

UJI TOKSISITAS SENYAWA FUCOIDAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM BINDERI*)



SABILA NUR A'FIFA

J011211143

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



**UJI TOKSISITAS SENYAWA FUCOIDAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM
BINDERI*)**

**SABILA NUR A'FIFA
J011211143**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**UJI TOKSISITAS SENYAWA FUCOIDAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM
BINDER*)**

SABILA NUR A'FIFA
J011211143

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Pada

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
DEPARTEMEN ORAL BIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

UJI TOKSISITAS SENYAWA FUCOIDAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM
BINDERI*)

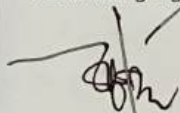
Sabila Nur A'fifa
J011211143

Skripsi,

telah dipertahankan di depan panitia Ujian Sarjana Pendidikan Kedokteran Gigi
pada tanggal 29 Desember 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi
Departemen Oral Biologi
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,



Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg.,
M.Kes
NIP. 19680505 199903 2 001

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



drg. Muhammad Ikbal, Ph.D.
Sp.Prof. Subsp.PKIKG(K)
NIP. 198010212 000912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini penulis menyatakan bahwa, skripsi berjudul "**Uji Tosisitas Senyawa Fuicoidan Alga Coklat (*Sargassum Bideri*)**" adalah benar karya penulis dengan arahan dari pembimbing, Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes_Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka penulis bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini penulis melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis penulis berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makas 4

ABILA NUR A'FIFA
J011211143

Ucapan Terima Kasih

Segala puji dan syukur Penulis Kepada Allah SWT dengan segala rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dapat selesai tepat pada waktunya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, bantuan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
2. Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing serta memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai.
3. Prof. Dr. Asmawati, drg., M.Kes., PBO dan Rafikah Hasyim, drg., M.Biomed selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K) selaku penasehat akademik yang telah memberikan nasihat serta dukungan selama penulis menjalani proses perkuliahan.
5. Seluruh Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu dengan tulus dan sabar kepada penulis sehingga bisa sampai pada titik saat ini.
6. Kedua orang tua tercinta penulis, Ayahanda Sarwansa Sahabuddin S.E, M.M dan Ibunda Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp Perio., Subsp.R.P.I.D (K), atas doa, pengorbanan, motivasi, dan dukungan yang luar biasa tak ternilai untuk penulis selama menempuh pendidikan hingga dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
7. Saudara (i) saya tercinta Risha Rifki, Nazila Nur Aulia, dan Kiara Najwa Nur yang tiada henti membantu, memberikan motivasi dan dukungan penuh disetiap harinya kepada penulis. Dan juga kepada nenek tersayang sebagai penyemangat bagi penulis
8. Teman seperjuangan skripsi Imran yang selalu ada untuk selalu memberi semangat dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Untuk sahabatku tersayang: lin, Wiwi, Atikah, Depan, Nura, Nindy dan Eka yang selalu ada dalam suka dan duka serta memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Keluarga besar INKREMENTAL 2021 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas segala dukungan dan semangat selama masa perkuliahan.

11. Untuk para teman-teman KKN-PK angkatan 65 Kel. Penrang yang memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Untuk Sivitas Akademik Fakultas Kedokteran Gigi terima kasih atas bantuan yang diberikan kepada penulis.
13. Kepada pihak lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga semua bantuan dan dukungan yang telah diberikan dapat bernilai ibadah dan diberikan balasan yang lebih oleh Allah swt.

Akhir kata, atas segala kebaikan yang senantiasa telah diberikan kepada penulis kiranya dibalas oleh Tuhan yang Maha Esa dengan berkah, rahmat, serta karunia yang berlipat ganda. Semoga skripsi ini dapat berguna dan menjadi bermanfaat bagi banyak pihak.

Penulis,

Sabila Nur A'fifa

ABSTRAK

Sabila Nur A'fifa. **Uji Toksisitas Senyawa Fucoidan Alga Coklat (*Sargassum Binderi*)** (dibimbing oleh Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes.)

Latar Belakang: Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan senyawa untuk menyebabkan kerusakan atau injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif yang terjadi atau tidak terjadinya kerusakan yang tergantung pada jumlah unsur senyawa toksik yang terabsorpsi. Proses pengrusakan ini baru terjadi apabila pada organ target telah menumpuk menjadi satu dalam jumlah yang cukup dari bagian toksik atau metabolitnya, begitu pula hal ini bukan berarti bahwa penumpukan yang tertinggi dari agen toksik itu berada di organ target, tetapi bisa juga ditempat lain. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas senyawa fucoidan dari alga cokelat *Sargassum Binderi*. **Metode:** Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris, rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan *the post test only control group design*, yaitu kelompok diberi perlakuan dan kelompok kontrol dilakukan observasi. Pengamatan dilakukan pada 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240 menit pertama setelah pencekohan, lalu dilanjutkan pengamatan selama 24 jam selama 7 hari berturut-turut. pengamatan meliputi gejala klinis yang diamati antara lain keaktifan gerak, kejang otot, muntah dan diuresis. **Hasil:** Uji perbandingan kelompok dan perlakuan diperoleh bahwa berat badan mencit pada kelompok kontrol negative tidak berbeda signifikan dengan perlakuan pemberian fucoidan 70mg/KgBB. Sehingga efek pemberian ekstrak fucoidan 70mg/KgBB terhadap berat badan akan memberikan efek yang sama pada kelompok kontrol, atau dapat dianggap dosis yang paling aman dengan hasil yang paling mendekati kelompok kontrol. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil penelitian tidak terdapat adanya efek toksisitas pada senyawa bioaktif fucoidan *Sargassum Binderi* pada gejala klinis dan tidak terdapat pula kematian pada hewan coba pasca pemberian fucoidan *Sargassum Binderi*.

Kata Kunci: Uji Toksisitas, Ekstrak Alga Coklat *Sargassum Binderi*, Fucoidan.

ABSTRACT

SABILA NUR A'FIFA. **Toxicity Test of Brown Algae Fucoidan Compound (*Sargassum Binderi*)** (supervised Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes.)

Background: Knowledge Toxicity is a term in toxicology defined as the ability of a compound to cause damage or injury. The term toxicity is a qualitative term that the occurrence or non-occurrence of damage depends on the amount of toxic compound elements that are absorbed. This process of damage only occurs if the target organ has accumulated a sufficient amount of the toxicant or its metabolites, so this does not mean that the highest accumulation of the toxic agent is in the target organ, but it can also be elsewhere. **Aim:** This study aims to determine the toxicity effects of fucoidan compounds from the brown alga *Sargassum Binderi*. **Method:** The type of research used is laboratory experimental research, the research design used is the *post test only control group* design, which is the group given treatment and the control group is observed. Observations were made at the first 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240 minutes after grafting, then continued observation for 24 hours for 7 consecutive days. observations include clinical symptoms observed include liveliness of movement, muscle spasms, vomiting and diuresis. **Result:** Group comparison test and treatment obtained that the body weight of mice in the negative control group was not significantly different from the treatment of fucoidan administration of 70mg/KgBB. So the effect of giving 70mg/KgBB fucoidan extract on body weight will have the same effect on the control group, or it can be considered the safest dose with the results closest to the control group. **Conclusion:** Based on the results of the study, there was no toxicity effect on the bioactive compound fucoidan *Sargassum Binderi* on clinical symptoms and there was also no death in experimental animals after the administration of fucoidan *Sargassum Binderi*.

Keywords: *Toxicity Test , Brown Algae Sargassum Binderi Extract, Fucoidan*

DAFTAR ISI

SKRIPSI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iv
Ucapan Terima Kasih	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori	2
BAB II	6
METODOLOGI PENELITIAN	6
2.1 Jenis Penelitian	6
2.2 Desain Penelitian	6
2.3 Waktu dan Tempat Penelitian	6
2.3.1. Waktu Penelitian.....	6
2.3.2. Tempat Penelitian.....	6
2.4 Variabel Penelitian	6
2.5 Kriteria Sampel, Sampel dan Metode Pengambilan Sampel	6
2.5.1. Kriteria Sampel	6
2.5.2. Sampel dan Pengambilan Sampel	7
2.6 Variabel Penelitian	7
2.7 Definisi Oprasional Variabel.....	7
2.8 Alat dan Bahan.....	8
2.9 Prosedur Penelitian.....	9
2.9.1 Pengolahan Ekstrak <i>Sargassum Binderi</i>	9
2.9.2 Analisis Teknik FT-IR (Fourier- Transform Infrared Spectroscopy) pada Fucoidan.....	9
2.9.3 Persiapan Bahan Uji Toksisitas Akut	9
2.9.4 Persiapan Hewan Uji.....	10
2.9.5 Uji Toksisitas Akut.....	10
2.9.6 Pengamatan hewan Uji.....	11

2.10	Analisis Data	11
2.11	Alur Penelitian	12
2.12	Etik Penelitian	12
BAB III		13
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		13
3.1	Hasil	13
3.1.1.	Uji FT-IR Fucoidan	13
3.1.2.	Hasil Pengamatan Gejala Toksik Pasca Perlakuan	14
3.2	Pembahasan	25
BAB IV		27
KESIMPULAN DAN SARAN		27
DAFTAR PUSTAKA		28
LAMPIRAN		30

DAFTAR TABEL

Table 1. hasil pengamatan gejala toksik dan kematian hewan uji pasca pemberian ekstrak fucoidan <i>Sargassum Bideri</i>	14
Table 2 Pengamatan pasca perlakuan dengan pengukuran berat badan (BB) dalam gram selama 7 hari	14
Table 3 Uji Kruskal-Wallis Pemberian Larutan CMC 1%	15
Table 4 Uji ANOVA pemberian ekstrak fucoidan <i>Sargassum Bideri</i> 17,5 mg/KgBB	16
Table 5 uji Kruskal Wallis pemberian ekstrak fucoidan <i>Sargassum Bideri</i> 35mg/KgBB	17
Table 6 Uji ANOVA pemberian ekstrak fucoidan <i>Sargassum Bideri</i> 70 mg/KgBB	18
Table 7 uji Kruskal Wallis pemberian ekstrak fucoidan <i>Sargassum Bideri</i> 140 mg/KgBB	19
Table 8 uji Kruskal Wallis kelompok control dengan kelompok perlakuan ekstrak fucoidan	21
Table 9 Uji Normalitas	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian.....	31
Lampiran 2. Etik Penelitian.....	32
Lampiran 3. Undangan Seminar Hasil.....	33
Lampiran 4. Berita Acara Seminar	34
Lampiran 5. Kartu Kontrol Skripsi.....	35
Lampiran 6. Data Penelitan	36
Lampiran 7. Olah Data	36
Lampiran 8. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	51
Lampiran 9. Data Riwayat Hidup.....	54

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alga cokelat merupakan salah satu jenis rumput laut yang habitatnya tersebar luas di wilayah perairan Indonesia. Umumnya tumbuh secara liar di perairan yang bersuhu hangan, sedang dan dingin. Pertumbuhannya cepat dan mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menyesuaikan terhadap perubahan musim. Alga laut diklasifikasikan menjadi tiga berdasarkan pigmentasi, komposisi dan kimia, yakni alga hijau (Chlorophyta), algamerah (Rhodophyta), dan alga cokelat (Phaeophyta). Alga cokelat mengandung sekitar 265 marga dan 2040 spesies, dari spesies ini sekitar 95% adalah organisme laut yang paling banyak ditemukan di perairan dingin hingga beriklim sedang. Spesies alga cokelat yang tumbuh di perairan Indonesia adalah *Sargassum* Sp., *Turbinaria* Sp., *Hormophysa* Sp., *Padina* Sp., *Hydroclatrus clatratrus* Sp., *Cystoseira* Sp., *Dictyopteris* Sp., dan *Dictyota* Sp. (Pakidi and Suwoyo, 2017)

Alga cokelat memiliki kandungan karbohidrat, protein, abu, air, vitamin, dan mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium(K), natrium (Na), magnesium (Mg), Fosfat (P), iodin (I) dan besi (Fe). Alga cokelat mengandung senyawa florotanin, meroditerpenoid, alginate, asam fenolat, fukosterol, feofitin A, dan fucoidan. Salah satu kandungannya yaitu fucoidan telah banyak dimanfaatkan sebagai obat dalam perawatan Kesehatan tradisional. Fucoidan merupakan nama sesuai nomenklatur IUPAC, dan dapat juga disebut fucan, fucosan atau sulfat fucan. Fucoidan ini termasuk dalam heteropolisakarida sulfat dan famili fomo- dan telah diteliti secara mendalam karena memiliki beragam aktivitas biologis sebagai contohnya yaitu antikoagulan, anti radang, anti tumor, antivirus, hipolipidemik dan hepatoprotektif. Saat ini fucoidan sudah digunakan dalam industry kosmetik, makanan, suplemen manusia, pakan hewan, akuakultur dan obat-obatan. (Yanuartono et al., 2018)

Selama bertahun-tahun, bahan alam telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk menjaga kesehatan, bahkan untuk pengobatan penyakit. Masyarakat lebih suka menggunakan bahan alam untuk tujuan ini karena bahan-bahan ini dikenal, dipercaya, dan telah diwariskan secara turun temurun dan tidak memiliki efek negatif pada kesehatan. Menurut kesepakatan yang ditetapkan oleh WHO, zat-zat yang digunakan untuk pengobatan manusia atau hewan harus menjalani uji praklinik dan klinik. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 760/menkes/per/IX/1992, obat yang berasal dari tanaman harus memiliki bukti khasiat dan keamanannya. Uji praklinik dilakukan untuk mengetahui

dan menentukan keamanan dan kebenaran suatu zat atau zat uji yang masih dalam dugaan, sehingga uji toksisitas dapat dilakukan secara ilmiah. (Badan POM, 2014)

Pemanfaatan berbagai bahan alami termasuk alga *Sargassum Bideri* harus melalui banyak tahapan, mulai dideterminasi jenis alga, ekstraksi dan dilanjutkan uji toksisitas untuk melihat bahan atau senyawa yang akan diteliti, selanjutnya tidak akan bersifat merusak sel atau menimbulkan keadaan patologis, baik apabila digunakan secara tunggal ataupun sebagai bahan campuran. Berdasarkan uraian diatas penelitian ini bertujuan melihat toksisitas senyawa fucoidan untuk kemudian menjadi acuan atau referensi untuk penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan bahan dasar dari obat-obatan atau bahan lain.

Fucoidan adalah polisakarida sulfat rantai panjang yang ditemukan di berbagai spesies alga coklat. Ini larut baik dalam air maupun dalam larutan asam. Fucoidan memiliki banyak manfaat, termasuk efek antiviral, anti-coagulan, anti-thrombin, dan antioksidan yang tinggi. Ini juga melakukan aktivitas biologi seperti mengontrol sistem kekebalan, mencegah pertumbuhan tumor, dan antiinflamasi. Selain itu, ditemukan bahwa fucoidan dapat merangsang pembentukan osteoblas dan menunjukkan tanda-tanda pembentukan tulang oleh osteocalcin dan alkaline sulfat. (Fauziee, Chang, and Mustapha, 2021).

Pada kedokteran gigi senyawa fucoidan dapat mengurangi patogen oral dan meningkatkan kebersihan mulut, menghambat pembentukan biofilm oral dengan aktivitas anti-adhesi permukaan gigi, dan mencegah peradangan sistemik yang dimediasi endotoksin karena patogen oral dengan menetralkan endotoksin lalu dilepaskan dari biofilm oral. (Andi *et al.*, 2023).

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. Sejauh ini penelitian terkait pada uji toksisitas akut senyawa bioaktif *Sargassum Bideri* pada hewan uji mencit belum tersedia khususnya di Indonesia.

Berdasarkan hal di atas peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui efek toksisitas dari senyawa bioaktif fucoidan berbahan dasar alga cokelat (*Sargassum bideri*) pada hewan uji mencit (*Mus Muculus*).

1.2 Teori

Alga Coklat

Alga cokelat memiliki kandungan karbohidrat, protein, abu, air, vitamin dan mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), fosfat (P), iodin (I) dan besi (Fe). Alga cokelat

mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan antara lain senyawa alkaloid, glikosida, tanin dan steroid yang banyak digunakan dalam pengobatan dan industri farmasi serta senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas penghambatan oksidasi LDL, Angiotensin Converting Enzyme (ACE), α -amilase, α -glukosidase dan berpotensi memberikan efek terapeutik serta perlindungan terhadap beberapa penyakit degenerative. (Tagliapietra and Clerici, 2023).

Terdapat sekitar delapan marga kelas alga coklat (*Phaeophyceae*) di perairan Indonesia. Enam jenis diantaranya telah dimanfaatkan oleh penduduk Indonesia terutama untuk konsumsi langsung dan digunakan untuk pengobatan. Kelompok alga laut penghasil algin berasal dari kelas ini terutama dari jenis *Sargassum* sp, *Cystoseira* sp, dan *Turbinaria* sp. (Gazali et al., 2018).

Klasifikasi Alga Coklat *Sargassum Binderi* sebagai berikut:



Divisi : *Thallophyta*
 Kelas : *Phaeophyceae*
 Ordo : *Fucales*
 Familia : *Sargassaceae*
 Genus : *Sargassum*

Senyawa Fucoidan

tahun 1913 alga cokelat telah dijadikan ekstrak karena memiliki banyak manfaat. Setelah para peneliti mengeskplorasi lebih jauh, ternyata fucoidan merupakan kandungan polisakarida yang kaya fucosa yang hanya terkandung dalam alga cokelat. Turunan polisakarida sulfat dari fucoidan

secara kompleks terdiri dari galaktosa, xilosa, manosa, dan asam uronat terdapat pada dinding-dinding sel alga cokelat khususnya sargassum sp., fucoidan juga memiliki sifat larut dalam air dan larutan asam. Banyak manfaat yang terkandung di dalam fucoidan diantaranya yaitu mempunyai efek antiviral, anti-coagulan, anti thrombin, antioksidan yang tinggi, terdapat aktivitas biologi seperti bekerja sebagai immunoregulatori, menghambat pertumbuhan tumor, antiinflamasi, hingga ditemukan dapat merangsang pembentukan osteoblas serta tanda-tanda pembentukan tulang oleh osteocalcin dan alkaline sulfat. (Rohim and Estiasih, 2019).

Fucoidan pada umumnya mengandung 38,3% sulfat, 56,7% L-Fukosa dan 8,2% ion logam. Selain memiliki kandungan tersebut di atas, fucoidan juga sangat bervariasi dalam berat molekul, mulai dari 10 kDa sampai sekitar 2000 kDa. Asil penelitian menunjukkan bahwa fucoidan dengan berat molekul rendah memiliki potensi bioaktif yang lebih besar jika dibandingkan dengan fucoidan dengan berat molekul tinggi. Meskipun telah banyak penelitian untuk menentukan struktur fucoidan yang tepat dan pasti, akan tetapi sampai saat ini masih menjadi perdebatan karena fucoidan memiliki struktur yang sangat kompleks. Salah satu Penyebabnya adalah karena fucoidan sulit diekstraksi untuk memperoleh bentuknya yang murni. (Fitton and Srtinger, 2015).

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, dan uji teratogenitas. (Ramirez et al. 2023).

Uji Toksisitas

Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan senyawa untuk menyebabkan kerusakan atau injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif yang terjadi atau tidak terjadinya kerusakan yang tergantung pada jumlah unsur senyawa toksik yang terabsorpsi. Proses pengrusakan ini baru terjadi apabila pada organ target telah telah menumpuk menjadi satu dalam jumlah yang cukup dari bagian

toksik atau metabolitnya, begitu pula hal ini bukan berarti bahwa penumpukan yang tertinggi dari agen toksik itu berada di organ target, tetapi bisa juga ditempat lain. Selanjutnya, untuk sebagian besar senyawa toksik pada konsentrasi yang tinggi dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Konsentrasi senyawa toksik dalam tubuh merupakan jumlah racun yang dipaparkan, kemudian berkaitan dengan kecepatan absorpsinya, jumlah yang diserap, dan berhubungan dengan distribusi, metabolisme maupun ekskresi senyawa toksik tersebut.

Uji toksisitas akut merupakan bagian dari uji praklinik yang dirancang untuk mengukur efek toksik suatu senyawa. Toksisitas akut mengacu pada efek toksik yang terjadi setelah pemberian oral dosis tunggal dalam selang waktu 24 jam. Dosis Letal tengah atau LD50 adalah tolak ukur statistik setelah pemberian dosis tunggal yang sering dipergunakan untuk menyatakan tingkatan dosis toksik sebagai data kuantitatif. Sedangkan gejala klinis, gejala fisiologis dan mekanisme toksik sebagai data kualitatifnya. (Jumain, Syahrini, and Farid, 2018)

Pada dasarnya, nilai tes LD50 yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati, juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan dalam 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya tertulis "LD50 24 jam". Namun seiring perkembangan, hal ini sudah tidak diperhatikan lagi, karena pada umumnya tes LD50 dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil tes "LD50" saja sudah cukup untuk mewakili tes LD50 yang diamati dalam 24 jam. Bila dibutuhkan, tes ini dapat dilakukan lebih dari 14 hari. Contohnya, pada senyawa tricresyl phosphat, akan memberikan pengaruh secara neurologik pada hari 10–14, sehingga bila diamati pada 24 jam pertama tidak akan menemukan hasil yang berarti. Dan jika begitu tentu saja penulisan hasil harus disertai dengan durasi pengamatan. (Ihwan, et al., 2018; Mustapa et al., 2018)

Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ketoksikan akut ini ialah LD50 sedang data kualitatifnya berupa pengamatan klinis dan morfologis efek toksik senyawa uji. Data LD50 yang diperoleh digunakan untuk menentukan potensi ketoksikan akut senyawa relatif terhadap senyawa lain dan dapat digunakan untuk memperkirakan takaran dosis uji toksikologi lainnya.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian kuantitatif dengan metode *laboratorium experimental*.

2.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian the post test only control group design, yaitu kelompok kelompok diberi perlakuan dan kelompok Kontrol kemudian di lakukan observasi.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

2.3.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2023 – Desember 2023

2.3.2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biofarmaka, Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi, dan Laboratorium FMIPA Universitas Hasanuddin

2.4 Variabel Penelitian

Variabel tergantung (Dependent variabel) : Pengetahuan kebersihan gigi dan mulut

Variabel bebas (Independent variabel) : Pengguna peranti ortodonti cekat dan lepasan

2.5 Kriteria Sampel, Sampel dan Metode Pengambilan Sampel

2.5.1. Kriteria Sampel

Kriteria Inklusi

- a. Mencit Jantan (Musculus M)
- b. Tidak memiliki cacat fisik
- c. Berat badan 20-30gr
- d. Umur sekitar 2-4 bulan

Kriteria Eksklusi

- a. Mencit Jantan sakit saat penelitian
- b. Mencit Jantan mati saat penelitian.
- c. Mencit Jantan stress atau tidak mau makan saat penelitian
- d. Mencit Jantan tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan penelitian

2.5.2. Sampel dan Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan Teknik purposive sampling untuk pengambilan sampel dan simple random untuk pengelompokan hewan uji.

$$\text{Rumus Federer: } (n-1)(t-1) \geq 15$$

Besar sampel penelitian yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federer.

Rumus ini digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan atau jumlah sampel/hewan uji agar data yang diperoleh valid. Rumus Faderer sebagai berikut:

Keterangan:

n : besar sampel tiap kelompok

t : banyak kelompok, jumlah intervensi atau pengamatan

Banyak kelompok = 5 kelompok perlakuan

2.6 Variabel Penelitian

Subjek Variabel bebas : Ekstrak Fucoidan alga cokelat Sargassum Bideri

Variabel terkait : Efek toksisitas akut

Variabel kendali : Umur Mencit dan jenis kelamin Mencit

Variabel tidak terkontrol: Genetik mencit jantan, usia Sargassum Bideri

2.7 Definisi Oprasional Variabel

1. Kriteria Kematian hewan uji
Kematian hewan dilihat dari tidak adanya detak jantung dan Gerakan dada untuk bernafas.
2. Kejang otot
Dapat dilihat dari adanya getaran atau kaku pada tubuh hewan uji yang tidak terkontrol
3. Muntah
4. Dilihat dari keluarnya makanan atau hasil pencernaan hewan uji dari mulut hewan uji.
5. Diare
6. Dilihat dari terdapatnya hasil defekasi dengan konsistensi berupa lembek atau cair.
7. Efek toksistas akut
Dilihat dari adanya kematian pada hewan uji, gerak tidak aktif, kejang otot, muntah, diare, dan penurunannya berat badan hewan uji pasca pemberian ekstrak fucoidan.

2.8 Alat dan Bahan

Metode

1. Timbangan analitik digital (FSR-B 1000 gram, Fujitsu, Jepang; Pioneer™ Plus Analytical PA124, Ohaus, Amerika Serikat)
2. Stopwatch
3. Timbangan digital (SF-400, Morizt, China)
4. Rotary evaporator (Rotavapor R-220, Buchi, Swiss; RV 10 digital, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)
5. Labu Erlenmeyer (Iwaki TE-32 1000 ml, Pyrex Asahi Techno Glass, Jepang)
6. Gelas ukur kimia (Iwaki OTE33 1000 ml, Asahi Glass, Indonesia)
7. Gelas kimia (Iwaki CTE33 1000 ml, AGC, Thailand)
8. Oven dryer (Mettler Universal Oven UN110, Mettler GmbH + Co. KG, Jerman)
9. Blender simplisia
10. Magnetic stirrer (C-MAG MS 7, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)
11. Batang pengaduk
12. Corong (Short-Stem Funnel 100 mm, Herma, China)
13. Tiang statik
14. Sentrifuse (Model MX-305, Tomy, Jepang)
15. Corong pisah 500 ml
16. Toples kaca sampel
17. Kanula spuit 3 ml
18. Mesin freeze-dryer, (FT33 MKII, Armfield, Inggris)
19. Cawan petri
20. Spektrofotometer Infra-Red, (FTIR 8400S Spectrometer, Shimadzu, Jepang)
21. Hot plate (Dragon Lab MS H-Pro, Dragon Laboratory, China)
22. Estrak Fucoidan Sargassum Bineri
23. Akuades steril
24. Pakan mencit
25. Larutan CMC 1%
26. Pewarnaan asam pikrat
27. Handscoon dan masker
28. Kertas saring (Whatman Grade 1 125mm Qualitative Filter Paper 1111µm, GE Healthcare, Amerika Serikat)
29. Etanol 70%
30. Etil asetat.

2.9 Prosedur Penelitian

2.9.1 Pengelolahan Ekstrak *Sargassum Binderi*

Ekstraksi menggunakan CaCl_2 2% pada suhu 85°C .

- 1) Tepung rumput laut direndam dalam CaCl_2 2% (1:20) (b/v) lalu diekstraksi sambil diaduk selama 4 jam pada suhu 85°C .
- 2) Penyaringan dilakukan dengan menggunakan planktonet 500 mesh, kemudian filtrat disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit. Filtrat dipisahkan dari endapannya dan ke dalam filtrat ditambah etanol (1:2).
- 3) Hasil endapan yang diperoleh dilarutkan dalam air dan disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit (sampai benar-benar larut). Filtrat yang diperoleh didialisis dengan 0,5 M NaCl dan akuabides sehingga diperoleh ekstrak fukoidan, lalu dikering bekukan.

2.9.2 Analisis Teknik FT-IR (*Fourier- Transform Infrared Spectroscopy*) pada Fukoidan

Fourier Transform Infrared (FT-IR) merupakan salah satu metode pengukuran untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa. Pengujian FTIR dilakukan pertama kali untuk mengetahui informasi terkait ikatan kimia yang ada pada fukoidan alga cokelat *Sargassum binderi*. Uji analisis dengan teknik FT-IR menggunakan alat spektrofotometri Shimadzu 8400S buatan Jepang, dengan prosedur sebagai berikut:

1. Buka program aplikasi FTIR 8400 pada komputer.
2. Sampel fukoidan *Sargassum binderi* sejumlah 1 mg dimasukkan ke dalam sample holder mesin FTIR.
3. Pada menu aplikasi kemudian dilakukan scanning dengan FTIR 8400 pada panjang gelombang ($\tilde{\nu}$) 765 nm.
4. Didapatkan hasil nilai absorbansi dengan standar yang digunakan adalah asam galat, yaitu standar yang digunakan untuk mengetahui ekspresi kandungan fenolik dengan nilai equivalen asam galat (1 gram asam galat/ kg ekstrak).
5. Spektrum yang diperoleh muncul pada layar beserta nilai panjang gelombang.
6. Hasil yang didapat dilakukan analisis data berdasarkan gugus fungsi pada bilangan gelombang tertentu

2.9.3 Persiapan Bahan Uji Toksisitas Akut

1. Kontrol negatif menggunakan CMC konsentrasi 1% dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam gelas dan ditambah sedikit aquadest. Selanjutnya dipanaskan diatas hot plate dan ditambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

2. Dilakukan pembuatan stok larutan dosis sampel berdasarkan kelompok dosis yang disesuaikan dengan berat badan hewan uji.
3. Pembuatan suspensi ekstrak fucoidan *Sargassum Binderi*, dibuat dengan cara mencampur ekstrak fucoidan sebanyak 17,5 mg/KgBB, 35mg/KgBB, 70mg/KgBB, dan 140mg/KgBB, masing-masing ekstrak fucoidan di larutkan dengan CMC sebanyak 10 ml.

2.9.4 Persiapan Hewan Uji

Mencit jantan berusia 2-4 bulan dengan berat 20-30 gram dengan kriteria seperti pada variable Kontrol diadaptasikan di kandang mencit Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin dengan persiapan sebagai berikut:

1. Pertama, dilakukan penimbangan berat badan hewan uji agar sesuai dengan kriteria sampel.
2. Mencit ditempatkan pada kandang berukuran 45 x 35 x 17 cm dan ditempatkan di dalam ruangan yang cukup aliran udara dan cahaya. Alas kandang diberi sekam setebal 2 cm dan diganti setiap 2 hari sekali.
3. Besar seluruh sampel akan dibagi dalam 5 kelompok yang nantinya akan ditempatkan dalam 5 kandang.
4. Makanan diberikan secara *ad libitum* dengan menitikberatkan pada makanan yang banyak mengandung serat kasar, umbi-umbian, jagung, serta hijau-hijauan yang lain.
5. Minuman diberikan dalam botol 300 ml yang dilengkapi pipa kecil diisi air matang. Makanan diberikan dalam wadah kecil dan diberikan 3 kali sehari yaitu pada setiap pagi, siang, malam.
6. Binatang percobaan diadaptasikan selama 1 minggu untuk mendapatkan Kesehatan umum yang baik serta penyesuaian terhadap lingkungan.
7. Penempatan kandang:
 - a. Kandang ditempatkan pada tempat dengan pola 12 jam terang dan 12 jam gelap.
 - b. Kandang ditempatkan agak jauh dari kebisingan sehingga binatang percobaan bisa lebih tenang
 - c. Kandang diusahakan pada tempat yang kering agar tidak menjadi sarang penyakit.

2.9.5 Uji Toksisitas Akut

Penelitian ini menggunakan 25 ekor Mencit Jantan yang terbagi kedalam 5 kelompok, yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan, yaitu:

1. Kelompok I = Kontrol negatif CMC 1%
2. Kelompok II = Formulasi 1 (F1) ekstrak fucoidan *Sargassum Binderi* 17,5 mg/KgBB

3. Kelompok III = Formulasi 2 (F2) ekstrak fucoidan Sargassum Bideri 35 mg/KgBB
4. Kelompok IV = Formulasi 3 (F3) ekstrak fucoidan Sargassum Bideri 70mg/KgBB
5. Kelompok V = Formulasi 4 (F4) ekstrak fucoidan Sargassum Bideri 140mg/KgBB

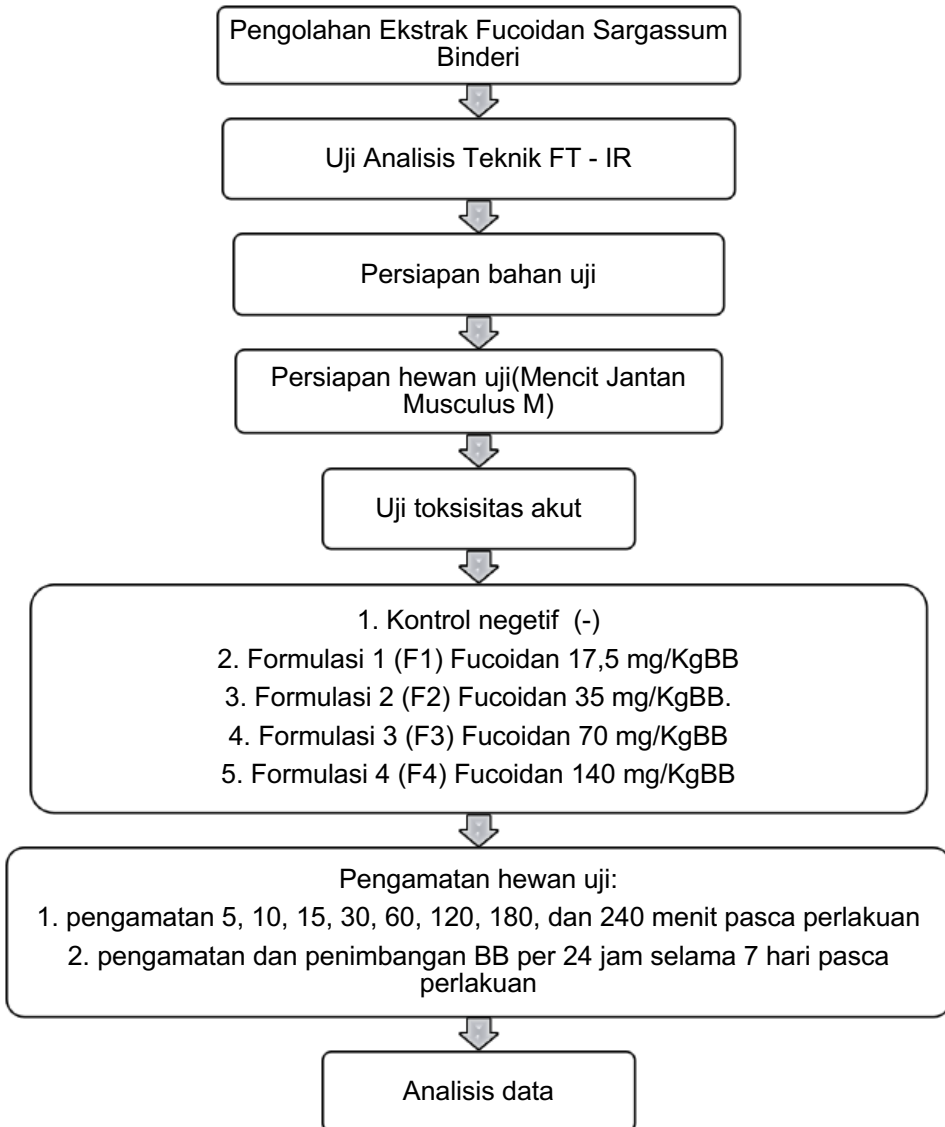
2.9.6 Pengamatan Hewan Uji Pasca Perlakuan

1. Pengamatan dilakukan pada 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, dan 240 menit pertama setelah pencekakan dilanjutkan pengamatan per 24 jam selama 7 hari secara kontinyu.
2. Pengamatan tersebut meliputi gejala klinis yang diamati antara lain keaktifan gerak (aktif bergelantungan pada atap kandang dan sering mengendus-endus sekeliling/rasa ingin tahu yang tinggi), kejang otot, muntah dan diuresis.
3. Selama 7 hari berturut-turut berat badan (gram) ditimbang dari sebelum diberi perlakuan dan setelah diberikan perlakuan.

2.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistic dengan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui distribusi data (karena data pengamatan < 50 sampel, jika hasil uji statistic nilai $p > 0.05$ maka data berdistribusi normal) dan dianalisis dengan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan menggunakan metode ANOVA dan dilanjutkan uji LSD (Least Significant Difference) untuk mengetahui ada atau tidak adanya perbedaan bermakna. Apabila dari salag satu syarat uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilanjutkan uji Kruskal- Wallis untuk melihat adanya perbedaan. Apabila terdapat perbedaan bermakna dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

2.11 Alur Penelitian



2.12 Etik Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari kolaborasi penelitian dari Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K) sudah mendapatkan izin dari Komite Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan nomor 59/UN4.6.4.5.31/PP36/2024.