

EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS FUKOIDAN DARI RUMPUT LAUT COKLAT (*Sargassum crassifolium*) SEBAGAI ANTIKOAGULAN

Ellya Sinurat¹⁾, Rosmawaty Peranginangin²⁾, dan Endang Saepudin³⁾

ABSTRAK

Fukoidan merupakan polisakarida sulfat yang mengandung L-fukosa dan sulfat. Fukoidan diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut coklat *Sargassum crassifolium* yang berasal dari Binuangeun, Banten. Fukoidan diekstrak dari rumput laut kering menggunakan HCl 0,1N dan diendapkan dengan menggunakan CaCl₂ selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan resin Sephadex A-25 dan diperoleh rendemen 0,87%. Karakterisasi fukoidan dilakukan melalui uji penentuan berat molekul, kandungan sulfat, penentuan monosakarida penyusun fukoidan, dan uji aktivitas antikoagulan. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa fukoidan memiliki berat molekul 7,71 x 10⁴ Dalton, kadar sulfat tertinggi sebesar 8,55 ppm, monosakarida penyusun berupa fukosa dan galaktosa dengan rasio mol 1,0 : 1,5. Hasil uji bioaktivitas sebagai antikoagulan pada plasma darah manusia secara *in vitro* dilihat dari perpanjangan nilai APTT menunjukkan perbedaan signifikan antara kontrol dengan darah yang mengandung fukoidan pada konsentrasi 100 µg/mL (berbeda 25 detik). Hal ini mengindikasikan bahwa fukoidan berpotensi sebagai antikoagulan.

KATA KUNCI: fukoidan, rumput laut coklat, L-fukosa, antikoagulan, *Sargassum crassifolium*

ABSTRACT: *Extraction and activity test of a fucoidan from brown seaweed (Sargassum crassifolium) as an anticoagulant. By: Ellya Sinurat, Rosmawaty Peranginangin and Endang Saepudin*

Fucoidan is a polysaccharide sulfate containing L-fucose and sulfate. Fucoidan isolated from brown seaweed Sargassum crassifolium originated from Binuangeun, Banten. Fucoidan from dried seaweed was extracted using 0.1 N HCl and precipitated with CaCl₂ then followed by purification on column chromatography using Sephadex A-25. The yield is 0.87% (w/w) of fucoidan. Fucoidan was characterized in terms of molecular weight, sulphate content, monosaccharides composition, and anticoagulant activity test. The results showed that the molecular weight of fucoidan was 7.71 x 10⁴ Daltons and the highest sulfate content was 8.55 ppm. The fucoidan was composed by fucose and galactose with an average ratio of 1.0 : 1.5. Based on APTT test, there was a significant difference between anticoagulant activities of control blood with blood treated with fucoidan at the concentration of 100 µg/mL (25 seconds). Therefore, this fucoidan was potential to be a candidate for an anticoagulant.

KEYWORDS: fucoidan, brown seaweed, L-fucose, anticoagulant, *Sargassum crassifolium*

PENDAHULUAN

Fukoidan merupakan kelompok polisakarida sulfat yang terdapat pada dinding sel rumput laut coklat, mengandung sebagian besar L-fukosa sulfat dengan sejumlah kecil monosakarida lain seperti galaktosa, glukosa, xilosa, dan asam uronat (Berteau & Mulloy, 2003). Kerangka utama fukoidan adalah L-fukosa yang berikatan pada posisi α-(1,3) (Bo *et al.*, 2008), tetapi ulangan struktur alternatif dari ikatan glikosidik juga ditemukan pada α-(1,3) dan α-(1,4), tergantung dari spesies rumput lautnya (Chevolot *et al.*, 2003). Fukoidan diketahui menunjukkan banyak bioaktivitas, antara lain sebagai anti pembengkakan/inflamasi, antivirus, antikoagulan, dan antitumor. Semua aktivitas

ini menunjukkan bahwa fukoidan berpotensi untuk diaplikasikan pada manusia dan hewan (Nishino *et al.*, 1991; Mulloy *et al.*, 1994; Ly *et al.*, 2006). Produksi dan aplikasi fukoidan sebagai bahan terapi menambah nilai pentingnya penelitian fukoidan untuk dilakukan secara intensif.

Banyak penelitian fukoidan yang dilakukan berfokus pada efek koagulasi darah (Nishino *et al.*, 1991). Walaupun heparin menunjukkan aktivitas antikoagulan yang kuat dan sudah luas digunakan untuk antikoagulan pada pasien hemodialisis, bukti-bukti klinis menunjukkan bahwa terdapat efek samping dari pemakaian heparin, antara lain pendarahan, trombositopenia, dan osteoporosis (Usov

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Balitbang KP, KKP; Jl. KS. Tubun Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat. E-mail: ellya_sinurat@yahoo.com

²⁾ Dosen Jurusan Kimia - FMIPA, Universitas Indonesia, Kampus UI, Depok.

& Bilan, 2009). Selain itu, heparin diproduksi dari usus halus mamalia, hal ini berpotensi membawa resiko kontaminan virus yang berasal dari hewan (Jung *et al.*, 2007). Alasan ini menjadi pertimbangan untuk mencari bahan lain sebagai antikoagulan. Tumbuhan sebagai sumber antikoagulan lebih disukai, yaitu fukoidan yang berasal dari rumput laut coklat, sehingga fukoidan diusulkan sebagai alternatif antikoagulan pengganti heparin (Dubois *et al.*, 1956; Chandía & Matsuhira, 2008). Umumnya terdapat perbedaan struktur fukoidan dari berbagai spesies rumput laut coklat yang mempunyai bioaktivitas sebagai antikoagulan seperti : *Fucus vesiculosus*, *Ecklonia kurome*, *Ascophyllum nodosum*, dan *Pelvetia caniculata* (Frank *et al.*, 1989; Nishino *et al.*, 1991; Jung *et al.*, 2007; Usov & Bilan, 2009). Struktur fukoidan dari beberapa sumber rumput laut coklat dan spesies yang berbeda menunjukkan kemampuan aktivitas yang berbeda (Usov & Bilan, 2009). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dan uji bioaktivitas fukoidan dari rumput laut coklat spesies *Sargassum crassifolium* sebagai antikoagulan secara *in vitro*. Hal ini dikarenakan spesies tersebut berpotensi untuk dikembangkan di masyarakat, meningkatkan nilai tambah serta paling banyak ditemukan di lapangan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Rumput laut coklat (*Sargassum crassifolium*) diperoleh dari Binuangeun, Kabupaten Lebak, Provinsi Banten. Rumput laut coklat dipisahkan dari kotoran, pasir, dan rumput laut lainnya. Untuk menghilangkan garam, rumput laut dicuci dengan air tawar lalu disimpan dalam freezer pada suhu -20°C sebelum digunakan. Bahan lain yang digunakan adalah Sephadex A-25, *Cetyl pyridinium klorida* (CPC), fukoidan komersil (*Fucus vesiculosus*), L-fukosa, glukosa, galaktosa (Sigma Aldrich), xilosa, etanol, aseton, H_2SO_4 (E. Merck), dan bahan kimia lainnya.

Ekstraksi Fukoidan

Rumput laut basah (2 kg) dikeringkan pada suhu kamar lalu digiling dan sebelum digunakan disimpan dalam kemasan plastik vakum. Tepung rumput laut direndam dalam campuran pelarut $\text{MeOH} : \text{CHCl}_3 : \text{H}_2\text{O}$ dengan perbandingan 4 : 2 : 1 pada suhu ruang selama 3 jam lalu dibilas dengan aseton, kemudian dikeringkan. Tepung rumput laut direndam dalam HCl 0,1N (1 : 10 b/v) lalu diaduk selama 6 jam pada suhu ruang. Campuran disaring menggunakan planktonnet 500 mesh dan filtratnya ditampung. Filtrat dinetralsasi

dengan NaOH 0,5 M, lalu ditambah larutan CaCl_2 4 M (1:10 v/v) sambil diaduk selama 30 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. CPC 5% ditambahkan ke dalam filtrat sampai terbentuk endapan. Setelah dilarutkan dengan aquades, ditambah CaCl_2 3 M dan disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Ke dalam filtrat ditambahkan etanol (1:2 v/v). Endapan yang diperoleh dilarutkan dengan aquades dan disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Larutan yang diperoleh didialisis menggunakan membran tabung dialisis MWCO 3.500 Dalton dalam larutan NaCl 0,5 M dan aquabides lalu diliofilisasi sehingga diperoleh ekstrak fukoidan. Ekstrak fukoidan (1,1 g dalam 50 mL) dimasukkan pada kolom kromatografi penukar anion dengan DEAE-Sephadex A-25 ($30 \times 1,7$ cm) dan dielusi dengan akuades, lalu dengan larutan natrium klorida dengan peningkatan konsentrasi (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; dan 3,5 M NaCl) sampai tidak lagi terbentuk warna kuning dari eluent dengan fenol dan H_2SO_4 (cairan bening) menggunakan metode Dubois *et al.* (1956).

Karakterisasi Fukoidan

Penentuan berat molekul hasil ekstrak fukoidan

Masing-masing sampel dan standar (10 mg) dilarutkan dalam akuabides (10 mL) dan dibiarkan semalam sampai sampel benar-benar sudah mengembang (minimal 6 jam) sebelum digunakan. Sampel dianalisis menggunakan HPLC merk Shimadzu tipe DGU-4A dengan kolom TSK Gel G5000 PW dan detektor RID-10A. Berat molekul standar pullulan yang digunakan adalah (P5, P10, P20, P50, P100, P200, P400, dan P800) $\times 10^4$ Dalton.

Penentuan kandungan sulfat

Penentuan sulfat dengan metode BaCl_2 -gelatin (Jung *et al.*, 2007)

- Preparasi BaCl_2 -gelatin
Gelatin (2 g) dilarutkan dalam 400 mL air panas ($60-70^{\circ}\text{C}$), didinginkan sampai suhu 4°C selama semalam dan larutan yang diperoleh disebut sebagai larutan (A). Di tempat terpisah, BaCl_2 (2 g) dilarutkan dalam (A) dan dibiarkan selama 2-3 jam sebelum digunakan. Larutan ini dapat disimpan pada suhu 4°C selama 1 minggu sebelum digunakan.
- Preparasi sampel fukoidan
Fukoidan (2 mg) dilarutkan dalam akuades (2 mL). Kemudian ditambahkan TCA 4% (30 mL) dan BaCl_2

-gelatin (10 mL) lalu diaduk dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) = 420 nm. Sebagai blanko digunakan aquabides (1 mL) ditambah TCA 4% (14 mL) dan BaCl₂-gelatin (5 mL).

Penentuan kadar protein dengan metode Lowry – Folin (Sudarmadji et al., 1984)

Dibuat campuran 0,1 mL sampel dan 0,9 mL pewarna Lowry. Sementara itu campuran blanko dibuat dari 0,1 mL akuades dan 0,9 mL pewarna Lowry pada tempat yang terpisah. Sampel dan blanko didiamkan selama 15 menit. Pada masing-masing sampel dan blanko ditambahkan 3 mL pewarna Folin kemudian didiamkan selama 45 menit. Sampel dan blanko diukur nilai absorbansinya pada λ = 540 nm.

Hidrolisis fukoidan (Chandía & Matsuhiro, 2008)

Sampel (5 mg) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan *trifluoro acetic acid* (TFA) 4 M sebanyak 1 mL kemudian ditutup dan dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 2 jam. Hidrolisat dinetralisasi dengan NaOH 2 M untuk menetralkan asam TFA nya.

Uji Bioaktivitas Fukoidan

Uji aktivitas sebagai antikoagulan dilakukan menggunakan uji APTT (*activated partial thromboplastin time*) menurut Zoysa et al. (2008). Pada pengujian aktivitas fukoidan sebagai antikoagulan digunakan plasma darah manusia, yang tidak diketahui jumlah trombosit awalnya. Untuk penentuan nilai APTT pada variasi konsentrasi fukoidan digunakan 5 donor plasma darah yang dianggap sebagai ulangan.

Plasma normal (100 μ L) diinkubasikan selama (1, 2, 3, dan 4) jam pada suhu 37°C dengan larutan fukoidan 100 μ g/mL menggunakan pelarut akuades. Pathromtin SL (100 μ L) ditambahkan ke larutan fukoidan dan diinkubasikan selama 2 menit pada 37°C, kemudian ditambahkan CaCl₂ 0,025 M (100 μ L) dan dicatat waktu pembekuan darah. Uji APTT pembekuan (APTT *clotting*) dilakukan dengan metode yang sama dan lama inkubasi dilakukan berdasarkan hasil uji optimasi, dan digunakan variasi konsentrasi fukoidan 100, 200, 300, dan 400 μ g/mL.

HASIL DAN BAHASAN

Ekstraksi Fukoidan dan Karakterisasi

Ekstraksi fukoidan dari *S. crassifolium* dilakukan dengan menggunakan HCl 0,1N, kemudian ditambah

CaCl₂ 4M, lalu dimurnikan dengan penukar ion DEAE Sephadex A-25, dan dikarakterisasi dengan penentuan berat molekul, uji kadar sulfat, protein, penyusun monosakarida, serta uji aktivitas fukoidan sebagai antikoagulan.

Hasil rendemen fukoidan yang diperoleh sangat kemungkinan rendah, yaitu 0,87% dari berat kering tepung *S. crassifolium*. Penyebab rendahnya rendemen tersebut masih belum jelas, kemungkinan disebabkan oleh kandungan fukoidan pada rumput laut coklat yang memang rendah, atau prosedur ekstraksinya yang harus disesuaikan dengan jenis spesies bahan baku rumput laut coklat yang digunakan. Untuk memperoleh rendemen yang lebih tinggi perlu dilakukan modifikasi terhadap prosedur ekstraksi fukoidan sebagaimana dijelaskan oleh Hiroe & Kazutosi (1982).

Karakterisasi Fukoidan

Fukoidan dari masing-masing spesies rumput laut coklat berbeda-beda baik jumlah maupun berat molekulnya. Pada penelitian ini, berat molekul fukoidan *S. crassifolium* ditentukan dengan menggunakan pullulan sebagai standar dan fukoidan komersil yang diisolasi dari *F. vesiculosus* sebagai pembanding.

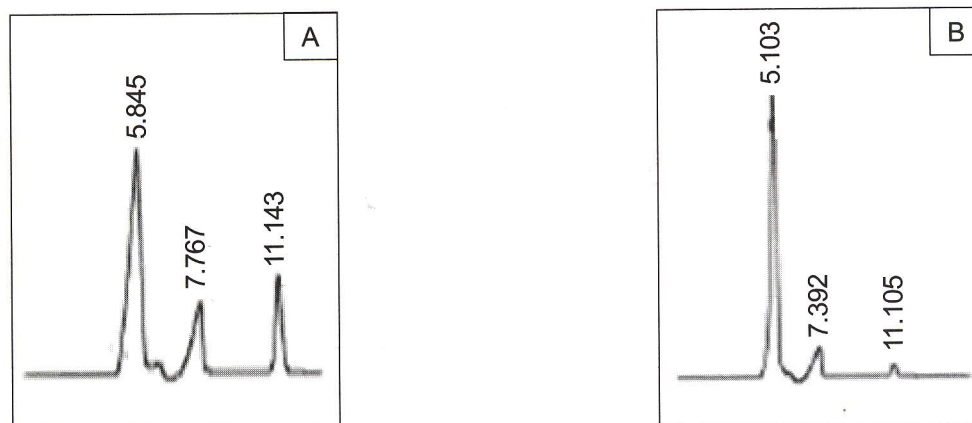
Estimasi Berat Molekul

Perhitungan estimasi berat molekul dilihat berdasarkan presentase distribusi yang terbesar pada puncak kromatogram, yaitu sebagai waktu retensi (Rf) yang dimasukkan ke persamaan garis kurva kalibrasi standar yang digunakan. Diperoleh hasil persamaan kurva kalibrasi $Y = 0,573X + 10,61$ dengan $r = 0,989$.

Berdasarkan hasil analisis kromatografi permeasi gel melalui persamaan kurva kalibrasi standar pullulan diperoleh estimasi berat molekul fukoidan dari *S. crassifolium* sebesar $7,71 \times 10^4$ Dalton, berdekatan dengan estimasi berat molekul fukoidan komersial (*F. vesiculosus*) sebesar $7,64 \times 10^4$ Dalton. Bentuk profil kromatogram yang dihasilkan dari *S. crassifolium* memiliki kemiripan dengan kromatogram *F. vesiculosus*, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 2. Berdasarkan prinsip dasar kromatografi permeasi gel, bila diperoleh berat molekul yang berdekatan kemungkinan mempunyai struktur molekul yang berdekatan pula.

Analisis sulfat

Hasil analisis ester sulfat menggunakan metode BaCl₂-gelatin tertera pada Tabel 1. Hasil uji sulfat ini sangat penting untuk mengetahui penyusun fukoidan dan aktivitasnya. Salah satu penentu aktivitas fukoidan



Gambar 1. Kromatogram estimasi berat molekul (A) *Sargassum crassifolium*, (B) Fukoidan komersial.
 Figure 1. Chromatograph of molecular weight estimation (A) *Sargassum crassifolium*, (B) Commercial fucoidan.

adalah jumlah sulfat dan posisi sulfat. Alternatif posisi sulfat yang terikat pada fukosa di kerangka fukoidan berada pada posisi C-2, C-3 atau C-4, namun posisinya dapat juga berpeluang hanya di salah satu rantai karbon atau berselang-seling. Semakin banyak sulfat terikat pada fukosa, maka fukoidan tersebut akan semakin aktif (Usov & Bilan, 2009). Berdasarkan hasil uji sulfat yang diperoleh antara fukoidan hasil penelitian dengan fukoidan pembanding, diperoleh kadar sulfat fukoidan hasil penelitian (8,55%) lebih tinggi dibandingkan kadar sulfat fukoidan komersial (2,71%). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh kadar sulfat yang terdegradasi pada saat sebelum digunakan. Hal ini ditunjukkan dengan aktivitas fukoidan komersial yang lebih tinggi dibandingkan fukoidan produk hasil penelitian.

Analisis protein fukoidan

Hasil analisis protein (Tabel 1) menunjukkan bahwa fukoidan masih terkontaminasi oleh protein. Hal tersebut mengindikasikan bahwa fukoidan mempunyai

ikatan yang kuat dengan protein, kemungkinan dalam bentuk glikoprotein, meskipun pada prosedur ekstraksi sudah dihilangkan dengan penambahan CPC. Walaupun kadar protein yang diperoleh termasuk rendah, namun hal ini menurunkan kemurnian fukoidan.

Hidrolisis fukoidan

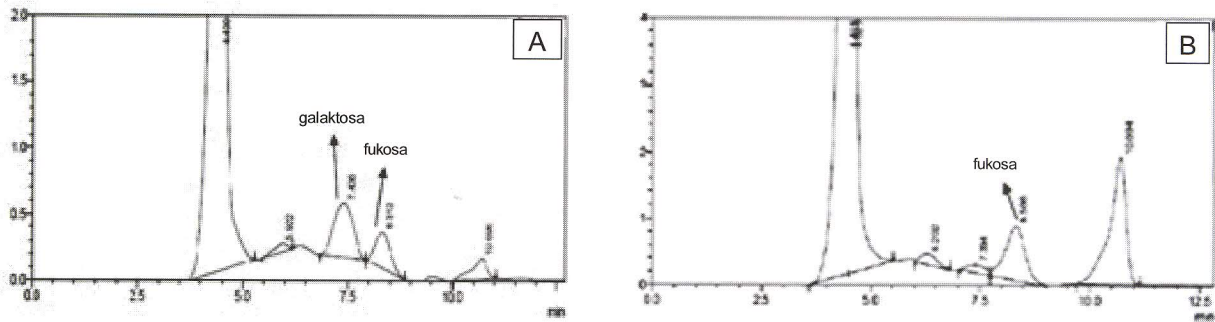
Standar karbohidrat yang digunakan adalah larutan standar fukosa, galaktosa, glukosa, dan xilosa murni. Larutan standar ini digunakan untuk mengukur hasil hidrolisis secara kualitatif dan kuantitatif. Pengukuran secara kualitatif diketahui dengan melihat waktu retensi yang muncul dari setiap larutan standar, sedangkan pengukuran secara kuantitatif diketahui dari perhitungan luas puncak area setelah dibandingkan dengan larutan standar.

Penentuan waktu retensi dari tiap puncak ini berdasarkan pada interaksi gugus hidroksil pada masing-masing karbohidrat dengan kolom kalsium yang terikat pada divinil benzen. Waktu retensi fukosa

Tabel 1. Karakteristik fukoidan dari rumput laut coklat *Sargassum crassifolium* dibandingkan dengan fukoidan komersil

Table 1. Characteristic of fucoidan from brown seaweed *Sargassum crassifolium* compared to commercial fucoidan

Parameter/Parameters	Fukoidan/Fucoidan	
	Hasil Penelitian/ Produced from The Experiment	Komersil/ Commercial
Berat molekul/Molecular weight (Dalton)	7.71x10 ⁴	7.64x10 ⁴
Sulfat/Sulphate (SO ₄ ²⁻) (%)	8.55	2.71
Protein/Protein (ppm)	0.10	0.06
Monomer penyusun (rasio)/ Monomer constituent (ratio)	Fukosa dan galaktosa/ Fucosa and galactosa (1:1.5)	Fukosa/Fucosa



Gambar 2. Kromatogram dari hasil hidrolisis fukoidan (A) *Sargassum crassifolium*, (B) Fukoidan komersial.
 Figure 2. Chromatograph from the hydrolysis from fucoidan (A) *Sargassum crassifolium*, (B) Commercial fucoidan.

8,299 menit, galaktosa 7,291 menit, glukosa 7,192 menit dan xilosa 7,186 menit (Gambar 2). Hasil hidrolisis fukoidan dari *S. crassifolium* menunjukkan adanya 2 jenis monosakarida yaitu fukosa dan galaktosa, dan puncak pada waktu retensi 10,692 menit diduga fukosa sulfat. Berdasarkan perbandingan molaritas fukosa, diperoleh perbandingan fukosa dan galaktosa yaitu 1:1,5. Menurut literatur, jenis monosakarida penyusun fukoidan dari masing-masing spesies rumput laut coklat berbeda-beda (Usov & Bilan, 2009).

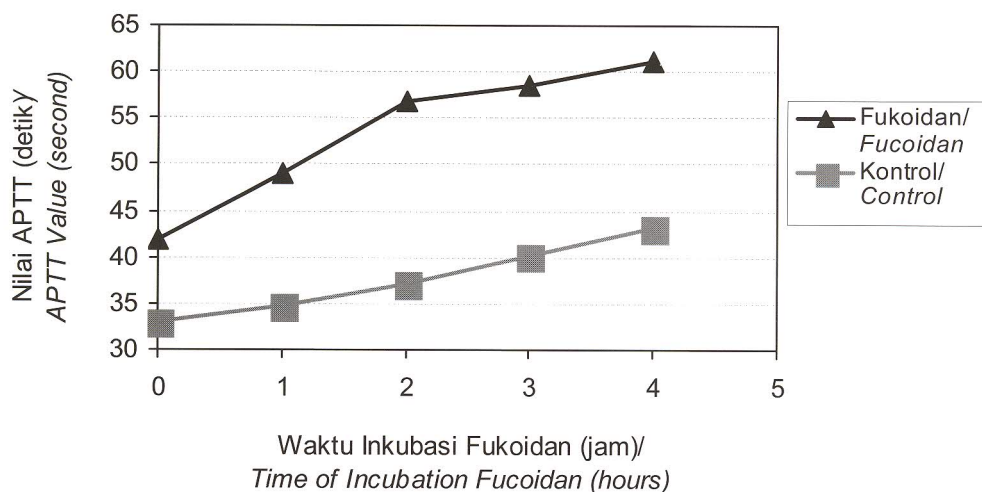
Hasil hidrolisis fukoidan komersial menunjukkan adanya tiga puncak, satu puncak yang mendekati standar yaitu fukosa pada waktu retensi 8,298 menit, fukosa sulfat pada waktu retensi 10,687 menit sedangkan puncak pada waktu retensi 6,110 menit tidak diketahui. Menurut Bo *et al.* (2008) di dalam *Fucus vesiculosus* terdapat hanya satu monosakarida yaitu fukosa dan fukosa yang mengandung sulfat.

Berdasarkan informasi tersebut ada korelasi hasil penelitian terdahulu dengan hasil hidrolisis yang diperoleh.

Bila dibandingkan dengan fukoidan komersial (*F. vesiculosus*), hasil karakterisasi fukoidan dari *S. crassifolium* menunjukkan beberapa hal yang menarik. Walaupun berat molekul kedua fukoidan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, kandungan sulfat (bentuk barium sulfat) pada fukoidan dari *S. crassifolium* tiga kali lebih besar daripada sulfat fukoidan komersial. Fukosa sulfat yang bermuatan negatif diduga merupakan bagian yang bertanggung jawab pada aktivitas fukoidan sebagai antikoagulan, sehingga fukoidan ini diperkirakan memiliki potensi yang besar sebagai antikoagulan.

Aktivitas Fukoidan sebagai Antikoagulan

Uji bioaktivitas fukoidan sebagai antikoagulan dilakukan menggunakan metode modifikasi Zoysa *et*



Keterangan/Note: Kontrol adalah pengujian APTT plasma darah tanpa fukoidan/
 Control is the APTT test on blood plasma without fucoidan

Gambar 3. Nilai APTT dari variasi inkubasi fukoidan (0, 1, 2, 3, dan 4 jam).
 Figure 3. APTT values from varied incubation time of fucoidan (0, 1, 2, 3 and 4 hours).

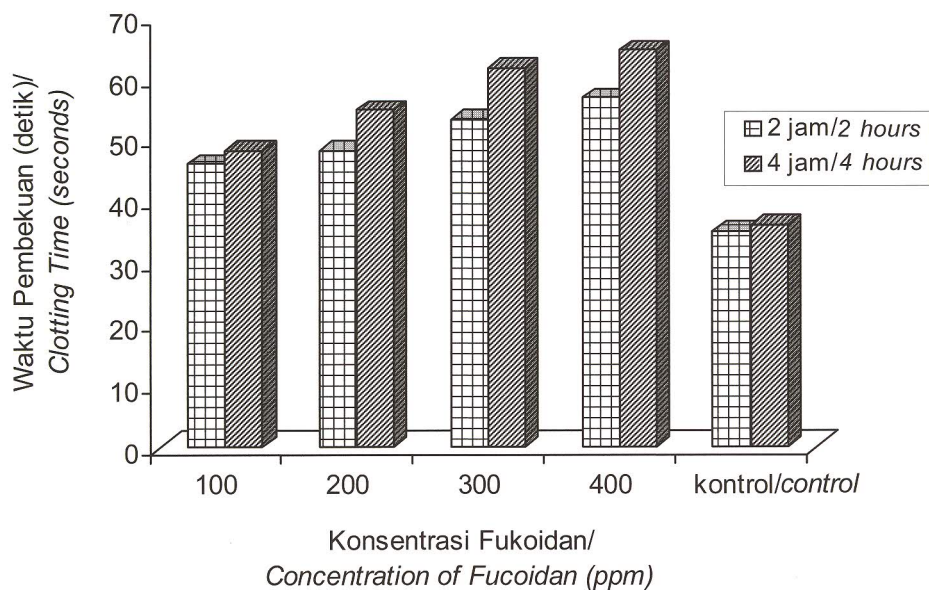
al. (2008). Berdasarkan hasil uji APTT dengan lama inkubasi 1, 2, 3, dan 4 jam pada suhu 37°C dengan konsentrasi fukoidan 100 µg/mL, diperoleh perpanjangan nilai APTT yang signifikan pada waktu inkubasi 2 dan 4 jam. Hasil nilai APTT ini diperoleh dari satu donor plasma darah manusia.

Waktu optimal inkubasi perlu diketahui untuk mengetahui waktu kerja fukoidan dalam tubuh, jika fukoidan akan digunakan sebagai terapi antikoagulan. Dengan demikian dapat diketahui jarak waktu pemberian (konsumsi) bahan antikoagulan (fukoidan) tersebut (Rahayu, 2009).

Berdasarkan hasil uji optimasi waktu inkubasi fukoidan diperoleh perpanjangan nilai APTT yang signifikan pada jam ke-2 dan 4. Selanjutnya dilakukan uji variasi konsentrasi fukoidan, yaitu 100, 200, 300, dan 400 µg/mL dengan menggunakan plasma darah dari 5 orang donor yang berbadan sehat. Plasma tersebut tidak diketahui jumlah trombositnya. Hasil

APTT tetapi variasi konsentrasi fukoidan (100–400) µg/mL tidak menunjukkan perbedaan pada perpanjangan nilai APTT. Semakin panjang nilai APTT dari suatu produk maka semakin tinggi peluang produk tersebut berfungsi sebagai antikoagulan (Rahayu, 2009). Produk fukoidan berpotensi sebagai antikoagulan bila nilai APTT-nya minimal 1,5 kali dari nilai APTT kontrol (Rahayu, 2009).

Perbandingan antara aktivitas antikoagulan fukoidan dari rumput laut *S. crassifolium* (yang diperoleh dari hasil penelitian) dan fukoidan komersil (*F. vesiculosus*) menggunakan donor plasma yang sama menunjukkan bahwa waktu pembekuan darah fukoidan yang dihasilkan *F. vesiculosus* lebih tinggi dibandingkan dengan fukoidan dari *S. crassifolium*. Hal ini kemungkinan karena fukoidan dari *S. crassifolium* masih belum murni, yang dibuktikan dengan adanya protein yang diperoleh dari pengujian Lowry-Folin, selain itu kemungkinan juga disebabkan perbedaan kelarutan fukoidan, serta rendahnya kandungan sulfat. Kandungan sulfat pada fukoidan



Keterangan/Note: Kontrol adalah pengujian APTT plasma darah tanpa fukoidan/
Control is the testing of blood plasma APTT without fucoïdan

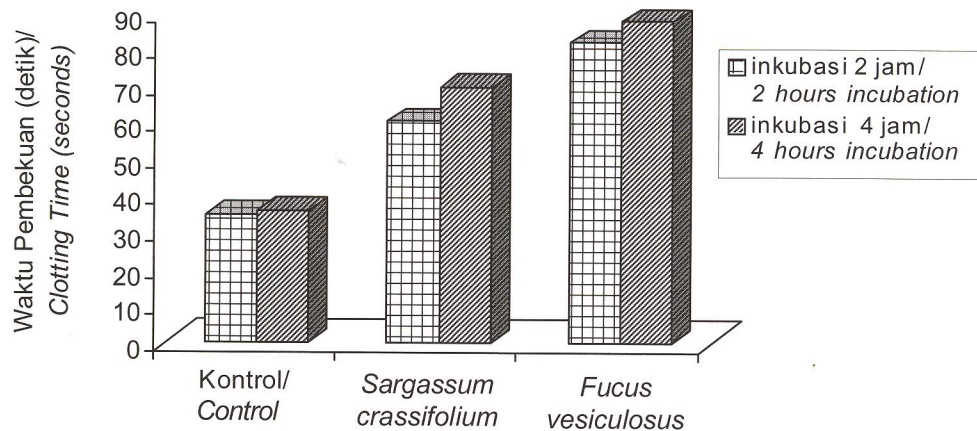
Gambar 4. Nilai APTT dari variasi konsentrasi fukoidan.
Figure 4. APTT value from varied of concentration of fucoïdan.

rata-rata nilai APTT tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil uji statistik dengan metode Duncan's menunjukkan bahwa antara perlakuan variasi konsentrasi fukoidan dengan kontrol mempunyai perbedaan yang signifikan (berbeda 25 detik). Sedangkan antar perlakuan variasi konsentrasi fukoidan yang dilakukan tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap nilai APTT. Pemakaian fukoidan sebagai antikoagulan memberikan pengaruh pada nilai

komersil berdasarkan penelitian Nishino (1991) adalah 26,3%. Faktor-faktor tersebut menjadikan aktivitas fukoidan dari *S. crassifolium* lebih rendah dari *F. vesiculosus* (Bo et al., 2008).

Berdasarkan penelitian Bo et al. (2008), fukoidan *F. vesiculosus* memiliki aktivitas antikoagulan lebih besar dari heparin. Sementara Adams & Thorpe (1962) dalam Shanmugam & Mody (2000) menyatakan bahwa aktivitas *F. vesiculosus* sebagai antikoagulan bernilai 8,9 dan heparin 9 unit/mg (Usov et al., 2004).



Keterangan/Note: Kontrol pengujian adalah APTT plasma darah tanpa fukoidan/
Control was APTT test of blood plasma without fucoidan

Gambar 5. Perbandingan aktivitas antikoagulan nilai APTT pada konsentrasi 400 µg/mL.
Figure 5. Comparison of anticoagulant activity APTT values at concentration of 400 µg/mL.

Faktor yang mempengaruhi fukoidan sehingga mampu berfungsi sebagai antikoagulan adalah karena adanya gugus sulfat sebagai gugus aktif dari fukoidan. Gugus sulfat ini akan berinteraksi dengan antitrombin III (AT-III) dan heparin ko-faktor (HC-II). Secara alami antitrombin III akan bekerja menghambat trombin yaitu enzim yang dapat mengubah fibrinogen menjadi fibrin, dan polimerisasi fibrin oleh transglutaminase yang menyebabkan terjadinya pembekuan. Antitrombin juga menghambat koagulasi serin protease yang mampu mengubah prototrombin menjadi trombin (Usov & Bilan, 2009). Interaksi langsung fukoidan dengan antitrombin dan serin-protease akan mengakibatkan enzim yang aktif menjadi tidak aktif. Efek antikoagulan ini disebabkan oleh 2,3 disulfat dari fukosa yang dimiliki oleh fukoidan (Chevolot *et al.*, 1999). Dengan demikian semakin banyak gugus sulfatnya maka semakin tinggi sifat antikoagulannya. Faktor lain yang mempengaruhi sifat antikoagulan yaitu berat molekul, namun berat molekul yang semakin tinggi tidak menjadi jaminan semakin tinggi sifat antikoagulannya. Adanya kerangka α -D-asam glukuronat dalam fukoidan dapat menurunkan sifat antikoagulannya (Usov *et al.*, 2004). Selain itu fukoidan dapat juga bekerja melalui jalur intrinsik pada sistem pembekuan darah, yaitu dengan menghambat kerja FIXa.

KESIMPULAN

Rendemen fukoidan yang diperoleh adalah 0,87%. Berat molekul fukoidan yang diperoleh $7,71 \times 10^4$ Dalton, mendekati berat molekul fukoidan komersil $7,64 \times 10^4$ Dalton. Monosakarida penyusun fukoidan

yang ditemukan adalah fukosa dan galaktosa dengan rasio molaritas 1:1,5. Hasil uji antikoagulan fukoidan dari 5 donor plasma darah menunjukkan fukoidan berpotensi sebagai antikoagulan pada konsentrasi minimal 100 µg/mL setelah inkubasi 2 atau 4 jam.

SARAN

Perlu digunakan metode lain dalam ekstraksi fukoidan untuk mendapatkan rendemen fukoidan yang lebih tinggi pada rumput laut *S. crassifolium*.

DAFTAR PUSTAKA

- Berteau, O. and Mulloy, B. 2003. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology*. 13: 29R–40R.
- Bo, L., Rui, X.Z., and Xin, J.W. 2008. Anticoagulant activity of fucoidan from *Hizikia fusiforme*. *Agro Food Ind. Hitech*. 19: 22–24.
- Chandia, N.P. and Matsuhiro, B. 2008. Characterization of a fucoidan from *Lessonia vadosa* (Phaeophyta) and its anticoagulant and elicitor properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 42: 235–240.
- Chevolot, L., Foucault, A., and Chauber, F. 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr. Res.* 319: 154–165.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350–356.
- Frank, C., James, B.M, Rita, E.T., Whinna, and Herbert, C. 1989. *Antitrombin Activity of Fucoidan*. 264(6): 3618–3623.

- Hiroe, M. and Kazutosi, N. 1982. Sugar constituents of sulfated polysaccharides from the fronds of *Sargassum ringgoldianum*. *Buletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 48(7): 981–986.
- Jung, K.W., Min, K.S., Guell, K.H., and Rim, O.H. 2007. Purification and anticoagulant activity of fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyll. *Journal Alga*. 22(3): 247–252.
- Ly, M.N., Buu, N.Q., Nguyen, D.N., Pham, D.T., and Tran, T.T.V. 2006. Studies on fucoidan and its production from vietnamese brown seaweeds. *AJSTD*. 22(4): 371–380.
- Mulloy, B., Ribeiro, A.C., Alves, A.P., Vieira, R.P., and Mourao, P.A.S. 1994. Sulfated fucans from echinoderms have a regular tetrasaccharide repeating unit defined by specific patterns of sulfation at the 0-2 and 0-4 positions. *Journal of Biological Chemistry*. 269: 22113–22123.
- Nishino, T., Aizu, Y., and Nagumo, T. 1991. The relationship between the molecular weight and the anticoagulant activity of two types of fucan sulfates from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Agricultural and Biological Chemistry*. 55: 791–796.
- Rahayu, D.S. 2009. *Hemostasis dan Trombosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Edisi keempat. p. 1–5, 113–122.
- Shanmugam, M. and Mody, K. H. 2000. Heparinoid-active sulphated polysaccharides from marine algae as potential blood anticoagulant agents. *Current Science*. 79: 1672–1683.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Usov, A.I. and Bilan, M.I., 2009. Fucoidan–sulfated polysaccharides of brown algae. *Russian Chemical Reviews*. 78(8): 785–799.
- Usov, A.I., Smirnova, G.P., Kamenarska, Z., Dimitrova-Konaklieva, S., Stefanov, K.L. and Popov, S.S. 2004. Polar constituents of brown seaweed *Colpomenia peregrina* (Sauv.) Hamel from the Black Sea. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry (Translation of Bioorganicheskaya Khimiya)*. 30: 161–167.
- Zoysa, M., Nikapitiya, C., Jeon, Y.J., Jee, Y., and Lee, J. 2008. Anticoagulant activity of sulfated polysaccharide isolated from fermented brown seaweed *Sargassum fulvellum*. *J. Appl. Phycol.* 20: 67–74.