

Ekstraksi Polisakarida Ulvan dari Rumput Laut *Ulva lactuca* berbantu Gelombang Ultrasonik pada Suhu Rendah

Wahyu Ramadhan^{1,2*}, Uju^{1,3}, Safrina Dyah Hardiningtyas¹, Rizfi Fariz Pari¹, Nurhayati¹,
Devani Sevica¹

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor Jawa Barat 16680

²Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan (PKSPL), Kampus IPB Baranangsiang, Jalan Raya Pajajaran No. 1, Bogor, Jawa Barat, 16127

³Surfactant and Bioenergy Research Center (SBRC), Institut Pertanian Bogor, Bogor Jawa Barat 16143
Telepon (0251) 8622916, Faks. (0251) 8622915

Diterima: 11 Maret 2022/Disetujui: 21 April 2022

*Korespondensi wahyu.ramadhan@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi: Ramadhan W, Uju, Hardiningtyas SD, Pari RF, Nurhayati, Sevica D. 2022. Ekstraksi polisakarida ulvan dari rumput laut *Ulva lactuca* berbantu gelombang ultrasonik pada suhu rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(1): 132-142.

Abstrak

Ulvan merupakan polisakarida bersulfat utama dari rumput laut *Ulva* yang memiliki aktivitas biologis penting. Umumnya ulvan diekstrak menggunakan suhu tinggi dan dengan rentang waktu yang lama, oleh karena itu diperlukan metode ekstraksi alternatif yang dapat menghasilkan ulvan yang memiliki kualitas yang baik namun tetap mendukung konsep efisiensi energi. Salah satu metode *green extraction* yang dapat mengurangi penggunaan pelarut organik dan energi yang tinggi selama ekstraksi adalah dengan bantuan gelombang ultrasonik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan waktu, suhu dan jenis pelarut dengan bantuan ultrasonik yang paling baik dalam menghasilkan rendemen dan karakteristik ulvan yang sesuai dibandingkan dengan ulvan yang diekstraksi dengan metode konvensional atau tanpa bantuan ultrasonikasi. Pada penelitian tahap awal digunakan kombinasi antara jenis pelarut (akuades, HCl dan NaOH) dengan kondisi ekstraksi suhu rendah (50, 60, dan 70°C) selama 45 dan 90 menit dengan bantuan ultrasonik. Rendemen tertinggi ulvan diperoleh dari ekstraksi menggunakan NaOH pada suhu 70°C selama 90 menit dengan bantuan ultrasonik sebesar 16,90±0,45%. Molekul dan viskositas ulvan yang dihasilkan dengan berbantu ultrasonik menunjukkan penurunan nilai dibandingkan dengan tanpa ultrasonikasi. Hasil *Fourier-transform infrared spectroscopy* mengkonfirmasi pita serapan grup sulfat yang merupakan residu gula *rhamnose* pada panjang gelombang 1.125 cm⁻¹ dan C-O-S pada 983 cm⁻¹. Ulvan yang diekstrak dengan sonikasi menunjukkan kandungan sulfat 39, 58 dan 53% untuk masing- masing pelarut akuades, HCl dan NaOH. Perlakuan ultrasonikasi memberikan pengaruh pada kandungan sulfat 2-14% lebih tinggi dibandingkan dengan sulfat yang dihasilkan dari metode konvensional.

Kata Kunci: *Ulva*, ulvan, ultrasonikasi

Ultrasonic Wave Assisted Extraction of Ulvan Polysaccharide from Ulva lactuca Seaweed at Low Temperature

Abstract

Ulvan is the major sulfated polysaccharide of *Ulva* seaweed which comprises important biological activity. Technically, ulvan is extracted at high temperatures and for a long-duration extraction step, which will require high energy. Therefore, an alternative extraction approach is required to generate ulvan with good quality that meets energy efficiency. One alternative method to reduce the extraction energy is ultrasonic waves. This study aims to determine the effect of ultrasonication on the different extraction protocols on the yield and ulvan characteristics. In the initial evaluation, a combination of solvents (aquades, HCl, and NaOH) was used with low-temperature extraction conditions (50, 60, and 70°C) for 45 and 90 minutes

with the ultrasonication assisted. The highest yield of ulvan ($16.90 \pm 0.45\%$) was obtained from extraction using NaOH at a temperature of 70°C for 90 minutes with the aid of ultrasonication. Molecular weight and viscosity of ulvan extracted with ultrasonication-assisted showed a lower point than that ulvan extracted without ultrasonication. FTIR results confirmed the absorption band of the sulfate group, indicating the residue of rhamnose at a wavelength of $1,125\text{ cm}^{-1}$ and C-O-S stretching at 983 cm^{-1} . Ulvan extracted by sonication demonstrated sulfate content of 39, 58, and 53% for the solvent of aquades, HCl, and NaOH, respectively. The ultrasonication aid affected the sulfate content of 2-14% higher than that sulfate of ulvan produced from the conventional method.

Keywords: *Ulva*, ulvan, ultrasonication

PENDAHULUAN

Ulvan merupakan hidrokoloid polisakarida kompleks yang menyusun dinding sel utama rumput laut *Ulva* sp. sebesar 9-36% dari berat kering biomasnya, dan umumnya tersusun oleh komponen *rhamnose 3-sulfate*, asam uronat (glukoronat dan iduronate) serta xilosa (Mo'o *et al.* 2020). Selain kajian dalam bidang pangan, selama ini ulvan juga banyak dipelajari sebagai salah satu komponen utama rumput laut *Ulva* yang memiliki aktivitas biologis baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Kidgell *et al.* 2019). Beberapa penelitian terkini yang melaporkan aktivitas biologis ulvan antara lain, memiliki aktivitas *immunomodulating* (Peasura *et al.* 2016), aktivitas inflamasi (Liu *et al.* 2019), aktivitas antioksidan (Guedes *et al.* 2013), anti kanker (El Azm *et al.* 2019), antikoagulan (de Carvalho *et al.* 2020), *anti-hyperlipidemic* (Jiang *et al.* 2020), dan aktivitasnya sebagai anti-virus (Klongklaew *et al.* 2020) yang bermanfaat bagi produktivitas dan kesehatan manusia serta aplikasinya di bidang biomedis khususnya dalam bidang *tissue engineering* (Alves *et al.* 2013).

Ulvan diekstraksi melalui beberapa tahapan yaitu proses pencucian rumput laut, pemucatan, ekstraksi, penyaringan, pengendapan, dan pengeringan (Lakshmi *et al.* 2020). Suhu efektif yang dibutuhkan pada proses ekstraksi ulvan cukup tinggi berkisar antara $80-90^\circ\text{C}$ dengan waktu berkisar antara 3-10 jam (Kidgell *et al.* 2019). Kondisi ekstraksi yang terlalu ekstrim baik pH, waktu ekstraksi dan suhu tinggi akan menyebabkan depolimerisasi yang sangat signifikan dan tidak diharapkan dalam proses ekstraksi ulvan (Mo'o *et al.* 2020). Berdasarkan kondisi dan permasalahan tersebut maka diperlukan metode ekstraksi alternatif yang

dapat menghasilkan ulvan yang memiliki kualitas yang baik dan rendemen yang tinggi namun tetap mendukung konsep efisiensi energi serta penggunaan pelarut organik seminimal mungkin. Salah satu teknologi hijau yang saat ini banyak digunakan adalah penggunaan gelombang ultrasonik (ultrasonikasi) pada proses ekstraksi. Umumnya gelombang ultrasonik akan menimbulkan fenomena kavitasi yang dapat menghasilkan daya deformasi pemecahan dinding sel secara mekanis (Chemat *et al.* 2017). Kondisi tersebut akan mengurangi penggunaan suhu tinggi, konsentrasi pelarut organik yang tinggi dan mereduksi waktu atau proses ekstraksi. Wen *et al.* (2018) melaporkan *ultrasound assisted extraction* dapat meningkatkan transfer massa, mempercepat difusi dan mencegah kerusakan komponen aktif yang biasanya terjadi pada suhu tinggi.

Penggunaan *ultrasound assisted extraction* atau proses ekstraksi dengan bantuan ultrasonik telah banyak dilaporkan pada berbagai ekstraksi hidrokoloid rumput laut, contohnya ekstraksi komponen aktif rumput laut coklat *Ascophyllum nodosum* (Kadam *et al.* 2015), ekstraksi alginat dan karagenan (Yousouf *et al.* 2017, Montes *et al.* 2021), dan ekstraksi *native* agar dari *Gracilaria* sp. (Uju *et al.* 2018). Ekstraksi ulvan menggunakan kombinasi penggunaan ultrasonikasi dengan perbedaan jenis pelarut dan pada suhu rendah ($<80^\circ\text{C}$) belum dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu, suhu dan jenis pelarut dengan bantuan ultrasonik yang paling baik dalam menghasilkan rendemen dan karakteristik ulvan yang sesuai dibandingkan dengan ulvan yang diekstraksi dengan metode konvensional atau tanpa bantuan

ultrasonikasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu rumput laut hijau jenis *Ulva lactuca* yang diperoleh dari Kawasan Perairan Desa Ujung Genteng, Kecamatan Ciracap, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan pada proses ekstraksi dan karakterisasi ulvan antara lain akuades, HCl, NaOH, AgNO₃, H₂O₂, BaCl₂. Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain adalah ultrasonik (DSA100, 200W, Shenzhen, Cina), timbangan analitik, cawan pengabu, kertas Whatman no.42, alat tanur, pengering tray (*food dehydrator-30*, 800 W, China), *Fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR) (PerkinElmer Spectrum One S4934, Ohio, USA), *Viscometer Brookfield* TV-10 (Brookfield RVDVE-E230, Middleboro, AS) dan alat-alat gelas (Pyrex).

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dikerjakan dalam dua tahapan. Tahap pertama yaitu preparasi rumput laut dilanjutkan dengan proses ekstraksi ulvan dengan akselerasi gelombang ultrasonik dengan perbedaan jenis pelarut, suhu dan waktu ekstraksi. Pada tahap pertama dilakukan analisis rendemen, viskositas dan berat molekul untuk menentukan perlakuan suhu dan waktu terpilih pada masing-masing jenis pelarut yang berbeda. Tahap kedua yaitu karakterisasi ulvan terpilih dari masing-masing jenis pelarut yang berbeda meliputi identifikasi kadar air, gugus fungsi, dan analisis kandungan sulfat untuk mendapatkan perlakuan terpilih.

Preparasi rumput laut

Rumput laut *U. lactuca* segar dicuci bersih dari semua pengotor kemudian dikeringkan. Setelah kering, rumput laut dipilah dan dibersihkan dari benda asing yang menempel seperti kerang, sisa garam, pasir, dan lainnya dengan cara dicuci secara berulang kembali hingga tidak menyisakan kotoran. Ukuran rumput laut kemudian dikecilkan untuk memudahkan proses ekstraksi.

Ekstraksi ulvan

Ekstraksi ulvan mengacu pada Kidgell *et al.* (2019) dengan modifikasi suhu, waktu ekstraksi dan bantuan ultrasonikasi selama proses ekstraksinya. Proses ekstraksi dilakukan di dalam *ultrasonic water bath* yang dilengkapi dengan pemanas dan pengatur waktu. Ekstraksi ulvan dilakukan dengan bantuan sonifikasi frekuensi 40 kHz pada suhu 50, 60 dan 70°C selama 45 atau 90 menit. Masing-masing kondisi suhu dan waktu tersebut digunakan pada ekstraksi dengan pelarut akuades, HCl 0,05 M, dan NaOH 0,05 M. Perbandingan rumput laut kering dan pelarut adalah 1:20. Setelah proses ekstraksi, bubur rumput laut yang dihasilkan kemudian disaring. Untuk memurnikan ulvan yang diperoleh, filtrat yang diperoleh kemudian dipresipitasi dengan isopropil alkohol (IPA) dengan perbandingan rumput laut dan IPA adalah 1:2 dan dibiarkan menjendal selama semalam pada suhu *chilling*. Fase padat dari filtrat (ulvan murni) dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 6 jam. Ulvan kering yang dihasilkan dilakukan karakterisasi meliputi rendemen, viskositas, bobot molekul, kadar air, gugus fungsi dan kadar sulfat. Ulvan perlakuan terpilih pada masing-masing jenis pelarut dibandingkan karakteristiknya dengan kontrol (tanpa ultrasonik 60°C, 90 menit).

Prosedur analisis

Prosedur analisis yang dilakukan yaitu: 1) rendemen ulvan, 2) viskositas, 3) bobot molekul, 4) gugus fungsi, 5) analisis kadar air, dan 6) analisis kadar sulfat.

Rendemen ulvan

Rendemen dihitung dengan membandingkan berat kering ulvan yang diperoleh dengan berat rumput laut yang digunakan. Formula rendemen ulvan dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ulvan kering}}{\text{Berat rumput laut } U.lactuca \text{ kering}} \times 100\%$$

Analisis Kadar Air (BSN 2010)

Sampel (2 g) ditimbang pada cawan yang sudah terlebih dahulu ditimbang bobot kosong, cawan kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Perhitungan kadar air ulvan yaitu:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat cawan + sampel awal}) - (\text{berat cawan + sampel kering})}{(\text{berat cawan + sampel awal}) - \text{berat cawan kosong}} \times 100\%$$

Analisis Kadar Sulfat (AOAC 1995)

Kadar sulfat dilakukan dengan menimbang sampel 1 g ulvan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 50 mL HCl 0,2 N kemudian direfluks 1 jam. Selanjutnya sampel ditambahkan 25 mL larutan H₂O₂ 10% dan direfluks selama 5 jam. Larutan BaCl₂ 10 mL dimasukkan saat larutan jernih dan dipanaskan selama 2 jam. Sampel yang telah direfluks disaring dengan kertas Whatman No. 42. Kertas saring dibilas dengan akuades hingga bebas sulfat (tidak berwarna larutan saat ditetesi AgNO₃). Kertas saring beserta endapan yang telah bebas sulfat diabukan dalam cawan menggunakan tungku 1.000°C selama 5 jam lalu ditimbang. Perhitungan kadar sulfat yaitu:

$$\text{Kadar sulfat (\%)} = \frac{\text{Berat cawan akhir} - \text{berat cawan kosong}}{\text{Berat sampel}} \times 0,4116 \times 100\%$$

Viskositas

Sampel ulvan sebanyak 0,75 g dilarutkan dalam 100 mL akuades. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam wadah dan diukur viskositasnya menggunakan *Viscometer Brookfield TV-10* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 27°C. Viskositas dinyatakan dalam satuan *centipoise* (cP).

Analisis berat molekul ulvan

Analisis berat molekul ulvan diukur berdasarkan viskositas intrinsik yang mengacu pada penelitian Montes *et al.* (2021) dengan modifikasi. Viskositas intrinsik diperoleh dari kalkulasi viskositas spesifik (hasil pengukuran *viscometer*) dengan menggunakan persamaan Huggins (1942):

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + kH [\eta]^2 C$$

Keterangan: η_{sp} = viskositas spesifik (cp), C = konsentrasi larutan (g/L), kH = konstanta Huggins (0,3), $[\eta]$ = viskositas intrinsik (dL/g)

Hubungan antara viskositas dan berat molekul ulvan mengikuti persamaan Mark Houwink. Nilai eksponen a dan konstanta k_{MH} tergantung pada jenis polimer dan pelarut terpilih, nilai konstanta dan eksponen yang digunakan mengacu berdasarkan Houwink (1940):

$$[\eta] = K_{MH} M^a$$

$$M = ([\eta]/k_{MH})^{1/a}$$

Keterangan: $[\eta]$ = viskositas intrinsik (dL/g); k_{MH} = 1,69 x 10⁻⁵; a=2,03; M = berat molekul (kDa)

Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dan dengan perlakuan jenis pelarut, suhu dan waktu ekstraksi. Sedangkan rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) juga diujikan pada pengaruh perlakuan antara ultrasonikasi dan tanpa ultrasonikasi. Taraf perlakuan pertama adalah jenis pelarut akuades, HCl dan NaOH pada suhu ekstraksi 50, 60 dan 70°C selama 45 atau 90 menit. Pada taraf perlakuan kedua adalah ekstraksi ulvan tanpa bantuan ultrasonikasi dan dengan berbantu sonikasi pada suhu 60°C lama ekstraksi 90 menit pada masing-masing jenis pelarut. Seluruh data diperoleh dengan tiga kali ulangan. Data yang diperoleh sebelumnya dianalisis normalitas dengan menggunakan *Levene's test*, dan uji kenormalan data dengan Kolmogorov Smirnov. Apabila data menyebar normal dan homogen maka dilanjutkan analisis dengan menggunakan ANOVA dengan selang kepercayaan 95% kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan apabila berpengaruh nyata menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics® versi 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ulvan

Rendemen adalah faktor utama dan parameter penting dalam ekstraksi ulvan. Rendemen ulvan yang dihasilkan berkisar antara 6,70-16,87%. Nilai rendemen ulvan bervariasi dengan kondisi pelarut yang berbeda yaitu akuades, HCl dan NaOH. Rendemen

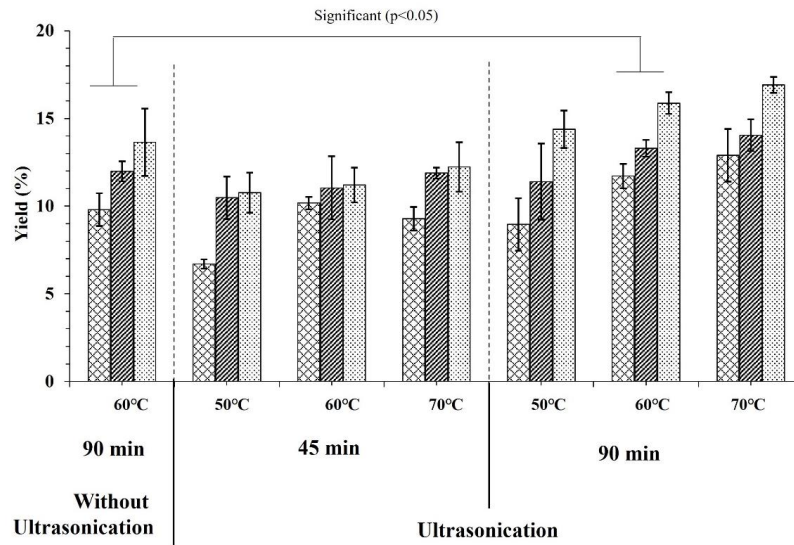


Figure 1 Yield of ulvan obtained from different extraction protocols (▨ aquadest, ▩ HCl 0.05 M, ▤ NaOH 0.05 M)

ulvan terlihat semakin meningkat dengan ditingkatkannya suhu dan waktu ekstraksi. Pada ekstraksi rumput laut *U. lactuca* dengan menggunakan pelarut akuades menghasilkan ulvan dengan rendemen terendah yaitu 6,70% dengan perlakuan sonikasi selama 45 menit pada suhu 50°C (Figure 1). Penggunaan ultrasonik dengan perbedaan waktu ekstraksi yang berbeda (45 dan 90 menit) menghasilkan rendemen ulvan yang signifikan ($p < 0,05$). Pada ekstraksi ulvan dengan menggunakan pelarut HCl dan NaOH pada suhu 70°C selama 90 menit masing-masing menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 14,05% dan 16,90% (Figure 1). Pada setiap kondisi ekstraksi *U. lactuca* dengan pelarut yang berbeda, kondisi ekstraksi dengan bantuan ultrasonik menunjukkan peningkatan hasil rendemen ~2% dibandingkan dengan proses ekstraksi tanpa ultrasonikasi pada waktu dan suhu yang sama.

Kombinasi suhu rendah dan ultrasonikasi menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai rendemen ulvan yang diperoleh dari rumput laut *U. clathrate* dengan metode ekstraksi konvensional pada suhu tinggi dan waktu yang lebih lama, yaitu 14,83% (Hernández-Garibay *et al.* 2011), namun masih lebih rendah dibandingkan dengan ulvan yang diekstraksi dari *U. rotundata* (27,9%) (Robic *et al.* 2009b). Rendemen ulvan sangat bervariasi bergantung dengan

jenis dan kondisi ekstraksi, dari hasil review yang dilaporkan oleh Kidgel *et al.* (2019) terdapat 22 spesies *Ulva* yang sudah pernah diteliti dengan median rendemennya berkisar antara 2,7-40%. Pada sistematik review yang sama, *Ulva lactuca* dilaporkan memiliki nilai rendemen berkisar 16,6%. Ekstraksi berbantu ultrasonikasi pada proses ekstraksi ulvan belum pernah dikaji sebelumnya, secara umum dengan waktu dan kondisi suhu yang tepat, proses sonikasi dapat mengakselerasi kavitas pemecahan dinding sel sehingga pelarut akan lebih mudah mengekstrak ulvan. Hasil rendemen ulvan menunjukkan kondisi pH yang berbeda dan peningkatan waktu lama proses ekstraksi memberikan dampak yang signifikan pada rendemen yang diperoleh.

Bobot Molekul dan Viskositas

Bobot molekul ulvan yang dihasilkan berkisar antara 260-204 kDa. Distribusi bobot molekul pada penelitian ini identik dengan hasil ulvan yang diperoleh secara umum yaitu berkisar antara 100-500 kDa (Kidgel *et al.* 2019). Kondisi ekstraksi berbantu ultrasonikasi dalam ekstraksi ulvan dapat sedikit menurunkan bobot molekul ~10 kDa (Figure 2A). Hal ini mengindikasikan bahwa ultrasonikasi dapat membantu depolimerisasi molekul ulvan yang berakibat pada penurunan nilai viskositas ulvan yang dihasilkan (Figure 2B). Hal ini juga telah

dilaporkan dari beberapa penelitian lain yang menyatakan bahwa penggunaan ultrasonikasi dapat mendegradasi ikatan hidrogen pada polisakarida kompleks (Sanchez *et al.* 2013, Yang and Zhang 2009). Perbedaan pelarut juga terlihat sangat signifikan dalam menghasilkan ulvan dengan bobot molekul yang berbeda. Hal ini terlihat pada ekstraksi menggunakan akuades menunjukkan ulvan yang dengan bobot molekul 304 kDa, sedangkan ulvan dari hasil ekstraksi HCl dan NaOH berturut turut memiliki bobot molekul lebih rendah yaitu 280 dan 265 kDa.

Secara umum bobot molekul merupakan sifat utama yang berhubungan erat dengan sifat fisiko kimia serta sifat biologi polisakarida ulvan. Salah satu yang berhubungan erat dengan bobot molekul adalah nilai viskositas intrinsik ulvan. Nilai viskositas ulvan sedikit dipengaruhi oleh suhu dan secara signifikan dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Ulvan yang diperoleh pada kondisi

ekstraksi dengan akuades dengan bantuan ultrasonikasi selama 90 menit pada suhu 60°C menghasilkan viskositas dengan nilai yang lebih tinggi (69,33 cP) dibandingkan dengan ulvan yang diperoleh dari ekstraksi HCl (60,80 cP) dan NaOH (43,73 cP).

Fenomena tersebut dapat dijelaskan karena ulvan merupakan senyawa polisakarida kompleks yang mengandung gula rhamnose, asam uronat dan asam guluronate yang interaksi intermolekularnya sangat bergantung pada kondisi pH selama proses ekstraksi (Robic *et al.* 2009^a). Jika kondisi pH selama proses ekstraksi lebih tinggi dari pKa asam uronat (3,28) dan ester sulfat (2,0) maka akan menghasilkan ulvan dengan molekul yang lebih rendah yang berakibat pada nilai viskositas yang rendah (Robic *et al.* 2009^b). Oleh karena itu, derajat polimerisasi secara berturut-turut dipengaruhi oleh pH, suhu, waktu dan teknik ekstraksi. Khususnya kondisi basa (0,05 M NaOH) menghasilkan

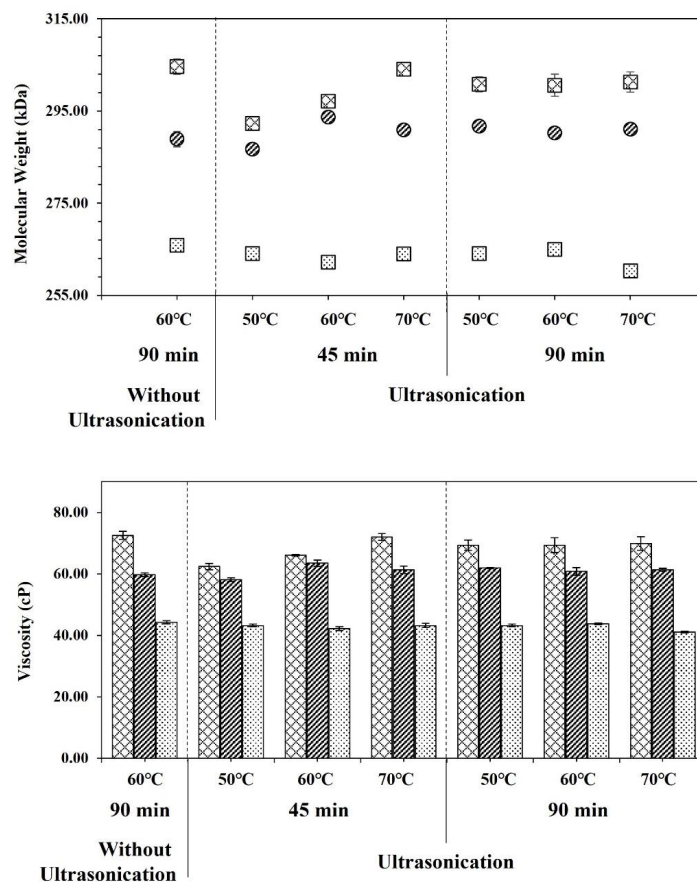


Figure 2. Molecular weight (A) and viscosity (B) of ulvan obtained from different extraction protocols (Aquadest, HCl 0,05 M, NaOH 0,05 M)

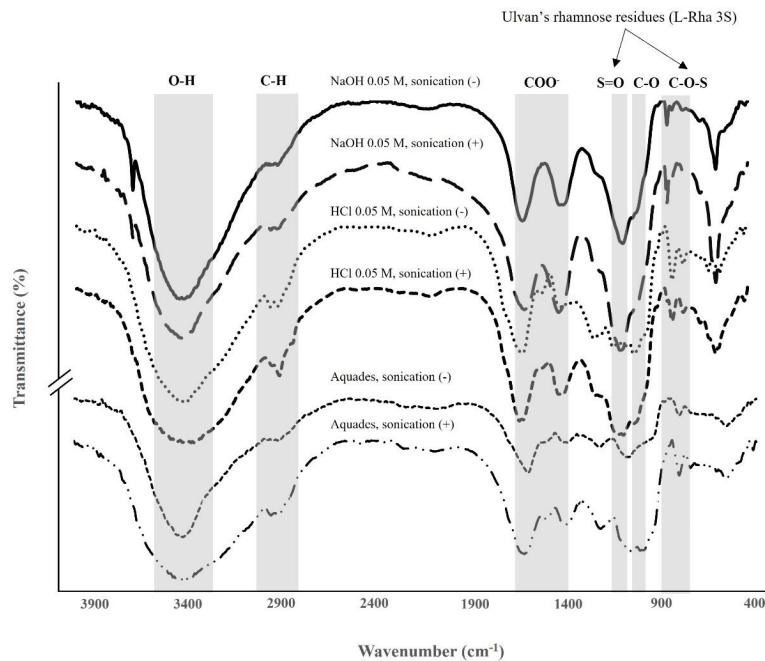


Figure 3. Fourier transform infrared spectroscopy spectra of ulvan obtained from different extraction protocols.

derajat depolimerisasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi asam (0,05 HCl) dan netral (akuades).

Ulvan dengan bobot molekul rendah (< 100 kDa) memiliki banyak manfaat dalam bidang biomaterial dan biomedis. Sedangkan ulvan yang dihasilkan dalam penelitian ini dikategorikan merupakan ulvan dengan bobot molekul tinggi (200-1.000 kDa). Ulvan dengan bobot molekul yang lebih besar dapat dikembangkan sebagai bahan pengisi pangan fungsional dan suplemen (Venkatesan *et al.* 2015).

Karakteristik Perlakuan Terpilih

Ulvan yang dihasilkan pada perlakuan terpilih pada masing-masing pelarut (pada suhu 60°C, 90 menit+ultrasonikasi) dibandingkan dengan karakteristik ulvan yang dihasilkan dari perlakuan kontrol pada setiap jenis pelarut (pada suhu 60°C, 90 menit tanpa ultrasonik). Karakteristik parameter ulvan yang diuji meliputi analisis gugus fungsi, kadar air, dan kadar sulfat.

Sebagai analisis awal, penentuan gugus fungsi pada ulvan dilakukan dengan menganalisis hasil refleksi spectra FTIR (Figure 3). Spektra FTIR ulvan yang dihasilkan

dari ekstraksi berbantu ultrasonikasi baik menggunakan akuades, HCl dan NaOH menunjukkan pola spektrum yang serupa.

Pita serapan pada sekitar 3.400 cm^{-1} menandakan *stretching* hidroksil grup (OH) dan pada pita serapan 2.937 cm^{-1} juga menunjukkan *stretching* C-H, di mana kedua gugus fungsi tersebut merupakan serapan gelombang utama pada polisakarida (Tian *et al.* 2015). Pada semua kondisi ekstraksi menunjukkan pola absorpsi yang sama, khususnya pada pita kecil di gelombang 848 cm^{-1} yang mengindikasikan gugus fungsi C-O-S (biasanya ditemukan pada ulvan, sebagai tanda bentuk polisakarida dan keberadaan β -glycoside). Gugus fungsi C-O-S banyak ditemukan sebagai penanda utama ulvan (Koga *et al.* 2018), selanjutnya gugus fungsi C-O juga ditandai ada pada pita serapan gelombang 983 cm^{-1} yang merupakan penanda pada gugus C-O, gugus fungsi S=O yang merupakan grup sulfat juga ditemui pada pita serapan 1.215 cm^{-1} , selain itu pada rentang pita serapan gelombang 1.400-1.600 cm^{-1} juga ditemukan *stretching* gugus O-C-O sebagai penanda grup karboksil dan asam uronat pada ulvan (Hernández-Garibay *et al.* 2011). Hasil ini juga serupa dengan ulvan

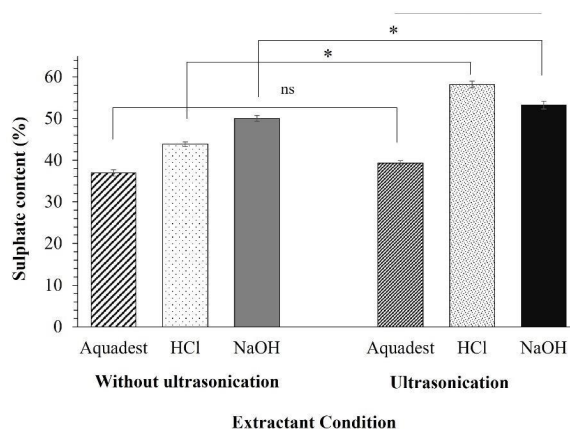


Figure 4. Sulphate content of ulvan obtained from different extraction protocols.

yang dihasilkan dari spesies *Ulva* sp. lainnya dengan metode ekstraksi yang berbeda (Wahlström *et al.* 2020).

Perbedaan yang signifikan terlihat pada pita serapan *stretching* S=O, di mana terlihat intensitas serapan lebih kuat ditunjukkan pada ulvan hasil ekstraksi HCl dan NaOH dibandingkan dengan ulvan hasil ekstraksi menggunakan akuades. Perbedaan juga terlihat pada pita serapan ulvan yang diekstraksi berbantu sonikasi menghasilkan intensitas yang lebih tinggi dibandingkan tanpa sonikasi. Hal ini dapat dilihat dari tingginya nilai transmitansi dan luasnya pita serapan ulvan yang diekstraksi berbantu ultrasonikasi. Secara umum, seluruh hasil ulvan yang diekstraksi dengan kondisi atau protokol yang berbeda menunjukkan profil absorbansi yang sama dengan spektrum FTIR yang sudah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya (Robic *et al.* 2009). Secara umum keberadaan grup sulfat merupakan komponen penting dan signifikan dalam penentuan aktivitas biologis ulvan.

Analisis tahap selanjutnya adalah profil akhir dari ulvan berupa kadar air, dan kadar sulfat. Tahap akhir ini dilakukan sebagai evaluasi melihat pengaruh jenis pelarut dan bantuan sonikasi selama proses ekstraksi ulvan serta kemurnian ulvan sebelum proyeksi aplikasinya.

Ulvan yang dihasilkan dari ekstraksi akuades, HCl dan NaOH menunjukkan hasil kadar air 8,99-11,41%. Perlakuan sonikasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air ulvan yang dihasilkan

($p > 0,05$). Ulvan yang diperoleh dari rumput laut hijau *U. lactuca* belum memiliki standar kualitas utama perdagangan, sebagaimana standar mutu agar, alginat dan karagenan yang telah ditetapkan standar mutunya, baik pada standar nasional Indonesia maupun perdagangan luar negeri. Namun secara umum, kadar air ulvan yang dihasilkan sudah lebih rendah dari standar kadar air tepung agar (22%) dan tepung karaginan (12%) (FAO 2014). Kadar air ulvan akan memengaruhi mutu akhir serta daya simpannya.

Parameter kadar sulfat yang dihasilkan mencapai 39-58%. Kadar sulfat perlakuan terpilih pada masing-masing jenis pelarut menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan metode konvensional (tanpa ultrasonikasi) ($p < 0,05$). Pada perlakuan ekstraksi ulvan berbantu ultrasonikasi dengan perbedaan pelarut menunjukkan hasil kadar sulfat yang berbeda nyata ($p < 0,05$). Adanya perlakuan ultrasonikasi pada ekstraksi ulvan dengan akuades, HCl dan NaOH secara berturut-turut menunjukkan hasil kadar sulfat yang lebih tinggi sebesar 2,39, 14,31 dan 3,22% dibandingkan ulvan yang dihasilkan tanpa bantuan ultrasonikasi.

Struktur utama ulvan merupakan heteropolisakarida bersulfat dan disakarida utamanya tersusun atas rhamnose bersulfat, asam uronat, iduronic acid atau xylose. Dua disakarida utamanya adalah *aldobiuronic acids* yang terdiri dari dua jenis yaitu *A ulvanobiuronic acid 3-sulfate* (A_{3S}) dan tipe *B ulvanobiuronic acid 3-sulfate* (B_{3S}) (β -D-

GlcA-(1 → 4)- α -L-Rhap3s dan α -L-Idop A-(1 → 4)- α -L-Rhap 3s) (Kidgel *et al.* 2019). Kadar sulfat merupakan parameter yang utama yang sangat berkaitan dengan kadar gula bersulfat misalnya gula rhamnose, yang merupakan penciri dari ulvan. Perlakuan dengan ultrasonikasi menghasilkan ulvan dengan kadar sulfat 39,33, 58,15 dan 53,21% untuk masing-masing ulvan yang dihasilkan dengan pelarut akuades, HCl dan NaOH. Terlihat ekstraksi dengan kondisi asam menghasilkan kadar sulfat lebih tinggi dibandingkan dengan ulvan yang diekstraksi menggunakan alkali dan akuades.

Berdasarkan kandungan sulfat diperoleh bahwa perlakuan terbaik (terpilih) adalah ekstraksi dengan HCl pada suhu 60°C selama 90 menit dengan berbantu ultrasonikasi karena menunjukkan kadar sulfat yang lebih tinggi. Kadar sulfat yang diperoleh pun menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar sulfat yang sudah dilaporkan sebelumnya (Kidgel *et al.* 2019). Fenomena dan hasil serupa juga dilaporkan oleh (Huimin and Sun 2015) yang menghasilkan ulvan dari *U. pertusa* dengan kandungan sulfat 19,5-32,8%. Selain itu penelitian lain yang dilaporkan oleh Mo'o *et al.* (2020), ulvan yang dihasilkan dengan kondisi asam menghasilkan kadar sulfat 54%. Kandungan sulfat sangat penting untuk diketahui karena merupakan mutu awal yang berhubungan erat dengan sifat fungsional sebagai antioksidan, antikoagulan dan keunggulan aktivitas biologis ulvan lainnya.

KESIMPULAN

Proses ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik dapat meningkatkan rendemen ulvan, namun dapat menurunkan bobot molekul dan viskositas ulvan. Perlakuan suhu, waktu ekstraksi dan ultrasonikasi memberi pengaruh terhadap rendemen, bobot molekul, viskositas, gugus fungsi, serta berpengaruh terhadap kandungan sulfat yang ada. Perlakuan terpilih pada penelitian ini yaitu ekstraksi pada suhu 60°C selama 90 menit berbantu ultrasonikasi. Penggunaan ultrasonikasi pada ekstraksi ulvan mampu meningkatkan mutu profil fisikokimia ulvan yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) IPB yang telah memberikan dana penelitian melalui kegiatan Penelitian Dosen Muda - Skema Dasar, tahun anggaran 2021 Nomor: 5538/IT3.L1/PT.01.03/P/B/2021. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK IPB dan PKSPL IPB dalam menunjang kegiatan riset, serta semua tim peneliti yang telah berpartisipasi dalam kegiatan riset.

DAFTAR PUSTAKA

- Alves A, Sousa RA, Reis RL. 2013. A practical perspective on ulvan extracted from green algae. *Journal of Applied Phycology*. 25(3):407-424.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1995. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Virginia (US): The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2010. *Penentuan kadar air pada produk perikanan SNI 01-2354.2-2010*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, Abert-Vian M. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34(1):540-560.
- de Carvalho MM, Nosedo MD, Dallagnol JCC, Ferreira LG, Ducatti DRB, Gonçalves AG, de Freitas RA, Duarte MER. 2020. Conformational analysis of ulvans from *Ulva fasciata* and their anticoagulant polycarboxylic derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*. 162(25):599-608.
- El Azm NA, Fleita D, Rifaat D, Mpingirika EZ, Amleh A, El-Sayed MMH. 2019. Production of bioactive compounds from the sulfated polysaccharides extracts of *Ulva lactuca*: Post-extraction enzymatic hydrolysis followed by ion-exchange chromatographic fractionation.

- Molecules*. 24(11):2132.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2014. *FAO JECFA Monographs 16. Specifications: Carrageenan*. Rome (IT): Food and Agriculture Organization.
- Guedes ÉAC, da Silva TG Aguiar JS, de Barros LD, Pinotti LM, Sant'Ana AEG. 2013. Cytotoxic activity of marine algae against cancerous cells. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 23(4):668–673.
- Hernández-Garibay E, Zertuche-González JA, Pacheco-Ruiz I. 2011. Isolation and chemical characterization of algal polysaccharides from the green seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Journal of Applied Phycology*. 23(3):537–542.
- Houwink R. 1940. Relationship between viscosimetric and osmotically determined degrees of polymerization in high polymers. *Journal für Praktische Chemie*. 157:15-18.
- Huggins ML. 1942. The viscosity of dilute solutions of long chain molecules. IV. Dependence on concentration. *Journal of the American Chemical Society*. 64(11):2716-2718
- Huiminin Q, Sun Y. 2015. Antioxidant activity of high sulfate content derivative of ulvan in hyperlipidemic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*. 76:326-329.
- Jiang N, Li B, Wang X, Xu X, Liu X, Li W, Chang X, Li H, Qi H. 2020. The antioxidant and antihyperlipidemic activities of phosphorylated polysaccharide from *Ulva pertusa*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 145(5):1059–1065.
- Kadam SU, Tiwari BK, Smyth TJ, O'Donnell CP. 2015. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23(3):308-316.
- Kidgell JT, Magnusson M, de Nys R, Glasson CRK. 2019. Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function. *Algal Research*. 39(3):1-20.
- Koga AY, Pereira AV, Lipinski LCO. 2018. Evaluation of wound healing effect of alginate films containing *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *Journal of Biomaterials Applications*. 32(9):1212–1221.
- Klongklaew N, Praiboon J, Tamtin M, Srisapoom P. 2020. Antibacterial and antiviral activities of local Thai green macroalgae crude extracts in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Marine Drugs*. 18(3):140.
- Lakshmi DS, Sankaranarayanan S, Gajaria TK, Li G, Kujawski W, Kujawa J, Navia R. 2020. A short review on the valorization of green seaweeds and ulvan: feedstock for chemicals and biomaterials. *Biomolecules*. 10(7): 991.
- Liu XY, Liu D, Lin GP, Wu YJ, Gao LY, Ai C, Huang YF, Wang MF, El-Seedi HR, Chen XH. 2019. Anti-ageing and antioxidant effects of sulfate oligosaccharides from green algae *Ulva lactuca* and *Enteromorpha prolifera* in SAMP8 mice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 139(23):342–351.
- Mo'o FRC, Wilar G, Devkota HP, Wathoni N. 2020. Ulvan, a polysaccharide from macroalga *Ulva* sp.: A review of chemistry, biological activities and potential for food and biomedical applications. *Applied Sciences*. 10(16), 5488:1-21.
- Montes L, Gisbert M, Hinojosa I, Sineiro J, Moreira R. 2021. Impact of drying on the sodium alginate obtained after polyphenols ultrasound-assisted extraction from *Ascophyllum nodosum* seaweeds. *Carbohydrate Polymers*. 272(18): 118455.
- Peasura N, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O, Vongsawasdi P, Chao LK. 2016. Assessment of biochemical and immunomodulatory activity of sulphated polysaccharides from *Ulva intestinalis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 91(10): 269–277.
- Robic A, Gaillard C, Sassi JF, Lerat Y, Lahaye M. 2009^a. Ultrastructure of ulvan: a polysaccharide from green seaweeds. *Biopolymers*. 91(8):652-64.
- Robic A, Rondeau-Mouro C, Sassi J, Lerat Y, Lahaye M. 2009^b. Structure and interactions of ulvan in the cell wall of the marine green algae *Ulva rotundata*

- (Ulvales, Chlorophyceae). *Carbohydrate Polymer*. 77(12):206–216.
- Sanchez JAV, Motohiro T, Takaomi K. 2013. Ultrasound effect use as external stimulus for viscosity change of aqueous carrageenans. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(4):1081-1091.
- Tian H, Yin X, Zeng Q, Zhu L, Chen J. 2015. Isolation, structure, and surfactant properties of polysaccharides from *Ulva lactuca* L. from South China Sea. *International Journal of Biological Macromolecules*. 79(17):577–582.
- Uju, Santoso J, Ramadhan W, Abrory MF. 2018. Ekstraksi native agar dari rumput laut *Gracilaria* sp. dengan akselerasi ultrasonikasi pada suhu rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(3):414-422
- Venkatesan J, Lowe B, Anil S, Manivasagan P, Kheraif AAA, Kang KH, Kim SK. 2015. Seaweed polysaccharides and their potential biomedical applications. *Starch - Stärke*. 67(5-6): 381–390.
- Wahlström N, Nylander F, Malmhäll-Bah E, Sjökvold K, Edlund U, Westman G, Albers E. 2020. Composition and structure of cell wall ulvans recovered from *Ulva* spp. along the Swedish west coast. *Carbohydrate Polymers*. 232(7): 115852.
- Wen C, Zhang J, Zhang H, Dzah CS, Zandile M, Duan Y, Ma H, Luo X. 2018. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops –A review, *Ultrasonics Sonochemistry*. 48(10): 538-549.
- Yang L, Zhang LM. 2009. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymer*. 76(3): 349–361.
- Youssef L, Lallemand L, Giraud P, Soulé F, Bhaw-Luximon A, Meilhac O, D’Hellencourt CL, Jhurry D, Couprie J. 2017. Ultrasound-assisted extraction and structural characterization by NMR of alginates and carrageenans from seaweeds. *Carbohydrate Polymers*. 166(11): 55-63.