

EKSTRAKSI POLISAKARIDA SULFAT DARI *Sargassum polycystum* DENGAN METODE *MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION* DAN UJI TOKSISITASNYA

Extraction of Sulfate Polysaccharide from Sargassum polycystum Using Microwave Assisted Extraction Method and Its Toxicity Test

Riong Seulina Panjaitan* dan Lidya Natalia

Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta,

Jl. Sunter Permai Raya No.1, DKI Jakarta, 14350, Indonesia

*Korespondensi Penulis: riongpanjaitan@yahoo.co.id

Diterima: 10 Agustus 2020; Direvisi: 27 September 2020; Disetujui: 18 Maret 2021

ABSTRAK

Sargassum polycystum merupakan alga cokelat penghasil polisakarida sulfat yang memiliki aktivitas farmakologi yang menjanjikan. Selama ini metode ekstraksi polisakarida sulfat masih bersifat konvensional (seperti maserasi, sokletasi, dan refluks) yang memerlukan waktu ekstraksi relatif lama (4-6 jam). Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi polisakarida sulfat menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) serta melakukan uji toksisitasnya. Karakterisasi ekstrak polisakarida sulfat menggunakan spektrofotometer *UV-Visible* dan *Fourier Transform Infrared* (FT-IR). Uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil ekstraksi polisakarida sulfat diperoleh rendemen sebesar $3,42 \pm 0,01\%$, tidak jauh berbeda dari metode konvensional, dengan susut pengeringan polisakarida sulfat $7,60 \pm 0,085\%$. Karakterisasi polisakarida sulfat dengan spektrofotometer *UV-Visible* diperoleh panjang gelombang optimum pada 270 nm. Hasil spektrum FT-IR terdapat gugus fukosa yang dihubungkan oleh gugus sulfat dan O-Sulfat yang mengindikasikan adanya fukoidan. Selain itu, ditemukan peregangan ester C=O yang menunjukkan adanya asam uronat. Asam tersebut merupakan penyusun alginat dimana bukan merupakan polisakarida sulfat. Dari uji toksisitas diperoleh nilai LC_{50} polisakarida sulfat terhadap larva *A. salina* Leach sebesar 113,11 mg/mL yang tergolong kategori toksik. Ekstraksi polisakarida sulfat menggunakan MAE dapat mempercepat waktu ekstraksi dibandingkan dengan metode konvensional, tetapi perlu dilakukan tahap selanjutnya untuk menghilangkan senyawa pengotor lainnya seperti asam uronat.

KATA KUNCI: *Sargassum polycystum*, polisakarida sulfat, *microwave assisted extraction*, toksisitas, *Artemia salina* Leach

ABSTRACT

Sargassum polycystum, a brown algae, produces sulfate polysaccharides that have promising pharmacological activity. To date, the extraction of sulfate polysaccharide is still conventional (such as maceration, shoxletation and reflux) and requires a relatively long time (4-6 h). This study aims to extract the sulfate polysaccharides using the *Microwave Assisted Extraction* (MAE) and assess the toxicity. Sulfate polysaccharide extract was characterized by *UV-Visible* and *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) spectrophotometer and tested for its toxicity against *Artemia salina* Leach larvae using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. The yield of sulfate polysaccharide extraction was $3.42 \pm 0.01\%$, which is not much different from conventional methods, but the advantage of the MAE method is in terms of time efficiency. The result of the calculation of the drying shrinkage weight of the sulfate polysaccharide is $7.60 \pm 0.085\%$. Characterization of sulfate polysaccharide using a *UV-Visible* spectrophotometer obtained an optimum wavelength at 270 nm. Based on spectra of FT-IR, it was identified that there are fucose groups which are connected by sulfate and O-Sulfate groups which indicates the presence of fucoidan. In addition, there was still a stretch of ester C=O which indicates the presence of uronic acid. The acid is a constituent of alginate which is not a sulfate polysaccharide. The LC_{50} value of sulfate polysaccharide against *A. salina* Leach larvae was 113.11 mg/mL which was classified as toxic. The extraction of sulfate polysaccharides using MAE can speed up the extraction time compared to conventional method, but a further step is needed to remove other impurities such as uronic acid.

KEYWORDS: *Sargassum polycystum*, sulfate polysaccharide, *microwave assisted extraction*, toxicity, *Artemia salina* Leach

PENDAHULUAN

Sargassum sp. dilaporkan memiliki kandungan karbohidrat (47,73%), protein (11,20%), lipid (1,06%), polisakarida (21,01%), serat (4,83%), makro, dan mikro elemen seperti kalium, natrium, magnesium, dan besi (Idrus, Hadinoto, Smith, & Loupatty, 2019; Peng et al., 2013). Polisakarida yang tinggi pada *Sargassum* sp. berasal dari dinding sel yang mengandung sejumlah polisakarida dominan yaitu asam alginat (alginat), laminaran (laminarin) dan polisakarida sulfat (fukoidan) (Idrus et al., 2019; Sinurat & Kusumawati, 2017). Polisakarida sulfat yang umum terdapat pada alga cokelat adalah fukoidan. Fukoidan adalah polisakarida yang mengandung fukosa dan gugus sulfat ester serta bersifat larut air. Umumnya fukoidan ditemukan pada alga cokelat, bulu babi, dan teripang serta memiliki aktivitas farmakologis yang besar (Ale & Meyer, 2013; Senthilkumar, Manivasagan, Venkatesan, & Kim, 2013; Vanavil, Selvaraj, Aanandhalakshmi, Sri, & Arumugam, 2020; Zhang, Zhang, Tang, & Mao, 2020).

Teknik ekstraksi polisakarida sulfat (fukoidan) yang umum diaplikasikan masih bersifat konvensional (maserasi dan sokhletasi). Teknik tersebut memiliki beberapa kelemahan seperti membutuhkan waktu yang lama (4-6 jam), persentase rendemen yang relatif rendah, dan dapat mempengaruhi struktur polisakarida sulfat (Nguyen et al., 2020; Sinurat & Kusumawati, 2017; Sugiono, 2017). Seiring perkembangan teknologi, teknik ekstraksi modern mulai dikembangkan dan ditingkatkan, yaitu menggunakan gelombang mikro (*Microwave Assisted Extraction/MAE*), gelombang ultrasonic (*Ultrasound Assisted Extraction/UAE*) dan *super critical extraction* (SFE). Dibandingkan dengan kedua metode modern lainnya (UAE dan SFE), metode MAE memiliki keunggulan dari efisiensi waktu ekstraksi (umumnya kurang dari 30 menit), persentase rendemen yang diperoleh relatif lebih besar, minim penggunaan pelarut, ramah lingkungan, dan sederhana (Kothari, Gupta, & Naraniwal, 2012; Lim & Mustapha, 2017; Mandal, Mohan, & Hemalatha, 2007; Mustalib, 2015).

Penelitian sebelumnya telah membuktikan aktivitas farmakologis polisakarida sulfat *Sargassum fusiforme* seperti antikoagulan dan immunostimulan (Faggio et al., 2014; Sinurat & Kusumawati, 2017), anti-oksidasi (Phull, Majid, Haq, Khan, & Kim, 2017), antivirus (Hayashi et al., 2007), antibakteri (Zhao et al., 2018). Salah satu uji pendahuluan dalam eksplorasi bahan baku obat dari bahan alam adalah uji toksisitasnya (Muaja, Koleangan, & Runtuwene, 2013). Pada penelitian ini ekstrak polisakarida sulfat *Sargassum polycystum* yang dihasilkan juga diuji toksisitasnya dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Metode BSLT merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui toksisitas dari sampel dengan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Aktivitas toksisitas dapat ditentukan dari jumlah kematian *A. salina* Leach yang dinyatakan dalam nilai *Lethal Concentration 50/LC₅₀* (Sartinah et al., 2020). Beberapa keuntungan lainnya dari metode ini dibandingkan dengan metode uji toksisitas lainnya yaitu waktu pengujian yang cepat, biaya lebih efisien, pengerjaan praktis, tidak memerlukan lingkungan yang aseptis/steril, sampel yang digunakan sedikit, dan hasil ujinya dapat berkorelasi baik dengan beberapa metode uji sitotoksik (Zuraida, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi polisakarida sulfat dari *S. polycystum* dengan teknik MAE menggunakan pelarut akuades dan menguji toksisitasnya dengan metode BSLT.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel alga cokelat (*S. polycystum*) segar diperoleh dari Laut Binuangun, Kecamatan Malingping, Kabupaten Lebak, Provinsi Banten, (-6°50'7.5" LS dan 105°53'11.3"E). Sampel diambil pada pagi hari sekitar pukul 07.00-08.00 WIB. Selama dalam proses pengangkutan dari pantai ke laboratorium, sampel disimpan di dalam *cooler box* untuk mempertahankan kesegarannya. Di laboratorium, sampel segar dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan sisa-sisa karang yang melekat. Penyimpanan sampel dilakukan di dalam *freezer*. Tahap selanjutnya, sampel alga cokelat diidentifikasi spesiesnya di Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Ancol, Jakarta Utara.

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini etanol absolute p.a. 99% (FullTime), CaCl₂ (Merck) dan akuades. Bahan yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu telur *A. salina* Leach (*Supreme Plus*), dan garam tanpa iodium.

Metode

Preparasi sampel alga

Alga cokelat (*S. polycystum*) dikeringkan dengan oven (*Memmert UN55 B2 17.3244*) pada suhu 60-70°C selama 30 menit, kemudian disortasi kering. Selanjutnya dihaluskan dengan blender (*Miyako BL-101*) dan disaring dengan ayakan mesh 100 hingga diperoleh bubuk alga cokelat. Bubuk alga cokelat ditimbang sebanyak 30 g dan direndam dalam larutan etanol 80% dengan perbandingan 1:10 (w/v). Campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang selama 18 jam dan dilanjutkan pada suhu

70°C selama 4 jam untuk menghilangkan pigmen, protein, mannitol, dan garam yang terdapat pada alga (Yuan & Macquarrie, 2015). Larutan alga cokelat disentrifugasi dengan *centrifuge (Hettich EBA 200)* pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. Pellet yang diperoleh dikeringkan dan ditimbang untuk tahap penelitian selanjutnya (Wang & Chen, 2016). Preparasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

Ekstraksi polisakarida sulfat dengan metode *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Pada penelitian ini, polisakarida sulfat diekstraksi berdasarkan metode Wang dan Chen (2016) yang dimodifikasi, dengan mengubah teknik ekstraksi yang digunakan dari metode maserasi menjadi metode MAE. Sebanyak 25,86 g bubuk alga cokelat hasil preparasi tahap sebelumnya diekstraksi dengan *microwave oven (Panasonic NN-GD6925)* selama 5 menit. Akuades digunakan sebagai pelarut dengan rasio perbandingan sampel dan pelarut adalah 1:10 (w/v) (Yuan & Macquarrie, 2015). Ekstrak yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang untuk memisahkan filtrat dari residu. Filtrat yang diperoleh ditambahkan CaCl_2 2% (w/v) dan didiamkan semalam pada suhu 4°C, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang untuk menghilangkan alginat. Selanjutnya, filtrat ditambahkan etanol *absolute* (1:2) (v/v) dan disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. Endapan yang diperoleh dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C selama $\pm 15-30$ menit kemudian ditimbang berat endapan yang diperoleh untuk menghitung rendemen ekstrak. Ekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Perhitungan susut pengeringan

Sebanyak 1-2 g bubuk polisakarida sulfat ditimbang dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu penetapan (105°C) selama 30 menit. Bubuk diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga menjadi lapisan setebal 5-10 mm, kemudian dimasukkan ke oven, dan dikeringkan pada suhu penetapan (105°C) hingga bobot tetap. Susut pengeringan dihitung terhadap bahan awal dan percobaan diulang sebanyak dua kali (Hidayati, Sumiarsih, & Mahmudah, 2018).

Karakterisasi polisakarida sulfat

Sebanyak 20 mg sampel polisakarida sulfat dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 25 mL, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang

200-400 nm dengan spektrofotometer UV-Vis (Genesys 150 UV-Vis Thermo Scientific USA). Hasil pengukuran dibandingkan dengan literatur senyawa baku polisakarida sulfat (Domili, 2018).

Sebanyak 1 mg sampel polisakarida sulfat yang sudah dihaluskan, digerus dengan 200 mg KBr di dalam mortar sampai homogen. Serbuk kemudian dibuat lapis tipis dan transparan pada tekanan 7000 Pa. Analisis dilakukan dengan FT-IR (*spectrum one* Perkin Elmer USA) pada bilangan gelombang 500-4000 cm^{-1} (Rodriguez-Jasso, Mussato, Pastrana, Aguilar, & Teixeira, 2011; Sinurat & Kusumawati, 2017), dan hasil spektrum kemudian dibandingkan dengan spektrum dari literatur senyawa baku polisakarida sulfat.

Uji toksisitas ekstrak polisakarida sulfat dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* dan perhitungan nilai LC_{50}

Penetasan telur *A. salina* berdasarkan metode Sahgal et al., (2009). Telur *A. salina* Leach sebanyak 1 g ditaburkan secara berhati-hati dalam 2 liter air laut buatan (38ppt) dalam wadah bersekat (terang dan gelap). Larutan baku polisakarida sulfat dibuat dengan konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/mL}$ dalam air laut buatan, dan dibuat seri konsentrasi 1000, 100 dan 10 $\mu\text{g/mL}$. Sebagai kontrol digunakan air laut buatan tanpa ekstrak. Sepuluh ekor larva *A. salina* yang telah berusia 48 jam dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi 10 mL larutan seri konsentrasi ekstrak polisakarida sulfat dan kontrol negatif. Vial-vial tersebut diinkubasi di bawah sinar lampu 25 watt selama 24 jam dan dihitung jumlah larva yang mati. Percobaan dilakukan sebanyak lima kali. Nilai LC_{50} dari polisakarida sulfat dianalisa dengan program IBM SPSS *statistic 24* menggunakan metode regresi probit dari nilai antilog faktor X (konsentrasi perlakuan) terhadap respon Y (nilai probit dari persentase mortalitas larva *A. salina*) pada tingkat kepercayaan 95% (Hamidi, Jovanova, & Panovska, 2014; Meyer et al., 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Polisakarida Sulfat

Penggunaan pelarut akuades dalam proses ekstraksi *S. polycystum* didasarkan karena sifat polisakarida sulfat yang larut air (Zhang et al., 2020). Selain itu, akuades juga memiliki kelebihan dalam mempertahankan stabilitas dan muatan keseluruhan molekul, sehingga menghasilkan mutu terbaik polisakarida sulfat terutama mutu bioaktivitasnya. Di samping itu, kelarutan polisakarida dalam akuades

lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan pelarut asam encer yang juga dapat mempengaruhi kemurnian dari polisakarida sulfat (Junaidi, 2013; Sinurat & Kusumawati, 2017). Hal ini disebabkan karena terbentuknya asam alginat dari alginat dalam suasana asam (Lim & Mustapha, 2017).

Pada proses ekstraksi polisakarida sulfat (fukoidan), beberapa proses perlu dilakukan untuk menghilangkan senyawa-senyawa lain. Penambahan $CaCl_2$ berperan dalam pengendapan alginat untuk meningkatkan kemurnian polisakarida sulfat (Wang & Chen, 2016). Alginat pada dasarnya merupakan polisakarida larut air dan akan bereaksi membentuk kalsium alginate yang tidak larut air dengan penambahan $CaCl_2$ (Lim & Mustapha, 2017; McHugh, 2003). Pencampuran ($CaCl_2$) dilakukan dengan hati-hati bertujuan untuk menghindari terbentuknya serat dari kalsium alginat dan pencampuran yang buruk akan menghasilkan padatan agar-agar (McHugh, 2003). Penambahan etanol bertujuan untuk mengendapkan polisakarida sulfat dari ekstrak alga (Ale & Meyer, 2013; Wang et al., 2015).

Ekstrak polisakarida sulfat dari *S. polycystum* berbentuk bubuk kasar dan berwarna cokelat tua. Warna ekstrak yang diperoleh menyerupai fukoidan yang diekstrak menggunakan pelarut akuades (Sinurat & Kusumawati, 2017). Persentase rendemen ekstrak polisakarida sulfat yang diperoleh dari bubuk alga *S. polycystum* sebesar $3,42 \pm 0,01\%$. Nilai tersebut tidak jauh berbeda dibandingkan dengan rendemen polisakarida sulfat (fukoidan) yang diperoleh dengan metode konvensional/maserasi (Tabel 1 no. 3 dan 6), tetapi terdapat perbedaan rendemen jika dibandingkan dengan metode refluks, dengan pemakaian jenis pelarut yang sama yaitu akuades (Tabel 1 no. 5). Meskipun rendemen polisakarida yang dihasilkan setara atau lebih rendah, jika ditinjau dari waktu ekstraksi yang digunakan, metode MAE jauh lebih efisien (5 menit) dibandingkan dengan metode konvensional (maserasi) dengan waktu ekstraksi 1-4 jam. Microwave berperan membantu memecahkan dinding sel dalam waktu yang relatif cepat. Pecahnya dinding sel menyebabkan analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi cepat ke dalam pelarut.

Tabel 1. Persentase rendemen ekstrak polisakarida sulfat
 Table 1. Percentage of sulfate polysaccharides extract yields

No.	Alga/Algae	Teknik ekstraksi/ Extraction technique	Waktu ekstraksi/ Extraction time	Pelarut/ Solvent	Rendemen/ Yield (%)	Referensi/ Reference
1	<i>Sargassum polycystum</i>	MAE	5 Menit/Minutes	Akuades/ Aquadest	3.42 ± 0.01	Hasil penelitian ini/ <i>This study</i> Palanisamy, Vinosha, Marudhupandi, Rajasekar, & Prabhu (2017)
2.	<i>Sargassum polycystum</i>	Maserasi	1 Jam/Hour	Akuades/ Aquadest	4.51	Sinurat dan Kusumawati (2017)
3.	<i>Sargassum binderi</i>	Maserasi	4 Jam/Hours	Akuades/ Aquadest	3.36	Widiatma, Hardoko dan Sasmito (2013)
4.	<i>Sargassum filipendula</i>	Maserasi	9 Jam/Hours	Alkali/ Alkaline	1.15	Nurhidayati, Fitriani, Abdillah, Mumpuni, dan Rafi, (2020)
5.	<i>Sargassum cinereum</i>	Refluks	4-5Jam/Hours	Akuades/ Aquadest	2.77-2.78	Junaidi (2013)
6.	<i>Sargassum sp.</i>	Maserasi	1-4Jam/Hours	Akuades/ Aquadest	2.35-4.10	Yuan dan Macquarrie, (2015)
7.	<i>Ascophyllum nodosum</i>	MAE	5-30 Menit/Minutes	Asam klorida/ Hydrochloric acid	6.48-14.55	Rodriguez-Jasso et al. (2011)
8.	<i>Fucus vesiculosus</i>	MAE	1-31 Menit/Minutes	Akuades/ Aquadest	1.08-18.22	

Rendemen polisakarida sulfat (fukoidan) yang diekstraksi dengan metode MAE menggunakan pelarut akuades dari alga *Fucus vesiculosus* (Rodriguez-Jasso et al., 2011) dan *Ascophyllum nodosum* (Yuan & Macquarrie, 2015) masing-masing sebesar 18,22% dan 11,97%. Jika dibandingkan hasil rendemen polisakarida sulfat pada penelitian ini (3,42%), maka diperoleh perbedaan persentase rendemen yang tinggi (>10%). Hal ini dapat disebabkan karena kurangnya pengadukan sehingga hasil ekstraksi kurang sempurna. Pada penelitian ini, tidak dilakukan pengadukan, sedangkan pada penelitian lain terdapat pengadukan pada perangkat MAE yang digunakan. Perbedaan spesies dari alga, lingkungan tempat hidupnya (seperti arus laut, suhu, kedalaman pertumbuhan alga, salinitas air laut), lokasi geografis, waktu panen, tahapan pertumbuhan, dan musim juga dapat mempengaruhi rendemen polisakarida sulfat (Sinurat & Kusumawati, 2017; Wang & Chen, 2016). Persentase rendemen polisakarida sulfat yang diekstraksi dengan metode konvensional (maserasi) dari beberapa penelitian dirangkum pada Tabel 1.

Hasil Susut Pengeringan

Hasil rata-rata susut pengeringan ekstrak polisakarida sulfat pada penelitian ini adalah $7,60 \pm 0,08\%$. Hasil ini lebih rendah dari susut pengeringan fukoidan dari *Sargassum ilicifolium* yaitu sebesar 19,32% (Mashitha, 2017). Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik yang harus dipenuhi dalam standarisasi tumbuhan yang berkhasiat obat dengan cara memberikan batasan maksimal atau rentang mengenai besarnya senyawa uji yang hilang pada proses pengeringan. Nilai atau rentang parameter yang diperbolehkan dapat

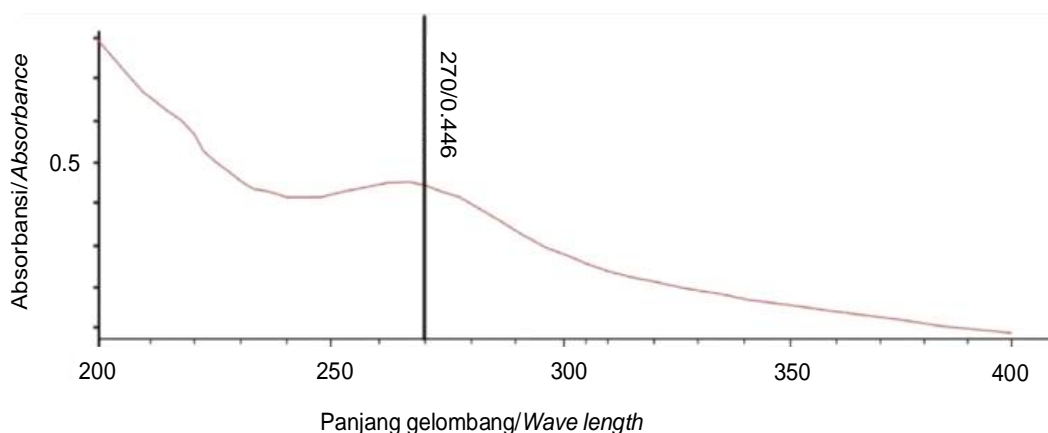
dikaitkan dengan kemurnian dan kontaminasi senyawa atau ekstrak. Persyaratan batas maksimal senyawa uji yang hilang pada proses pengeringan tidak lebih dari 11% (Hidayati et al, 2018). Kadar air kurang dari 11% merupakan persyaratan yang diperbolehkan dalam simplisia terkait dengan kemurnian dan kontaminasi. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar polisakarida sulfat yang diperoleh pada penelitian ini memenuhi persyaratan batas maksimal.

Karakterisasi Ekstrak Polisakarida sulfat

Karakterisasi ekstrak polisakarida sulfat dengan spektrofotometer UV-Visible

Hasil analisa spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 200-400 nm menunjukkan bahwa serapan puncak polisakarida sulfat dari alga cokelat *S. polycystum* terdapat pada panjang gelombang 270 nm dengan absorbansi 0,466 (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Moon et al., (2009) bahwa serapan polisakarida sulfat (khususnya fukoidan) terjadi pada kisaran 260-350 nm dengan peak maksimum berada pada 270 nm. Selain itu, ciri khas dari polisakarida adalah adanya gugus karbonil (186-280 nm) dan gugus keton tidak jenuh (275 nm) (Suhartati, 2017).

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, jenis pelarut mempengaruhi panjang gelombang optimum dari suatu polisakarida. Polisakarida sulfat yang diekstraksi dengan HCl mempunyai panjang gelombang optimum pada 207,5 nm (Ningrum, Hardoko, & Sasmito, 2013) dan 260 nm (Deepika et al., 2019), sedangkan pada pelarut etanol panjang gelombang optimumnya 265,5 nm dan 262,5 nm (Deepika et al., 2019; Domili, 2018). Perbedaan pelarut



Gambar 1. Spektrum UV-Vis polisakarida sulfat *S. polycystum*

Figure 1. UV-Vis Spectrum of sulfate polysaccharide from *S. polycystum*

yang digunakan diketahui dapat mengubah tingkat energi eksitasi suatu senyawa (Suhartati, 2017).

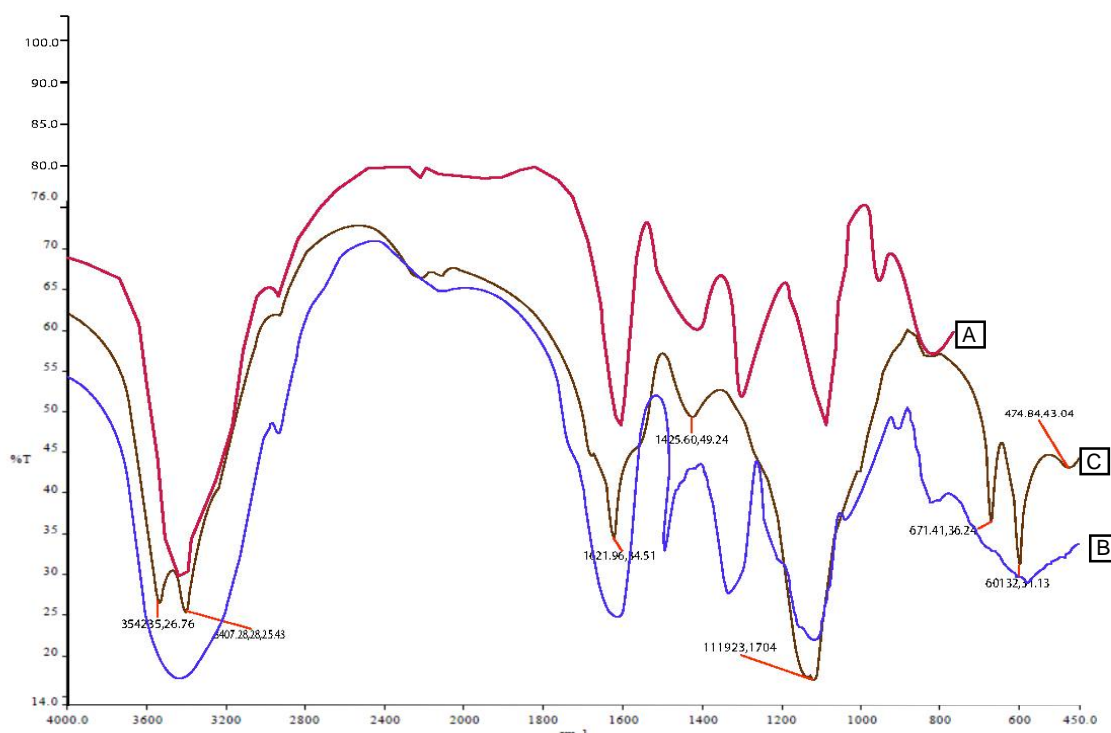
Karakterisasi polisakarida sulfat dengan FT-IR

Karakterisasi polisakarida sulfat dapat dilakukan dengan menganalisis gugus fungsi dengan serapan infra merah (FT-IR). Pada penelitian, ini merujuk pada gambar 2C, terlihat pita serapan kuat dan lebar pada bilangan gelombang 3542,35 cm^{-1} dan 3407,28 cm^{-1} dimana merupakan vibrasi dari gugus fungsi O-H dari peregangan pada karbohidrat. Pada pita puncak gelombang 1621,96 cm^{-1} menunjukkan vibrasi ikatan rangkap C=C. Puncak pita serapan 1425,60 cm^{-1} mengindikasikan peregangan kuat gugus C-H dari fukosa yang dihubungkan oleh gugus sulfat. Sementara itu, pita serapan pada bilangan gelombang 1119,23 cm^{-1} mengindikasikan terdapatnya gugus sulfat dari O-sulfat yang merupakan karakteristik dari polisakarida tersulfasi. Adapun serapan di antara 840-820 cm^{-1} mengindikasikan substitusi yang kompleks unit monosakarida (C-O-S), dan serapan pada pita

gelombang 671,41 cm^{-1} dapat mengindikasikan terdapat gugus fungsi $\text{CH}_2\text{-S}$ dari monosakarida.

Menurut penelitian Freitas et al., (2011), pita lebar dekat 3400 cm^{-1} mewakili O-H dari peregangan hidroksil untuk semua senyawa polisakarida. Selanjutnya, bilangan gelombang pada 1621,96 cm^{-1} (Gambar 2C) menunjukkan vibrasi ikatan rangkap C=C yang menandakan masih terdapatnya asam uronat sebagai penyusun polimer alginat. Berdasarkan tinjauan literatur, asam uronat diindikasikan terdapat pada pita serapan 1610 cm^{-1} (Ale, Maruyana, Tamauchi, Mikkelsen, & Meyer, 2011) dan 1618 cm^{-1} (Yuan & Macquarrie, 2015).

Pada pita serapan 1260-1220 cm^{-1} (Wang & Chen, 2016) dan 1200-1050 cm^{-1} (Sugiono, 2017) mengindikasikan gugus fukosa. Puncak serapan kuat antara 1125,35-910,34 cm^{-1} merupakan karakteristik serapan kuat dari fukosa dan indikasi vibrasi peregangan S=O yang terikat pada posisi C-4 (Kim et al., 2010). Pita serapan pada 1119,23 cm^{-1} (Gambar 2C) menunjukkan indikasi gugus sulfat (O-sulfat) yang terikat pada fukosa yang merupakan karakteristik utama dari senyawa polisakarida sulfat.



Gambar 2. Spektre FT-IR polisakarida sulfat (spesifik yang mengandung fukoidan) (A) Spektrum baku *Fucus vesiculosus* (MAE) (Rodriguez-Jasso et al., 2011); (B) Spektrum baku dari *Sargassum* sp. berdasarkan metode konvensional (Lutfia, Isnansetyo, Susidarti, & Nursid, 2020); (C) Spektrum *S. polycystum* (MAE).

Figure 2. Sulfated polysaccharides FT-IR Spectrums (A) Raw spectrum of *Fucus vesiculosus* (MAE) (Rodriguez-Jasso et al., 2011); (B) Raw spectrum of *Sargassum* sp. based on conventional method (Lutfia, Isnansetyo, Susidarti, & Nursid, 2020); (C) Spectrum of *S. polycystum* (MAE).

Tabel 2. Variasi bilangan gelombang (FT-IR) polisakarida sulfat dari *S. polycystum*

Table 2. Wave number (FT-IR) of variation sulfate polysaccharide from *S. polycystum*

No.	Bilangan gelombang berdasarkan literatur/Wave number based on reference (cm ⁻¹)	Bilangan gelombang polisakarida sulfat (cm ⁻¹) dari hasil penelitian/Wave number of polysaccharide sulfate (cm ⁻¹)	Vibrasi gugus fungsi/ Functional group vibration
1.	3,400 (Freitas et al., 2011); 3,600-3,200 (Radhika, & Ameer, 2015)	3.542,35-3.407,28	Peregangan O-H (lebar, kuat)/ O-H Stretching (wide, strong)
2.	1,610 cm ⁻¹ (Ale et al., 2011); 1,618 cm ⁻¹ (Yuan & Macquarrie, 2015)	1.621,96	Peregangan C=C (sempit, sedang, indikasi asam uronat)/ C=C stretching (narrow, medium, uronate acid indication)
3.	1,475-1,300 (Dachriyanus, 2004)	1.425,60	Pembengkokan C-H (sempit, kuat)/C-H bending (narrow, strong)
4.	1,260-1,220 cm ⁻¹ (Wang & Chen, 2016); 1,200-1,050 cm ⁻¹ (Sugiono, 2017)	1.119,23	Pembengkokan C-H (sempit, kuat)/C-H bending (narrow, strong)
5.	840-820 cm ⁻¹ (Sinurat & Kusumawati, 2017); 850-800 cm ⁻¹ (Barros et al., 2013).	850-800	C-O-S (sempit, lemah, Gugus sulfat polisakarida)/C-O-S (narrow, weak, Polysaccharide sulfate groups)
6.	710-685 cm ⁻¹ (Coates, 2000)	671,41	CH ₂ -S (sempit, lemah)/ CH ₂ -S (narrow, weak)

Tabel 3. Persentase kematian larva *Artemia salina* Leach

Table 3. Percentage of *A. salina* Leach larvae mortality

Kematian larva/Larvae mortality			
1000 ppm	100 ppm	10 ppm	Kontrol/Control
76.00±0.56%	44.00±0.56%	26.00±0.56%	0%

Toksitas Ekstrak Polisakarida Sulfat dari Alga *S. polycystum*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak polisakarida sulfat yang diekstraksi dari *S. polycystum* dengan metode MAE dapat membunuh larva *A. salina* dalam variasi konsentrasi 1000, 100, dan 10 ppm. Hasil analisis lanjutan menunjukkan ekstrak kasar polisakarida sulfat dari *S. polycystum* mempunyai nilai LC₅₀ sebesar 113,11 ppm dengan koefisien korelasi sebesar (R²) 0,97. Berdasarkan nilai LC₅₀ tersebut, maka ekstrak kasar polisakarida sulfat dari *S. polycystum* dikategorikan toksik. Suatu ekstrak uji dapat dikatakan toksik apabila nilai LC₅₀ berkisar 30-

1000 ppm dan dikategorikan sangat toksik apabila nilai LC₅₀ ≤ 30 ppm (Kilungga, Chrystomo, & Sujarta, 2019; Meyer et al., 1982). Nilai LC₅₀ polisakarida sulfat dari *S. polycystum* yang diperoleh dengan metode MAE berbeda dengan hasil penelitian lain. Polisakarida sulfat yang diekstraksi dari *Sargassum duplicatum* dengan metode konvensional diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 444,14 ppm (untuk pelarut akuades) dan 446,23 ppm untuk pelarut HCl (Sandapare, Ahmad, & Dali, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan teknik ekstraksi dapat mempengaruhi toksitas dari suatu ekstrak atau senyawa. Pada metode MAE pemanasan pada target dilakukan secara selektif dan optimal dengan sistem tertutup sehingga tidak ada

panas yang hilang, serta mencegah risiko kontaminasi dari udara. Selain itu MAE juga dilaporkan mampu mempertahankan struktur kimia yang terkandung dalam ekstrak dengan kuantitas lebih tinggi (Delazar, Nahar, Hamedeyzdan, & Saker, 2012; Mandal et al., 2007).

Larva *A. salina* yang digunakan dalam pengujian toksisitas adalah larva yang berumur 48 jam. Hal tersebut dikarenakan pada larva yang berumur 48 jam telah terbentuk sempurna mulut dan saluran cernanya, serta memiliki peningkatan ketahanan tubuh (Nuralifah, Jabbar, Parawansah, & Iko, 2018). Senyawa atau ekstrak bekerja dengan bertindak sebagai racun perut (*stomach poisoning*), sehingga saat senyawa tersebut masuk ke tubuh larva, maka alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa atau ekstrak juga menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva, yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa, sehingga larva tidak mampu mengenali makanannya dan larva akhirnya mati kelaparan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa rendemen polisakarida sulfat yang diekstraksi dari *S. polycystum* dengan metode MAE adalah $3,42 \pm 0,01\%$. Bobot susut pengeringan telah memenuhi persyaratan kadar yang hilang yaitu $7,60 \pm 0,08\%$. Hasil karakterisasi polisakarida sulfat dengan spektrofotometer UV-Visible diperoleh panjang gelombang optimum pada 270 nm. Analisis spektrofotometer FT-IR menunjukkan terdapat gugus fukosa yang dihubungkan oleh gugus sulfat dan O-Sulfat yang mengindikasikan adanya fukoidan, tetapi masih ditemukan adanya asam uronat penyusun alginat. Hasil uji toksisitas ekstrak polisakarida sulfat menunjukkan sifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 113,11 ppm. Ekstraksi polisakarida sulfat menggunakan MAE dapat mempercepat waktu ekstraksi dibandingkan dengan metode konvensional, tetapi perlu dilakukan tahap selanjutnya untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengotor lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Penelitian Oseanografi (P2O) LIPI, Ancol, Jakarta atas determinasi spesies rumput laut (alga).

DAFTAR PUSTAKA

Ale, M.T., Maruyana, H., Tamauchi, H., Mikkelsen, J. D., & Meyer, A.S. (2011). Fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds inhibit proliferation of melanoma cell and induce apoptosis

by activation of caspase-3 in vitro. *Marine Drugs*, 9(12), 2605-2621. doi: 10.3390/md9122605

Ale, M.T., & Meyer, A.S. (2013). Fucoidan from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *RSC Advances*, 3(22), 8131-8141. doi: 10.1039/C3RA23373A

Barros, F. C. N., Silva, D. C., Sombra, V. G., Maciel, J. S., Feitosa, J. P. A., Freitas, A. L. P., & Paula, R. C. M. (2013). Structural characterization of polysaccharides obtained from red seaweed *Gracilaria caudata* (J. Agardh). *Carbohydrate Polymers*, 92, 598-603. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.09.009

Coates J. (2000). *Interpretation of infrared spectra, a practical approach*. Encyclopedia of Analytical Chemistry (John Wiley Andsons Ltd.). doi: 10(9780470027318), a5606.

Dachriyanus. (2004). *Analisis struktur senyawa organik secara spektroskopi*. Padang: LPTIK Universitas Andalas.

Deepika, M. S., Thangam, R., Sheena, T. S., Sasirekha, R., Sivasubramanian, S., Babu, M. D., ... & Thirumurugan, R. (2019). A novel rutin-fucoidan complex based phytotherapy for cervical cancer through achieving enhanced bioavailability and cancer cell apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1181-1195. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.178

Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyzdan, S., & Saker, S.D. (2012). Microwave-assisted extraction products isolation. *Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology*, 864, 89-115.

Domili, R. (2018). Identifikasi fucoidan dalam alga coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai pangan fungsional dalam mendukung ketahanan pangan Indonesia. *Prosiding 2*, 165-170. doi: 10.31227/osf.io/w5bps

Faggio, C., Pagano, M., Morabito, M., Minicante, S.A., Arfuso, F., & Genovese, G. (2014). In vitro assessment of the effect of *Undaria pinnatifida* extracts on erythrocytes membrane integrity and blood coagulation parameters of *Equus caballus*. *Coast Life Med. J.*, 16, 249.

Freitas, F., Alves, V. D., Torres, C. A., Cruz, M., Sousa, I., Melo, M. J., ... & Reis, M. A. (2011). Fucose-containing exopolysaccharide produced by the newly isolated Enterobacter strain A47 DSM 23139. *Carbohydrate Polymers*, 83(1), 159-165. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.07.034

Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Panovska, T. K. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(1), 9-18. doi: 10.33320/maced.pharm.bull.2014.603013002

Hayashi, T., Hayashi, K., Kanekiyo, K., Ohta, Y., Lee, J. B., Hashimoto, M., & Nakano, T. (2007). *Promising antiviral Glyco-molecules from an edible alga* (pp. 166-182). John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA.

Hidayati, D. N., Sumiarsih, C., & Mahmudah, U. (2018). Standarisasi non spesifik ekstrak etanol daun dan

- kulit batang berenuk (*Crescentia cujete* Linn). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 3(1), 19-23.
- Idrus, S., Hadinoto, S., Smith, H., & Loupatty, V.D. (2019). Kandungan mineral fukoidan rumput laut *Sargassum crassifolium* dari Perairan Pantai Desa Hutumuri Ambon. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 4(1), 163-167.
- Junaidi, L. (2013). Simple extraction and molecular weight characterization of fucoidan from Indonesian *Sargassum* sp.. *Biopropal Industri Desember*, 4(2), 49-57. doi: 10.36974/jbi.v4i2.808
- Kilungga, A., Chrystomo, L. Y., & Sujarta, P. (2019). Skrining senyawa kimia dan uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol teripang kridou bintik (*Bohadschia argus* Jeager) asal Pantai Harlem Kabupaten Jayapura, Papua. *Jurnal Biologi Papua*, 11(1), 12-17. doi: 10.31957/jbp.633
- Kim, W. J., Koo, Y. K., Jung, M. K., Moon, H. R., Kim, S. M., Synytsya, A., ... & Park, Y. I. (2010). Anticoagulating activities of low-molecular weight fuco-oligosaccharides prepared by enzymatic digestion of fucoidan from the sporophyll of Korean *Undaria pinnatifida*. *Archives of Pharmacal Research*, 33(1), 125-131.
- Kothari, V., Gupta, A., & Naraniwal, M. (2012). Comparative study of various methods for extraction of antioxidant and antibacterial compounds from plant seeds. *Journal of Natural Remedies*, 12(2), 162-173.
- Lim, S. J., & Mustapha, W. A. (2017). Extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. *Seaweed polysaccharides*, 27-46. doi: 10.1016/B978-0-12-809816-5.00003-7
- Lutfia, F. N., Isnansetyo, A., Susidarti, R. A., & Nursid, M. (2020). Chemical composition diversity of fucoidan isolated from three tropical brown Seaweeds (*Pharophyceae*) Species. *Biodiversitas*, 21(7), 3170-3177. doi: 10.13057/biodiv/d210739
- Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. (2007). Microwave assisted extraction-an innovtive and promising extraction tool for medicinal plant reseach. *Pharmacognosy Reviews Jan-Mar*, 1(1), 7-18.
- Mashita, V. F. (2017). Isolasi senyawa fukoidan dari talus rumput laut coklat (*Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agard) serta uji sitotoksik dengan metode brine shrimp lethality test. *SKRIPSI*. Universitas Sumatera Utara.
- McHugh, D. J. (2003). *Food and agriculture organization of The United Nations*. Roma: FAO.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L., (1982). Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31-34. doi: 10.1055/s-2007-971236.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan metode soxhletasi. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 2(2), 115-118.
- Moon, H. J., Lee, S. H., Ku, M. J., Yu, B. C., Jeon, M. J., Jeong, S. H., ... & Lee, Y. H. (2009). Fucoidan inhibits UVB-induced MMP-1 promoter expression and down regulation of type I procollagen synthesis in human skin fibroblasts. *European Journal of Dermatology*, 19(2), 129-34. doi: 10.1684/ejd.2008.0611.
- Mustalib, L. Y. (2015). Comparison between conventional and modern methods for extraction of *Rosmarinus officinalis* leaves. *Zanco Journal of Medical Sciences* 2015, 19(2), 1029-1034. doi: 10.15218/zjms.2015.0027
- Nguyen, T. T., Mikkelsen, M. D., Tran, V. H. N., Trang, V. T. D., Rhein-Knudsen, N., Holck, J., ... & Meyer, A. S. (2020). Enzyme-assisted fucoidan extraction from brown macroalgae *Fucus distichus* subsp. *evanescens* and *Saccharina latissima*. *Marine Drugs*, 18(6), 1-18. doi: 10.3390/md18060296
- Ningrum, R. R., Hardoko, D. S., H. H., & Sasmito, B.B. (2013). Pengaruh ekstrak kasar fucoidan alga coklat *Sargassum polycystum* sebagai antikanker terhadap viabilitas sel HELA. *Jurnal Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan*, 1(1), 83-92.
- Nuralifah., Jabbar, A., Parawansah., & Iko, R. A. (2018). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun notika (*Archboldiodendron caloserium* (Kobuski)) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 4(1), 1-5. doi: 10.33772/pharmauho.v4i1.4618
- Nurhidayati, L., Fitriani, Y., Abdillah, S., Mumpuni, E., & Rafi, M. (2020). Sifat fisikokimia dan aktivitas antioksidan *cude* fukoidan hasil ekstraksi dari *Sargassum cinereum*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18 (1), 68-74.
- Palanisamy, S., Vinosha, M., Marudhupandi, T., Rajasekar, P., & Prabhu, N. M. (2017). Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 405-412. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.182
- Peng, Y., Xie, E., Zheng, K., Fredimoses, M., Yang, X., Zhou, X., ... & Liu, Y. (2013). Nutritional and chemical composition and antiviral activity of cultivated seaweed *Sargassum naozhouense* Tseng et Lu. *Marine Drugs*, 11(1), 20-32. doi: 10.3390/md11010020
- Phull, A.R., Majid, M., Haq, I. U., Khan, M. R., & Kim, S.J. (2017). In vitro and in vivo evaluation of anti-arthritis, antioxidant efficacy of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (harvey) suringar. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 468-480.
- Radhika, D., & Ameer, M. (2015). Fourier transform infrared analysis of *Ulva lactuca* and *Gracilaria corticata* and their effect on antibacterial activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(2), 209-212.
- Rodriguez-Jasso, R. M., Mussatto, S.I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Microwave assisted extraction of sulphated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. *Carbohydrate Polymer*, 86, 1137-1144. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.006
- Sandapare, M., Ahmad, A., & Dali, S. (2015). Uji aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak kasar polisakarida

- yang diisolasi dari alga coklat *Sargassum duplicatum*. Universitas Hasanuddin, Makasar. Diakses dari: <https://www.scinapse.io/papers/2110351665>
- Sartinah, A., Yamin, Y., Arba, M., Akib, N.I., Adjeng, A.N.T., Nurhasana, N., & Pascayantri, A. (2020). Uji toksisitas akut ekstrak dan fraksi kulit batang ketapang laut (*Terminalia catappa* L.) menggunakan metode BSLT. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 6(1), 42-47.
- Senthilkumar, K., Manivasagan, P., Venkatesan, J., & Kim, S. K. (2013). Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 366-374. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.030
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M. N., Ismail, S., & Mansor, S. M. (2009). Phytochemical and antimicrobial activity of *Swietenia mahagoni* crude methanolic seed extract. *Tropical Biomedicine*, 26(3), 274-279
- Sinurat, E., & Kusumawati, R. (2017). Optimasi metode ekstraksi fukoidan kasar dari rumput laut cokelat *Sargassum binderi* sonder. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 12(2), 125-134. doi: 10.15578/jpbkp.v12i2.388
- Sugiono. (2017). Isolasi dan karakterisasi fukoidan dari alga coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Argosains*, 2(1), 96-107.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-dasar spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer massa untuk penentuan struktur senyawa organik*. Lampung: Aura CV. Anugrah Utama Raharja.
- Wang, C. Y., Wu, T. C. Hsieh, S. L., Tsai, Y. H., Yeh, C. W., & Huang, C. Y. (2015). Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaefolium*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 766-777. doi: 10.1016/j.jfda.2015.07.002
- Wang, C. Y., & Chen, Y. C. (2016). Extraction and characterization of fucoidan from six brown macroalgae. *Marine Science and Technology*, 24(2), 319-328. doi: 10.6119/JMST-015-0521-3
- Widiatma, B.O., Hardoko, & Sasmito, B.B. (2013). Pengaruh ekstrak kasar fukoidan alga coklat *Sargassum filipendula* sebagai antikanker terhadap viabilitas Sel HeLa. *THPi Student Journal*, 1(1), 1-10.
- Vanavil, B., Selvaraj, K., Aanandhalakshmi, R., Usha, S. K., & Arumugam, M. (2020). Bioactive and thermostable sulphated polysaccharide from *Sargassum swartzii* with drug delivery applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 190-200. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.332
- Yuan, Y., & Macquarrie, D.J. (2015). Microwave assisted Extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 129, 101-107. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.04.057
- Zhang, R., Zhang, X., Tang, Y., & Mao, J. (2020). Composition, isolation, purification, and biological activities of *Sargassum fusiforme* polysaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers*, 228, 1-14. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115381
- Zhao, Y., Zheng, Y., Wang, J., Ma, S., Yu, Y., White, W. L., ... & Lu, J. (2018). Fucoidan extracted from *Undaria pinnatifida*: Source for nutraceuticals/functional foods. *Marine drugs*, 16(9), 321-338.
- Zuraida. (2018). Analisis toksisitas beberapa tumbuhan hutan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 36(3), 239-245. doi: 10.20886/jphh.2018.36.3.239-246