

**UJI TOKSISITAS AKUT SERBUK DARI JUS *Sargassum* sp**

**SKRIPSI**

**PROGAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMAN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Oleh :**

**RESTU DEWANJAYA**

**NIM. 135080301111049**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

**UJI TOKSISITAS AKUT SERBUK DARI JUS *Sargassum* sp**

**SKRIPSI**

**PROGAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMAN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Perikana  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

**Univeritas Brawijaya**

**Oleh:**

**RESTU DEWANJAYA**

**NIM. 135080301111049**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

**SKRIPSI**

**UJI TOKSISITAS AKUT SERBUK DARI JUS *Sargassum* sp**

Oleh :

**RESTU DEWANJAYA**

**NIM. 135080301111049**

Telah dipertanggung jawabkan di depan penguji

Pada tanggal 27 September 2018

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : 13 DEC 2018

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes

NIP. 19611022 198802 2 001

Tanggal: 13 DEC 2018

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : 13 DEC 2018

## IDENTITAS TIM PENGUJI

**Judul : UJI TOKSISITAS AKUT SERBUK DARI JUS *Sargassum* sp**

Nama Mahasiswa : RESTU DEWANJAYA  
NIM : 135080301111049  
Progam Studi : Teknologi Hasil Perikanan

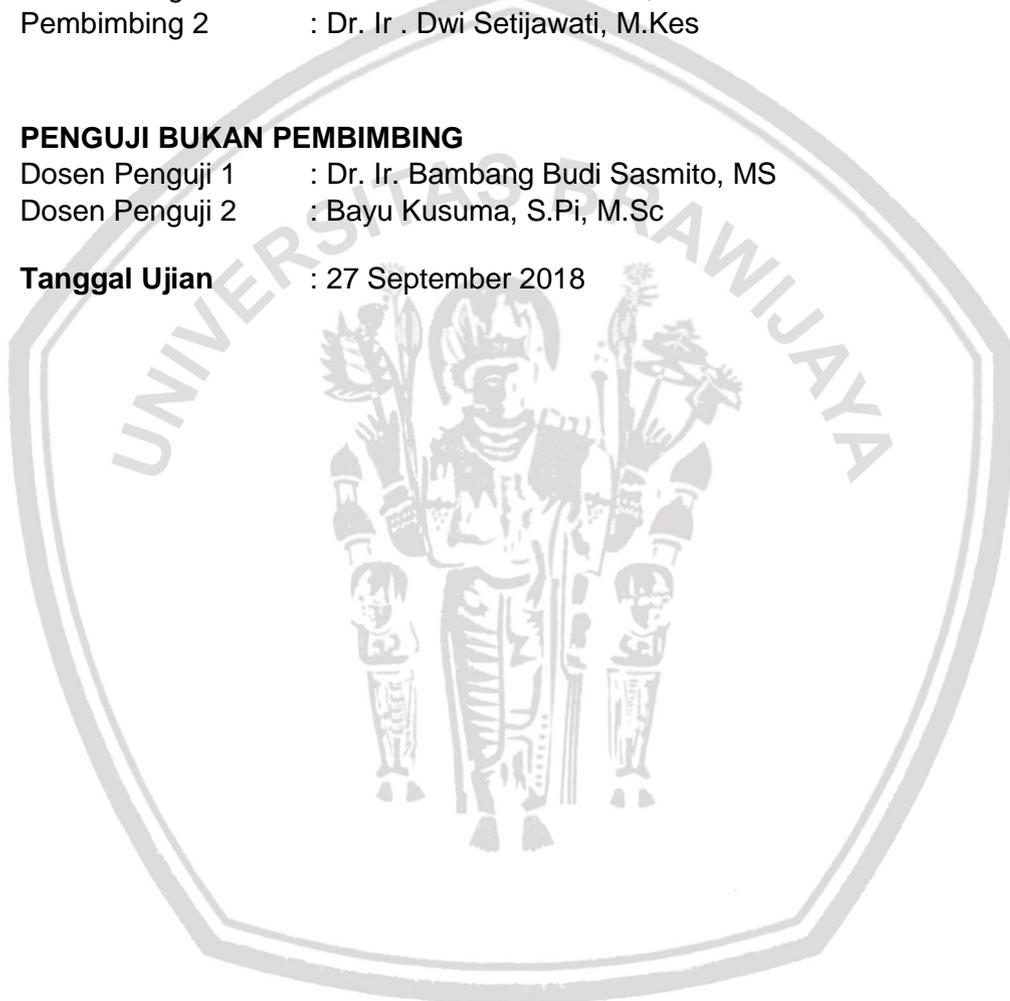
### **PENGUJI PEMBIMBING**

Pembimbing 1 : Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.  
Pembimbing 2 : Dr. Ir . Dwi Setijawati, M.Kes

### **PENGUJI BUKAN PEMBIMBING**

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS  
Dosen Penguji 2 : Bayu Kusuma, S.Pi, M.Sc

**Tanggal Ujian** : 27 September 2018



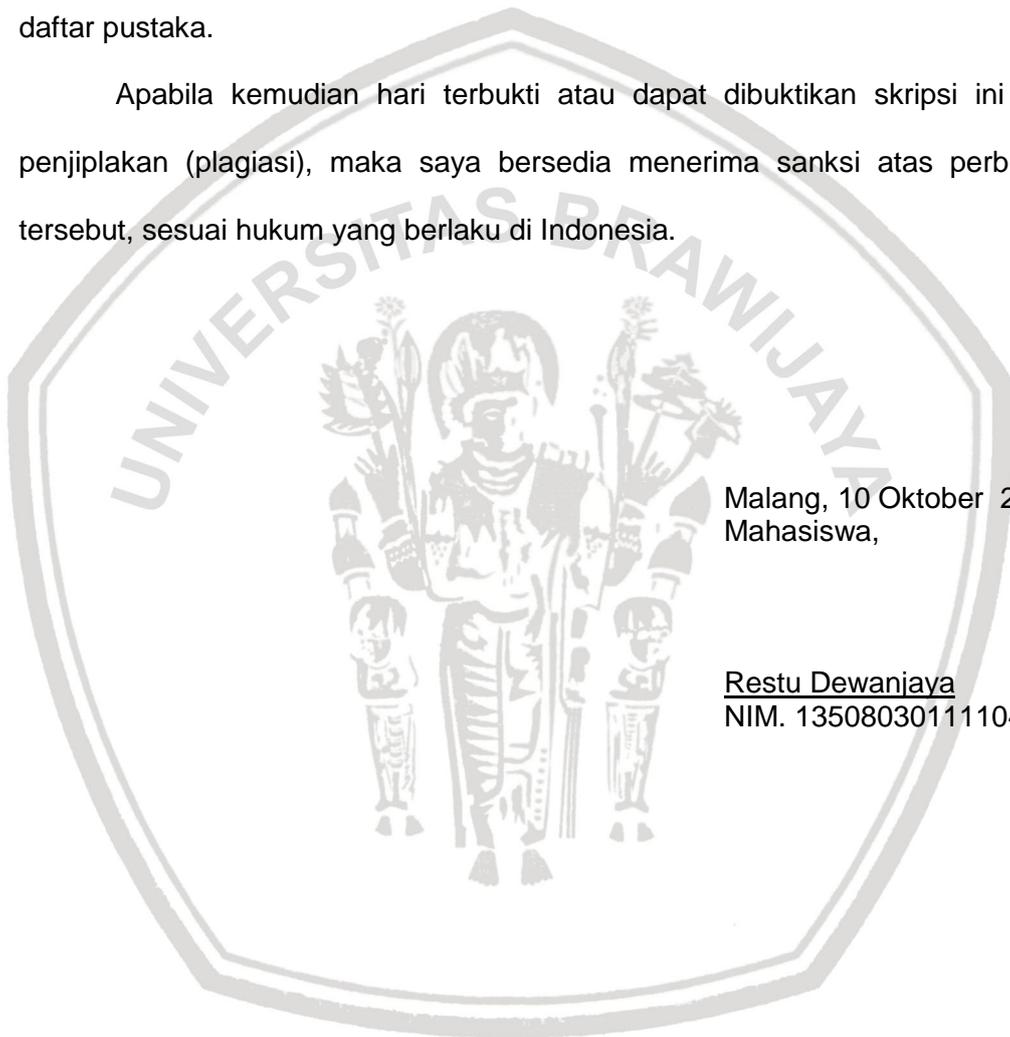
## PERNYATAAN ORISINILITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 10 Oktober 2018  
Mahasiswa,

Restu Dewanjaya  
NIM. 13508030111049



## RINGKASAN

**Restu Dewanjaya. NIM 135080301111049.** Skripsi. Uji Toksisitas Akut Serbuk Dari Jus *Sargassum* sp. Dibawah bimbingan **Dr.Ir. Muhamad Firdaus, MP** dan **Dr. Ir. Dwi Setijawati. M.Kes.**

---

*Sargassum* sp merupakan salah satu jenis alga yang masuk dalam kelas phaeophyceae. *Sargassum* sp menjadi sumber kandungan bioaktif yang merupakan senyawa aktif untuk mencegah terjadinya serangan patogen. Senyawa yang dapat ditemukan pada *Sargassum* sp ini seperti tanin, polifenol, saponin, flavonoid, alkaloid, dan steroid. Manfaat dari senyawa bioaktif dari *Sargassum* sp sendiri yaitu dapat dijadikan untuk produksi makanan, kosmetik, pada bidang farmasi, industri, dan juga pangan fungsional serta neutrasetikal. Polifenol sebagai kandungan yang terdapat pada *Sargassum* sp ini dapat diperoleh dengan cara ekstraksi, salah satu ekstraksi yang mudah untuk dilakukan yaitu dengan menggunakan metode jus. Salah satu metode jus yaitu dengan menggunakan *slow juicer*, dimana *slow juicer* ini mampu menghancurkan dinding sel, sehingga dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif pada saat proses ekstraksi.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental. Eksperimen bertujuan untuk mengetahui data berat badan setelah dilakukan pemberian jus *Sargassum*, lalu LD<sub>50</sub>, kerusakan sel hati dan juga kerusakan sel ginjal yang ditimbulkan. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan titik optimal dari florotanin, serta fitokimia dari jus *Sargassum* sp yang mana kemudian dilakukan pengeringan untuk mendapatkan sebuk jus *Sargassum* sp. Sedangkan penelitian utama dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari serbuk jus *Sargassum* ini terhadap berat badan, LD<sub>50</sub>, kerusakan sel hati, dan juga kerusakan sel ginjal. Rancangan percobaan yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan. Analisis yang digunakan adalah *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji lanjut LSD.

Dari hasil uji fitokimia pada *Sargassum* sp. didapatkan kandungan senyawa polifenol dan tanin lebih tinggi pada kondisi jus dibandingkan saat masih segar. Sedangkan pada kandungan senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin menunjukkan intensitas yang sama pada kondisi jus maupun saat masih segar. Namun pada kandungan senyawa steroid saat masih segar lebih tinggi dibandingkan pada kondisi jus.

Untuk hasil dari pengamatan berat badan didapatkan hasil bahwa pada dosis 0 mg/kg BB sampai dengan 1250 mg/kg berat badan tidak terjadi penurunan dan masih terus terjadi kenaikan berat badan, dan dapat disimpulkan belum terjadi kerusakan metabolisme. Pada dosis yang lebih tinggi 2500 mg/kg BB mengalami hambatan kenaikan berat badan dan disinyalir telah mulai terjadi kerusakan pada metabolisme. Untuk dosis pemberian tertinggi yaitu 5000 mg/kg BB telah terjadi penurunan berat badan dan disimpulkan telah terjadi kerusakan metabolisme. Untuk pengaman LD50 sendiri hasilnya adalah 0 karena tidak ada hewan uji yang mati selama penelitian. Untuk penelitian histopatologi hati dan ginjal data yang didapat semakin tinggi pemberian dosis maka jumlah kerusakan sel yang ditimbulkan akibat pemberian serbuk *Sargassum* sp semakin tinggi dosis rusak yang ditimbulkan akan semakin tinggi. Perlu dilakukan penelitian toksisitas kronis dan sub kronis untuk dapat memastikan bahwa bahan alam *Sargassum* sp ini benar-benar aman untuk dijadikan agen bahan pangan dan bahan untuk memberikan efek yang baik bagi manusia.



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam membantu kelancaran penelitian hingga penulisan laporan usulan skripsi ini dapat terselesaikan. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya diberikan kepada:

1. Allah SWT yang telah berkehendak atas segala kelancaran dan kemudahan yang diberikan dalam penyelesaian penelitian dan penulisan laporan usulan skripsi ini.
2. Kedua orang tua (Bapak Wito dan Ibu Suwarni) yang telah memberikan doa, dukungan, dan semangat sehingga penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP, selaku dosen pembimbing I atas kesediaan waktunya telah memberikan bimbingan dan bantuan dalam penyelesaian laporan.
4. Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes, selaku dosen pembimbing II atas kesediaan waktunya telah memberikan bimbingan dan bantuan dalam penyelesaian laporan.
5. Mbak Megawati Kusuma, S.Gz. selaku laboran Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Mbak Reni selaku laboran laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, yang telah mencukupi kebutuhan lab selama penelitian
6. Tim diabetes Gita, Ayub, Aqila, Ari, Fairus, Arriva, Banurhadi, Devi, Dwi Wulan, Egin, Irfan, Laely, Lailin, Mbak Ayuni, Agustika, Nunik, Samuel, Reza, Tezar, Titis, Windy, Yefta, dan Yulis yang telah banyak membantu selama kegiatan penelitian berlangsung.

7. Andi, Hanif, Fendik, Habibi, Hafis, Denmas, Happi, Sanur, Amir, Tegar yang telah memberikan semangat dan dukungan sehingga laporan ini dapat terselesaikan.
8. Staf karyawan Universitas Brawijaya Malang yang telah membantu dalam prosedur penelitian
9. Serta berbagai pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Malang, 10 Oktober 2018



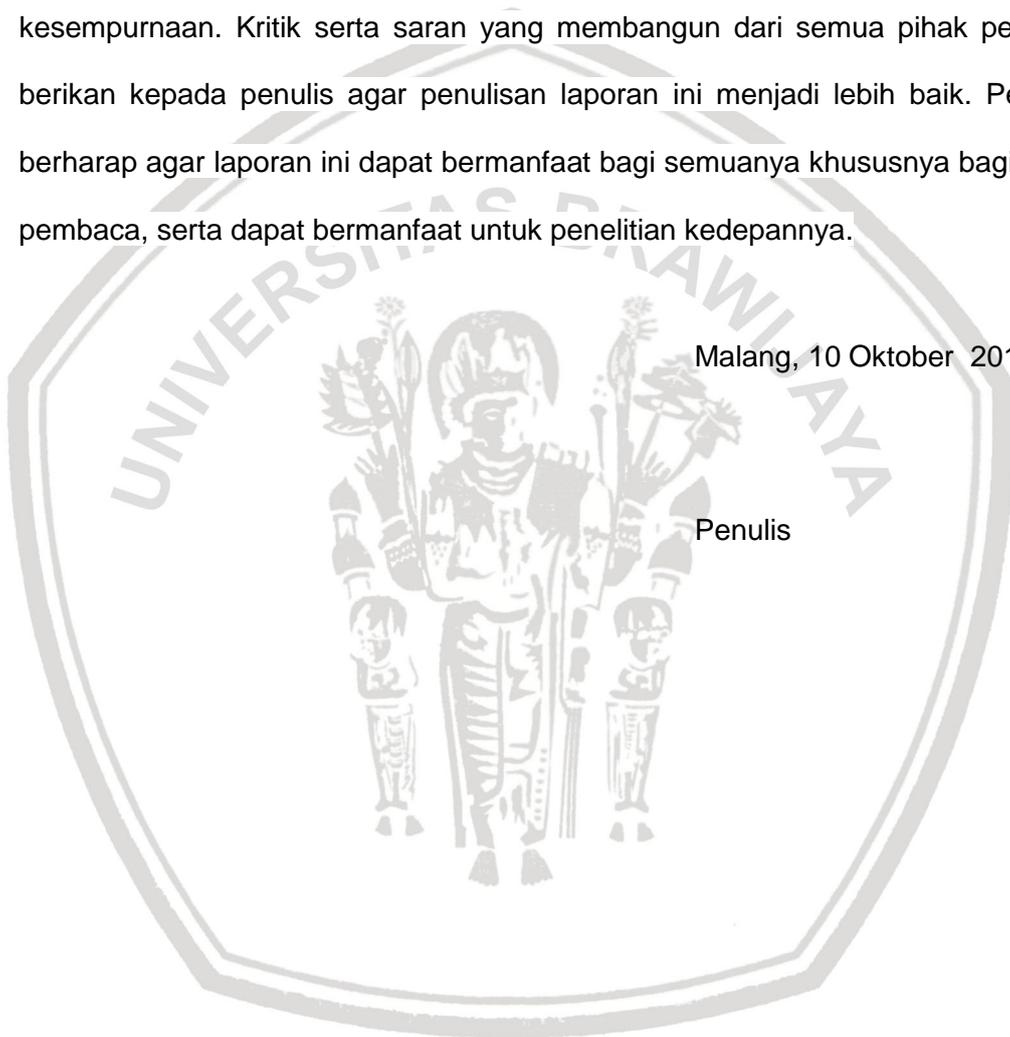
## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur pada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, rezeki serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Akut Serbuk Dari Jus *Sargassum* sp”.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan ini masih jauh dari kesempurnaan. Kritik serta saran yang membangun dari semua pihak perlu di berikan kepada penulis agar penulisan laporan ini menjadi lebih baik. Penulis berharap agar laporan ini dapat bermanfaat bagi semuanya khususnya bagi para pembaca, serta dapat bermanfaat untuk penelitian kedepannya.

Malang, 10 Oktober 2018

Penulis



DAFTAR ISI

COVER .....	i
LEMBAR JUDUL .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI .....	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS .....	v
RINGKASAN.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Hipotesis.....	4
1.5. Waktu dan Tempat .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1. <i>Sargassum</i> sp.....	5
2.1.1. Klasifikasi .....	5
2.1.2. Morfologi .....	5
2.1.3. Kandungan bioaktif .....	6
2.1.3.1. Flavonoid.....	6
2.1.3.2. Tanin .....	7
2.1.3.3. Terpenoid .....	8
2.1.3.5. Alkoloid.....	8
2.1.3.6. Saponin .....	9
2.1.4. Cara Memperoleh Senyawa Bioaktif .....	10
2.1.5. Manfaat <i>Sargassum</i> sp .....	11
2.1.5.1. Manfaat <i>Sargassum</i> sp di bidang kesehatan .....	11
2.1.5.2. Manfaat <i>Sargassum</i> sp di Bidang Industri .....	14
2.1.5.3. Manfaat <i>Sargassum</i> sp Sebagai Bahan Alginat.....	14
2.1.5.4. Pemanfaatan <i>Sargassum</i> sp Sebagai Bahan Biodiesel .	15
2.2. <i>Juicing</i> .....	16
2.2.1. Nutrasetikal .....	16
2.2.2. <i>Slow Juicer</i> .....	17
2.2.3. Pengeringan <i>Freeze Drying</i> .....	17
2.3. <i>Mus musculus</i> .....	18
2.3.1. Klasifikasi .....	18
2.3.2. Fisiologi.....	19

2.3.3. Pemilihan dan Persyaratan Hewan Uji .....	20
2.4. Uji Toksisitas .....	20
2.4.1. Tinjauan Umum Uji Toksisitas .....	20
2.4.2. Toksisitas Akut .....	21
2.4.3. Penentuan LD <sub>50</sub> .....	22
2.4.4. Mekanisme Terjadinya Toksisitas .....	23
2.4.5. Metode Pengujian Toksisitas.....	24
<b>3.MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
3.1. Materi Penelitian .....	26
3.1.1. Alat.....	26
3.1.2. Bahan .....	26
3.2. Metode Penelitian .....	26
3.3. Rancangan Penelitian.....	27
3.4. Prosedur.....	28
3.4.1. Penelitian Pendahuluan .....	28
3.4.1.1.Pembuatan Jus <i>Sargassum</i> sp.....	29
3.4.1.2.Pembuatan Larutan Standar Floroglusinol.....	30
3.4.1.3.Total Fenol Senyawa Florotanin Jus <i>Sargassum</i> sp .....	31
3.4.1.4.Fitokimia.....	31
3.4.2. Penelitian Utama.....	33
3.4.2.1.Prosedur Perlakuan Hewan Uji.....	33
3.4.2.2.Pembuatan Bubuk Dari Jus <i>Sargassum</i> sp .....	34
3.4.2.3.Prosedur Pelaksanaan Penelitian.....	34
<b>4.PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1.Penelitian Pendahuluan.....	37
4.1.1. Fitokimia <i>Sargassum</i> sp .....	37
4.2.Hasil Penelitian Utama .....	42
4.2.1. Pengamatan gejala toksik .....	42
4.2.2. Berat Badan.....	42
4.2.3. Dosis Kematian 50% (LD <sub>50</sub> ).....	44
4.2.4. Histopatologi Hati dan Ginjal .....	44
4.2.4.1.Histopatologi Hati .....	44
4.2.4.2.Histopatologi Ginjal .....	46
<b>5.PENUTUP .....</b>	<b>49</b>
5.1.Kesimpulan.....	49
5.2.Saran.....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>54</b>

DAFTAR GAMBAR

1. *Sargassum* sp..... 5

2. Flavonoid..... 7

3. Struktur Inti Tanin..... 7

4. Terpenoid..... 8

5. Alkoid..... 9

6. Struktur saponin ..... 10

7. Mencit (*Mus musculus*)..... 18

8. Pengaruh perbedaan pemberian jus *Sargassum* sp dengan dosis yang berbeda terhadap berat badan mencit..... 43

9. Fotomikrograf kerusakan sel hati mencit yang telah diberi jus *Sargassum* sp dosis 0 mg/kg BB (A), 626 mg/kg BB (B), 1250 mg/kg BB (C), 2500 mg/kg BB (D), 5000 mg/kg BB (E). (perbesaran 400 x) (pewarnaan HE) ( nekrosis 0, kariolisis 0, piknosis 0)..... 45

10. Pengaruh skor histopatologi hati mencit terhadap pemberian jus *Sargassum* sp dengan dosis yang berbeda..... 45

11. Otomikrograf kerusakan sel tubulus ginjal mencit yang telah diberi jus *Sargassum* sp dosis 0 mg/kg BB, 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg, 5000 mg/kg B. (perbesaran 4000 x) (pewarnaan HE) ( nekrosis 0, kariolisis 0, piknosis 0)..... 47

12. Pengaruh skor histopatologi tubulus ginjal terhadap pemberian jus *Sargassum* sp dengan dosis yang berbeda..... 47

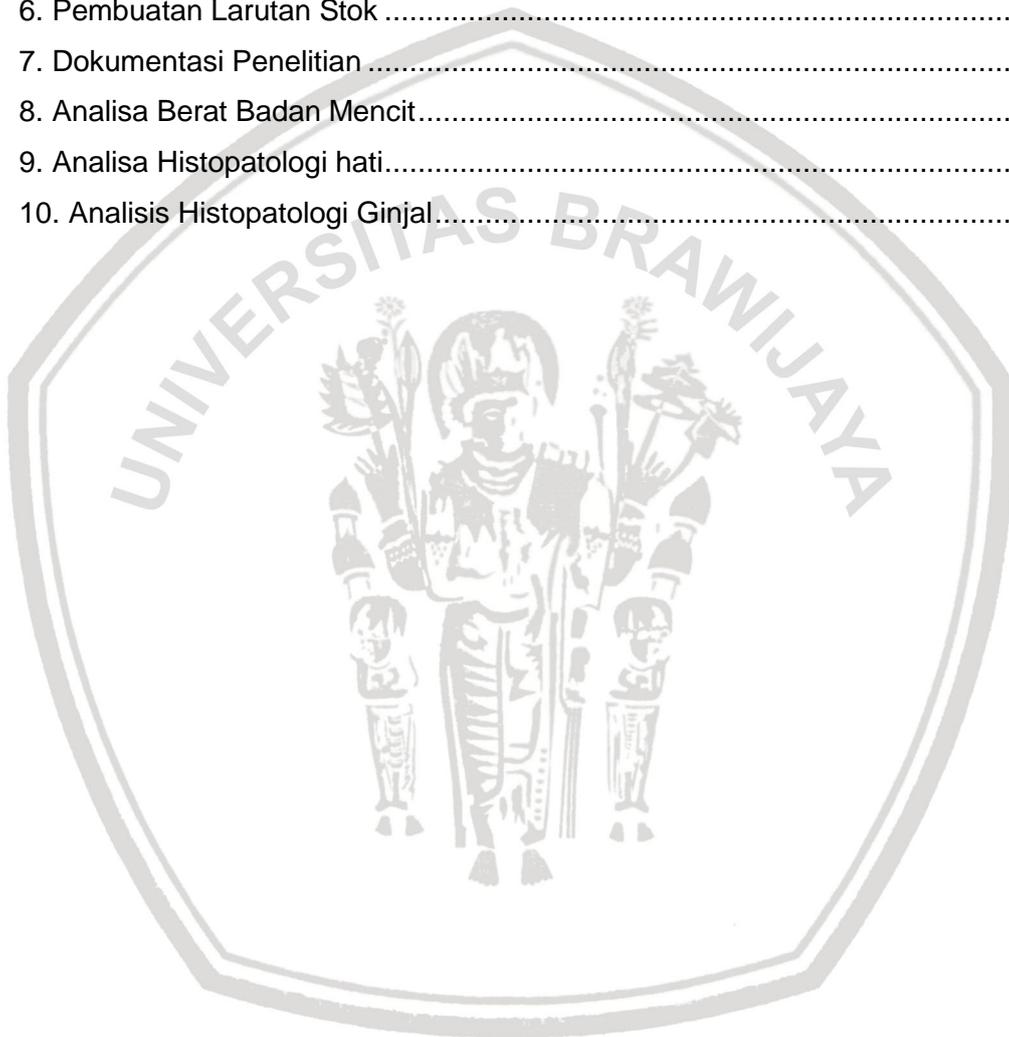
## DAFTAR TABEL

1. Desain Rancangan Penelitian.....	28
2. Hasil Uji Fitokimia .....	37



DAFTAR LAMPIRAN

1. Skema Penelitian.....	55
2. Penentuan Persamaan Floroglusinol .....	56
3. Penentuan Kadar Florotanin pada Jus <i>Sargassum</i> sp .....	57
4. Hasil Uji Fitokimia Segar dan Jus.....	58
5. Perhitungan Dosis <i>Sargassum</i> sp Terhadap Mencit .....	59
6. Pembuatan Larutan Stok .....	60
7. Dokumentasi Penelitian .....	62
8. Analisa Berat Badan Mencit.....	64
9. Analisa Histopatologi hati.....	70
10. Analisis Histopatologi Ginjal.....	79



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

*Sargassum* sp merupakan salah satu jenis rumput laut coklat yang masih banyak ditemukan di perairan Indonesia dan perairan tropis (Septiana dan Asnani, 2012). *Sargassum* sp atau biasa disebut dengan rumput laut coklat merupakan salah satu dari *genus Sargassum* yang termasuk kedalam kelas *phaeophyceae* (Kadi, 2008). Indonesia sendiri sudah memiliki 15 jenis *Sargassum* sp dimana 12 jenis diantaranya sudah dikenal (KKP 2012). Rumput laut jenis ini merupakan komoditas hasil laut yang penting serta tumbuh dan tersebar diseluruh perairan Indonesia. Rumput laut coklat jenis ini berpotensi memiliki nilai ekonomis yang tinggi di bidang pangan maupun non pangan (kosmetik, tekstil, dan farmasi). Rumput laut coklat ini juga berpotensi baik untuk mengembangkan dan memanfaatkan kekayaan laut di Indonesia mengingat masih luasnya perairan yang ada.

Alga coklat *Sargassum* sp menjadi sumber kandungan bioaktif, yang merupakan senyawa aktif yang dapat mencegah terjadinya serangan pathogen (Eismaputri, 2012). Senyawa bioaktif yang terdapat pada rumput laut coklat ini dapat dimanfaatkan sebagai antikanker, antioksidan, antihiperlipidemia, antikegemukan, antistres oksidatif, pencegahan komplikasi diabetes mellitus, anti sinar *ultra-violet*, *antitrombotik*, *antikoagulasi*, *antiproliferatif* (anti pembelahan sel secara tidak terkendali), *antivirus*, dan *antiinflamatori* (Suparmi dan Sahri, 2009). Pada penelitian Cahyaningrum *et al* (2016), ekstrak florotanin dengan menggunakan pelarut standart floriglusinol menunjukkan aktifitas dimana antioksidan sangat mendominasi untuk menangkal radikal bebas maupun aktivitas pengikat ion logam.

Senyawa bioaktif dapat diperoleh dari hasil ekstraksi pelarut, ekstrak rumput laut sendiri memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti polifenol dan tannin (Katarzina *et al.*, 2012). Senyawa bioaktif rumput laut dapat dimanfaatkan dalam produksi makanan, kosmetik, antioksidan, dan pada bidang farmasi, dan antibakteri. Prinsip dari ekstraksi sendiri adalah memisahkan komponen pada bahan dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi rumput laut dapat berupa etanol, etil asetat, n-heksan, dan air. Dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus memperhatikan sifat senyawa yang diisolasi, dan akan lebih baik jika menggunakan pelarut yang sama polaritasnya (Aisyah dan Ari, 2013).

Pengolahan rumput laut di Indonesia sejauh ini masih belum berkembang baik. kebanyakan industri rumput laut di Indonesia adalah ekspor bahan baku rumput laut saja. Maka dari itu di butuhkan metode pengolahan yang mudah dan tanpa mengurangi banyak manfaat dari rumput laut itu sendiri. *Juicing* merupakan suatu metode pengolahan yang dinilai dapat menghasilkan kadar gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode *blending* (Cempaka *et al.*, 2014). Ada dua metode pembuatan jus yaitu *juicer* dan *blending*. *Juicing* adalah metode dalam pembuatan jus dengan menggunakan alat yang disebut dengan *juicer*. *Blending* adalah metode yang menggunakan alat yang biasa disebut dengan blender (Nurchasanah, 2012). Metode *juicing* dapat memisahkan sari dengan ampasnya sehingga serat kasar yang dihasilkan lebih sedikit tetapi mempunyai nilai gizi yang lebih besar karena tidak ada penambahan air pada proses pembuatan (Suryani *et al.*, 2016). Berbeda dengan *squash* yang dalam hasil akhirnya mengandung ampas dan cairan sari dari buah itu sendiri, namun *juice* hanya menyisahkan cairan dari sari buah itu sendiri tanpa ada ampas tercampur. *Squash* merupakan hasil dari *blending* yang dalam metode pembuatannya biasanya masih dilakukan penambahan air.

Pada saat ini pengembangan bahan dari alam untuk dijadikan agen atau bahan yang dapat memberikan suatu manfaat bagi kesehatan manusia harus memerlukan studi yang mencakup aktivitas, kestabilan dan keamanan (Hayes *et al.*, 2008). Adapun golongan senyawa bioaktif yang dihubungkan dengan adanya aktivitas sitotoksik antara lain adalah flavonoid, steroid, dan alkaloid (Citra *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh Faskalia dan Wibowo (2014), bahan aktif yang menjadi perhatian adalah senyawa terpenoid, karena banyak senyawa terpenoid yang telah terindikasi sebagai senyawa toksik.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Firdaus (2012), ekstrak metanol *Sargassum* sp mengandung senyawa tannin, polifenol, saponin, glikosida, dan steroid yang termasuk dalam kategori toksik yang moderat, dan aman dikonsumsi pada dosis <1250 mg/kg BB. Dan juga pada penelitian Pangestuti *et al* (2017), kandungan fitokimia yang mendominasi *Sargassum* sp adalah saponin sebesar 3,5%, tanin 0,25%, flavonoid 0,17%, dan fenol 0,09%. Telah dijelaskan pada penelitian Mehdinezhat, *et al* (2010), Bahwa genus *Sargassum* didistribusikan secara luas di samudra tropis dan tropis di dunia. Ada banyak laporan tentang metabolit sekunder dan aktivitas biologis mereka. Mereka biasanya mengandung terpenoid yang menunjukkan aktivitas biologis seperti toksisitas sel, aktivitas antioksidan, efek vasodilatasi, induksi pelepasan larva hydrozoan dan penghambatan asetilkolin-esterase . Uji toksisitas akut serbuk dari jus *Sargassum* sp sampai saat ini belum pernah dilakukan. Maka dari itu penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui uji toksisitas serbuk dari jus *Sargassum* sp dengan pelarut air terhadap hewan uji mencit.

## 1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah serbuk yang dibuat dari jus *Sargassum* sp memiliki efek toksik terhadap hewan uji mencit?

## 1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah serbuk yang dibuat dari jus *Sargassum* sp memiliki efek toksisitas terhadap mencit.

## 1.4. Hipotesis

-H<sub>0</sub> = serbuk jus *Sargassum* sp tidak memiliki efek toksik terhadap hewan uji mencit.

-H<sub>1</sub> = serbuk jus *Sargassum* sp memiliki efek toksik terhadap hewan uji mencit

## 1.5. Waktu dan Tempat

Penelitian pendahuluan dilaksanakan pada bulan Januari – Februari 2017 di Laboratorium Perkayasaan Hasil Perikanan dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Penelitian utama dilaksanakan pada bulan Februari – Juli 2017 di Laboratorium Hewan Coba dan Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang; Laboratorium Patologi Anatomi Kesima Medika Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Sargassum* sp

#### 2.1.1. Klasifikasi

Klasifikasi rumput laut cokelat (*Sargassum* sp) menurut Blankenhorn (2007) adalah :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Thallophyta  
Kelas : Phaeophyceae  
Ordo : Fucales  
Family : Sargassaceae  
Genus : *Sargassum*  
Spesies : *Sargassum* sp



Gambar 1. Rumput Laut Cokelat ( *Sargassum* sp )

#### 2.1.2. Morfologi

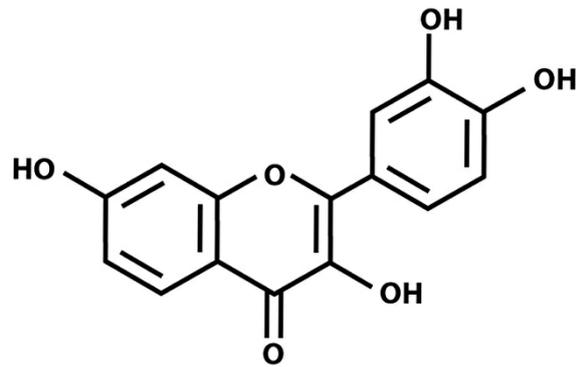
*Sargassum* sp adalah rumput laut cokelat tergolong pada divisi phaeophyta (ganggang cokelat). Rumput laut jenis ini dapat tumbuh hingga panjang mencapai 12 meter. Memiliki tubuh coklat hijau kekuningan, memiliki struktur tubuh yang terbagi atas holdfast yang berfungsi sebagai struktur basal, sebuah stipe atau batang semu, dan sebuah frond berbentuk menyerupai daun. Warna yang dimiliki rumput laut jenis ini berasal dari pigmen fucoxanthin, klorofil a dan c, beta-karoten, dan xantofil lainnya. Dinding selnya tersusun atas selulosa dan asam alginat (Guiry, 2007).

### 2.1.3. Kandungan bioaktif

Banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung menjadikan alga digunakan sebagai bahan obat-obatan. Laga hijau, alga merah, maupun alga coklat berpotensi mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Kemampuan alga untuk memproduksi metabolit sekunder terhalogenasi yang bersifat sebagai senyawa bioaktif dapat disebabkan karena perubahan kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrem seperti salinitas yang tinggi atau akan digunakan untuk melindungi diri dari serangan predator namun pemanfaatan senyawa bioaktif dari alga masih belum banyak dimanfaatkan (Bachtiar dan Eri, 2007). Adapun senyawa bioaktif yang banyak terkandung dalam alga coklat adalah sebagai berikut.

#### 2.1.3.1. Flavonoid

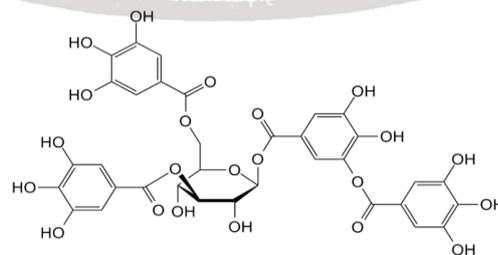
Flavonoid adalah kelompok senyawa yang memiliki struktur dasar flavon dan flavan. Flavonoid memiliki rumus kimia  $C_{15}H_{10}O_2$  dengan berat molekul 222,24 g/mol (Metacyc, 2011). Flavonoid dapat memberikan keindahan dan kesemarakan pada bunga dan buah-buahan. Flavin memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warna merah, ungu atau biru, yaitu semua warna yang terdapat pada pelangi kecuali hijau. Secara biologis flavonoid memberikan peranan yang penting dalam penyerbukan pada tanaman dan serangga. Flavonoid adalah senyawa yang mengandung  $C_{15}$  terdiri atas 2 inti fenolat yang dihubungkan dengan 3 satuan karbon. Cincin A memiliki karakteristik bentuk hidroksilasi phloglusinol atau resolsinol, dan cincin B biasanya 4, 3, 4 atau 3, 4, 5-terhidroksilasi (Sastrohamidjojo, 2007). Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen ( $C_6$ ) terikat pada rantai propana ( $C_3$ ) dan membentuk susunan  $C_6$ - $C_3$ - $C_6$  (Lanny, 2006). Struktur flavonoid dapat dilihat pada gambar.



Gambar 2. Flavonoid (Google image, 2014)

### 2.1.3.2 Tanin

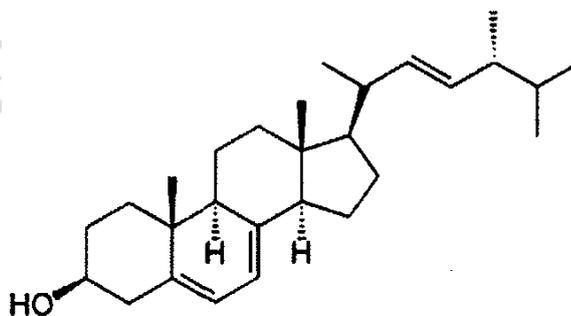
Tanin adalah senyawa fenol polihidrid kompleks, bersifat larut dalam air (Lemmes dan Wulijarni, 1992). Tanin merupakan senyawa yang dapat dijumpai di hampir semua tumbuhan hijau baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tumbuhan tingkat rendah dengan kadar dan kualitas yang berbeda-beda pula. Sifat dari senyawa tanin adalah ia dapat larut dalam air maupun alkohol, itu dikarenakan tanin mengandung senyawa fenol yang memiliki gugus OH, dapat mengikat logam berat, serta adanya zat yang bersifat antirayap dan anti jamur. Dalam jurnal Ismarani, (2012), dijelaskan bahwa senyawa tanin apabila dikonsumsi dalam jumlah yang berlebih dapat menghambat penyerapan mineral misalnya besi. Hal ini disebabkan oleh sifat tannin yang chelators ion logam. Tanin digunakan untuk mengendapkan protein, yang menghambat penyerapan gizi. Tanaman sumber tanin hanya mengurangi bioavailabilitas zat besi, yang dikenal sebagai non-heme.



Gambar 3. Struktur Inti Tanin (Robinson, 1995 dalam Sa'adah 2010)

### 2.1.3.3. Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa yang tersusun oleh dua unit atom  $C_5$  yang terbentuk secara teratur dari “kepala-ekor”. Terpenoid dikelompokkan berdasarkan perbedaan jumlah atom C yang sebagian besar kelipatan lima (Achmad, 1986). Klasifikasi terpenoid ditentukan berdasarkan unit isorpen penyusun senyawa tersebut. Senyawa terpenoid dapat ditemukan di hampir seluruh jenis tumbuhan dan penyebarannya juga hampir di semua jaringan tumbuhan mulai dari akar, batang, kulit bunga, buah, dan yang paling mendominasi terdapat pada daun (Lenny, 2012).

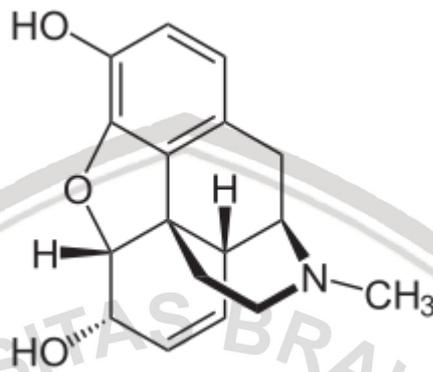


Gambar 4. Terpenoid (Google image, 2016)

### 2.1.3.5. Alkaloid

Alkaloid yang ditemukan pada tanaman ditentukan dalam bentuk garam yang larut terhadap air seperti sitrat, malat, mekonat, tartrat, isobutirat, benzoat, atau kadang kombinasi dari tanin. (Dewa Ayu, 2006). Alkaloid adalah salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung, dan lain sebagainya (Simbala, 2009). Kebanyakan dari alkaloid memiliki kerangka dasar polisiklik yang termasuk cincin heterosiklik nitrogen. Atom nitrogen alkaloid

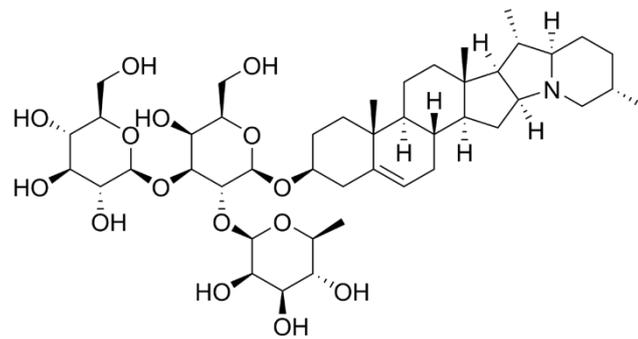
hampir selalu ada dalam bentuk gugus amin ( $-NR_2$ ) atau gugus amida ( $-CO-NR_2$ ). Sedangkan substituen oksigen biasa ditemukan sebagai gugus fenol. ( $-OH$ ), metoksil ( $-COH_3$ ) atau gugus metilendioksi ( $-O-CH_2-O$ ). Substituen-substituen oksigen dan gugus N-metil adalah ciri dari sebagian besar alkaloid.



Gambar 5. Alkaloid (Google Image, 2016)

#### 2.1.3.6. Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang padat di jumpai pada tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik yang dapat membentuk buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan menghasilkan buih yang awet (Francis *et al.*, 2002). Saponin adalah senyawa yang dapat larut dalam air dan tidak dapat larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan dapat menyebabkan bersin serta iritasi terhadap selaput lendir. Saponin masuk dalam kategori racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisi pada darah. Saponin bersifat racun terhadap hewan berdarah dingin dan biasanya digunakan sebagai racun ikan (Nahrowi, 2008).



Gambar 6. Struktur saponin (Google Image, 2016)

#### 2.1.4. Cara Memperoleh Senyawa Bioaktif

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga dapat terpisah dari senyawa yang tidak larut dengan menyari. Prinsip dari ekstraksi sendiri yaitu melarutkan senyawa polar dengan pelarut polar dan senyawa non-polar dengan pelarut non-polar. Ada beberapa metode ekstraksi senyawa yang umum digunakan menurut Darwis (2000), yaitu :

1. Maserasi

Maserasi adalah proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada suhu ruangan. Pemilihan pelarut pada proses maserasi ini dapat memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam tersebut.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses dengan melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama dengan pelarut. Efektifitas dari proses ini akan lebih besar terhadap senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan.

3. Sokletasi

Dalam penggunaan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena telah terjadinya sirkulasi yang selalu membasahi sampel. Proses

ini akan lebih efektif jika digunakan kepada senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas.

#### 4. Destilasi uap

Metode ini banyak digunakan untuk mengekstrak senyawa organik yang tahan terhadap suhu yang cukup tinggi, yang tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan untuk minyak atsiri.

#### 5. Pengepresan

Metode pemisahan dengan menggunakan tekanan untuk mendesak suatu bahan yang akan diekstrak dengan alat pengepresan. Metode ini banyak digunakan dalam proses industri seperti pada isolasi senyawa dari buah kelapa sawit dan isolasi katekin dari daun gambir. Pada proses ini tidak menggunakan pelarut.

### 2.1.5. Manfaat *Sargassum sp*

#### 2.1.5.1. Manfaat *Sargassum sp* di bidang kesehatan

##### a. Antioksidan

Pada rumput laut cokelat terkandung pigmen karoten yang memiliki sifat antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dari hasil proses metabolisme dalam tubuh. Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah ataupun memperlambat oksidasi oleh radikal bebas. Mekanisme antioksidan sendiri dalam mencegah suatu radikal bebas yaitu dengan menetralkan dan menghancurkan radikal bebas, radikal bebas ini berperan dalam merusak biomolekul seperti DNA, protein, lipoprotein didalam tubuh dan yang akhirnya dapat memicu penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Wikanta, *et al.*, 2010).

b. Antianalgesik dan Antiinflamasi

Adapun rumput laut cokelat mengandung Alkoloid. Alkoloid mampu mengurangi rasa nyeri (analgesik) dan dapat digunakan sebagai obat penenang. Pada kandungan alkoloid dapat menyebabkan antinociception dan terjadi keterlibatan antara jalur oksida L-arginin-nitrat. Ekstrak analgesik sebagian besar dari nalokson dan percursor oksida nitrat L-ARG. Fakta menunjukkan bahwa alkoloid diberikan oleh rute yang berbeda, pemeran *antinociception* yang signifikan saat dinilai pada yang neurogenik dan capcaisin induced respon algesik yang tampak relevan. Telah dibuktikan bahwa alkoloid mempunyai sifat antiprostaglandin dan antiinflamasi. Fraksi alkoloid bekerja dengan cara menghambat pembentukan prostaglandin<sub>1</sub> (Pamungkas *et al.*, 2013). Inflamasi adalah respon protektif normal akibat luka jaringan yang biasanya menyebabkan trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Sedang antiinflamasi merupakan obat yang dapat meringankan ataupun menghilangkan peradangan (Riansyah *et al.*, 2015). Sedangkan analgesik adalah obat yang dapat selektif mengurangi dan menghilangkan rasa sakit yang bertindak dalam sistem saraf pusat (Chandra *et al.*, 2016)

Terdapat ikatan antara dosis alkoloid yang menghambat prostaglandin. Penambahan prostaglandin adalah mekanisme utama yang terjadi saat proses *nonsteroid antiinflammatory drugs* (NSAIDs) atau obat non steroid anti peradangan di dalam tubuh. NSAIDs dapat menghasilkan analgesia dan mengurangi inflamasi. Pada saat inilah NSAIDs dapat mengurangi sensitivitas *neuron afferent* oleh prostaglandin sebagai tindakan analgesik bradikinin dan mediator rangsangan nyeri lainnya (Pamungkas *et al.*, 2013).

Kandungan lain yang terdapat pada rumput laut adalah asam eikosapentanoat dan asam arakidonat. Asam eikosapentanoat dan asam

arakidonat mempunyai peran dalam mencegah inflamatori (peradangan) dan penyempitan pembuluh darah. Telah dibuktikan dalam penelitian bahwa ekstrak lipid yang dimiliki oleh beberapa rumput laut memiliki aktivitas antioksidan dan efek sinergisme terhadap tokofenol (senyawa antioksidan yang banyak digunakan) (Suparmi *et al.*, 2009).

c. Mengontrol diabetes

Senyawa polisakarida pada rumput laut berperan dalam penurunan lipid yang berada didalam darah dan tingkat kolesterol, juga memperlancar pada sistem pencernaan makanan. Serat akan komponen polisakarida dapat juga mengontrol asupan gula dalam tubuh, maka dari itu mampu mengontrol dan mengendalikan penyakit diabetes. Beberapa polisakarida rumput laut seperti fukoidan juga menunjukkan beberapa aktivitas biologis lain yang dirasa juga sangat penting dalam dunia kesehatan. Beberapa aktivitas biologis tersebut adalah seperti antitrombotik, antikoagulasi, antikoagulan, antikanker, antiproliferatif (anti pembelahan sel secara tak terkendali), antivirus dan antiinflamasi (Suparmi *et al.*, 2009).

d. Anti penyakit gondok

Mineral yang terkandung dalam rumput laut dapat memberikan dampak yang baik bagi kesehatan. Seperti contoh iodin, yang secara tradisional telah digunakan sebagai obat penyakit gondok. Iodin berperan dalam pengendalian hormon tiroid, yaitu hormon yang berperan saat pembentukan gondok. Ini semua terbukti terhadap mereka yang sering atau membiasakan diri untuk mengkonsumsi rumput laut selalu terhindar dari penyakit gondok (Suparmi, *et al.*, 2009).

### 2.1.5.2. Manfaat *Sargassum* sp di Bidang Industri

Produk utama yang dihasilkan dari rumput laut adalah alga. Produk utama alga ini dihasilkan terutama dari kelas *Rhodyphycea*, seperti *Glacilaria*, *Sargassum* sp, dan *Gellidium*. agar mempunyai kemampuan dalam membentuk lapisan gel atau film, sehingga pemanfaatannya adalah sebagai pengemulsi (emulsifier), penstabil (stabilizer), pembentuk gel, pensuspensi, pelapis, dan inhibitor. Dalam bidang industri sendiri agar digunakan dalam industri makanan dan minuman, farmasi, kosmetik, pakan ternak, keramik, cat, tekstil, kertas, potografi. Contoh dalam industri makanan dan minuman antara lain industri es krim, keju, permen, jelly, dan susu cokelat, juga pengalengan ikan dan daging. Agar juga banyak digunakan dalam bioteknologi sebagai media pertumbuhan mikroba, jamur, yeast, dan mikroalga, juga rekomendasi DNA dan elektroforensis

### 2.1.5.3. Manfaat *Sargassum* sp Sebagai Bahan Alginat

ampai pada saat ini alginat telah banyak digunakan sebagai bahan pengental, psengatur keseimbangan, pengemulsi, dan pembentuk lapisan tipis yang tahan terhadap minyak. Adapun alginat diketahui memiliki afinitas yang tinggi terhadap logam berat dan unsur radioaktif, sehingga senyawa itu membantu dalam pembersihan polusi logam berat dan radioaktif dalam makanan yang kita konsumsi. Selain daripada itu, asam alginat juga mampu digunakan sebagai pengikat (binder) yang biasa digunakan dalam pembuatan pasta gigi. Sedangkan sodium alginat banyak digunakan dalam obat-obatan cair karena bisa meningkatkan viskositas dan pensuspensi bahan padat, sehingga digunakan sebagai koloid pelindung (Pamungkas *et al.*,2013).

Alginat adalah polimer murni dari asam aurorat yang tersusun di dalam rantai linier yang panjang, terdapat dua penyusun dasar monomer alginat yaitu  $\beta$ -D -Asam Manunorat dan  $\alpha$ -L-Asam Guluronat. Alginat yang biasa digunakan

dalam industri pangan dan farmasi adalah alginat yang sudah terbebas dari selulosa dan memiliki warna putih terang (Anwar *et al.*, 2013). alginat merupakan salah satu polisakarida yang terdapat dalam dinding sel Phaeophyceae dengan kadar mencapai 40% dari total kering, selain itu alginat juga memegang peran penting dalam mempertahankan struktur jaringan sel alga (Pamungkas *et al.*, 2013).

#### **2.1.5.4. Pemanfaatan *Sargassum* sp Sebagai Bahan Biodiesel**

Pemanfaatan bahan biodiesel sampai saat ini masih banyak berasal dari tanaman darat sebagai bahan energi terbaru. Bahan biodiesel yang berasal dari rumput laut mulai diterapkan, karena penggunaan rumput laut sebagai bahan alternatif terbaru tidak akan mengganggu pemanfaatan lahan daratan. Kegunaan dan manfaat rumput laut sangatlah luas dan dekat sekali dengan kehidupan manusia. Sampai sekarang penggunaan sumber energi masih didominasi oleh sumber yang dirasa lawas (tidak terbaru) seperti minyak, batu bara, dan gas yaitu sekitar 80,1%, dimana masing-masing adalah sebesar minyak 35,05%, batu bara 24,59%, dan gas 20,44%. Dan juga adapun sumber energi terbaru akan tetapi menimbulkan resiko adalah nuklir yaitu sebesar 6,3%. Sumber energi terbaru yang digunakan masih sekitar 13,6%, termasuk biomassa tradisional sebesar 8,5%. Dimaksud energi terbaru yang digunakan ini termasuk pada tenaga surya, angin, air, panas bumi, dan bio-energi. Adapun keuntungan dalam penggunaan bioenergi adalah terbaru dan berkelanjutan, bersih dan efisien, netral dari unsur karbon, dan bisa jadi berdampak negatif terhadap karbon, dapat menggantikan bahan bakar minyak untuk transportasi, mengurangi pemanasan global (global warming) dan pencemaran udara, pencemaran air, dan menjawab ketergantungan yang ditimbulkan oleh bahan sumber energi yang tidak terbarukan.

## 2.2. Juicing

*Juicing* merupakan suatu metode pengolahan yang dinilai dapat menghasilkan kadar gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode *blending*. Pada saat ini *juicing* lebih banyak digunakan untuk mengonsumsi buah segar karena mengonsumsi buah dalam bentuk yang utuh dengan jumlah yang memadai agak sulit dilakukan karena ukuran atau volumenya yang dirasa terlalu besar (Cempaka *et al.*, 2014). Ada dua metode pembuatan jus yaitu *juicing* dan *blending*. *Juicing* adalah metode dalam pembuatan jus dengan menggunakan alat yang disebut dengan *juicer*. Sedangkan *blending* adalah metode yang menggunakan alat yang biasa disebut dengan *blender* (Nurchasanah, 2012). Metode *juicing* dapat memisahkan sari dengan ampasnya sehingga serat kasar yang dihasilkan lebih sedikit tetapi mempunyai nilai gizi yang lebih besar karena tidak ada penambahan air pada proses pembuatan (Suryani *et al.*, 2016).

### 2.2.1. Nutrasetikal

Definisi dari nutrasetikal adalah suatu bahan yang dapat dipertimbangkan untuk dijadikan suatu makanan atau bagian dari makanan yang memiliki manfaat bagi kesehatan dan pengobatan (Firdaus *et al.*, 2015). Salah satu bahan yang berpotensi untuk menjadi bahan nutrasetikal adalah rumput laut. Rumput laut sendiri mengandung berbagai macam senyawa aktif dengan berbagai bioaktifnya yang dapat dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal.

Pada penelitian Nursid *et al.*, (2013), fukosantin dari alga cokelat mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi bahan nutrasetika, khususnya sebagai antioksidan dan agen kemoprevensif, dimana kemampuan rumput laut cokelat dalam merendam radikal bebas. Fukosianin yang digunakan dalam bidang kesehatan salah satunya adalah kemampuannya sebagai prekursor hemoglobin, meningkatkan kekebalan tubuh, antikanker, antioksidan,

anti radang, antiinflamatori, antiobesitas, dan neuroprotekti (Asfar, 2015). Untuk *sargassum* sp sendiri perlu dilakukan uji toksisitas sebelum dimanfaatkan sebagai bahan nutrseutikal, untuk dapat mengetahui kandungan toksisitas atau senyawa yang memberikan efek negatif bagi tubuh (Lestari, 2014).

### 2.2.2. *Slow Juicer*

*Slow juicer* dirancang dengan menggunakan *Low Speed Technology System* (LST), dimana metode ini kemungkinan sangat kecil untuk menghasilkan panas akibat dari gesekan antara bahan dan mesin. Teknologi ini diciptakan untuk memaksimalkan nutrisi dan rasa yang dihasilkan (Hurom, 2010). Cara kerja dari *slow juicer* sendiri adalah memisahkan ampas dan dan ekstrak buah ataupun sayuran (Lee *et al.*, 2013). Mengonsumsi bahan segar dalam jumlah yang banyak mungkin akan sulit dikarenakan jumlah volume yang relatif besar. Sehingga teknologi *slow juicer* ini menjadi cara yang tepat untuk dapat memenuhi gizi bentuk minuman. Dan *slow juicer* ini di klaim dapat memaksimalkan kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada buah dan sayuran tersebut (Cempaka *et al.*, 2014).

### 2.2.3. Pengerinan *Freeze Drying*

Pada penelitian ini jus *Sargassum* sp akan dilakukan pengeringan dengan menggunakan suhu rendah yang biasa disebut dengan pengeringan *freeze drying* untuk dapat dilakukan perhitingan dosis pada saat akan diberikan pada hewan uji mencit. Pengeringan dengan menggunakan alat *freeze dryer* merupakan metode pengeringan yang memiliki kelebihan dalam memperhankan mutu hasil pengeringan, khususnya bagi beberapa produk yang sensitif terhadap suhu tinggi (Yana dan kusnadi, 2015). Prinsip dari pengeringan beku ini adalah menghilangkan kandungan air pada suatu bahan tanpa melalui fase cair

terlebih dahulu. Nama alat yang digunakan pada pengeringan beku ini adalah *freeze dryer* (Djaeni, 2012)

### 2.3. *Mus musculus*

#### 2.3.1. Klasifikasi

Mencit (*Mus musculus*) adalah mamalia yang tergolong dalam ordo rodentia dan family muridae. Bentuk tubuh mencit adalah panjang dan ramping, ekor meruncing dan sedikit terdapat bulu dan sisik. Berat tubuh mencit jantan dewasa adalah 25-40 gram, dan mencit betina 20-40 gram (Maharani, 2012).

Menurut Akbar (2010), perkembang biakan mencit sangat cepat, dapat dipelihara dalam jumlah yang banyak, mempunyai variasi genetik yang cukup besar serta sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakteristik dengan baik. Mencit yang biasa digunakan dalam penelitian laboratorium adalah hasil dari perkawinan tikus putih "*inbreed*" maupun "*outbreed*". Dari hasil perkawinan sampai pada generasi ke 20 akan dihasilkan strain-strain murni dari mencit. Berikut adalah klasifikasi mencit menurut Akbar (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus L.</i>



Gambar 7. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian laboratorium, terutama percobaan tentang uji toksisitas. Hewan lain yang sering digunakan dalam percobaan laboratorium adalah tikus. Kedua hewan tersebut sering digunakan karena memiliki nilai ekonomis, mudah didapat, dan mudah dipelihara. Akan tetapi faktor utama ekonomis yang tinggilah mengapa mencit lebih banyak dipilih dalam penggunaan hewan coba (Maharani, 2012).

### 2.3.2. Fisiologi

Berikut adalah data fisiologi mencit (*Mus musculus*) :

Berat badan	: 20-40 gram
Lama hidup	: 1-3 tahun
Temperature tubuh	: 36,5°C
Kebutuhan air	: <i>Ad libtum</i>
Kebutuhan makan	: 4-5 g/hari
Pubertas	: 28-49 hari
Glukosa	: 62,8-176 mg/dL
Kolesterol	: 26,0-82,4 mg/dL
SGOT	: 23,2-48,4 IU/l
SGPT	: 2,10-23,8 IU/l

Mencit termasuk hewan yang jinak, lemah dan mudah ditangani, mencit merupakan hewan nocturnal yang aktif pada malam hari. Umumnya mencit akan mencari tempat yang gelap seperti pada belakang perabotan rumah tangga, karena yang sifat nya cenderung takut terhadap cahaya dan menghindarinya. Mencit juga masih memiliki sifat kanibal, terlebih jika makanannya kurang dan dirasa sangat kelaparan (Yuwono *et al.*, 2009).

Mencit dipilih menjadi subjek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Meskipun mencit memiliki struktur fisik dan anatomi yang sangat berbeda dengan manusia, namun mencit merupakan hewan mamalia yang memiliki beberapa ciri fisiologis dan biokimia yang hampir menyerupai manusia (Syahrini, 2006).

### **2.3.3. Pemilihan dan Persyaratan Hewan Uji**

Tujuan dilakukannya uji toksikologi adalah untuk keselamatan dan keamanan manusia, maka dari itu hewan uji yang digunakan adalah hewan yang memiliki sifat-sifat respon biologik dan adaptasi yang hampir mirip dengan manusia. Hewan uji yang sering digunakan dalam uji toksikologi adalah mencit dan tikus, akan tetapi ada kalanya peneliti menggunakan kelinci dan juga anjing sebagai hewan uji. Mencit banyak digunakan karena harganya yang murah dan mudah didapatkan, perkembangbiakan yang cepat, ukuran yang kecil sehingga mudah dalam pemeliharaan dan tidak memerlukan biaya yang besar.

Efek yang disebabkan oleh suatu senyawa sering bervariasi karena jenis yang berbeda dari hewan yang sama. Maka dari itu hewan uji yang hendak digunakan dipilih berdasarkan umur, jenis kelamin, berat badan, kondisi kesehatan, dan keturunannya. Mencit yang baik untuk hewan uji sebaiknya pada kisaran umur 2-3 bulan. Kondisi hewan uji ini juga harus dalam kondisi dan tingkat kesehatan yang baik, dalam hal ini hewan uji dapat dikatakan sehat apabila dalam periode pengamatan bobot tubuh bertambah, tetap atau berkurang tidak lebih dari 10%, dan juga tidak ada kelainan dalam tingkah laku. Hewan uji dilakukan aklimatisasi selama kurang lebih 7 hari sebelum dilakukan uji.

## **2.4. Uji Toksisitas**

### **2.4.1. Tinjauan Umum Uji Toksisitas**

Toksisitas merupakan tingkatan zat (toksin atau racun) yang dapat membahayakan manusia ataupun hewan (Fauzi, 2008). Para ahli telah menetapkan dasar dari penilaian toksikologi adalah dosis yang merupakan suatu zat kimia dapat dikatakan sebagai racun. Akan tetapi sampai pada saat ini telah dikenal banyak faktor yang dapat digunakan dalam menentukan apakah suatu

zat kimia bersifat racun, namun tetap menggunakan dosis sebagai faktor yang terpenting. Untuk setiap zat kimia termasuk air, dapat ditentukan dosis kecil yang tidak memiliki efek sama sekali, atau suatu dosis sangat besar yang dapat menimbulkan keracunan atau kematian (Ganiswarna *et al.*, 2007).

Uji toksisitas merupakan uji yang dilakukan untuk mendeteksi suatu senyawa pada sistem biologi dan untuk mendapatkan data dosis-respon dari sediaan uji. Data yang didapatkan digunakan untuk memberikan informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut jika terjadi pemaparan pada manusia sehingga dapat ditentukan dosis penggunaan dan keamanannya (OECD, 2001). Uji toksisitas akut sangat diperlukan dan harus dilakukan sekurang-kurangnya terhadap spesies hewan coba, hewan coba yang biasa digunakan adalah hewan pengerat seperti mencit dan tikus (Amiria, 2008). Uji toksisitas di bagi menjadi dua yaitu uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus. Uji toksisitas umum meliputi toksisitas akut, toksisitas subakut/subkronis, dan toksisitas kronis. Sedangkan uji toksisitas khusus meliputi teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik (Depkes RI, 2000).

#### **2.4.2. Toksisitas Akut**

Toksisitas akut memiliki definisi sebagai efek bahaya yang terjadi dalam waktu yang singkat setelah pemberian oral dosis tunggal suatu senyawa atau dalam waktu 24 jam sampai beberapa hari tergantung gejala yang timbul. Gejala yang dapat ditimbulkan oleh toksisitas akut ini dapat berupa sindrom penyakit, sehingga kemungkinan pada saat terjadi keracunan akan menimbulkan gejala sakit yang mendadak seperti muntah, diare, konvulsif, koma yang sebegitu singkatnya. Uji toksisitas yang dilakukan terhadap hewan coba diperlukan untuk mengetahui efek toksik yang muncul dalam waktu yang singkat setelah pemberian suatu zat dengan dosis tunggal atau dosis yang berulang yang

diberikan dalam waktu yang tidak lebih dari 24 jam. Uji tunggal yang dilakukan terhadap segala zat kimia yang memiliki kaitan terhadap kepentingan biologi merupakan uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut melingkupi pemberian suatu senyawa terhadap hewan uji pada suatu saat. Uji ini dirancang sebagai cara untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu yang singkat setelah pemejanaan atau pemberian dengan takaran tertentu (Firdaus, 2012).

Toksisitas akut dilakukan untuk menentukan LD<sub>50</sub> senyawa-senyawa kimia yang diteliti, akan tetapi LD<sub>50</sub> merupakan salah satu dari beberapa pentunjuk dalam menentukan batasan dari toksisitas akut itu sendiri. Banyak faktor lain yang perlu untuk dilakukan evaluasi selain pada penentuan LD<sub>50</sub> yaitu antara lain adalah kelainan tingkah laku, stimulasi atau depresi, aktivasi motorik dan pernapasan untuk mendapatkan gambaran sebab akibat dari kematian. Pada pengamatan LD<sub>50</sub> biasanya ditentukan dengan pengamatan 7 hari untuk mengetahui dosis tunggal. Beberapa senyawa bersifat toksik dan menimbulkan kematian dengan takaran mikrogram, dan juga ada yang relatif tidak berbahaya meskipun dengan takaran yang lebih dari beberapa gram.

Klasifikasi katergori toksisitas akut telah dipaparkan oleh Hodge dan Starter dalam buku klase CD (1986), adalah sebagai berikut :

- a. Relatif tidak membahayakan  $\geq 15$  g/kg BB
- b. Praktis tidak toksik 5-15 g/kg BB
- c. Toksik ringan 0,5-5 g/kg BB
- d. Toksisitas sedang 50-500 mg/kg BB
- e. Toksik 1-50 mg/kg BB
- f. Sangat toksik  $\leq 1$  mg/kg BB

#### 2.4.3. Penentuan LD<sub>50</sub>

LD<sub>50</sub> dapat ditentukan dengan beberapa cara diantaranya adalah sebagai berikut :

### 1. Metode Reed dan Muench

Pada metode ini penentuan LD<sub>50</sub> dengan cara menggunakan nilai kumulatif. Dapat di asumsikan bahwa hewan yang mati pada dosis tertentu akan mati pada dosis yang lebih besar, dan hewan yang tetap hidup pada dosis tertentu akan hidup pada dosis yang lebih kecil. Jumlah kumulatif hewan yang telah mati dicatat dengan menambahkan berturut-turut isi kolom hewan yang mati. Peresentase yang telah mati untuk dua dosis yang berurutan dan dihitung dan kemudian diperbandingkan jarak antara 50% dihitung dan dikalikan dengan logaritma LD<sub>50</sub>. (Tunner, 1965)

### 2. Metode Grafik

Pada metode ini penentuan LD<sub>50</sub> dengan menggunakan grafik hubungan antara presentasi hewan uji yang mengalami kematian dan dosis yang dosis yang telah diberikan. Dengan cara ini akan didapatkan hasil berupa kurva yang berbentuk S. Dan nilai LD<sub>50</sub> akan diperoleh dengan cara menarik garis lurus yang memotong kurva pada ordinat 50% (Tunner, 1965).

### 3. Perhitungan secara Matematika

Metode ini dengan cara perhitungan menggunakan rumus :

$$m = a - b(pi - 0,5)$$

Dimana (*m*) merupakan logaritma LD<sub>50</sub>, (*a*) adalah logaritma dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok, (*b*) adalah beda logaritma dosis yang berurutan, (*pi*) adalah jumlah hewan yang mati menerima dosis, kemudian dapat dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis (Loomis, 1978).

#### 2.4.4. Mekanisme Terjadinya Toksisitas

Semua jenis keracunan mempunyai dasar suatu reaksi antara zat beracun dengan struktur molekul tertentu yang terdapat dalam organ tubuh.

Pada kasus ini kerusakan primer yang berada pada taraf molekul disebut dengan lesi primer. Struktur molekul sebagai reseptor yang dikenal oleh zat akan dirubah oleh zat beracun, dapat digambarkan seperti pengikatan diri zat pada reseptornya. Pada perubahan reseptor inilah yang merupakan stimulus untuk terjadinya suatu efek yang dapat bersifat positif dan negatif (Koeman, 1987).

Pada mekanisme keracunan efek yang ditimbulkan pada taraf subselluler maupun selluler. Jika dosis yang diserap relatif kecil, maka kerusakan yang ditimbulkan hanya sebatas pada beberapa sel saja dan masih cukup banyak sel yang sehat untuk dapat menjalankan fungsi dari organ tersebut. Akan tetapi jika relatif banyak organ yang rusak maka organ tersebut tidak bisa memenuhi fungsi normal dari organ tersebut. Biasanya kerja toksik atau keracunan akan menampakkan diri sebagai proses penyakit integral pada suatu individu, dan akan berpindah secara berurutan mulai dari taraf molekuler ke taraf yang lebih tinggi integrasi dengan urutan sel – jaringan – organ – individu (Fretes, 2013).

#### **2.4.5. Metode Pengujian Toksisitas**

Metode pengujian toksikologi dapat dibedakan menjadi 2 golongan, yaitu golongan pertama dan golongan kedua. Pada golongan pertama uji toksikologi diidentifikasi sebagai uji toksikologi akut, uji toksikologi subkronis, dan uji toksikologi kronis. Uji toksikologi akut terdiri atas pemberian suatu senyawa pada hewan uji dalam suatu saat dengan maksud menentukan gejala kematin sebagai akibat dari pemberian senyawa tersebut. Uji toksikologi sub kronis merupakan suatu uji toksikologi yang dilakukan untuk menggolongkan segala efek senyawa apabila efek senyawa itu diberikan kepada hewan uji secara berulang ulang. Uji toksikologi kronis merupakan salah satu uji toksikologi yang membutuhkan waktu yang cukup panjang dari pada uji toksikologi

subkronis. Berikutnya adalah uji toksikologi golongan kedua, uji ini dilakukan untuk mendapatkan informasi yang lebih rinci dan lebih spesifik terhadap bahan toksik. Adapun macam dari golongan ini adalah uji potensi, uji teratogenik, uji reproduksi, uji mutagenik, uji kemampuan tumorigenisitas dan karsinogenisitas, uji kulit dan mata, uji perilaku.



### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Materi Penelitian

##### 3.1.1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang beserta tutup yang terbuat dari kawat, botol air minum, rak tempat kandang, gelas ukur, *beaker glass* 100 mL, 500 mL, dan 1000 mL, erlenmeyer 250 mL, kain blacu, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, bola hisap, spatula, timbangan digital, timbangan analitik, *slow juicer*, inkubator, *centrifuges*, *cuvet*, *cool box*, *freezer*, spektrofotometer UV-Vis Spectroquant phare 300 M, *microplate reader* dengan panjang gelombang  $450 \pm 10$  nm, pipet presisi dan tip pipet sekali pakai, tube, *freeze dryer*, kertas saring, dan sonde mencit.

##### 3.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut rumput laut coklat (*Sargassum* sp) dari kepulauan Talango, Sumenep, Madura, mencit (*Mus musculus*) umur 2-3 bulan, reagen *Follin-Ciocalteu* 50%, akuades, etanol 85%, floroglusinol,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%,  $\text{FeCl}_3$  1%, HCl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Mg, KI, kloroform, sekam, pakan broiler 1, asam sitrat, Na-sitrat, buffer sitrat pH 4,5, *phospat buffer sitrat* (PBS) Ph 7,4, *tetramethylbenzidine* (TMB), *stop solution* (HCl 2N), NaFis 0,9%, dan air.

#### 3.2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan metode deskriptif. Metode eksperimental dilakukan berdasarkan variabel yang data-datanya belum ada, maka diperlukan manipulasi dengan pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diukur dan diamati

dampaknya. Penelitian ekperimental ini dilakukan secara sengaja, dilakukan dengan pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian untuk membangkitkan keadaan yang diteliti dan mengamati akibatnya (Jaedun, 2011). Metode dekriptif menurut Danim dan Darwis (2002), bertujuan untuk mendeskriptifkan secara sistematis dan akurat terhadap suatu situasi atau area populasi tertentu yang bersifat faktual. Metode deskriptif juga dapat ditujukan untuk memotret fenomena individual, situasi, maupun kelompok tertentu.

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak *Sargassum* sp dengan metode jus kepada mencit (*Mus musculus*) usia 2-3 bulan dengan berat antara 28-35 gram. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi pelarut yang digunakan dalam metode ekstraksi jus untuk memperoleh kandungan optimum florotanin dari ekstrak yang dihasilkan. Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek toksik yang disebabkan oleh jus *Sargassum* sp terhadap mencit (*Mus musculus*) dan menghitung dosis yang aman.

### 3.3. Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini variabel merupakan gejala, suatu fakta atau data yang sifatnya dapat berubah dan bersifat tidak tetap. Variabel dapat dibagi menjadi dua yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang dapat dilihat pengaruhnya terhadap variabel terikat. Dan variabel terikat adalah akibat dari variabel terikat itu. Pada penelitian uji toksisitas jus *Sargassum* sp ini yang menjadi variabel bebas adalah 5 dosis yang telah ditentukan yang akan diberikan kepada mencit. Sedangkan variabel terikatnya adalah efek toksik yang diakibatkan oleh jus *Sargassum* sp.

Rancangan penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan RAL karena pada penelitian menggunakan

satu faktor yaitu dosis dari hasil freeze drying jus *Sargassum* sp, dosis tersebut meliputi 5 dosis yang berbeda yaitu; dosis 0 mg/kg BB, dosis 625 mg/kgBB, dosis 1250 mg/kg BB, 2500 mg/kg BB, dan 5000 mg/kg BB, dengan 6 kelompok ulangan untuk tiap perlakuan. Desain rancangan percobaan dapat dilihat pada tabel.

Table 1. Desain Rancangan Penelitian

Perlakuan	Ulangan						Total ( $\Sigma$ )	Rerata ( $\bar{x}$ )
	1	2	3	4	5	6		
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6	$\Sigma$	X
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	$\Sigma$	X
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	$\Sigma$	X
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	$\Sigma$	X
E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	$\Sigma$	X
TOTAL							Ti	Yij

Ket : A : dosis 0 mg/kg BB  
 B : dosis 625 mg/kg BB  
 C : dosis 1250 mg/kg BB  
 D : dosis 2500 mg/kg BB  
 E : dosis 5000 mg/kg BB

### 3.4. Prosedur

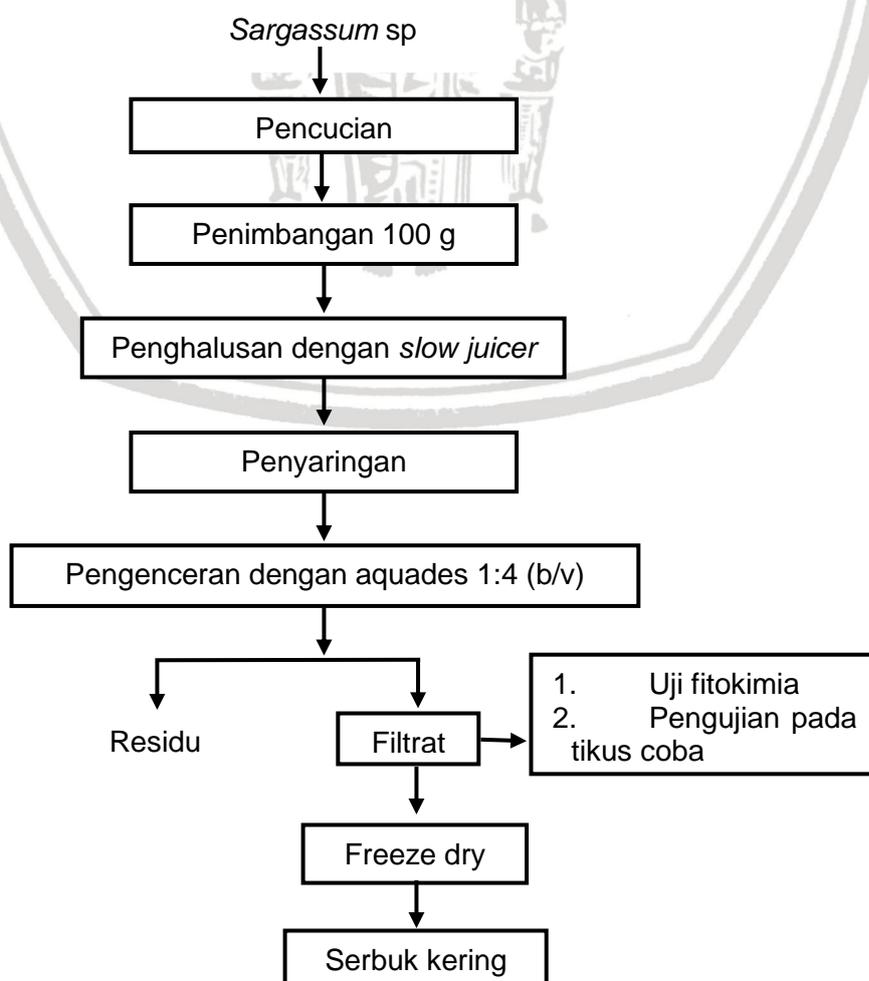
#### 3.4.1. Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan ini nantinya akan menghasilkan sebuk jus *sargassum* sp dan dilakukan pengamatan kandungan fitokimia pada *Sargassum* sp yang masih utuh dan jus *Sargassum* sp, sebelum akhirnya jus *Sargassum* sp dijadikan bubuk jus *Sargassum* sp dengan metode *freeze drying*. Adapun yang dilakukan pada penelitian pendahuluan ini adalah pembuatan jus *Sargassum* sp, pembuatan larutan standar floroglusinol, penentuan total fenol senyawa pada jus *Sargassum* sp, uji fitokimia, dan terakhir pengeringan dengan menggunakan *freeze dry*.

### 3.4.1.1. Pembuatan Jus *Sargassum* sp

Pada penelitian ini *Sargassum* sp yang digunakan didapat dari perairan kepulauan Talango, Madura. Langkah selanjutnya *Sargassum* sp segera dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan cara disiram air yang mengalir. Bagian dari yang digunakan dari *Sargassum* sp adalah bagian daunnya. Kemudian setelah dibersihkan *Sargassum* sp diangin-anginkan dan tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung, proses ini bertujuan untuk mengurangi kadar air yang tersisa pada proses pencucian.

Pembuatan jus *Sargassum* sp menggunakan metode *slow juicer* (*juicing*). Prosesnya adalah *Sargassum* sp setelah dicuci dengan air tawar yang mengalir lalu ditimbang sebanyak 100 g, dan kemudian dilakukan penghalusan dengan mesin *slow juicer*. Setelah itu disaring dengan menggunakan kapas dan dilakukan pengenceran dengan aquades menggunakan perbandingan 1:4 sehingga diperoleh filtrat dan residu. Proses pembuatan jus dapat dilihat pada gambar.



### 3.4.1.2. Pembuatan Larutan Standar Floroglusinol (Koivikko, 2005)

Larutan stok floroglusinol dengan konsentrasi 100 ppm (mg/L) dibuat dengan melarutkan 0,01 g floroglusinol dalam 100 mL etanol 85%. Dengan perhitungan

Massa jenis air adalah 1 g/mL

$$\text{berat air} = \text{berat jenis air} \times \text{volume larutan}$$

$$\text{berat air} = 1 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 100 \text{mL} = 100 \text{ g}$$

$$\text{ppm} = \frac{\text{berat zat terlarut}}{\text{berat larutan}} \times 1.000.000$$

$$\text{ppm} = \frac{0,01 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 1.000.000 = 100 \text{ ppm}$$

Larutan standar dibuat dari larutan stok dengan mengambil 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL, dan 10 mL larutan stok kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda lalu ditambahkan etanol 85% sampai setiap larutan berjumlah 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 2,5 mL dan dilarutkan dalam 2,5 mL H<sub>2</sub>O. Kemudian diambil masing-masing larutan sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL reagen *Follin-Ciocalteu* 50% dan 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5%, lalu ditunggu selama 3 menit. Kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu ruang selama 45 menit dan dilakukan absorbansi sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 770 nm. Dari hasil pengukuran tersebut dapat

dibuat persamaan regresi kurva hubungan antara konsentrasi floroglusinol (ppm) dengan absorbansi.

#### 3.4.1.3. Penentuan Total Fenol Senyawa Florotanin Jus *Sargassum* sp

Penentuan total senyawa florotanin dilakukan berdasarkan metode *Follin-Ciocalteu*. *Sargassum* sp ditimbang sebanyak 20 g lalu diekstraksi dengan metode jus menggunakan pelarut akuades dengan perbandingan 1:4 (b/v). Diambil 2,5 mL ekstrak dan dilarutkan dalam 2,5 mL H<sub>2</sub>O pada tabung reaksi. Diambil 1 mL larutan, kemudian ditambahkan 1 mL reagen *Follin-Ciocalteu* 50% dan 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5% pada tabung reaksi, lalu ditunggu selama 3 menit. Kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu ruang selama 45 menit lalu disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 700 rpm hingga diperoleh supernatan. Kemudian diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 770 nm dengan larutan standar floroglusinol dan dimasukkan hasilnya ke dalam kurva hubungan antara konsentrasi floroglusinol (ppm) dengan absorbansi (Sharman *et al.*, 2011).

#### 3.4.1.4. Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap kandungan polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan steroid ekstrak jus *Sargassum* sp menggunakan metode yang didasarkan pada Harborne (1987).

##### a. Polifenol

Uji kandungan polifenol dilakukan dengan memasukkan 0,1 mL ekstrak *Sargassum* sp ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah akuades 5 mL. Kemudian dididihkan selama 5 menit menggunakan *hot plate* dan ditambah FeCl<sub>3</sub> sebanyak 5 tetes. Perubahan warna larutan menjadi biru sampai hitam menunjukkan adanya kandungan polifenol pada ekstrak.

##### b. Flavonoid

Flavonoid yang berupa glikosida termasuk senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol, ataupun air. Jika ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Septianingsih, 2010).

Uji kandungan flavonoid dilakukan dengan mengambil 0,1 mL ekstrak *Sargassum* sp, dicampur dengan etanol 5 mL lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok kembali. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan HCl 3 tetes. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya kandungan flavonoid.

c. Alkaloid

Prinsip uji alkaloid adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Dragendorf, dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat (Sirait, 2007). Uji kandungan alkaloid dilakukan dengan memasukkan 0,5 g ekstrak *Sargassum* sp ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah kloroform 5 mL dan amonia 3 tetes. Kemudian dipisah fraksi kloroform dan ditambah  $H_2SO_4$  2 M sebanyak 10 tetes, lalu dipisah menjadi bagian A, B dan C. Bagian A diberi pereaksi Mayer, terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya kandungan alkaloid. Bagian B diberi pereaksi Dragendorf, timbulnya warna merah menunjukkan adanya kandungan alkaloid. Kemudian bagian C diberi pereaksi Wagner, timbulnya warna coklat menunjukkan adanya kandungan alkaloid.

d. Tanin

Tanin apabila direaksikan dengan  $FeCl_3$  akan membentuk warna hijau. Hal ini terjadi karena, terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks dapat terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007). Uji kandungan tanin dilakukan dengan memasukkan 0,5 mL ekstrak *Sargassum* sp ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah akuades 5 mL. Kemudian dididihkan

selama 5 menit menggunakan *hot plate* dan ditambah  $\text{FeCl}_3$  sebanyak 5 tetes. Perubahan warna larutan menjadi biru tua dan hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin pada ekstrak.

e. Saponin

Pada uji saponin positif bila ditambahkan dengan akuades panas kemudian akan terbentuk buih atau busa selama 15 menit. Hal ini dapat terjadi karena adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Uji kandungan saponin dilakukan dengan uji busa dalam air panas dengan melarutkan ekstrak *Sargassum* sp ke dalam 10 mL air panas lalu dikocok kuat-kuat. Adanya kandungan saponin dilihat dari busa yang tidak hilang setelah 5 menit dan setelah penambahan HCl 2N 1 tetes.

### 3.4.2. Penelitian Utama

Pada penelitian utama bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek toksisitas serbuk dari jus *Sargassum* yang diberikan pada mencit dengan perlakuan dosis antara 0 mg/kg BB, 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg BB, 2500 mg/kg BB, dan 5000 mg/kg BB. Adapun parameter yang diamati adalah kenaikan berat badan dan kerusakan sel yang terjadi pada hati dan tubulus ginjal.

#### 3.4.2.1. Prosedur Perlakuan Hewan Uji

Pemodelan mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan diawali dengan menempatkan mencit jantan dan betina usia 2-3 bulan sebanyak 60 ekor dengan berat antara 28-35 g kedalam individual cages. Mencit ditempatkan pada ruangan yang cukup aliran udara dan cahaya. Pada alas kandang diberikan sekam setebal 2 cm, dan diganti setiap 2 hari sekali. Dari 60 tikus terdiri dari 30 jantan dan 30 betina yang nantinya akan diletakkan pada 10 kandang yang terdiri dari 3 ekor mencit dalam setiap kandang. Diberikan minum dalam botol 50 ml

dan dilengkapi dengan pipa kecil. Lalu dilakukan aklimatisasi selama kurang lebih 7 hari untuk mengkondisikan semua mencit sebelum diberi perlakuan. Selama aklimatisasi mencit diberikan pakan dan minum secara *ad libitum*. Mencit dibagi menjadi 5 perlakuan dosis, dan tiap perlakuan dosis terdiri dari 3 mencit jantan dan 3 mencit betina.

#### **3.4.2.2. Pembuatan Bubuk Dari Jus *Sargassum* sp**

Preparasi pada penelitian dilakukan terhadap jus *Sargassum* sp dengan menjadikannya serbuk kering. Metode yang digunakan dalam pengeringan adalah dengan metode freeze drying. Proses freeze drying ini dilakukan di laboratorium Universitas Islam Negeri Malang. Freeze drying merupakan alat pengering beku dengan suhu rendah. Pengeringan beku (freeze drying) mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan (Evans, 2008).

#### **3.4.2.3. Prosedur Pelaksanaan Penelitian**

Setelah selesai hasil dari freeze drying berupa tepung *Sargassum* sp, yang kemudian dilarutkan dalam aquades untuk disondekan kepada mencit dengan berdasarkan dari berat mencit. Untuk dosis sonde yang digunakan adalah 0 mg/kg BB, 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg BB, 2500 mg/kg BB, dan 5000 mg/kg BB.

Setelah pemberian ekstrak pengamatan dilakukan dengan 3 cara yang pertama adalah uji gejala fisik berupa peningkatan laju pernafasan, penurunan aktifitas gerak. Lalu dilanjutkan dengan perubahan bobot berat badan harian. Setelah pemberian ekstrak, hewan uji mencit diamati dalam 24 jam pertama dan dihitung jumlah mencit yang mati, bila tidak ada mencit yang mati maka dilanjutkan pengamatan selama 14 hari dengan mengamati perubahan bobot berat badan harian. Penimbangan bobot berat badan harian dilakukan pada pagi

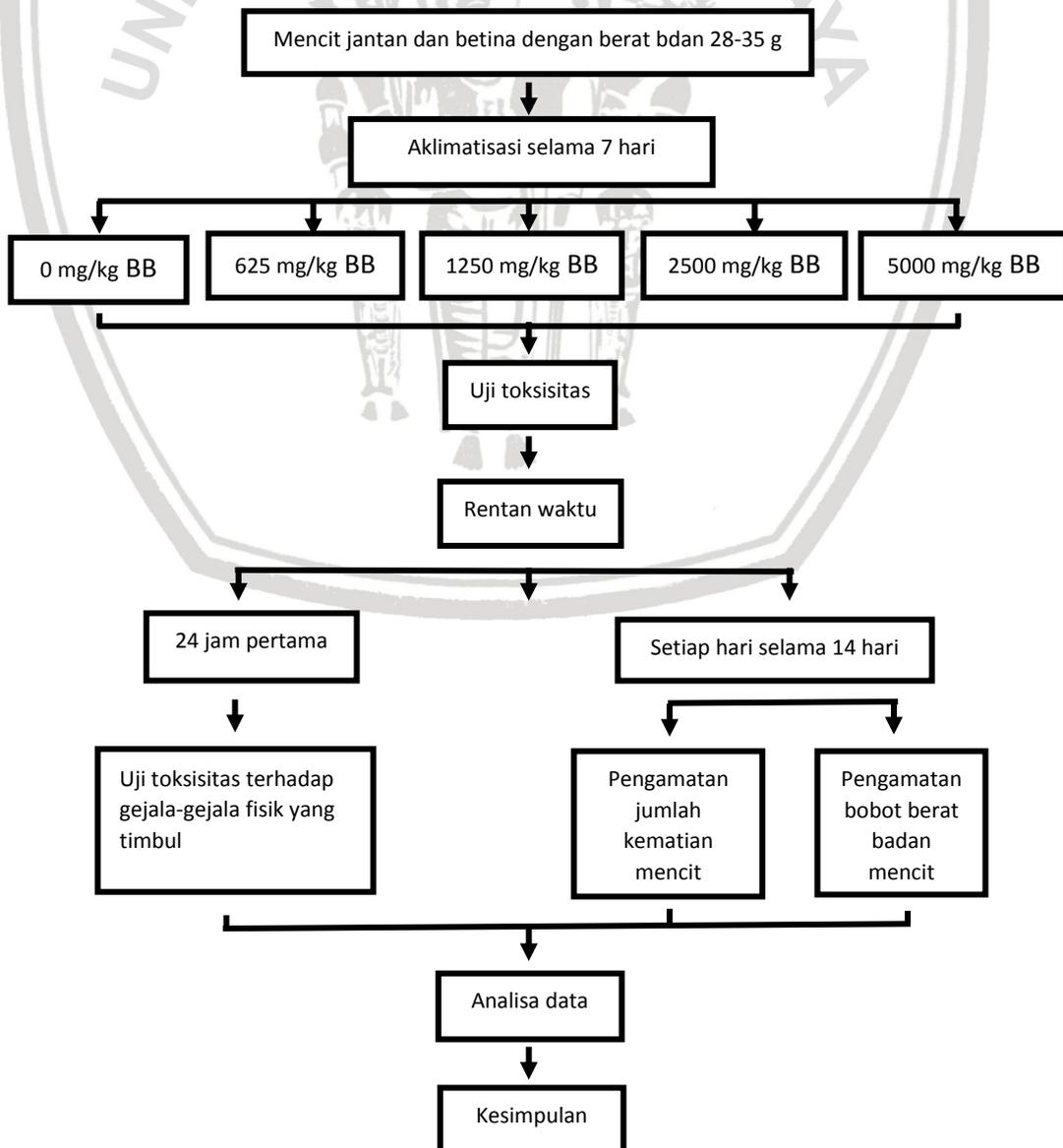
hari sebelum pemberian ransum. Presentase kenaikan bobot dinyatakan sebagai persen nisbah perubahan bobot badan terhadap bobot badan awal.

Perlakuan pada hewan uji mencit pada uji toksisitas *Sargassum* sp ini adalah sebagai berikut; mencit dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari 6 ekor yang masing masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit jantan dan 3 ekor mencit betina. Mencit diaklimatisasi dalam laboratorium selama 7 hari untuk adaptasi. Sebelum akan dilakukan perlakuan, mencit sebelumnya dipuasakan selama 3-4 jam dengan tetap diberikan minum. Perlakuan yang digunakan adalah dengan pemberian dosis yang berbeda tiap kelompoknya yaitu dosis 0 mg/kg BB, 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg BB, 2500 mg/kg BB, dan 5000 mg/kg BB. Ekstrak diberikan dengan cara disonde 1 jam sebelum pemberian ransum standart. Ransum diberikan secara ad libitum. Pemberian dosis dilakukan sekali dan pengamatan pertama selama 24 jam, dan dilanjutkan dengan pengamatan selama 14 hari. Selama pengamatan 14 hari dilakukan penimbangan berat badan dan dihitung jumlah mencit yang mati. Setelah didapatkan jumlah tikus yang mati baru dilakukan perhitungan LD50.

Pengamatan jumlah kematian mencit dilakukan untuk melihat efek toksisitas *Sargassum* sp terhadap mencit, yang ditentukan dengan menggunakan LD50. Nilai LD50 ditentukan berdasarkan nisbah jumlah hewan percobaan yang mati dan jumlah hewan uji tiap kelompok dan dinyatakan dalam persen. Nilai yang didapat selanjutnya dilihat nilai probitnya pada tabel harga probit. Dosis perlakuan dikonversi menjadi log. Dosis toksisitas akut 50% (LD50) ditentukan berdasarkan hubungan persamaan linier antara konsentrasi dosis (dalam log) sebagai nilai absis (x) dan nilai probit sebagai ordinat (y).

Pengamatan yang selanjutnya adalah pengamatan histopathologi. Pengamatan histopatologi dilakukan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Firdaus (2011), yaitu pengamatan histopatologi diterapkan pada

akhir masa uji dan terhadap hewan uji yang telah mati untuk dapat mengamati perubahan pada jaringan sel hati dan ginjal mencit. Pertama-tama mencit dietanasi dengan cara dislokasi, yang selanjutnya dilakukan pembedahan pada perut mencit. Tahapan sediaan histopatologis adalah persiapan jaringan, pembuatan blok, pemotongan blok, pemasangan pita sayatan, pewarnaan, penjernihan, dan mounting. Kerusakan yang diamati meliputi nekrosis, piknosis, dan kariolisis. Nekrosis merupakan (kematian jaringan fokal) yang secara morfologi berupa destruksi inti sel. Piknosis adalah (pengerutan inti) dimana inti sel mengecil dan membulat padat, sedangkan kariolisis adalah (fragmentasi inti) yaitu inti sel mengalami lisis atau pecah.



## 4. PEMBAHASAN

### 4.1. Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan ini didapatkan hasil yaitu analisis kandungan fitokimia dari *Sargassum* sp yang masih utuh dan jus *Sargassum* sp. adapun pengamatan yang dilakukan untuk mengetahui perbedaan antara *Sargassum* sp utuh dan jus *Sargassum* sp.

#### 4.1.1. Fitokimia *Sargassum* sp

Pada penelitian pendahuluan didapatkan hasil pengamatan dan analisis kandungan fitokimia pada *Sargassum* sp yaitu meliputi tanin, alkaloid, saponin, steroid, flavonoid, dan polifenol. Hasil dari uji fitokimia *Sargassum* sp dapat dilihat pada tabel.

Table 2. Hasil Uji Fitokimia

Fitokimia	Pereaksi	Hasil	utuh (*)	jus (**)
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	+	+
Alkaloid	Mayer	Terbentuk endapan putih		
	Wagner	Terbentuk endapan coklat	+	+
	Dragendorf	Terbentuk endapan merah		
Saponin	HCL	Terbentuk busa stabil(>7 menit)	+	+
Steroid	Kloroform+anhidrida asetat+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Perubahan warna merah menjadi biru/hijau	++	+
Flavonoid	Mg+HCL+etan ol	Terbentuk warna merah	+	+
Polifenol	FeCl <sub>3</sub> 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	+	+

- Keterangan :
- (-) = negatif
  - (+) = positif lemah
  - (++) = positif
  - (+++)= positif kuat
  - (++++)= positif sangat kuat
  
  - (\*) = *Sargassum* sp yang belum dilakukan jus, dan masih berbentuk tanaman
  - (\*\*) = *Sargassum* sp yang sudah melalui perlakuan *slow juicer*, dan menjadi jus *Sargassum* sp

Dari tabel tersebut dapat dilihat hasil dari analisis fitokimia pada *Sargassum* sp menunjukkan bahwa terdapat beberapa perbedaan kandungan fitokimia yang didapatkan dari *Sargassum* sp utuh dan jus *Sargassum* sp. Perbedaan kandungan tersebut terdapat pada senyawa tanin, steroid, dan polifenol. Terlihat kandungan senyawa tanin pada jus *Sargassum* sp dan *Sargassum* sp utuh memiliki hasil yang sama. Salah satu senyawa tanin yang terdapat pada *Sargassum* sp adalah florotanin. Kehadiran senyawa tanin sendiri ditandai dengan munculnya warna hijau kebiruan akibat penambahan pelarut  $\text{FeCl}_3$  1%. Dijelaskan pada penelitian Merlinda *et al.* (2012), bahwa dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$  1%, dimana  $\text{FeCl}_3$  1% mengandung ion  $\text{Fe}^{3+}$  yang akan bereaksi dengan gugus hidroksil yang terdapat pada tanin akan menghasilkan warna hijau kebiruan. Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa metode jus dapat menghasilkan senyawa tanin lebih banyak daripada *Sargassum* sp yang masih utuh. Seperti yang telah dipaparkan oleh Choi *et al.* (2006) dan Prasetyo *et al.* (2011), tekanan yang dihasilkan dari proses *slow juicer* akan dapat merusak dinding sel makroalga, dengan begitu senyawa tanin yang terdapat pada sitoplasma akan tertarik keluar. Florotanin merupakan kelompok senyawa fenolik yang terdapat pada beberapa famili *Alariceae*, *Fucaceae*, dan *Sargassaceae* (Firdaus, 2011). Florotanin adalah tanin yang diturunkan melalui polimerisasi floroglusinol (1,3,5-trihydroxybenzene) dan memiliki kompleksitas dan variabilitas struktur yang tinggi karena polimerisasi (Kirke *et al.*, 2016).

Pada tabel senyawa steroid yang dihasilkan *Sargassum* sp utuh lebih tinggi daripada jus *Sargassum* sp. Senyawa turunan yang dapat ditemukan pada *Sargassum* adalah fukosterol, fukosterol adalah jenis fitosterol yang terdapat pada akar *Sargassum* sp (Zhen *et al.*, 2015). Asam asetat anhidrat yang digunakan akan bereaksi dengan gugus hidroksil pada senyawa steroid yang terkandung pada *Sargassum* sp (Lolaen *et al.*, 2013). Uji fitokimia senyawa steroid dengan menggunakan pereaksi kloroform+anhiidria asetat+H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat menghasilkan perubahan warna merah menjadi biru atau hijau. Seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Santi *et al.* (2014), penambahan asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat dalam metode ekstraksi jus dapat menghasilkan perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menandakan adanya senyawa steroid. Pereaksi asam asetat anhidria yang digunakan dalam ekstraksi bereaksi dengan gugus hidroksil pada senyawa steroid yang terkandung dalam *Sargassum* sp menyebabkan kandungan steroid lebih rendah pada jus *Sargassum* sp dibandingkan dengan *Sargassum* sp utuh (Lolaen *et al.*, 2013).

Terdapat perbedaan pada kandungan polifenol pada *Sargassum* sp utuh dan jus *Sargassum* sp. Kandungan polifenol pada *Sargassum* sp utuh lebih rendah daripada jus *Sargassum* sp. Perbedaan tersebut disebabkan oleh pelarut FeCl<sub>3</sub> 1% bereaksi dengan senyawa polifenol. Suatu bahan diketahui mengandung senyawa polifenol dapat dilihat dari reaksi yang ditimbulkan yaitu timbulnya warna hitam kehijauan (Harbome, 1987). Metode *juicer* dapat memecah dinding sel sehingga kandungan polifenol pada *Sargassum* sp lebih tinggi dari *Sargassum* sp yang masih utuh. Pada dasarnya *juicer* bekerja menghaluskan dan menyaring semua bagian dari sampel termasuk memecah dinding sel sehingga senyawa yang mudah teroksidasi yaitu polifenol dapat terekstrak secara maksimal (Cempaka *et al.*, 2014).

Monteno *et al.* (2009), memaparkan bahwa kandungan polifenol pada rumput laut dapat dipengaruhi oleh lingkungan hidup dari rumput laut itu sendiri. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Wong (2013), senyawa polifenol dapat diklasifikasikan menjadi 10 kelas tergantung pada struktur kimianya. Beberapa dari kelompok polifenol adalah asam fenolat, flavonoid, dan tannin. Sedangkan polifenol yang terdapat pada rumput laut berasal dari fluroglusinol (1,3,5-*trihydroxybenzene*) (Lee dan you, 2013)

Pada hasil uji fitokimia alkaloid pada *Sargassum* sp dengan menggunakan pereaksi Wagner menunjukkan hasil yang sama antara *Sargassum* sp utuh dengan jus *Sargassum* sp. Ditandai dengan ciri terbentuknya endapan coklat, hal ini menunjukkan bahwa metode jus dengan menggunakan alat *slow juicer* tidak mempengaruhi kandungan alkaloid pada *Sargassum* sp. Hal ini sejalan dengan yang dipaparkan oleh Setyowari *et al.*, 2014, bahwa uji alkaloid dengan pereaksi wagner dapat menghasilkan endapan yang berwarna coklat. Dipaparkan oleh Percot *et al.*, (2009), bahwa senyawa turunan yang terdapat pada *Sargassum* sp adalah alkaloid *phenylethylamine*. *Phenylethylamine* merupakan amina aromatik dimana sebuah sisi rantai *ethylamine* merekat pada cincin benzena. *Phenylethylamine* adalah prkursor dari banyak senyawa alami dan sintesis.

Dari hasil uji fitokimia saponin yang terdapat pada *Sargassum* sp dengan menggunakan pereaksi HCl didapatkan hasil yang sama antara *Sargassum* utuh dengan jus *Sargassum* sp. Terdapat kandungan saponin yang lemah dengan ditandai terbentuknya busa stabil selama >7 menit, hal ini menunjukkan bahwa bahwa metode jus dengan menggunakan alat *slow juicer* tidak mempengaruhi kandungan saponin pada *Sargassum* sp. Timbulnya busa ini dikarenakan adanya kandungan glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisa menjadi glukosa dan senyawa

lainnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Setyowati *et al.* (2014), identifikasi adanya saponin dibuktikan dengan terbentuknya busa yang bertahan <10 menit dengan pereaksi HCl.

Hasil dari uji fitokimia flavonoid yang terdapat pada *Sargassum* sp dengan menggunakan pereaksi Mg+HCl+etanol menunjukkan bahwa kandungan flavonoid pada *Sargassum* sp utuh dan jus *Sargassum* sp tidak menunjukkan perbedaan. Senyawa flavonoid di tunjukkan adanya ciri yaitu terbentuknya warna merah. Dengan ini metode *juicing* dengan menggunakan alat *slow juicer* tidak mempengaruhi kandungan flavonoid yang ada pada *Sargassum* sp. menurut Robinson (1995), warna merah yang dihasilkan dari uji fitokimia flavonoid menandakan adanya senyawa flavonoid dikarenakan terjadinya reduksi oleh HCl dan magnesium. Ekstrak *Sargassum* secara kualitatif mengandung flavonoid lebih dari komponen lain. Terdapat ada sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavanol, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanol, dan isoflavon (Bhat *et al.*, 2009). Dan pada penelitian Bharadwaj *et al.*, (2007), menemukan senyawa turunan flavonoid yaitu quercetin dari ekstrak *Sargassum wightii* yang berpotensi sebagai antimikroba dan antioksidan.

Kesimpulan dari hasil uji ditokimia pada *Sargassum* sp didapatkan kandungan senyawa polifenol dan tanin lebih tinggi pada jus *Sargassum* sp daripada *Sargassum* sp yang masih utuh. Sedangkan pada kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin menunjukkan intensitas yang sama pada *Sargassum* sp yang masih utuh dan jus *Sargassum* sp. Akan tetapi pada kandungan senyawa steroid didapatkan kandungan senyawa dari *Sargassum* yang masih utuh lebih tinggi dibandingkan dengan jus *Sargassum* sp.

## 4.2. Hasil Penelitian Utama

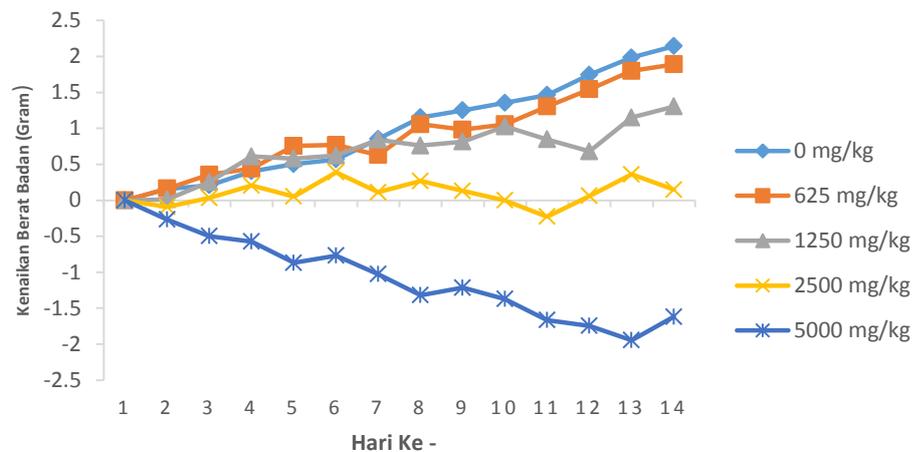
Pada penelitian utama ini dilakukan uji toksisitas akut yang ditimbulkan dari jus *Sargassum* sp. dimana uji yang dilakukan meliputi berat badan, LD50, dan juga hitopatologi hati dan tubulus ginjal. Dan dari hasil tersebut akan dianalisis apakah jus *Sargassum* sp dapat menimbulkan efek toksik bagi hewan uji mencit.

### 4.2.1. Pengamatan gejala toksik

Pengamatan yang pertama dilakukan adalah pengamatan gejala toksik yang mungkin timbul secara intensif pada 3 jam pertama dan terus dilanjutkan sampai 24 jam. Gejala-gejala yang diamati meliputi perubahan perilaku, tremor, kereaktifan terhadap rangsangan, nafas, dan kematian. Hasil pengamatan gejala toksik setelah pemberian jus *Sargassum* sp menunjukkan keadaan yang sama mulai dari dosis terendah sampai dengan dosis tertinggi. Adapun gejala yang ditimbulkan adalah tremor, kepekaan, nafas yang tidak teratur, dan tidak terjadi kematian.

### 4.2.2. Berat Badan

Data kenaikan berat badan mencit akibat pemberian jus *Sargassum* sp yang didapatkan selama pengamatan 14 hari dapat dilihat pada lampiran. Dari hasil analisis dapat dilihat bahwa berat badan mencit antar perlakuan dosis 0 mg/kg BB, 625mg/kg BB, 1250 mg/kg BB, 2500 mg/kg BB, dan 5000 mg/kg BB menunjukkan adanya perbedaan. Perbedaan paling signifikan dirasa dapat dilihat pada dosis 0 mg/kg Bbdan 5000 mg/kg BB. Pada dosis 0 mg/kg BB masih trus mengalami pertumbuhan berat badan, sedangkan pada dosis 5000 mg/kg BB malah menunjukkan penurunan berat badan. Kenaikan berat badan mencit akibat pemberian jus *Sargassum* sp dapat dilihat pada gambar.



Gambar 8. Pengaruh perbedaan pemberian jus *Sargassum* sp dengan dosis yang berbeda terhadap berat badan mencit

Berdasar grafik untuk hasil penimbangan berat badan hewan uji mencit yang telah dilakukan selama 14 hari setelah pemberian jus rumput laut cokelat pada tiap kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan dengan dosis 0 mg/kg BB, 625 mg/kg BB, dan 1250 mg/kg BB masih mengalami kenaikan berat badan. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut tidak mengalami gangguan metabolisme pada mencit. Hal ini sejalan dengan hasil. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Firdaus. *et al* (2012), bahwa perlakuan dosis 625 mg/kg BB tidak mengalami gangguan metabolisme pada hewan uji mencit. pertumbuhan pada organisme bergantung pada jumlah penyerapan dan ketersediaan gizi, termasuk protein. Sehingga pertumbuhan suatu organisme akan tetap berlangsung karena florotanin tidak mempengaruhi saluran pencernaan untuk menyerap protein.

Pada perlakuan dengan dosis 2500 mg/kg BB mengalami hambatan kenaikan berat badan akibat pemberian jus *Sargassum* sp. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan dosis 2500 mg/kg BB mengakibatkan sedikit gangguan pada metabolisme mencit. Pada dosis 5000 mg/kg BB berat badan mencit

mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan jika telah terjadi kerusakan metabolisme pada bagian tubuh mencit. Menurut Stern. *et al* (1996), jika mengonsumsi rumput laut cokelat pada dosis 10 g/kg BB dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan berat badan oleh florotanin yang terkandung pada ekstrak rumput laut membentuk ikatan hidrogen dengan protein termasuk enzim yang terdapat pada saluran pencernaan.

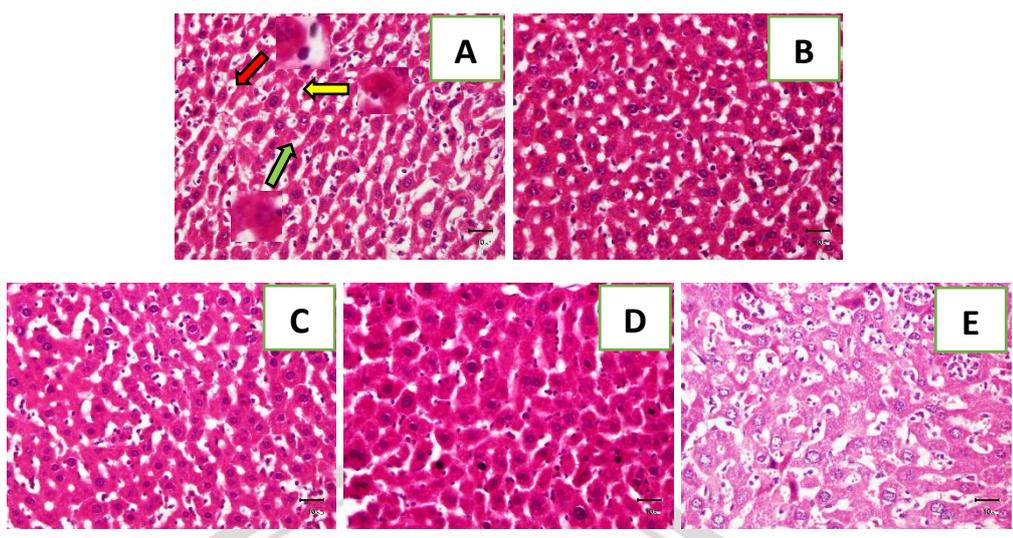
#### **4.2.3. Dosis Kematian 50% (LD50)**

Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada pemberian jus *Sargassum* sp secara *oral*, dengan dosis terkecil yaitu 0 mg/kg BB sampai dengan dosis terbesar yaitu 5000 mg/kg BB tidak menyebabkan kematian pada mencit. Dari data yang didapat disimpulkan bahwa senyawa yang ada pada jus *Sargassum* sp tergolong pada senyawa yang relatif tidak toksik. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Firdaus, (2012) bahwa pada pemberian ekstrak metanol rumput laut cokelat pada hewan uji mencit sampai dengan dosis 5000 mg/kg BB tidak menyebabkan kematian.

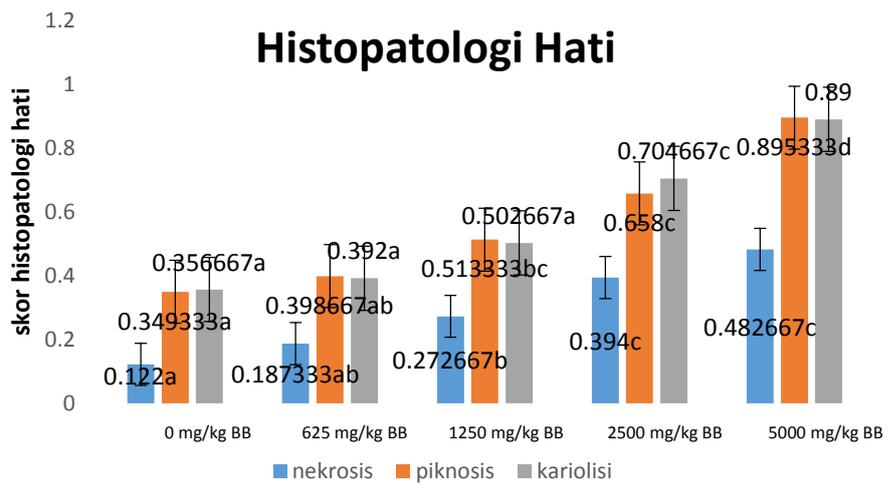
#### **4.2.4. Histopatologi Hati dan Ginjal**

##### **4.2.4.1. Histopatologi Hati**

Data pengamatan untuk histopatologi hati mencit dengan pemberian jus *Sargassum* sp dapat dilihat pada lampiran. Dari hasil analisis data yang dilakukan menunjukkan skor histopatologi hati mencit antar perlakuan atau dosis berbeda sangat nyata ( $p < 0,05$ ). Fotomikrograf dan skor histopatologi hati mencit dengan pemberian jus *Sargassum* sp dapat dilihat pada gambar.



Gambar 9. fotomikrograf kerusakan sel hati mencit yang telah diberi jus *Sargassum* sp dosis 0 mg/kg BB (A), 626 mg/kg BB (B), 1250 mg/kg BB (C), 2500 mg/kg BB (D), 5000 mg/kg BB (E). (perbesaran 400 x) (pewarnaan HE) ( nekrosis ○, kariolisis ○, piknosis ○)



Gambar 10. Pengaruh skor histopatologi hati mencit terhadap pemberian jus *Sargassum* sp dengan dosis yang berbeda

Dari gambar dapat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian jus *Sargassum* sp pada mencit maka akan semakin meningkat jumlah kerusakan sel. Pada gambar juga menunjukkan perbedaan dan jumlah sebaran sel yang mengalami berbagai kerusakan nekrosis, piknosis, dan kariolisis pada hati mencit. pada penelitian Firdaus, *et al* (2012) menjelaskan bahwa terdapat 2 kemungkinan jika kandungan tanin pada *Sargassum* sp bersifat hepatotoksik, yakni: pertama terdapat kerusakan membran mitokondria yang disebabkan oleh



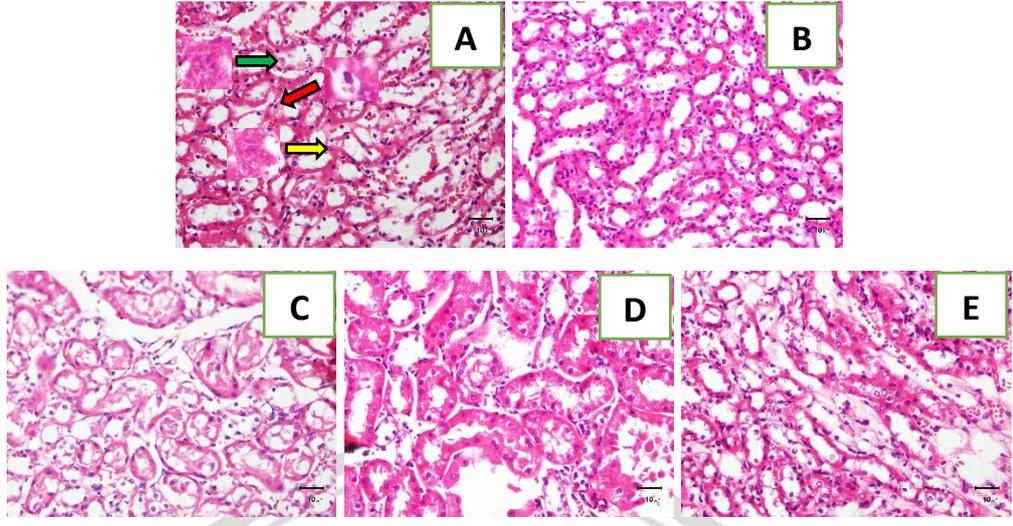
terbentuknya oksigen reaktif, yang kedua adalah dosis yang diberikan terlalu besar sehingga dapat merusak sel jaringan.

Tanda kerusakan sel dapat dilihat dari intinya. Sel yang telah mati maka intinya akan menyusut, tampak lebih padat, batasnya tidak teratur dan warnanya akan terlihat gelap, pada proses ini dinamakan piknosis dan intinya dapat disebut piknotik. Kemungkinan lain intinya dapat hancur, robek, dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, pada proses ini disebut karioreksis. Dan pada beberapa keadaan, inti sel yang sudah mati akan kehilangan kemampuannya untuk mewarnai sehingga menjadi pucat, dan pada keadaan ini dapat disebut dengan kariolisis (Rohmatin *et al.*, 2015).

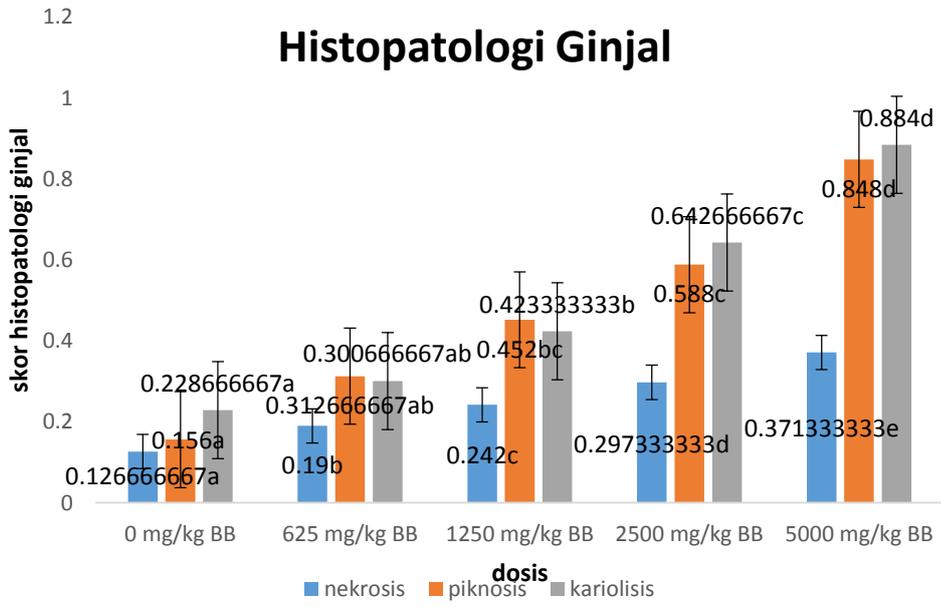
Pada penelitian ini didapatkan hasil dari histopatologi hati mencit adalah mulai ditemukannya kerusakan pada dosis 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB, dimana kerusakan meliputi nekrosis, piknosis, dan kariolisis. Hasil ini sesuai dengan penelitian Sudatri, *et al* (2014), dimana ekstrak daun lamtoro yang ditemukan senyawa tanin dan diberikan pada mencit dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB tidak menyebabkan perubahan histopatologi hati mencit. ketiga perlakuan tersebut hanya menyebabkan degenerasi hidropis yang termasuk pada kerusakan ringan karena dapat sembuh dan sel hati dapat normal kembali (*reversible*).

#### 4.2.4.2. Histopatologi Ginjal

Data pengamatan untuk histopatologi ginjal mencit dengan pemberian jus *Sargassum* sp dapat dilihat pada lampiran. Dari hasil analisis data yang dilakukan menunjukkan skor histopatologi hati mencit antar perlakuan atau dosis berbeda sangat nyata ( $p < 0,05$ ). Fotomikrograf dan skor histopatologi hati mencit dengan pemberian jus *Sargassum* sp dapat dilihat pada gambar.



Gambar 11. otomikrograf kerusakan sel tubulus ginjal mencit yang telah diberi jus *Sargassum* sp dosis 0 mg/kg BB, 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg, 5000 mg/kg B. (perbesaran 4000 x) (pewarnaan HE) ( nekrosis 0, kariolisis 0, piknosis 0)



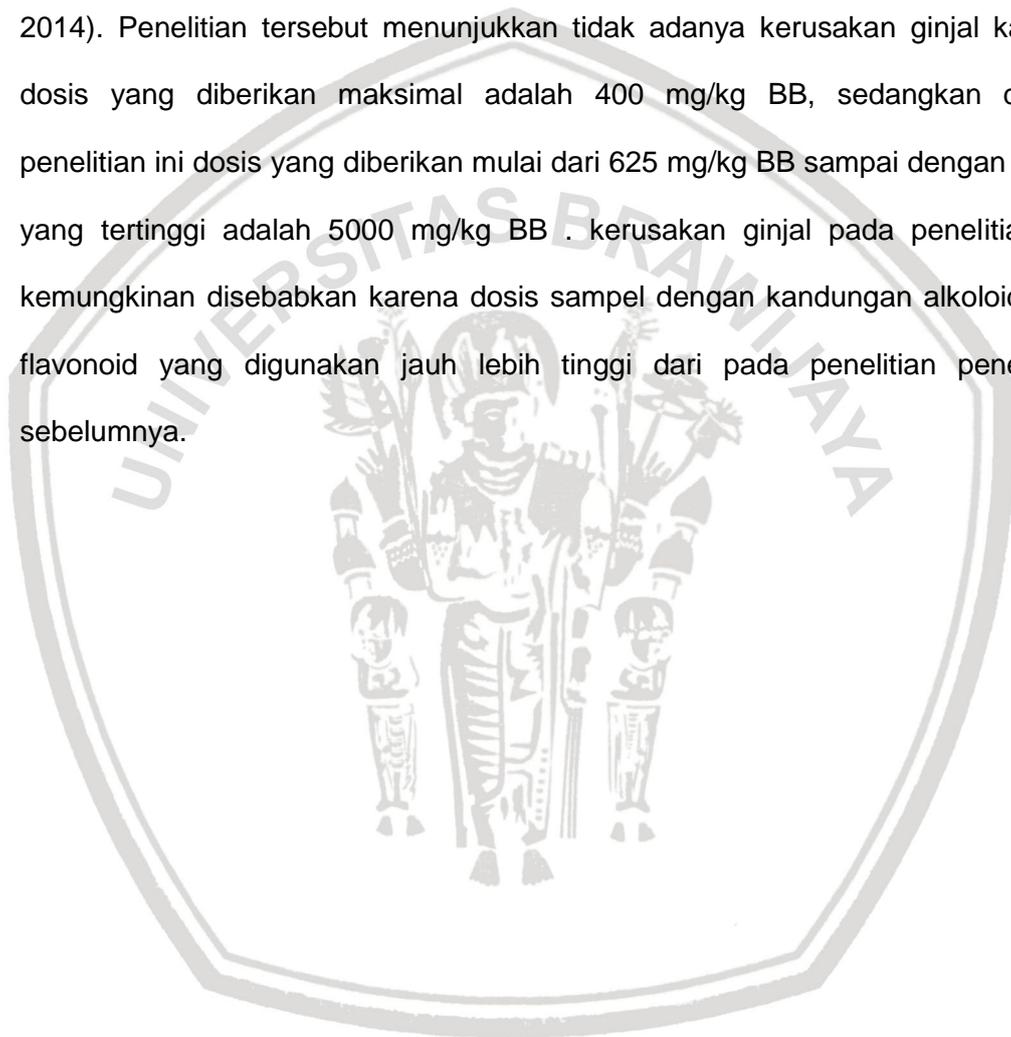
Gambar 12. Pengaruh skor histopatologi tubulus ginjal terhadap pemberian jus *Sargassum* sp dengan dosis yang berbeda.

Dari gambar dapat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian jus *Sargassum* sp pada mencit maka akan semakin meningkat jumlah kerusakan sel. Pada gambar juga menunjukkan perbedaan dan jumlah sebaran sel yang mengalami berbagai kerusakan nekrosis, piknosis, dan kariolisis pada ginjal mencit. Pada penelitian Robbins dan Kumar. 1992, menjelaskan bahwa



kerusakan tubulus ginjal dapat disebabkan oleh paparan sejumlah racun organik. Hal ini dapat terjadi karena pada sel epitel tubulus ginjal mengalami kerusakan degenerasi lemak atau nekrosis pada inti sel ginjal.

Kandungan flavonoid dan alkaloid pada daun kelor yang diujikan pada tikus wistar dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB tidak berpengaruh terhadap gambaran mikroskopik ginjal tikus wistar (Setiasih, *et al.*, 2014). Penelitian tersebut menunjukkan tidak adanya kerusakan ginjal karena dosis yang diberikan maksimal adalah 400 mg/kg BB, sedangkan dalam penelitian ini dosis yang diberikan mulai dari 625 mg/kg BB sampai dengan dosis yang tertinggi adalah 5000 mg/kg BB . kerusakan ginjal pada penelitian ini kemungkinan disebabkan karena dosis sampel dengan kandungan alkaloid dan flavonoid yang digunakan jauh lebih tinggi dari pada penelitian penelitian sebelumnya.



## 5. PENUTUP

### 5.1. Kesimpulan

Dari penelitian Uji Toksisitas Akut Jus *Sargassum* sp yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa jus *Sargassum* sp mengandung tanin, polifenol, saponin, alkaloid, steroid, flavonoid. Dosis minimal pemberian jus *Sargassum* sp yaitu 625 mg/kg BB – 1250 mg/kg BB belum menunjukkan gejala toksik yang dominan. Pada kelompok uji dengan pemberian dosis lebih tinggi yaitu dosis 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB menunjukkan adanya gejala toksik yang lebih besar. Dapat disimpulkan bahwa *Sargassum* sp yang diperoleh dari kepulauan Talango, Sumenep, Madura tergolong pada toksik yang ringan.

### 5.2. Saran

Saran untuk penelitian uji toksisitas jus *Sargassum* sp adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meneliti potensi toksisitas subkronis dan kronis dari ekstrak ekstrak alga coklat *Sargassum* sp dengan jumlah hewan coba yang lebih banyak dan rentang dosis yang lebih bervariasi. Persiapkan sarana penunjang penelitian dengan baik untuk mencapai hasil yang lebih valid, terutama dalam hal pengamatan gejala toksik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid. Karunika Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm 39.
- Tri Septiana, Aisyah. Ari Asnani. 2013. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*l: Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 14 No. 2.
- Akbar, B. 2010. Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta: Adabia Press. Halaman 10-12.
- Amiria, D. F. 2008. Uji Toksisitas Bahan Obat Herbal "x" Ditinjau dari Nilai LD 50 serta Fungsi Hati dan Ginjal pada Mencit Putih. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok
- Anwar F, Djunaedi A, Gunawan W. S, 2013. Pengaruh Konsentrasi KOH yang Berbeda Terhadap Kualitas Alginat Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* J. G. Agardh. Journal Of Marine Research. 2(1):7-14.
- Bachtiar, Eri. 2007. Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (alga) sebagai Biotarget Industri. Makalah Universitas Padjajaran, Jatinangor.
- Bharawadj, S., Sheeja, L., Lakshmi, D., and Sajidha, P. K. 2017. Analysis and Bioautography Screening of Methanol Extract of *Sargassum wightii* by Chromatographic Separation. *Journal of Pharmacy and Technology* 10(2): 7-12.
- Bhat S.V., Nagasampagi B.A., and Meenakshi S. 2009. *Natural Products : Chemistry and Application*. Narosa Publishing House, New Delhi. 264 pp.
- Cahyaingrum K, Husni A, dan Ari S. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum*). *Agritech*, Vol. 36, No. 2
- Cempaka, L., Aliwarga, L., Purwo, S. and Kresnowat, P.MT.A. 2014. Dynmics of cocoa bean pulp degradation during bean fermentation. Effects of yeasts starte culture addition. *J. Math. Sciences*. Vol. 46 N o 1 14-25.
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381
- Citra S.U, Dewi, Dedi S, Mujizat K. 2012. Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemaprichii* dari Pulau Prmuka DKI Jakarta. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*, Vol. 3 No. 2.
- Danim, S. dan Darwis. 2002. *Metode Penelitian Kebidanan (Prosedur, Kebijakan, dan Etika)*. EGC: Jakarta. 333 hlm.

- Darwis, D. 2000. Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati FMIP A Universitas Andalas. Padang
- Departemen Kesehatan RI, 2000. Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, 17, 31-32
- Effendy. 2007. Perspektif Baru Kimia Koordinasi. Malang: Bayumedia Publishing.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. 2002. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine Rev* 23: 599-622.
- Fauzi, Y. 2008. Kelapa Sawit Budidaya, Pemanfaatan Hasil Limbah, Analisa Usaha dan Pemasaran. Edisi Revisi. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Firdaus, M. 2011. *Phlorotanin: Struktur, Isolasi, dan Bioaktivitasnya*. UB Press: Malang.
- Firdaus, F., Putri, S.F., dan Fajriyanto. 2015. Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Rumput Laut Cokelat *Sargassum echinocarpum*. *Jurnal Ilmiah Indonesia* 22(2): 1-11
- Francis, G., Z. Kerem, H.P.S. Makkar and K. Becker. 2002. The Biological Action of Saponin in Animal System: Review. *British Journal of Nutrition* 88:587-605
- Frete, Helly De. Susantho AB. Pasethyo, Budhi. Limantara, Leenawaty. 2013. Karatenoid dari makroalgae dan microalgae: potensi kesehatan aplikasi dan bioteknologi. *Jurnal teknologi dan industry pangan*. 23
- Ganiswarna, S. G., Setiabudy, R., Suyatna, F. D., Ascobat, P., Nafrialdi, Ganiswarna, V. H. S., dkk., 2007, Farmakologi dan Terapi, Edisi 4, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
- Guiry. 2007. Algaebase. National University of Ireland Galway: Irlandia.
- Harbone, JB. 1987, Metode Fitokimia, Penentuan cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terjemahan Kosasih P dan Iwang S.J., Penerbit IPB Bandung
- Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology. Raven Press. New York. 1983. Hal 4
- Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. CEFARS Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah. 3(2)
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Makalah. Fakultas Teknik. UNY. 13 halaman.
- Kadi. 2008. Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* Di Perairan Indonesia. [www.rumputlaut.org](http://www.rumputlaut.org). 19/09/2008.

- Kirke, D.A., Smith, D.K.R., and Stengel D.B. 2016. The Chemical and Antioxidant Stability of Isolated Low Molecular Weight Phlorotannins. *Food Chemistry* **22**(1): 1104-1112.
- KKP. 2012. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor Kep.47/Men/2012 tentang Pelepasan Nila merah nilasa. Kementrian Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Klasse CD. Casarett and Duoll's Toxycology; The Basic Science of Poisons. 3RD ed. Macmillam Publishing Company. New York. 1986. Hal 11-13
- Kumar V, Cotran R.S., Robbins S.L., 1992, *Basic Pathology*, W.B. Saunders Company. Tokyo. p. 25-28
- Koeman, J.H. 1987. Pengantar Umum Toksikologi. Yogyakarta: UGM Press
- Lee, S.H., and You-Jin, J. 2013. Anti-Diabetics Effects of Brown Algae Derived Phlorotannins, Marine Polyphenols Trough Diverse Mechanism. *Fitoterapia* **8**(6): 129-136.
- Lemmens, R.H.M.J. dan W.N. Soetjipto. 1992. Dye and Tannin Producing Plants. Di dalam Plant resources of Southeast Asia No.3.Wageningen.The Netherlands.Pudoc/Prosea.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Lolaen, L.A., Fatiawali, dan Citraningtyas, G. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Kandungan Fitokimia Jus Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith). *Jurnal Ilmiah Farmasi* **2**(2): 2302-2493.
- Loomis TA. Toksikologi Dasar. Ed 3. Terjemahan oleh Imono Argo Donatus. Laboratorium Farmakologi dan Fakultas Farmasi Gajah Mada. Yogyakarta. Hal 21, 225-6, 233-8
- Maharani, S. 2012 kanker : Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya Jakarta: kata hati
- Nahrowi AW. 2008. Pengetahuan Bahan Pangan. Nutri Sejahtera Press. Bogor
- Pamungkas, Tri A. Sunaryo, Ali R. 2013 Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Kualitas Natrium Alginat Rumput Laut *Sargassum* sp. *Journal Of Marine Research*. Volume 2 Nomor 3
- Pangestutu E, Sumardianto dan Amalia U. 2017. Skrining Senyawa Fitokimia Rumput Laut *Sargassum* sp. Dan Aktivitas Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan*, Vol. 12 (2).
- Percot, A., Yalcin, A., Aysel, V., Erdugan, H., Durel, B., and Guven, K.C. 2009. Phenylethylamine Content in Marine Algae Around Turkish Coast. *Marine Science* **5**(2): 87-90.

- Prasetyo J, Naruse K, Kato T, bonchird C, Harashima S, park EY. 2011. Bioconversion of paper sludge to biofuel by simultaneous saccharification and fermentation using a cellulase of paper sludge origin and thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* TJ14. *Biotechnol Biofuels* 4:35
- OECD. 2001. Literacy skill for life: first result from the OECD programme for international student assessment (PISA) 2000.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI*. Institut Teknologi Bandung: Bandung. 612 hlm.
- Santi, I.W., Ocky K.R., dan Ita, W. 2014. Potensi Rumput Laut *Sargassum duplicatum* Sebagai Sumber Senyawa Antifouling. *Journal of Marine Research* 3(3): 274-284.
- Hardjono Sastrohamidjojo, 2007, Spektroskopi, Edisi ketiga, Liberty Yogyakarta, Yogyakarta, 45-82.
- Septiana, A.T., Asnani, A., 2012, Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi, *Agrointek* 6 (1), 22-28.
- Septianingsih, A. T. 2010. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*) Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Jurnal Ilmiah* 3(1): 24-37.
- Setyawati, E., Sari, H.I., dan Farida, C. 2014. Formulasi Permen Dari Sarang Semut Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*. 5(2): 78-84.
- Sharma S., Adroque J.V., Golfman L., Uray I., Lemm J., Youker K., Noon G.P., Frazier O.H., and Taegtmeier H. 2011. Intramyocardial Lipid Accumulation in the Failing Human Heart Resembles the Lipotoxic Rat Heart. *Health and Research Journal* 1(8):1692–1700.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB
- Stern JL, Hagerman AE, Steinberg PD, Winter FC, Estes JA. 1996. A new assay for quantifying brown algal phlorotannins and comparisons to previous methods. *J Chem Ecol* 22: 1273-1293.
- Sudatri, N.W., I. Setyawati, dan N.M. Suartini. 2014. Kadar SGPT, SGOT dan Kreatinin Plasma Darah Tikus Betina yang Diinjeksi Vitamin C Dosis Tinggi. *Prosiding Seminar Nasional Sain dan Teknologi*. Denpasar 18-19.
- Suparmi dan Sahri, A. 2009. *Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan*. Semarang: Universitas Diponegoro. hlm. 13-14.
- Turner RA. *Screening Methods in Pharmacology*. Academic Press. London. 1965. Hal 61-63

Thamrin Wikanta, Resty Prehati, Lestari Rahayu, Nurahmi Dewi Fajarningsih. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol *Turbinaria Decurrens* Terhadap Perbaikan Kerusakan Hati Tikus Putih. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 5

Yuwono H, M Biomed. 2010. Pandemi Resistensi Antimikroba : Belajar dari MRSA; (1):2837–50.

Zhen, X. H., Ying-Chun, Q., Hai-Ying, J., Zheng-Shun, W., You-Lee, Q., and Li-Ping, G. 2015. Fucosterol, a Sterol Extracted from *Sargassum fusiforme*, Shows Antidepressant and Anticolvulant Affect. *European Journal of Pharmacology* 76(8): 131-138.

