

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Makroalga *Eucheuma cottonii*

Makroalga yaitu salah satu penyusun ekosistem sepanjang paparan terumbu yang mempunyai manfaat ekonomis dan ekologis. Secara ekonomis, makroalga ini mempunyai manfaat sebagai sumber karagenan, alginat, dan agar (Handayani, 2017). Secara ekologis, makroalga merupakan produsen primer dalam rantai makanan, sumber makanan ini untuk organisme laut. (Williams dan Smith 2007). Makroalga bisa sebagai sumber polisakarida bioaktif sehingga dimanfaatkan didalam bidang farmasi sebagai antitumor, antikanker (Liu dkk,2005), antikoagulan (Chevrolet dkk,1999), antibakteri (Sridharan dkk, 2014), antidiabetes (Unnikrishnan et al. 2014), dan antioksidan (Hu dkk,2001) Makroalga dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan. (Akhtar dkk,2002)

Makroalga ini berpotensi untuk dikembangkan, sehingga keberadaan dialam harus tetap dijaga. Keberadaan dapat dipengaruhi oleh beberapa kondisi perairan tempat hidupnya. (Kutse dkk, 2006) Untuk kondisi dapat berbeda dan memiliki jumlah spesies yang berbeda juga. Jenis dari makroalga sangat bernilai ekonomis karena mempunyai kandungan hidrokoloid berupa karagenan yang mempunyai sifat fungsional yaitu untuk pembentuk gel, penstabil, pensuspensi, pembentuk tekstur emulsi sehingga dapat diaplikasikan dalam industri farmasi, kosmetik dan juga makanan. (Susanto dkk,2009). Alga merupakan organisme yang masuk ke dalam Kingdom Protista sehingga bisa mirip dengan tumbuhan, struktur tubuh berupa talus. Alga juga memiliki pigmen klorofil sehingga bisa berfotosintesis.

Klasifikasi pada alga terdiri dari 3 divisi yaitu *Chlorophyta* (alga hijau), *Rhodophyta* (alga merah), serta *Phaeophyta* (alga coklat). *Chlorophyta* mempunyai pigmen yang lebih dominan dengan berwarna hijau, pigmennya berasal dari klorofil yang dikandung di alga. *Rhodophyta* ialah alga yang berwarna merah. Warna merah di *Rhodophyta* ini karena cadangan fikoeritrin lebih dominan dibanding dengan pigmen lain. *Rhodophyta* juga mempunyai pigmen lain yaitu karotenoid, klorofil dan pada jenis tertentu terdapat fkuosianin. Dan pada *Phaeophyta* yaitu alga berwarna coklat. Pada warna coklat ini merupakan pigmen fukosantin yang dominan dan juga mengandung pigmen lain yaitu klorofil a dan b, karoten serta santofil. *Phaeophyta* yaitu alga yang mempunyai ukuran lebih besar dibanding *Chlorophyta* dan *Rhodophyta*.

Eucheuma cottonii termasuk kedalam salah satu jenis rumput laut merah atau masuk kedalam klasifikasi *Rhodophyta*. Hal ini karena kandungan pigmen yang paling banyak ditemukan

pada *Eucheuma cottonii* yaitu fikoeritrin lebih dominan. *Eucheuma cottonii* dikenal dengan nama lain *Kappaphycus alvarezii* karena dinding selulosanya mengandung karagenan termasuk kedalam fraksi kappa.



Gambar 2.1 Makroalga *Eucheuma cottonii*

Sumber : Koleksi Pribadi

Eucheuma cottonii memiliki ciri fisik seperti permukaan licin, thallus silindris, cartilaginous. Cabang thallus berujung tumpul atau runcing, ditutupi nodules (tonjolan) dan duri lunak melindungi gametangia. Cabang sifatnya dichotomus (percabangan 2-2) atau trichotomus (cabang 3-3). Seperti tanaman tingkat tinggi, *Eucheuma cottonii* juga memerlukan sinar matahari untuk dapat melangsungkan proses fotosintesis sebagai metabolisme utamanya, sehingga pembudidayaan hanya bisa dilakukan pada lapisan kedalaman yang tertembus oleh sinar matahari (lapisan fotik). Pigmen fikobilin dan fikoeritrin yang berwarna merah pada thallus *Eucheuma cottonii* merupakan hasil adaptasi kromatik terhadap sinar matahari. (Suparmi, 2013) Selain mengandung pigmen, *E. cottonii* diketahui mengandung senyawa flavonoid. Senyawa ini diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Klasifikasi *Eucheuma cottonii* yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: <i>Rhodophyceae</i>
Ordo	: Gigartinales
Family	: <i>Solieraceae</i>
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Species	: <i>Eucheuma cottonii</i>

Eucheuma cottonii dapat hidup dan berkembang pada kawasan pesisir yang menerima aliran tetap di wilayah subtidal dan intertidal dan kedalamannya mencapai 10-30 sentimeter pada surut terendah. (Wijayanto et al., 2011) Kualitas pada rumput laut bisa dilihat dari kandungan karaginanannya. Sehingga faktor yang dapat mempengaruhi kualitas ini berasal karaginan yaitu pada tingkat pertumbuhan rumput laut. (Harun, 2013) Karaginan ialah hasil dari proses ekstraksi getah dari salah satu spesies rumput laut kelas *Rhodophyceae* (alga merah) yang bisa diekstraksi menggunakan air atau larutan alkali (Ega dkk., 2016). Kualitas karaginan akan menjadi apabila rumput laut tumbuh dengan sangat baik, begitupun dengan sebaliknya. Rumput laut memiliki beberapa parameter yang bisa digunakan untuk menilai kualitas karaginan yaitu kadar abu, kadar air, rendemen, viskositas dan kekuatan gel (Asikin & Kusumaningrum, 2019).

2.2. Delignifikasi

Delignifikasi bertujuan untuk memecah lignin dengan merusak struktur kristal yang mengikat selulosa, bisa juga untuk memecah bahan-bahan lignoselulosa baik dari segi struktur dan ukuran. (Ristianingsih et al., 2015) Hidrolisis secara enzimatik berfungsi sebagai pemecah substrat. (Tahezadeh dan Karimi, 2008) dijelaskan bahwa hidrolisis enzimatik mempunyai beberapa keuntungan dibanding dengan hidrolisis asam, yaitu kondisi yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral) dan biaya perawatan untuk peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. (Tahezadeh & Karimi, 2008) Kandungan lignin salah satu penghambat utama biokonversi lignoselulosa menjadi etanol. Lignin dapat melindungi selulosa, sehingga selulosa sulit dihidrolisis menjadi glukosa (Wiratmaja et al., 2011). Proses ini banyak dilakukan untuk memecah pelindung sehingga selulosa menjadi mudah dihidrolisis tanpa banyak kehilangan polisakaridanya. Hemiselulosa berada diantara lignin dan kumpulan serat selulosa. Lapisan hemiselulosa berikatan secara kovalen dengan lignin dan non-kovalen dengan selulosa melalui ikatan hidrogen. (Beg et al. 2001) Jika delignifikasi dapat mengurangi jumlah lignin, maka secara otomatis ikatan xilan dengan selulosa akan mudah terputus. Pemecahan rantai polisakarida tersebut dengan lignin akan memberikan peningkatan jumlah hemiselulosa yang dihasilkan.

2.3 Antioksidan

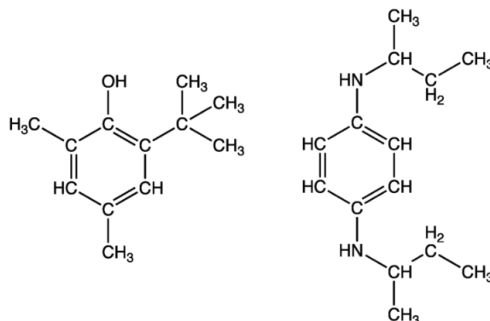
Antioksidan yaitu senyawa kimia yang dapat menyumbangkan elektron dikandungnya kepada radikal bebas. (Suhartono, 2002) Secara alami tubuh dapat menghasilkan senyawa antioksidan yang terdiri dari antioksidan enzimatik dan non enzimatik, senyawa antioksidan tidak mampu menghambat oksidan yang terbentuk akibat stress oksidatif sehingga diperlukan

antioksidan yang berasal dari luar tubuh atau eksogen (Halliwell dkk, 1995). Kerja antioksidan dengan menyumbangkan elektron, dapat menetralkan radikal bebas yang akan mengoksidasi molekul biologis yang dapat menyebabkan kematian sel dan kerusakan jaringan. (Ozben, 2007) Antioksidan alami dari alga sangat berperan penting untuk mengobati berbagai jenis penyakit yaitu antikanker, sitotoksik, antimalarial, antiinflamasi, antibakteri, antijamur, dan dapat mencegah proses penuaan. (Zubia dkk., 2007)

Antioksidan eksogen diperoleh pada bentuk sintesis buatan secara alami. Antioksidan buatan yaitu asam benzoat, BHA (Butylated Hydroxy Anisole), BHT (Butylated Hydroxytoluene) atau TBHQ (Tertiary Butylated Hydroxy Quinone) bisa mengakibatkan efek samping pada kesehatan tubuh. BHA serta BHT yang sudah diteliti akibatnya bisa menyebabkan tumor pada hewan coba, dan digunakan pada jangka waktu yang cukup lama serta dapat menyebabkan kerusakan hati bila dikonsumsi secara berlebihan. (Andarwulan et al. 1996) Efek samping yang didapat pada pengguna antioksidan sintetik yaitu mendorong perkembangan penelitian terhadap antioksidan

alami yang lebih aman serta lebih mampu dalam mengurangi radikal bebas dalam tubuh.

Antioksidan alami ditemukan dari tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan. Indonesia salah satu Negara yang mempunyai populasi flora yang begitu luas dan paling banyak di dunia. Tumbuh-tumbuhan dapat mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan fenolik yang berguna sebagai penangkap radikal bebas. (Cos et al., 2001) Menurut (Duenas et al., 2009) mengatakan senyawa ksanton dan turunan flavonoid (kuersetin dan katekin) dapat dihasilkan tumbuhan yang mempunyai kemampuan menghambat kerja radikal bebas.



Gambar 2.2 Struktur Antioksidan

(Sumber: <https://www.wikiwand.com/>)

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

2.4.1 Uji DPPH

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ditetapkan aktivitasnya dalam nilai inhibition Concentration 50 (IC50), Metode DPPH dapat digunakan untuk menguji kemampuan suatu komponen sebagai penangkap radikal bebas dalam suatu bahan atau ekstrak. Kelebihan dari metode DPPH ini yaitu dapat dikerjakan dengan secara cepat dan sederhana (Pamarti, 2005). Metode peredaman radikal bebas DPPH pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas. Ketika larutan DPPH berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH ini akan tereduksi, sehingga menyebabkan warna ungu akan memudar dan dapat digantikan dengan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Prayoga, 2013).

2.4.2 Uji ABTS

(Asam 2,2 Azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6sulfonic acid) sebagai sumber penghasil radikal bebas (Wang dkk., 2004). Kekurangan pada metode ABTS yaitu sangat sensitif terhadap cahaya, bahkan pembentukan ABTS memerlukan waktu inkubasi selama 12 – 16 jam dalam kondisi gelap (Alali dkk., 2007).

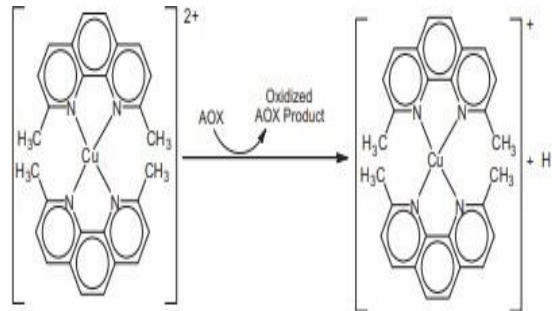
2.4.3 Uji FRAP

(*Ferric Reducing Antioxidant Power*) menggunakan Fe (TPTZ)₂³⁺ kompleks besi- ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi (Benzie dan Strain., 1996). Kelebihan dari metode FRAP yaitu efisiensi waktu, lebih murah. kekurangan pada metode FRAP yaitu tidak dapat mengukur antioksidan dengan gugus thiol (mengandung SH) seperti glutathion dan metode ini hanya terbatas untuk antioksidan yang larut dalam air, dan karotenoid tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi ferri, sehingga tidak terukur (Apak dkk., 2007).

2.4.4 Uji CUPRAC

Pengujian *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), reagen Cu(II)-neocuproine (Cu(II)-(Nc)₂) dapat digunakan sebagai agen pengoksidasi kromogenik karena reduksi ion Cu(II) dapat diukur. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang lebih selektif karena mempunyai nilai potensial reduksi yang rendah. Pengukuran pada kapasitas antioksidan metode CUPRAC mempunyai keunggulan dibanding dengan metode pengukuran antioksidan yang lain, sehingga reagen cukup cepat untuk mengoksidasi tiol jenis antioksidan. Reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diakses dari reagen kromogenik lainnya (misalnya ABTS, DPPH). Dengan metode ini sangat mudah dan berlaku di laboratorium konvensional yang

menggunakan standar kolorimetri dan memerlukan operator yang memenuhi syarat. Metode ini dapat mengukur hidrofilik dan lipofilik dari antioksidan (misalnya β -karoten dan α -tokoferol) (Apak et al., 2010). Berdasarkan kajian diatas, maka perlu dilakukan penelitian ini untuk menganalisis aktivitas antioksidan makroalga *Eucheuma cottonii* dengan metode CUPRAC.



Gambar 2.3 Reaksi CUPRAC

(Sumber: (Özyürek et al., 2011))

Metode ini menggunakan pengukuran EC_{50} sebagai parameter untuk menentukan konsentrasi dari sampel atau standar yang dapat menunjukkan efektivitas 50% kapasitas CUPRAC. Semakin rendah nilai EC_{50} maka akan memiliki kapasitas antioksidan paling tinggi. EC_{50} kurang dari 50 ppm merupakan antioksidan yang sangat kuat, 50-100 ppm merupakan antioksidan kuat, 101-150 ppm merupakan antioksidan sedang, lebih dari 150 ppm antioksidan yang lemah (Fidrianny dkk., 2015).

2.5 Metode Ekstraksi

Preparasi mencakup pengeringan bahan dan pemotongan bahan ke ukuran yang sesuai untuk kebutuhan ekstraksi. Semakin besar luas bidang kontak antara pelarut dengan padatan, maka semakin kecil ukuran partikel, dan semakin tinggi laju transfer massa membuat jalur difusi semakin pendek. (Mustafa dan Turner, 2011) Waktu yang dibutuhkan untuk komponen keluar dari material dipersingkat, dengan begitu proses ekstraksi bisa dilakukan dengan lebih cepat. Teknik memperkecil ukuran bahan bisa melalui cara penggilingan atau perajangan dengan menggunakan mesin. Partikel bahan sesudah diiris harus berukuran sama karena untuk memudahkan difusi pelarut kedalam bahan. Bahan yang sudah sangat halus pun bisa menggumpal, dengan demikian pelarut sulit untuk ditembus. Ukuran partikel yang cocok untuk ekstraksi yaitu serbuk. (Suryandari, 2001).

Sebelum melakukan ekstraksi, dilakukan pengeringan bahan terlebih dahulu sehingga kadar air sebagai tindakan pendahuluan pada bahan tersebut. Pengeringan bisa memudahkan

pengurangan ukuran dan memaksimalkan kualitas ekstrak dengan menghindari air dalam ekstrak. Kandungan air yang tinggi bisa membuat hasil ekstrak berisi komponen larut air seperti gula dan pati. Biasanya tanaman dikeringkan pada suhu kamar $<30^{\circ}\text{C}$ dan menghindari cahaya matahari langsung karena pengeringan langsung bisa mengubah komposisi senyawa penyusun bahan tersebut.

2.5.1 Ekstraksi Metode maserasi

Ekstraksi yaitu proses pemindahan komponen senyawa yang diharapkan dari suatu bahan dengan cara memisahkan satu atau lebih komponen bahan yang menjadi sumber komponennya. Prinsip dari ekstraksi yaitu pelarutan senyawa non-polar. Serbuk simplisia berturut-turut di ekstraksikan menggunakan pelarut yang berbeda dengan kepolarannya (Ahmad,2006). Ekstraksi terjadi ketika komponen terlarut pada padatan dihilangkan oleh pelarut. Komponen terlarut terjebak dalam padatan dan melewati pori- pori padatan. Zat terlarut berdifusi dari permukaan partikel padat menuju lapisan film sekitar padatan, kemudian ke larutan. (eka, 2010).

Metode ekstraksi yang umum digunakan ini untuk pemisahan metabolit sekunder adalah maserasi. Maserasi yaitu proses ekstraksi paling sederhana, dengan merendam bubuk simplisia dalam pelarut organik (cairan pengestraksi) selama beberapa hari dan dijauhkan dari sinar matahari langsung (mencegah perubahan warna dan reaksi yang dikatalisis cahaya). Proses ekstraksi melalui metode maserasi yaitu proses perendaman bersifat pelunakan. Perendaman simplisia dalam pelarut menginduksi pelunakkan serbuk *Eucheuma cottonii*. (Daud,dkk 2011).