

## Kesan Kaedah Pemendakan Berbeza terhadap Ciri Fizikokimia dan Aktiviti Antioksidan Alginat daripada *Sargassum* sp.

(Effects of Different Precipitation Method on Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Alginates from *Sargassum* sp.)

SZE LING LIM, SHARIFAH HABIBAH SYED KHALAFU, WAN AIDA WAN MUSTAPHA & SENG JOE LIM\*

### ABSTRAK

Alginat merupakan polisakarida berstruktur anionik yang terdapat dalam matriks alga perang dan lazimnya digunakan sebagai agen penggelen, pengemulsi dan penstabil dalam industri makanan. Objektif utama kajian dijalankan adalah untuk mengenal pasti kesan kaedah pemendakan berbeza terhadap ciri fizikokimia alginat. Dalam kajian ini, alginat telah diekstrak daripada *Sargassum* sp. dengan menggunakan dua kaedah pemendakan yang berbeza iaitu melalui pemendakan dengan garam kalsium dan asid (sampel A) dan juga pemendakan dengan asid dan etanol (sampel B). Analisis ATR-FTIR telah mengesahkan kehadiran alginat dalam kedua-dua ekstrak *Sargassum* sp. Hasil pengekstrakan alginat bagi sampel A dan sampel B masing-masing adalah 28.16% dan 18.24%. Ciri fizikokimia yang diuji ialah warna, kelikatan, aktiviti penggelen dan kuasa pemerangkapan radikal bebas DPPH dan dibandingkan dengan alginat komersial (Sigma-Aldrich). Alginat yang terhasil adalah berwarna kuning kecoklatan dan mempunyai kelikatan pseudoplastik dengan penipisan ricih. Aktiviti penggelen kedua-dua sampel (A & B) adalah berbeza secara signifikan, ( $p < 0.05$ ) dengan alginat komersial. Kuasa pemerangkapan radikal bebas DPPH sampel A adalah lebih tinggi berbanding alginat komersial ( $20.10 \pm 3.84$  &  $11.89 \pm 3.12$ ). Secara keseluruhan, kaedah pemendakan sampel A adalah lebih baik berbanding sampel B disebabkan oleh hasil alginat yang tinggi, aktiviti antioksidan yang tinggi dan ciri fizikokimia yang hampir setanding dengan alginat komersial.

Kata kunci: Alginat; antioksidan; fizikokimia; kaedah pemendakan; *Sargassum* sp.

### ABSTRACT

Alginate is an anionic structural polysaccharide that is found in the matrix of brown algae and normally used as gelling, emulsifying and stabilizing agents in food industry. The aim of this research was to determine the effects of different alginate precipitation methods towards its physicochemical properties and antioxidant activity. In this research, alginate was extracted from *Sargassum* sp. using two different precipitation methods, where alginates were precipitated using calcium salt and acid (sample A), and also precipitated using acid and ethanol (sample B). The extraction yield of alginates were 28.16% and 18.24% for sample A and sample B, respectively. ATR-FTIR analysis showed that the polysaccharides extracted from *Sargassum* sp. were indeed alginates. The physicochemical characteristics determined were colour, viscosity, gelling activity and free radical DPPH scavenging activity and were compared with commercial alginate (Sigma-Aldrich). Extracted alginates were yellow brownish in colour and have pseudoplastic viscosity with sheer thinning behaviour. Gelling activities of both sample (A & B) were significantly different, ( $p < 0.05$ ) compared to that of commercial alginate. Meanwhile, the scavenging activity of DPPH free radical in sample A was higher than commercial alginate ( $20.10 \pm 3.84$  &  $11.89 \pm 3.12$ ). Overall, precipitation method of sample A was better than sample B due to higher yield of alginate, higher antioxidant activity and almost similar physicochemical properties to commercial alginate.

Keywords: Alginate; antioxidant; physicochemical; precipitation method; *Sargassum* sp.

### PENGENALAN

Alga perang telah dikenali sebagai sumber alginat, laminaran dan fukoidan. Alginat merupakan komponen polisakarida terbesar dalam alga perang dan dilaporkan menyumbang kepada 40% berat kering alga perang (Mohammad Latifi et al. 2015; Venkatesan & Kim 2015). Menurut McHugh (1987), alginat kebanyakannya diekstrak daripada *Laminaria* sp., *Macrocystis* sp. dan *Ascophyllum* sp. Selain itu, beberapa alga perang yang

tergolong dalam genus *Sargassum* telah dikenal pasti sebagai sumber alginat (Fenoradoso et al. 2009). Potensi *Sargassum* sp. sebagai alginat menjadikan spesies ini sebagai spesies alga perang pilihan dalam kajian ini. Selain itu, alginat juga dapat dihasilkan oleh bakteria tanah seperti *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter crococom* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Remminghorst 2007; Torres et al. 2007) melalui proses biosintesis (Pawar & Edgar 2012; Remminghorst 2007).

Alginat merupakan polisakarida yang terdiri daripada komponen  $\beta$ -D-asid manuronik (M) dan  $\alpha$ -L-asid guluronik (G) (Cong et al. 2014). Alginat telah banyak digunakan dalam industri farmaseutik, kesihatan dan percetakan tekstil. Dalam industri makanan, alginat digunakan sebagai penstabil dan pengemulsi yang boleh mengubah kelikatan dan membentuk gel dalam produk-produk seperti jeli dan jem (Mushollaeni 2011). Antioksidan semula jadi dan sintetik telah digunakan untuk menghalang pembentukan radikal bebas. Pelbagai usaha telah dijalankan bagi mencari sumber antioksidan semula jadi yang lebih selamat berikutan isu antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT yang dikatakan mempunyai pelbagai kesan sampingan (Kelishomi et al. 2016). Ciri alginat yang tidak toksik dan boleh terbiodegradasi mendorong para penyelidik untuk mengkaji lebih dalam tentang sifat antioksidan alginat.

Dalam kajian ini, alginat telah diekstrak dengan menggunakan dua kaedah berbeza daripada aspek pemendakan alginat daripada larutan natrium alginat, iaitu dalam bentuk kalsium alginat dan bentuk asid alginik. Selepas pengestrakan, kehadiran alginat dalam ekstrak *Sargassum* sp. telah disahkan dengan menggunakan pantulan keseluruhan dikeselikan - transformasi Fourier inframerah (ATR-FTIR). Ujian fizikokimia juga dijalankan untuk mengetahui perbezaan antara ekstrak *Sargassum* sp. dalam kajian ini dengan alginat komersial daripada aspek warna, kelikatan, aktiviti penggelatan dan juga aktiviti antioksidan.

## BAHAN & KAEDAH

### BAHAN

*Sargassum* sp. dalam bentuk serbuk yang telah dikeringkan ( $50^{\circ}\text{C}$  sehingga memperoleh berat malar) dibekalkan oleh Marine Ceuticals Sdn Bhd, Malaysia, dengan *Sargassum* sp. ini diperolehi dari Batam, Indonesia. Alginat komersial yang hanya untuk penggunaan R&D telah dibekalkan oleh Sigma-Aldrich Co., St. Louis, United Kingdom. Semua bahan kimia yang digunakan adalah bergred analisis.

### PENGEKSTRAKAN ALGINAT

Kaedah pengestrakan dan spesies alga perang yang berbeza memberi kesan terhadap ciri alginat (Mushollaeni 2011). Dalam kajian ini, terdapat dua kaedah yang digunakan untuk mengekstrak alginat daripada *Sargassum* sp. Kedua-dua kaedah ini adalah berdasarkan kaedah kajian Gomez et al. (2009) dan juga McHugh (1987) dengan pengubahsuaian. Perbezaan antara kedua-dua kaedah ini adalah berdasarkan aspek pemendakan alginat daripada larutan natrium alginat. Jumlah alginat yang diperolehi dalam kajian ini telah dihitung dengan menggunakan formula berikut:

$$\text{Hasil pengestrakan alginat} = \frac{\text{berat serbuk alginat kering}}{\text{berat alga sebelum pengestrakan}} \times 100$$

Sebanyak 10 g (berat kering) *Sargassum* sp. telah direndam dalam 400 mL air suling. Selepas itu, 0.1 N HCl ditambah sehingga nilai pH larutan tersebut mencapai pH4. Selepas pengacauan (suhu bilik, 30 min, 120 rpm) menggunakan penggoncang mekanik (*Ika Control Cooled Incubator Shaker*, North Carolina) dan pengemparan pada 10000 rcf selama 5 min pada suhu bilik (*Eppendorf Centrifuge 5810 R*, Hamburg), mendakan tersebut telah diperlakukan dengan 400 mL 0.4% formaldehid. Larutan tersebut juga dikacau (suhu bilik, 30 min, 120 rpm) dan diemparkan (suhu bilik, 5 min, 10000 rcf). Seterusnya, alginat telah diekstrak daripada bahan alga tersebut dengan menggunakan 250 mL larutan 1.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dalam keadaan pengacauan (110 rpm) pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam. Langkah ini telah dijalankan sebanyak dua kali. Larutan natrium alginat telah diperolehi melalui pengemparan (suhu bilik, 5 min, 11500 rcf) dan diikuti dengan penapisan dengan menggunakan kertas turas. Pemendakan alginat daripada larutan natrium alginat tersebut telah dijalankan. Terdapat dua kaedah telah digunakan untuk langkah ini:

### PEMENDAKAN ALGINAT MENGGUNAKAN LARUTAN $\text{CaCl}_2$ DAN ASID

Alginat dalam bentuk kalsium alginat telah dimendakkan dengan menggunakan 10%  $\text{CaCl}_2$  dalam nisbah 1:1 (larutan natrium alginat:larutan 10%  $\text{CaCl}_2$ ). Selepas itu, ia dilarutkan dalam 300 mL air suling. Penambahan 1 N HCl ke dalam larutan tersebut telah dijalankan sehinggalah nilai pH adalah 2. Pengacauan (suhu bilik, 3 jam 30 min, 120 rpm) dan pengemparan (suhu bilik, 5 min, 8500 rcf) telah dijalankan untuk memperoleh mendakan asid alginik. Mendakan tersebut telah dikeringkan dengan menggunakan relau (*Memmert 53L*, Jerman) pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  semalaman, sehingga berat malar dicapai (Gomez et al. 2009; McHugh 1987).

### PEMENDAKAN ALGINAT MENGGUNAKAN ASID DAN ETANOL

Alginat dalam bentuk asid alginik telah dimendakkan dengan menggunakan asid dan etanol. Dalam kajian ini, 500 mL 1 N HCl telah ditambahkan dalam larutan natrium alginat. Selepas pengacauan (suhu bilik, 1 jam, 120 rpm) dan pengemparan (suhu bilik, 5 min, 8500 rcf). Mendakan asid alginik telah diperolehi dan dilarutkan dalam campuran 200 mL air suling dan 300 mL 1 N  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Larutan tersebut juga dikacaukan (suhu bilik; 1 jam; 120 rpm). Kemudian, etanol telah ditambah dalam larutan natrium alginat dalam nisbah 1:1 secara perlahan-lahan untuk memendakkan alginat dalam bentuk natrium alginat. Mendakan tersebut telah dikeringkan dengan menggunakan ketuhar (*Memmert 53L*, Jerman) pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  semalaman, sehingga berat malar dicapai (Gomez et al. 2009; McHugh 1987).

## PENENTUAN KEHADIRAN ALGINAT DALAM EKSTRAK *SARGASSUM SP.*

Penentuan kehadiran alginat dalam ekstrak *Sargassum sp.* telah dijalankan dengan menggunakan ATR-FTIR. Model FT-IR yang digunakan ialah *Spectrum 400 FT-NIR & Spotlight 400 Imaging System, Perkin Elmer, USA*. Julat pengimbasan yang digunakan ialah 4000 hingga 650  $\text{cm}^{-1}$  (Sellimi et al. 2014).

## PENENTUAN CIRI FIZIKOKIMIA ALGINAT YANG DIEKSTRAK

Dalam kajian ini, kedua-dua jenis alginat yang diekstrak daripada *Sargassum sp.* telah diuji dan dibandingkan dengan alginat komersial.

### WARNA

Warna semua sampel dalam bentuk serbuk telah diuji dengan menggunakan *Chroma Meter CR-400* (Minolta, Jepun) yang telah dikalibrasi dengan plat piawai putih. Sistem  $L^*a^*b^*$  telah digunakan untuk ujian warna ini (Mushollaeni 2011).

### KELIKATAN

Satu set kepekatan (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 dan 1.0% (w/v; dalam 0.1 M NaCl)) untuk setiap sampel telah disediakan. Kelikatan untuk setiap sampel bagi setiap kepekatan telah diuji dengan menggunakan *Anton Paar Physica MCR 301 (Modular Compact Rheometer) Rheometer* pada suhu bilik. Prob yang digunakan berdiameter 24.956 mm, berdarjah  $2.006^\circ$  dan pemangkasannya adalah 51  $\mu\text{m}$ . Kelikatan telah diukur sebagai fungsi kadar ricih pada julat 0.1 - 0.0001  $\text{s}^{-1}$  dengan (Fenoradoso et al. 2010).

### AKTIVITI PENGELAN

Larutan pada kepekatan 20 g/L untuk semua sampel telah disediakan. Sebanyak 20 mL larutan tersebut telah didialisis dengan 1 N  $\text{CaCl}_2$  selama 48 jam. Darjah pengembangan (Gomez et al. 2009) dalam unit g air/g alginat telah dihitung dengan menggunakan formula berikut:

$$\text{Darjah pengembangan} = \frac{\text{berat gel (g)} - \text{berat alginat kering (g)}}{\text{berat alginat kering (g)}}$$

### ANALISIS AKTIVITI ANTIOKSIDAN

Analisis aktiviti antioksidan secara pemerangkapan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) telah dijalankan berdasarkan kaedah dalam kajian Ho et al. (2016) dan Lim et al. (2014). Larutan alginat pada kepekatan 5.0 mg/mL untuk semua sampel dan juga asid askorbik telah disediakan. Larutan asid askorbik tersebut digunakan sebagai piawai positif. Sebanyak 1.0 mL sampel telah dicampur dengan 2.9 mL 0.015 mM larutan metanolik DPPH. Campuran tersebut telah dieramkan pada suhu bilik selama 30 min dalam keadaan gelap. Daya serapan pada 517 nm telah dibaca menggunakan spektrofotometer mikroplat (BioTek Epoch, Vermont). Aktiviti pemerangkapan radikal

bebas DPPH telah dihitung dengan menggunakan formula di bawah:

$$\text{Aktiviti pemerangkapan radikal bebas DPPH} = \frac{A_{\text{pengosong}} - (A_{\text{kawalan}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{pengosong}}} \times 100$$

dengan,

$A_{\text{pengosong}}$  ialah daya serapan larutan DPPH;  $A_{\text{kawalan}}$  ialah daya serapan sampel tanpa larutan DPPH; dan  $A_{\text{sampel}}$  ialah daya serapan sampel dengan larutan DPPH.

### ANALISIS STATISTIK

Semua data telah dinyatakan dalam min dan sisihan piawai. Analisis ANOVA terhadap min telah dijalankan menggunakan perisian SPSS versi 23. Ujian Duncan telah digunakan untuk menganalisis perbezaan signifikan dalam min. Perbezaan dalam min adalah signifikan apabila ( $p < 0.05$ ).

### HASIL & PERBINCANGAN

#### HASIL PENGEKSTRAKAN ALGINAT

Dalam kajian ini, alginat daripada kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid (sampel A) dan alginat daripada kaedah pengekstrakan melibatkan pemendakan asid dan etanol (sampel B) telah dihasilkan. Hasil alginat dalam kajian ini telah ditunjukkan dalam Jadual 1.

Hasil alginat dalam kajian ini adalah setara dengan hasil alginat daripada *Sargassum sp.* dalam beberapa kajian lepas dengan alginat dapat dihasilkan daripada *Sargassum sp.* dalam julat 12 hingga 16.5% bagi kaedah asid dan 25 hingga 30% bagi kaedah kalsium klorida (Mohammad Latifi et al. 2015). Draget et al. (2000), Mirshafiey dan Rehm (2009) dan Mushollaeni (2011) telah melaporkan bahawa kaedah pengekstrakan yang digunakan dapat mempengaruhi kuantiti alginat yang terhasil. Pernyataan ini telah dibuktikan dalam kajian ini dengan lebih banyak alginat terhasil daripada kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid (sampel A) berbanding pemendakan menggunakan asid dan etanol (Sampel B). Menurut Niekraszewicz dan Niekraszewicz (2009), proses pemendakan menggunakan kaedah asid dan etanol menghasilkan alginat dalam bentuk mendakan bergelatin yang sukar dipisahkan dan menyebabkan kemungkinan berlaku kehilangan asid alginik yang lebih tinggi. Hal ini menerangkan mengapa hasil alginat sampel B adalah lebih rendah berbanding sampel A.

Pemendakan asid dan etanol memerlukan penggunaan HCl dan etanol dalam kuantiti yang lebih banyak berbanding dengan kaedah pengekstrakan alginat yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid (Lencina et al. 2012). Namun, dalam kajian ini, kuantiti etanol yang digunakan untuk tujuan pemendakan alginat daripada larutan natrium alginat pada akhir proses pengekstrakan ini adalah sama untuk tujuan keseragaman. Kesimpulannya,

JADUAL 1. Data analisis fizikokimia dan aktiviti antioksidan alginat sampel A, B dan C

Sampel	Hasil (%)	Warna			Darjah pengembangan (g air/g alginat)	Kuasa pemerangkapan DPPH (%)
		L*	a*	b*		
A	28.16	71.32 ±2.40 <sup>b</sup>	4.00 ±0.29 <sup>a</sup>	16.48 ±1.48 <sup>c</sup>	7.90 ±0.71 <sup>b</sup>	20.10 ±3.84 <sup>b</sup>
B	18.24	73.17 ±2.64 <sup>ab</sup>	4.45 ±0.40 <sup>a</sup>	18.71 ±0.33 <sup>b</sup>	7.15 ±0.54 <sup>b</sup>	16.07 ±0.24 <sup>bc</sup>
C	-	77.12 ±1.61 <sup>a</sup>	2.59 ±0.22 <sup>b</sup>	20.85 ±0.79 <sup>a</sup>	41.36 ±1.26 <sup>a</sup>	11.89 ±3.12 <sup>c</sup>
Asid askorbik	-	-	-	-	-	96.23 ±0.10 <sup>a</sup>

Nota:

Sampel A : Alginat yang dihasilkan dalam kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid

Sampel B : Alginat yang dihasilkan dalam kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan asid dan etanol

Sampel C : Alginat komersial yang diperolehi dari Sigma-Aldrich

\*<sup>a-c</sup> Abjad yang berbeza menunjukkan terdapat perbezaan signifikan ( $p < 0.05$ )

kebanyakan industri lebih cenderung kepada kaedah pengekstrakan alginat yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid kerana alginat yang mempunyai kelikatan yang diinginkan dapat dihasilkan di samping menjimatkan kos.

#### PENGESAHAN SEBATIAN ALGINAT DALAM EKSTRAK SARGASSUM SP.

Ekstrak *Sargassum* sp. dan juga alginat komersial telah dianalisis dengan menggunakan ATR-FTIR untuk menentukan ekstrak daripada *Sargassum* sp. dalam kajian ini adalah merupakan alginat. Spektra ATR-FTIR adalah seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1. Data tersebut telah ditafsirkan merujuk kepada data analisis struktur alginat yang telah dijalankan oleh beberapa penyelidik (Gómez-Ordóñez & Rupérez 2011; Leal et al. 2008; Sellimi et al. 2014).

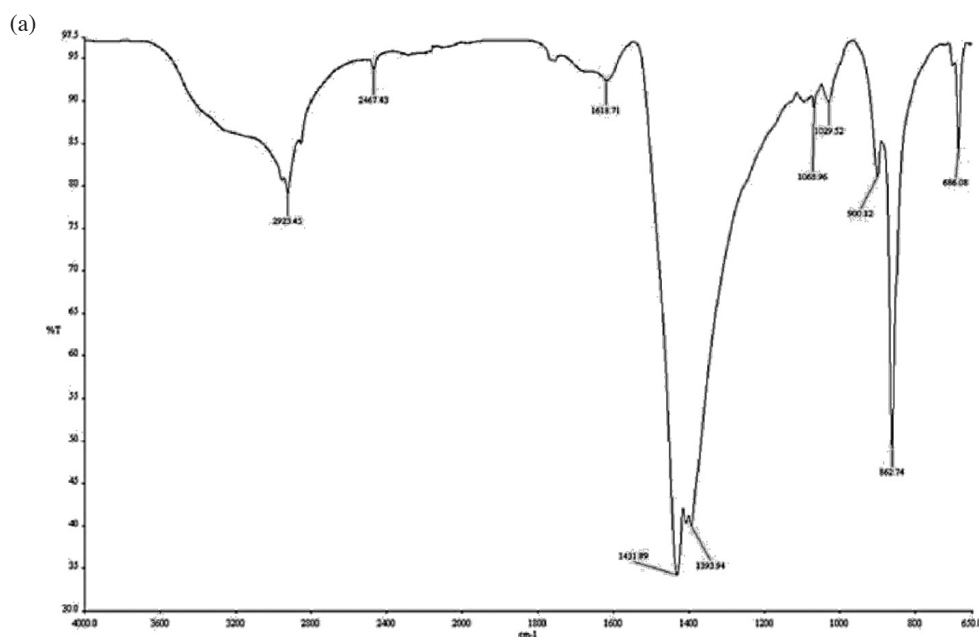
Dalam analisis struktur karbohidrat, terdapat lima kawasan nombor gelombang dapat dikenal pasti dalam julat spektra

4000-650  $\text{cm}^{-1}$  (Gómez-Ordóñez & Rupérez 2011). Kawasan-kawasan nombor gelombang tersebut adalah seperti berikut:

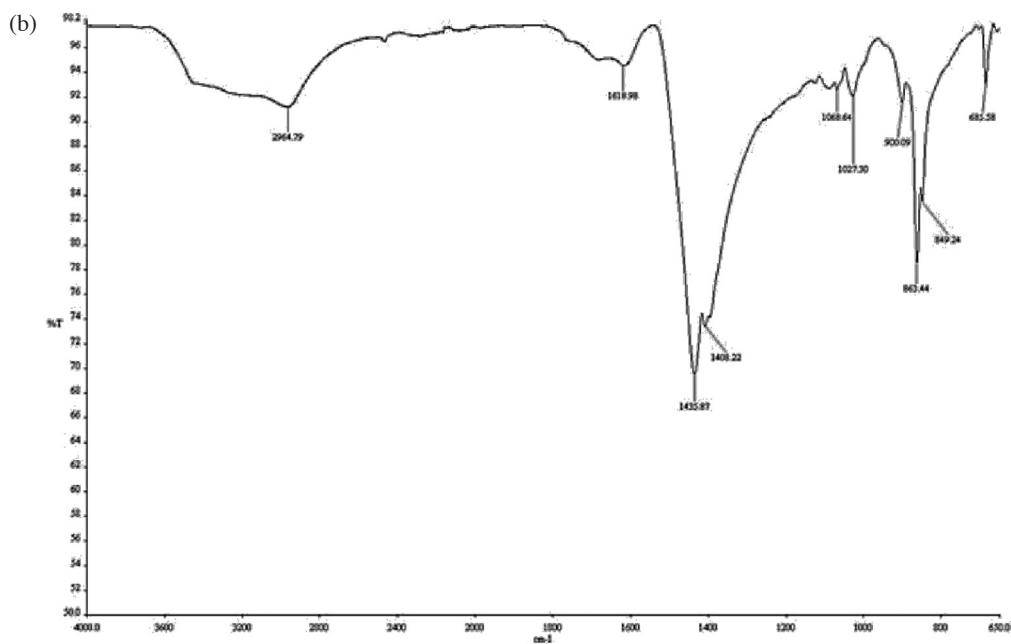
Kawasan nombor gelombang untuk getaran peregangan ikatan OH dan CH dengan nombor gelombangnya dalam julat 3600-2800  $\text{cm}^{-1}$ ; Kawasan nombor gelombang untuk simetri setempat dengan nombor gelombangnya dalam julat 1500-1200  $\text{cm}^{-1}$ ; Kawasan nombor gelombang untuk getaran peregangan ikatan CO dengan nombor gelombangnya dalam julat 1200-950  $\text{cm}^{-1}$ ; Kawasan anomer dengan nombor gelombangnya dalam julat 950-700  $\text{cm}^{-1}$ ; dan Kawasan skeletal dengan nombor gelombangnya kurang daripada 700  $\text{cm}^{-1}$ .

Jadual 2 menunjukkan nombor gelombang dalam spektra ATR-FTIR alginat dalam kajian ini berdasarkan aspek kawasan nombor gelombang (Gómez-Ordóñez & Rupérez 2011).

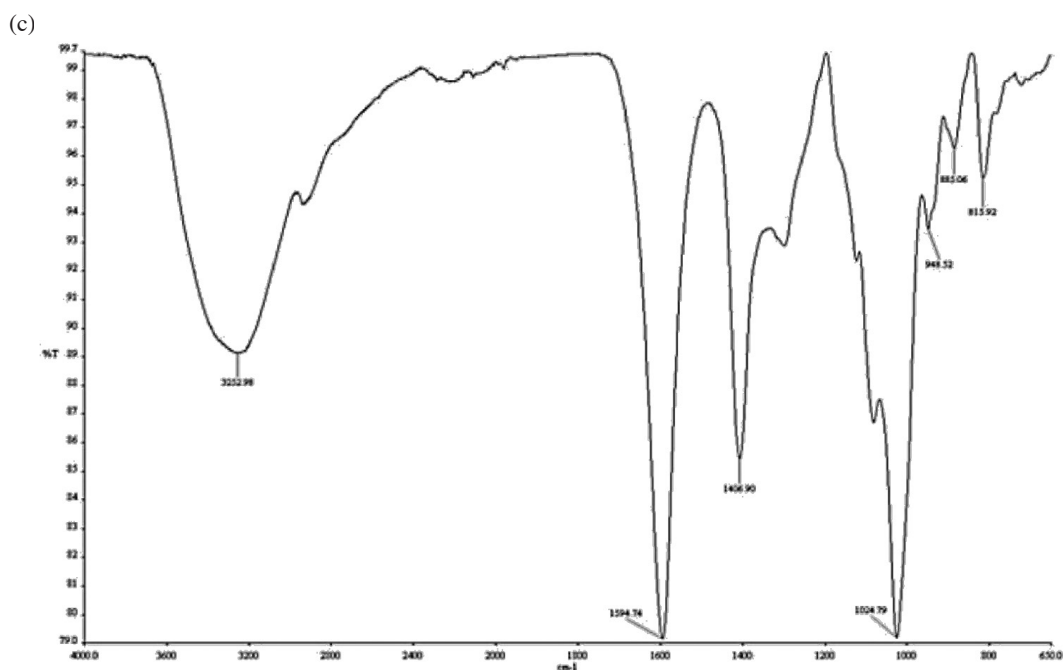
Secara keseluruhannya, kedua-dua sampel A dan sampel B menunjukkan spektra ATR-FTIR yang serupa



RAJAH 1. (a) Spektra ATR-FTIR ekstrak *Sargassum* sp. yang terhasil daripada kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid (sampel A)



RAJAH 1. (b) Spektra ATR-FTIR ekstrak *Sargassum* sp. yang terhasil daripada kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan asid dan etanol (sampel B)



RAJAH 1. (c) Spektra ATR-FTIR alginat komersial (sampel C)

dengan alginat komersial (sampel C). Ini menunjukkan kedua-dua sampel A dan B yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. mempunyai ciri atau kumpulan berfungsi yang hadir dalam alginat. Ciri utama menunjukkan sebatian yang diuji merupakan alginat adalah jalur yang menunjukkan kehadiran asid uronik. Dalam Rajah 1, beberapa jalur telah digambarkan dalam kawasan anomer dengan nombor gelombang spektra ATR-FTIR adalah dalam julat  $950\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ . Kajian Gómez-Ordóñez dan

Rupérez (2011) menunjukkan bahawa jalur pada  $947.9$ ,  $878.1$  dan  $817.1\text{ cm}^{-1}$  masing-masing merujuk kepada getaran peregangan ikatan C–O dalam asid uronik, getaran canggaaan anomerik C<sub>1</sub>–H dalam β-asid manuronik serta pencirian residu asid manuronik.

Kajian oleh Leal et al. (2008) pula menunjukkan bahawa  $948.5$ ,  $888.3$  dan  $820.0\text{ cm}^{-1}$  masing-masing merujuk kepada getaran peregangan ikatan C–O dalam asid uronik, getaran canggaaan anomerik C<sub>1</sub>–H dalam

JADUAL 2. Jalur spektra ATR-FTIR alginat yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. (sampel A dan B) serta alginat komersial (sampel C) berdasarkan kawasan nombor gelombang

Sampel	Kawasan nombor gelombang (cm <sup>-1</sup> )				
	i	ii	iii	iv	v
A	2923.45	1431.89	1068.96	900.12	686.08
		1393.94	1029.52	862.74	
B	2964.79	1435.87	1068.64	900.09	685.58
		1408.22	1027.30	863.44	
				849.24	
C	3252.98	1406.90	1024.79	948.52	
				885.06	
				815.92	

Nota: Kawasan nombor gelombang adalah berdasarkan julat nombor gelombang (cm<sup>-1</sup>) di mana i: 3600-2800; ii: 1500-1200; iii: 1200-950; iv: 950-700 dan v: < 700 (Gómez-Ordóñez & Rupérez 2011)

$\beta$ -asid manuronik serta pencirian residu asid manuronik. Oleh itu, jalur pada 900.12 dan 862.74 cm<sup>-1</sup> (sampel A), 900.09 dan 863.44 cm<sup>-1</sup> (sampel B) serta 948.52 dan 885.06 cm<sup>-1</sup> (sampel C) dalam Rajah 1 merujuk kepada getaran peregangannya ikatan C–O dalam asid uronik serta getaran canggaa anomerik C<sub>1</sub>–H dalam  $\beta$ -asid manuronik.

Selain itu, Gómez-Ordóñez dan Rupérez (2011) menyatakan bahawa nombor gelombang kawasan nombor gelombang untuk simetri setempat adalah dalam julat spektra 1500-1200 cm<sup>-1</sup>. Sellimi et al. (2014) telah menunjukkan bahawa jalur pada 1407.2 cm<sup>-1</sup> adalah merujuk kepada getaran peregangannya ikatan O–C–O dalam kumpulan karboksilat tulang belakang polimerik alginat secara asimetrik. Dalam kajian Leal et al. (2008) pula, didapati bahawa getaran canggaa ikatan C–OH bersama dengan getaran peregangannya ikatan O–C–O dalam kumpulan karboksilat secara asimetrik berlaku pada jalur 1415.3 cm<sup>-1</sup>.

Gómez-Ordóñez dan Rupérez (2011) juga menunjukkan bahawa getaran canggaa ikatan C–OH bersama dengan getaran peregangannya ikatan O–C–O dalam kumpulan karboksilat secara asimetrik berlaku pada jalur 1406.6 cm<sup>-1</sup>. Oleh itu, jalur pada 1431.89, 1435.87 dan 1406.90 cm<sup>-1</sup> dalam Rajah 1 merujuk kepada getaran peregangannya ikatan O–C–O dalam kumpulan karboksilat secara asimetrik. Tambahan pula, ketiga-tiga sampel mempunyai jalur yang serupa dalam kawasan nombor gelombang untuk getaran peregangannya ikatan C–O (Gómez-Ordóñez & Rupérez 2011).

Jalur pada 1029.52 cm<sup>-1</sup> (sampel A), 1027.30 cm<sup>-1</sup> (sampel B) dan 1024.79 cm<sup>-1</sup> (sampel C) dalam Rajah 1 merujuk kepada getaran peregangannya ikatan C–O dan C–C dalam gelang piranosa. Pernyataan ini dapat dibuktikan melalui data kajian Gómez-Ordóñez dan Rupérez (2011) dengan getaran peregangannya ikatan C–O dan C–C dalam gelang piranosa berlaku pada jalur 1024.1 cm<sup>-1</sup>. Jalur pada 2923.45, 2964.79 dan 3252.98 cm<sup>-1</sup> pada Sampel A, B dan C adalah nombor gelombang untuk getaran peregangannya ikatan OH dan CH, yang biasa dijumpai dalam sampel karbohidrat, termasuk alginat. Didapati terdapat perbezaan antara nombor gelombang Sampel A dan B

dengan Sampel C. Perbezaan ini adalah disebabkan oleh kehadiran lembapan (molekul air - H<sub>2</sub>O) yang memberi getaran peregangannya ikatan O–H pada panjang gelombang sekitar 3200 - 3300 cm<sup>-1</sup> (Silverstein & Webster 1998).

Kesemua ikatan yang diterangkan merupakan ikatan yang dijumpai secara amnya pada polisakarida. Oleh itu, daripada analisis spektra ATR-FTIR bagi ketiga-tiga sampel A, B dan C, dapat disimpulkan bahawa polisakarida yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. adalah merupakan alginat.

#### CIRI-CIRI FIZIKOKIMIA YANG DIEKSTRAK

Ujian fizikokimia untuk kedua-dua jenis alginat yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. (sampel A dan B) telah diuji dan dibandingkan dengan alginat komersial (sampel C).

#### WARNA

Berdasarkan Jadual 1, nilai L\* merujuk kepada luminans ataupun kecerahan warna subjek tersebut dengan nilainya dalam julat 0 hingga 100. Parameter a\* pula merupakan komponen kromatik warna daripada kehijauan ke kemerahan manakala parameter b\* merupakan komponen kromatik warna daripada kebiruan ke kekuningan. Dalam kajian ini, sampel C mempunyai nilai L\* yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan nilai L\* sampel A. Sampel C juga mempunyai nilai b\* paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan sampel A dan B. Data ini telah menunjukkan bahawa sampel C berwarna lebih cerah dan lebih kuning berbanding dengan sampel A dan B.

Bagi sampel A dan B, tiada perbezaan yang signifikan pada nilai L\* and a\*. Ini bererti tahap kecerahan dan warna kemerahan kedua-dua sampel ini adalah sama. Perbezaan yang signifikan, ( $p < 0.05$ ) terdapat pada nilai b\* dan ia menunjukkan bahawa sampel B adalah berwarna lebih kekuningan berbanding sampel A. Perbezaan warna sampel A dan B dengan sampel C mungkin disebabkan oleh interaksi antara sebatian fenolik yang masih tertinggal selepas perlakuan asid dan formaldehid dengan larutan

alkali yang digunakan untuk pengekstrakan alginat (Davis et al. 2004; McHugh 1987) dalam kajian ini. Menurut Yabur et al. (2007), alginat dengan sebatian fenolik yang tinggi akan mempunyai warna yang lebih gelap.

#### KELIKATAN

Berdasarkan Rajah 2, kelikatan semua sampel adalah menurun dengan peningkatan kadar ricih. Data ini telah menunjukkan bahawa larutan alginat sama ada alginat yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. dalam kajian ini ataupun alginat komersial mempunyai kelakuan kelikatan pseudoplastik (McHugh 1987) iaitu kelakuan penipisan ricih. Sari-Chmayssem et al. (2015) telah melaporkan bahawa larutan alginat mempunyai kelakuan penipisan ricih dan kajian mereka telah membuktikan kelikatan larutan alginat menurun dengan peningkatan kadar ricih.

Dalam kajian ini, sampel A mempunyai kelikatan yang lebih tinggi berbanding dengan sampel B. Hal ini adalah disebabkan kewujudan sesetengah ion kalsium dalam alginat yang terhasil daripada kaedah pengekstrakan yang melibatkan pemendakan garam kalsium (Lencina et al. 2012). Namun begitu, kelikatan kedua-dua sampel ini adalah lebih rendah berbanding sampel C. Penguraian asid uronik (McHugh 1987) mungkin berlaku semasa pengekstrakan dan proses ini dapat menghasilkan alginat yang kurang likat.

Tambahan lagi, selain faktor kaedah pengekstrakan yang berbeza, masa pengekstrakan alginat dengan menggunakan larutan alkali juga mempengaruhi sifat reologi alginat yang diekstrak tersebut (Vauchel et al. 2008). Oleh itu, kebanyakan industri makanan mengawal suhu dan masa dalam proses pengekstrakan alginat secara alkali untuk mendapatkan produk alginat yang mempunyai kelikatan yang diinginkan (Fenoradosoa et al. 2010; Torres et al. 2007). Kesimpulannya, larutan alginat yang terhasil dalam kajian ini mempunyai sifat reologi yang serupa dengan larutan alginat komersial iaitu kelikatan pseudoplastik dengan penipisan ricih.

#### AKTIVITI PENGGELAN

Dalam kajian ini, aktiviti penggelan untuk semua sampel telah dijalankan. Berdasarkan Jadual 1, darjah pengembangan sampel C adalah paling tinggi dan juga berbeza secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan darjah pengembangan sampel A dan B. Andriamanantoanina dan Rinaudo (2010) menyatakan bahawa pembentukan gel oleh alginat adalah bergantung kepada kewujudan zon yang kaya dengan blok-GG. Biasanya, gel yang rapuh dan tegar dibentuk oleh alginat yang rendah dalam nilai nisbah M/G manakala gel yang elastik dan lembut dibentuk oleh alginat yang tinggi dalam nilai nisbah M/G (Rioux et al. 2007; Torres et al. 2007). Darjah pengembangan sampel C yang lebih tinggi berbanding A dan B mungkin adalah kerana sampel C lebih kaya dengan blok G-G dengan pembentukan gel oleh alginat adalah bergantung kepada kewujudan zon yang kaya dengan blok-GG (Andriamanantoanina & Rinaudo 2010).

#### AKTIVITI ANTIOKSIDAN

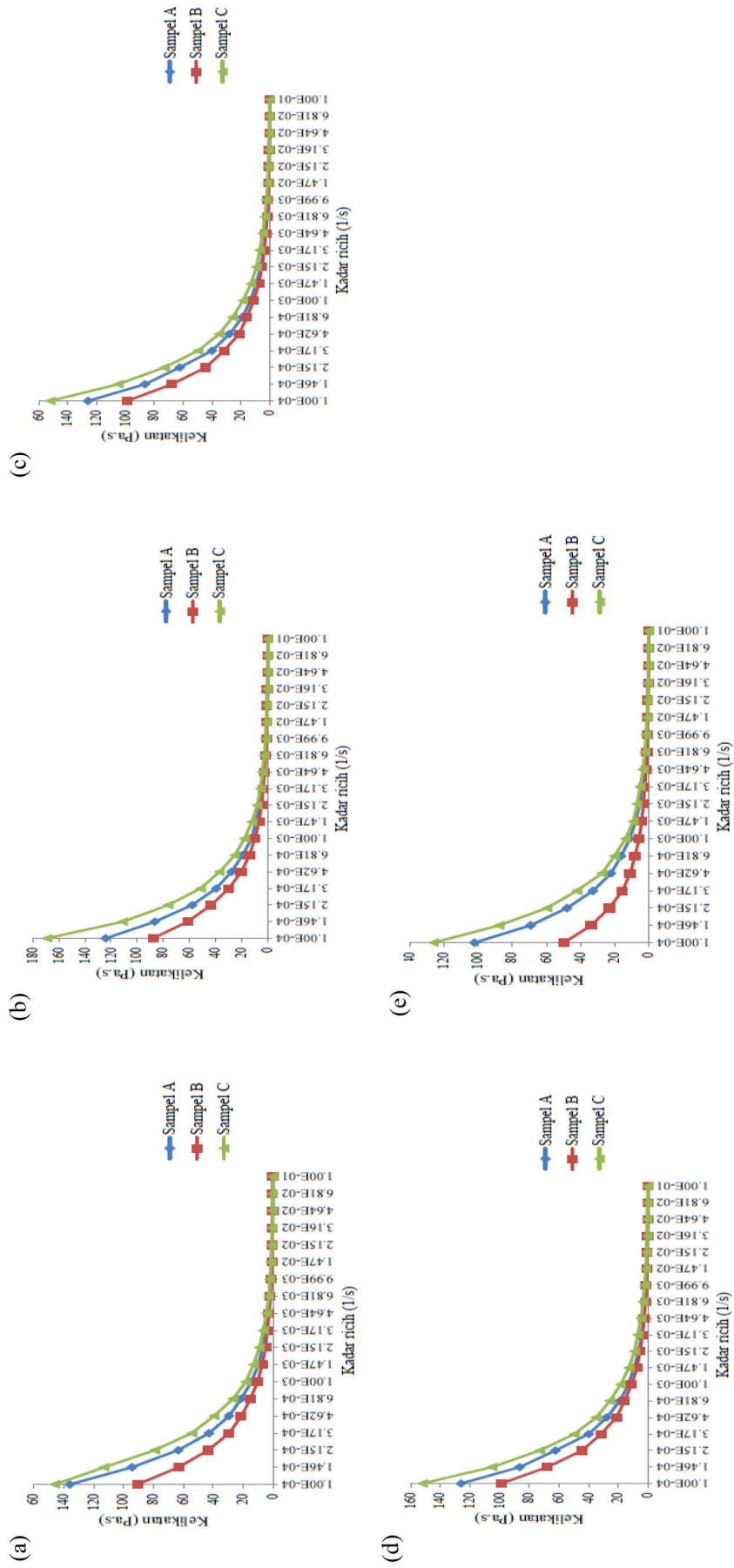
Analisis pemerangkapan radikal bebas DPPH telah dijalankan bagi alginat yang terhasil daripada kaedah pengekstrakan berbeza. Data analisis ini telah ditunjukkan dalam Jadual 1. Menurut Mohd Fadzelly et al. (2015), ujian pemerangkapan radikal bebas DPPH adalah satu kaedah untuk mengukur kemampuan ekstrak untuk memerangkap radikal bebas melalui pertukaran DPPH kepada bentuk DPPH-H yang stabil setelah penerimaan elektron atau radikal hidrogen.

Berdasarkan Jadual 1, sampel A, B dan C mempunyai aktiviti antioksidan yang lebih rendah secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan asid askorbik, yang merupakan piawai positif dalam ujian ini. Namun, aktiviti antioksidan secara pemerangkapan radikal bebas DPPH sampel A dan sampel B adalah lebih baik berbanding dengan sampel C dan antara ketiga-tiga sampel alginat (sampel A, B dan C), sampel A menunjukkan aktiviti antioksidan yang paling tinggi secara signifikan ( $p < 0.05$ ) berbanding dengan sampel C.

Sesetengah bahan antioksidan sintetik seperti BHA, BHT dan TBHQ telah dikhuatiri mempunyai sifat karsinogenik serta terdapat data kajian toksikologi yang menunjukkan bahawa bahan antioksidan sintetik tersebut dapat menggalakkan pembangunan sel barah dalam tikus eksperimen. Oleh itu, bahan antioksidan sintetik ini telah dihadkan penggunaannya hanya dalam makanan. Masyarakat juga lebih cenderung kepada bahan antioksidan semula jadi (Suresh Kumar et al. 2008). Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa aktiviti antioksidan secara pemerangkapan radikal bebas DPPH alginat yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. dalam kajian ini walaupun tidak sebaik dengan asid askorbik, namun mempunyai kuasa pemerangkapan radikal bebas DPPH yang lebih baik berbanding dengan alginat komersial. Oleh itu, alginat yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. dalam kajian ini berpotensi dibangunkan sebagai bahan pemekat dan penggelan di samping berfungsi sebagai bahan aditif makanan dan bahan antioksidan semula jadi.

#### KESIMPULAN

Dalam kajian ini, didapati bahawa hasil alginat yang diekstrak daripada *Sargassum* sp. adalah lebih tinggi dalam pengekstrakan melalui pemendakan garam kalsium dan asid (sampel A), berbanding dengan pengekstrakan melalui pemendakan asid dan etanol (sampel B). Data ATR-FTIR telah membuktikan bahawa ekstrak *Sargassum* sp. tersebut merupakan alginat. Didapati bahawa alginat *Sargassum* sp. (sampel A dan B) juga mempunyai kelakuan kelikatan yang serupa dengan alginat komersial. Ujian aktiviti antioksidan secara penangkapan radikal bebas DPPH alginat *Sargassum* sp. (sampel A) adalah lebih tinggi berbanding alginat komersial. Secara keseluruhannya, alginat *Sargassum* sp. yang terhasil daripada pengekstrakan yang melibatkan pemendakan garam kalsium dan asid (sampel A) adalah lebih baik daripada aspek fizikokimia dan aktiviti antioksidan berbanding dengan alginat



RAJAH 2. Graf kelikatan larutan alginat bagi kaedah pengkestrakan yang melibatkan pemadakan garam kalsium dan asid (sampel A), pemadakan asid dan etanol (sampel B), dan larutan alginat komersial (sampel C) pada kepekatan a) 0.2% b) 0.4% c) 0.6% d) 0.8% dan e) 1.0%



*Sargassum* sp. yang terhasil daripada pengekstrakan yang melibatkan pemendakan asid dan etanol (sampel B). Kajian lanjut terhadap penulenan alginat boleh meningkatkan lagi ciri fizikokimia alginat dan membolehkan alginat diekstrak daripada rumpai laut *Sargassum* sp. untuk tujuan pengkomersialan.

#### PENGHARGAAN

Kajian ini telah dijalankan menggunakan geran penyelidikan GGPM-2015-025 dan DPP-2014-035 daripada Universiti Kebangsaan Malaysia. Setinggi-tinggi penghargaan kepada Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan, Universiti Kebangsaan Malaysia yang telah menyediakan segala kemudahan makmal bagi menjalankan kajian.

#### RUJUKAN

- Andriamanantoanina, H. & Rinaudo, M. 2010. Characterization of the alginates from five Madagascan brown algae. *Carbohydrate Polymers* 82(3): 555-560.
- Cong, Q., Xiao, F., Liao, W., Dong, Q. & Ding, K. 2014. Structure and biological activities of an alginate from *Sargassum fusiforme*, and its sulfated derivative. *International Journal of Biological Macromolecules* 69: 252-259.
- Davis, T.A., Ramirez, M., Mucci, A. & Larsen, B. 2004. Extraction, isolation and cadmium binding of alginate from *Sargassum* spp. *Journal of Applied Phycology* 16(4): 275-284.
- Draget, K.I., Strand, B., Hartmann, M., Valla, S., Smidsrød, O. & Skjå-Bræk, G. 2000. Ionic and acid gel formation of epimerised alginates: The effect of algE4. *International Journal of Biological Macromolecules* 27(2): 117-122.
- Fenoradosoa, T.A., Ali, G., Dellattre, C., Laroche, C., Petit, E., Wadouchi, A. & Michaud, P. 2010. Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *Journal of Applied Phycology* 22(2): 131-137.
- Gómez-Ordóñez, E. & Rupérez, P. 2011. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. *Food Hydrocolloids* 25: 1514-1520.
- Gomez, C.G., Lambrecht, M.V.P., Lozano, J.E., Rinaudo, M. & Villar, M.A. 2009. Influence of the extraction-purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystis pyrifera*). *International Journal of Biological Macromolecules* 44(4): 365-371.
- Ho, Y.M., Wan Amir Nizam, W.A. & Wan Rosli, W.I. 2016. Aktiviti antioksidan dan kandungan polifenolik bagi varieti berbeza jagung muda dan sutera jagung Malaysia. *Sains Malaysiana* 45(2): 195-200.
- Kelishomi, Z.H., Goliaei, B., Mahdavi, H., Nikoofar, A., Rahimi, M., Movahedi, A.A.M., Mamashli, F. & Bidgeli, B. 2016. Antioxidant activity of low molecular weight alginate produced by thermal treatment. *Food Chemistry* 196: 897-902.
- Leal, D., Matsuhira, B., Rossib, M. & Caruso, F. 2008. FT-IR spectra of alginic acid block fractions in three species of brown seaweeds. *Carbohydrate Research* 343(2): 308-316.
- Lencina, M.M.S., Andreucetti, N.A., Gómez, C.G. & Villar, M.A. 2012. Recent studies on alginates based blends, composites, and nanocomposites. Dlm *Advances in Natural Polymers*, disunting oleh Thomas, S., Visakh, P.M. & Mathew, A.P. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Hlm. 193-254.
- Lim, S.J., Aida, W.M.W., Maskat, M.Y., Mamot, S., Ropien, J. & Mohd, D.M. 2014. Isolation and antioxidant capacity of fucoidan from selected Malaysian seaweeds. *Food Hydrocolloids* 42: 280-288.
- McHugh, D.J. 1987. *Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds- FAO Fisheries Technical Paper* 288. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. ([http://www.fao.org/3/ax5822e04.htm#chapter 2](http://www.fao.org/3/ax5822e04.htm#chapter_2) production, properties and uses of alginates).
- Mirshafiey, A. & Rehm, B.H.A. 2009. Alginate and its comonomer mannuronic acid: Medical relevance as drugs. Dlm *Alginates: Biology and Applications*, disunting oleh Rehm, B.H.A. Berlin: Springer-Verlag. hlm. 229-260.
- Mohd Fadzelly, A.B., Fifilyana, A.K. & Perisamy, E. 2015. Comparison of phytochemicals and antioxidant properties of different fruit parts of selected *Artocarpus* species from Sabah, Malaysia. *Sains Malaysiana* 44(3): 355-363.
- Mohamad Latifi, A., Nejad, E.S. & Babavalian, H. 2015. Comparison of extraction different methods of sodium alginate from brown alga *Sargassum* sp. localized in the Southern of Iran. *Journal of Applied Biotechnology* 2(2): 251-255.
- Mushollaeni, W. 2011. The physicochemical characteristics of sodium alginate from Indonesian brown seaweeds. *African Journal of Food Science* 5(6): 349-352.
- Niekraszewicz, B. & Niekraszewicz, A. 2009. The structure of alginate, chitin and chitosan fibres. Dlm *Handbook of Textile Fibre Structure*. Volume 2: Woodhead Publishing Series in Textiles, disunting oleh Eichhorn, S.J., Hearle, W.S., Jeffe, M. & Kukutani, T. London: Woodhead Publishing Limited. Hlm. 266-304.
- Pawar, S.N. & Edgar, K.J. 2012. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials* 33(11): 3279-3305.
- Remminghorst, U. 2007. Polymerization and export of alginate in *Pseudomonas aeruginosa*: Functional assignment and catalytic mechanism of Alg8/44. Tesis Doctor of Philosophy in Microbiology, Massey University (tidak diterbitkan).
- Rioux, L.E., Turgeon, S.L. & Beaulieu, M. 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate Polymers* 69(3): 530-537.
- Sari-Chmayssem, N., Taha, S., Mawlawi, H., Guégan, J.P., Jeftić, J. & Benvegnu, T. 2015. Extracted and depolymerization alginates from brown algae *Sargassum vulgare* of Lebanese origin: Chemical, rheological, and antioxidant properties. *Journal of Applied Phycology* 28(3): 1915-1929.
- Sellimi, S., Younes, I., Ayed, H.B., Maalej, H., Montero, V., Rinaudo, M., Dahia, M., Mechichi, T., Hajji, M. & Nasri, M. 2014. Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *International Journal of Biological Macromolecules* 72: 1358-1367.
- Silverstein, R.M. & Webster, F.X. 1998. *Spectrometric Identification of Organic Compounds* 6th ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Suresh Kumar, K., Ganesan, K. & Subba Rao, P.V. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (doty)- an edible seaweed. *Food Chemistry* 107(1): 289-295.
- Torres, M.R., Sousa, A.P.A., Silva Filho, E.A.T., Melo, D.F., Feitosa, J.P.A., De Paula, R.C.M. & Lima, M.G.S. 2007. Extraction and physicochemical characterization of *Sargassum vulgare* alginate from Brazil. *Carbohydrate Research* 324(14): 2067-2074.

- Vauchel, P., Leroux, K., Kaas, R., Arhaliass, A., Baron, R. & Legrand, J. 2009. Kinetics modelling of alginate alkaline extraction from *Laminaria digitata*. *Bioresource Technology* 100(3): 1291-1296.
- Venkatesan, J. & Kim, S.K. 2015. Marine algae derived polysaccharides for bone tissue regeneration. Dlm. *Marine Algae Extracts: Prosesess, Products, and Applications*, disunting oleh Kim, S.K. & Chojnacka, K. New Jersey: John Wiley & Sons. Hlm. 509-522.
- Yabur, R., Bashan, Y. & Carmona, G.V. 2007. Alginate from the macroalgae *Sargassum sinicola* as a novel source for microbial immobilization material in wastewater treatment and plant growth promotion. *Journal of Applied Phycology* 19(1): 43-53.

Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan  
Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan  
Malaysia

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: joe@ukm.edu.my

Diserahkan: 9 Mac 2017

Diterima: 4 Mei 2017