

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK MIKROALGA
Porphyridium cruentum MENGGUNAKAN METODE
PEREDAM RADIKAL BEBAS DPPH**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**AGHNI KHAERATUL ZANNAH Y
11151046**



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
BANDUNG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK MIKROALGA
Porphyridium cruentum MENGGUNAKAN METODE
PEREDAM RADIKAL BEBAS DPPH

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

Aghni Khaeratul Zannah Y

11151046

Bandung, 05 Juli 2019

Menyetujui,

Pembimbing 1



(Vina Juliana, M.Si)

Pembimbing 2



(Wempi Budiana, M.Si., Apt)



PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Universitas Bhakti Kencana.

ABSTRAK
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK MIKROALGA
***Porphyridium cruentum* MENGGUNAKAN METODE**
PEREDAM RADIKAL BEBAS DPPH

Oleh:
Aghni Khaeratul Zannah Y
11151046

Porphyridium cruentum merupakan salah satu mikroalga yang dapat beraktivitas sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komponen fitokimia dari ekstrak mikroalga *P. cruentum* yang ditumbuhkan di medium walne dan mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana dari mikroalga *P. cruentum*, dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang digunakan adalah n-Heksana sebagai pelarut nonpolar, Etil Asetat sebagai pelarut semipolar dan Etanol sebagai pelarut polar. Pemantauan senyawa yang terkandung dalam ekstrak dilakukan dengan KLT. Hasil rendemen ekstrak biomassa kering *Porphyridium cruentum* dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol berturut-turut 0.76%, 1% dan 26.28%. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Vitamin C sebagai pembanding, memiliki nilai IC₅₀ sebesar 5,34 µg/mL. Ekstrak kental dilarutkan dalam metanol kemudian diuji aktivitas antioksidannya. Uji peredaman radikal DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2878 µg/mL ; ekstrak etil asetat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2704 µg/mL ; dan ekstrak n-heksan memiliki nilai IC₅₀ 362 µg/mL. Dari hasil pemantauan ekstrak menggunakan KLT ekstrak *P. cruentum* mengandung senyawa fenolik dan flavonoid.

Kata kunci : antioksidan, *Porphyridium cruentum*, ekstraksi bertingkat, DPPH, IC₅₀

ABSTRACT
THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MICROALGAE
***Porphyridium cruentum* USING THE FREE RADICAL**
DETERMINATION OF DPPH

By:

Aghni Khaeratul Zannah Y

11151046

Porphyridium cruentum is a microalgae which has activity as antioxidant. The purpose of this research is to verify the phytochemistry component of microalgae *Porphyridium cruentum* extract which was grown in medium waln and to verify the antioxidant activity of its ethanol, ethyl acetate and n-hexane extract by IC₅₀ value. Gradual extraction was performed using three solvents with different polarity. N-hexane as nonpolar solvent, ethyl acetate as semipolar solvent and ethanol as polar solvent. The compounds of the extracts were monitored by TLC. The rendement of *Porphyridium cruentum* dry biomass with n-hexane, ethyl acetate and ethanol were 0.76%, 1% and 26.28% respectively. The antioxidant activity verification was using free radical determination with DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhydrazil). Vitamin C was used as the comparative agent with IC₅₀ of 5,34 µg/mL. The viscous extract was dissolved in methanol and tested for antioxidant activity. DPPH test shows that ethanol extract has IC₅₀ value of 2878 µg/mL ; ethyl acetate extract has IC₅₀ value of 2704 µg/mL ; and n-heksan extract has IC₅₀ value of 362 µg/mL. P.cruentum extract monitoring using TLC shows it contains phenolic and flavonoid compound.

Key Words : antioxidant, *Porphyridium cruentum*, gradual extraction, DPPH, IC₅₀

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan Rahmat dan Karunia-Nya, sholawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi Tugas Akhir yang berjudul **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK MIKROALGA *Porphyridium cruentum* MENGGUNAKAN METODE PEREDAM RADIKAL BEBAS DPPH**. Skripsi ini dibuat untuk memenuhi syarat kelulusan program Strata Satu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana. Banyak sekali halang rintang dalam penulis dalam membuat skripsi tugas akhir ini, tetapi berkat dukungan serta bimbingan dari pihak yang lain akhirnya skripsi tugas akhir ini dapat diselesaikan juga oleh penulis. Oleh karenanya pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Ibunda tercinta Sulaeha yang selalu mendukung, menyemangati dan medoakan kelulusan dari anaknya ini, karna berkat doa beliau penulis bisa sampai menyelesaikan skripsi ini.
2. Ayahanda tercinta Dedi Suryadi yang selalu mendukung dan menyemangati penulis.
3. Bapak Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana
4. Ibu Vina Juliani, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan juga dosen wali yang selalu senantiasa membimbing, mengarahkan, dan memberikan semangat selama penyusunan tugas akhir ini.
5. Bapak Wempi Budiana, M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Serta yang juga senantiasa membimbing dan mengarahkan selama penyusunan tugas akhir ini.
6. Seluruh staf dosen dan karyawan Universitas Bhakti Kencana.

7. Teh Gina, A Anjar dan A gugun yang selalu mendukung dan mengingatkan penulis tentang belajar.
8. GH Squad (Azmi, Devi, Sarah) yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis ketika penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.
9. Bhineka Tunggal Ika (Rilin, Retno, Miftah) yang telah menjadi sahabat penulis dari tahun pertama kuliah hingga saat ini
10. Teman-teman FA2 angkatan 2015, kelas yang sangat luar biasa yang selalu mendukung satu dengan yang lainnya
11. Teman-teman angkatan 2015 reguler dan kelas karyawan
12. Dan pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kesempurnaan, karena kesempurnaan hanya milik Allah SWT., oleh karenanya kritikan dan saran sangat penulis harapkan untuk perbaikan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk untuk semua dan terkhusus untuk mahasiswa/i fakultas farmasi Universitas Bhakti Kencana.

Bandung, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	i
ABSTRA	ii
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
Bab I Pendahuluan	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan	4
I.4 Batasan Menelitian.....	4
I.5 Waktu dan Tempat Penelitian	4
Bab II Tinjauan Pustaka	6
II.1 Mikroalga	6
II.2 <i>Porphyridium cruentum</i>	14
II.3 Antioksidan	16
Bab III Metode Penelitian	22
Bab IV Alat dan Bahan	25
IV.1 Alat – alat	25
IV.2 Bahan – bahan	25
Bab V Prosedur Penelitian	26

V.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	26
V.2 Penyiapan Air Laut Steril	26
V.3 Pembuatan Medium Walne, Vitamin dan Silikat 4%	27
V.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan	28
V.5 Aktivasi Dan Kultivasi Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i> .	28
V.6 Pemanenan Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i>	29
V.7 Karakterisasi	29
V.8 Ekstraksi Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i>	32
V.9 Pemantauan Ekstrak	33
V.10 Uji Aktivitas Antioksidan	33
Bab VI Hasil dan Pembahasan	36
VI.1 Penyiapan Sampel	36
VI.2 Aktivasi	36
VI.3 Kurva Pertumbuhan	37
VI.4 Kultivasi Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i>	42
VI.5 Pemanenan Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i>	43
VI.6 Ekstraksi	43
VI.7 Pemantauan ekstrak mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i>	44
VI.8 Karakterisasi	48
VI.9 Pengujian Aktivitas Antioksidan	50
Bab VII Kesimpulan dan Saran	53
VII.1 Kesimpulan	53
VII.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
Lampiran	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Habitat Mikroalga	6
Gambar II.2 Pola Pertumbuhan Mikroalga.....	10
Gambar II.3 Struktur <i>Porphyridium cruentum</i> dibawah mikroskop Perbesaran 40x, berupa sel soliter	15
Gambar II.4 Struktur (a) α -tokoferol dan (b) Asam Askorbat.18	
Gambar II.5 Struktur antioksidan sintesis, BHT, TBHQ, BHA dan Propil Galat.....	19
Gambar II.6 Struktur DPPH: (a) bentuk radikal dan (b) bentuk tereduksi	20
Gambar VI.1 Aktivasi	36
Gambar VI.2 Kurva Pertumbuhan <i>P. cruentum</i> metode <i>Haemocytometer</i>	39
Gambar VI.3 Kurva Pertumbuhan <i>P. cruentum</i> Metode <i>Optical Density</i>	41
Gambar VI.4 Kromatogram fase gerak non polar n-heksana - etil asetat – etanol (8:1.5:0.5	45
Gambar VI.5 Kromatogram fase gerak semi polar etil asetat – n-heksana - etanol (7:2.5:0.5)	46
Gambar VI.6 Kromatogram fase gerak polar BAW (4:5:1)	47
Gambar VI.7 Grafik kurva kalibrasi DPPH.....	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel II.1 Faktor pertumbuhan mikroalga	11
Tabel II.2. Taksonomi <i>Porphyridium cruentum</i>	14
Tabel VI.1. Kurva pertumbuhan metode <i>Haemocytometer</i>	38
Tabel VI.2. Kurva pertumbuhan metode <i>Optical Density</i>	40
Tabel VI.3. Data Kultivasi Mikroalga <i>P. cruentum</i>	42
Tabel VI.4. Ekstraksi Mikroalga <i>P. cruentum</i>	44
Tabel VI.5 Hasil Karakterisasi biomassa Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i>	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Diagram Alur Penelitian	59
Lampiran B Kurva Kalibrasi Baku DPPH.....	60
Lampiran C Aktivitas Antioksidan Vitamin C	61
Lampiran D Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-heksan <i>Porphyridium cruentum</i>	62
Lampiran E Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat <i>Porphyridium cruentum</i>	64
Lampiran F Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol <i>Porphyridium cruentum</i>	65

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan	Nama
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
Vis	<i>Visible</i> (Sinar Tampak)
IC ₅₀	<i>Half Maximum Inhibitory Concentration</i>

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Antioksidan merupakan senyawa penangkap radikal bebas yang berfungsi untuk memperlambat terjadinya proses oksidasi pada bahan pangan. Antioksidan termasuk salah satu jenis bahan tambahan pangan yang dapat digunakan untuk melindungi komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), seperti lemak dan minyak. Tubuh manusia juga menghasilkan senyawa antioksidan, contohnya superoksida dismutase (SOD). Jumlah senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tubuh manusia tidak cukup untuk menangkap radikal bebas di dalam tubuh. Salah satu cara mengatasi kekurangan tersebut adalah mengkonsumsi makanan yang mengandung senyawa antioksidan, seperti vitamin dan mineral (Hermani, 2004).

Saat ini asupan antioksidan secara eksogen dikemas dalam bentuk suplemen makanan. Antioksidan yang terkandung di dalam suplemen ini sebagian besar berasal dari antioksidan sintesis yang juga digunakan sebagai zat aditif pada makanan. Menurut Papas (1999), antioksidan sintesis memiliki efek karsinogen dalam tubuh jika dikonsumsi pada konsentrasi tinggi dan dalam jangka waktu yang lama. Antioksidan ini dianggap kurang aman bagi kesehatan konsumen sehingga penggunaannya perlu dibatasi bahkan dihilangkan. Seiring dengan meningkatnya perhatian masyarakat terhadap masalah kesehatan, bahan tambahan sintesis termasuk antioksidan mulai mendapat perhatian yang khusus. Penelitian yang

dilakukan oleh Paiva & Robert (1999) menunjukkan bahwa beberapa senyawa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintesis sehingga dapat pula digunakan sebagai zat aditif pada makanan. Oleh karena itu penelitian dan pencarian sumber antioksidan yang berasal dari alam banyak dilakukan sebagai alternatif pengganti antioksidan sintesis.

Dalam 2 dekade terakhir, antioksidan alami sebagian besar diperoleh dari hasil isolasi senyawa bioaktif pada tanaman khususnya buah dan sayuran. Isolasi senyawa antioksidan dari buah dan sayuran difokuskan kepada biopigmen yang terkandung di dalamnya, salah satunya adalah β -karoten. Namun, pemanfaatan biopigmen dari sumber tersebut akan berkompetisi dengan pemenuhan kebutuhan pangan manusia. Untuk itu perlu dicari alternatif sumber biopigmen yang tidak berkompetisi dengan bahan pangan, salah satunya dari mikroalga laut.

Jenis mikroalga yang potensial menghasilkan senyawa kimia yang berfungsi sebagai antioksidan adalah *Porphyridium cruentum*. *Porphyridium cruentum* diketahui mengandung karotenoid yaitu cis-zeaxantin, trans-zeaxantin, α -karoten, dan cis α -karoten (Abidin, 2010). Terkait dengan tingginya permintaan untuk memenuhi manfaat tersebut, maka kultivasi merupakan cara untuk memenuhi kebutuhan stok biomassa mikroalga.

Proses kultivasi dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang secara langsung akan mempengaruhi pertumbuhan dari mikroalga. Faktor-

faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga diantaranya suhu, salinitas, dan cahaya. Suhu merupakan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap proses metabolisme dan fotosintesis. Salinitas sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmotik antara sel dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Peranan cahaya dalam pertumbuhan yaitu untuk proses fotosintesis dengan menyediakan energi untuk diubah menjadi energi kimia dengan bantuan klorofil. Kondisi lingkungan saat kultivasi tidak hanya berpengaruh terhadap pertumbuhan sel tetapi juga berpengaruh terhadap kestabilan dari senyawa antioksidan mikroalga. Kestabilan antioksidan yang terganggu juga akan berpengaruh terhadap aktivitas dalam mengatasi radikal bebas.

Mengingat proses kultivasi untuk mendapatkan biomassa melibatkan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan senyawa antioksidan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pertumbuhan sel serta aktivitas antioksidan dari mikroalga. Penelitian ini dilakukan pada jenis mikroalga *Porphyridium cruentum* dengan perlakuan kultivasi pada medium walne. Pertumbuhan mikroalga berdasarkan kepadatan sel pada setiap volume kultur *Optical Density* nya dan laju pertumbuhan serta aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari biomassa *Porphyridium cruentum* yang ditumbuhkan pada medium walne.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Komponen fitokimia apa saja yang terdapat dalam ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum*?
2. Berapa nilai IC_{50} dari ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* menggunakan metode Peredaman Radikal Bebas DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan perumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui komponen fitokimia dari ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* yang ditumbuhkan di medium walne.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* yang dinyatakan dalam IC_{50} .

1.4 Batasan Masalah

Penelitian dibatasi hanya mencakup uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dari ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum*.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu penelitian : Dilaksanakan dari februari 2019- Juni 2019

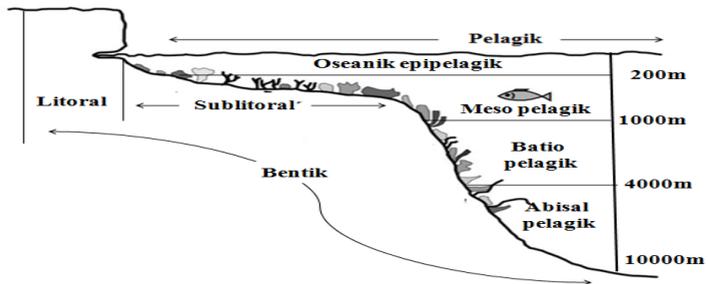
2. Tempat penelitian : Laboratorium Universitas Bhakti Kencana

BAB II Tinjauan Pustaka

II.1 Mikroalga

Mikroalga adalah organisme tumbuhan paling primitif yang berukuran renik (seluler) yang umumnya dikenal dengan nama fitoplankton. Habitat hidupnya adalah wilayah didaerah perairan, baik di air tawar maupun di air laut, atau ditempat-tempat lembab. Organisme ini merupakan produsen primer diperairan karena memiliki kemampuan fotosintesis layaknya tumbuhan tingkat tinggi yang ada didarat. Akan tetapi mikroalga memiliki efektivitas dan efisiensi dalam mengkonversi sinar matahari yang relatif lebih tinggi karena aksesnya pada air, karbondioksida, dan berbagai nutrien lain lebih mudah dibandingkan dengan tumbuhan yang ada didarat. Untuk menggali dan memanfaatkan berbagai potensi mikroalga, perlu dilakukan uji coba kultivikasi untuk memenuhi kebutuhan biomassa mikroalga seperti halnya pembudidayaan tanaman pangan.

Secara morfologi, mikroalga termasuk kedalam eukariot meskipun sebagian kecil merupakan prokariot. Mikroalga tumbuh dengan singkat, yaitu 7-10 hari dan dapat bereproduksi secara seksual maupun aseksual. Mikroalga merupakan mikroorganisme yang dapat berupa planktonik, yaitu hidup di zona pelagik dan mengikuti arus air, serta ada pula yang bentik, yaitu hidup didasar atau zona bentik, menempel pada bebatuan, pasir atau lumpur, tanaman atau bisa juga pada hewan.



Gambar II.1. Habitat Mikroalga

Sumber: http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Zona_laut.jpg, (diakses pada oktober 2018).

II.1.1 Klasifikasi Mikroalga

Untuk sistem pengklasifikasi mikroalga masih pada tahap pengembangan dikarenakan masih banyaknya penemuan – penemuan mikroalga baru yang kurang tepat bila diklasifikasikan dengan sistem taksonomi. Menurut Barsanti dan ualteri, secara garis besar alga dapat dibagi menjadi 2 golongan utama, yaitu prokariot dan eukariot.

Mikroalga yang banyak ditemukan dari kelas *Bacillariophyceae* (diatom), *Chrysophyceae* (alga coklat keemasan), *Chlorophyceae* (alga hijau) dan kelas *Cyanophyceae* (*blue green algae*/alga biru-hijau) (Kawaroe dkk, 2010).

Menurut Kawaroe dkk (2010), mikroalga dibagi dalam beberapa klasifikasi :

1. *Chlorophyta* (alga hijau)

Alga ini merupakan kelompok alga yang paling beragam karena ada yang bersel tunggal dan berkoloni. Pigmen yang dimilikinya adalah klorofil (klorofil *a* dan *b*) yang mengandung karoten.

2. *Chrysophyta* (alga keemasan)

Alga ini digolongkan dalam 3 kelas yaitu alga hijau-kuning (*xanthophyceae*), alga kuning keemasan (*chrysophyceae*) dan diatom (*bacillaryophyceae*). Alga hijau-kuning (*xanthophyceae*) memiliki dua pigmen yaitu klorofil *a* dan *c* (pigmen hijau) dan xantofil (pigmen kuning). Alga kuning keemasan (*chrysophyceae*) memiliki dua pigmen yaitu flukosianin (keemasan) dan klorofil (*a* dan *c*). Diatom (*bacillaryophyceae*) dinding selnya berisi silika dan jenis bahan organik yang memproduksi minyak *chrysolaminaran*, diatom memiliki berbagai pigmen klorofil termasuk karotenoid serta diatomin.

3. *Pyrhophyta* (alga api)

Alga yang termasuk kedalam golongan alga api adalah *Dinoflagellata*, yaitu tubuh tersusun atas satu sel yang memiliki dinding sel dan dapat bergerak aktif.

Alga api yang hidup di laut memiliki sifat fosforesensi, yaitu memiliki fosfor yang memancarkan cahaya.

Pigmen yang dimilikinya yaitu klorofil *a* dan *c*, betakaroten, xantofil dan thylakoid. *Euglenophyta*

Euglenophyta adalah organism bersel satu, tidak berding sel dan mempunyai alat gerak berupa flagel. Pigmen yang dimilikinya yaitu klorofil *a* dan *c*, fukosantin, betakaroten xantofil dan thylakoid.

4. *Chanophyta* (alga hijau-biru)

Alga ini memiliki kombinasi klorofil *a* dan *c* berwarna hijau dan fikosianin berwarna biru. Adanya kombinasi dari klorofil, karotenoid, fikosianin, dan fikoeritrin dalam jumlah yang berbeda-beda di dalam tubuh mikroalga ini, akan memunculkan aneka warna seperti merah, hijau terang, coklat, ungu bahkan hitam.

II.1.2 Dinamika pertumbuhan mikroalga

Pertumbuhan mikroalga terjadi dalam lima fase, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase pertumbuhan lambat, fase stasioner dan fase kematian.

1. Fase adaptasi

Fase ini merupakan fase awal dari pertumbuhan mikroalga, dimana ukuran sel meningkat tetapi kepadatan selnya belum bertambah. Pada fase ini mikroalga melakukan penyesuaian sistem metabolisme pertumbuhan dan penyesuaian medium untuk menyerap nutrisi didalamnya.

2. Fase ekponensial

Fase ini merupakan fase pertumbuhan cepat, dimana pembelahan sel atau reproduksi terjadi dengan laju yang amat cepat, sehingga pertumbuhan mikroalga mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan fase sebelumnya. Peningkatan bisa dilihat dari perubahan warna kultu menjadi lebih pekat dan kepadatan sel yang tinggi. Pada fase ini kondisi nutrisi, pH, CO₂, dan mikroalga sangat baik.

3. Fase pertumbuhan lambat

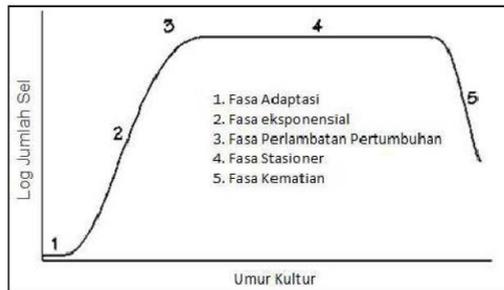
Fase ini merupakan fase dimana pertumbuhan mikroalga mengalami penurunan dikarenakan kualitas dari nutrisi, pH, CO₂ sedang berada dibawah batas normal, sehingga laju pertumbuhannya mulai menurun dibandingkan fase sebelumnya.

4. Fase stasioner

Pada fase ini sel sudah mengalami kematian, dimana jumlah sel yang bereproduksi seimbang dengan sel yang mengalami kematian, sehingga pertumbuhan mikroalga terlihat seakan tidak mengalami perubahan. Hal ini terjadi dikarenakan nutrisi yang sudah semakin berkurang. Ada pula faktor lain dari fase ini adalah penurunan intensitas cahaya yang diakibatkan oleh self-shading, yaitu ketika tingginya kepadatan sel menyebabkan penetrasi cahaya terhalang oleh bayangannya sendiri.

5. Fase kematian

Pada fase ini jumlah sel yang mengalami kematian lebih banyak dibandingkan sel yang bereproduksi. Hal ini disebabkan karena nutrisi yang semakin habis sehingga menyebabkan mikroalga berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi. Pada fase ini juga mikroalga lebih banyak menghasilkan metabolik sekunder daripada fase sebelumnya. (Barsanti dan Gualteri, 2006).



Gambar II.2 Pola pertumbuhan mikroalga

II.1.3. Faktor pertumbuhan Mikroalga

Tabel II.1 Faktor Pertumbuhan Mikroalga (*sumber: Lavens dan Sorgeloos, 1996*)

parameter	Rentang toleransi	Optimum (bergantung pada jenis mikroalga)
pH	7-9	8,2-8,7
Suhu (°C)	16-27	1-24
Salinitas (g/L)	12-40	20-24
Intensitas sinar	1.000-10.000 lux (bergantung kepadatan sel)	2.500-5.000 lux
Fotoperiode (gelap:terang, jam)	-	8:16 (minimum) 24:0 (maksimum)

Dalam mengultivasi mikroalga, keberhasilannya sangat dipengaruhi oleh beberapa parameter kondisi fisika-kimia yang memadai antara lain :

- a. **Pencahayaan**, cahaya merupakan sumber energi untuk menjalankan reaksi fotosintesis, asimilasi karbon anorganik menjadi materi organik. Pengaturan intensitas dan fotoperiode merupakan hal yang penting dalam kultivasi mikroalga (Coutteau, 2007).
- b. **pH**, perbedaan pH dapat mempengaruhi pertumbuhan alga, karena ia dapat mengubah distribusi karbondioksida, materi organik hasil fotosintesis, serta logam dan nutrisi penting.

Bahkan pada kondisi ekstrim, pH dapat menyebabkan efek psikologis pada pertumbuhan alga dan mengganggu berbagai proses seluler (Coutteau, 2007).

- c. **Suhu**, suhu yang diperlukan dalam kultur alga berkisar antara 18-24°C bergantung pada komposisi medium serta jenis dan galur dari alga (Coutteau, 2007). Suhu lebih rendah dari rentang tersebut akan memperlambat pertumbuhan, sementara jika suhu lebih tinggi dapat menyebabkan kematian alga.

- d. **Salinitas**, mikroorganisme laut umumnya sangat toleran terhadap perubahan salinitas, sebagian besar spesies justru memiliki pertumbuhan optimum pada salinitas yang sedikit lebih rendah dari habitat asli mereka. Kenaikan salinitas umumnya dapat meningkatkan kadar lipid, namun tidak mempengaruhi kadar karotenoid (Cifuentes dkk., 2001).

- e. **Nutrisi**, unsur penting yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroalga adalah nitrogen, fosfor, silikat, dan mikronutrien seperti besi, biotin, vitamin B₁, dan vitamin B₁₂ (Coutteau, 2007). Nitrogen merupakan unsur esensial penyusun seluruh protein struktural dan fungsional dalam sel mikroalga (Stryer dkk., 2002). Fosfor merupakan makronutrien lain yang berperan dalam proses metabolisme sel dengan membentuk komponen struktural dan fungsional

untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroalga (Richmond, 2004).

Sementara itu, silikat secara spesifik digunakan dalam pertumbuhan mikroalga diatom untuk memproduksi kerangka luar. Diantara mineral esensial, besi memiliki peranan penting dalam komposisi biokimia seluler karena sifat redoks dan implikasinya dalam proses fundamental, seperti fotosintesis, respirasi, fiksasi nitrogen, serta sintesis DNA (Richmond, 2004).

f. **Aerasi/pencampuran**, dilakukan untuk mencegah sedimentasi alga dan memastikan seluruh sel dalam kultur mendapatkan jumlah cahaya dan nutrisi yang sama. Hal ini dilakukan untuk mencegah stratifikasi termal dan meningkatkan pertukaran gas antara medium kultur dan udara (Coutteau, 2007). Mikroalga memiliki rentang nilai toleransi bagi tiap parameter untuk tetap bertahan hidup,

II.2. *Porphyridium cruentum*

a. Taksonomi *Porphyridium cruentum*

Tabel II.2. Taksonomi *Porphyridium cruentum*

Kerajaan	Eukariot
Divisi	Plantae
Subdivisi	Biliphyta
Filum	Rhodophyta
Subfilum	Rhodellophytina
Kelas	Porphyridiophyceae
Bangsa	Porphyridiales
Keluarga	Porphyridiaceae
Marga	<i>Porphyridium</i>
Spesies	<i>Porphyridium cruentum</i>

(diakses dari www.algaebase.org pada 4 November 2018 pada pukul 14.54 WIB)

b. Karakteristik *Porphyridium cruentum*

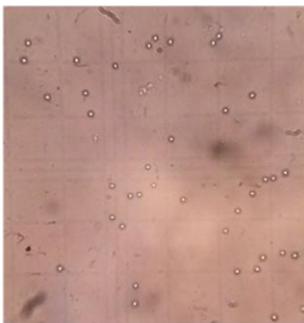
Sel mikroalga *P.cruentum* memiliki beberapa ciri sebagai berikut :

- Berbentuk bulat, diameter sel sekitar 5-16 μm
- Tidak memiliki dinding sel
- Biasanya hidup secara menyendiri(soliter) atau membentuk koloni yang tidak beraturan.

Pigmen fotosintesis yang dominan dari mikroalga ini adalah pikoeritin, yang merupakan salah satu jenis biliprotein, yang bertanggung jawab dalam menghasilkan warna merah yang khas pada kultur sel

P. cruentum, sehingga mikroalga ini termasuk kedalam jenis alga merah (Rhodophyta). Biliprotein merupakan golongan pigmen yang erikat pada kompleks protein sehingga pigmen ini memiliki sifat-sifat yang sama pada protein. Biliprotein larut dalam air laut dan hanya terdapat pada Cyanobacteria, Cryptophyta dan Rhodophyta.

Berdasarkan sifat penyerapannya, biliprotein dibagi menjadi tiga kelas, yaitu pikoeritin yang mampu menyerap pada panjang gelombang maksimumnya 495 nm dan 540-570 nm, pikosianin yang menyerap pada 610-620 nm, dan alopikosianin yang menyerap 650-655 nm (Rowan, 1989). Senyawa biliprotein umumnya diaplikasikan sebagai penanda flouresens dan sebagai pewarna alami pada makanan dan kosmetika untuk menggantikan pewarna sintetik yang berbahaya (Bermejo, dkk., 2001).



Gambar II.3. Struktur *Porphyridium cruentum* dibawah mikroskop
Perbesaran 40x, berupa sel soliter

II.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas tersebut dapat terhambat. Antioksidan juga dapat diartikan sebagai bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi pada substrat atau bahan yang dapat teroksidasi. Senyawa ini memiliki berat molekul yang kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal.

Berkaitan dengan reaksinya di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara berlanjut dibentuk sendiri oleh tubuh. Jika jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihanannya akan menyerang komponen lipid, protein maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut dengan *stress* oksidatif (Winarsi, 2007).

II.3.1 Mekanisme Kerja Antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok yaitu :

a. Antioksidan primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutation peroksida (GSH-Px). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hydrogen secara tepat kepada senyawa radikal,

kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.

b. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, karoten, Flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin. Antioksidan sekunder ini disebut juga antioksidan eksogenus atau non enzimatis.

Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap radikal bebas, kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier meliputi system enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, betakaroten, katekin, dan resveratrol.

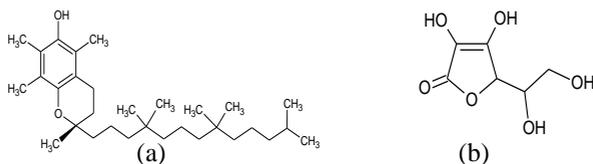
II.3.2 Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintesis dan antioksidan alami.

a. Antioksidan alami

Antioksidan ini diperoleh dari hasil ekstrak bahan alami. Kebanyakan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami berasal dari tumbuhan. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, yaitu pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari.

Bahan-bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, yaitu rempah-rempah, dedaunan, teh, kakao, biji-bijian, sereal, buah-buahan, sayur-sayuran dan tumbuhan (mikroalga laut). Contoh dari antioksidan alami adalah β -karoten, asam askorbat dan α -tokoferol (Pratt & Hudson, 1990).



Gambar II.4 Struktur (a) α -tokoferol dan (b) Asam Askorbat

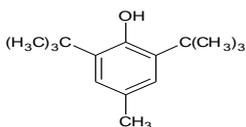
Struktur digambar menggunakan aplikasi Chemsketch

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik. Senyawa antioksidan alami polifenolik adalah multifungsional dan dapat bereaksi sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam dan (d) peredam terbentuknya singlet oksigen.

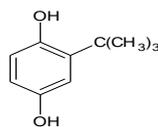
Senyawa fenolik mencakup sejumlah senyawa yang umumnya mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH), karboksil (COOH), metolenil (-O-CH₃) dan sering juga struktur cincin bukan aromatik. Senyawa fenol cenderung larut dalam air, karena paling sering terdapat dalam bentuk senyawa glukosida dan biasanya terdapat dalam rongga sel (Pratt & Hudson, 1990).

b. Antioksidan Sintesis

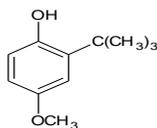
Antioksidan sintesis merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Diantara beberapa contoh antioksidan sintesis yang diijinkan untuk makanan, ada empat antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu BHA, BHT, TBHQ dan propil galat. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial (Trilaksani, 2003).



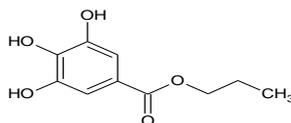
(a)



(b)



(c)



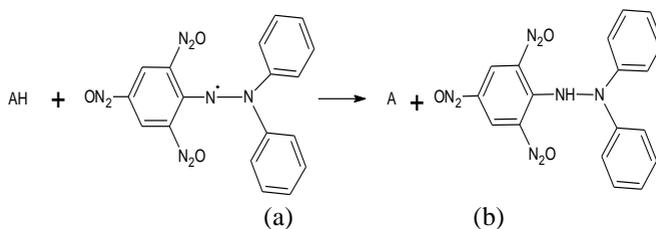
(d)

Gambar II.5 Struktur antioksidan sintesis, (a) BHT, (b) TBHQ, (c) BHA dan (d) Propil Galat

II.3.3 Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH

Metode DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak ataupun dalam air. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel.

Senyawa ini mempunyai ciri-ciri padatnya berwarna ungu kehitaman, larut dalam pelarut DMF (dimetilformamida) atau metanol, titik didih 127-129°C, panjang gelombang maksimal sebesar 517 nm, berat molekul 394,3 g/mol dan rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$ (Prakash dkk., 2001). Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen dan pH, tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga memungkinkan untuk dilakukan pengukuran antioksidan (Molyneux, 2003).



Gambar II.6. Struktur DPPH: (a) bentuk radikal dan (b) bentuk tereduksi

Suatu zat dapat dikatakan mempunyai sifat antioksidan yang sangat kuat bila nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Bila nilai IC_{50} adalah rentang 50-100 $\mu\text{g/mL}$ maka zat tersebut dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan sedang jika nilai IC_{50} adalah rentang 100-150 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan aktivitas antioksidan dikatakan lemah apabila nilai IC_{50} lebih dari 150 $\mu\text{g/mL}$ (Blois,1958).