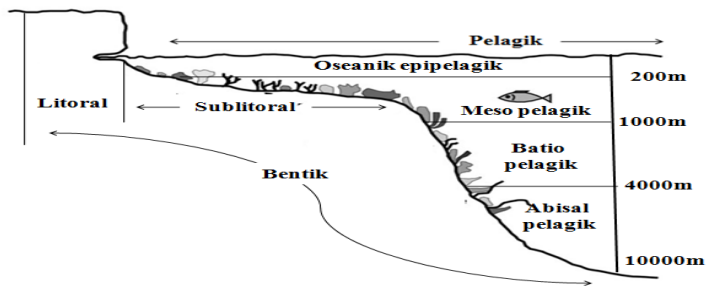


BAB II Tinjauan Pustaka

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 didaratan. 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 didaratan. 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 *Bacillariopiceae* (diatom), *Chysophyceae* (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 (*bacillariophyceae*). 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 (*bacillariophyceae*) 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 kultur menjadi lebih pekat dan kepadatan sel yang tinggi. Pada fase ini kondisi nutrisi, pH, CO₂, dan mikroalga sangat baik.

3. Fase pertumbuhan lambat

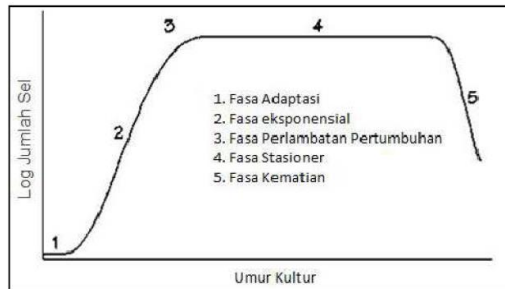
Fase ini merupakan fase dimana pertumbuhan mikroalga mengalami penurunan dikarenakan kualitas dari nutrisi, pH, CO₂ sedang berada dibawah batas normal, sehingga laju pertumbuhannya mulai menurun dibandingkan fase sebelumnya.

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 statifikasi 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*

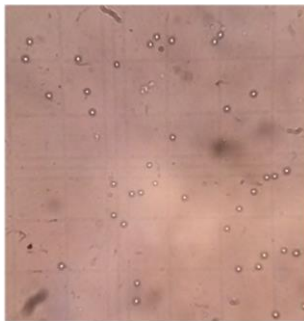
Sel mikroalga *P.cruentum* memiliki beberapa ciri sebagai berikut :

- 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 penyerapanya, 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 sintetis 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, kelebihannya 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 glutathion 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.

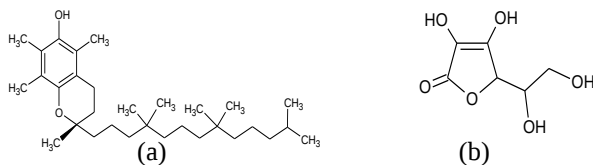
II.3.2 Sumber Antioksidan

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

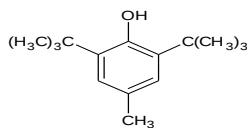
Struktur digambar menggunakan aplikasi Chemsketch

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.

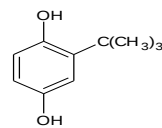
Senyawa fenolik mencakup sejumlah senyawa yang umumnya mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH), karboksil (COOH), metilenil (-O-CH₃) dan sering juga struktur cincin bukan aromatik. Senyawa fenol cenderung larut dalam air, karena paling sering terdapat dalam bentuk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

b. Antioksidan Sintesis

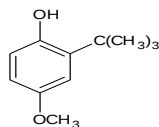
Antioksidan sintesis merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Diantara beberapa contoh antioksidan sintesis yang diijinkan untuk makanan, ada empat antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu BHA, BHT, TBHQ dan propil galat. Antioksidan tersebut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



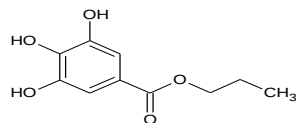
(a)



(b)



(c)



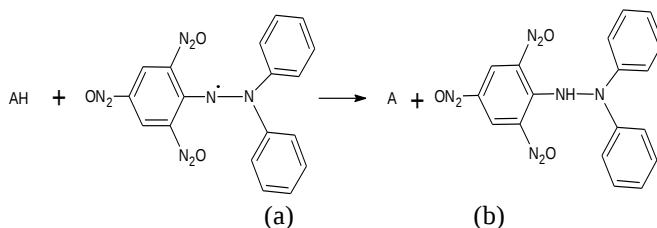
(d)

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).