

BIOREFINERI FUKOIDAN DAN ALGINAT DARI ALGA COKLAT SARGASSUM SP. (KAJIAN OPTIMASI PROSES)



Dr. Sugiono, S.Pi., M.P

**BIOREFINERI FUKOIDAN DAN ALGINAT
DARI ALGA COKLAT SARGASSUM SP.
(Kajian Optimasi Proses)**

Dr. Sugiono, S.Pi., M.P

**Mitra Ilmu
2023**

BIOREFINERI FUKOIDAN DAN ALGINAT DARI
ALGA COKLAT SARGASSUM SP.
(Kajian Optimasi Proses)

Penulis :

Dr. Sugiono, S.Pi., M.P

ISBN: (978-623-8143-55-9)

Editor :

Untung Trimolaksono dan Matheus Nugroho

Desain Sampul dan Tata Letak:

Sulaiman

Penerbit :

Mitra Ilmu

Kantor:

Jl. Kesatuan 3 No. 11 Kelurahan Maccini Parang

Kecamatan Makassar Kota Makassar

Hp. 0813-4234-5219/081340021801

Email : mitrailmua@gmail.com

Website : www.mitrailmumakassar.com

Anggota IKAPI Nomor: 041/SSL/2022

Cetakan pertama: Januari 2023

Dilarang memperbanyak, menyalin, merekam sebagian atau seluruh bagian buku ini dalam bahasa atau bentuk apapun tanpa izin tertulis dari penerbit atau penulis.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku yang berjudul “Biorefineri fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* (kajian optimasi proses). Buku ini memberikan gambaran bahwa pengembangan metode ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat masih ada permasalahan tentang efisiensi penggunaan bahan baku rendah, banyak limbah dan biaya proses tinggi sehingga tidak dapat menumbuhkan industri dalam negeri. Hal ini terutama karena proses produksi fukoidan dan alginat dari alga coklat dilakukan dengan tujuan terpisah. Dari hasil penelitian ini ada teknologi proses produksi fukoidan dan alginat yang efektif yaitu ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat yang terintegrasi sesuai konsep biorefineri industri. Metode ini sangat efektif, efisiensi penggunaan bahan baku maksimal, limbah sedikit, biaya lebih rendah. Penulis berharap mudah-mudahan buku ini dapat memberikan kontribusi bagi kemajuan perkembangan teknologi dan dapat mendorong tumbuhnya industri fukoidan dan alginat dalam negeri.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung hingga buku dengan judul: Biorefineri fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* dapat diselesaikan.

Semoga buku monograf hasil penulisan ini dapat bermanfaat bagi kemajuan pendidikan dan pembaca pada umumnya. Semoga Allah SWT membalas budi baik semua pihak yang telah memberi kesempatan, dukungan dan bantuan pada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan buku monograf ini.

Pamekasan, 20 Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Kata Pengantar	ii
Daftar isi	iii
Ringkasan	iv
Bab 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Masalah penelitian	4
1.3 Urgensi Penelitian.	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
Bab 2. ALGA COKLAT	
2.1 Alga coklat	6
2.2 <i>Sargassum sp</i>	7
2.3 Komposisi kimia <i>Sargassum sp.</i>	9
2.4 Potensi biorefineri alga coklat	10
2.5 Fukoidan	12
2.6. Alginat	15
2.7 Metode permukaan respon	17
2.8 Hasil penelitian awal	18
Bab 3. METODE PEMECAHAN MASALAH	
3.1 Lokasi dan waktu penelitian	23
3.2 Perlakuan percobaan	23
Bab 4. BIOREFINERI FUKOIDAN DAN ALGINAT DARI ALGA COKLAT	
4.1 Fukoidan	30
4.2 Karakteristik alginat	33
Bab 5. PENUTUP	48
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi kimia <i>Sargassum sp.</i>	10
Tabel 2. Hasil penelitian terdahulu	18
Tabel 3. Analisa regresi polinomial orde pertama ...	22
Tabel 4. Model polinomial dan kode signifikansi	45
Tabel 5. Ketepatan model	45
Tabel 6. Standar viskositas alginat dalam perdagangan pada konsentrasi 1% dalam larutan aquades ...	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Sargassum sp.</i>	9
Gambar 2. Struktur matrik dinding sel alga coklat.	11
Gambar 3. Struktur fukoidan alga coklat <i>fucus</i>	13
Gambar 4. Struktur fukoidan alga coklat <i>Sargassum</i>	15
Gambar 5. Struktur kimia blok M, blok G dan blok MGM	16
Gambar 6. Pengaruh perlakuan asam terhadap viskositas intrinsik alginat <i>Sargassum sp.</i>	20
Gambar 7. Pengaruh perlakuan asam terhadap viskositas intrinsik alginat <i>Sargassum sp.</i> dipetakan dengan model kubik	21
Gambar 8. Diagram alir ekstraksi sequensial fukoidan dan alginat dari alga coklat <i>Sargassum sp.</i>	29
Gambar 9. Permukaan respon rendemen fukoidan dari alga coklat <i>Sargassum sp.</i> sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu, pH dan waktu, suhu dan pH	32
Gambar 10. Permukaan respon rendemen alginat dari alga coklat <i>Sargassum sp.</i> sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C)	35
Gambar 11. Permukaan respon viskositas intrinsik	

	alginat dari alga coklat <i>Sargassum sp.</i> sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C).....	38
Gambar 12.	Permukaan respon berat molekul alginat dari alga coklat <i>Sargassum sp.</i> sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C).....	43
Gambar 13.	Permukaan respon dan kontur plot desirabiliti titik optimal ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat <i>Sargassum sp.</i>	46

SEKAPUR SIRIH

PENULIS melakukan penelitian tentang biorefineri fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* sebagai metode perbaikan ekstraksi fukoidan dan alginat yang efektif, penggunaan bahan baku lebih optimal, limbah sedikit dan biaya proses lebih murah.

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Kimia Pangan Fakultas Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang. Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rancangan faktorial 2^k pada eksperimen tahap pertama, dan rancangan Box-Behnken Design dari metode permukaan respon untuk eksperimen tahap kedua. Parameter yang diamati meliputi rendemen fukoidan dan alginat, viskositas intrinsik dan berat molekul alginat. Analisa data dilakukan dengan menggunakan program *Design Expert versi 7*.

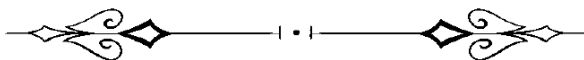
Hasil penelitian tahap pertama didapatkan titik puncak respon viskositas intrinsik alginat hasil ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat terjadi pada suhu ekstraksi 30 °C, waktu 60 menit dan pH pelarut 3. Kondisi proses yang optimal ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat hasil penelitian tahap kedua optimasi proses terjadi pada suhu 33,75 °C, waktu 58,22 menit, dan pH pelarut 3,07. Prediksi respon pada kondisi optimal yaitu rendemen fukoidan 0,71%, rendemen alginat 29,63%, viskositas intrinsik 448,8 ml/g dan berat molekul 212,6 kDa dengan nilai desirabilitas 0,806. Hasil validasi kondisi proses yang optimal didapatkan rerata rendemen fukoidan $1,22 \pm 0,068\%$, rendemen alginat $29,85 \pm 0,24\%$, viskositas intrinsik $409,72 \pm 8,23$ ml/g dan berat molekul

alginat $194,08 \pm 3,77$ kDa. Hasil uji t-berpasangan dari eksperimen validasi dan nilai prediksi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), membuktikan bahwa hasil eksperimen validasi mendukung nilai prediksi titik optimal program.

Metode ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat ini mempunyai potensi efisiensi dan aplikasi produksi skala industri diharapkan dapat mendorong tumbuhnya industri alginat dalam negeri.

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Alga coklat mengandung beberapa komponen polisakarida (fukoidan, alginat dan laminaran) dengan karakteristik fisika-kimia yang berbeda (Ale et al., 2012; Draget & Taylor, 2011). Alginat dari alga coklat bersifat thermo-stabil berfungsi sebagai pengental, pengemulsi, penstabil dan pembentuk gel (Gomez et al., 2009; Rahelivao et al., 2013; Sellimi et al., 2015) digunakan secara luas sebagai suplemen pangan, lepas lambat obat (farmasi) dan antitumor (Moebus et al., 2012; Jensen et al., 2012). Fukoidan dari alga coklat berfungsi sebagai senyawa anti tumor, anti kanker, anti-inflamasi dan imunomodulator (Alekseyenko et al., 2007; Kim et al., 2010; Nobre et al., 2010).

Indonesia mempunyai potensi sumber daya alga coklat yang besar terutama alga coklat marga *sargassum*, alga coklat ini tumbuh subur hampir disemua perairan pantai di Indonesia. Namun demikian, pemanfaatannya sangat terbatas, alga coklat ini hanya menjadi sampah laut dan harganya murah. Tidak ada industri dalam negeri yang memproduksi alginat dan fukoidan guna memenuhi kebutuhan dalam negeri. Hal ini karena teknologi ekstraksi fukoidan dan alginat yang berkembang saat ini masih belum efektif.

Permasalahan dalam industri pengolahan rumput laut saat ini terutama efisiensi penggunaan bahan baku yang rendah

dan banyak mengeluarkan limbah. Pengembangan proses biorefineri yang terintegrasi untuk menghasilkan beberapa produk dapat mengurangi masalah ini dan meningkatkan kelayakan ekonomi industri pengolahan rumput laut (Lorbeer et al., 2015). Potensi proses biorefineri rumput laut untuk skala industri telah dikaji dengan baik, alga coklat ini mempunyai potensi sebagai bahan baku proses biorefineri dengan adanya kandungan metabolit fukoidan dan alginat dengan berbagai potensi aplikasinya (Jung et al., 2013; Simmons & Klein-marcuschamer, 2015). Teknologi proses yang paralel untuk menghasilkan produk fukoidan dan alginat dari alga coklat menjadi peluang langsung bagi pengembangan biorefineri industri.

Fukoidan dan alginat dari alga coklat sama-sama bersifat polar, alginat larut dalam air dan larutan natrium karbonat. Sedangkan fukoidan bersifat larut dalam air dan larutan asam encer. Ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat dilakukan secara pemanasan *waterbath* dengan menggunakan pelarut air dan larutan asam. Secara umum perlakuan asam digunakan pada proses ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat. Penggunaan pelarut asam pada proses ekstraksi fukoidan berfungsi merusak dinding sel, memutus ikatan hidrogen dan melarutkan fukoidan yang terekstrak (Ale et al., 2012; Vishchuk et al., 2013; Sugiono et al., 2014). Perlakuan asam ini secara simultan merubah garam alginat menjadi asam alginat sehingga tidak larut menjadi kontaminan (Myklestad, 1968; Arvizu et al., 2007). Pada proses ekstraksi alginat perlakuan asam berfungsi untuk menghilangkan potensial kontaminan (fukoidan, laminaran dan polifenol), mengkonversi garam alginat menjadi asam alginat, sehingga lebih mudah diekstrak dengan pelarut natrium

karbonat (Hernandez-Carmona et al., 2000; Fertah et al., 2014; Rahelivao et al., 2013). Fungsi perlakuan asam secara simultan ini menjadi dasar bagi proses biorefineri berurutan sebagai ekstraksi fukoidan dan pre-ekstraksi alginat.

Beberapa peneliti telah menggunakan perlakuan asam untuk ekstraksi berurutan fukoidan dan alginat guna melakukan karakterisasi (Rioux et al., 2007), tetapi tidak mengacu pada perspektif biorefineri industri sehingga penggunaan bahan baku dapat lebih optimal dan meminimalisasi limbah. Penggunaan pelarut asam pada proses ekstraksi fukoidan dan alginat berpengaruh terhadap rendemen dan kualitas produk. Ekstraksi fukoidan yang dilakukan dengan pelarut asam konsentrasi rendah maka didapatkan fukoidan dengan rendemen yang kecil. Namun demikian penggunaan pelarut asam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan rantai polimer alginat terdegradasi sehingga viskositasnya rendah. Penggunaan pelarut asam perlu dilakukan optimasi guna mendapatkan kondisi proses ekstraksi yang optimal dengan parameter pH pelarut asam, suhu dan waktu ekstraksi.

Dengan demikian sangat tepat pada penelitian ini dilakukan ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat sesuai konsep biorefineri industri sebagai solusi dari permasalahan dan perbaikan metode ekstraksi fukoidan dan alginat. Metode ekstraksi ini mempunyai potensi efisiensi dan aplikasi produksi skala industri sehingga diharapkan dapat mendorong tumbuhnya industri dalam negeri.

1.2 Masalah penelitian

Permasalahan dalam industri alginat dan fukoidan saat ini adalah efisiensi penggunaan bahan rendah, banyak limbah, biaya proses mahal, sehingga tidak mendorong tumbuhnya industri alginat dalam negeri. Keadaan ini terjadi karena perlakuan asam pada proses ekstraksi fukoidan dan alginat dilakukan untuk tujuan terpisah tidak mengacu pada pengembangan proses biorefineri ekstraksi fukoidan dan alginat secara berurutan sehingga efisiensi penggunaan bahan bisa maksimal, tidak banyak limbah, biaya proses lebih murah. Permasalahan ini menjadi dasar pentingnya dilakukan penelitian yang dapat mengoptimalkan penggunaan bahan baku alga coklat, biaya proses lebih murah dan limbahnya sedikit sehingga lebih ramah lingkungan. Teknologi ini disebut biorefineri ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat. Biorefineri adalah suatu proses terintegrasi untuk mengkonversi semua komponen bahan menjadi beberapa produk yang efisien.

Tujuan khusus penelitian ini adalah mencari alternatif teknologi ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat yang terintegrasi dan efisien sesuai konsep biorefineri. Mendapatkan kondisi perlakuan asam yang optimal proses biorefineri ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* Sedangkan target akhirnya adalah memanfaatkan alga coklat sebagai bahan baku biorefineri industri pengolahan fukoidan dan alginat.

1.3 Urgensi Penelitian

Metode ekstraksi fukoidan dan alginat yang berkembang saat ini belum mampu mendorong tumbuhnya industri dalam negeri. Efisiensi penggunaan bahan rendah,

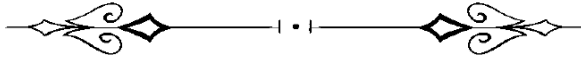
limbahnya banyak, dan biaya tinggi. Metode ekstraksi fukoidan dan alginat yang terintegrasi sesuai konsep biorefinery industri menjadi solusi yang tepat bagi permasalahan tersebut, pemanfaatan bahan optimal, limbah sedikit dan biaya murah.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat utama dari penelitian ini ditemukannya pengembangan metode ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat yang efektif dan ramah lingkungan sehingga dapat menumbuhkan industri alginat dalam negeri. Potensi alga coklat dapat dimanfaatkan dengan baik dan dapat meningkatkan kesejahteraan nelayan.

BAB 2

ALGA COKLAT



2.1 Alga Coklat

Alga coklat merupakan tumbuhan tingkat rendah yang tumbuh diperairan laut pada substrat dasar karang. Makro alga dibagi dalam empat kelas yaitu:

1. *Rhodophyta* yaitu ganggang merah
2. *Phaeophyta* yaitu ganggang coklat
3. *Chlorophyta* yaitu ganggang hijau
4. *Cyanophyta* yaitu ganggang hijau biru

Alga coklat masuk dalam kelas *Phaeophyta*, merupakan jenis alga yang khas tumbuh di daerah tropis, alga coklat ini bentuk tubuhnya seperti rumput sehingga dikenal dan disebut sebagai rumput laut. Alga coklat tumbuh subur disebagian besar pantai perairan laut dengan kedalaman tidak lebih dari 20 m dan melekat pada substrat keras (batu-batuan) dengan alat pelekat (*hold fast*). Berwarna kecoklatan karena memiliki pigmen yang dominan fukosantin selain klorofil, karoten dan xantofil (Winarno, 1996).

Phaeophyta atau alga coklat mempunyai ciri-ciri thallus mulai dari mikroskopis sampai makroskopis, ada yang berbentuk tegak, bercabang, filament tidak bercabang dan filament dasar (Anonymous, 2009). Lebih lanjut dijelaskan bahwa alga coklat biasanya dicirikan oleh tiga karakter yaitu:

1. Alga coklat mempunyai pigmen coklat yaitu fukoxantin, pigmen fukosantin menutupi warna hijau dari pigmen fotosintesis baik klorofil a dan c
2. Produk hasil dari fotosintesis dari alga coklat disimpan dalam bentuk laminarin (diberi nama sesuai marga laminaria)
3. Pada gamet betina terdapat sebuah flagel cambuk sedangkan pada gamet jantan terdapat dua flagel. Flagel ini merupakan satu-satunya bagian yang dapat bergerak dalam daur hidupnya, flagel-flagel ini keluar dari sisi sel.

Kebanyakan spesies dari alga coklat mempunyai kantong udara dan perkembangbiakannya secara seksual dan aseksual dengan oogami dan isogami atau aseksual (zoospore berflagella dan fragmentasi). Contoh alga coklat adalah *Fucus sp*, *Turbinaria*, *Padina*, *Dictyota*, *Laminaria*, dan *Sargassum sp.*. Ciri utama alga coklat marga sargassum mempunyai thallus yang utamanya silindris atau gepeng, percabangannya rimbun menyerupai pepohonan darat dengan bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter dan panjangnya mencapai 7 m dan warna thallusnya umumnya coklat (Kadi dan Atmadja, 1988).

2.2 *Sargassum sp.*

Sargassum sp. merupakan salah satu spesies dari makroalga divisi Phaeophyta. Ciri-ciri *Sargassum sp.* tidak jauh berbeda dengan ciri-ciri umum Phaeophyta. Thalus silindris berduri-duri kecil merapat, holdfast membentuk cakram kecil dengan di atasnya secara

karakteristik terdapat perakaran/stolon yang rimbun berekspansi ke segala arah. Batang pendek dengan percabangan utama tumbuh rimbun. Habitat alga coklat *Sargassum sp.* tumbuh diperairan pantai pada kedalaman 0,5-10 m ada arus dan ombak. Alga coklat *Sargassum sp.* ada yang tumbuh pada kedalaman mencapai 20 m. *Sargassum sp.* tumbuh diperairan pantai suhu perairan $\pm 20-30^{\circ}\text{C}$, kadar garam 13-37% dan pH air 7-8,5 (Kadi, 2004).

Pertumbuhan alga coklat *Sargassum sp.* ini sebagai makroalga bentik melekat pada substrat dasar perairan. Panjang thalli utama 0,5-3 m dengan untaian cabang thalli terdapat kantong udara (*bladder*) selalu muncul dipermukaan air (Kadi, 2004). Klasifikasi ilmiah *Sargassum sp.* adalah sebagai berikut:

Domain : Eukaryota
Kingdom : Chromalveolata
Divisi : Phaeophyta
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Fucales
Family : Sargassaceae
Genus : *Sargassum*
Jenis : *Sargassum sp.*

Sargassum merupakan alga coklat yang terdiri dari kurang lebih 400 jenis di dunia (Kadi dan Wanda, 1988 dalam Rachmat, 1999). Jenis-jenis *Sargassum sp.* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies yaitu : *Sargassum duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S.*

microphyllum, *S. aquofilum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Rachmat 1999). Bentuk *Sargassum sp.* dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. *Sargassum sp.*

2.3 Komposisi kimia *Sargassum sp.*

Dinding sel dari alga coklat tersusun oleh beberapa komponen senyawa kimia diantaranya adalah senyawa karbohidrat, protein, lemak, abu dan air (Chapman 1980). Komposisi kimia alga coklat ini bervariasi, berbeda-beda dipengaruhi oleh jenis, lokasi dimana alga coklat ini tumbuh, dan musim. Komposisi kimia penyusun dinding sel alga coklat yang paling banyak adalah karbohidrat jumlahnya bisa mencapai 60%. Senyawa karbohidrat dari alga coklat terutama marga sargassum mempunyai kandungan monosakarida yang terdiri dari 31-72% fukosa, 5-31% galaktosa, dan 3-29% xylosa. Adapun komposisi kimia *Sargassum sp.* menurut Sugiono et al. (2019) disajikan pada Tabel 1.

Komposisi nutrisi alga coklat terutama jenis *Sargassum crassifolium* dilaporkan Handayani *dkk.*, (2004) bahwa *Sargassum crassifolium* mempunyai kandungan protein 5,19% (w/w), kandungan abu (mineral) 36,93% (w/w), Ca: 1540,66 mg/100 g, Fe: 132,65 mg/100 g, P: 474,03 mg/100 g, kandungan vitamin C: 49,01 mg/100 g, vitamin A: 489,11 µg RE/100 g, lipid: 1,63% (w/w), konsentrasi asam lemak : asam laurat (1,45%), asam miristat (3,53%), asam palmitat (29,49%), asam palmitoleat (4,10%), asam oleat (13,78%), asam linoleat (33,58%), asam linolenat (5,94%) dan konsentrasi alginat sebesar 37,91% (w/w).

Tabel 1. Komposisi kimia *Sargassum sp.*

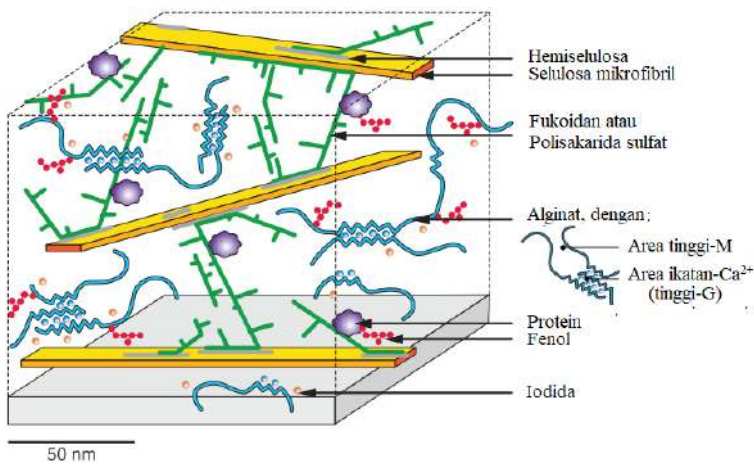
Komposisi kimia	Persentase (%)
Karbohidrat	60,24
Protein	6,60
Lemak	0,26
Air	14,90
Abu	18,01

Sumber: Sugiono et al. (2019)

2.4 Potensi biorefineri alga coklat

Alga coklat mempunyai beberapa komponen polisakarida sulfat yaitu fukoidan, alginat dan alginat oligosakarida sebagai turunannya, dimana senyawa ini tidak terdapat pada rumput laut jenis lain. Ketiga polisakarida sulfat tersebut mempunyai karakteristik fisika dan kimia yang unik dipengaruhi beberapa faktor yaitu spesies, lokasi geografi, musim dan umur populasi (Dobrinčić et al., 2020). Alga coklat ini mempunyai potensi yang baik sebagai bahan baku biorefineri industri fukoidan, alginat dan alginat oligosakarida.

Biorefineri merupakan proses yang terintegrasi dan teknologi untuk mengkonversi semua komponen bahan menjadi beberapa produk yang efisien (Jung et al., 2013). Potensi biomassa sebagai bahan baku proses biorefineri sangat dipengaruhi oleh jenis dan kandungan komponen kimia dari biomassa (Ruiz *et al.* 2013). Alga coklat mempunyai potensi yang besar sebagai bahan baku proses biorefineri karena komponennya tersusun dari beberapa jenis polisakarida yaitu fukoidan, alginat, selulosa dan laminaran dengan manfaat yang beraneka ragam sebagai hidrokoloid, farmasi, bioethanol, dan senyawa anti-kanker (Rioux et al., 2007; Lins et al., 2013; Ruiz *et al.* 2013). Lapisan terluar dinding sel alga coklat terselubung lignin dalam jumlah yang sedikit sehingga strukturnya bersifat fleksibel (Michel *et al.*, 2010). Kondisi ini memberikan keuntungan bagi alga coklat sebagai bahan baku biorefineri karena tidak memerlukan proses yang kompleks untuk menghilangkan lignin dan detoksifikasi lignin-asli yang menutup komponen senyawa. Struktur matrik dinding sel alga coklat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur matrik dinding sel alga coklat (Kervarec et al., 2017)

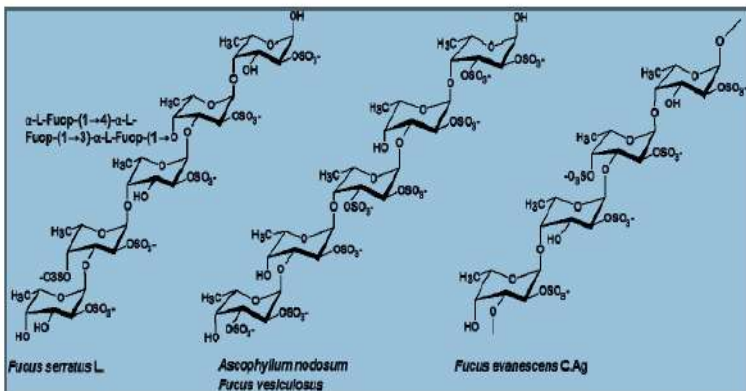
Pemanfaatan alga coklat sebagai bahan baku biorefineri mempunyai banyak manfaat dari aspek ekonomi dan lingkungan, fluktuasi permintaan biomassa rendah karena populasi banyak, dapat dibudidayakan, pertumbuhannya cepat dilaut terbuka, biaya rendah dan tidak merusak lingkungan.

2.5 Fukoidan

Fukoidan merupakan polisakarida yang terdapat pada dinding sel fibrillar dan ruang intercellular dari alga coklat, tersusun dari L-fukosa, sulfat, galaktosa, mannose, xylose, glukosa dan rhamnosa. Fukoidan tersusun dari ikatan (1→3)-(1→4)- α -L-fucopyranose residu, dan juga bisa tersusun dari ikatan (1→3)- α -fucan atau terbalik α (1→3)-dan α (1→4)-L-fucopyranose. Residu L-fucopyranose mungkin diganti dengan sulfat (SO_3^-) pada C-2 atau C-4 (jarang pada C-3), dengan residu L-fucosyl tunggal atau fucoside rantaisamping pendek (fucoligosakarida). Jika terdapat fucoside rantai samping biasanya O-4 terikat pada α -L-fucopyranose. Shiroma *et al.*, (2008) menyatakan bahwa komposisi fukoidan terdiri dari α -L-fucos dan ester sulfat, juga mengandung dalam jumlah kecil D-galaktosa, D-manosa, D-xilosa, D-glukosa dan asam glukuronat.

Hasil analisis struktur fukoidan alga coklat dari *F. evanescens* dengan MALDI-TOF dan tandem spektrometri massa ESI menunjukkan bahwa fraksi ini mengandung oligosakarida dengan dan tanpa substitusi sulfat, terutama

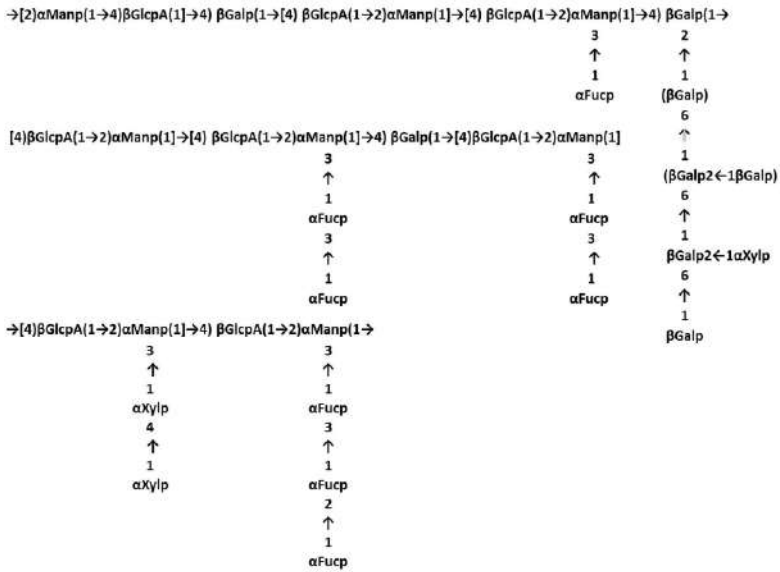
terdiri dari α (1 \rightarrow 3)-terikat pada residu fucose yang diesterifikasi dengan sulfat pada C-2 (Anastyuk et al., 2012). Analisis yang lebih rinci telah dilaporkan bahwa terdapat komponen kecil dari campuran monosulfated fucooligosaccharidaa yang terdiri dari 2-*O*-dan 4-*O*-sulfat (1 \rightarrow 4) terikat xilosa dan residu galaktosa: Xyl-(1 \rightarrow 4)-Fuc, Gal-(1 \rightarrow 4)-Fuc, Gal-(1 \rightarrow 4)-Gal-(1 \rightarrow 4)-Fuc, Gal-(1 \rightarrow 4)-Gal. Glucuronic acid (GlcA) juga terdeteksi sebagai suatu bagian dari non-sulfat fucooligosaccharides: Fuc-(1 \rightarrow 3)-GlcA, Fuc-(1 \rightarrow 4)-Fuc-(1 \rightarrow 3)-GlcA, Fuc-(1 \rightarrow 3)-Fuc-(1 \rightarrow 3)-GlcA (Anastyuk et al., 2012). Struktur fukoidan dari beberapa alga coklat disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Struktur fukoidan alga coklat *Fucus serratus L.*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* dan *Fucus evanescens*.

Spesies rumput laut coklat ordo Fukal mengandung fukoidan yang sangat kompleks strukturnya mempunyai fukosa dan galaktosa dalam jumlah yang sebanding, struktur ini disebut galaktofukan sulfat dan terutama ditemukan pada spesies *Sargassum sp.* (Chen et al., 2013;

Damonte et al., 2004). Galaktofukan sulfat tersusun dari (1→6)-β-D-galaktosa dan (1→2)-β-D-mannoronat dengan titik percabangan yang dibentuk oleh (1→3) dan (1→4)-α-L-fucose, (1→4)-α-D-asam glukuronat, ujung β-D-xilosa dan kadang-kadang (1→4)-α-D-glukosa. Fukoglukuronan strukturnya tersusun dari asam glukuronat, residu manosa dan galaktosa dengan rantai cabang residu sulfat netral dan sebagian dari galaktosa, xilosa dan fukosa, terutama terdapat pada *Sargassum linifolium* (Ale et al., 2012). Fukoidan yang diekstrak dari alga coklat *Sargassum stenophyllum* dikelompokkan menjadi dua jenis: tipe I kandungan α-D-asam glukuronat dengan persentase yang relatif tinggi dan kelompok sulfat relatif sedikit, tipe II mengandung α-D-asam glukuronat yang relatif sedikit dan persentase sulfat yang tinggi. Polisakarida tipe I strukturnya dibentuk oleh (1→6)-β-D-galaktosa dan (1→2)-β-D-manosa dengan rantai cabang tersusun oleh (1→3) dan (1→4)-α-L-fucose, (1→4)-α-D-asam glukuronat, polisakarida tipe II strukturnya terutama terbentuk dari galaktan rantai pendek (Duarte et al., 2001). Struktur fukoidan dari beberapa alga coklat marga sargassum disajikan pada gambar 4.

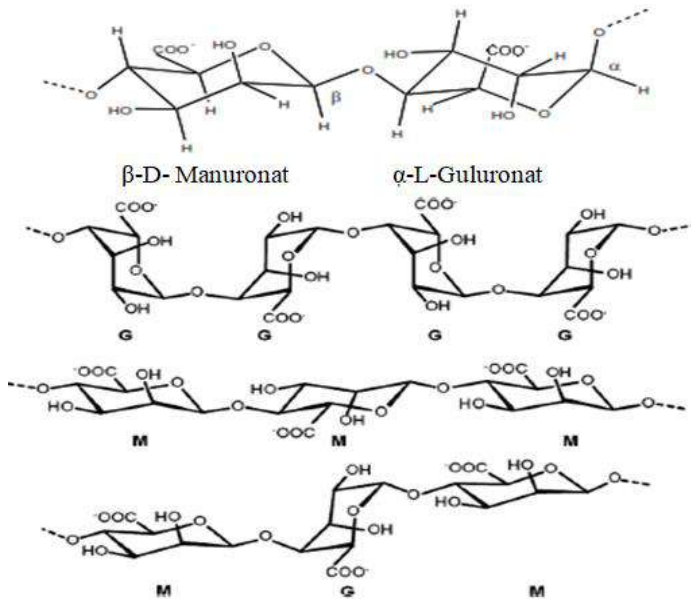


Gambar 4. Struktur fukoidan alga coklat *Sargassum fusiforme* dan struktur fukoidan dari *Sargassum stenophyllum* (Li et al., 2008).

2.5 Alginat

Alginat adalah polisakarida yang terdapat dalam matrik dinding sel alga coklat tersusun dari polimer linear β -(1-4)-D-mannuronat (M) dan α -L-guluronat (G) dengan proporsi dan urutan monomer yang berbeda-beda (Draget & Taylor, 2011; Fenoradosoa et al., 2010). Monomer alginat terdiri dari tiga kelompok yaitu kelompok residu manuronat (MMMMMM), guluronat (GGGGGG) dan residu guluronat dan manuronat yang terletak berselang-seling (MGMGMG) (Mahmood & Siddique, 2010). Rasio M/G dan distribusi blok G dan M dalam rantai berpengaruh terhadap karakteristik dan sifat fungsional alginat (Jensen et al., 2012; Bertagnolli et al., 2014).

Struktur monomer alginat dari alga coklat disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur kimia blok M, blok G dan blok MGM (Lee & Mooney, 2012)

Alginat digunakan secara luas dalam industri pangan dan non pangan. Alginat berfungsi sebagai pengental, pembentuk gel, gel alginat bersifat thermo-stabil dan sebagai pengemulsi (Gomez et al., 2009; Sellimi et al., 2015), digunakan secara luas sebagai suplemen pangan, lepas lambat obat (farmasi), koagulan pada penjernihan air, *tissue engineering*, anti-tumor (Paula et al., 2007; Moebus et al., 2012; Thomas et al., 2000; Suzuki et al., 2011). Penggunaan alginat terbesar sebagai pengental pada tekstil-*printing* (Dhanapal & Subramanian, 2014; Fijan et al. 2009).

2.6 Metode Permukaan Respon

Metode permukaan respon adalah suatu kumpulan dari teknik statistika dan matematika yang berguna untuk menganalisis permasalahan dimana beberapa variabel bebas mempengaruhi variabel respon dan tujuan akhirnya adalah untuk mengoptimalkan respon (Montgomery, 2005). Metode permukaan respon digunakan untuk mencari suatu fungsi pendekatan yang cocok guna meramalkan respon dan menentukan nilai variabel bebas yang memberikan respon optimal (Gaspersz, 1992). Metode permukaan respon telah banyak dimanfaatkan baik dalam dunia penelitian maupun aplikasi industri, seperti untuk optimasi ekstraksi fukoidan dari alga coklat dari *Sargassum polycystum* (Sugiono et al., 2014)

Rodriguez-Jasso et al., (2011) telah menggunakan metode permukaan respon untuk optimasi ekstraksi polisakarida dari *Fucus vesiculosus*. Ale et al. (2012) melakukan optimasi ekstraksi polisakarida dari *Sargassum henslowianum* dengan metode permukaan respon. Lorbeer et al. (2015) juga melakukan optimasi ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat *Ecklonia radiata* dengan metode permukaan respon. Sugiono et al. (2018) telah melakukan optimasi pre-esktraksi alga coklat dengan pelarut asam pada proses ekstrak alginat dengan ekstruder ulir ganda dengan metode permukaan respon. Sugiono et al. (2019a) melakukan optimasi ekstraksi alginat dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan ekstruder ulir ganda dengan menggunakan metode permukaan respon.

Eksperimen dengan metode permukaan respon dilakukan dalam dua tahap yaitu eksperimen orde pertama tahap

penyaringan faktor dan eksperimen orde kedua tahap optimasi (Gaspersz, 1992). Eksperimen orde pertama metode permukaan respon adalah mencari suatu fungsi pendekatan yang dapat menggambarkan hubungan fungsional secara tepat diantara respon y dan variabel bebas x_i yang dispesifikasikan hingga didapatkan respon menuju optimal. Eksperimen orde kedua metode permukaan respon dilakukan melalui pendekatan polinomial dengan derajat yang lebih tinggi, kemudian dari model orde kedua ditentukan titik stasioner, karakteristik permukaan respon dan model optimasinya (Montgomery, 2005).

2.7 Hasil Penelitian awal

Peneliti telah melakukan beberapa penelitian yang berkaitan dengan metode ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat yang mendukung penelitian ini, disajikan pada tabel 1.

Tabel 2. Hasil Penelitian terdahulu

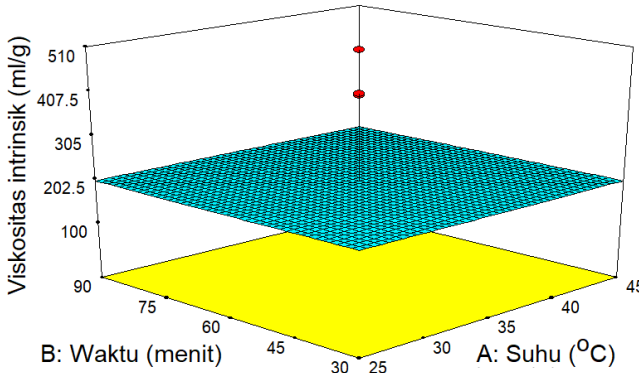
Tahun	Kegiatan
2014	Extraction Optimization by Response Surface Methodology and Characterization of Fucoidan from Brown Seaweed <i>Sargassum polycystum</i>
2018	Penelitian Hibah Doktor 2017: Multiple-response optimization of the acidic pre-treatment of the brown alga <i>Sargassum cristaefolium</i> for the alginate extraction using twin screw extruder
2019	Optimization of extrusion-assisted extraction parameters and characterization of alginate from brown algae (<i>Sargassum cristaefolium</i>)

Tahun	Kegiatan
2019	Structural and Rheological Characteristics of Alginate from <i>Sargassum cristaefolium</i> Extracted by Twin Screw Extruder
2019	Hibah Dosen Pemula 2018: Biorefinery Sequential Extraction of Alginate By Conventional and Hydrothermal Fucoidan from Brown Alga <i>Sargassum cristaefolium</i>
2020	Hibah Dosen Pemula 2019: Biorefinery For Sequential Extraction of Fucoidan and Alginate from Brown Alga <i>Sargassum cristaefolium</i>

Hasil penelitian awal yang telah dilakukan peneliti sebagai tahap awal dari optimasi proses ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat adalah data titik puncak viskositas intrinsik alginat hasil ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* pada penelitian tahap pertama.

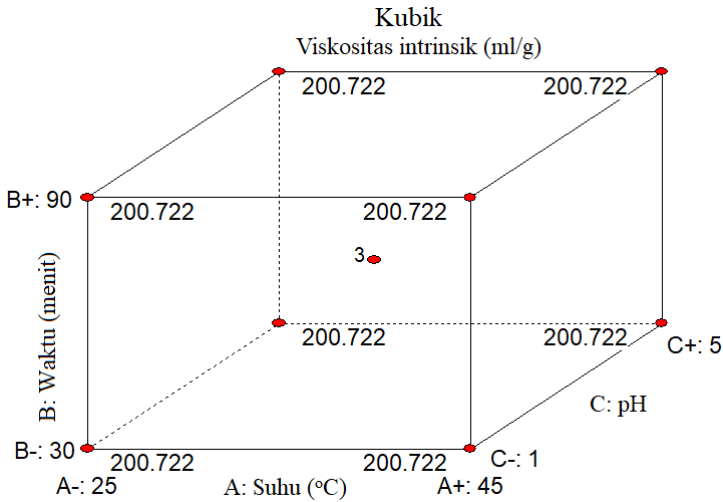
Viskositas intrinsik alginat digunakan sebagai parameter optimasi proses ekstraksi karena viskositas menentukan mutu dari alginat. Viskositas alginat meningkat dengan menurunnya derajat keasaman hingga pH 3, sedangkan pada pH 1 dan 5 viskositas intrinsik alginat menurun cepat dan rendah (Gambar 6). Rendahnya viskositas alginat pada pH 1 diduga karena terjadi depolimerisasi molekul alginat melalui proses hidrolisis yang dikatalis oleh proton dan degradasi rantai polimer alginat karena reaksi β -eliminasi pada ikatan 4- α -glikosidik dan pemecahan hidrolitik dikatalis proton (Smidsrod *et al.* 1969; Haug *et al.*, 1967).

Rendahnya viskositas alginat pada pH 5 karena jumlah garam-garam alginat yang dikonversi menjadi asam alginat (konversi ion Ca/H) sangat sedikit sehingga daya ekstrak rendah, jumlah alginat dengan berat molekul besar yang berdifusi dan larut dalam pelarut sodiumkarbonat menjadi rendah. Pengaruh kondisi perlakuan asam pada proses ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat terhadap viskositas intrinsik alginat *Sargassum sp.* disajikan dalam bentuk grafik (Gambar 5), titik warna merah pada grafik menunjukkan titik puncak viskositas alginat pada pH 3, waktu ekstraksi 60 menit dan suhu 35 °C.



Gambar 6. Pengaruh perlakuan asam terhadap viskositas intrinsik alginat *Sargassum sp.*

Hasil hubungan ketiga variabel perlakuan suhu, waktu ekstraksi, dan derajat keasaman pelarut (pH) pada proses ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat terhadap viskositas intrinsik alginat yang dipetakan dengan model kubik menunjukkan bahwa titik puncak viskositas intrinsik berada di titik pusat model (Gambar 7). Memberikan indikasi bahwa penggunaan titik pusat perlakuan asam yaitu suhu ekstraksi 35 °C selama 60 menit dan pH 3 sudah tepat.



Gambar 7. Pengaruh perlakuan asam terhadap viskositas intrinsik alginat *Sargassum sp.* dipetakan dengan model kubik hubungan ketiga variabel

2.8 Ketepatan Model

Prediksi model polynomial eksperimen orde pertama respon viskositas intrinsik hasil analisa program *Design Expert versi 7.* didapatkan model matematik sebagai berikut:

$$y = 244.942 - 10.08x_1 - 39.80x_2 - 20.48x_3 + 22.61x_1 \cdot x_2 - 40.05x_1 \cdot x_3 + 80.82x_2 \cdot x_3 - 16.78x_1 \cdot x_2 \cdot x_3$$

Ketepatan model polinomial dilakukan uji signifikansi model dan *Lack of Fit*, didapatkan bahwa uji kelengkungan (*curvature*) bersifat signifikan dan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*) bersifat tidak signifikan pada taraf kepercayaan $\alpha=0,05$ (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa model polinomial berbentuk

kuadratik dan valid. Dijelaskan bahwa jika uji kelengkungan (*curvature*) bersifat signifikan berarti model polinomial berbentuk kuadratik (Sugiono et al., 2014). Hal ini menunjukkan bahwa model polinomial eksperimen orde pertama respon viskositas intrinsik berbentuk kuadratik. Perencanaan titik pusat suhu 35 °C, waktu 60 menit dan pH 3 adalah tepat, sehingga dapat dilanjutkan pada tahap optimasi proses.

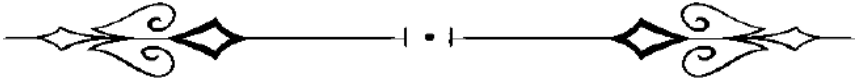
Tabel 3. Analisa ragam regresi polinomial orde pertama

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	df	Kuadrat tengah	Nilai-F	Nilai-p
Model	0.000	0			
Lengkungan	1.200E+005	1	1.200E+005	37.54	0.0002*
Residual	28770.94	9	3196.77		
<i>Lack of Fit</i>	22070.29	7	3152.90	0.94	0.6046 ^{ns}
<i>Galat murni</i>	6700.65	2	3350.33		
JK Total	1.488E+005	10			

Keterangan: * = Signifikan
^{ns} = tidak signifikan

BAB 3

METODOLOGI PEMECAHAN MASALAH



3.1 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium IPA Terpadu Universitas Islam Madura, mulai bulan Januari hingga Agustus 2021.

3.2 Perlakuan percobaan

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental terdiri dari dua tahap, yaitu tahap pertama penentuan titik pusat dan tahap kedua optimasi proses.

1. Tahap pertama

Penelitian tahap pertama dilaksanakan dengan menggunakan rancangan faktorial 2^k , dimana k adalah jumlah variabel bebas yang dikaji. Tiga variabel bebas yang dikaji adalah suhu (x_1), waktu (x_2) dan pH larutan asam hidroklorida (x_3). Variabel penelitian ini terdiri dari dua level, dikode -1 dan +1. Titik pusat dikode 0 dengan 3 ulangan. Respon yang diamati adalah viskositas intrinsik dari alginat. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mendapatkan titik puncak kemudian menurun respon viskositas intrinsik alginat. Parameter proses dengan respon viskositas intrinsik dilakukan analisa regresi dan ketepatan model menggunakan persamaan berikut:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_1 x_1 x_2 \quad (1)$$

y = variabel respon, β_0 = koefisien intersep, β_1 , β_2 , and β_3 = koefisien regresi linier, dan x_1 , x_2 , dan x_3 = kode dari tiga variabel bebas.

Ketepatan titik pusat hasil eksperimen tahap pertama dilakukan uji kelengkungan bersifat signifikan pada taraf $\alpha=0,05$. Titik maksimal parameter proses hasil penelitian tahap pertama digunakan sebagai titik pusat untuk mendesain rancangan optimasi proses.

2. Tahap kedua

Penelitian tahap kedua merupakan optimasi proses ekstraksi dengan menggunakan rancangan *Box Behnken Design* dari metode permukaan respon. Variabel bebas yang diteliti adalah suhu (x_1), waktu (x_2) dan pH pelarut (x_3). Tahap optimasi proses ekstraksi terdiri dari 15 perlakuan yang diurut secara acak dengan 3 ulangan titik pusat, disajikan pada Tabel 3. Model persamaan polinomial eksperimen orde kedua berbentuk kuadrat dengan model sebagai berikut:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j \quad (2)$$

Dimana y merupakan variable respon, β_0 adalah koefisien intercept; β_i , β_{ii} , β_{ij} adalah koefisien regresi masing-masing linier, kuadrat, interaksi, dan x_i , x_j , adalah kode variable bebas yaitu pH, suhu dan waktu ($i \neq j$).

Analisa data dilakukan dengan *Software Design-Expert* versi 7 untuk mengetahui koefisien korelasi (R) dan koefisien determinasi (R^2), diuji signifikansinya secara statistik dengan uji-F pada probabilitas $P=0,05$. Keakuratan hasil eksperimen validasi dengan nilai prediksi

program *design expert* dianalisa dengan uji t-berpasangan menggunakan program minitab 16.

3. Parameter pengamatan

Parameter yang diamati meliputi rendemen fukoidan dan alginat, viskositas intrinsik dan berat molekul alginat. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara berat alginat atau fukoidan dengan berat awal alga coklat dikalikan 100%.

Pengukuran viskositas alginat dilakukan dengan viscometer capillary Ubbelohde (Canon, USA) dengan diameter kapiler 0,56 mm pada suhu 25°C. Larutan alginat dibuat dengan melarutkan 30 mg alginat dalam 10 ml aquabides distirer selama 5 jam pada suhu ruang (25°C), kemudian dibuat seri konsentrasi alginat 0,05-0,3 g/dL. Waktu alir larutan t , diukur relatif terhadap waktu alir pelarut, t_0 . Viskositas intrinsik ditentukan dengan ekstrapolasi dari η_{sp}/c hingga konsentrasi nol (zero).

$$\text{Viskositas relatif, } \eta_r = \frac{t}{t_0} \quad (3)$$

$$\text{Viskositas spesifik, } \eta_{sp} = \eta_r - 1 \quad (4)$$

$$\text{Reduksi viskositas, } \frac{\eta_{sp}}{c} = \frac{\eta_r - 1}{c} \quad (5)$$

$$\text{Viscositas intrinsik, } [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} \quad (6)$$

Penentuan berat molekul. Berat molekul alginat ditentukan dengan persamaan Mark-Houwink berdasarkan hubungan rata-rata viskositas intrinsik dengan berat molekul, $k=0,023 \text{ dL/g}$ dan $a=0,984$ (Clementi et al., 1998).

$$[\eta] = kM_w^a \quad (7)$$

Dimana $[\eta]$ adalah viskositas intrinsik dalam dL/g, M_w = berat molekul dalam kDa.

4. Prosedur ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat

Proses ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat melalui beberapa tahapan proses yaitu tahap persiapan sample, tahap pre-ekstraksi, tahap ekstraksi, dan tahap pemisahan atau pemurnian. Adapun tahapan proses ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat adalah sebagai berikut:

a. Preparasi sampel

Alga coklat segar dicuci dengan air tawar hingga bersih, kemudian dikeringkan dan dipotong-potong dengan ukuran 1 cm. Kemudian digiling dengan gilingan kopi dan diayak dengan ayakan berukuran 60 mesh (Reyes-Tisnado et al., 2005).

b. Tahap Pre-treatment

Serbuk alga coklat kering dilakukan pre-treatment dengan cara dimasukkan dalam larutan yang mengandung Etanol:kloroform:akuades dengan perbandingan 4:2:1 dan rasio alga dan pelarut 1:20 (b/v), kemudian diaduk dengan stirer pada kecepatan 800 rpm selama 24 jam (Ale et al., 2012). Setelah itu alga coklat dipisahkan dari pelarut dengan cara disaring, kemudian alga dicuci lagi dengan etanol hingga bersih dan dikeringkan.

c. Ekstraksi fukoidan

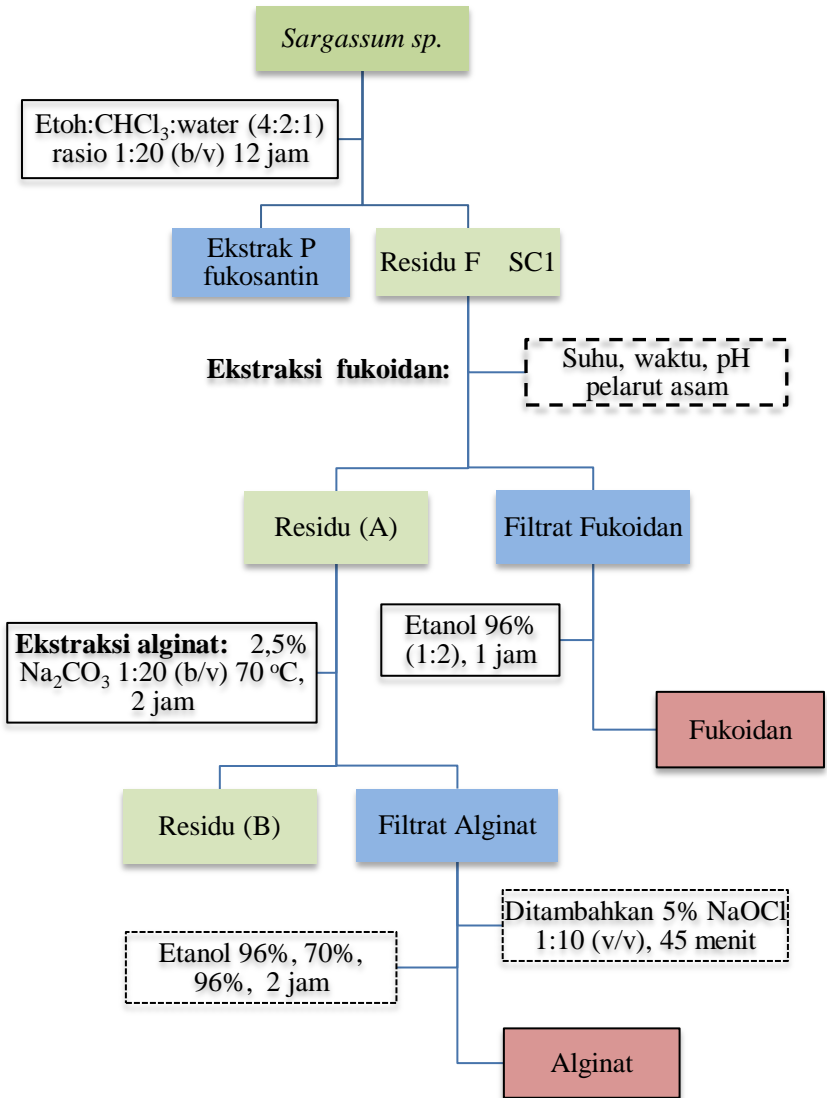
10 gram *Sargassum sp.* ditambahkan larutan 0,03 M HCl pH diatur 1-3 (sesuai perlakuan) dengan rasio pelarut 1:20 (b/v). Fukoidan diekstrak secara pemanasan dengan *hotplate* pada suhu 25-45 °C selama 30-90 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Kemudian

filtrat disaring dengan saringan nilon dengan ukuran 150 mesh, didapatkan filtrat dan residu A (disimpan sebagai bahan ekstrak alginat). Supernatan/ filtrat ditambahkan 1 M CaCl_2 (w/v) rasio 1:10 dibiarkan semalam pada suhu 4°C untuk mengendapkan alginat, kemudian endapan alginat dipisahkan dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit, didapatkan cairan filtrat dan endapan. Cairan filtrat (fukoidan) ditambahkan 2 volume etanol 96% dibiarkan selama satu malam suhu 4°C untuk mengendapkan fukoidan, fukoidan yang mengendap diambil dengan disentrifugasi (kecepatan 5000 rpm selama 10 menit suhu 4°C). Pellet fukoidan yang didapatkan dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 50°C selama 24 jam, kemudian digiling hingga halus dan diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh (Sugiono, Widjanarko & Soehono, 2014).

d. Ekstraksi alginat

Residu A (diambil dari proses sebelumnya) ditambahkan larutan 2,5% Na_2CO_3 rasio 1:20 (b/v), kemudian diekstrak secara pemanasan *waterbatch* pada suhu 70°C selama 2 jam. Kemudian diangkat dan ditambahkan aquades dengan pengadukan hingga rasio 1:20 (b/v) dari berat alga awal untuk memudahkan penyaringan. Filtrat alginat disaring dengan saringan nilon ukuran 150 mesh dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Kemudian dilakukan pemutihan dengan ditambahkan larutan 5% NaOCl dengan rasio 1:10 (v/v) dari volume filtrat, dibiarkan 45 menit. Filtrat diambil dan ditambahkan etanol 96% dengan rasio 1:2 (v/v) dibiarkan selama 2 jam dan disaring. Alginat dicuci dua kali dengan etanol

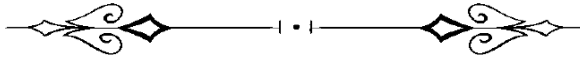
70% dan 96% kemudian disaring dan dipress. Alginat dikeringkan pada suhu 50 °C selama 24 jam, digiling dan diayak dengan ukuran ayakan 60 mesh (Sugiono & Ferdiansyah, 2020). Diagram alir ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir ekstraksi sequensial fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.*

BAB 4

BIOREFINERI FUKOIDAN DAN ALGINAT DARI ALGA COKLAT



Biorefineri merupakan suatu konsep teknologi proses berkelanjutan yang dapat mengkonversi biomassa menjadi energi dan berbagai produk yang bernilai tambah (*marketable*). tanpa mempengaruhi ekosistem dan ekonomi dari perspektif siklus hidup. Konsep biorefineri industri mempunyai kelebihan yaitu meminimalisasi limbah, penggunaan bahan baku lebih optimal, dan keuntungan dari penggunaan biomassa menjadi maksimal.

Biorefineri alga coklat menjadi fukoidan dan alginat dapat dilakukan melalui dua cara yaitu secara simultan dan sekuensial. Biorefineri fukoidan dan alginat secara simultan melalui proses hidrothermal atau disebut auto-hidrolisis, proses dilakukan pada suhu dan tekanan yang tinggi dengan menggunakan pelarut aquades kemudian dilakukan fraksinasi untuk memisahkan fukoidan dan alginat. Biorefineri fukoidan dan alginat secara sekuensial yaitu ekstraksi berurutan fukoidan dan alginat dengan pelarut yang berbeda. Pertama proses ekstraksi fukoidan dengan pelarut asam kemudian alginat dalam ampas diekstrak dengan menggunakan pelarut sodium karbonat.

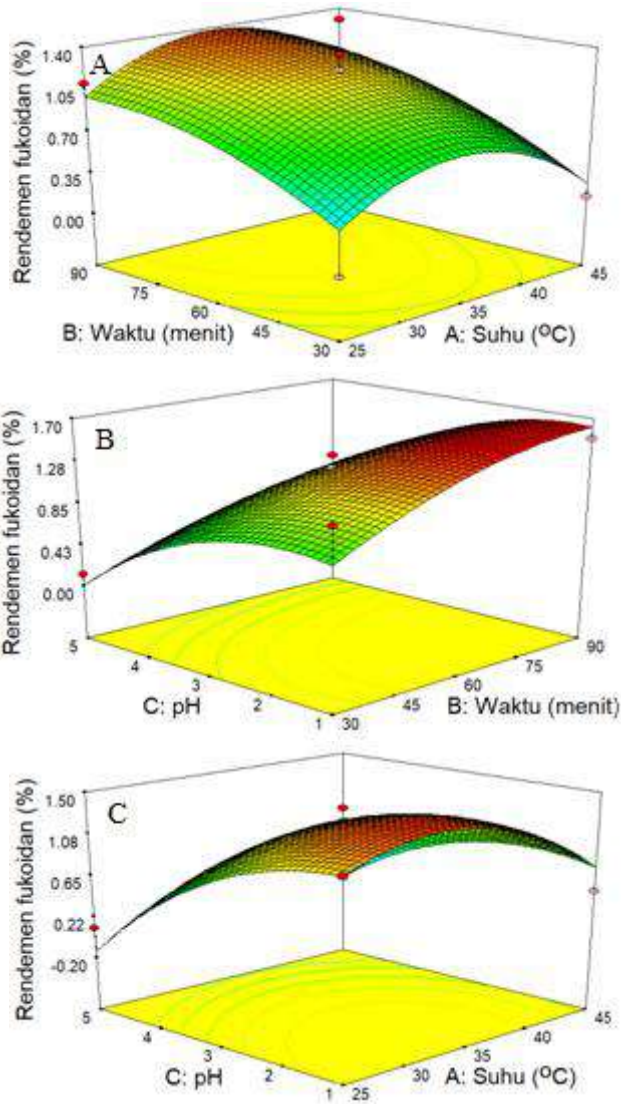
Perlakuan suhu, waktu dan pH pelarut asam pada proses ekstraksi fukoidan secara simultan menjadi proses pre-ekstraksi dan degradasi awal alga untuk proses ekstraksi

alginat. Residu alga atau ampas hasil ekstraksi fukoidan menjadi sampel atau bahan baku untuk ekstraksi alginat.

4.1 Fukoidan

Pengamatan hasil ekstraksi fukoidan dengan pelarut asam didapatkan rendemen fukoidan yang semakin besar dengan meningkatnya derajat keasaman pelarut (pH), suhu, dan waktu ekstraksi (Gambar 9). Hal ini dapat dijelaskan dengan beberapa fenomena. Pertama, meningkatnya rendemen fukoidan berkaitan dengan proses hidrolisis lapisan kutikula, dinding sel keropos dan pecah sehingga senyawa fukoidan mudah berdifusi dan larut dalam pelarut.

Kedua, meningkatnya suhu ekstraksi menyebabkan dinding sel alga coklat membengkak dan lunak sebagai akibat ekspansi thermal, sehingga ekstraktabilitas fukoidan bertambah. Ketiga, semakin lama waktu ekstraksi maka waktu kontak antara bahan dengan pelarut semakin lama sehingga memberikan waktu lebih lama bagi pelarut untuk menghidrolisis lignin pada lapisan kutikula dinding sel alga coklat. Namun demikian bertambahnya rendemen fukoidan sebagai efek peningkatan suhu dan waktu ekstraksi serta interaksi keduanya tidak bersifat signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstraksi fukoidan dengan penggunaan suhu ekstraksi dalam kisaran 25 hingga 45 °C dan waktu ekstraksi selama 30 hingga 90 menit masih belum mampu secara maksimal mendegradasi dinding sel dari alga coklat sehingga jumlah fukoidan yang berdifusi dan larut dalam pelarut relatif rendah, rendemen fukoidan yang dihasilkan juga rendah.



Gambar 9. Permukaan respon rendemen fukoidan dari alga coklat *Sargassum sp.* sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C).

Pengaruh faktor tunggal derajat keasaman pelarut (pH) didapatkan bahwa meningkatnya derajat keasaman pelarut (pH semakin rendah) pada proses ekstraksi fukoidan dari alga coklat memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap bertambahnya rendemen fukoidan. Sedangkan interaksinya dengan suhu dan waktu ekstraksi tidak memberikan pengaruh yang nyata. Semakin rendah pH pelarut menyebabkan dinding sel alga coklat memuai dan lunak sehingga fukoidan mudah larut dalam pelarut asam klorida.

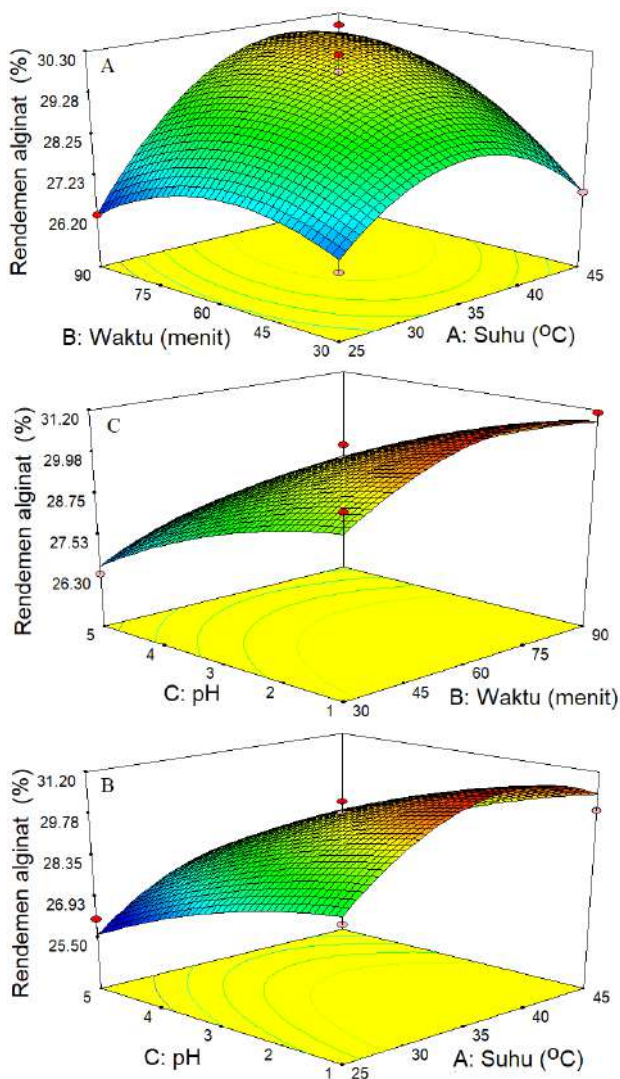
4.2 Karakteristik alginat

4.2.1 Rendemen alginat

Rendemen alginat merupakan parameter yang sangat didalam proses produksi, hal ini berkaitan dengan efektivitas proses ekstraksi dan tinggi rendahnya biaya proses. Semakin tinggi rendemen produk yang dihasilkan maka prosesnya semakin efisien dan efektif maka biaya produksi semakin rendah. Dengan demikian produk tersebut mempunyai potensi yang baik untuk dikomersialisasi dapat diproduksi dengan kapasitas skala industri dan mampu bersaing harga dengan produk luar negeri yang beredar dipasaran.

Pengamatan jumlah rendemen alginat hasil dari ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat didapatkan rendemen alginat berkisar antara 26,21 hingga 31,12%. Rendemen alginat semakin bertambah dengan meningkatnya perlakuan suhu, waktu dan derajat keasaman (pH) pelarut pada proses pre-ekstraksi alga dengan kurva berbentuk kuadratik (Gambar 10).

Pengaruh faktor tunggal proses pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam pada suhu, waktu dan pH yang berbeda dan interaksi suhu dan waktu ekstraksi memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap rendemen alginat. Hal ini dapat dijelaskan dengan beberapa fenomena, pertama meningkatnya rendemen alginat dengan semakin rendahnya pH perlakuan pre-ekstraksi pelarut asam berkaitan dengan banyaknya jumlah garam-garam alginat yang berhasil dikonversi menjadi asam-asam alginat (konversi ion Ca/H) sehingga alginat lebih siap diekstrak dengan larutan sodium karbonat. Disamping itu meningkatnya derajat keasaman (rendahnya pH) pelarut juga menyebabkan dinding sel alga coklat menjadi mengembang dan lunak sehingga alginat mudah berdifusi dan larut dalam larutan sodium karbonat. Sedangkan pada perlakuan pre-ekstraksi pH 5 rendemen alginat yang dihasilkan terjadi penurunan karena jumlah garam-garam alginat yang berhasil dikonversi menjadi asam alginat (konversi ion Ca/H) semakin sedikit sehingga daya ekstrak alginat rendah. Jumlah pertukaran ion Ca/H dalam struktur molekul alginat logaritma proporsional dengan konsentrasi asam dan lamanya waktu pre-ekstraksi perlakuan asam (Lorbeer et al., 2015). Disamping itu perlakuan pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam pH 5 tidak mampu menghidrolisis lapisan kutikula dinding sel dari alga coklat sehingga daya ekstrak alginat rendah. Kedua, semakin tinggi suhu pre-ekstraksi dengan perlakuan asam menyebabkan dinding sel alga menjadi porous dan lunak, ekstraktabilitas alginat meningkat Rendemen alginat bertambah dengan meningkatnya suhu dan menurun karena terjadi degradasi rantai polimer alginat (Sugiono et al., 2018).



Gambar 10. Permukaan respon rendemen alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C).

Semakin tinggi suhu menyebabkan dinding sel alga semakin porous sehingga alginat mudah terekstrak (Hernandez-Carmona et al., 2000). Ketiga, bertambah lamanya waktu pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam maka rendemen alginat meningkat, hal ini karena waktu kontak pelarut dan pengadukan alga semakin lama, memberikan waktu lebih lama bagi pelarut asam untuk menghidrolisis dinding sel alga coklat, sehingga ketika diekstrak dengan larutan sodium karbonat pada suhu 70 °C dinding sel alga semakin lunak dan hancur, alginat mudah larut dalam pelarut.

4.2.2 Viskositas Intrinsik

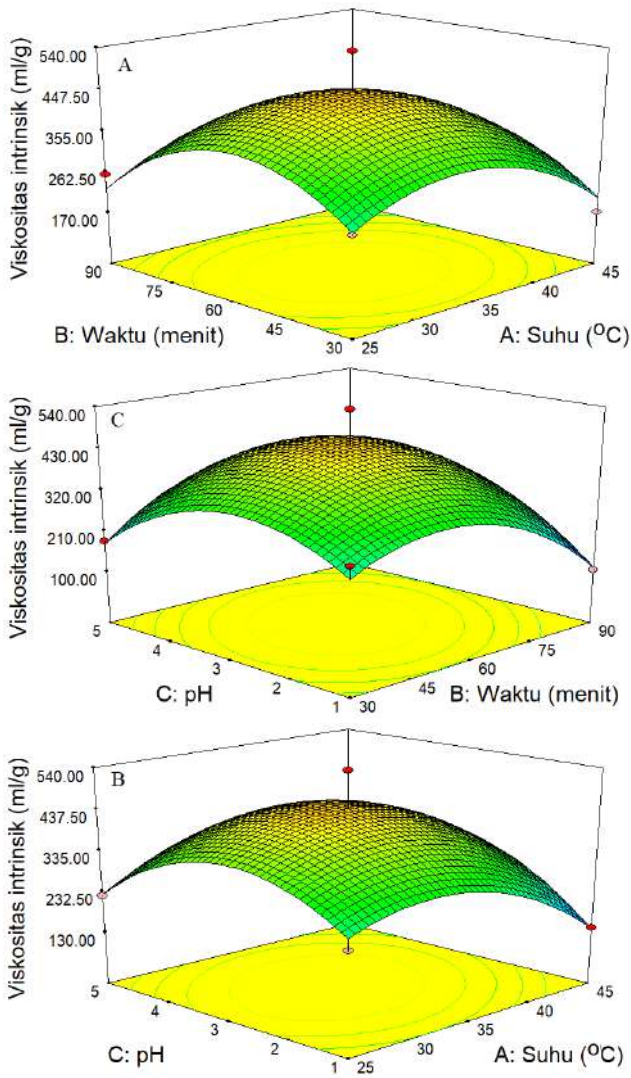
Pengamatan viskositas dalam proses ekstraksi alginat dari alga coklat sangat penting dilakukan karena viskositas ini merupakan salah satu parameter penting yang menentukan mutu dari alginat. Semakin tinggi viskositas alginat maka kualitas alginat semakin baik, metode yang digunakan pada proses ekstraksi semakin baik dan efektif. Jika kualitas alginat semakin tinggi maka harga alginat tersebut semakin mahal. Kualitas alginat yang diperdagangkan terdapat tiga kriteria mutu alginat dengan harga yang berbeda-beda, yaitu alginat viskositas tinggi, alginat viskositas sedang dan alginat viskositas rendah. Tinggi rendahnya viskositas alginat dipengaruhi oleh jumlah dan urutan komponen guluronat dan manuronat serta rasio M/G dalam rantai polimer alginat. Alginat dengan jumlah komponen guluronat yang lebih tinggi dari komponen manuronat maka viskositas alginat tersebut lebih tinggi dari alginat yang mempunyai komponen manuronat lebih tinggi dari guluronat. Monomer guluronat lebih bersifat

kaku mampu membentuk gel yang kuat, sedangkan monomer manuronat lebih bersifat elastis dan kemampuan membentuk gelnya lemah. Alginat dapat berfungsi sebagai pengental, pembentuk gel dan sebagai senyawa pengemulsi, dapat diaplikasikan pada produk industri pangan dan non pangan.

Pengamatan viskositas intrinsik alginat didapatkan bahwa perlakuan suhu, waktu dan pH pelarut yang berbeda pada proses pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam didapatkan viskositas intrinsik alginat yang semakin tinggi dengan bertambahnya suhu, waktu ekstraksi dan derajat keasaman pelarut (pH) (Gambar 11).

Viskositas intrinsik semakin tinggi dengan meningkat suhu, waktu, dan pH perlakuan asam kemudian menurun setelah mencapai titik optimal. Alginat hasil ekstraksi sekuensial mempunyai viskositas intrinsik berkisar antara 103.15 ml/g hingga 446.39 ml/g. Viskositas intrinsik alginat meningkat pada pH 3 dan waktu pre-ekstraksi 60 menit, kemudian menurun pada pH 1 dan 5 dalam kisaran waktu pre-ekstraksi 30 hingga 90 menit.

Pengaruh faktor tunggal dan interaksi perlakuan suhu, waktu dan pH pelarut pada proses pre-ekstraksi alga coklat dengan pelarut asam memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap viskositas intrinsik alginat. Hal ini dapat dijelaskan dengan fenomena berikut, pertama alginat dalam matrik dinding sel dari alga coklat terdapat dalam bentuk asam-asam alginat dan garam-garam alginat dengan ukuran panjang pendek polimer yang bervariasi.



Gambar 11. Permukaan respon viskositas intrinsik alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C).

Alginat dengan polimer rantai panjang terikat lebih kuat dalam matrik dinding sel dan berinteraksi dengan molekul senyawa lainnya sehingga proses ekstraksinya relatif lebih sulit dari pada molekul alginat polimer rantai pendek. Oleh karena itu perlu suhu yang relatif tinggi, waktu ekstraksi lebih lama dan konsentrasi pelarut asam yang lebih tinggi untuk dapat mengekstrak alginat dengan polimer rantai panjang.

Kedua, meningkatnya derajat keasaman pelarut hingga pH 3 mampu dan efektif secara optimal mengkonversi garam-garam alginat menjadi asam alginat (koversi ion Ca/H) sehingga alginat mudah larut dalam larutan sodium karbonat. Perlakuan pre-ekstraksi dengan pelarut asam pH 3 dapat memutus ikatan alginat yang berinteraksi (terikat) dengan molekul senyawa lain, sehingga alginat dengan polimer rantai panjang dapat maksimal terekstrak, sehingga viskositas alginat meningkat. Ketiga, pre-ekstraksi alga dengan perlakuan asam pada pH 5 tidak efektif mereduksi komponen fenol, fukoidan dan laminaran, keberadaan senyawa tersebut meningkatkan terputusnya rantai utama polimer alginat pada saat ekstraksi alkali dan larut bercampur sebagai pengotor dalam alginat sehingga viskositas alginat menjadi rendah (Sugiono et al., 2022). Jayasankar (1996) melaporkan alginat yang diekstrak dengan perlakuan pre-ekstraksi dengan pelarut asam mempunyai viskositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan viskositas alginat yang diekstrak dengan tanpa perlakuan asam. Sedangkan pada pH 1 viskositas intrinsik alginat menjadi rendah diduga karena terjadi degradasi rantai polimer alginat. Monomer dan blok guluronat dalam rantai polimer alginat lebih

sensitif dan relatif mudah terdegradasi dengan perlakuan asam klorida pada konsentrasi yang tinggi atau pH pelarut rendah dibandingkan dengan molekul manuronat.

4.2.3 Berat molekul alginat

Berat molekul alginat merupakan parameter yang berkaitan dengan panjang dan pendeknya rantai polimer alginat dan berkorelasi positif dengan viskositas alginat. Alginat dengan polimer rantai panjang mempunyai berat molekul yang besar dan mempunyai viskositas yang tinggi. Sedangkan alginat dengan polimer rantai pendek mempunyai berat molekul yang kecil dan mempunyai viskositas yang rendah pula.

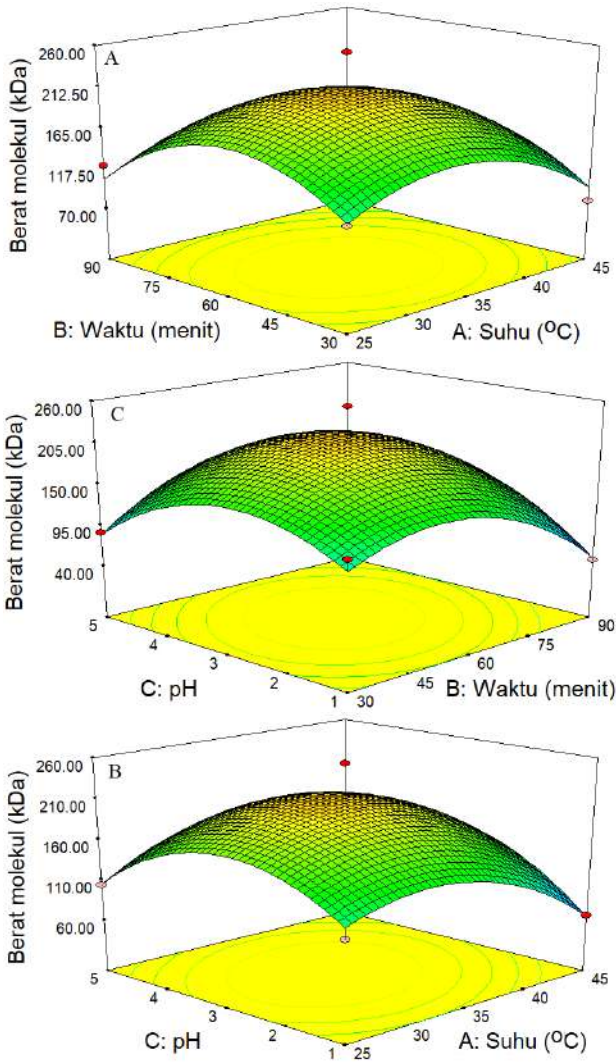
Pengamatan berat molekul alginat *Sargassum sp.* Yang diekstrak dengan perlakuan suhu, waktu dan pH pre-ekstraksi dengan pelarut asam didapatkan berat molekul alginat yang semakin besar dengan meningkatnya suhu, waktu dan derajat keasaman (pH rendah) (Gambar 12). Alginat hasil ekstraksi sekuensial mempunyai berat molekul berkisar antara 45,42 hingga 255,29 kDa. Pengaruh faktor tunggal suhu, waktu, dan pH pelarut serta interaksi suhu dan waktu pre-ekstraksi memberikan pengaruh yang nyata terhadap berat molekul alginat. Perlakuan pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam berpengaruh sangat positif terhadap meningkatnya berat molekul alginat hingga pH 3 dan menurun pada pH 1 dan 5 pada kisaran waktu pre-ekstraksi 30-90 menit. Hal ini diduga berkaitan dengan meningkatnya ekstraktabilitas alginat molekul besar pada pH 3, sedangkan pada perlakuan pre-ekstraksi pelarut asam pH 5 proses konversi ion Ca/H berlangsung lambat dan rendah sehingga daya ekstrak terhadap alginat molekul besar juga rendah.

Perlakuan pre-ekstraksi alga coklat dengan pelarut asam mendekati pH netral atau konsentrasi asam rendah maka proses konversi garam-garam alginat (Ca/Mg-alginat) menjadi asam-asam alginat tidak sempurna. Alginat molekul besar dengan polimer rantai panjang tetap mempertahankan sejumlah ion magnesium dan kalsium, sehingga lebih sulit untuk diekstrak daripada alginat dengan polimer rantai pendek. Rendahnya berat molekul alginat dengan perlakuan pre-ekstraksi pH 5 diduga telah terjadi degradasi rantai polimer alginat secara oksidatif melalui proses auto-oksidasi yang disebabkan oleh senyawa fenol dalam alga yang melepaskan radikal bebas hidrogen peroksida dan memecahkan ikatan hidrogen dari rantai polimer dari alginat. Pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam konsentrasi rendah tidak efektif menghilangkan senyawa pengotor dan pereduksi fenol, fukoidan dan lamiran. Senyawa fenol yang terdapat dalam alga mempunyai peranan dalam mempercepat terjadinya proses depolimerisasi atau degradasi rantai dari polimer alginat pada saat dilakukan ekstraksi dengan larutan sodium karbonat. Sedangkan pada pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam pH 1 didapatkan berat molekul alginat yang rendah, hal ini diduga karena terjadi degradasi atau depolimerisasi rantai dari polimer alginat melalui proses hidrolisis yang dikatalis oleh proton (H) dan akibat reaksi β -eliminasi. Depolimerisasi blok alginat pada perlakuan pre-ekstraksi pH rendah atau konsentrasi pelarut asam tinggi terjadi hidrolisis polimer alginat menjadi alginat oligosakarida terutama terputusnya rantai ikatan pada blok guluronat dan terjadi reaksi β -eliminasi ikatan 4-O-glikosida membentuk fragmen-fragmen dari

oligosakarida-deoxyhexopyranuronat (Smidsrod et al. 1969).

Pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam dengan perlakuan suhu dan waktu pre-ekstraksi yang meningkat dan interaksi suhu dan waktu pre-ekstraksi didapatkan alginat dengan berat molekul yang bertambah besar. Hal ini karena semakin tinggi suhu pre-ekstraksi alga coklat dengan pelarut asam maka dinding sel alga coklat menjadi porous dan membengkak, pada saat diekstrak dengan larutan sodium karbonat maka molekul alginat dengan polimer rantai panjang mudah terekstrak dan larut dalam pelarut.

Begitu juga semakin lama waktu pre-ekstraksi alga dengan pelarut asam maka waktu kontak alga dengan pelarut dan pengadukan alga semakin lama, sehingga tersedia waktu yang cukup untuk menghidrolisis lapisan kutikula dinding sel alga sehingga menjadi lunak dan memuai. Kondisi ini dapat mendorong transfer massa dan meningkatkan ekstraktabilitas alginat polimer rantai panjang sehingga berat molekul alginat meningkat. Namun demikian peningkatan suhu pre-ekstraksi dapat meningkatkan terjadinya proses hidrolisis dari rantai polimer alginat sehingga berat molekul alginat menjadi lebih rendah.



Gambar 12. Permukaan respon berat molekul alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* sebagai pengaruh perlakuan suhu dan waktu (A), pH dan waktu (B), suhu dan pH (C).

4.2.4 Ketepatan model

Box Behnken Design dengan tiga ulangan titik pusat digunakan untuk menguji pengaruh suhu, waktu dan pH perlakuan asam terhadap rendemen fukoidan dan alginat, viskositas intrinsik dan berat molekul alginat. Model polynomial biorefinery ekstraksi sequensial fukoidan dan alginat disajikan pada Table 4.

Ketepatan model polinomial respon rendemen fukoidan dan alginat, viskositas intrinsik dan berat molekul alginat diuji berdasarkan parameter signifikansi model, lack of fit dan koefisien korelasi ditunjukkan pada Tabel 5. Kesesuaian model mempunyai nilai signifikansi $p < 0,05$, $R^2 \geq 0,8$ dan *Lack of fit* > 0.1 . Berdasarkan parameter tersebut persamaan polynomial respon rendemen fukoidan dan multiple-respon alginat (rendemen, viskositas intrinsik, berat molekul) memenuhi kriteria tersebut dan sesuai untuk memprediksi respon yang optimal.

Tabel 4. Model polinomial dan kode signifikansi

Y	A	b ₁	b ₂	b ₃	b ₁₂	b ₁₃	b ₂₃	b ₁ ²	b ₂ ²	b ₃ ²
Rendemen fukoidan (%)	+0,74	-0,051 ^{ns}	+0,31 ^{ns}	-0,49*	+0,025 ^{ns}	+0,17 ^{ns}	-0,072 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,33 ^{ns}
Rendemen Alginat (%)	+29,85	+0,87*	+0,57**	-1,57*	+0,86	-0,17 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-1,57 ^{ns}	-0,91*	-0,44***
Viscositas Intrinsik (ml/g)	+446,38	-25,96 ^{ns}	-16,03 ^{ns}	+17,64 ^{ns}	-8,54 ^{ns}	+42,02 ^{ns}	+54,85 ^{ns}	-99,53**	-125,27*	-122,96**
Berat molekul (kDa)	211,46	-12,33 ^{ns}	-7,61 ^{ns}	+8,34 ^{ns}	+3,53 ^{ns}	+19,98 ^{ns}	+26,04 ^{ns}	-47,73*	-59,93*	-58,82*

Persamaan: $Y = a + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1.x_2 + b_{13}x_1.x_3 + b_{23}x_2.x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2$

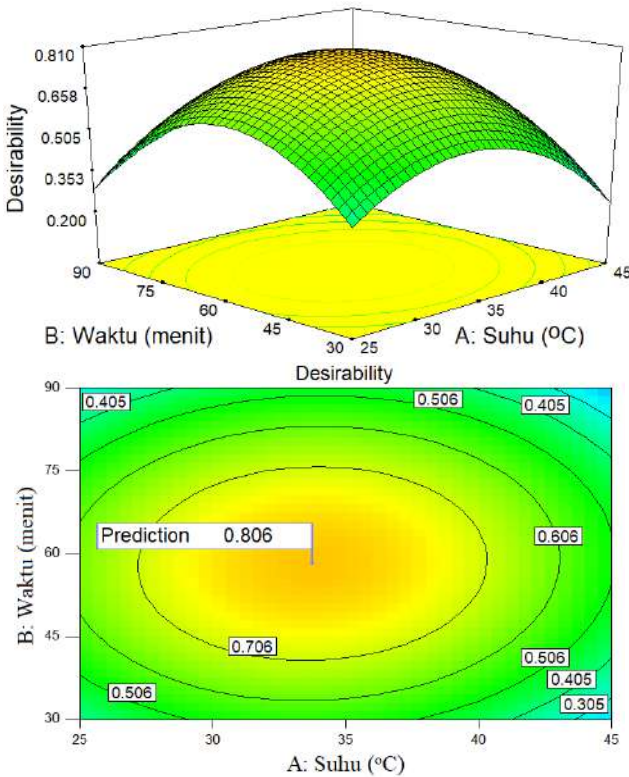
Kode signifikansi: ** P < 0.001; * 0.001 < P < 0.01; * 0.01 < P < 0.05; ^{ns} P > 0.05

Tabel 5. Ketepatan model

Fungsi	Signifikansi model (Ps)	<i>Lack of Fit</i> (PL)	Koefisien korelasi (R ²)
Rendemen fukoidan	0,0157	0,0577	0,5958
Rendemen alginat	0,0062	0,1722	0,9575
Viscositas intrinsik	0,0417	0,7914	0,9038
Berat molekul	0,0423	0,7961	0,9032

4.2.5 Optimasi ekstraksi

Titik optimum perlakuan asam ekstraksi sequensial fukoidan dan alginat hasil perhitungan program *Design Expert* versi 7 adalah suhu 33,75°C, waktu 58,22 menit, pH 3,07. Prediksi respon pada kondisi optimal yaitu rendemen fukoidan 0,71%, rendemen alginat 29,63%, viskositas intrinsik 448,8 ml/g dan berat molekul 212,6 kDa dengan nilai desirability 0,806 (Gambar 13). Nilai desirabiliti mendekati 1 berarti prediksi titik optimal mempunyai validitas yang tinggi (Sugiono et al. 2018).



Gambar 13. Permukaan respon dan kontur plot desirabiliti titik optimal ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.*

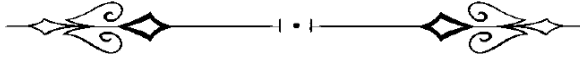
Verifikasi titik optimal dilakukan eksperimen validasi 3-ulangan didapatkan rerata respon rendemen fukoidan $1,22 \pm 0,068\%$ rendemen alginat $29,85 \pm 0,24\%$ viskositas intrinsik $409,72 \pm 8,23$ ml/g dan berat molekul alginat $194,08 \pm 3,77$ kDa. Hasil uji t-berpasangan hasil eksperimen validasi dan nilai prediksi tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), membuktikan bahwa eksperimen validasi mendukung titik optimal prediksi program sesuai dan valid. Berdasarkan nilai viskositasnya alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* hasil ekstraksi sekuensial masuk dalam kategori kualitas alginat viskositas sedang. Standar mutu alginat dalam perdagangan disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Standar viskositas alginat dalam perdagangan pada konsentrasi 1% dalam larutan aquades.

No	Kualitas alginat	Viskositas (mPa.s)
1	Viskositas tinggi	500-600
2	Viskositas sedang	300-400
4	Viskositas rendah	100-200

Sumber: Kasahara, (2021)

BAB 5 PENUTUP



Biorefineri ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat telah berhasil dilakukan dan dihasilkan dua produk yaitu fukoidan dan alginat. Kondisi proses yang optimal ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat *Sargassum sp.* terjadi pada suhu 33,75°C, waktu 58,22 menit, dan pH pelarut 3,07 dengan nilai rendemen fukoidan $1,22 \pm 0,068\%$, rendemen alginat $29,85 \pm 0,24\%$, viskositas intrinsik $409,72 \pm 8,23$ ml/g dan berat molekul alginat $194,08 \pm 3,77$ kDa. Pengembangan metode ekstraksi sekuensial fukoidan dan alginat dari alga coklat dapat menjadi solusi yang tepat dan efektif bagi pengembangan metode ekstraksi fukoidan dan alginat. Metode ini mempunyai potensi efisiensi dan aplikasi produksi skala industri sehingga dapat mendorong tumbuhnya industri dalam negeri. Alga coklat dapat dimanfaatkan secara optimal, dapat meningkatkan pendapatan dan kesejahteraan nelayan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. Rumput Laut di Indonesia: Jakarta: Bank Bumi Daya.
- Ale, M. T., Mikkelsen, J. D., & Meyer, A. S. (2012). Designed optimization of a single-step extraction of fucose-containing sulfated polysaccharides from *Sargassum* sp . *J Appl Phycol*, 24, 715–723. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9690-3>
- Alekseyenko, T. V., Zhanayeva, S. Y., Venediktova, A. A., Zvyagintseva, T. N., Kuznetsova, T. A., Besednova, N. N., & Korolenko, T. A. (2007). *Antitumor and Antimetastatic Activity of Fucoidan , a Sulfated Polysaccharide Isolated from the Okhotsk Sea Fucus evanescens Brown Alga*. 143(6), 730–733.
- Anastyuk, S. D., Shevchenko, N. M., Ermakova, S. P., Vishchuk, O. S., Nazarenko, E. L., Dmitrenok, P. S., & Zvyagintseva, T. N. (2012). Anticancer activity in vitro of a fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens* and its low-molecular fragments , structurally characterized by tandem. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.036>
- Arvizu, D. L., Rodríguez, Y. E., Hernández, G., & Murillo, J. I. (2007). *Chemical constituents of Eisenia arborea Areschoug from Baja California Sur , México*. 35(2), 63–69.
- Bertagnolli, C., Paula, A., Espindola, D. M., Jaiana, S., Tasic, L., & Gurgel, M. (2014). *Sargassum filipendula* alginate from Brazil: Seasonal influence and characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 111, 619–623. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.024>
- Chen, J., Wang, W., Zhang, Q., Li, F., Lei, T., Luo, D., & Zhou, H. (2013). *Low Molecular Weight Fucoidan against Renal Ischemia – Reperfusion Injury via Inhibition of the MAPK Signaling Pathway*. 8(2), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056224>
- Clementi, F., Mancin, M., & Moresih, M. (1998). Rheology of

- Alginate From *Azotobacter vinelandii* in Aqueous Dispersions. *Journal of Food Engineering*, 8774(98). [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/s0260-8774\(98\)00042-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/s0260-8774(98)00042-9)
- Damonte, E. B., Matulewicz, M. C., & Cerezo, A. S. (2004). *Sulfated Seaweed Polysaccharides as Antiviral Agents*. 2399–2419.
- Dhanapal, V., & Subramanian, K. (2014). Recycling of textile dye using double network polymer from sodium alginate and superabsorbent polymer. *Carbohydrate Polymers*, 108(1), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.013>
- Dobrinčić, A., Balbino, S., Zorić, Z., Pedisić, S., Kovačević, D. B., Garofulić, I. E., & Dragović-Uzelac, V. (2020). Advanced technologies for the extraction of marine brown algal polysaccharides. *Marine Drugs*, 18(3), 1–29. <https://doi.org/10.3390/md18030168>
- Draget, K. I., & Taylor, C. (2011). Food Hydrocolloids Chemical , physical and biological properties of alginates and their biomedical implications. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 251–256. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.10.007>
- Fenoradosoa, T. A., Ali, G., Delattre, C., Laroche, C., Petit, E., Wadouachi, A., & Michaud, P. (2010). Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *Journal of Applied Phycology*, 22(2), 131–137. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9432-y>
- Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, E. M., Moha, T., Brouillette, F., & A. (2014). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.05.003>
- Gomez, C. G., Pérez, M. V, Lozano, J. E., Rinaudo, M., & Villar, M. A. (2009). International Journal of Biological Macromolecules Influence of the extraction – purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystis pyrifera*). *International Journal*

- of *Biological Macromolecules* 44, 44, 365–371.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.02.005>
- Hernandez-Carmona, G., McHugh, D. J., Arvizu-Higuera, D. L., & Rodriguez-Montesinos, Y. E. (2000). Pilot plant scale extraction of alginate from *Macrocystis pyrifera*. 1. Effect of pre-extraction treatments on yield and quality of alginate. *Journal of Applied Phycology*, 5, 507–513.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1023/A:1008004311876>
- Jayasankar R, 1993. On the yield and quality of sodium alginate from *Sargassum wightii* (greville) by pre-treatment with chemicals. *Seaweed Research and Utilisation*, 16(1&2): 63–66
- Jensen, M. G., Knudsen, J. C., Viereck, N., Kristensen, M., & Astrup, A. (2012). Functionality of alginate based supplements for application in human appetite regulation. *Food Chemistry*, 132(2), 823–829.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.042>
- Jung, K. A., Lim, S. R., Kim, Y., & Park, J. M. (2013). Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery. *Bioresource Technology*, 135, 182–190.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.025>
- Kervarec, N., Michel, G., Tonon, T., Kloareg, B., & Deniaud-boue, E. (2017). *Chemical and enzymatic fractionation of cell walls from Fucales: insights into the structure of the extracellular matrix of brown algae*. November, 1203–1216. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu096>
- Kim, E. J., Park, S. Y., Lee, J.-Y., & Park, J. H. Y. (2010). Fucoidan present in brown algae induces apoptosis of human colon cancer cells. *BMC Gastroenterology*, 10, 96.
<https://doi.org/10.1186/1471-230X-10-96>
- Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 37(1), 106–126.
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>
- Lins, K. O. A. L., Vale, M. L., Ribeiro, R. A., & Costa-Lotufo, L. V. (2013). Proinflammatory activity of an alginate isolated from *Sargassum vulgare*. *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 414–420.

- <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.101>
- Lorbeer, A. J., Lahnstein, J., Bulone, V., Nguyen, T., & Zhang, W. (2015). Multiple-response optimization of the acidic treatment of the brown alga *Ecklonia radiata* for the sequential extraction of fucoidan and alginate. *Bioresource Technology*, 197, 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.103>
- Mahmood, S. J., & Siddique, A. (2010). Ionic studies of sodium alginate isolated from *Sargassum terrarium* (brown alga) karachi coast with 2,1-electrolyte. *Journal of Saudi Chemical Society*, 14(1), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2009.12.018>
- Moebus, K., Siepmann, J., & Bodmeier, R. (2012). European Journal of Pharmaceutical Sciences Novel preparation techniques for alginate – poloxamer microparticles controlling protein release on mucosal surfaces. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(3), 358–366. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2011.12.004>
- Montgomery, D. (2005). *Response surface methods and designs*. Wiley, New York.
- Myklestad. (1968). Ion-exchange properties of brown algae for particles from *ascophyllum nodosum* 11."rate mechanism for calcium-hydrogen ion exchange. *Journal of Applied Chemistry*, 18, 222–227.
- Nobre, L. T. D. B., Costa, L. S., Fidelis, G. P., Cordeiro, S. L., Oliveira, R. M., Sabry, D. A., Ca, R. B. G., Costa, M. S. S. P., Farias, E. H. C., Leite, E. L., & Rocha, H. A. O. (2010). *Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds*. 64, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2009.03.005>
- Paula, A., Sousa, A. De, Rocha, M., Pessoa, C., Odorico, M., Moraes, D., Dário, F., Filho, R., Paula, A., Nunes, N., & Costa-lotufo, L. V. (2007). *In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 tumor by alginates from brown seaweed Sargassum vulgare*. 69, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.08.018>
- Rahelivao, M. P., Andriamanantoanina, H., Heyraud, A., & Rinaudo, M. (2013). Structure and properties of three

- alginates from madagascar seacoast algae. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 143–146.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.005>
- Reyes-Tisnado, R., Hernández-Carmona, G., Montesinos, Y. E. R., Higuera, D. L. A., & Gutiérrez, F. L. (2005). Food grade alginates extracted from the giant kelp *Macrocystis pyrifera* at pilot-plant scale. *Revista de Investigaciones Marinas*, 26(3), 185–192.
- Rioux, L., Turgeon, S. L., & Beaulieu, M. (2007). Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate Polymers*, 69, 530–537.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.01.009>
- Rodriguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1137–1144.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.006>
- Sellimi, S., Younes, I., Ben, H., Maalej, H., Montero, V., Rinaudo, M., Dahia, M., Mechichi, T., Hajji, M., & Nasri, M. (2015). International Journal of Biological Macromolecules Structural , physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1358–1367.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.016>
- Simmons, B. A., & Klein-marcuschamer, D. (2015). *An Investigation on the Economic Feasibility of Macroalgae as a Potential Feedstock for Biorefineries*. 1046–1056.
<https://doi.org/10.1007/s12155-015-9594-1>
- Sugiono, Widjanarko, S. B., & Soehono, L. A. (2014). Extraction Optimization by Response Surface Methodology and Characterization of Fucoidan from Brown Seaweed *Sargassum polycystum*. *International Journal of ChemTech Research*, 6(1), 195–205.
[http://sphinxsai.com/2014/ChemTech/JM14CT1_50/CT=23\(195-205\)JM14.pdf](http://sphinxsai.com/2014/ChemTech/JM14CT1_50/CT=23(195-205)JM14.pdf)
- Sugiono, Bambang Widjanarko, S., & Adi Soehono, L. (2014). Extraction optimization by response surface methodology

and characterization of Fucoidan from brown seaweed *Sargassum polycystum*. *International Journal of ChemTech Research*, 6(1), 195–205.

- Sugiono, S., Abadi, A. N., Zannuba, S., Taufiky, A., & Nugroho, M. (2022). Efek Penggunaan Pelarut Berulang pada Proses Pre-Ekstraksi Terhadap Mutu Alginat dari *Sargassum cristaefolium*. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 17(2), 1–10.
- Sugiono, S., & Ferdiansyah, D. (2020). Biorefinery for sequential extraction of fucoidan and alginate from brown alga *Sargassum cristaefolium*. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 12(2), 88–99. <https://doi.org/https://doi.org/10.34302/crpjfst/2020.12.2.9>
- Sugiono, S., Masruri, M., Estiasih, T., & Bambang, S. (2018). Multiple-response optimization of the acidic pre-treatment of the brown alga *Sargassum cristaefolium* for the alginate extraction using twin screw extruder. *Bioscience Research*, 15(2), 683–693. [https://www.isisn.org/BR15\(2\)2018/683-693-15\(2\)2018BR18-139.pdf](https://www.isisn.org/BR15(2)2018/683-693-15(2)2018BR18-139.pdf)
- Sugiono, S., Masruri, M., Estiasih, T., & Widjanarko, S. B. (2019a). Optimization of extrusion-assisted extraction parameters and characterization of alginate from brown algae (*Sargassum cristaefolium*). *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3687–3696. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13197-019-03829-z>
- Sugiono, S., Masruri, M., Estiasih, T., & Widjanarko, S. B. (2019b). Structural and Rheological Characteristics of Alginate from *Sargassum cristaefolium* Extracted by Twin Screw Extruder Structural and Rheological Characteristics of Alginate from. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(9), 944–959. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1665603>
- Suzuki, S., Christensen, B. E., & Kitamura, S. (2011). Effect of mannuronate content and molecular weight of alginates on intestinal immunological activity through Peyer's patch cells of C3H/HeJ mice. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 629–634. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.032>
- Thomas, A., Harding, K. G., & Moore, K. (2000). Alginates

from wound dressings activate human macrophages to secrete tumour necrosis factor. *Biomaterials*, *21*, 1797–1802.

Vishchuk, O. S., Ermakova, S. P., & Zvyagintseva, T. N. (2013). The fucoidans from brown algae of Far-Eastern seas: Anti-tumor activity and structure – function relationship. *Food Chemistry*, *141*(2), 1211–1217. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.065>



Dr. Sugiono, S.Pi., M.P lahir di Pamekasan 27 Pebruari 1978. Setelah menamatkan SMAN 3 Pamekasan, Tahun 1997 melanjutkan pendidikan di Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Pendidikan ini diselesaikan pada tahun 2002. Pada Tahun 2002-2007 menjadi supervisor Pembelian di PT. Madura Prima Interna Perusahaan pengolahan dan ekspor ikan Teri Nasi, Pada Tahun 2007-2010 menjadi pimpinan cabang Sampang. Pada tahun 2010-2020 menjadi manager produksi di PT. Marinal Indoprima. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan S-2 di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Pendidikan ini diselesaikan pada tahun 2013. Tahun 2014 Penulis menjadi dosen tetap di Program Studi Agrobisnis Perikanan Universitas Islam Madura. Tahun 2019 selesai pendidikan S-3 (Doktor) Program Doktor Ilmu Pertanian Universitas Brawijaya pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian. Penulis aktif melakukan kegiatan penelitian dan melakukan publikasi pada jurnal nasional dan Internasional yang bereputasi terindek Scopus Q1, Q3, Q4 dan terindek WOS (*Web Of Science*).



Dr. Matheus Nugroho. SPI., MP lahir di Blitar, 19 Januari 1972. Pendidikan S1 Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang diselesaikan pada Tahun 1999. Pada Tahun 2022. penulis menyelesaikan Pendidikan S-2 di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Tahun 2002 Penulis menjadi dosen tetap di Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Universitas Yudharta Pasuruan. Tahun 2019 selesai pendidikan S-3 (Doktor) Program Doktor Ilmu Pertanian Universitas Brawijaya pada Program studi Ilmu Lingkungan. Penulis aktif melakukan kegiatan penelitian dan melakukan publikasi pada jurnal nasional dan Internasional yang bereputasi terindek Scopus dan terindek WOS (*Web Of Science*).