analisis seperti spektroskopi thin layer chromatography (TLC), fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, high performance liquid chromatography (HPLC) dan nuclear magnetic resonance (NMR) dapat digunakan untuk menyelidiki dan mendeteksi komponen senyawa-senyawa kimia. FTIR digunakan untuk menentukan gugus fungsi karakteristik dari molekul [33]. Adapun HPLC digunakan untuk

hidrolisis dan menganalisis komposisi monosakarida. Spektroskopi NMR digunakan untuk mengidentifikasi molekul, mengukur gugus fungsi, dan mendeteksi pengotor dan komponen kecil, dan NMR juga dapat memberikan komposisi urutan rinci, informasi struktur, distribusi, berat molekul dan pola substitusi senyawa [34].

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, memurnikan dan mengkarakterisasi senyawa fukoidan dari alga coklat *Sargassum polycystum* yang diperoleh dari perairan kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan, Indonesia. Pada proses isolasi dilakukan beberapa modifikasi suhu karena dapat mempengaruhi jumlah rendamen yang diperoleh. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat terhadap informasi penelitian baru yang belum dilaporkan dalam penelitian lain.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana mengisolasi senyawa fukoidan dari alga coklat *Sargassum polycystum* ?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan waktu dan suhu terhadap rendamen fukoidan dari alga coklat *Sargassum polycystum* ?
3. Bagaimana mempurifikasi dan menghidrolisis senyawa fukoidan yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum polycystum* ?
4. Bagaimana mengkarakterisasi senyawa fukoidan yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum polycystum* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi senyawa fukoidan dari alga coklat *Sargassum polycystum*.

2. Menganalisis pengaruh perbedaan waktu dan suhu terhadap rendamen fukoidan dari alga coklat *Sargassum polycystum*
3. Mempurifikasi dan menghidrolisis senyawa fukoidan yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum polycystum*.
4. Mengkarakterisasi senyawa fukoidan yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum polycystum*.

D. Manfaat Penelitian

Alga coklat merupakan salah satu jenis ganggang laut yang telah terbukti memiliki banyak aktivitas biologis seperti antioksidan, antikanker, anti-tumor, anti-inflamasi, anti-imunomodulator dan antikoagulan. Spesies Alga coklat yang paling banyak ditemukan di Indonesia yaitu *Sargassum polycystum* yang mengandung komponen polisakarida sulfat sebagai penyusun utama. Polisakarida mengandung senyawa bioaktif dikenal sebagai fukoidan. Perbedaan habitat dan teknik ekstraksi dari alga coklat akan mempengaruhi struktur, kadar komposisi, dan bioaktivitasnya sebagai obat. Sehingga penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi baru tentang alga coklat *Sargassum polycystum* yang berasal dari perairan laut kabupaten Takalar, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia yang belum dilaporkan. Kemudian, hasil penelitian ini dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut baik sebagai obat, nutrasetikal, makanan fungsional atau dalam merancang sistem penghantaran obat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II. 1. Uraian Umum Alga Coklat

II.1.1. Alga coklat (*Sargassum sp*)

Alga Coklat merupakan kekayaan budidaya laut yang banyak menarik perhatian karena manfaatnya yang melimpah dan banyak tersebar diperairan laut Indonesia. Alga coklat berbentuk seperti benang atau lembaran, menyerupai tumbuhan tingkat tinggi dengan bagian bagian serupa daun, akar dan batang. *Sargassum* merupakan bagian dari kelompok rumput laut coklat (Phaeophyceae) dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*. *Sargassum* terdiri dari kurang lebih 400 spesies di dunia. Spesies *Sargassum sp.* yang ada di Indonesia terdiri atas: *S. duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare* dan *S. polyceratium* [35]. *Sargassum sp.* melimpah di daerah tropis dan sub tropis di seluruh dunia dan menghasilkan metabolit seperti seperti sargachromenol, plastoquinones, steroid, gliserida, terpenoid, polisakarida, polifenol, dan asam sargaquinoic, yang memiliki beragam aktivitas, sehingga berpotensi untuk diekplorasi sebagai bahan baku obat untuk berbagai penyakit [36].

Sargassum sp dicirikan dengan warna coklat, hasil fotosintesis dalam bentuk laminaran atau polisakarida yang digunakan sebagai cadangan karbohidrat bagi fitoplankton dan algin serta adanya flagel. Warna pada alga coklat karena pigmen flucoxantin, klorofil a dan c,

fucoxantin, xantofil. Dengan pigmen paling dominan adalah xantofil yang menyebabkan alga berwarna coklat. Beberapa spesies alga coklat adalah *sargassum* sp, *Laminaria* sp, *Furus* sp, *Turbinaria* sp, *Ectocarpus* sp dan *Macrocystis* sp. Alga coklat dapat berkembang secara vegetatif dengan membelah atau fragmentasi dan secara generative dengan spora [37].

Sargassum polycystum menunjukkan kandungan sulfat yang tinggi (25.66%), karbohidrat (33.60%), protein (7.46%), dan kandungan asam uronat (1.50%). Polisakarida sulfat yang terdapat dalam rumput laut tersusun atas substitusi ester sulfat dalam residu gula. Dalam suatu penelitian menunjukkan bahwa aktivitas biologis dari rumput laut kemungkinan dikaitkan dengan senyawa fucoidan dan komponen polisakarida sulfat [38]. Dalam beberapa penelitian dijelaskan bahwa *Sargassum polycystum* menunjukkan beragam aktivitas farmakologi yaitu sebagai antibakteri [39], aktivitas anti-HIV [40], aktivitas antikanker, antiinflamasi dan aktivitas antioksidan [41].

II.1.2. Klasifikasi Alga Coklat

Spesies *Sargassum* yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Sargassum polycystum* [1,42] :

Kingdom : Chromista
 Divisi : Phaeophyta
 Kelas : Phaeophyceae
 Ordo : Fucales
 Famili : Sargassaceae



Gambar 1. *Sargassum polycystum* [42].

Genus : *Sargassum*

Spesies : *Sargassum polycystum*

II.1.3. Morfologi Alga Coklat

Sargassum polycystum C. Agardh memiliki tubuh thallus yang kompleks dan berukuran besar. Thallus terdiri dari batang utama yang dapat mencapai hingga 44 meter dan memiliki banyak cabang yang menjuntai serta cabang-cabangnya yang teratur dan tersegmentasi, dengan bentuk yang berbeda-beda. *Sargassum polycystum* memiliki daun-daun yang berbentuk lonjong dan berjumbai di sepanjang cabang-cabangnya. Daun-daun tersebut menyerupai pita yang melingkar dan bergerigi di tepinya [1,2,3,43].

Sargassum polycystum C. Agardh memiliki warna coklat kekuningan hingga kecokelatan. Namun, warna dapat bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan seperti cahaya dan nutrisi. *Sargassum polycystum* C. Agardh mengalami reproduksi seksual dan aseksual. Reproduksi seksual melibatkan pelepasan gamet jantan dan betina yang bergabung untuk membentuk zigot yang kemudian berkembang menjadi individu baru. Reproduksi aseksual dapat terjadi melalui pembentukan fragmen thallus yang kemudian tumbuh menjadi individu baru. *Sargassum polycystum* C. Agardh dapat ditemukan di perairan tropis dan subtropis di sekitar wilayah Asia Tenggara, termasuk perairan Indonesia (2,3,4,44]

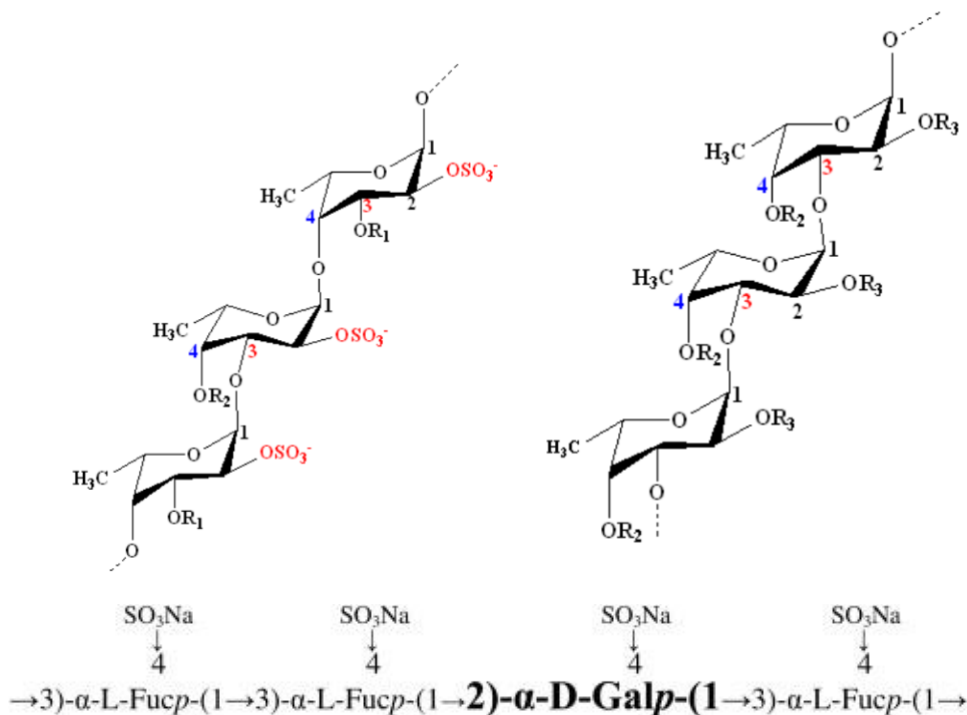
II.2. Senyawa Fukoidan

Fukoidan adalah molekul polisakarida sulfat, dan merupakan bagian dari dinding sel alga [45]. Berdasarkan struktur dan kandungan senyawanya, fukoidan adalah polisakarida kompleks [46,47] dan memiliki beragam bioaktivitas [48]. Fukoidan sebagai polisakarida sulfat mengandung monomer gula seperti galaktosa, manosa, glukosa, dan asam uronat. L-fukosa dapat melebihi 90% dari total komposisi gula fukoidan [49]. Namun, galaktosa, seperti halnya galaktofukan tersulfasi mungkin memiliki rasio serupa dengan fukosa [50]. Jenis fukoidan lain diisolasi dari invertebrata laut, yang disebut fucan tersulfasi yang mana hanya terdiri dari L-fukosa. Oleh karena itu, istilah fukoidan baru-baru ini digunakan secara khusus untuk ganggang laut yang beranekaragam karena kaya akan fukosa, khususnya berasal dari spesies ganggang coklat *Sargassum polycystum* [50].

II.2.1. Manfaat Senyawa Fukoidan

Berbagai aplikasi fukoidan dalam bidang terapeutik [49] kosmetik [50], nutraseutikal/makanan fungsional [51], diagnostik [52], dan pemberian obat [53] telah menarik perhatian akan pentingnya fukoidan, terutama dalam beberapa dekade terakhir. Secara khusus, aktivitas farmakologi fukoidan menjadikannya kandidat untuk pengobatan gangguan perdarahan [54], peradangan [55], infeksi virus [56], tumor ganas [57], dan gangguan kekebalan tubuh [58, 59, 60, 61].

II.2.2. Struktur Senyawa Fukoidan



Gambar 2. Struktur Fukoidan [62,63,64]

Fukoidan terdiri atas kelompok L-fukosa dan sulfat, komponen monosakarida utama di antaranya adalah L-fukosa-4-sulfat. Fukoidan banyak terdapat pada alga coklat dalam bentuk polisakarida heterogen dan memiliki beberapa model struktur dan variasi berat molekul [4].

Sifat kimia fukoidan sangat bervariasi menurut asal usulnya, terutama kompleksitasnya. Misalnya, fukoidan yang berasal dari rumput laut umumnya menunjukkan kerangka bercabang dan lebih tersulfasi dengan adanya banyak monomer gula selain α -L-fukosa.

Menurut model yang diusulkan oleh Cumashi *et al.* dan Ale *et al.*, struktur kimia fukoidan direpresentasikan berdasarkan asal usulnya, seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 2**. Misalnya, di fucal, fukoidan menunjukkan

rantai L-fukopiranosida yang dihubungkan dengan α -(1→4) dan α -(1→3). C-2 dan/atau C-4 (jarang pada C-3) biasanya disubstitusi dengan gugus ester sulfat (–SO–) sesuai dengan jenis ikatan glikosidik [50]. Selain itu, percabangan samping terdeteksi pada C-4, bergantian dengan gugus sulfat pada *F. serratus* dalam unit α -(1→3) L-fukopiranosida. Sebaliknya, pada *Laminariales* dan *Chordariales*, subunit fukoidan terutama dihubungkan oleh ikatan glikosidik α -(1→3). Selain itu, pada C-2, monomer gula lainnya dapat dideteksi sebagai cabang rantai samping, sedangkan ikatan ester sulfa, struktur kimianya juga dapat bervariasi dalam organisme yang sama pada gugus ester sulfat yang umum di rantai karbon C-4. Struktur kimianya juga dapat bervariasi berdasarkan metode ekstraksi yang digunakan [66].

II.3. Karakterisasi Struktur Fukoidan

II.3.1. FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

Identifikasi awal gugus fungsi fukoidan selalu dilakukan dengan memindai sampel menggunakan FT-IR pada panjang gelombang 400 dan 4000 cm^{-1} [65,66]. Fukoidan menunjukkan pita IR yang khas (misalnya, gugus O–H dari monomer monosakarida, C–H dari fukosa, regangan asimetris S=O dan C–O–S dari gugus ester sulfat, dan O–C–O dari ikatan glikosidik dan intramolekul secara berurutan pada spektrum 3421, 2940, 1221, 827 dan 1010 cm^{-1}) [67,66]. Selain itu, puncak antara 1650 dan 1800 cm^{-1} untuk gugus C=O menunjukkan fukoidan diasetilasi dan residu asam uronat [67,68,69].

Informasi penting lainnya dapat diambil dari spektrum IR, seperti posisi aksial gugus ester sulfat pada C-4 [70,71]. Pola kompleks antara 840 dan 800 cm^{-1} biasanya menunjukkan perbedaan substitusi gugus ester sulfat pada posisi C-4 dan C-2/C-3 yang paling melimpah, menunjukkan puncak untuk aksial 4 posisi C–O–S dan posisi 2/3 ekuator C–O–S [72]. Hasil IR harus dibandingkan dengan data NMR setelah dihidrolisis dan analisis metilasi untuk menentukan posisi sulfat yang tepat [73,74]. Selain itu, pita IR pada 622 dan 583 cm^{-1} dihasilkan dari deformasi sulfat O=S=O yang asimetris dan simetris [75].

Deformasi C–H anomerik juga dapat diidentifikasi dalam spektrum IR, di mana tipe β -anomer diwakili oleh puncak kecil pada 890 cm^{-1} , sedangkan analog α muncul secara teoritis pada sekitar 860 cm^{-1} , yang mungkin tumpang tindih dengan pita sulfat yang lebih kuat dalam kisaran yang sama [76,77].

Namun, informasi struktural yang diberikan dalam spektrum FT-IR mungkin tidak terlalu luas, terutama untuk penentuan gugus ester sulfat sekunder. Sinyal yang menggambarkan posisi gugus sulfat sekunder bergantung pada konformasi sebenarnya dari unit monosakarida, yang mungkin sangat terdistorsi dalam rantai bercabang dan tersulfasi berat oleh substituen di sekitarnya [78].

II.3.2. HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

HPLC digunakan untuk menganalisis dan memisahkan komponen senyawa yang terdapat pada sampel berdasarkan afinitasnya dan

bergantung pada kolom dan fase gerak yang digunakan, menyebabkan berbagai konstituen bergerak dengan kecepatan berbeda dan terpisah.

Dahulu disebut kromatografi cair tekanan tinggi karena bergantung pada pompa bertekanan tinggi untuk memungkinkan pemisahan lebih cepat. Pemisahan dengan HPLC terutama bergantung pada beberapa parameter intrinsik fase gerak yang dapat diatur seperti polaritas, laju aliran, pH, komposisi dan beberapa sifat bawaan matriks sampel, jenis dan sifat fase diam, faktor lingkungan seperti suhu dan jenis serta pengaturan detektor [79].

Komponen monosakarida pada berbagai alga laut dapat dianalisis dengan HPLC baik secara preparatif ataupun analitik. Secara preparatif, komponen monosakarida digunakan untuk melihat ada tidaknya senyawa-senyawa monosakarida yang terdapat pada sampel dengan melihat waktu retensi yang tersisa kemudian dibandingkan dengan standar monosakarida yang digunakan. Secara analitik, komponen monosakarida dapat dihitung dengan mempresentasikan jumlah monoskarida yang terdapat dalam sampel sehingga dapat diperoleh nilai dari tiap komponen yang diharapkan dan dibandingkan dengan standar monosakarida yang ada [4,41].

II.3.3. NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan informasi NMR terkait struktur fukoidan yang berbeda dari asal yang berbeda. Eksperimen NMR fukoidan satu dan dua dimensi (1D dan 2D), termasuk ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR, menunjukkan spektrum yang relatif dapat diinterpretasikan dengan

baik terkait dengan pola sulfasi dan hubungan glikosidik. Dua pendekatan biasanya diterapkan dalam eksperimen NMR untuk memperoleh informasi struktur senyawa, yaitu fraksinasi fukoidan secara atau modifikasi kimia tertentu, seperti desulfasi. Hal tersebut ditujukan untuk mengidentifikasi struktur sehingga menghasilkan NMR spektrum yang dapat ditafsirkan [80].

Keberhasilan fraksinasi senyawa fukoidan yang memiliki struktur teratur dari hasil analisis NMR telah dijelaskan oleh Bilan dkk., 2013, di mana mereka memperoleh fukoidan *Fucus* sp. dari rumput laut coklat *distichus* [81]. Fraksinasi umumnya dilakukan selama elusi fukoidan murni dari kolom penukar anion melalui mekanisme *salting out* menggunakan konsentrasi molar NaCl yang berbeda yaitu elusi gradien. Hubungan diidentifikasi antara konsentrasi NaCl dan berat molekul dan kandungan sulfat dari fraksi fukoidan yang diperoleh, sehingga memudahkan penjelasan struktur dari berbagai pecahan yang relatif sederhana [82,83].

Produksi fraksi atau fragmen oligomer dianggap sebagai alat potensial untuk penyederhanaan polimer, yaitu depolimerisasi enzimatik, sebelum eksperimen NMR. Langkah ini dapat dilakukan dengan perlakuan enzimatik terhadap fukoidan dengan enzim pendegradasi fukoidan yaitu fukoidanase [80,84]. Selain itu, penerapan fukoidanase pada fukoidan yang didesulfasi atau dideasetilasi dapat menghasilkan informasi struktural yang lebih kompleks dan berharga [85].

Desulfasi dan deasetilasi fukoidan diterapkan untuk menghasilkan senyawa yang lebih sederhana, memungkinkan perbandingan pergeseran

kimia dengan gula standar atau polimer asli, khususnya karena gugus ester sulfat menyebabkan hilangnya pelindung pada proton, dan karbon di sekitarnya muncul di bagian bawah dalam spektrum NMR [49,86,84,87].