

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum sp*

2.1.1 Biologi dari *Sargassum sp*.

Bagian tubuh tanaman *Sargassum* dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu *holdfast*, *stipe* dan *frond*. *Holdfast* bentuknya mirip akar, membuat sargassum melekat pada substrat. *Stipe* mirip dengan batang, *frond* mirip daun mempunyai fungsi untuk memaksimalkan fotosintesis ^[11]. Marga *Sargassum* mempunyai ciri-ciri:

1. Tallus berwarna hijau muda, kuning sampai coklat. Bersel banyak, biasanya makroskopis dan mempunyai bentuk tertentu.
2. Tiap sel mengandung lebih satu kloroplas berbentuk cakram atau seperti pita dan tidak membentuk pirenoid.
3. Bentuk tallus umumnya silindris atau gepeng.
4. Cabang rimbun, menyerupai pohon di darat.
5. Bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang.
6. Pigmen: klorofil a dan c.
7. Mempunyai gelembung udara (*bladders*) yang umumnya soliter.
8. Panjangnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat spesies yang panjangnya 3 meter) ^[1,12].

Taksonomi tumbuhan *Sargassum* menurut Bold dan Wyne, 1978:

Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Sub kelas	: Cyclosporidae
Order	: Fucales
Family	: Sargassaceae
Genus	: Sargassum
Spesies	: Sargassum sp. ^[13]

Alga laut pada umumnya dijumpai di daerah perairan laut yang mempunyai rataan terumbu karang. Distribusi dan kepadatannya tergantung dari tipe dasar perairan, kondisi geografis, musim dan kompetisi jenis. Kebanyakan alga laut tumbuh dengan cara menempel atau menancap pada substratnya, termasuk diantaranya *Sargassum*^[14]. *Sargassum* juga dapat hidup terlepas dari substrat, hidup mengambang di permukaan karena umumnya mempunyai gelembung – gelembung sebagai pelampung^[15].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lembaga P3O-LIPI, *Sargassum* dapat ditemukan di:

1. Kawasan Indonesia Barat

Perairan laut pulau Batam dan sekitarnya, Selat Sunda, Kep. Seribu, Kep. Karimun Jawa, dan pulau-pulau Kangean.

2. Kawasan Indonesia Tengah

Perairan laut pulau Bali dan NTB.

3. Kawasan Indonesia Timur

Kawasan perairan laur di berbagai pulau: Kep. Takabonerate, tubir Pulau Barran, dan Baran Cadi, Kep. Marsel ^[14].

2.1.2 Kandungan Kimia

Metabolit primer dari *Sargassum sp.* antara lain adalah agar, karaginan (iota-, kappa-, dan lamda-), alginat dan furcellaran yang digunakan sebagai zat aditif dalam industri makanan dan farmasi yang berfungsi sebagai pensuspensi, pengemulsi, pengental dan lain-lain. Metabolit sekunder banyak yang bersifat bioaktif dan dikembangkan serta dimanfaatkan sebagai sumber gizi dan obat.

Alga coklat umumnya menghasilkan banyak senyawa kompleks diterpenoid dan senyawa terpenoid aromatik. *Sargassum* yang berasal dari Sulawesi Selatan mengandung steroid berupa steroid bebas, ester steroid, dan glikosidik steroid ^[16].

2.2 Alginat

Alginat adalah suatu poliuronida yang ditemukan dalam alga coklat (*Phaeophyceae*). Pertamakali ditemukan oleh E.C.C Stanford, seorang ahli kimia dan farmasi, pada tahun 1880. Kemudian dikembangkan oleh Krefting yang menyebutnya sebagai “tangsauere” atau asam rumput laut. Istilah algin digunakan untuk menyebut asam alginat, semua alginat, sodium alginat, dan turunan asam alginat ^[4]. Produksi asam alginat secara komersial di mulai pada tahun 1929 di Kalifornia, oleh perusahaan Kelco. Produksi asam alginat secara industri dimulai

setelah perang dunia ke 2. Negara penghasil asam alginat yang utama adalah Amerika Serikat, Inggris, Perancis, Norwegia, Jepang, Kanada dan Cina [3,17].

Didalam alga coklat, asam alginat terdapat sebagai campuran garam dari kation yang ada dalam air laut, yang utama adalah sodium, potasium, kalsium dan magnesium. Asam alginat dapat diisolasi dengan cara merendamnya dengan larutan asam, setelah itu diekstraksi dengan sodium karbonat [4,5]. Peranan utama asam alginat dalam rumput laut adalah memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada rumput laut [7].

2.2.1 Sumber Alginat

Asam alginat dapat ditemukan dalam semua alga coklat baik besar maupun kecil [17]. Semua spesies alga coklat mengandung alginat, tetapi hanya sedikit spesies yang dapat menghasilkan asam alginat dalam jumlah besar. Beberapa spesies yang penting adalah *Macrocystis pyrifera*, *Aschophyllum nodosum*, *Laminaria Hyperborea*, *Laminaria Digitata*, *Ecklonia sp.*, *Elsinia sp.*, *Nereocystis sp.*, *Sargassum sp.*, dan *Fucus sp.* [3,4,17]. Selain dalam rumput laut, asam alginat juga dapat ditemukan di dalam beberapa bakteri tanah seperti *Azotobakter vinaladii* dan *Azotobakter crococcum* dan beberapa *Pseudomonas* [4,8].

Dengan menggunakan uji noda menggunakan ruthenium merah dan polarisasi mikroskopi menunjukkan bahwa lokasi asam alginat dalam alga adalah dalam intraseluler, yang berisi 80 – 85 % total zat organik, dan mungkin juga terdapat dalam dinding sel [2,4,6].

Kandungan asam alginat dalam alga coklat adalah 14–40% dari berat rumput kering rumput laut ^[17]. Proporsi asam alginat dalam rumput laut dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain spesies alga, umur alga, variasi musim, habitat, dan bagian tanaman alga yang digunakan. Misalnya *Fucus vesiculosus* yang merupakan tanaman pantai terbuka lebih banyak mengandung asam alginat daripada alga yang diambil dari perairan teluk. Dalam *Laminaria*, bagian stipe mengandung asam alginat lebih banyak daripada bagian frond tetapi dalam *Durvillia* dan *Ecklonia* terjadi sebaliknya ^[4].

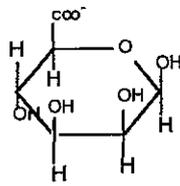
Tabel 2.1 Kandungan alginat dalam alga coklat^[4,7]

Alga	Kandungan (%)
<i>Macrocystis pyrefera</i>	13 – 14%
<i>Ascophyllum nodosum</i>	20 – 30%
<i>Laminaria digitata</i>	15 – 40%
<i>Laminaria hyperborea</i>	14 – 24%
<i>Eckonia maxima</i>	29,6 – 38%
<i>Sargassum sp.</i>	13 – 34,6%

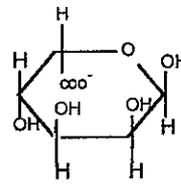
2.2.2 Struktur Alginat

Asam alginat merupakan suatu senyawa organik kompleks dengan berat molekul besar. Secara kimia, asam alginat merupakan polimer asam berkarbon 5. Polimer ini terdiri dari asam β -D-manuronat dan asam α -L-guluronat yang dihubungkan dengan ikatan (1 \rightarrow 4). Kedua monomer

tersebut sebagai epimer C-5. Asam alginat mempunyai rumus empiris $(C_6H_8O_6)_n$ [3,4,8].



Asam β -D-mannuronat



Asam α -L-guluronat

Gambar 2.1 Monomer asam alginat

Proporsi residu M dan G tergantung pada alga yang digunakan sebagai sumber alginat. Variasi proporsi ini menyebabkan perbedaan sifat alginat dari setiap sampel, misalnya pembentukan ion dan kemampuan pembentukan gel. Kedua monomer alginat membentuk rantai dengan 3 tipe urutan yaitu [4,9]:

a. -M-M-M-M-

b. -G-G-G-G-

c. -M-G-M-G-

Susunan rantai ini mempunyai peranan besar, karena susunan ini memberikan kekuatan molekul dan juga bertanggung jawab pada beberapa sifat penting misalnya kekuatan pembentukan serat [4].

Berat molekul asam alginat bervariasi, dipengaruhi oleh model preparasi dan jenis alga sebagai sumber alginat. Berat molekul sodium alginat adalah 35.000 sampai 1,5 juta. Berat teoritis asam alginat adalah 176 dan beberapa peneliti menyatakan bahwa berat molekul asam alginat adalah 194. Perbedaan ini mungkin disebabkan adanya satu molekul air dari ikatan hidrasi dari setiap residu asam uronat [4].

2.2.3. Sifat Alginat

Beberapa sifat alginat adalah:

1) Konstanta Disosiasi

Konstanta disosiasi alginat bervariasi dengan komposisi residu asam manuronat dan asam guluronat. Alginat yang mempunyai proporsi asam guluronat paling tinggi mempunyai harga pKa paling tinggi. Harga pKa untuk asam manuronat adalah 3,38 dan untuk asam guluronat adalah 3,65. Seperti poliasam lain, harga pKa asam alginat tergantung pada kekuatan ion larutan.

2) Kandungan air

Asam alginat dapat mengikat air dengan kuat dan untuk pengeringan yang sempurna memerlukan proses yang lama. Pada udara terbuka, alginat menyerap kelembaban dan untuk melepaskannya memerlukan waktu yang lama sekitar 6 sampai 9 bulan pada suhu kamar.

Sampel asam alginat dan alginat pada udara terbuka mengandung air sekitar 10% sampai 25%. Alginat kering menyerap air dan mengental ketika berada dalam air.

3) Kelarutan

Asam alginat tidak larut dalam air, mengendap dengan penambahan asam kuat. Garam alginat dari logam alkali dan amonia dan beberapa basa organik dengan berat molekul rendah larut dalam air^[4,17].

Larutan garam alginat dengan logam alkali merupakan suatu jenis polielektrolit dan sifat larutannya berubah dengan berubahnya kekuatan ionik. Penambahan sedikit elektrolit mengurangi viskositas larutan dan semakin banyak

jumlah penambahan akan mengendapkan alginat. Dalam kalium klorida, alginat yang kaya asam mannuronat akan mengendap lebih cepat daripada alginat yang kaya asam guluronat. Alginat yang kaya akan asam guluronat cepat mengendap dalam natrium klorida.

Garam alginat dari sebagian besar logam divalen dan polivalen tidak larut dalam air dan pelarut organik. Alginat ini akan mengembang dalam air dengan melakukan reaksi yang melibatkan ion logam^[17].

4) Viskositas

1% larutan alginat yang diekstraksi dari alga coklat mempunyai viskositas 500 – 3000 cps^[17]. Viskositas dipengaruhi oleh penambahan sejumlah natrium klorida, natrium sulfat, natrium karbonat dan garam sodium amonium. Viskositas konstan pada pH antara 5 sampai dengan 10. Di bawah pH 4,5 viskositas meningkat dan pengendapan terjadi pada pH 3,0.

Viskositas alginat bervariasi dengan sampel dan sumber alginatnya. Viskositas larutan alginat tergantung pada 4 faktor utama yaitu derajat polimerisasi, konsentrasi, temperatur dan penambahan larutan elektrolit^[4].

5) Kemampuan membentuk gel

Sifat alginat yang penting lainnya adalah kemampuannya bereaksi dengan ion logam polivalen membentuk gel atau larutan kental. Ion logam divalen yang biasa digunakan adalah kalsium. Rantai polimer akan berikatan dengan kalsium. Pertama yang berikatan adalah poliguluronat baru kemudian polimannuronat. Peningkatan konsentrasi kalsium akan membuat alginat lebih

kental kemudian mengendap. Gel yang terbentuk terdiri dari 99,00% - 99,5% air dan 0,5 - 1,0% kalsium alginat^[17].

Tabel 2.2 Beberapa sifat sodium alginat^[4,17]

Kandungan air	13 %
Kadar abu	23 %
Gravitas spesifik	1,59 %
Warna	Ivori (kuning gading)
Densitas	56,6 lb ft ⁻³ (874 kgm ⁻²)
Temperatur pembentukan abu	480°C
Panas kombusi	2,5 kal g ⁻¹ (10,4 g ⁻¹)

2.2.3 Isolasi Alginat dengan proses Green

Meskipun alginat tidak dapat diisolasi dari alga tanpa perubahan kimia tetapi ada metode yang memungkinkan molekul asam alginat tidak hancur atau hancur tetapi sedikit dan reaksi yang digunakan hanya mengubah kation yang berhubungan dengan asam alginat. Dengan menggunakan reaksi pertukaran asam basa, alginat dibuat larut dan tidak larut secara berganti-ganti untuk memisahkan dari konstituen alga yang lain^[17].

Telah dikenal metode untuk mengambil asam alginat yang tidak larut dalam air dan garamnya yang larut dalam air terutama sodium alginat. Salah satu metode itu adalah metode Green.

Dalam proses Green, rumput laut dari kelas *Phaeophyta* diberi perlakuan dengan asam seperti larutan asam klorida dan mengubah garam-garam alginat alami menjadi asam alginat. Garam-garam residu lain, residu asam klorida dan senyawa organik lain yang larut dalam air dipisahkan melalui pencucian dengan air. Rumput laut kemudian dipotong-potong atau dihaluskan dan ditambahkan natrium karbonat berlebihan bersama sejumlah air untuk mengekstraksi natrium alginat yang larut dalam air. Ekstrak natrium alginat difiltrasi dan ditambah dengan larutan kalsium klorida untuk mengendapkan alginat dalam bentuk kalsium alginat yang tidak larut dalam air. Endapan dengan kandungan air yang tinggi dipisahkan dari natrium klorida, kalsium klorida, dan senyawa fenol yang biasanya muncul dalam ekstrak murni. Endapan masih mungkin mengandung zat warna meskipun telah dilakukan pencucian dengan air, sehingga perlu ditambahkan pemutih. Endapan kemudian diberi perlakuan dengan asam alginat untuk mengubah kalsium alginat menjadi asam alginat dan dapat dinetralisasi untuk mendapatkan natrium alginat murni^[18].

2.3 Spektroskopi NMR ¹H

Spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) merupakan suatu teknik yang baik untuk karakterisasi polimer. Dibandingkan dengan metode analisa yang lain, NMR mempunyai kelebihan yaitu sifatnya yang nondestruktif, sehingga dapat menganalisa polimer tanpa harus memodifikasi atau mendegradasi polimer itu. Penggunaan NMR untuk sistem polimer dimulai dengan NMR ¹H

pada tahun 1960 dan selanjutnya pada tahun 1970 mulai digunakan NMR ^{13}C yang memberikan informasi lebih detail untuk homopolimer dan kopolimer^[10,19].

Kegunaan yang besar dari resonansi magnet inti ^1H adalah karena tidak setiap proton dalam molekul beresonansi pada frekwensi yang identik sama. Hal ini disebabkan oleh kenyataan bahwa berbagai proton dalam molekul dikelilingi oleh elektron dan menunjukkan perbedaan lingkungan elektronik satu proton dari proton yang lain^[20]. Dalam analisa polisakarida metode ini akan memberikan keterangan tentang proton anomerik yang penting untuk mengetahui komponen monosakarida dan posisi substituen^[21].

2.3.1 Pergeseran Kimia

Tidak setiap inti dalam atom beresonansi pada frekwensi yang sama, karena berbagai proton dalam molekul dikelilingi oleh elektron dan menunjukkan perbedaan lingkungan elektronik satu proton dengan proton lainnya. Perbedaan lingkungan ini dapat mengubah medan magnet yang diberikan, sehingga semua inti dalam molekul tidak mengalami medan magnet lokal yang sama dan inti-inti beresonansi pada frekwensi yang berbeda. Pergeseran spektra dalam frekwensi dua inti nonekuivalen disebut pergeseran kimia^[20,22].

Pergeseran kimia berhubungan dengan frekwensi Larmour spin dan lingkungan. Frekwensi Larmour adalah frekwensi presesi spin inti dalam medan magnet statis. Skala pergeseran kimia tidak mutlak karena frekwensi Larmour sebanding dengan kekuatan medan magnet. Selisih frekwensi (Hz) diukur dari resonansi senyawa standar dan dibagi dengan frekwensi Larmour standar (MHz)

yang sebanding dengan kekuatan medan magnet. Satuan pergeseran kimia adalah ppm (skala δ). Karena selisih frekwensi (Hz) dibagi frekwensi Larmour (MHz) harganya dalam perbandingan 1: 10^6 ^[23].

Senyawa standar yang digunakan dalam NMR ^1H dan ^{13}C adalah tetrametilsilan (TMS). TMS merupakan senyawa yang memenuhi syarat sebagai senyawa standar. Karena sinyal TMS sangat jelas dan pergeseran kimianya berbeda dari kebanyakan resonansi proton dan karbon yang lain. Sehingga sinyal resonansi cuplikan jarang yang tumpang tindih dengan TMS. Senyawa TMS mempunyai sifat inert, mudah menguap, merupakan pelarut yang baik untuk senyawa organik sehingga mudah dipisahkan setelah cuplikan diambil spektrumnya. Jadi skala pergeseran kimia (δ) didasarkan pada senyawa standar TMS. Spektrum NMR ^1H mempunyai rentang pergeseran kimia sampai 12 ppm^[24].

2.3.2 Penentuan Urutan Monomer dengan Spektroskopi NMR ^1H

Salah satu aplikasi NMR untuk polisakarida adalah untuk menentukan komposisi dan urutan monomer^[10].

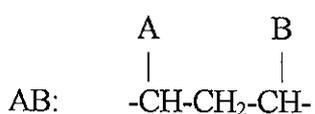
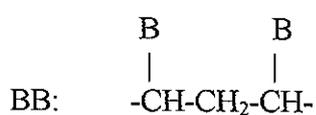
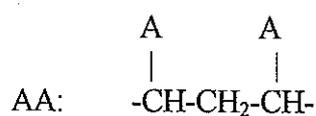
Dalam kopolimer, penempatan urutan komonomer misalnya komonomer A dan B dapat membuat distribusi urutan monomer yang berbeda. Tiga jenis urutan monomer yang umum adalah:

Kopolimer random	AABAABBABB
Kopolimer Blok	AAAAABBBBB

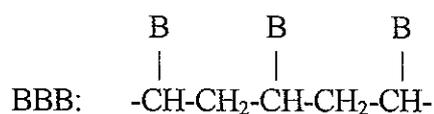
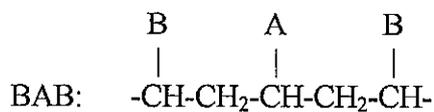
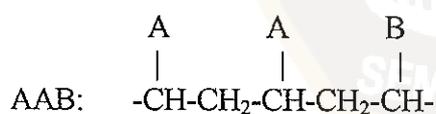
Kopolimer selang – seling ABABABABAB

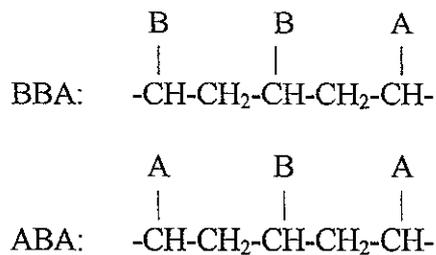
Dalam eksperimen dengan NMR inti ^1H dalam komonomer A atau B dapat merasakan bahwa inti mempunyai tetangga yang berbeda. Misalnya kombinasi komonomer yang berbeda itu adalah dua (diad) atau tiga (triad).

Diad



Triad





Inti H pada metilen sensitif terhadap A atau B. Secara umum H metilen dengan tetangga XX, XY, atau YY (diad) akan memiliki pergeseran kimia yang berbeda dalam spektra NMR ^1H .

Dalam sebagian besar kopolimer, efek urutan dapat dilihat dari pergeseran kimia ^{13}C (atau ^1H dengan medan tinggi). Inti H metilen mungkin tidak hanya sensitif terhadap tetangga terdekat (diad), tetapi juga terhadap tetangga terdekat berikutnya. Sehingga di dalam spektra NMR mungkin juga terdapat tetrat XXXX, XXXY, dan YXXY.

Jenis konstituen residu polisakarida dan rasionya dapat dilihat dari jumlah dan intensitas relatif sinyal ^1H dan ^{13}C dalam spektra. Setiap sinyal mempunyai intensitas yang berbeda dan luas daerah di bawah sinyal sebanding dengan konsentrasi inti dalam sampel. Dengan demikian untuk memperoleh informasi tentang suatu polimer dapat diperoleh dari spektra NMR kemudian dilakukan penandaan urutan yang tepat, menentukan luas daerah di bawah resonansi, kemudian akan diperoleh komposisi dan urutan monomer dalam polimer. Pola pergeseran kimia inti ^1H dari setiap monomer dalam polisakarida memungkinkan kita mengetahui urutan kandungan monomer dalam polisakarida ^[10,19].

2.4 Analisa Spektroskopi IR

Analisa spektroskopi infra merah (IR) digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsional senyawa yang dianalisa, khususnya senyawa organik^[25]. Spektra infra merah mengandung banyak serapan yang dihubungkan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi dalam molekul, dan karena mempunyai karakteristik yang unik untuk setiap molekul maka dalam setiap spektrum memberikan pita-pita serapan yang karakteristik juga. Spektra IR dapat dinyatakan dalam satuan frekwensi (det^{-1} atau Hz), bilangan gelombang (cm^{-1}) atau panjang gelombang (μm). Daerah pengukuran spektrum biasanya 4000 – 650 cm^{-1} . Senyawa yang dianalisa dapat berupa gas, cairan atau padatan. Cuplikan dapat dilarutkan dalam pelarut seperti karbon tetraklorida, karbon disulfida atau kloroform^[20].

