

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Makroalga *Sargassum* sp

Makroalga merupakan salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir dan merupakan salah satu komoditi laut yang sangat populer dalam perdagangan dunia, karena pemanfaatannya yang demikian luas dalam kehidupan sehari-hari, baik sebagai sumber pangan, obat-obatan dan bahan baku industri (Zeisel dan Steven, 2012). Menurut Indriani dan Sumiarsih (1991) selama ini, permintaan makroalga secara internasional terus meningkat, namun masih dominan pada kelompok *Eucheuma/Kappaphycus* dan *Gracilaria* sp., sedangkan kelas *Chlorophyceae*, seperti *Caulerpa*, masih dimanfaatkan dan diperdagangkan secara lokal.

Van Bosse (melalui ekspedisi Laut Siboga pada tahun 1899-1900) melaporkan bahwa Indonesia memiliki kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies makroalga yang terdapat di dunia. Dengan kata lain, perairan Indonesia sebagai wilayah tropis memiliki sumberdaya plasma nutfah makroalga sebesar 6,42 % dari total biodiversitas makroalga dunia (Santosa, 2003; Surono, 2004). Makroalga dari kelas alga merah (*Rhodophyceae*) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, dan alga coklat (*Phaeophyceae*) sekitar 134. Dibalik peran ekologis dan biologisnya dalam menjaga kestabilan ekosistem laut serta sebagai tempat hidup sekaligus perlindungan bagi

biota lain, golongan makroalga ini memiliki potensi ekonomis yaitu sebagai bahan baku dalam industri dan kesehatan (Winarno, 1996).

Sebagian besar jenis alga coklat hidup di daerah sub-tropis. Beberapa faktor yang memengaruhi pertumbuhan alga makro laut antara lain substrat, salinitas, nutrisi baik yang berasal dari substrat maupun massa air, gelombang, arus, kedalaman dan kejernihan dalam kaitannya dengan intensitas cahaya (Indriani dan Sumarsih, 2001). Alga makro laut banyak dijumpai tumbuh di daerah perairan yang agak dangkal dengan kondisi dasar perairan berplisir, sedikit lumpur atau campuran kedua-duanya (Waryono, 2001).

Saat ini memang belum banyak pembudidaya yang tertarik melakukan usaha budidaya untuk jenis makroalga ini. Perolehan makroalga jenis *Sargassum* sp masih didapat dari alam walaupun sebetulnya makroalga ini sudah dapat dibudidayakan (Indriani dan Sumarsih, 2001). Habitat dan sebaran *Sargassum* di Indonesia pada umumnya tumbuh di perairan yang terlindung maupun berombak besar pada habitat batu (Kadi, 1988 dalam Rachmat, 1999). Pengaruh alam yang banyak menentukan sebarannya adalah jenis substrat, cahaya matahari, kadar garam dan lain-lain. Substrat dasar tempat melekatnya adalah berupa batu karang, batu, lumpur, pasir, kulit kerang dan kayu. Penyebaran spesies ini banyak terdapat di perairan Indonesia yaitu Sumatera, Jawa, Kepulauan Seribu, Sulawesi dan Aru (Indriani dan Sumarsih, 2001).

Pada tahun 1988 *Sargassum* merupakan alga coklat yang terdiri dari kurang lebih 400 jenis di dunia (Putra, 2006). Jenis-jenis *Sargassum* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu: *Sargassum duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Kadi, 1988 dalam Rachmat, 1999).

Selanjutnya pada tahun 2004 di perairan Indonesia terdapat 28 spesies makroalga coklat yang berasal dari 6 genus yaitu: *Dictyota*, *Padina*, *Hormophysa*, *Sargassum*, *Turbinaria*, dan *Hydroclathrus* (Anggadiredja, 2007). Spesies makroalga coklat yang telah diidentifikasi yaitu *Sargassum* sp. sebanyak 14 spesies, *Turbinaria* sebanyak 4 spesies, *Hormophysa* 1 spesies, *Padina* 4 spesies, *Dictyota* 5 spesies, dan *Hydroclathrus* 1 spesies (Yunizal 2004).

Makroalga yang banyak dimanfaatkan adalah dari jenis alga merah, selain itu jenis alga coklat juga potensial untuk dibudidayakan, seperti *Sargassum* dan *Turbinaria* (Yunizal, 2004). Alga coklat ini memiliki pigmen klorofil a dan c, beta karoten, fukosantin, pirenoid, filakoid cadangan makanan berupa laminarin, dinding sel yang terdapat selulosa, dan algin. Selain bahan-bahan tadi, alga coklat merupakan bahan makanan yang baik sebagai penghasil iodium (Anonim, 1997).

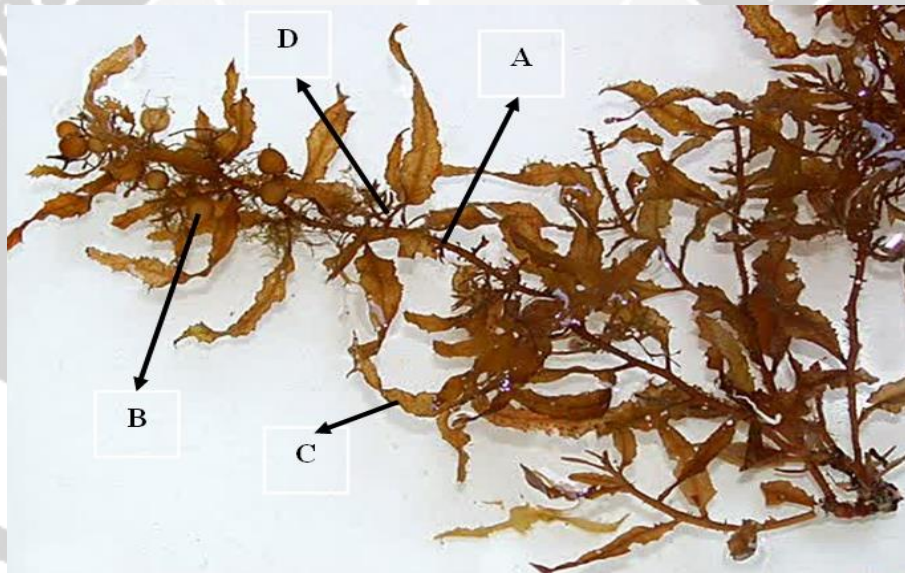
Alga makro memiliki sifat bentik (melekat) dan sering disebut sebagai bentik alga (Anggadiredja, 2007). Hidup sebagai fitobentos dengan melekatkan thallusnya pada substrat pasir, lumpur berpasir, karang, fragmen karang mati, kulit kerang, batu atau kayu. Kondisi perairan yang cocok pada umumnya adalah perairan yang jernih dengan arus dan gelombang yang tidak begitu kuat. Perkembangbiakan alga makro laut dapat terjadi melalui dua cara, yaitu secara vegetatif melalui thallus dan secara generatif melalui thallus diploid yang menghasilkan spora (Waryono, 2001).

Makroalga adalah tumbuhan tingkat rendah yang tidak memiliki akar, batang, dan daun sejati (Waryono, 2001). Tanaman ini biasanya melekat pada substrat dan berbentuk thallus. Menurut Anggadiredja (2007), secara taksonomi alga dikelompokkan ke dalam divisio Thallophyta. Menurut Surono (2004) makroalga (rumput laut) berdasarkan kandungan pigmennya dibagi ke dalam tiga kelas yaitu sebagai berikut:

1. *Chlorophyceae* (alga hijau) yakni makroalga yang didominasi oleh zat warna hijau daun (klorofil).
2. *Phaeophyceae* (alga cokelat) yakni makroalga yang didominasi zat warna coklat atau pirang. Alga kelas ini dapat menghasilkan alginat.
3. *Rhodophyceae* (alga merah) yakni makroalga yang didominasi zat warna merah, ungu, lembayung (fikoeritrin). *Rhodophyceae* lebih banyak dibudidayakan karena dapat menghasilkan karaginan dan agar.

Menurut Argardh (1820), klasifikasi *Sargassum* sp adalah sebagai berikut:

Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Bangsa	: Fucales
Suku	: Sargassaceae
Marga	: <i>Sargassum</i>
Jenis	: <i>Sargassum</i> sp. C. Asgardh



Gambar 1. Talus makroalga coklat *Sargassum* sp, berbentuk pipih dengan *holdfast* bulat agak kasar menyerupai batang (A), *air bladder* berbentuk bulat (B), *blade* menyerupai daun (C), dan stipe menyerupai tangkai (D) (Sumber: Anonim, 2015).

Makroalga jenis *Sargassum* umumnya merupakan tanaman perairan yang mempunyai warna coklat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat (Handayani dkk, 2004). Bagian atas tanaman menyerupai semak yang berbentuk simetris bilateral atau radial serta dilengkapi bagian sisi

pertumbuhan. Umumnya makroalga tumbuh secara liar dan masih belum dimanfaatkan secara baik (Kadi, 1988 dalam Rachmat, 1999). Makroalga coklat memiliki pigmen yang memberikan warna coklat dan dapat menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa, fikoidin dan manitol yang komposisinya sangat tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuhnya (Maharani dan Widyayanti 2010).

Kandungan nutrisi berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani dkk (2004), bahwa talus *Sargassum* sp. memiliki komposisi nutrisi sebagai berikut:

1. kadar protein sebesar 5,19 % dengan komposisi asam amino (dalam mol asam amino/g sampel segar) yang terdiri dari: asam glutamat: 13,77; asam aspartat: 12,92; glisin: 12,05; leusin: 10,33; alanin: 8,38; valin: 7,86; serin: 7,66; isoleusin: 6,90; treonin: 6,34; fenilalanin: 4,95; rolin: 4,92; lisin: 4,52, arginin: 4,28; tirosin: 3,66; sistein: 3,09; histidin: 1,30; dan hidroksilisin: 0,83;
2. kadar abu (mineral) sebesar 36,93 %, dengan kadar unsur Ca: 1540,66 mg/100 g, P: 474,03 mg/100 g, dan Fe: 132,65 mg/100 g;
3. kadar vitamin A sebesar 489,55 g/100g dan vitamin C sebesar 49,01 mg/100g; kadar lemak sebesar 1,63 % , dengan komposisi asam lemak yang terdiri dari: asam laurat (12:0): 1,45 %, asam miristat (14:0): 3,53 %, asam palmitat (16:0): 29,49 %, asam palmitoleat (16:1): 4,10 %, asam oleat (18:1): 13,78 %, asam linoleat (18:2): 33,58 % dan asam linolenat (18:3): 5,94 %;
4. kadar alginat sebesar 37,91 %.

Makroalga coklat merupakan sumber penting senyawa metabolit bagi dunia farmasetika dalam pengembangan obat (Almeida dkk, 2011). Saat ini senyawa ini

sedang banyak digunakan dalam bidang kedokteran untuk membantu penderita *alzheimer*, *parkinson*, dan *myasthenia gravis*. Selain itu senyawa kolin dikembangkan banyak untuk pembuatan produk kesehatan janin dan bayi yang masih dalam masa pertumbuhan otak (Yende dkk, 2014).

Makroalga merupakan penghasil kolin kedua setelah telur (Zeisel dan Steven, 2012). Beberapa sumber kolin yang dapat ditemui di Indonesia antara lain pada telur (telur ayam, dan paling tinggi pada telur bebek dan puyuh), kacang kedelai, dan makroalga (Almeida dkk, 2011). Beberapa genus alga coklat penghasil kolin antara lain genus *Ecklonia*, genus *Sargassum*, genus *Pelvetia*, dan genus *Undaria* (Yoon, 2008).

Kadar kolin pada telur lebih tinggi daripada makroalga (Zeisel dan Steven, 2012). Menurut Yende dkk.(2014), makroalga lebih dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan bahan dasar penghasil kolin dalam perindustrian maupun bidang farmasetika. Beberapa industri, industri pembuat susu misalnya, menggunakan bahan makroalga sebagai bahan tambahan sumber kolin (Putra, 2015).

B. Kolin

Pada tahun 1850, Theodore Gobley, menemukan sebuah zat *lecithine* yang diberi nama dari bahasa Yunani lekithos untuk kuning telur. Adolph Strecker mencatat pada 1862 bahwa ketika lesitin dari empedu dipanaskan akan menghasilkan bahan

kimia nitrogen baru yang ia beri nama *choline* (Rittner dan Bailey, 2005). Tiga tahun kemudian, Oscar Liebreich mengidentifikasi zat baru, *neurine*, yang ditemukan otak. Setelah masa kebingungan, neurin dan kolin yang ditemukan menjadi molekul yang sama, dan nama kolin diadaptasi (Zeisel dan Steven, 2012). Lesitin akhirnya ditandai kimia sebagai fosfatidilkolin. Pada tahun 1954, Eugene Kennedy menggambarkan cytidine 5-dihphosphocholine jalur kolin dimasukkan ke fosfatidilkolin. Sebuah rute kedua, jalur fosfatidiletanolamin-N-methyltransferase, diidentifikasi oleh Jon Bremer dan David Greenberg pada tahun 1960 (Rittner dan Bailey, 2005). Peran kolin sebagai bagian dari neurotransmitter asetilkolin didirikan oleh Otto Loewi dan Henry Dale. Bekerja di tahun 1930-an di University of Toronto, Charles Best menunjukkan bahwa kolin mencegah perlemakan hati pada anjing dan tikus. Pentingnya kolin sebagai nutrisi penting bagi kesehatan manusia ditentukan pada 1990-an melalui studi makan terkontrol pada manusia (Zeisel dan Steven, 2012).

Metabolit primer merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat esensial bagi proses metabolisme sel, seperti karbohidrat, protein, dan lipid. Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial yang ditemukan dalam bentuk yang berbeda pada setiap spesies dan tidak selalu dihasilkan. Metabolit sekunder hanya dihasilkan pada saat dibutuhkan atau pada fase-fase tertentu sebagai fungsi pertahanan dari kondisi lingkungan tertentu (Gottlieb dkk.

2004). Kolin merupakan senyawa metabolit sekunder, yang terbentuk dari polisakarida di dalam alga coklat (Perez dkk. 2016).

Sebagian besar tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder memanfaatkan senyawa tersebut untuk mempertahankan diri dan berkompetisi dengan makhluk hidup sekitarnya. Kolin merupakan senyawa metabolit sekunder yang tergolong senyawa fenolik, dimana senyawa ini terbuat dari gula sederhana dan memiliki cincin benzena, hidrogen, dan oksigen dalam strukturnya (Muhloth dkk. 2013).

Kolin merupakan bahan kimia organik yang penting untuk makanan, bahan kimia ini digunakan sebagai Vitamin B (Yoon, 2008). Asupan kolin bagi tubuh dapat diperoleh melalui dua sumber utama, yaitu dari sintesis di dalam tubuh secara alami dan dari pangan yang dimakan. Konsumsi kolin yang ideal telah dirumuskan oleh *Food and Nutrition Board (FNB)* pada tahun 1998 sebagai kebutuhan kolin harian/DRI (*Dietary Reference Intake*) (Zeisel dan Steven, 2012).

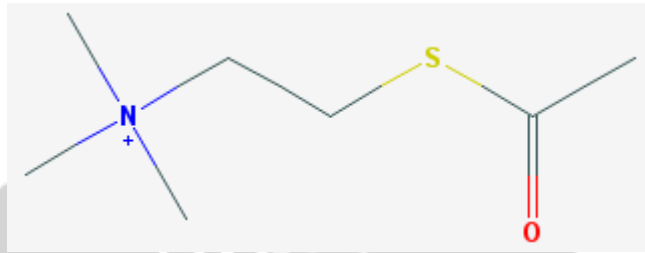
Asetilkolin merupakan salah satu jenis neuro-transmitter (zat kimia penghantar rangsangan saraf) yang paling umum dikenal. Senyawa neuro-transmitter ini dapat ditemukan di dalam sistem saraf organisme vertebrata. Asetilkolin berperan dalam mentransmisikan sinyal atau rangsangan yang diterima untuk diteruskan di antara sel-sel saraf yang berdekatan atau pada sambungan neuromuscular (Zeisel dan Steven, 2012). Senyawa organik dengan rumus molekul $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ini

tersebar di seluruh tubuh manusia, terutama banyak terdapat di dalam sistem saraf tepi (otonom) dan senyawa ini dikeluarkan dengan adanya stimulasi saraf. Segera setelah dikeluarkan, asetilkolin akan berdifusi di celah antar-sinapsis dan menstimulasi saraf-saraf lainnya (Rittner dan Bailey, 2005).

Kolin diperlukan sebagai makanan otak pada anak-anak dan sangat penting untuk pengembangan daya ingat anak (Zeisel dan Steven, 2012). Selain itu, kolin juga berperan dalam banyak proses tubuh diantaranya meningkatkan pengangkutan lemak dan membantu membuat senyawa-senyawa yang membentuk membran sel (Miyoshi dkk, 1968). Kolin membantu membuat asetilkolin, yang merupakan suatu *neurotransmitter* di dalam tubuh, termasuk mengatur otot dan menyimpan ingatan (Zeisel dan Steven, 2012). Berperan dalam fungsi hati dan kesehatan reproduktif. Karena merupakan nutrisi (zat gizi) yang penting untuk perkembangan otak dan memori, kolin dapat menunjang perkembangan daya ingat anak dengan baik. Juga penting untuk membantu fungsi sel di dalam tubuh secara optimal (Yoon, 2008).

Menurut Anonim (2015), deskripsi kolin dari *Sargassum* sp adalah sebagai berikut:

Nama IUPAC	: Acetylthiocholine iodide
Rumus Molekul	: $C_7H_{16}INOS$
Berat Molekul	: 289.17751 g/mol



Gambar 2. Struktur kolin, disebut juga *acetylthiocholine*. Ikatan unsur N^+ berwarna biru, S berwarna kuning, dan ikatan rangkap O berwarna merah (Sumber: Anonim, 2015).

Menurut Miyoshi dkk, (1968), beberapa manfaat kolin bagi tubuh antara lain:

1. Sebagai nutrisi otak yang diperlukan dalam pembentukan *phosphatidylcholine* dan *sphingomyelin*. Keduanya merupakan molekul lipid yang bertindak sebagai insulator bagi sirkuit jaringan syaraf.
2. Menjaga fungsi sel karena kolin membantu pembentukan membran sel.
3. Membantu menjaga kesehatan hati karena kolin dalam hati berperan membuang kelebihan kolesterol dan lemak dalam hati.
4. Menjaga kesehatan bayi dalam kandungan. Selain membangun sistem syaraf bayi dalam kandungan, kolin juga membantu mencegah cacat jantung kongenital pada bayi.
5. Mengurangi inflamasi (peradangan). Peningkatan asupan kolin mengurangi kadar penanda inflamasi berupa protein C-reaktif, interleukin-6, dan homosistein.
6. Membantu metabolisme tubuh untuk menghasilkan energi. Kolin berperan membantu metabolisme lemak.

7. Manfaat lain dari kolin antara lain menjaga kesehatan reproduksi, kandung empedu, dan jantung.

Tabel 1. Beberapa makanan yang mengandung kolin (satuan: *milligrams per serving*)

Makanan	Kolin
Hati ayam (3 ons)	247
Tepung kedelai (1 cup)	201
Ikan salmon (3 ons)	187
Telur ayam (1 butir)	125
Biji gandum (1/2 cup)	60
Ayam panggang (3 ons)	56
Sosis ayam (3 ons)	55
Gandum (2 sendok makan)	50
Susu tanpa lemak, dengan tambahan vitamin A (8 ons)	38
Bunga kol direbus (1/2 cup)	24
Kacang-kacangan (1/2 cup)	22
Sosis babi (2 potong)	20
Almond (1 ons)	15
Brokoli (1/2 cup)	15
Frankfurter, beef (1)	15
Sereal (1/2 cup)	15
Kacang polong (1 ons)	15
Saus tomat kaleng (2 sendok makan)	12
Biji jerami (2 sendok makan)	11

(Sumber: *USDA Database for the Choline Content of Common Foods, Release Two, January 2008; USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20*).

Tabel 2. Aktivitas asetilkolinesterase (AChE) dan butirilkolinesterase (BChE), kolinesterase inhibitor dari beberapa makroalga di Korea (100 µg/ml)

Filum	Makroalga	Berat (g)	Kadar Rata-rata	
			AChE	BChE
Chlorophyta	<i>Capsosiphon fulvescens</i> (C. Agardh) Setchell & N.L.Gardner	4.95	-6.23 ±1.163	13.55 ±4.25
	<i>Ulva pertusa</i> Kjellman	2.36	-2.35 ±1.49	-16.99 ±1.45
	<i>Enteromorpha linza</i> (Linnaeus) J. Agardh	2.50	-14.2 ±6.66	-12.93 ±1.11
	<i>Enteromorpha prolifera</i> (Mueller) J. Agardh	10.21	-16.38 ±4.15	-10.91 ±0.86
	<i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot	10.06	-6.61 ±6.80	-25.23 ±3.09
Phaeophyta	<i>Undaria pinnatifida</i> (Harvey) Suringar	2.09	-1.80 ±5.47	4.59 ±0.27
	<i>Pelvetia siliquosa</i> Tseng & Chang	2.88	1.77 ±5.31	22.10 ±0.29
	<i>Sargassum fulvellum</i> (Turner) C. Agardh	18.04	2.75 ±2.53	-10.80 ±0.30
	<i>Sargassum horneri</i> (Turner) C. Agardh	20.27	-16.12 ±1.38	-23.91 ±0.78
	<i>Sargassum thunbergii</i> (Mertens ex Roth) Kuntze	1.66	8.38 ±1.01	-18.69 ±2.12
	<i>Ishige okamurae</i> Yendo	2.26	-21.94 ±6.56	-12.63 ±1.50
	<i>Ecklonia cava</i> Kjellman	12.50	21.28 ±2.21	13.14 ±2.24
	<i>Ekclonia stolonifera</i> Okamura	8.94	45.97 ±3.10	30.90 ±4.20
	<i>Laminaria japonica</i> Areschoug	2.28	-5.51 ±6.99	4.02 ±4.89
Rhodophyta	<i>Ahnfeltiopsis flabeliformis</i> (Harvey) Masuda	1.70	-10.12 ±0.62	5.46 ±4.39
	<i>Callophyllis japonica</i> Okamura	2.46	-5.91 ±1.98	-13.15 ±1.37
	<i>Chondracanthus tenellus</i> (Harvey) Hommersand	5.10	-18.90 ±1.19	-2.20 ±3.21
	<i>Chondrus ocellatus</i> Holmes	5.89	7.19	-33.22

			±4.31	±2.00
	<i>Chondrus pinnulatus</i> (Harvey) Okamura	10.01	7.74 ±4.25	-21.46 ±1.91
	<i>Meristotheca papulosa</i> (Montagne) J. Agardh	3.54	-18.78 ±0.71	-17.60 ±2.04
	<i>Gloiopeltis furcata</i> (Postels & Ruprecht) J. Agardh	5.34	-6.09 ±3.05	-15.89 ±2.28
	<i>Gelidius amansii</i> (J.V. Lamourouz) J.V. Lamourouz	0.19	9.94 ±3.09	23.55 ±0.76
	<i>Gracilaria verrucosa</i> (Hudson) Papenfuss	8.37	8.35 ±1.44	6.65 ±4.35
	<i>Corallina officinalis</i> Linnaeus	1.37	4.23 ±1.77	16.50 ±1.28
	<i>Chondria crassicaulis</i> Harvey	13.29	-3.13 ±4.67	-29.30 ±4.17
	<i>Symphyocladia latiuscula</i> (Harvey) Yamada	3.17	-2.81 ±1.26	-35.43 ±1.29
	<i>Porphyra tenera</i> Kjellman	2.28	-6.00 ±3.97	15.83 ±2.89
Kontrol Positif	Eserine (Kolinesterase Inhibitor)	-	55.09 ±1.11	33.47 ±5.55

(Sumber: Yoon dkk, 2008)

Kadar lemak di dalam alga coklat berkisar dari 0,12% sampai 6,73% (berat kering), yang terbagi dalam kelompok fosfolipid, glikolipid, dan non-polar gliserolipid. Fosfolipid terletak pada bagian membran kloroplas dan berkadar 10-20% dari total lipid di dalam alga. Fosfolipid yang paling dominan dalam alga antara lain fosfatidilgliserol pada alga hijau, fosfatidilkolin pada alga merah, dan fosfatitilkolin dan fosfatidiletanolamin pada alga coklat (Perez dkk. 2016).

Alga merupakan organisme yang mampu menggunakan berbagai sumber energi dan karbon, bisa autotrof maupun heterotrof (Muhlroth dkk. 2013). Fosfatililkolin dihasilkan alga setelah berumur lebih dari 30 hari, dimana alga

membutuhkan sinar matahari (*light dependant*) pada saat fotosintesis untuk menghasilkan fosfatidilkolin. Menurut Mulroth dkk. (2013), fosfatidilkolin tergolong salah satu senyawa asam lemak yang berperan dalam pembentukan asetil-CoA di dalam tubuh alga termasuk juga fosfatidilgliserol dan fosfatidiletanolamin

Menurut Penry dan Manore (2008) peran kolin di dalam tubuh sangat penting dan banyak. Kolin sangat dibutuhkan untuk sintesis asetilkolin (neurotransmitter), fosfolipid (komunikasi antarsel), lipoprotein (transfer lemak), dan reduksi homosistein (metabolisme kelompok metil). Menurut Stead dkk. (2006) kolin merupakan sumber pengaturan utama dalam kelompok metil dalam mesintesis S-adenosilmetionin (AdoMet). Paling tidak sekitar 50 reaksi AdoMet telah diidentifikasi di mamalia. Menurut Zeisel dan Da Costa (2009) beberapa reaksi metilasi memainkan peran penting dalam biosintesis lemak, regulasi beberapa jalur metabolisme, dan proses detoksifikasi dalam tubuh. Kolin dibutuhkan untuk membuat fosfolipid, fosfatidilkolin, lisofosfatidilkolin, plasmalogen kolin, dan komponen spingomyelin esensial untuk semua membran (Zeisel, 1991). Kolin juga memainkan peran penting dalam otak dan perkembangan memori pada fetus (Shaw dkk, 2004 dan Rees dkk, 2006). Menurut Zeisel dan Da Costa (2009) reaksi-reaksi yang terjadi di sekitar kolin dapat dilihat pada Gambar 3.

Sumber air laut mungkin juga menjadi penentu kesuksesan kultur makroalga bag beberapa spesies (Yoon, 2008). Untuk mendapatkan air laut yang bersih dari polusi, sangat penting untuk pengambilan air laut lepas pantai. Bagian oligotrofik perairan terbuka sangatlah ideal, karena nutrisi laut dan bahan-bahan logamnya rendah, dan komponen nutrisinya dapat saja ditambahkan sendiri dengan medium pengayaan (Fu dkk, 1999). Sebagai tambahan, perairan lepas pantai mengandung sedimen sedikit dan mungkin fitoplanktonnya sedikit, akan lebih mudah untuk disaring (Harrison dan Berges, 2004).

Menurut Harrison dan Berges (2004), penyaringan air laut merupakan proses sterilisasi tradisional yang dilakukan dengan pemanasan uap *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah diautoklaf, medium dibiarkan selama 24 jam untuk penyesuaian, agar gas seperti CO₂ dapat menyatu dengan air laut (Berges, 2004). Untuk menghindari proses formasi presipitasi selama *autoclave*, menurut Harrison dan Berges (2004) beberapa perlakuan mungkin dapat membantu:

1. Penambahan larutan HCl dan NaHCO₃. Penambahan ini bertujuan agar menambah kadar CO₂ dan menurunkan pH, sehingga membantu mengurangi presipitasi selama autoklaf.
2. Dinginkan air laut segera setelah autoklaf.
3. Sterilisasi dengan filtrasi dengan 0,22 µm membran filter.

4. Pasteurisasi dengan memanaskan air laut pada suhu 90-95 °C selama 12 jam. Terkadang pemanasan ini dapat dilakukan dengan waktu singkat tetapi dengan 2-3 kali pengulangan (*tyndallization*).
5. Penambahan pH buffer seperti 4-5 mM tris atau glicilgliserin. Dengan catatan *buffer* ini merupakan komponen organik yang memungkinkan bakteri untuk bertumbuh namun dapat menjadi racun bagi fitoplankton.
6. Penambahan EDTA konsentrasi tinggi bagi beberapa.

Beberapa kultur makroalga dapat dilakukan dengan 3 metode, yaitu dengan metode akuarium untuk skala kecil, kolam untuk skala menengah, dan tambak untuk skala besar. Penelitian dan kultur skala kecil biasanya hanya menggunakan aquarium dan kolam (Thamrin, 2010). Menurut Harrison dan Berges (2004), keberhasilan kultur makroalga dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu salinitas, pH, suhu, sumber air, tempat kultur (wadah kultur), nutrisi, dan cahaya. Menurut Hak dan Tazwir (2004), laju pertumbuhan alga coklat *Sargassum filipendula* pada awalnya 3,8 kg dapat bertambah beratnya menjadi 8,6 kg dalam waktu 3 bulan, dengan rata-rata pertambahan berat 1,6 kg per bulannya pada laut terbuka yang kaya unsur hara.

Menurut James (2012) ada beberapa macam medium berdasarkan kondisi air tempat hidupnya untuk pertumbuhan baik mikro alga maupun makroalga, sebagai berikut:

1. Medium Air Payau

Medium yang digunakan untuk alga yang hidupnya di air payau, biasanya untuk alga dengan pertumbuhan jangka pendek. Medium ini menggunakan pH 7,8. Selanjutnya menurut James (2012), beberapa medium yang tergolong ke dalam medium kultur ini antara lain:

- a. *Bristol's Medium*
- b. *Bold's Basic Medium.*
- c. *Closterium Medium*
- d. *EREM Medium*
- e. *Fishmeal Medium*
- f. *Soil Water Medium*
- g. *Volvox Medium*

2. Medium Air Asin

Medium yang digunakan untuk alga yang hidupnya di air asin. Medium ini sangat baik untuk pertumbuhan alga laut. Menurut James (2012), beberapa medium yang tergolong kelompok ini antara lain:

- a. *Erdscheiber Medium*
- b. *Provasoli's Enrichment Medium (PES)*
- c. *Provasoli's ASP 6 Medium*
- d. *Soil Seawater Medium*

D. Kultur Makroalga Dengan Medium PES

Medium adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrien) yang berguna untuk pembiakan alga (Berges, 2004). Dengan menggunakan bermacam-macam medium dapat dilakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan sejumlah mikro alga dan makroalga. Supaya alga dapat tumbuh baik dalam suatu medium, maka medium tersebut harus memenuhi syarat-syarat yaitu mengandung nutrisi dasar seperti sumber karbon, sumber nitrogen, mineral (Fosfor, Magnesium, Kalsium, Natrium), dan vitamin (Sutedjo, 1991).

Organisme dapat ditumbuhkan dan dikembangkan pada suatu substrat yang disebut medium (Sutedjo, 1991). Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan alga tersebut harus sesuai dengan kebutuhan jenis-jenis alga yang bersangkutan. Beberapa alga dapat hidup baik pada medium yang sangat sederhana yang hanya mengandung garam anorganik ditambah sumber karbon organik seperti gula (Volk dan Wheeler, 1993).

Menurut Sutedjo (1991), garis besar pembuatan medium yang tersusun atas beberapa bahan adalah sebagai berikut:

1. Mencampur bahan-bahan, dilarutkan dalam air suling dan dipanaskan dalam pemanas air supaya larutannya homogen.

2. Menyaring dengan kertas saring, kain, atau kapas. Untuk medium agar atau gelatin, penyaringan harus dilakukan dalam keadaan panas. Menentukan dan mengatur pH.
3. Memasukkan medium ke dalam tempat tertentu. Sebelum disterilkan, media dimasukkan ke dalam erlenmeyer atau wadah lain yang bersih, kemudian ditutup kapas atau kertas sampul (kertas perkamen) supaya tidak basah sewaktu disterilkan.
4. Sterilisasi umumnya dilakukan dengan udara panas dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15- 30 menit.

Menurut James (2012), medium *Provasoli's of Enriched Seawater* (PES) merupakan medium yang paling baik untuk kebanyakan alga laut. Medium PES mampu memberikan pertumbuhan yang baik dan mampu meningkatkan kandungan senyawa metabolit. Komposisi medium PES untuk 100 ml dH₂O antara lain: NaNO₃ 350 mg, C₃H₇Na₂O₆PxH₂O 50 mg, Fe-EDTA 2,5 mg, vitamin B12 10 µg, thiamine 0,5 mg, biotin 5 µg, Tris-Buffer 500 mg.

E. Kualitas Air Medium Kultur Makroalga

pH (derajat keasaman) merupakan suatu indeks kadar ion hidrogen (H⁺) yang mencirikan keseimbangan asam dan basa. Derajat keasaman suatu perairan, yang baik untuk tumbuhan maupun hewan sehingga sering dipakai sebagai petunjuk untuk menyatakan baik atau buruknya suatu perairan (Odum, 1971). Nilai pH juga merupakan salah satu faktor yang memengaruhi produktifitas perairan (Pescod, 1973).

Nilai pH pada suatu perairan mempunyai pengaruh yang besar terhadap organisme perairan sehingga seringkali dijadikan petunjuk untuk menyatakan baik buruknya suatu perairan (Odum, 1971). Biasanya angka pH dalam suatu perairan dapat dijadikan indikator dari adanya keseimbangan unsur-unsur kimia dan dapat memengaruhi ketersediaan unsur-unsur kimia dan unsur-unsur hara yang sangat bermanfaat bagi kehidupan vegetasi akuatik. Tinggi rendahnya pH dipengaruhi oleh fluktuasi kandungan O_2 maupun CO_2 (Sary, 2006). Tingkat pH lebih kecil dari 4, 8 dan lebih besar dari 9, 2 sudah dapat dianggap tercemar.

Derajat Keasaman (pH) sangat penting sebagai parameter kualitas air. Air laut mempunyai kemampuan menyangga yang sangat besar untuk mencegah perubahan pH. Perubahan pH sedikit saja dari pH alami akan memberikan petunjuk terganggunya sistem penyangga (Asdak, 2007). Hal ini dapat menimbulkan perubahan dan ketidakseimbangan kadar CO_2 yang dapat membahayakan kehidupan biota laut. pH air laut permukaan di Indonesia umumnya bervariasi dari lokasi ke lokasi antara 6,0–8,5 (Pescod, 1973). Perubahan pH bisa berakibat buruk terhadap kehidupan biota laut, baik secara langsung maupun tidak langsung. pH terbaik untuk pertumbuhan makroalga berada pada kisaran 7,0-7,8. Tingkat keasaman (pH) perairan merupakan parameter kualitas air yang penting dalam ekosistem perairan tambak (Odum, 1971).

Fotosintesis memerlukan karbon dioksida, yang oleh komponen autotrof akan diubah menjadi monosakarida. Penurunan karbon dioksida dalam ekosistem akan

meningkatkan pH perairan. Sebaliknya, proses respirasi oleh semua komponen ekosistem akan meningkatkan jumlah karbon dioksida, sehingga pH perairan menurun (Odum, 1971). Nilai pH perairan merupakan parameter yang dikaitkan dengan konsentrasi karbon dioksida (CO_2) dalam ekosistem. Semakin tinggi konsentrasi karbon dioksida, pH perairan semakin rendah. Konsentrasi karbon dioksida ditentukan pula oleh keseimbangan antara proses fotosintesis dan respirasi. Fotosintesis merupakan proses yang menyerap CO_2 , sehingga dapat meningkatkan pH perairan. Sedangkan respirasi menghasilkan CO_2 kedalam ekosistem, sehingga pH perairan menurun. CO_2 dalam ekosistem perairan dihasilkan melalui proses respirasi oleh semua organisme dan proses perombakan bahan organik dan anorganik oleh bakteri (Odum, 1971).

Oksigen terlarut (DO) adalah jumlah oksigen terlarut dalam air yang berasal dari fotosintesis dan absorpsi udara (Odum, 1971). Oksigen terlarut di suatu perairan sangat berperan dalam proses penyerapan makanan oleh makhluk hidup dalam air. Untuk mengetahui kualitas air dalam suatu perairan, dapat dilakukan dengan mengamati beberapa parameter kimia, salah satunya adalah parameter oksigen terlarut (DO). Semakin banyak jumlah DO maka kualitas air semakin baik. Jika kadar oksigen terlarut yang terlalu rendah akan menimbulkan bau yang tidak sedap akibat degradasi anaerobik yang mungkin saja terjadi (Odum, 1993). Satuan DO dinyatakan dalam persentase saturasi. Oksigen terlarut dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk pernapasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan

energi untuk pertumbuhan. Disamping itu, oksigen juga dibutuhkan untuk oksidasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam proses aerobik (Odum, 1971).

Sumber utama oksigen dalam suatu perairan berasal dari suatu proses difusi dari udara bebas dan hasil fotosintesis organisme yang hidup dalam perairan tersebut (Salmin, 2000). Kecepatan difusi oksigen dari udara tergantung dari beberapa faktor seperti kekeruhan air, suhu, salinitas, pergerakan massa air dan udara seperti arus, gelombang dan pasang surut. Odum (1971) menyatakan bahwa kadar oksigen dalam air laut akan bertambah dengan semakin rendahnya suhu dan berkurang dengan semakin tingginya salinitas. Pada lapisan permukaan, kadar oksigen akan lebih tinggi, karena adanya proses difusi antar air dengan udara bebas serta adanya proses fotosintesis. Dengan bertambahnya kedalaman akan terjadi penurunan kadar oksigen terlarut, karena proses fotosintesis semakin berkurang dan kadar oksigen yang ada banyak digunakan untuk pernapasan dan oksidasi bahan-bahan organik dan anorganik (Odum, 1971).

Keperluan organisme terhadap oksigen relatif bervariasi tergantung pada aktifitasnya (Sary, 2006). Kandungan oksigen terlarut (DO) minimum adalah 2 ppm dalam keadaan normal dan tidak tercemar oleh senyawa beracun. Idealnya, kandungan oksigen terlarut dan tidak boleh kurang dari 1,7 ppm selama waktu 8 jam dengan sedikitnya pada tingkat kejenuhan sebesar 70 % (Huet, 1970).

Oksigen memegang peranan penting sebagai indikator kualitas perairan, karena oksigen terlarut berperan dalam proses oksidasi dan reduksi bahan organik dan

anorganik. Selain itu, oksigen juga menentukan aktivitas biologi yang dilakukan oleh organisme aerobik dan anaerobik (Sary, 2006). Dalam kondisi aerobik, peranan oksigen adalah untuk mengoksidasi bahan organik dan anorganik dengan hasil akhirnya adalah nutrien yang ada pada akhirnya dapat memberikan kesuburan perairan (Sary, 2006). Dalam kondisi anaerobik oksigen yang dihasilkan akan mereduksi senyawa-senyawa kimia menjadi lebih sederhana dalam bentuk nutrien dan gas. Karena proses oksidasi dan reduksi inilah maka peranan oksigen terlarut sangat penting untuk membantu mengurangi beban pencemaran pada perairan secara alami (Odum, 1971).

Kadar oksigen relatif lebih tinggi di lapisan permukaan karena adanya proses difusi antara air dengan udara serta adanya proses fotosintesis. Dengan bertambahnya kedalaman akan terjadi penurunan kadar oksigen terlarut karena proses fotosintesis semakin berkurang dan kadar oksigen yang ada banyak digunakan untuk bernafas dan oksidasi bahan-bahan organik (Odum, 1971).

Selain pH, oksigen terlarut, suhu juga memengaruhi aktifitas metabolisme maupun pekembangbiakan dari organisme-organisme yang ada di perairan. Oleh karena itu tidaklah mengherankan jika banyak dijumpai bermacam-macam jenis hewan yang terdapat di berbagai tempat perairan di dunia (Hutabarat dan Evans, 2000).

Suhu adalah sifat termodinamis cairan karena aktivitas molekul dan atom di dalam cairan tersebut. Semakin besar aktivitas (energi), semakin tinggi pula suhunya

(Odum, 1971). Suhu menunjukkan kandungan energi panas. Energi panas dan suhu dihubungkan oleh energi panas spesifik. Energi panas spesifik sendiri secara sederhana dapat diartikan sebagai jumlah energi panas yang dibutuhkan untuk menaikkan suhu dari satu satuan massa fluida sebesar 1°C (Odum, 1971).

Jika kandungan energi panas nol (tidak ada aktivitas atom dan molekul dalam fluida) maka suhunya secara absolut juga nol (dalam skala Kelvin). Jadi nol dalam skala Kelvin adalah suatu kondisi dimana sama sekali tidak ada aktivitas atom dan molekul dalam suatu fluida. Suhu air laut di permukaan ditentukan oleh adanya pemanasan (*heating*) di daerah tropis dan pendinginan (*cooling*) di daerah lintang tinggi. Kisaran suhu di laut adalah -2°C sampai 35°C (Odum, 1971).

F. Pemisahan dan Analisis Senyawa Kolin

Menurut Yoon dkk. (2008), pemisahan senyawa kolin dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Dasar penggunaan etanol adalah larutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi bahan kandungan dari sel yang masih utuh (Departemen Kesehatan RI, 2000). Setelah selesai ekstraksi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan, telah tercapai maka proses perendaman dilakukan pengocokan berulang (Departemen Kesehatan RI, 2000). Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama proses ekstraksi dengan etanol menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Berges, 2004). Secara teoritis pada

proses ekstraksi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi secara sempurna. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap pelarut, maka semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994).

Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH atau CH_3CH_2OH dengan titik didihnya $78,4^\circ C$. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran (ikatan antar gugus) bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan alam berdasarkan kelarutan dan polaritasnya dalam pelarut ekstraksi (Voigh, 1994). Hal ini sangat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi secara ini memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar ($20-28^\circ C$) (Heinrich dkk, 2004). Penggunaan etanol sebagai pelarut fosfattidilkolin disebabkan oleh tingkat polaritas yang sesuai dan kestabilan antara etanol dan fosfattidilkolin terhadap panas (Heinrich dkk. 2004).

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul, atau kerapatan muatan ion (Settle, 1997). Atau secara sederhana kromatografi biasanya juga di artikan sebagai teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan

perambatan komponen dalam medium tertentu. Kromatografi di gunakan untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponen. Seluruh bentuk kromatografi bekerja berdasarkan prinsip ini (Settle, 1997).

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin di deteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran (Kealey dan Haines, 2002). Menurut Settle (1997), kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisika-kimia dengan fase gerak (larutan pengembang yang cocok), dan fase diam (bahan berbutir) yang diletakkan pada penyangga berupa plat gelas atau lapisan yang cocok. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) lalu hasil pengembangan di deteksi. Zat yang memiliki kepolaran yang sama dengan fase diam akan cenderung tertahan dan nilai R_f -nya paling kecil. Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang (Day dan Underwood, 1998).

R_f merupakan nilai jarak relatif pada pelarut. Nilai R_f dihitung sebagai jarak yang ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak tempuh oleh eluen (fase gerak) untuk setiap senyawa. R_f juga menyatakan derajat retensi suatu komponen dalam fase diam. Karena itu R_f juga disebut factor referensi (Settle, 1997). Menurut Rohman (2009), semua kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Fase gerak

mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda.

Sedangkan fase diam untuk kromatografi lapis tipis seringkali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendar. Apabila disinari dengan sinar UV pada lempengan akan terlihat pendaran sampel dengan posisi bercak-bercak. Sementara UV tetap di sinarkan pada plat, harus dilakukan penandaan posisi-posisi dari bercak-bercak dengan menggunakan pensil dan melingkari daerah bercak-bercak itu (Rohman, 2009).

Pada proses pemisahan dengan KLT, terjadi hubungan kesetimbangan antara fase diam dan fase gerak, dimana ada interaksi antara permukaan fase diam dengan gugus fungsi senyawa organik yang akan diidentifikasi yang telah berinteraksi dengan fasa geraknya. Menurut Rohman (2009), kesetimbangan ini dipengaruhi oleh 3 faktor, yaitu : kepolaran fase diam, kepolaran fase gerak, serta kepolaran dan ukuran molekul.

Pada kromatografi, komponen-komponennya akan dipisahkan antara dua buah fase yaitu fase diam dan fase gerak (Settle, 1997). Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Menurut Rohman (2009), komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal. Sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak

lebih cepat. Semua kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Menurut Munharrami (2011), fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda.

Pelaksanaan kromatografi lapis tipis menggunakan sebuah plat silika atau alumina yang seragam pada sebuah logam (Settle, 1997). Plat silika (atau alumina) merupakan fase diam untuk kromatografi lapis tipis seringkali juga mengandung substansi yang mana dapat berpondasi. Fase diam lainnya yang biasa digunakan adalah alumina-aluminium oksida. Atom aluminium pada permukaan juga memiliki gugus $-OH$ (Rohman, 2009).

Menurut Muharrami (2011), dalam KLT, eluen adalah fase gerak yang berperan penting pada proses elusi bagi larutan sampel untuk melewati fase diam (*adsorbent*). Interaksi antara *adsorbent* dengan eluen yang menentukan terjadinya pemisahan komponen. Eluent dapat digolongkan menurut ukuran kekuatan teradsorpsinya pelarut atau campuran pelarut tersebut pada adsorben dan dalam hal ini yang banyak digunakan adalah jenis adsorben alumina atau sebuah lapis tipis silika. Penggolongan ini dikenal sebagai deret eluotropik pelarut. Suatu pelarut yang bersifat larutan relatif polar, dapat mengusir pelarut yang relatif tak polar dari ikatannya dengan alumina (gel silika). Selanjutnya menurut Muharrami (2011),

kecepatan gerak senyawa-senyawa ke atas pada lempengan tergantung pada bagaimana kelarutan senyawa dalam pelarut. Analisis dengan KLT juga banyak digunakan untuk mengidentifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, minyak atsiri, dan masih banyak lagi.

Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berupa garis bercak pada plat silika, dan kemudian ketika dilanjutkan dengan Densitometri akan diperoleh hasil berupa grafik dan tabel, dimana grafik menunjukkan tinggi puncak senyawa dan waktu retensinya, serta tabel menunjukkan data hasil pembacaan grafik dalam bentuk waktu retensi, tinggi puncak, konsentrasi, dan lain-lain (Muharrami, 2011).

G. Hipotesis

1. Penambahan medium nutrisi PES yang mampu meningkatkan pertumbuhan makroalga *Sargassum* sp pada konsentrasi 4 ml.
2. Kadar kolin makroalga *Sargassum* sp yang dihasilkan paling optimum dengan penambahan medium PES pada konsentrasi 4 ml.