

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK SENYAWA
BIOAKTIF FLOROTANIN DARI ALGA COKELAT
Sargassum binderi: STUDI *IN VIVO***

**IRADATULLAH
J 045 182 005**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

KARYA TULIS AKHIR

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF
FLOROTANIN DARI ALGA COKELAT *Sargassum binderi*:
STUDI *IN VIVO***

**IRADATULLAH
J 045 182 005**



*Karya Tulis Akhir ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial*

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

SEMINAR HASIL PENELITIAN

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF
FLOROTANIN DARI ALGA COKELAT *Sargassum binderi*:
STUDI *IN VIVO***

Disusun dan diajukan oleh

IRADATULLAH
NIM: J 045 182 005

MENYETUJUI

KOMISI PEMBIMBING

Pembimbing I



Prof. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D.,
Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K)
NIP. 197307022001121001

Pembimbing II



drg. Mohammad Gazali, MARS.,
Sp.B.M.M., Subsp.T.M.T.M.J. (K)
NIP. 196912121999031006

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Bedah Mulut dan Maksilofasial



drg. Andi Tajrin, M.Kes., Sp.B.M.M., Subsp.C.O.M. (K)
NIP. 197410102003121002

KARYA TULIS AKHIR

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF FLOROTANIN
DARI ALGA COKELAT *Sargassum binderi*: STUDI *IN VIVO***

Disusun dan diajukan oleh

IRADATULLAH

NIM: J 045 182 005

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 29 April 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D.,
Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K)
NIP. 197307022001121001

drg. Mohammad Gazali, MARS.,
Sp.B.M.M., Subsp.T.M.T.M.J. (K)
NIP. 196912121999031006

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin

drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D.
NIP. 198102152008011009

Ketua Program Studi Spesialis Bedah
Mulut dan Maksilofasial – FKG UNHAS

drg. A. Tahir, M.Kes., Sp.B.M.M.,
Subsp.C.O.M. (K)
NIP. 197410102003121002

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Iradatullah

NIM : J 045 182 005

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bedah Mulut dan
Maksilofasial – FKG Unhas

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis akhir yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan karya tulis akhir yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan dengan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah, dan etika pedoman penulisan karya tulis akhir tesis.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Maret 2023

Penulis



Iradatullah

NIM. J 045 182 005

PRAKATA

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji saya panjatkan kepada Allah SWT, saya bersyukur bahwa karya tulis akhir ini dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah menunjukkan jalan yang lurus kepada umat manusia. Pada kesempatan ini, perkenankan penulis untuk menyampaikan rasa hormat dan terima kasih serta penghargaan yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan perhatian selama penulis menempuh pendidikan, terutama pada proses penelitian, penyusunan hingga penyempurnaan karya tulis akhir ini.

Rasa hormat dan terima kasih serta penghargaan yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K) sebagai Pembimbing Utama dan Bapak drg. Mohammad Gazali, MARS., Sp.B.M.M., Subsp.T.M.T.M.J. (K) sebagai Pembimbing Pendamping, atas bimbingan ilmu dan arahnya pada penelitian ini maupun selama saya menempuh pendidikan.
2. Kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc. selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Bapak drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh tim pengajar pada Program Studi Bedah Mulut dan Maksilofasial yang telah memfasilitasi, membimbing dan memberikan saya ilmu selama menempuh pendidikan.

3. Kepada Bapak drg. Andi Tajrin, M. Kes., Sp.B.M.M., Subsp.C.O.M. (K), selaku Ketua Program Studi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial, dan Ibu drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K), selaku Sekretaris Program Studi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial, yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, senantiasa memotivasi dan menginspirasi penulis selama mengikuti proses pendidikan dan penelitian.
4. Kepada Bapak Dr. Mahatma Lanuru, S.T., M.Sc., Ibu Asmi Citra Marlina, S.Pi., M.Agr., Ph.D., Bapak drg. Pingky Krisna Arindra, Sp.B.M.M., Subsp.Ped.O.M (K), dan Ibu Dr. drg. Nurlindah Hamrun, M.Kes., sebagai Tim Penguji Seminar Penelitian saya yang telah memberikan banyak masukan berharga dalam perbaikan arah penelitian dan Karya Tulis Akhir saya.
5. Kepada Ibunda Prof. Dr. drg. Andi Mardiana Adam, MS., saya mengucapkan terima kasih karena telah memberikan kepercayaan dan motivasi kepada saya.
6. Kepada Bapak drg. Abul Fauzi, Sp.B.M.M., Subsp.T.M.T.M.J. (K) selaku Penasehat Akademik, terima kasih atas bimbingan, nasehat, dan suri tauladan yang baik kepada saya.
7. Kepada Senior saya (drg. Husni Mubarak, drg. Rahmad R., drg. Fadel R, drg. Arwiny W., dan drg. Faisal) dan Junior Residen Bedah Mulut dan Maksilofasial, terutama teman-teman seperjuangan Angkatan Dua (drg. Rahmady, drg. Trio Refliandi, drg. Prisilla M.D.P, drg. Nurmaifah, drg. R. Amelia, drg. Hidayat Sakti, drg. Fadli Rum, dan drg. Husnul Basyar), kalian sangat hebat dan membanggakan, terima kasih atas saling berbagi ilmu, dan saling memberi motivasi selama menempuh pendidikan.

Akhirnya, karya tulis akhir ini penulis persembahkan kepada kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda M. Suyuti Latief, S.Sos. dan Ibunda St. Nurjannah, saya mengucapkan terima kasih dan sembah sujud atas doa, kasih sayang, dan pengorbanan mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan saya yang besar dan ucapan terima kasih juga kepada istri tersayang drg. Tri Aminah Saptiana, kedua mertua tercinta, Ayahanda H. Safri dan Ibunda Hj. Suriani, dan seluruh keluarga terutama adik bungsu tersayang, Sunarti, S.TP atas motivasi dan dukungannya sebagai *support system* yang tak ternilai. Penulis sadar bahwa karya tulis akhir ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, besar harapan penulis kepada pembaca atas kontribusinya baik berupa saran dan kritik yang sifatnya membangun demi kesempurnaan karya tulis akhir ini. Akhirnya semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya kepada kita semua dan informasi yang disajikan dalam karya tulis akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua, *Aamiin*.

Makassar, 20 Maret 2023



Iradatullah

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF
FLOROTANIN DARI ALGA COKELAT *Sargassum binderi*:
STUDI *IN VIVO***

ABSTRAK

Latar belakang: Florotanin adalah grup fenol dari alga cokelat, yang menunjukkan karakteristik sangat mirip dengan tanin yang diduga memiliki efek anti inflamasi secara lokal. Florotanin hanya diproduksi oleh alga cokelat melalui jalur biosintesis oleh malonat asetat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gejala klinis, kematian, dosis toksisitas akut (LD50), dosis aman, dan pengaruh terhadap berat badan pada pemberian ekstrak florotanin alga cokelat *Sargassum binderi* (EFSB) pada tikus jantan *Rattus norvegicus*.

Metode: Uji toksisitas akut dilakukan pada 25 ekor tikus jantan *Rattus norvegicus* yang terbagi ke dalam lima kelompok perlakuan sampel ekstrak senyawa bioaktif florotanin *Sargassum binderi* (I: kontrol negatif CMC 1%; II: perlakuan EFSB 0.625 mg/kg BB; III: perlakuan EFSB 1.25 mg/kg BB; IV: perlakuan EFSB 2.5 mg/kg BB; dan V: perlakuan EFSB 5 mg/kg BB).

Hasil: Pengamatan efek uji toksisitas akut melalui gejala klinis yaitu tidak ditemukan adanya gejala-gejala toksik yang terjadi dan tidak pula ditemukan adanya kematian pada semua kelompok dosis hewan uji. Hasil penelitian dengan pengukuran berat badan menunjukkan terjadi kenaikan berat badan. Dosis LD50 tidak dapat ditentukan, dengan dosis aman florotanin *Sargassum binderi* yaitu 1.25 gram/kg BB.

Kesimpulan: Tidak terdapat efek toksisitas akut senyawa bioaktif florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* pada hewan uji tikus jantan *Rattus norvegicus*.

Kata kunci: Alga cokelat, florotanin, *Sargassum binderi*, uji toksisitas akut.

**ACUTE TOXICITY TEST OF THE BIOACTIVE COMPOUND OF
PHLOROTANNIN EXTRACT FROM BROWN ALGAE *Sargassum binderi*:
IN VIVO STUDY**

ABSTRACT

Background: Phlorotannin are a phenol group of brown algae, which exhibit characteristics very similar to tannins which are thought to have local anti-inflammatory effects. Phlorotannin are only produced by brown algae through the biosynthetic pathway by malonate acetate. The goal of this study was to assess clinical symptoms, mortality, acute toxicity dose (LD50), safe dose, and the influence of phlorotannin extract of brown algae *Sargassum binderi* (EFSB) on body weight in male rats, *Rattus norvegicus*.

Methods: Acute toxicity test was carried out on 25 male *Rattus norvegicus* rats which were divided into five treatment groups of the sample extract of the phlorotannin bioactive compound *Sargassum binderi* (I: negative control CMC 1%; II: EFSB treatment 0.625 mg/kg BW; III: EFSB treatment 1.25 mg/kg BW; IV: EFSB treatment 2.5 mg/kg BW; and V: EFSB treatment 5 mg/kg BW).

Results: The effect of the acute toxicity test on clinical symptoms revealed no toxic symptoms, nor was there any death in any of the dose groups of the tested animals. The study's findings by assessing body weight revealed a rise in body weight. The LD50 dose is unknown, but a safe dose of phlorotannin *Sargassum binderi* is 1.25 gram/kg BW.

Conclusion: There is no acute toxic effect of the bioactive compound phlorotannin from the brown algae *Sargassum binderi* in male rats *Rattus norvegicus*.

Keywords: *Acute toxicity test, brown algae, phlorotannin, Sargassum binderi.*

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN KARYA TULIS AKHIR	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN KARYA TULIS AKHIR	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR	v
PRAKATA UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
1. Tujuan Umum	4
2. Tujuan Khusus	4
3. Tujuan Jangka Panjang	5
D. Manfaat	5
1. Manfaat Pengembangan Ilmu	5
2. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Alga Cokelat	7
1. Identifikasi Sargassum	10
2. Senyawa Bioaktif Sargassum	13

3. Manfaat Alga Cokelat	20
B. Uji <i>In Vivo</i>	22
1. Uji genotoksisitas	22
2. Uji karsinogenitas	23
3. Uji hemokompatibilitas	23
4. Uji implantasi	23
5. Uji iritasi	24
6. Uji sensitisasi	24
7. Uji teratogenitas	24
8. Uji toksisitas sistemik	25
C. Penelitian Pendahuluan	29
BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEP	31
A. Kerangka Teori	31
B. Kerangka Konsep	32
C. Hipotesis Penelitian	33
BAB IV METODE PENELITIAN	34
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	34
B. Waktu dan Tempat Penelitian	34
1. Waktu Penelitian	34
2. Tempat Penelitian	34
C. Variabel, Defenisi Operasional dan Kriteria Penilaian	35
1. Variabel Penelitian	35
2. Definisi Operasional Penelitian	35
3. Kriteria Penilaian Penelitian	36
D. Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian	37
E. Kriteria Sampel	38
1. Kriteria Inklusi	38
2. Kriteria Eksklusi	38
F. Alat dan Bahan	39
1. Alat	39
2. Bahan	40
G. Prosedur Penelitian	40

1. Pengolahan Ekstrak <i>Sargassum binderi</i>	41
2. Uji Analisis Teknik FT-IR	44
3. Persiapan Bahan Uji Toksisitas Akut	45
4. Persiapan Hewan Uji	45
5. Uji Toksisitas Akut	47
6. Pengamatan Hewan Uji Pasca Perlakuan	48
7. Analisis Data	48
H. Masalah Etika	49
I. Alur Penelitian	49
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	51
A. Hasil Uji FT-IR pada Florotanin	51
B. Hasil Pengamatan Gejala Toksik Pasca Perlakuan	53
C. Hasil Pengamatan Berat Badan Pasca Perlakuan	54
D. Analisis Data	54
1. Kelompok Uji I (Kontrol Negatif CMC 1%)	55
2. Kelompok Uji II (Florotanin 0.625 gram/kg BB)	56
3. Kelompok Uji III (Florotanin 1.25 gram/kg BB)	57
4. Kelompok Uji IV (Florotanin 2.5 gram/kg BB)	57
5. Kelompok Uji V (Florotanin 5 gram/kg BB)	58
6. Uji Perbandingan Kelompok Kontrol dan Perlakuan	59
F. Pembahasan	60
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	65
A. Kesimpulan	65
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	67
DAFTAR LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1. Parameter fisika-kimia Pesisir Kec. Mangarabombang, Takalar	11
Tabel 2.2. Klasifikasi tanin ke dalam tiga kelompok besar	16
Tabel 5.1. Karakteristik grup fungsional berdasarkan puncak gelombang	52
Tabel 5.2. Hasil pengamatan gejala toksik dan kematian hewan uji	53
Tabel 5.3. Analisis hubungan pemberian florotanin terhadap berat badan	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1. <i>Sargassum Sp.</i>	10
Gambar 2.2. <i>Sargassum binderi</i> dari Desa Punaga, Kabupaten Takalar	12
Gambar 2.3. <i>Sargassum binderi</i> Sonder	13
Gambar 2.4. Struktur florotanin	18
Gambar 3.1. Kerangka teori	32
Gambar 3.2. Kerangka konsep	33
Gambar 4.1. Alur penelitian	50
Gambar 5.1. Spektum uji FT-IR dari florotanin <i>Sargassum binderi</i>	51
Gambar 5.2. Rata-rata berat badan tikus jantan per hari.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Surat Permohonan Izin Penelitian di Laboratorium	73
Lampiran 2. Surat izin Komite Etik Penelitian Kesehatan	74
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Morfologi Alga Cokelat	75
Lampiran 4. Peta Lokasi Pengambilan Sampel	76
Lampiran 5. Gejala Toksisitas Akut dan Durasi Pengamatan	77
Lampiran 6. Pengukuran Berat Badan Pasca Perlakuan	78
Lampiran 7. Uji Normalitas	79
Lampiran 8. Uji Homogenitas	82
Lampiran 9. Uji Deskriptif	86
Lampiran 10. UJI ANOVA (<i>Analysis of Varians</i>)	89
Lampiran 11. UJI LSD (<i>Least Significant Difference</i>)	94
Lampiran 12. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	104
Lampiran 13. Riwayat Hidup Penulis	115

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah	Arti dan Penjelasan
Angina pektoris	Penyakit jantung iskemik berupa nyeri dada akibat berkurangnya pasokan oksigen dan menurunnya aliran darah ke dalam miokardium.
Astringen	Efek dari zat yang menyebabkan pengerutan jaringan sehingga dapat mengurangi sekresi.
Atherosclerosis	Penyempitan pembuluh darah akibat penumpukan plak di dinding pembuluh darah.
BB	Berat badan.
b/v	Berat/volume.
COX-1	<i>Cyclooxygenase-1</i> , merupakan enzim konstitutif yang berfungsi dalam katalis pada proses fisiologis jaringan mukosa gastrointestinal
COX-2	<i>Cyclooxygenase-2</i> , enzim yang mengkatalis sintesis prostanoide, termasuk PGE ₂ , dari asam arakidonat, sebagai respon dari mediator pro-inflamasi
Defekasi	Pembuangan kotoran; pembuangan tinja dari rektum.
Diare	Frekuensi dan kekentalan feses yang tidak normal.
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> , polimer deoksiribonukleotid yang merupakan materi genetik primer dari sel.
Edema	Akumulasi abnormal cairan di dalam ruang interstitial jaringan tubuh yang menimbulkan pembengkakan.
Endotoksemia	Adanya endotoksin dalam darah yang dapat menyebabkan syok.
Esophagitis	Inflamasi atau peradangan pada mukosa esophagus.
Eukariotik	Kelompok yang memiliki sel dengan kompartemen yang dikelilingi membrane termasuk nukleus, organel-organel seperti mitokondria, kloroplas, dan lain-lain.
Fenotipe	Sifat atau karakteristik yang tampak atau muncul pada suatu organisme dan dapat diamati dengan panca indera.
Fibrinolisis	Proses degradasi dari bekuan-bekuan fibrin secara enzimatik.
Fosfolipase	Enzim yang mengkatalisis hidrolisis fosfolipid.
Hidrokoloid	Kelompok besar, heterogen, zat polimer terutama mencakup polisakarida dan beberapa protein.
Holdfast	Materi yang disekresikan oleh sel atau organisme yang berikatan dengan substrata atau permukaan.
<i>In vitro</i>	(dalam kaca) mengacu prosedur perlakuan yang diberikan dalam lingkungan terkendali di luar organisme hidup.
<i>In vivo</i>	(dalam hidup) mengacu pada eksperimen menggunakan keseluruhan organisme hidup.

Istilah	Arti dan Penjelasan
<i>Infrared</i>	Radiasi termal dengan panjang gelombang melebihi ujung merah dari spektrum cahaya tampak, dengan panjang gelombang antara 0.75 hingga 1000 μm .
Lanset	Struktur daun yang memiliki perbandingan lebar dan panjang daun berkisar 3:1 hingga 5:1.
Lipoksigenase	Enzim yang dapat mengkatalisa oksidasi asam lemak tidak jenuh membentuk senyawa hidroperoksida.
<i>Multiple sclerosis</i>	Penyakit dimana sistem imunitas tubuh sendiri terlalu aktif hingga menyerang pelindung saraf (myelin) di otak dan sumsum tulang belakang. Akibatnya, hantaran saraf melambat dan menimbulkan gejala.
Neurosis	gangguan jiwa karena adanya stress jangka panjang, berupa kondisi sakit tanpa lesi organis.
NO	<i>Nitric oxide</i> , merupakan molekul sinyal yang berperan dalam patogenesis inflamasi.
Nrf2/HO-1	Protein pada sel tubuh manusia, diaktivasi, ditransfer ke nukleus, dan terikat pada DNA oleh elemen respons antioksidan (AREs).
PGE2	Prostaglandin E2, merupakan mediator inflamasi yang dihasilkan oleh konversi asam arakidonat pada COX-2.
Prokariotik	organisme uniseluler yang tidak berkembang atau berdiferensiasi menjadi bentuk multiseluler, merupakan kelompok yang selnya tidak memiliki kompartemen internal.
Reseptakel	Badan pada tumbuhan yang mengandung alat pembiakan.yang berisi konseptakel.
ROS	<i>Reactive oxygen species</i> , adalah molekul yang mampu berdiri sendiri, mengandung setidaknya satu atom oksigen dan satu atau lebih elektron tidak berpasangan. ROS merupakan molekul sinyal primer.
Scrofula	Penyakit limfadenitis servikal karena mycobakteri.
UV	Ultraviolet, adalah sinar yang dihasilkan dari radiasi matahari yang berada di daerah rentang panjang gelombang elektromagnetik 200 nm sampai 400 nm. sinar UV dibagi dalam tiga daerah yaitu UV-A pada panjang gelombang 320-400 nm, UV-B pada daerah panjang gelombang 290-320 nm, dan UV-C pada daerah panjang gelombang 200-290 nm.
Vesikel	Struktur rongga berbentuk bulat berisi udara pada Sargassum yang berfungsi untuk membantu tumbuhan mengapung.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang memiliki sumber daya alam yang melimpah serta wilayah laut yang sangat luas. Sekitar 78 % wilayah Indonesia merupakan laut dan merupakan negara kepulauan dengan wilayah pengembangan rumput laut yang luas (11.109 km²). Beberapa penelitian menunjukkan tumbuhan laut seperti alga memiliki komponen-komponen bioaktif yang memiliki potensi untuk pengembangan bahan atau agen terapeutik.¹

Indonesia memiliki kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut yang terdapat di dunia berdasarkan ekspedisi Laut Sibolga oleh Van Bosse pada tahun 1899-1900. Perairan Indonesia sebagai wilayah tropis memiliki sumberdaya plasma nutfah rumput laut sebesar 6.42% dari total biodiversitas rumput laut dunia. 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 cokelat (*Phaeophyceae*) sekitar 134.²

Perairan Sulawesi Selatan dengan panjang garis pantai sekitar 2.500 km dapat dimanfaatkan untuk budidaya rumput laut. Hal ini menunjukkan potensi sumber daya hayati dan non-hayati kelautan cukup menjanjikan. Kabupaten Takalar merupakan salah satu kawasan yang sangat cocok untuk budidaya rumput laut karena kondisi tanahnya yang datar di sepanjang pantai barat Selat Makassar

hingga pantai selatan Laut Flores. Desa Punaga merupakan kawasan yang dikelilingi pantai sehingga sebagian besar masyarakat di kawasan tersebut membudidayakan rumput laut. Hal inilah yang menjadikan budidaya rumput laut yang melimpah di Kabupaten Takalar berpotensi menjadi alternatif pengobatan herbal.³

Tumbuhan Alga diklasifikasikan berdasarkan komposisi *nutrient*, pigmen, dan komponen kimia, seperti *Rhodophyta* (alga merah), *Phaeophyta* (alga cokelat), dan *Chlorophyta* (alga hijau). Tumbuhan alga ini memiliki sifat aman, tidak beracun, mudah ditemukan serta memiliki bioavailabilitas yang tinggi. Beberapa aktifitas farmakologi dari tumbuhan alga yang telah diteliti antara lain anti tumor, anti oksidan, anti koagulan, anti bakteri, anti jamur. Alga cokelat merupakan salah satu jenis rumput laut yang habitatnya tersebar luas di wilayah perairan Indonesia. Umumnya tumbuh secara liar di perairan yang bersuhu hangat, sedang dan dingin. Pertumbuhannya cepat dan mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menyesuaikan terhadap perubahan musim. Spesies alga cokelat yang tumbuh di perairan Indonesia adalah jenis *Sargassum Sp.*, *Turbinaria Sp.*, *Hormophysa Sp.*, *Padina Sp.*, *Hydroclatrus clatratrus Sp.*, *Cystoseira Sp.*, *Dictyopteris Sp.*, dan *Dictyota Sp.* Alga cokelat seperti *Sargassum Fulvellum* dan *Sargassum Thunbergii* menunjukkan adanya aktifitas anti inflamasi, analgesik dan antipiretik pada percobaan pada tikus. Alga cokelat mengandung pigmen alami yang memiliki aktifitas biologis yang tinggi.⁴

Alga cokelat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang keberadaannya sangat melimpah dan umumnya yang digunakan sebagai bahan

baku dalam industri makanan, kosmetik dan obat-obatan.³ Pada penelitian yang dilakukan oleh Galang dkk., kandungan senyawa tanin memiliki aktifitas anti perdarahan dan dapat mempercepat pembentukan gumpalan darah. Berdasarkan penelitian Fauzi A. dkk., bahwa terdapat kandungan senyawa tanin yang melimpah pada alga cokelat terutama pada spesies *Sargassum Sp.* dan *Padina Sp.*⁵

Alga cokelat tumbuh liar dan umumnya berkembang biak dengan invasif pada alga yang lain. Saat ini masyarakat belum membudidayakan, karena disamping permintaan pasar yang masih kurang, teknik pengolahan dan manfaat belum diketahui masyarakat. *Sargassum binderi* memiliki nilai ekonomis dan berpotensi untuk dijadikan bahan dasar obat dalam bidang kedokteran gigi.⁶

Alga cokelat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang keberadaannya sangat melimpah dan umumnya yang digunakan sebagai bahan baku dalam industri makanan, kosmetik dan obat-obatan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Tajrin dkk., terdapat jumlah flavonoid yang melimpah pada alga cokelat *Sargassum Sp.*, dan *Turbinaria Sp.* Flavonoid merupakan senyawa bioaktif dari alga cokelat yang memiliki potensi sebagai bahan obat terutama pada bidang kedokteran gigi.⁷

Pengembangan bahan alam menjadi agen atau bahan yang dapat memberikan manfaat kesehatan bagi manusia memerlukan studi aktivitas, kestabilan, dan keamanan melalui uji potensi ketoksikan akut obat herbal tradisional terkait.^{8,9} Sejauh ini penelitian terkait pada uji toksisitas akut senyawa bioaktif florotanin *Sargassum binderi* pada hewan uji tikus jantan belum tersedia khususnya di Indonesia.

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti bermaksud melakukan uji toksisitas akut komponen bioaktif florotanin pada *Sargassum binderi* yang berpotensi sebagai obat herbal tradisional untuk dapat dikembangkan menjadi bahan yang memiliki efek terapeutik secara luas.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di depan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah senyawa bioaktif florotanin dari *Sargassum binderi* dengan potensi efek terapeutik sebagai obat herbal tradisional memiliki efek toksisitas akut pada makhluk hidup?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini sebagai *screening* awal bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas sistemik akut senyawa bioaktif florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* yang diambil dari perairan Selat Makassar pada tikus jantan.

2. Tujuan Khusus

- a) Untuk melihat tanda dan gejala klinis efek toksisitas sistemik akut dan kematian hewan uji tikus jantan (*Rattus norvegicus*) pada pemberian senyawa bioaktif florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi*).
- b) Untuk mengetahui dosis toksisitas akut (LD50) dan dosis aman senyawa bioaktif florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi*.

- c) Untuk mengetahui pengaruh dosis ekstrak florotanin 0.625 gram/kg BB, 1.25 gram/kg BB, 2.5 gram/kg BB, dan 5 gram/kg BB dari alga cokelat *Sargassum binderi* pada berat badan hewan uji tikus jantan.

3. Tujuan Jangka Panjang

Menghasilkan obat herbal tradisional dalam bidang kedokteran gigi berbahan dasar lokal yakni alga cokelat jenis *Sargassum binderi* dari Perairan Selat Makassar dengan kemampuan efek terapeutik yang dapat digunakan luas oleh masyarakat.

D. Manfaat

1. Manfaat Pengembangan Ilmu

- a) Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang pemanfaatan tumbuhan alga cokelat *Sargassum binderi* di bidang medis.
- b) Menjadi bahan pertimbangan dalam penyusunan penelitian pemanfaatan bahan aktif lain pada tumbuhan alga cokelat *Sargassum binderi*.
- c) Menjadi salah satu acuan yang bisa digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan di bidang kedokteran gigi bedah mulut dan maksilofasial pada khususnya.

2. Manfaat Penelitian

- a) Untuk memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Sargassum binderi*.
- b) Meningkatkan nilai tambah alga cokelat Indonesia utamanya jenis *Sargassum binderi* asal Selat Makassar untuk menjadi salah satu bahan

baku pembuatan obat herbal tradisional berbahan dasar alam di bidang kedokteran gigi.

- c) Menghasilkan hak paten (HKI) pada penelitian toksisitas akut alga cokelat *Sargassum binderi*.
- d) Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data atau informasi tambahan terhadap kemajuan penelitian alga cokelat di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Alga Cokelat

Salah satu sumberdaya hayati laut yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis tinggi adalah alga laut, yang juga dikenal di masyarakat dengan nama rumput laut (*seaweed*). Rumput laut telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, rumput laut diketahui mengandung senyawa hidrokoloid, senyawa bioaktif dan senyawa penting lainnya.¹⁰

Alga laut tumbuh dalam berbagai ukuran dengan lebih dari 10.000 spesies yang tumbuh menyebar di seluruh dunia dalam berbagai bentuk dan warna. Alga laut adalah tanaman primitif yang menempel atau mengambang bebas yang tidak memiliki akar, batang, dan daun sejati, dan merupakan sumber daya hayati laut yang penting dan dapat diperbarui. Mereka tumbuh di daerah laut dalam hingga kedalaman 180 m, di muara, dan juga di air hitam pada substrat padat seperti kerikil, bebatuan, karang mati, cangkang, dan bahan tanaman, dan melekat pada dasar di pesisir berbatu yang relatif dangkal, terutama pada kondisi mereka terpapar saat air surut, dan merupakan salah satu sumber daya kehidupan laut yang penting.¹¹

Makroalga laut adalah kelompok multiseluler mirip tumbuhan yang dapat diklasifikasikan menjadi alga cokelat (*Phaeophyta*), hijau (*Chlorophyta*) dan merah

(*Rhodophyta*). Pigmen yang bertanggung jawab atas warna cokelat *Phaeophyta* adalah fucoxanthin, warna merah *Rhodophyta* berasal dari phycobilins, dan beberapa pigmen yang bertanggung jawab atas warna hijau Chlorophyta seperti klorofil a dan b, karoten, dan xantofil. Komposisi kimiawi makroalga sangat bervariasi antar spesies dan dengan musim panen, habitat pertumbuhan, dan kondisi lingkungan. Bahkan dalam wilayah geografis yang kecil, laju pertumbuhan dan komposisi kimiawi dapat bervariasi tergantung pada musim panen, sinar matahari, salinitas, kedalaman arus air lokal laut, atau kedekatan dengan tanaman akuakultur.¹²

Alga cokelat merupakan spesies dengan kandungan pigmen *fucoxanthin*, yang bertanggung jawab atas warna cokelat kehijauan khas sesuai namanya. Alga cokelat juga menghasilkan berbagai komponen aktif termasuk metabolit sekunder yang unik seperti florotanin dan banyak di antaranya memiliki aktivitas biologis spesifik yang dapat memberi manfaat ekonomi. Selain itu, dalam beberapa dekade terakhir, bioaktif polisakarida sulfat yang diisolasi dari alga cokelat menarik perhatian di bidang farmakologi dan biokimia.¹³

Alga cokelat, khususnya *Sargassum Sp.*, telah diketahui memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan. *Sargassum Sp.* merupakan rumput laut yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*. Di Indonesia, *Sargassum Sp.* memiliki sebaran yang luas dan bervariasi. Jenis rumput laut tersebut termasuk tumbuhan yang dominan dan terdistribusi di seluruh perairan Indonesia. *Sargassum* merupakan genus yang sangat besar menyebar di seluruh dunia. Alga *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun, dapat hidup pada setiap musim

barat maupun musim timur. *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang, panjang thallus mencapai 1-3 meter.

Fitton telah menyimpulkan bahwa pola hidup di Asia Timur yang menggunakan alga cokelat sebagai bahan makanan memiliki hubungan dengan rendahnya angka kejadian kanker di wilayah tersebut. Penelitian lain juga telah melaporkan bahwa konsumsi alga cokelat (*Sargassum fulvellum* dan *S. Fusiforme*). Berkontribusi terhadap penurunan inflamasi sistemik dan resistensi insulin pada hewan uji tikus obesitas. Masyarakat di China menggunakan berbagai macam jenis *Sargassum* untuk mengobati scrofula, edema, atherosclerosis, penyakit kulit, kondisi hipertensi, pembesaran organ hati, neurosis, angina pectoris, esophagitis, dan bronkhitis kronis.^{7,14}

Sargassum merupakan bagian dari kelompok rumput laut cokelat (*Phaeophyceae*) dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*. Klasifikasi *Sargassum* adalah sebagai berikut, Divisi: *Thallophyta*, Kelas: *Phaeophyceae*, Ordo: *Fucales*, Famili: *Sargassaceae*, Genus: *Sargassum*, Spesies: *Sargassum sp.* *Sargassum* terdiri dari kurang lebih 400 spesies di dunia. Spesies-spesies *Sargassum sp.* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu: *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*.²



Gambar 2.1. *Sargassum Sp.*
Sumber: Dokumentasi pribadi, tahun 2022.

1. Identifikasi *Sargassum*

Sargassum sangat terdiferensiasi dengan variasi fenotipe berdasarkan faktor lingkungan dan kondisi lokal. Menurut Wong dkk. (2004), terdapat lebih dari 400 spesies *Sargassum*, yang dideskripsikan menggunakan karakter morfologi.¹⁵ Sampel yang diambil dari perairan Pantai Punaga, Kabupaten Takalar kemudian diidentifikasi sebagai *Sargassum binderi*. Mattio L, dkk. (2013) menyebutkan bahwa tipe lokal *Sargassum binderi* di Indonesia adalah *S. binderi* Sonder ex. J. Agardh.¹⁶

Genus *Sargassum* diketahui terdistribusi baik pada daerah tropis, dimana kualitas dan kuantitas pertumbuhan terutama kandungan senyawa bioaktif yang sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan parameter perairan^{14,17} Berdasarkan hasil penelitian oleh Ramdhan, dkk. (2018), diketahui terdapat hubungan yang nyata antara kondisi parameter fisika-kimia oseanografi dengan produksi rumput laut di wilayah pesisir Kabupaten Takalar. Selain itu, pada penelitian tersebut didapatkan kesimpulan

kandungan parameter fisika-kimia perairan di Pesisir Kabupaten Takalar, khususnya di Kecamatan Mangarabombang, tempat diperolehnya sampel *Sargassum binderi*.¹⁸

Tabel 2.1. Kandungan parameter fisika-kimia perairan di Pesisir Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar.

Parameter	Satuan	Rata-rata	Standar deviasi
Temperatur	°C	26.80	1.73
Salinitas	ppt	32.99	0.94
Oksigen terlarut (DO)	mg/l	5.19	0.84
pH	-	7.65	0.45
<i>Total suspended solid</i> (TSS)	mg/l	40.08	20.23
Bahan organik total (BOT)	mg/l	22.56	7.52
Ammonia (NH ₃ -N)	mg/l	0.10	0.14
Nitrit (NO ₂ -N)	mg/l	0.01	0.01
Nitrat (NO ₃ -N)	mg/l	0.06	0.23
Fosfat (PO ₄ -P)	mg/l	0.05	0.07
Sulfat (SO ₄)	mg/l	785.01	98.20
Kecepatan arus	m/s	0.11	0.08
Kecerahan	meter	1.95	1.45
Kedalaman	meter	3.41	3.19

Sumber: Ramdhan M, Arifin T, Arlyza IS. Pengaruh lokasi dan kondisi parameter fisika-kimia oseanografi untuk produksi rumput laut di wilayah pesisir Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *J Kelaut Nas.* 2018;13(3):163-172.

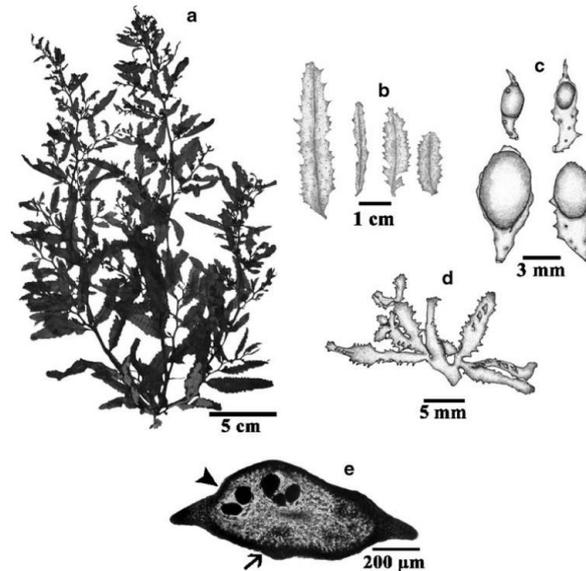


Gambar 2.2. *Sargassum binderi* dari perairan pesisir Pantai Desa Punaga, Kabupaten Takalar.

Sumber: Dokumentasi pribadi, tahun 2022

Melalui penelitian oleh Noiraksar T. dan Ajasak T. (2008) di perairan teluk Thailand yang mendeskripsikan karakteristik *Sargassum binderi* Sonder, yaitu memiliki *holdfast* diskoid diameter hingga 12 mm. Batang terete diameter sampai 3 mm, panjang 1 cm, menghasilkan 6-8 cabang primer tersusun spiral. Cabang-cabang primer, halus, panjangnya mencapai 46 cm dan lebar 5 mm. Daun besar, berbentuk lanset, sederhana, dengan dasar asimetris, panjang hingga 77 mm dan lebar 16 mm, dengan apeks membulat hingga agak lancip, pada tepi terdapat gigi kecil, dan *cryptostomata* kecil tersebar pada daun. Cabang sekunder tersusun rapi, agak padat, panjangnya mencapai 40 cm dan interval percabangan sekitar 3.8 cm. Daun lanset hingga linier, panjang hingga 64 mm dan lebar 15 mm, tepi bergerigi, pelepah menghilang di dekat apeks, *cryptostomata* kecil tersebar (Gambar. 2.3 b). Vesikel berbentuk bulat hingga elips, panjangnya mencapai 10 mm, lebar hingga 6 mm dan tebal 5 mm, tangkai rata (Gambar. 2.3 c). Tumbuhan

berumah satu (*monoecious*), dengan reseptakel berkelamin dua, berbentuk pipih, panjang hingga 18 mm dan lebar 2 mm, tepi bergerigi, tersusun berjajar (Gambar. 2.3 d,e).¹⁹



Gambar 2.3. *Sargassum binderi* Sonder. a. Thalus; b. Daun; c. Vesikel; d. Reseptakel androgini, e. Potongan melintang konseptakel jantan (panah) dan konseptakel betina (kepala panah).¹⁹

Sumber: Fraga-Corral M, Otero P, Cassani L, et al. Traditional applications of tannin rich extracts supported by scientific data: Chemical composition, bioavailability and bioaccessibility. *Foods*. 2021;10(2)

2. Senyawa Bioaktif Sargassum

Senyawa bioaktif adalah senyawa yang mampu memberikan efek fisiologis positif diluar nilai gizi dasar bahan pangan. Pada umumnya, senyawa bioaktif diserap dari saluran pencernaan ke dalam sistem peredaran darah, lalu dibawa ke organ targetnya. Senyawa-senyawa bioaktif dalam *Sargassum Sp.* meliputi florotanin, terpenoid, chromene, derivat tetraprenyltoluquinol, fukosantin, fukoidan, alginat, asam fenolat, katekin,

kuersetin, fukosterol, stigmasterol, β -sitosterol, feofitin A, dan sulfoquinovosyldiacylglycerol. Florotanin, fukosantin, fukoidan, alginat, fukosterol, meroditerpenoid dan gentisic acid adalah senyawa bioaktif dominan dalam *Sargassum binderi*. Meroditerpenoid merupakan senyawa bioaktif khas dalam *Sargassum binderi*, yang tidak diproduksi oleh genus rumput laut lainnya.²⁰

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan makhluk hidup dalam keadaan tertentu. Salah satu metode uji kualitatif metabolit sekunder yang ada pada bahan alam adalah dengan melakukan uji fitokimia. Rumput laut dari divisi *Phaeophyta* menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa dan manitol. Biasanya jenis *Phaeophyta* yang dimanfaatkan sebagai penghasil algin alginat adalah *Macrocystis*, *Turbinaria*, *Padina* dan *Sargassum Sp.* *Phaeophyceae* di daerah tropis memproduksi metabolit sekunder lebih baik sebagai suatu sistem proteksi terhadap radiasi sinar ultra violet. Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan yang dihasilkan oleh *Phaeophyceae*.²

a. Tanin dan Florotanin

Tanin telah digunakan sejak dahulu karena sifat farmakologisnya sebagai bagian dari tumbuhan herbal dalam pengobatan tradisional. Selain itu bahan ini telah banyak digunakan sejak abad ke-18 oleh industri kulit untuk meningkatkan ketahanan kulit dalam proses pewarnaan atau penyamakan, karena dapat mengendapkan gelatin yang melekat pada kulit

hewan dan memberikan warna kecokelatan. Sehingga nama tersebut diberikan pada golongan senyawa fitokimia tersebut.²¹

Istilah "tanin" digunakan secara luas pada senyawa polifenol besar yang mengandung hidroksil dan gugus lain yang sesuai (seperti karboksil) untuk membentuk kompleks yang kuat dengan berbagai makromolekul. Tanin adalah senyawa fenolik yang tersusun dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam yang terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun, akar dan buah. Tanin mengendapkan protein (astringen) dan juga kompleks dengan pati, selulosa, dan mineral. Tanin memiliki berat molekul mulai dari 500 hingga lebih dari 3000. Tanin ditemukan dalam bentuk massa kekuningan atau cokelat muda seperti bubuk, serpihan atau spons. Tanin ditemukan hampir di semua tumbuhan dan di semua iklim di seluruh dunia.²²

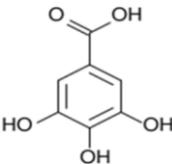
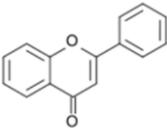
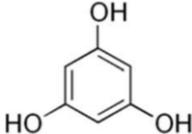
Sifat astringen yang terutama berasal dari tanin dan senyawa polifenol lainnya dapat menyebabkan lapisan epitel mulut terasa kering, mengeras, dan mengkerut yang disebabkan oleh interaksi antara tanin dan saliva.²³ Tanin adalah polifenol nabati yang dikategorikan menjadi tiga kelompok berdasarkan struktur kimia unit fungsionalnya, yaitu tanin terkondensasi (non-hidrolisis), tanin terhidrolisis, dan florotanin (Tabel 2.1).^{12,21,24-27}

- 1) Tanin terhidrolisis selanjutnya dikategorikan menjadi gallotanin dan ellagitanin, yang merupakan jenis tanin yang paling sederhana di antara

tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis ditemukan di polong biji, kulit kayu, kayu, daun, buah-buahan, dan sebagainya.

- 2) Tanin terkondensasi, juga dikenal sebagai proanthocyanidin, lebih kompleks dan oleh karena itu belum ditentukan sepenuhnya. Tanin terkondensasi umumnya ditemukan di batang, kacang-kacangan, pohon, hijauan, dan sebagainya.
- 3) Florotanin, atau pseudotanin, merupakan kelompok polimer kompleks dari floroglukinol (1, 3, 5-trihidrogenbenzena), banyak ditemukan pada alga cokelat genus *Ascophyllum*, *Fucus*, dan *Sargassum*.

Tabel 2.2 Klasifikasi tanin ke dalam tiga kelompok besar. Tanin kondensasi, tanin hidrolisis dan Florotanin.²⁵

Unit			
	Asam Galat	Flavon	Floroglukinol
Klas/ Polimer	Tanin terhidrolisis	Tanin terkondensasi	Florotanin
Sumber	Tumbuhan	Tumbuhan	Alga cokelat

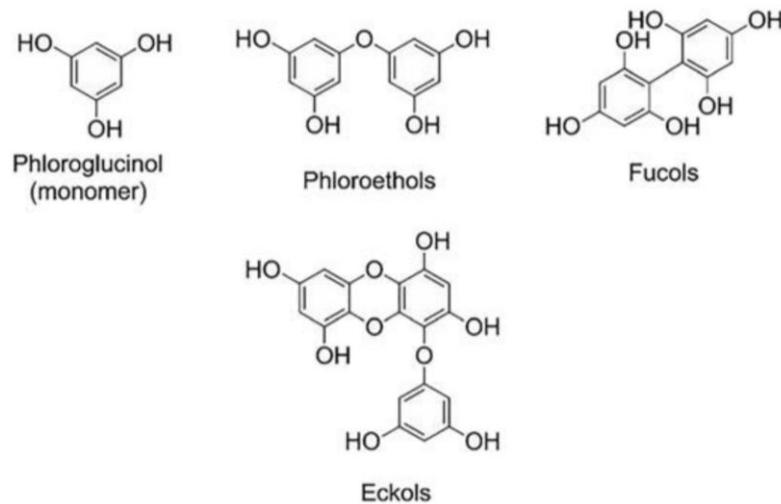
Sumber: Ford L, Theodoridou K, Sheldrake GN, Walsh PJ. A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*. 2019;30(6):587-599.

Florotanin adalah grup fenol dari alga cokelat, yang menunjukkan karakteristik sangat mirip dengan tanin yang dihasilkan oleh tumbuhan darat tetapi secara struktural sangat berbeda. Florotanin adalah struktur polimer dari monomer floroglucinol (1,3,5 - trihidroksbenzena) yang

terhubung melalui ikatan aril-aril C-C atau ikatan aril-eter C-O. Penamaan sistematis florotanin berdasarkan jenis ikatan antara gugus aromatik, fucol hanya terdiri dari ikatan aril-aril (Gambar 2.2) sedangkan floreoethol secara khusus memiliki ikatan eter melalui oksigen fenolik. Klasifikasi florotanin dibagi berdasarkan ikatan antar unit floroglukinol, menjadi enam subklas: floretol, fucol, fucofloretol, eckol, fuhalol, dan isofuhalol. Beberapa penulis hanya menyebutkan empat subklas dikarenakan fuhalol dan isofuhalol jarang ditemukan. Ikatan yang paling umum antar unit floroglukinol adalah ikatan eter.^{11,14,28}

Florotanin hanya diproduksi oleh alga cokelat melalui jalur biosintesis oleh malonat asetat. Florotanin sangat hidrofilik karena adanya banyak fenolik OH dalam strukturnya. Hal ini memungkinkan penyerapan florotanin dengan mudah ke dalam sistem biologis saat dicerna. Florotanin banyak terkonsentrasi di korteks epidermis alga cokelat, dan juga ditemukan terikat ke dinding sel makroalga laut, seperti pada asam alginat. Florotanin diketahui memiliki peran penting berupa integritas fisiologis pada alga cokelat sebagai pertahanan penekan nafsu makan herbivora, proteksi terhadap kerusakan oksidatif sebagai respon perubahan nutrisi dan proteksi radiasi UV sehingga dapat digunakan pada industri kosmetik. Konsentrasi florotanin bervariasi dari 0,5% hingga 20% dari berat keringnya, yang berfluktuasi terkait musim (perubahan paparan cahaya), lingkungan (ketersediaan nutrisi di perairan) dan juga antar spesies. Lopes dkk. melaporkan kandungan florotanin pada beberapa famili *Sargassaceae*

berkisar antara 74.96 hingga 815.82 mg floroglucinol/kg berat kering.^{14,27,28}



Gambar 2.4. Struktur florotanin.²⁸

Sumber: Pristianto SD. Uji Antibakteri dan Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Teh Rumput Laut Cokelat *Sargassum cristaefolium* dengan Pelarut Aseton. 2017.

b. Metode Ekstraksi

Proses ekstraksi pada alga cokelat *Sargassum Sp.* umumnya dilakukan dengan metode maserasi atau *solid-liquid extraction* (SLE) karena kesederhanaan, efisiensi, dan penyesuaian yang mudah serta skalabilitas menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan pelarut yang digunakan merupakan hal yang penting dalam keberhasilan proses ekstraksi ekstrak *Sargassum Sp.* Pelarut organik masih paling berhasil dan masih digunakan dalam ekstraksi senyawa fenolik dari makroalga. Adapun pelarut yang umum digunakan dalam melakukan proses ekstraksi florotanin adalah etanol, methanol, aseton.²⁷ Penggunaan etanol sebagai

pelarut dalam proses ekstraksi *Sargassum* diyakini mampu menghasilkan kandungan senyawa fenolik yang lebih tinggi karena kepolaran pelarut. Etanol merupakan pelarut yang kepolarannya relatif rendah sedangkan air merupakan pelarut polar kuat, sehingga kepolaran pelarut ekstraksi akan terus menurun dengan penambahan etanol ke dalam air.²⁹ Tujuan proses sonifikasi dan pengulangan dilakukan untuk memaksimalkan hasil ekstraksi senyawa fenolik.³⁰

Pada penelitian yang dilakukan oleh Erpel dkk (2020) disebutkan bahwa pada teknik SLE, waktu ekstraksi dan temperatur akan mempengaruhi komposisi ekstrak, dan umumnya florotanin diekstraksi pada rentang suhu ruang hingga temperatur tinggi. Hal ini dijelaskan lebih lanjut oleh Li Y., dkk (2017), yaitu peningkatan suhu dapat membantu pelepasan dan pelarutan senyawa polifenol, dengan kisaran temperatur yaitu 25 hingga 55°C, dan umumnya temperatur ekstraksi yang digunakan adalah 50°C. Namun, oleh karena suhu yang tinggi juga akan cenderung mendegradasi dengan oksidasi pada senyawa bioaktif, sehingga ditetapkan suhu optimal untuk proses ekstraksi adalah 45°C.^{17,27}

Dalam melakukan ekstraksi selektif terhadap senyawa bioaktif florotanin *Sargassum Sp.*, pada umumnya digunakan pelarut fraksi etil asetat. Etil asetat sendiri telah digunakan secara luas untuk mengekstraksi secara selektif senyawa polifenol dari berbagai tumbuhan alga. Berdasarkan laporan penelitian oleh Li Y., dkk (2017), penggunaan etil asetat akan memberikan hasil TPC (*total phlorotannin content*) yang lebih

tinggi bila dibandingkan dengan pelarut 1-butanol dan *aqueous residue*. Laporan penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat juga efektif dalam memaksimalkan ekstrak florotanin dari ekstrak *Sargassum*.²⁷ Hal ini juga sesuai pada laporan penelitian Erpel F., dkk. (2020) yang menyebutkan etil asetat telah digunakan secara luas untuk mendapatkan fraksi florotanin yang melimpah dari ekstrak alga cokelat.¹⁷

3. Manfaat Alga Cokelat

Dalam kedokteran gigi ada berbagai macam tindakan dan menimbulkan komplikasi yang dapat terjadi setelah tindakan bedah minor kedokteran gigi. Komplikasi yang sering ditemui pada pencabutan gigi antara lain perdarahan, inflamasi, rasa nyeri, *dry socket*, fraktur, dan dislokasi mandibula.^{7,31}

Pendekatan yang paling umum untuk mengurangi rasa sakit adalah pemberian obat analgesik. Obat analgetik anti-inflamasi umumnya diklasifikasikan sebagai steroid dan nonsteroid. Obat analgetik non steroid merupakan obat yang paling banyak diresepkan karena dianggap lebih bermanfaat karena memberikan efek analgesik dan antiinflamasi yang nyata untuk mengurangi rasa sakit dan peradangan, serta lebih murah daripada steroid, meskipun sering menimbulkan efek samping. Diperkirakan bahwa di antara pengguna obat analgesik dan anti inflamasi jangka panjang: 15-40% akan memiliki keluhan saluran cerna bagian atas; 10–25% akan menderita tukak lambung, terutama gastritis; dan 1–4% akan mengalami komplikasi ulkus yang dapat mengancam jiwa, seperti perdarahan dan perforasi. Untuk

mengurangi efek samping dari obat-obatan tersebut, perlu dicari alternatif obat analgetik dan anti inflamasi dengan bahan alami terutama dari tumbuhan.⁷

Tanin merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan. Presipitasi protein non-spesifik adalah karakteristik umum tanin.³² Senyawa tanin banyak terdapat di dalam alga cokelat sebagai florotanin. Tanin adalah zat yang diekstrak dari polifenol tumbuhan alga yang dapat mengikat.⁵

Sugiura dkk. menyebutkan bahwa florotanin memiliki efek anti-alergi dan anti-inflamasi yang menyerupai dengan polifenol tanaman terestrial. Florotanin alga cokelat bekerja dengan menghambat aktivitas fosfolipase A₂, lipoksigenase, siklooksigenase-2 (COX-2) dan hyaluronidase yang terlibat dalam reaksi alergi (dan menekan ekspresi gen protein COX-2 melalui jalur aktivasi mitogen protein kinase (MAPK). Sugiura dkk. meneliti efek anti alergi florotanin dari *Eisenia arborea* menggunakan uji *in vitro* dan *in vivo*. Pada pengujian secara *in vivo*, Sugiura dkk. membandingkan 5 jenis florotanin yaitu eckol, 8,8'-bieckol, florofukofuroeckol-A (PFF-A), dan florofukofuroeckol-B (PFF-B), dan ekstrak kasar dalam pelarut methanol/kloroform yang mengandung keempat jenis florotanin tersebut diatas. Kelima jenis florotanin tersebut diujikan pada kondisi inflamasi diinduksi asam arakidonat pada telinga tikus. Kelima jenis florotanin kemudian dibandingkan hasil efektifitas anti inflamasi dengan

epigallocatechin gallate (EGCG), dengan kesimpulan penelitian florotanin memiliki potensi aktifitas anti alergi dan anti inflamasi.³³

Penelitian yang dilakukan oleh Yang dkk. pada tahun 2016 pada ekstrak senyawa bioaktif florotanin alga cokelat *Ecklonia cava* menunjukkan bahwa florotanin mengurangi angka kematian sel dan organ terkait dengan syok endotoksemia. Selain itu, ekstrak florotanin secara signifikan menghambat produksi mediator inflamasi (NO dan PGE2) dalam serum tikus pada syok septik yang diinduksi oleh LPS. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak senyawa bioaktif dari alga cokelat *Ecklonia cava* berupa florotanin jenis dieckol, dapat menekan syok septik melalui regulasi negatif faktor pro-inflamasi melalui jalur NFkB dan Nrf2/HO-1.³⁴

B. Uji *In Vivo*

Uji *in vivo* adalah uji yang dilakukan kepada makhluk hidup, uji *in vivo* diperlukan untuk evaluasi keamanan biomaterial dan/atau alat kesehatan. Beberapa dari uji *in vivo* ini diperlukan untuk mengkonfirmasi atau menyangkal hasil yang diperoleh dalam uji *in vitro* (misalnya respon genotoksisitas), dan uji toksikologi lainnya yang akhirnya hanya dapat ditentukan dengan pengujian secara *in vivo* (misalnya reaksi jaringan lokal, sensitisasi). Uji *in vivo* terbagi atas, yaitu: uji *in vivo* genotoksisitas, uji karsinogenitas, uji hemokompatibilitas, uji implantasi, uji iritasi, uji sensitisasi, uji toksisitas sistemik, dan uji teratogenitas.^{35,36}

1. Uji genotoksisitas *in vivo*

Uji genotoksisitas *in vivo* tidak diperlukan kecuali respons genotoksik terdapat pada pengujian *in vitro*. Jika uji genotoksisitas *in vivo* diperlukan, uji *in vivo*

untuk kerusakan kromosom pada sel hematopoietik hewan pengerat biasanya digunakan.³⁶

2. Uji karsinogenitas

Uji karsinogenisitas diperlukan pada kondisi: (1) respons positif dalam uji genotoksisitas, (2) diketahui adanya bahan genotoksik atau karsinogenik potensial di dalam bahan uji, (3) perangkat/bahan yang dapat terdegradasi dengan waktu degradasi lebih dari 30 hari dan tanpa riwayat keamanan pada penggunaan manusia, dan (4) setiap bahan atau perangkat yang dimasukkan ke dalam tubuh dengan kontak permanen atau kumulatif lebih dari 30 hari dan tanpa riwayat keamanan pada penggunaan manusia.³⁶

3. Uji hemokompatibilitas

Efek pada trombosis, koagulasi, trombosit, hematologi, dan sistem komplemen harus dipertimbangkan untuk perangkat medis yang bersentuhan dengan darah. Banyak dari aspek hemokompatibilitas ini dapat diatasi melalui metode uji *in vitro*. Tes hemokompatibilitas *in vivo* paling sering digunakan untuk mengetahui trombosis, respons jaringan lokal, dan efektivitas perangkat. Uji berupa menggunakan perangkat dalam kondisi yang meniru penggunaan klinis.³⁶

4. Uji implantasi

Untuk perangkat yang ditempatkan di dalam jaringan, diperlukan penilaian efek patologis lokal pada jaringan hidup dari perangkat yang ditanamkan. Penilaian ini dilakukan melalui pemeriksaan jaringan secara makroskopis dan

mikroskopis. Sampel perangkat atau biomaterial ditanam melalui pembedahan di jaringan yang sesuai berdasarkan penggunaan klinis. Jaringan yang umum adalah otot, jaringan subkutan, dan tulang, tetapi jaringan spesifik lainnya, seperti jaringan otak, mata, dan gigi, atau berdasarkan penggunaan klinis yang diinginkan. Karena respons jaringan berubah dari waktu ke waktu dan mempertimbangkan penyerapan bahan yang dapat terdegradasi, evaluasi respons lokal pada beberapa durasi implan biasanya diperlukan.³⁶

5. Uji iritasi

Uji iritasi adalah uji pada hewan (kelinci albino) untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemaparan sediaan uji pada jaringan. Derajat iritasi dinilai pada interval waktu tertentu setelah pemaparan sediaan uji dan untuk melihat reversibilitas.³⁵

6. Uji sensitisasi

Uji sensitisasi kulit adalah suatu pengujian untuk mengidentifikasi suatu zat yang berpotensi menyebabkan sensitisasi kulit. Prinsip uji sensitisasi kulit adalah hewan uji diinduksi dengan dan tanpa *Freund's Complete Adjuvant* (FCA) secara injeksi intradermal dan topikal untuk membentuk respon imun, kemudian dilakukan ujiantang (*challenge test*). Tingkat dan derajat reaksi kulit dinilai berdasarkan skala Magnusson dan Kligman.³⁵

7. Uji teratogenitas.

Uji teratogenitas adalah suatu pengujian untuk memperoleh informasi adanya abnormalitas fetus yang terjadi karena pemberian sediaan uji selama masa

pembentukan organ fetus (masa organogenesis). Informasi tersebut meliputi abnormalitas bagian luar fetus (morfologi), jaringan lunak serta kerangka fetus. Prinsip uji teratogenisitas adalah pemberian sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis pada beberapa kelompok hewan bunting selama paling sedikit masa organogenesis dari kebuntingan, satu dosis per kelompok. Satu hari sebelum waktu melahirkan induk dibedah, uterus diambil dan dilakukan evaluasi terhadap fetus.³⁵

8. Uji toksisitas sistemik

Pengembangan bahan alam menjadi agen atau bahan yang dapat memberikan manfaat kesehatan bagi manusia memerlukan studi aktivitas, kestabilan, dan keamanan.⁹ Paradigma yang berkembang di masyarakat saat ini adalah bahwa ramuan tradisional yang bahan-bahan berasal dari alam tidak berbahaya dan tidak mempunyai efek samping. Hal tersebut perlu diluruskan. Oleh karena itu, diperlukan informasi yang menyampaikan batas aman penggunaan obat tradisional. Salah satu parameter awal yang diperlukan untuk mengevaluasi keamanan suatu obat (ramuan tradisional) adalah potensi ketoksikan sistemik obat atau ramuan tradisional terkait.⁸ Uji toksisitas sistemik mengevaluasi efek umum pada organ dan jaringan setelah paparan suatu bahan pada model hewan. Istilah 'sistemik' menyiratkan bahwa bahan kimia yang dapat larut diserap di satu lokasi dan didistribusikan ke seluruh tubuh melalui limfatik atau sistem peredaran darah untuk menyebabkan efek buruk di lokasi yang jauh. Secara umum, uji toksisitas sistemik dibagi berdasarkan durasi, yaitu akut, subakut, sub kronis, dan kronis.^{36,37}

a. Toksisitas sistemik akut adalah efek total yang didapat pada dosis tunggal dalam 24 jam setelah pemaparan. Toksisitas sistemik akut bersifat mendadak, waktu singkat, biasanya *reversible*.³⁸ Toksisitas sistemik akut didefinisikan sebagai efek samping yang terjadi setelah paparan tunggal, ganda atau terus menerus dari sampel uji dalam periode 24 jam. Biasanya periode pengamatan adalah beberapa hari sampai seminggu. Tujuannya adalah sebagai skrining awal untuk menilai tanda-tanda toksisitas yang nyata. Studi toksisitas akut menggunakan hewan dalam jumlah terbatas dan titik akhir yang dievaluasi adalah tanda dan gejala klinis, dan berat badan.³⁶ Berdasarkan metode pengujian, umumnya uji toksisitas akut sistemik terbagi atas metode konvensional dan metode *fixed method*. Perbedaan keduanya adalah terletak pada metode dan pemberian dosis uji. Pada metode konvensional, sekurang-kurangnya digunakan tiga dosis berbeda dengan interval dosis yang mampu menghasilkan rentang toksisitas dan angka kematian. Dari data ini akan diperoleh suatu kurva dosis-respon yang dapat digunakan untuk menghitung nilai LD50. Bila hingga dosis 5000 mg/kg BB (pada tikus) tidak menimbulkan kematian, maka uji tidak perlu dilanjutkan dengan menggunakan dosis bahan uji yang lebih tinggi. Pengamatan dilakukan tiap hari terhadap gejala klinis yang muncul berupa adanya tremor, kejang, salivasi, diare, letargi, lemah, tidur dan koma. Pengamatan meliputi waktu timbul dan hilangnya gejala toksik serta saat terjadinya kematian. Sedangkan pada metode *fixed dose*, metode ini digunakan untuk bahan uji dengan derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih adalah

yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif. Prinsip pemberian dosis pada metode *fixed dose*, yaitu sekelompok hewan uji diberikan dosis bertingkat, misal: 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg BB (dosis dapat ditambah hingga 5000 mg/kg). Dosis awal dipilih berdasarkan uji pendahuluan sebagai dosis yang dapat menimbulkan gejala toksisitas ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik yang berat atau kematian. Prosedur ini dilanjutkan hingga mencapai dosis yang menimbulkan efek toksik atau ditemukan tidak lebih dari satu kematian, atau hingga dosis yang tertinggi atau adanya kematian pada dosis yang lebih rendah. Hewan uji diobservasi secara individual sekurang-kurangnya pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, dan secara periodik setiap empat jam selama 24 jam pertama dan sehari sekali setelah itu selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan termasuk pada: kulit, bulu, mata, membran mukosa dan juga sistem pernafasan, sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Berat badan masing-masing hewan harus dimonitor pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan sekurang-kurangnya seminggu setelahnya. Seluruh hewan harus dinekropsi. Pemeriksaan mikroskopik dari organ yang mungkin menjadi sasaran dari efek toksisitas, (seperti misalnya: hati, limpa, jantung, ginjal, paru-paru, otak) yang menunjukkan adanya perubahan secara patologi pada hewan yang bertahan hidup selama 24 jam atau lebih setelah pemberian dosis awal dapat dilakukan untuk mendapatkan informasi yang berguna.³⁵

- b. Toksisitas sistemik subakut didefinisikan sebagai efek samping yang terjadi setelah paparan berulang atau terus menerus antara 24 jam dan 28 hari.³⁶
- c. Toksisitas sistemik subkronis didefinisikan sebagai efek samping yang terjadi setelah pemberian berulang atau terus menerus dari sampel uji hingga 90 hari atau tidak melebihi 10% dari umur hewan. Rasio pemilihan tes subakut atau subkronis harus didasarkan pada durasi klinis penggunaan bahan uji, sifat paparan, dan strategi pengujian secara keseluruhan.³⁶
- d. Toksisitas kronis didefinisikan sebagai efek samping yang terjadi setelah pemberian berulang atau terus menerus dari sampel uji untuk sebagian besar masa hidup hewan uji. Untuk hewan pengerat, durasi uji toksisitas kronis selama enam bulan. Rancangan studi dan titik akhir yang dievaluasi sama dengan toksisitas subkronis. Untuk penelitian dengan durasi yang lebih lama ini, jumlah hewan per kelompok perlakuan lebih besar untuk memperhitungkan kemungkinan kerugian selama penelitian dan untuk meningkatkan kekuatan statistik.³⁶

Ada dua parameter uji toksisitas, yaitu uji toksisitas *lethal dose 50* (LD50) dan uji toksisitas *lethal concentration 50* (LC50). Uji LD50 adalah suatu pengujian untuk menetapkan potensi toksisitas akut, menilai berbagai gejala toksik, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian. Tujuannya adalah untuk mendeteksi adanya toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya, memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan. Sedangkan uji LC50 adalah

konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan setengah dari populasi (50%) yang ada. Faktor-faktor yang mempengaruhi toksisitas antara lain komposisi dan jenis toksikan, konsentrasi toksikan, durasi dan frekuensi pemaparan, sifat lingkungan, dan spesies biota penerima. Toksikan merupakan zat yang dapat menghasilkan efek negatif bagi semua atau sebagian dari tingkat organisasi biologis (populasi, individu, organ, jaringan, sel, biomolekul) dalam bentuk merusak struktur maupun fungsi biologis. Efek tersebut dapat bersifat reversibel dan dapat pula bersifat irreversibel.³⁹

C. Penelitian Pendahuluan

Menurut WHO tahun 1992, suatu pengobatan herbal dianggap sebagai toksik jika LD50 lebih rendah dari 5 gram/kg BB.⁴⁰ Pada penelitian Firdaus, dkk. tahun 2012, mengenai toksisitas akut ekstrak metanol alga cokelat *Sargassum echinocarpum* pada tikus (*Rattus norvegicus*) dengan menggunakan dosis perlakuan 0; 0.625 gram; 1.25 gram; 2.5 gram; dan 5 gram/kg BB. Pada penelitian tersebut mengamati parameter berat badan mencit selama pengujian, penentuan dosis kematian 50 persen (LD50), dan skor histologis hati dan ginjal mencit hewan uji. Pemberian ekstrak metanol *Sargassum echinocarpum* ≥ 1.25 gram/kg BB dapat menghambat kenaikan bobot badan, namun hingga 5 gram/kg BB tidak mengakibatkan kematian. Pengamatan histopatologis menunjukkan bahwa dosis pada 1.25 gram/kg BB atau lebih dapat mengakibatkan nekrosis pada hepatosit dan tubulus.⁹

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Wariz dkk. (2016), pada pengujian toksisitas ekstrak *Sargassum Sp.* pada lima kelompok perlakuan tikus,

melalui pengamatan gejala fisik, respirasi, aktifitas gerak, diare, urin, dan salivasi, berat badan, dan kematian dari tikus. Hasil penelitian tersebut pada hasil ekstrak kasar berdasarkan kategori toksisitas akut, diketahui termasuk ke dalam toksisitas ringan.⁴¹