

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Alga Cokelat (*Sargassum Cristefolium*)

Rumput laut atau makroalga merupakan salah satu organisme laut yang berperan dalam siklus rantai makanan sebagai produser primer. Untuk mempertahankan diri dalam habitatnya, rumput laut memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari senyawa primer yang merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat esensial bagi proses metabolisme sel seperti fikokoloid, vitamin, asam lemak tak jenuh (UFA) dan karbohidrat. Senyawa sekunder (metabolit sekunder) adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid, dan alkaloid, fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Reskika,2011).

Alga Cokelat merupakan salah satu jenis rumput laut yang sangat potensial dan perlu dikembangkan pemanfaatannya. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa kandungan senyawa bioaktif alga cokelat dapat dimanfaatkan dibidang kesehatan sebagai obat. Salah satu jenis dari alga cokelat adalah *Sargassum sp.* Menurut Kementerian Perdagangan Indonesia tahun 2013, *Sargassum sp.* termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. Habitat dan sebarannya terdapat di perairan yang tenang maupun berombak besar pada habitat batu. Faktor alam yang banyak mempengaruhi pertumbuhannya adalah jenis substrat, cahaya matahari, kadar garam, dan lain-lain. Substrat dasar tempat melekatnya adalah berupa batu karang, abut, lumpur, pasir, kulit kerang, dan kayu.

*Sargassum* tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus yang deras. *Sargassum* dapat tumbuh subur pada daerah tropis dengan suhu perairan 27,25 – 29,30°C, salinitas 32 – 33,5% dan dengan intensitas cahaya matahari yang lebih tinggi dari alga merah sekitar 6400 – 7500 lux (Kadi, 2005). *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang, panjang thallus sekitar 1 – 3 meter. Pada setiap percabangan *Sargassum* terdapat gelembung udara berbentuk bulat (*bladder*) yang berguna untuk menompang cabang-cabang thallus yang terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari (Kadi, 2005).

Morfologi *Sargassum* menyerupai tumbuhan tingkat tinggi karena thallusnya dapat dibedakan akar, batang dan daunnya, memiliki *holdfast* (cakram pelekak) berbentuk cakram sebagai alat untuk melekat pada substrat (Haryza dan Hastuti, 2006). Thallus *Sargassum* berwarna cokelat, berbentuk silindris berduri-duri kecil, rapat, *holdfast*nya membentuk kram kecil dan di atasnya terdapat perakaran atau stolon yang rimbun berekspansi ke segala arah (Renhoran, 2002). Klasifikasi *Sargassum cristaefolium* menurut C. Agardh (1820) dalam Guiry (2013) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Ochrophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum cristaefolium</i> C. Argadh

Penybaran rumput laut *Sargassum cristaefolium* di Indonesia meliputi perairan Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara, hingga Kepulauan Maluku (Sediadi, 2000). Hasil wawancara komunikasi tentang kelimpahan alga cokelat jenis *Sargassum sp.* yang dilakukan oleh Asmad (2012) di Pamekasan menyebutkan bahwa *Sargassum* banyak ditemukan di daerah

tersebut dan belum dimanfaatkan dengan baik. Gambar alga cokelat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. *Sargassum cristaefolium***  
Sumber : *Googleimage* (2016)

Pemanfaatan jenis rumput laut *Sargassum* dimasyarakat perlu dikembangkan, salah satu pemanfaatannya adalah dengan diolah menjadi teh. Novaczek dan Athy (2001), menyatakan dalam bukunya bahwa *Sargassum* dapat dibuat sebagai minuman sejenis *slimming tea* yang direkomendasikan bagi seseorang yang memiliki kelebihan berat badan dan ingin mencoba menurunkan berat badannya. Di Vietnam bagian selatan hingga tengah seperti Khanh Hoa, Quang Nam, Quang Ngai, Binh Dinh, dan lain-lain orang telah memanfaatkan *Sargassum* dan *Porphyra* sebagai minuman teh yang berkhasiat medis. Pemanfaatan teh *Sargassum* oleh masyarakat Vietnam ini telah dilakukan sejak lama (Susanto 2009).

Teh merupakan minuman yang sudah dikenal di Indonesia dan di dunia. Minuman berwarna cokelat ini mempunyai aroma yang harum serta rasanya yang khas. Selain nikmat minuman teh juga mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan manusia, diantaranya sebagai penghambat pembentukan kanker, mencegah penyakit jantung dan penyakit *stroke* (Sutomo, 2006).

Pemanfaatan rumput laut *Sargassum* menjadi teh juga didukung oleh pernyataan Firdhayani *et al.*, (2010), mengatakan bahwa rumput laut

*Sargassum sp.* dapat diolah menjadi produk teh rumput laut herbal efisien dan bernilai ekonomis. Hal ini dikarenakan dengan adanya kandungan bahan Alginat, iodin dan guluronate yang dapat membuang zat-zat sisa dalam tubuh, seperti lemak dan sel-sel mati akibat radikal bebas. Manfaat yang dihasilkan dari minuman teh adalah memberikan rasa segar, dapat memulihkan kesehatan badan dan terbukti tidak menimbulkan dampak negatif.

Berbagai macam manfaat teh tersebut tidak lepas dari kandungan senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya. Penelitian Siregar *et al.*, (2012), menyatakan bahwa analisis fitokimia ekstrak *Sargassum* yang diperoleh dari perairan Jepara mengandung senyawa steroid, alkaloid dan tanin. Ditambahkan oleh Romansyah (2011), bahwa senyawa bioaktif yang dihasilkan alga cokelat dapat digunakan sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan dan menghambat aktivitas enzim.

Beberapa penelitian juga menyebutkan manfaat senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum sp.* dibidang kesehatan seperti antikanker (Xu *et al.*, 2003), antijamur (Guedes *et al.*, 2012), antivirus (Hardouin *et al.*, 2013). Untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang terkandung didalam *Sargassum cristefolium* perlu dilakukan proses ekstraksi.

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan komponen cair dari campurannya menggunakan sejumlah massa solven (pelarut) sebagai tenaga pemisah. Proses ekstraksi meliputi tiga langkah utama yaitu proses pencampuran, proses pembentukan fase setimbang dan proses pemisahan fase setimbang. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi antara lain ukuran partikel, perbandingan pelarut, suhu, waktu kontak, dan pengadukan (Yasita dan

Rachmawati, 2013). Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia atau zat-zat aktif yang terdapat dalam bahan (Harborne, 1987).

Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Novianti, 2012). Putranti (2013), menyatakan bahwa maserasi harus didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, buatanol dan air. Senyawa non polar juga hanya akan larut pada pelarut non polar, seperti eter, kloroform dan n-heksan.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel menyebabkan larutan yang terpekat di desak keluar. Keuntungan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah diusahakan, sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaan yang dibutuhkan lama (Lathifah, 2008).

Pelarut merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan dalam proses ekstraksi. Pemilihan pelarut didasarkan pada kemampuan dan kelarutannya dalam mengekstrak senyawa yang diinginkan (Guenther, 1987). Pelarut yang baik untuk digunakan dalam proses ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap senyawa yang diekstraksi. Daya melarutkan tersebut berhubungan dengan polaritas pelarut dan polaritas senyawa yang diekstraksi (Vogel, 1987). Beberapa sifat pelarut yang ideal antara lain memiliki selektifitas yang tinggi terhadap senyawa yang diekstraksi, memiliki perbedaan titik didih dan densitas yang cukup besar, bersifat inert, tidak beracun, memiliki viskositas yang kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah

terbakar, tidak bersifat reaktif terhadap senyawa yang diekstraksi, murah dan mudah didapat (Yasita dan Rachmawati, 2013).

Bahan-bahan dan senyawa kimia akan mudah larut dalam bahan pelarut yang memiliki polaritas yang sama. Secara fisika, tingkat polaritas suatu pelarut ditunjukkan dengan nilai konstanta dielektrik. Suatu pelarut disebut semakin polar apabila semakin besar nilai konstanta dielektriknya (Sudarmadji *et al.*, 2007). Pelarut yang bersifat polar cenderung melarutkan senyawa yang bersifat polar, dan sebaliknya pelarut non polar cenderung melarutkan senyawa non polar (Vogel, 1987).

Jumlah pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi konsentrasi jenuh larutan. Semakin banyak pelarut yang digunakan, maka semakin banyak zat terlarut yang dapat terekstrak (Komara, 1991). Dalam jumlah tertentu, pelarut dapat bekerja secara optimal dalam proses ekstraksi, namun dalam jumlah yang berlebihan pelarut tidak akan mengekstrak lebih banyak senyawa (Susanto, 2009).

### 2.2.1 N-Heksan

Heksana ( $C_6H_{14}$ ) merupakan senyawa hidrokarbon alkana yang memiliki rumus isomer utama  $CH_3(CH_2)_4CH_3$ . Awalan *heks-* menunjukkan jumlah atom karbon yang terdapat di dalamnya dan akhiran *-ana* menunjukkan ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Heksana merupakan salah satu jenis pelarut non polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Heksana merupakan alkana cair yang diperoleh dari fraksi ringan dari minyak mentah. Penggunaan utama dari heksana adalah sebagai campuran bensin dan sebagai pelarut (Daintith, 2004).

Menurut Arindah (2010), heksana merupakan hidrokarbon alifatik yang mudah menguap dengan konstanta dielektrik 1,89 pada 20 °C. Ikatan kovalen

pada n-heksana menjadikan n-heksana tidak reaktif sehingga sering digunakan sebagai pelarut inert pada reaksi organik. Heksan berupa cairan tidak berwarna pada suhu kamar, tidak dididih diantara 50°C dan 70°C, dengan bau mirip bensin. N-Heksan banyak digunakan karena murah, relatif aman, sebagian bersat tidak reaktif, dan mudah menguap (non-polar pelarut) (Day and Underrwood,1999).

### 2.3 Evaporasi

Evaporasi (penguapan) atau pemekatan merupakan proses yang melibatkan perpindahan panas dan massa secara simultan. Sebagian pelarut akan diuapkan sehingga diperoleh suatu produk yang kental (konsentrat). Kecepatan penguapan dipengaruhi oleh efektifitas pindah panas dan pindah massa. Penguapan terjadi apabila suhu suatu bahan sama atau lebih tinggi dari titik didih cairan. Pada produk yang sensitif terhadap suhu tinggi, titik didih cairan atau pelarut harus diturunkan sehingga lebih rendah dari titik didih pada kondisi normal. Menurunkan titik didih pelarut atau cairan dilakukan dengan cara menurunkan tekanan di atas permukaan cairan menjadi lebih rendah dari tekanan atmosfer atau disebut vakum (Joharman, 2006).

Pemekatan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* merupakan teknik pemekatan ekstrak tanpa merusak senyawa yang diisolasi dari ekstrak karena rangkaian alat ini menggunakan pompa vakum sehingga di dalam evaporator terjadi pengurangan tekanan yang menyebabkan pelarut dapat menguap di bawah titik didihnya (Siadi, 2012).

## 2.4 Uji antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui efektifitas daya hambat sampel terhadap bakteri uji yaitu *Aeromonas salmonicida* dan *Streptococcus pyogenes*. Menurut Agustin dan Kusmiyati (2006), mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakterilitik.

Ditambahkan oleh Salosso (2011), bahwa penghambatan bakteri disebabkan oleh adanya senyawa fenol yang menyebabkan perusakan pada membran sitoplasma. Ion H dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida pada dinding sel bakteri akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Dalam keadaan demikian, fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian.

Salah satu cara untuk menguji bahan antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram. Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966, kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).



Lebar daerah hambatan ini tergantung pada konsentrasi obat yang digunakan. Cakram ini bisa untuk menggolongkan pengaruh obat antimikroba yaitu sensitif (S) dan resisten (R), *intermediate* (I). Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikitpun dan pengukuran diameter daerah hambatan dalam milimeter (Bonang dan Koeswardono, 2011). Ditambahkan oleh Lay (1994), adapun cara peletakkan kertas cakram dengan petridis minimal 15 mm dan jika jumlah cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram minimal 24 mm.

## 2.5 Uji toksisitas

Toksisitas diartikan sebagai kemampuan racun (molekul) untuk menimbulkan kerusakan apabila masuk kedalam tubuh lokasi organ yang rentan terhadapnya (Soemirat,2003). Toksisitas juga dapat didefinisikan sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan. Uji toksisitas akut merupakan uji dengan pemberian suatu senyawa yang diberikan dengan dosis tunggal pada hewan uji tertentu dan pengamatan dilakukan selama 24 jam. Maksud dari toksisitas akut yaitu untuk menentukan suatu gejala dan tingkat kematian hewan uji akibat pemberian senyawa tersebut, pengamatan gejala klinik, kematian hewan uji atau pengamatan organ (Panjaitan,2011).

Toksisitas dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain komposisi dan jenis toksikan, konsentrasi toksikan, durasi dan frekuensi pemaparan, sifat lingkungan, dan spesies biota penerima. Toksikan merupakan zat (berdiri sendiri atau dalam campuran zat, limbah, dan sebagainya) yang dapat menghasilkan efek negatif bagi semua atau sebagian dari tingkat organisasi biologis (populasi, individu, organ, jaringan, sel, biomolekul) dalam bentuk merusak struktur maupun fungsi biologis. Toksikan dapat menimbulkan efek negatif bagi biota dalam bentuk perubahan struktur maupun fungsional, baik secara akut maupun kronis atau sub

kronis. Efek tersebut dapat bersifat reversibel sehingga dapat pulih kembali dan dapat pula bersifat irreversible yang tidak mungkin untuk pulih kembali.

Uji toksisitas berguna untuk menentukan tingkat toksisitas dari suatu zat atau bahan pencemar. Uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan uji merupakan salah satu bentuk penelitian toksikologi perairan yang berfungsi untuk mengetahui apakah effluent atau badan perairan mengandung senyawa toksik dalam konsentrasi yang menyebabkan toksisitas akut. Parameter yang diukur biasanya kematian hewan uji, yang hasilnya dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji ( $LC_{50}$ ) dalam waktu yang relatif pendek satu sampai empat hari.

*Lethal concentration* ( $LC_{50}$ ) adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan setengah dari populasi (50%) yang ada. Nilai  $LC_{50}$  tidak konstan, artinya nilai berbeda antara spesies yang lain karena adanya variasi antar spesies. Nilai  $LC_{50}$  merupakan bentuk statistika yang didesain untuk menggambarkan respon yang mematikan komponen dalam beberapa populasi dari suatu percobaan. Banyak faktor yang berpengaruh didalamnya antara lain : umur, suhu, jumlah hewan uji (Finney, 1971).

Berbagai macam pengujian dilakukan untuk menentukan tingkat toksisitas senyawa cemaran ekstrak kasar teh rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* sehingga dapat diketahui ambang batas toleransi keberadaan senyawa tersebut pada makanan. Salah satu pengujian yang dilakukan adalah dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina leach.*). Mayer *et al.*, (1982), telah mengembangkan metode ini supaya dapat digunakan dalam menentukan senyawa bioaktif baru dari tumbuhan tingkat tinggi. Metode ini telah banyak digunakan untuk uji hayati dalam analisis residu peptisida, anestetika dan zat pencemar air. Keuntungan metode ini adalah cepat, tidak mahal, mudah dilakukan, dan tidak membutuhkan peralatan yang rumit. Metode ini sering digunakan untuk

mendeteksi senyawa bioaktif yang memiliki komponen bioaktif dan memiliki efek farmakologi.

*Artemia salina leach*. atau sering disebut *Brine shrimp* merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaannya sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *Artemia salina leach* juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007).

Parameter yang digunakan pada uji BSLT adalah efek toksikan terhadap individu. Respon yang dilihat hanyalah imobilisasi. Kedalaman tiap tabung berisikan konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji disertai dengan tabung kontrol. Proses pengujian toksisitas LC<sub>50</sub> menggunakan *Artemia salina leach*. untuk ekstrak kasar didasarkan pada prinsip sederhana bahwa kematian organisme zooloik secara invivo merupakan metode dasar monitoring yang mudah untuk penapisan dan fraksinasi senyawa bioaktif tersebut (Setiarto, 2009).

## 2.6 **Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)**

Metode yang digunakan dalam uji GC-MS adalah metode EICI (*Electron Impact Ionization Chemical Ionization*). Kromatografi merupakan metode pemisahan. Dibandingkan dengan metode pemisahan klasik seperti destilasi, kristalisasi, pengendapan ekstraksi, dan lain-lain, mempunyai kelebihan dalam pelaksanaan yang lebih sederhana. Penggunaan waktu yang singkat dan terutama mempunyai kepekaan serta kemampuan memisahkan serta kemampuan pemisahan yang tinggi. Prosedur kromatografi dapat digunakan jika metode klasik tidak dapat dilakukan karena jumlah cuplikan rendah, kompleksitas campuran yang hendak dipisahkan atau sifat kekerabatan zat yang hendak dipisah. Kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi

gas dapat dilakukan dalam laboratorium dan sangat sesuai dengan identifikasi dan pemeriksaan kemurnian senyawa obat dan campuran senyawa obat. Prosedur kromatografi tunggal dapat dibedakan menurut jenis pemisahan zat atau menurut jenis pemisahan zat atau menurut materi pemisahan yang digunakan. Seringkali berbagai prinsip pemisahan dijadikan satu. Untuk karakterisasi hasil pemisahan dikenal dengan parameter pengenal (Roth dan Blaschke, 1985).

Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat destruktif dan dapat bersifat non destruktif tergantung detektor yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

