

**Biorefinery Ekstraksi Sequensial Fukoidan dan Alginat: Pengaruh Pre-ekstraksi Perlakuan Asam Terhadap Viskositas Intrinsik Alginat dari Alga Coklat *Sargassum cristaefolium***

*Fukoidan and Alginate Sequential Biorefinery Extraction: Effect of acid treatment Pre-extraction Against Intrinsic Viscosity of Alginate from Brown Algae *Sargassum cristaefolium**

Sugiono Sugiono<sup>1\*</sup>, Doni Ferdiansyah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitas Islam Madura, Pamekasan 69351, Indonesia  
Corresponding author: [yonosugiono78@yahoo.co.id](mailto:yonosugiono78@yahoo.co.id)

**ABSTRAK**

Tahap utama dalam proses ekstraksi alginat dari alga coklat adalah pre-ekstraksi dengan perlakuan asam. Kondisi pre-ekstraksi perlakuan asam (suhu, waktu dan pH) berpengaruh terhadap sifat fisika-kimia alginat dari alga coklat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pre-ekstraksi perlakuan asam (suhu, waktu dan pH) terhadap viskositas intrinsik alginat dan menentukan kondisi pre-ekstraksi yang memberikan nilai maksimum respon viskositas intrinsik. Rancangan faktorial  $2^k$  digunakan untuk mengevaluasi pengaruh pre-ekstraksi perlakuan asam (suhu, waktu dan pH) terhadap viskositas intrinsik dan menentukan ketepatan model polinomial orde pertama. Hasil penelitian didapatkan perlakuan suhu, waktu dan pH pre-ekstraksi memberikan efek kuadratik nyata terhadap viskositas intrinsik. Viskositas intrinsik meningkat dengan semakin tinggi suhu, waktu dan derajat pH, kemudian menurun setelah mencapai maksimal. Uji kelengkungan bersifat signifikan ( $\alpha=0,05$ ) model polinomial orde pertama berbentuk kuadratik. Nilai maksimum respon viskositas intrinsik alginat 502.05 ml/g terjadi pada kondisi pre-ekstraksi perlakuan asam suhu 35°C, waktu 60 menit, dan pH 3. Perencanaan titik pusat pre-ekstraksi perlakuan asam suhu 35°C, waktu 60 menit dan pH 3 adalah tepat.

**Kata kunci:** Pre-ekstraksi, Alginat, *Intrinsic viscosity*, *Sargassum cristaefolium*

**ABSTRACT**

The main stage in the extraction process of alginate from brown algae is pre-extraction by acid treatment. Pre-extraction conditions of acid treatment (temperature, time and pH) have an effect on the chemical and physical properties of alginate from brown algae. The purpose of this study was to determine the effect of pre-extraction of acid treatment (temperature, time and pH) on the intrinsic viscosity of alginate and determine the pre-extraction conditions which gave the maximum intrinsic viscosity response. The  $2^k$  factorial design was used to evaluate the effect of pre-extraction of acid treatment (temperature, time and pH) on intrinsic viscosity and determine the accuracy of the first-order polynomial model. The results showed that the temperature, time and pH of the pre-extraction treatment gave a real quadratic effect on intrinsic viscosity. Intrinsic viscosity increases with higher temperature, time and pH degree, then decreases after reaching maximum. The curvature test is significant ( $\alpha=0.05$ ) first order polynomial model is quadratic. The maximum value of the intrinsic viscosity response of alginate 502.05 ml/g occurred in the pre-extraction conditions acid treatment temperature of 35°C, time of 60 minutes, and pH 3. Planning center of pre-extraction acid treatment temperature of 35°C, time of 60 minutes and pH 3 was appropriate.

**Keyword:** Pre-extraction, alginat, *Intrinsic viscosity*, *Sargassum cristaefolium*

## PENDAHULUAN

Alginat adalah polisakarida yang terdapat dalam matrik dinding sel alga coklat jumlahnya berkisar 8-40%, tersusun dari polimer linear  $\beta$ -(1-4)-D-mannuronat (M) dan  $\alpha$ -L-guluronat (G) (Boisseson *et al.*, 2004; Draget and Taylor, 2011). Alginat dimanfaatkan secara luas pada industri pangan dan non pangan sebagai bahan tambahan untuk menstabilkan sistem emulsi, pengental, dan pembentuk gel (Torres *et al.*, 2007; Hernandez-Carmona, 2013). Kebutuhan alginat untuk industri dalam negeri saat ini diperkirakan lebih dari 2000 ton per tahun semuanya dipenuhi dari produk impor (Laksmono *dkk.*, 2013). Indonesia mempunyai potensi sumber daya alginofit yang besar, namun belum bisa dimanfaatkan secara optimal mengingat perkembangan metode ekstraksi alginat dalam negeri belum bisa menghasilkan alginat dengan kualitas reologi yang tinggi.

Tahap pertama dalam protokol ekstraksi alginat adalah perlakuan asam. Perlakuan pre-ekstraksi alga coklat dengan pelarut asam berpengaruh terhadap karakteristik fisik alga coklat dalam pelarut alkali dan kualitas alginat (Hernandez-Carmona *et al.* 1999; Lorbeer *et al.* 2015; Silva *et al.* 2015). Karena itu penting untuk memahami pengaruh pre-ekstraksi perlakuan asam terhadap viskositas intrinsik alginat berdasarkan konsep biorefinery ekstraksi fukoidan dan alginat dari alga coklat. Tujuan penelitian ini adalah mengamati pengaruh pH, suhu dan waktu ekstraksi fukoidan sebagai perlakuan pre-ekstraksi pelarut asam terhadap viskositas intrinsik alginat dari alga coklat *Sargassum cristaefolium*

## MATERI DAN METODE

### Bahan

*Sargassum cristaefolium* didapatkan dari pulau poteran Sumenep Madura, KOH, formaldehid, aquades, *hydrochloric acid* (HCl) 37%, etanol 99,8%, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Semua bahan kimia mempunyai derajat kemurnian teknis didapatkan dari CV. Makmur Sejati, CV. Krida Tama Persada.

### Desain Eksperimen

Desain eksperimen ekstraksi alginat menggunakan rancangan faktorial 2<sup>k</sup> dengan 3 variabel yaitu suhu ( $x_1$ ), waktu ( $x_2$ ), dan pH ( $x_3$ ). Tiap variable terdiri dari 2 taraf dikode -1 dan +1 diperluas dengan 3-ulangan titik pusat dikode 0 (Gazpersz,1992), rancangan percobaan disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Rancangan faktorial 2<sup>3</sup> dengan perluasan titik pusat

No	Variabel actual			Variabel kode			Viskositas intrinsik (ml/g)
	Suhu (°C)	Waktu (menit)	pH	x1	x2	x3	
1	45	30	5	+1	0	-1	152.07
2	45	90	5	+1	+1	+1	198.92
3	45	30	1	+1	-1	-1	276.65
4	25	30	5	-1	-1	+1	187.87
5	25	30	1	-1	-1	-1	265.91
6	45	90	1	+1	+1	-1	195.41
7	25	90	1	-1	+1	-1	105.89
8	25	90	5	-1	+1	+1	223.06
9	35	60	3	0	0	0	502.05
10	35	60	3	0	0	0	403.35
11	35	60	3	0	0	0	400.31

Berdasarkan data eksperimen, dilakukan analisa regresi dan kesesuaian model persamaan polynomial ordo pertama :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 \quad \dots \quad (1)$$

Dimana Y adalah variable respon,  $\beta_0$  merupakan koefisien intercept;  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$ ,  $\beta_{ij}$  adalah koefisien regresi masing-masing linear, dan  $x_{123}$ , kode dari tiga variable bebas suhu, waktu dan pH.

### Preparasi Sampel

Alga coklat dicuci dengan air tawar hingga bersih, direndam dalam KOH 0,1% selama 1 jam dan dicuci untuk menghilangkan residu alkali (Subaryono dan Apriani. 2010). Alga coklat dikeringkan dengan dijemur pada sinar matahari, digiling dan disaring 60 mesh. Alga coklat direndam dalam larutan formaldehid 0,1 % 1 malam, dicuci hingga bersih dan dikeringkan dengan pengering kabinet suhu 45°C selama 6 jam (Wedlock and Fasihuddin, 1990; Hernandez-Carmona *et al.* 1999).

### Pre-ekstraksi

Alga coklat dilarutkan dalam 0,03 M HCl pH 1-5, suhu 25-45°C, waktu 30-90 menit, rasio pelarut 1:20 (b/v) diaduk konstan dengan homogenizer 500 rpm, kemudian dicuci dengan aquades hingga pH netral dan ditiriskan airnya dengan dipress (Hernandez-Carmona *et al.* 1999).

**Ekstraksi Alginat**

Alga coklat hasil pre-ekstraksi asam ditambahkan larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pH 10 rasio pelarut 1:20 (b/v) suhu 70°C selama 2 jam. Filtrate disaring dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm, 10 menit, supernatan diambil. Filtrat alginat ditambahkan etanol 96% rasio 1:2 (v/v) dibiarkan selama 2 jam dan disaring. Alginat dicuci dua kali dengan etanol 70% dan 96% disaring dan dipress, alginat dikeringkan dengan oven suhu 45°C selama 24 jam dan digiling 60 mesh.

**Viskositas Intrinsik**

Pengukuran viskositas sample alginat dilakukan dengan viscometer capillary Ubbelohde (Canon, USA) dengan diameter kapiler 0,56 mm pada suhu 25°C. Larutan alginat dibuat dengan melarutkan 30 mg alginat dalam 10 ml aquabides distirer selama 5 jam pada suhu ruangan (25°C), kemudian dibuat seri konsentrasi alginat 0,05-0,3 g/dL. Waktu alir larutan t, diukur relative terhadap waktu alir pelarut, t<sub>0</sub>. Viskositas intrinsik ditentukan dengan ekstrapolasi dari η<sub>sp</sub>/c hingga konsentrasi nol (zero) (Chee et al. 2011).

Viskositas relative,  $\eta = \frac{t}{t_0}$  ..... (2)

Viskositas spesifik,  $\eta_{sp} = \eta - 1$  ..... (3)

Viskositas reduksi,  $\frac{\eta_{sp}}{c} = \frac{\eta - 1}{c}$  ..... (4)

Viskositas Intrinsic,  $[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c}$  ..... (5)

**Analisa Data**

Analisa data dan keakuratan model persamaan polinomial dilakukan dengan program *design expert versi 7* untuk analisa ragam viskositas intrinsik.

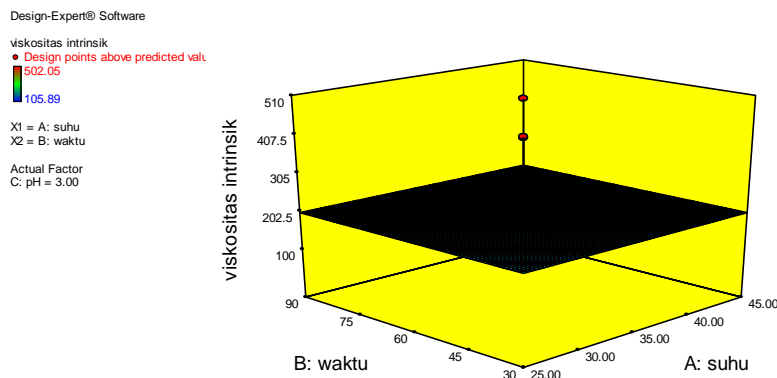
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Intrinsic viscosity**

Penelitian pengaruh suhu, waktu dan pH pre-ekstraksi perlakuan asam yang berbeda terhadap viskositas intrinsik alginat *Sargassum cristaefolium* didapatkan bahwa viskositas intrinsic semakin tinggi pada pH 3 dan waktu 60 menit kemudian menurun pada pH 5 dan waktu 30-90 menit, viskositas intrinsic tertinggi 502,05 ml/g pada suhu 35°C, waktu 60 menit dan pH 3, sedangkan viskositas intrinsic terendah yaitu 105,89 ml/g terjadi pada suhu 25°C, pH 1 dan waktu 90 menit. Viskositas intrinsic hasil penelitian ini relatif

sama dengan yang ada di literatur (Rahelivao *et al.* 2013; Fenorodosa *et al.* 2010; Torres *et al.* 2009), dan lebih tinggi dari hasil penelitian Mahmood and Siddique (2010), Fertah *et al.* (2014) dan Sellimi *et al.* (2015).

Perlakuan suhu 25-45°C, waktu 30-90 menit dan pH 1-5 berpengaruh nyata terhadap viskositas intrinsik alginat *Sargassum cristaefolium* ( $P=0,05$ ). Perlakuan pre-ekstraksi berpengaruh sangat positif terhadap viskositas instrinsik alginat pada suhu 35°C, waktu 60 menit dan pH 3, viskositas intrinsik menurun cepat pada pH 1 dan 5 waktu 30-90 menit. Hal ini berkaitan dengan terjadinya degradasi rantai polimer alginat akibat reaksi  $\beta$ -eliminasi pada ikatan 4- $\alpha$ -glikosidik dan pemecahan hidrolitik dikatalis proton (Smidsrod *et al.* 1969; Haug *et al.*, 1967). Degradasi rantai polimer alginat semakin parah pada pH 1 dan waktu pre-ekstraksi 30-90 menit (Sugiono *et al.* 2018; Lorbeer *et al.* 2015).



**Gambar 1.** Pengaruh suhu dan waktu pre-ekstraksi perlakuan asam terhadap viskositas intrinsik alginat *Sargassum cristaefolium*

#### 4.2 Ketepatan Model

Prediksi model polynomial eksperimen orde pertama hasil perhitungan respon viskositas intrinsik sebagai berikut:

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

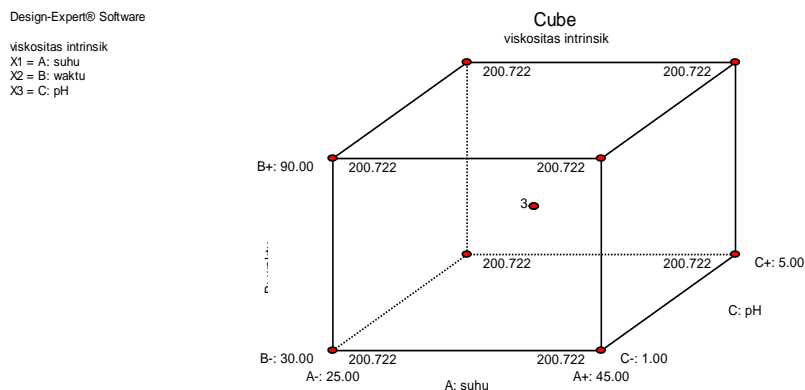
Hasil analisa ragam Tabel 2. didapatkan bahwa model bersifat signifikan pada taraf kepercayaan ( $\alpha=0,05$ ), hal ini menunjukkan bahwa perlakuan suhu, waktu dan pH pre-ekstraksi berpengaruh nyata terhadap respon viskositas intrinsik. Pengaruh faktor tunggal dan interaksi suhu, waktu dan pH pre-ekstraksi perlakuan asam berpengaruh negatif terhadap viskositas intrinsik.

Tabel 2. Analisa ragam regresi polinomial orde pertama

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

Keterangan: \* = Signifikan, <sup>ns</sup> = tidak signifikan

Uji kelengkungan (*curvature*) bersifat signifikan pada taraf kepercayaan  $\alpha=0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa model polinomial eksperimen orde pertama berbentuk kuadratik (Gazpersz, 1992; Montgomery 2005). Dijelaskan bahwa jika uji *curvature* bersifat signifikan berarti model polinomial berbentuk kuadratik (Sugiono et al. 2014). Titik tengah perencanaan adalah tepat, respon optimal berada disekitar suhu 35°C, waktu 60 menit dan pH 3 (Gambar 2).



**Gambar 2. Pengaruh suhu, waktu dan pH terhadap viskositas intrinsik**

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Perlakuan suhu, waktu dan pH memberikan pengaruh signifikan terhadap viscositas intrinsic alginat *Sargassum cristaefolium*.
2. Nilai maksimum viskositas intrinsik 502.05 ml/g terjadi pada suhu 35°C, waktu 60 menit dan pH 3 adalah tepat, dengan. Model polinomial orde pertama berbentuk

kuadratik, perencanaan titik pusat penelitian suhu 35°C, waktu 60 menit dan pH 3 adalah tepat.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DRPM DIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui dana Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun 2018, UIM dan semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Boisseson, M.R.D., Leonard M., Favre E., Hubert P., Marchal P. and Dellacherie E., (2004). Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability. *J. of Coll. and Interface Sci.* 273: 131–139.
- Chee, Swee-Yong, P. K. Wong and C. L. Wong. (2011). Extraction and characterisation of alginate from brown seaweeds (Fucales, Phaeophyceae) collected from Port Dickson, Peninsular Malaysia. *J. Appl. Phycol.* 23:191–196.
- Draget, I. Kurt and C. Taylor. (2011). Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications. *Food Hydrocoll.* 25(2): 251–56.
- Fenoradosa Taratra Andrée, Ghina Ali, Cedric Delattre, Celine Laroche, Emmanuel Petit, Anne Wadouachi and Philippe Michaud. (2010). Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *Journal Applied Phycology*, 22, 131–137
- Fertah M., Belfkira A., Dahmane E.M., Taurirte M., and Brouillette. A., and Taurirte M., (2014). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 5, 3, 1878-1888.
- Gaspersz, 1992. Metode perancangan percobaan. Armico. Bandung. P.202-271
- Haug, A., B. Larsen and O. Smidsrod. (1967). Alkaline degradation of alginate. *Acta. Chem. Scand.* 21: 2859-2870
- Haug, A., B. Larsen and O. Smidsrod. (1963). The degradation of alginates at different pH values. *Acta. Chem. Scand.* 17(5): 1466-1468
- Hernandez-Carmona G., D.J. McHugh, D.L. Arvizu-Higuera and Rodriguez-Montesinos. (1999). Pilot plant scale extraction of alginate from *Macrocystis pyrifera*. 1. Effect of pre-extraction treatments on yield and quality of alginate. *J. Appl. Phycol.* 10: 507-513.
- Hernandez-Carmona. (2013). Conventional and alternative technologies for the extraction of algal polysaccharides. Woodhead publishing limited. Mexico. 472-514.
- Lorbeer A. J., Jelle Lahnstein, Vincent Bulone, Trung Nguyen, Wei Zhang. (2015) Multiple-response optimization of the acidic treatment of the brown alga *Ecklonia radiata* for the sequential extraction of fucoidan and alginate. *Bioresource Technology*, 197, 302-309

- Mahmood S.J. and Siddique A., (2010). Ionic studies of sodium alginate isolated from *Sargassum terrarium* (brown algae) karachi coast with 2,1-electrolyte. *Journal of Saudi Chemycal Society*, 14, 117-123
- Montgomery D. C. (2005). Response surface methods and designs. New York. USA: John Willy and Sons. Inc.
- Rahelivao, Marie Pascaline, Hanta Andriamanantoanina, Alain Heyraud, and Marguerite Rinaudo. (2013). Structure and Properties of Three Alginates from Madagascar Seacoast Algae. *Food Hydrocolloids* 32, 1, 143–46.
- Sellimi, S., I. Younes, H.B. Ayed, H. Maalej, V. Montero, M. Rinaudo, M. Dahia, T. Mechichi, M. Hajji and M. Nasri. (2015). Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *Int. J. Biol. Macromol.* 72: 358–1367
- Silva, M., Gomes, F., Oliveira, F., Moraisand, S., Delerue-Matos, C. (2015) Microwave-assisted alginate extraction from Portuguese saccorhiza polyschides– influence of acid pretreatment. World Academy of Science, Engineering and Technology. *Int J Chem, Mol, Nucl, Mat Metall Eng.* 2015; 9(1): 30-33.
- Smidsrod, O., A. Haug and B. Larsen. (1963). Degradation of alginate in the presence of reducing compounds. *Acta. Chem. Scand.* 17(10): 2628-2637
- Smidsrod, O., B. Larsen, T. Painterand A. Haug. (1969). The role of intramolecular autocatalysis in the acid hydrolysis of polysaccharides containing 1.4-linked hexuronic acid. *Acta. Chem. Scand.* 23: 1573-1580
- Subaryono, S.N.K. Apriani. (2010). Pengaruh dekantasi filtrat pada proses ekstraksi alginat dari *Sargassum sp.* terhadap mutu produk yang dihasilkan. *JPB. Kelautandan Perikanan.* 5 (2): 165-175
- Sugiono, Widjanarko S. B., Adisoehono L. (2014). Extraction Optimization by Response Surface Methodology and Characterization of Fucoidan from Brown Seaweed *Sargassum polycystum*. *International Journal of ChemTech Research*, Vol.6, No.1, pp 195-205
- Sugiono, Estiasih T., Masruri., Widjanarko S. B. Ekstruder ulir ganda: Pengaruh kondisi proses terhadap viskositas intrinsik alginat dari *Sargassum cristaefolium*. *Agrosains*, 3(1): 279-285
- Sugiono, S., Masruri, M., Estiasih, T., Widjanarko, S. B. (2018) Multiple-response optimization of the acidic pre-treatment of the brown alga *Sargassum cristaefolium* for the alginate extraction using twin screw extruder. *Biosci res.* 2018;15(2):683-693
- Torres, M.R., A.P.A. Saosa, E.A.T.S. Filho, D.F. Melo, J.P.A. Feitosa, R.C.M.D. Paula and M.G.S. Lima. (2007). Extraction and physicochemical characterization of *Sargassum vulgare* alginate from Brazil. *Carbohydr. Res.* 342:2067-2074.
- Wedlock D.J. and Fasihuddin B.A., (1990). Effect of formaldehyde pre-treatment on the intrinsic viscosity of alginate from various brown seaweeds. *Food Hydrocoll.* 4(1): 41-47