### **BAB II**

#### TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Makroalga

#### 2.1.1 Echeuma cottonii

Makroalga merah (divisi Thallophyta) mempunyai sekitar 3000 jenis, makroalga merah mempunyai dinding sel selulosa yang sangat peka terhadap cahaya. Warna merah pada makroalga ini dihasilkan oleh pigmen merah yang dominan yaitu fikoeritrin. Pigmen merah ini mampu menyerap cahaya biru dan ungu. Makroalga merah biasanya ditemukan di perairan dalam dan memiliki sistem percabangan yang kompleks. Beberapa bentuknya tampak seperti filamen sederhana dengan ketebalan dan lebar yang berbeda, tetapi yang lainnya memiliki sistem percabangan yang lebih kompleks. Makroalga merah memiliki talus dengan bentuk dan warna yang bervariatif. Bentuknya bisa silindris, pipih, atau lembaran. Warnanya bisa merah, ungu, coklat, atau hijau.

Makroalga merah dapat dibedakan dari thallus. Thallus *Eucheuma cottonii* memiliki ujung runcing atau tumpul berwarna coklat ungu atau hijau kuning. Thallusnya bercabang-cabang, berbentuk silindris atau pipih, dengan percabangan yang tidak teratur dan kasar (sehingga berbentuk lingkaran). Thallus dan cabang-cabang Eucheuma cottonii memiliki spine yang tidak teratur. Permukaannya licin dan berwarna hijau, kuning, abu-abu, atau merah muda. Thallusnya sederhana hingga kompleks (Ditjenkan Budidaya, 2004).

### Klasifikasi Toksonomi

Kingdom: *Plantae* 

Divisi : Rhodophyta

Kelas : *Rhodophyceae* 

Ordo : Gigartinales

Famili : Solieriaceae

Genus : Eucheuma

Spesies : Eucheuma cottonii (Kadi dan Atmadja, 1988)



Gambar 2.1 Echeuma Cottonii (Sudarminto, 2015)

Eucheuma cottonii menyumbangkan atom hidrogen dan mengubahnya menjadi senyawa yang lebih stabil, menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Prasetyaningrum dkk, 2013). Antioksidan yang terkandung dalam Eucheuma cottonii termasuk dalam senyawa antioksidan primer. Selain itu, pada perbandingan pelarut dan ekstrak 3:1, kandungan antioksidan Eucheuma cottonii menunjukkan tingkat inhibisi sebesar 90%. Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa Eucheuma cottonii memiliki kemampuan untuk menghambat radikal hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sebesar 10%. Studi menunjukkan bahwa esktrak methanol Eucheuma cottonii mengandung flavonoid, fenol, dan alkaloid. Senyawa-senyawa ini dapat berfungsi sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan untuk menghentikan aktivitas radikal peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Karpanai et al., 2014).

Bahan kimia aktif yang ditemukan dalam Eucheuma cottonii memiliki kemampuan untuk mendorong epitelisasi, atau pertumbuhan jaringan epitel, dan meningkatkan granulasi jaringan, yang pada gilirannya membantu tikus Sprague-Dawley menyembuhkan luka. Ekstrak dari Eucheuma cottonii memiliki efek pada seberapa cepat luka sembuh. Beberapa pigmen (fucoxanthin, astaxanthin, karotenoid) dan senyawa fenol (asam fenolat, flavonoid, dan tanin) yang ditemukan dalam Eucheuma cottonii memiliki kemampuan untuk berfungsi sebagai antioksidan dan dapat mempercepat penyembuhan luka pada hewan percobaan (Fard dkk, 2011).

Ekstrak metanol *Eucheuma cottonii* memiliki 8,71 mg total fenol per gram ekstrak, atau sebanding dengan asam galat. Selain itu, metode ekstraksi maserasi

menghasilkan nilai persentase penghambatan yang lebih tinggi (32,74%) pada Eucheuma cottonii dibandingkan dengan metode soxhletasi (31,44%). Hasil pemeriksaan fitokimia juga menunjukkan bahwa *Eucheuma cottonii* mengandung bahan kimia seperti alkohol, asam karboksilat, senyawa aromatik, ester, eter, dan alkana selain senyawa fenol (Foon dkk, 2013).

## 2.2 Asam Lemak

Salah satu komponen dasar lemak yang dihasilkan dari hidrolisis lemak, minyak, atau senyawa lipid lainnya adalah asam lemak. Asam lemak pembentuk lemak dapat dibedakan berdasarkan jumlah atom C (karbon), jumlah ikatan rangkap, letak ikatan rangkap, dan ada atau tidaknya ikatan rangkap. Berdasarkan struktur kimianya, asam lemak dapat diklasifikasikan sebagai asam lemak jenuh, atau asam lemak tanpa ikatan rangkap. Asam lemak tak jenuh, juga dikenal sebagai asam lemak tak jenuh, adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap. Asam lemak tak jenuh terbagi lagi menjadi asam lemak tak jenuh tunggal, yang memiliki satu ikatan rangkap, dan asam lemak tak jenuh ganda, yang mengandung satu atau lebih ikatan rangkap (Marcel dekker, 1996).

Ada tiga jenis asam lemak: rantai pendek dengan 2-4 atom karbon, rantai sedang dengan 6-12 atom karbon, dan rantai panjang dengan lebih dari 12 atom karbon. Jumlah total atom karbon dalam asam lemak adalah 4-24. Asam lemak rantai panjang terdapat pada semua lemak makanan hewani dan sebagian besar minyak nabati. Panjangnya rantai karbon meningkatkan titik cair asam lemak. Dengan bertambahnya panjang rantai karbon, titik cair asam lemak meningkat. Secara alami, asam lemak yang membentuk lemak bahan pangan terdiri dari asam lemak dengan posisi cis seperti kelapa, kedelai, jagung, canola, dan minyak kelapa sawit (Mayes PA, 2003).

## 2.2.1 Jenis-Jenis Asam Lemak

### 1. Asam Lemak Jenuh

Asam lemak yang diklasifikasikan sebagai asam lemak jenuh tidak memiliki ikatan rangkap di antara atom-atom karbonnya. Hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan dengan asam lemak tak jenuh, asam lemak jenuh tidak terlalu rentan terhadap oksidasi dan produksi radikal bebas (Muller, H. Dkk 2003). Minyak kelapa, kelapa sawit, dan minyak lainnya

yang pernah digunakan untuk menggoreng (jelantah) mengandung asam lemak jenuh, yang biasanya ditemukan pada lemak hewani termasuk pada asam lemak jenuh.

Gambar 2.2 Rantai Asam Lemak Jenuh

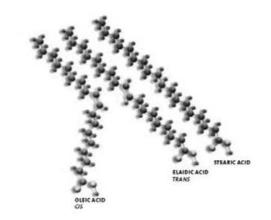
#### 2. Asam Lemak Tak Jenuh

Asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap dalam rantai karbonnya. Isomer asam lemak tak jenuh adalah trans dan cis. Asam lemak tak jenuh dapat menciptakan isomer geometris, kadangkadang disebut sebagai isomer cis/trans, ketika asam lemak tak jenuh dengan konfigurasi cis (struktur bengkok) berisomerisasi - struktur kimia atau isomer berubah bentuk - menjadi konfigurasi trans (struktur yang lebih linier). Dibandingkan dengan asam lemak tak jenuh, isomer ini lebih mirip dengan asam lemak jenuh.

Asam lemak trans diperoleh dari perlakuan hidrogenasi (pemberian atom hidrogen) pada asam lemak tidak jenuh seperti linoleat, linolenat, arakidonat, dan oleat. Asam lemak trans memiliki posisi trans yang berseberangan.

Isomer alami asam lemak tak jenuh cis, seperti asam oleat, linoleat, dan linolenat, terbentuk ketika ikatan rangkap cis terisomerisasi menjadi konfigurasi trans. Isomer geometris ini lebih stabil secara termodinamik daripada cis (perubahan asam oleat menjadi asam elaidat) (Marcel dekker, 1996). Ikatan trans, di sisi lain, memiliki konfigurasi berenergi lebih rendah. Akibatnya, molekul asam lemak tidak jenuh cis tidak linier dan cair pada suhu kamar (titik leleh asam oleat 16,3°C). Pada suhu kamar (titik leleh asam elaidat 45°C), molekul asam lemak tidak jenuh trans berbentuk linear dan padat. Asam lemak trans secara alami ada dalam jumlah kecil pada hewan

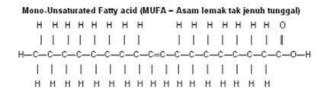
ruminansia, oleh karena itu dapat ditemukan dalam mentega, susu penuh krim, keju, telur, dan daging.



Gambar 2.3 Rantai Asam Lemak Tak Jenuh Ciss dan Trans

# a. Asam Lemak Tak Jenuh Tunggal

Asam lemak yang dikenal sebagai asam lemak tak jenuh tunggal memiliki satu (1) ikatan rangkap dalam rantai atom karbonnya. Lemak ini dikategorikan sebagai asam lemak rantai panjang, yang sebagian besar terdapat pada minyak kanola, zaitun, kedelai, kacang tanah, dan biji kapas. Omega-9 (Oleat) merupakan salah satu jenis asam lemak tak jenuh tunggal yang lebih stabil dan berperan lebih baik dibandingkan asam lemak tak jenuh ganda.



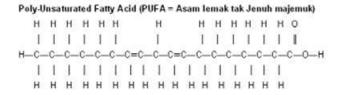
Gambar 2.4 Rantai Asam Lemak Tak Jenuh Tunggal

### b. Asam Lemak Tak Jenuh Ganda

Asam lemak tak jenuh ganda, adalah asam lemak dengan dua atau lebih ikatan rangkap yang berwujud cair pada suhu normal dan bahkan tetap cair pada suhu dingin. Minyak ikan dan minyak nabati seperti yang ditemukan dalam bunga matahari, jagung, dan biji bunga matahari mengandung banyak asam lemak

ini. Biji-bijian dan kacang-kacangan adalah sumber alami PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) yang baik untuk kesehatan (Almatsier. S, 2001). Contoh PUFA adalah asam linoleat (omega-6), dan omega-3, tergolong dalam asam lemak rantai panjang yang banyak ditemukan pada minyak nabati/sayur dan minyak ikan.

Asam lemak esensial diperlukan untuk pertumbuhan dan operasi yang tepat dari semua jaringan yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh sendiri. Asam alfa linoleat (omega 6) dan asam alfa linolenat (omega 3) termasuk dalam jenis ini. Asam arakidonat (dari asam linoleat), EPA (eicosapentaenoic acid), dan DHA (docosahexaenoic acid) dari asam linolenat adalah turunan asam lemak yang berasal dari asam lemak yang penting. Sekelompok senyawa eikosanoid yang mirip hormon, seperti leukotrien, tromboksan, prostaglandin, dan prostasiklin, berasal dari asam lemak esensial. Tekanan darah, denyut jantung, fungsi kekebalan, rangsangan sistem saraf, kontraksi otot, dan penyembuhan luka diatur oleh senyawa-senyawa ini (Mayes PA, 2003).



Gambar 2.5 Rantai Asam Lemak Tak Jenuh Jamak

# c. Asam Lemak yang Baik Untuk Kesehatan

Peran penting lipid, khususnya asam lemak omega-3, dalam kesehatan fisik telah lama diketahui. Manfaat kesehatan dari asam lemak omega-3 disebabkan oleh efek anti-inflamasi, hipolipidemik, antitrombotik, dan antiaritmia. Oleh karena itu, asam lemak ini digunakan dalam pencegahan dan pengobatan berbagai macam penyakit, termasuk penyakit jantung koroner dan

artritis reumatoid. Penurunan konsumsi asam lemak omega-3 dan peningkatan asupan asam lemak omega-6 selama satu abad terakhir diyakini telah mengakibatkan dampak buruk bagi kesehatan (Ajith, Jayakumar, 2019).

Asam lemak adalah senyawa organik yang paling banyak terdapat di otak. Mereka diklasifikasikan menjadi delapan kategori utama—asil lemak, gliserolipid, gliserofosfolipid, sphingolipid, sakarolipid, poliketida, isoprenol, dan sterol. Gliserofosfolipid, sphingolipid, dan kolesterol adalah lipid utama yang terdapat di sistem saraf pusat. Komposisi lipid di otak sangat beragam dikaitkan dengan evolusi kemampuan kognitif yang lebih tinggi pada primata (Bozek K dkk, 2015). Lipid memainkan peran fisiologis yang kompleks dan spesifik, banyak di antaranya yang belum dipahami dengan baik. Mereka terlibat dalam pembentukan membran sel, transportasi seluler, dan penyimpanan energi dan juga dapat bertindak sebagai molekul pemberi sinyal dan modulator protein transmembran seperti saluran ion (Brugger B, 2014). Komposisi lipid otak bervariasi berdasarkan usia, jenis kelamin, aktivitas saraf, menekankan, dan trauma (Oliviera TG, 2016). Selain itu, perubahan konsentrasi, organisasi, dan metabolisme lipid berhubungan dengan berbagai penyakit neurologis dan gangguan mental (Kayu PL, 2014). Fungsi otak sangat bergantung pada asupan asam lemak tak jenuh ganda yang cukup. PUFA yang terdapat dalam tubuh manusia dapat digolongkan menjadi dua golongan utama, yaitu PUFA omega-6 dan omega-3 yang berasal dari dua asam lemak esensial yaitu asam linoleat (LA, 18:2 ω -6) dan asam α-linolenat (ALA, 18:3 ω-3), masingmasing. Semua PUFA omega-3 berasal dari ALA melalui desaturasi, elongasi, dan β-oksidasi. Pada manusia, ALA harus diperoleh melalui makanan karena tidak dapat disintesis.

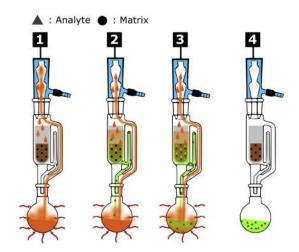
### 2.3 Ekstraksi

#### 2.3.1 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur tertentu (Karina dkk, 2016). Proses maserasi banyak digunakan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan proses perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut (Ummah, 2010). Proses maserasi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, suhu, waktu, dan juga jenis pelarut maserasi yang digunakan. Pemilihan suhu yang tepat akan menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi, sebaliknya penggunaan suhu yang tinggi dan waktu terlalu lama akan mengurangi rendemen ekstrak yang dihasilkan (Mihra dkk, 2018). Seperti itu juga dengan pelarut, penggunaan pelarut yang sesuai akan meningkatkan rendemen ekstrak yang didapatkan (Markom dkk, 2007).

### 2.3.2 Soxhletasi

Ekstraksi dengan metode soxhlet merupakan metode yang paling banyak digunakan dan diterima untuk mengekstraksi dari sampel padat. Meskipun dianggap sebagai teknik yang lebih tradisional, Soxhletasi merupakan standar yang diterima untuk dibandingkan dengan pendekatan ekstraksi lainnya. Waktu ekstraksi dapat dikurangi secara drastis dengan modifikasi prosedur Soxhlet seperti yang diusulkan oleh Randall pada pertengahan tahun 1970an. Di sini, sampel direndam dalam pelarut mendidih sampai terjadi ekstraksi yang diinginkan. Hal ini meningkatkan kecepatan ekstraksi karena analit lebih larut dalam pelarut panas. Setelah langkah ekstraksi ini, bidal diangkat di atas pelarut mendidih sampai sisa ekstrak dihilangkan. Menutup katup pengembalian pelarut dan penguapan yang hatihati memungkinkan konsentrasi sampel terintegrasi.



Gambar 2.6 Metode Estraksi Soxhlet

# 2.3.3 Bligh and Dyer

Metode *Bligh and Dyer* adalah metode standar untuk ekstraksi total lipid dari jaringan biologis, termasuk makroalga. Metode ini melibatkan penggunaan campuran pelarut organik untuk memisahkan lipid dari komponen non-lipid.

Metode *Bligh and Dyer* terkenal karena efisiensinya dalam mengekstraksi lipid dari berbagai jenis jaringan biologis, termasuk makroalga. Metode ini memungkinkan pemisahan lipid secara efektif dari komponen lain dalam sampel dengan menggunakan campuran pelarut yang sesuai (J.F.C. Morais, 2019).

# 2.4 Metode Gas Chromatography – Mass Spectrometry (Gc – Ms)

Spektrometri massa adalah teknik yang paling selektif untuk penentuan kualitatif suatu senyawa organik dengan mendapatkan informasi berupa bobot melekul dari suatu senyawa organik. Spektrometri massa mempelajari proses ionisasi dengan cara mengukur hubungan antara massa ion dan muatan ion. Selain itu, dimungkinkan untuk mempelajari reaksi ionik dalam fase gas, seperti proses dekomposisi dan reaksi molekul ion. Spektrometer massa adalah perangkat yang menghasilkan kation dari zat uji, memilih ion dalam spektrum sesuai dengan rasio massa terhadap muatan (m/z) dan menentukan proporsi relatif dari setiap jenis ion yang ada. (Kementerian Kesehatan RI 2014).

Analisis dan Interpretasi data biasanya bermuatan netral, mereka dapat membentuk ion molekul ketika sebuah elektron dihilangkan atau ditambahkan.

Massa ion adalah berat atom dari partikel yang akan diteliti. Untuk menentukan massa partikel secara tepat, ada ketepatan yang memadai untuk menghitung resep eksperimental senyawa. Partikel parsial dibentuk dan partikel atom melalui proses pemutusan ikatan yang berbeda. Ada banyak analisis yang meneliti hubungan antara desain pemutus ikatan (desain molekul) dan struktur molekul. Analisis spektrum massa bisa digunakan pada komponen senyawa yang memiliki gugs aromatik, zat alifatik dan untuk senyawa kompleks yang didapat dari bioteknologi. (Kementrian Kesehatan RI 2014).

Gas Chromatography dengan Mass Spektroskophy (GC-MS) adalah gabungan dari kromatografi gas dan spektrometer massa. Keuntungan menggunakan instrumentasi ini adalah dapat memisahkan atau mengidentifkasi komponen-komponen campuran yang mudah menguap. Prinsip kerja dari instrumentasi GC-MS dengan meninjeksikan sampel cairan yang akan diuapkan, sampel yang berbentuk uap akan dibawa oleh fase gerak ke kolom untuk dilakukan pemisahan, setelah proses pemisahan, komponen akan masuk ke proses ion source yang akan terjadi proses ionisas dan hasil yang didapatkan berupa informasi spektrum massa berdasarkan bobot molekul suatu komponen senyawa. Kombinasi Gas Chromatography dengan Mass Spektroscophy (GC-MS) menjadi tawaran yang menarik untuk menganalisis suatu komponen yang mudah menguap.

Ada dua cara untuk analisis kuantitatif menggunakan spektrometer massa. Yang pertama adalah dengan pemantauan selektif ion. Dalam teknik ini, kelompok ion yang diperlukan secara individual difokuskan pada detektor dan diukur. Teknik ini meningkatkan sensitivitas dan selektivitas. Teknik kuantitatif kedua yang diketahui adalah pengenceran isotop. Metodi ini melihat informasi dengan menggunakan isotop yang bersifat reaktif dan stabil, dimana penggunaan isotop stabil menjadi pilihan untuk spektrometri massa. Teknik pengenceran isotop memiliki keunggulan unik yaitu tidak perlu mendapatkan semua bahan asli yang dianalisis untuk mendapatkan informasi kuantitatif yang diperlukan (Kementerian Kesehatan RI 2014).

## 2.4.1 Prinsip kerja GC-MS

Prinsip GCMS adalah dilakukannya identifikasi senyawa komponen berdasarkan distribusi komponen senyawa ke dalam fase diam dan fase gerak untuk pemisahan dan analisis berat molekul senyawa berdasarkan perbedaan berat molekl yang disebabkan oleh defleksi (pembelokan oleh medan magnet). Sehingga dihasilkan suatu spektrum.



Gambar 2.7. Alat GC-MS