**AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS**

**SENYAWA β-KAROTEN PADA ALGA MERAH**

 ***RADICAL SCAVENGING ACTIVITY β-CAROTENE COMPOUNDS IN RED ALGAE***

**Anindita Tri Kusuma Pratita1, Denis Pajriati1, Gatut Ari Wardani1, Mochamad Fathurohman1\***

1 Departemen Kimia Farmasi, Program Studi S1 Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada

Jl. Cilolohan No 36 Kota Tasikmalaya 46115

E-mail korespondensi: mochamadfathurr@gmail.com

***ABSTRACT***

Red microalgae contain phenolic compounds, carotenoids, phycobiliproteins, and chlorophyll which can donate hydrogen atoms to free radicals. The red colour in algae is produced by carotenoid pigments, one of which is *β*-carotene. This study aimed to determine the free radical activity of *β*-carotene compounds contained in red microalgae. *β*-carotene was extracted by maceration, then qualitative analysis was carried out using TLC and FTIR, and the anti-free radical activity was tested using DPPH. TLC results showed that *β*-carotene compounds eluted using acetone and ethyl acetate (3:7) had an Rf value of 0.8 and on FTIR showed that *β*-carotene compounds had hydroxyl, carbonyl, alkane, alcohol, and aromatic groups. The free antiradikal activity of *β*-carotene compounds has an IC50 value of 267.375 ppm, which is categorized as weak.

**Keywords: Red microalgae, antiradikal activity, β-carotene**

*Diterima: dd bulan yyyy Direview: dd bulan yyyy Diterbitkan: dd bulan yyyy*

**ABSTRAK**

Mikroalga merah diketahui mengandung senyawa fenolat, karotenoid, fikobiliprotein, dan klorofil yang mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas. Warna merah pada alga dihasilkan oleh pigmen karotenoid dengan salah satu turunannya adalah β-karoten. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antiradikal bebas dari senyawa β-karoten yang terkandung dalam mikroalga merah. β-karoten diekstrasksi dengan cara maserasi kemudian dilakukan analisis kualitatif dengan menggunakan KLT dan FTIR, pengujian aktivitas antiradikal bebas dilakukan dengan pengujian dengan menggunakan DPPH. Hasil KLT menunjukan senyawa β-karoten yang dielusi dengan menggunakan pelarut aseton dan etil asetat (3:7) memiliki nilai Rf 0,8 dan pada FTIR menunjukkan senyawa β-karoten memiliki gugus hidroksil, karbonil, alkana, alkohol, dan aromatik. Aktivitas antiradikal bebas pada senyawa β-karoten memiliki nilai IC50 sebesar 267,375 ppm yang dikategorikan lemah.

**Kata kunci: Mikroalga merah, aktivitas antiradikal, β-karoten**

**PENDAHULUAN / *INTRODUCING***

Indonesia memiliki wilayah perairan laut yang sangat luas dan ditunjang oleh iklim tropis yang menjadikan perairan Indonesia sangat kaya akan sumber daya lautnya. Didalam perairan laut tersebut terkenal dengan berbagai ragam warna-warni yang sangat indah. Warna yang indah tersebut disebabkan oleh adanya pigmen yang terkandung dalam mikroorganisme. Salah satu pigmen sumber daya laut yang sering dimanfaatkan yaitu mikoalga (Balaira *et al*., 2017). Mikroalga merupakan suatu mikroorganisme yang hidup diperairan yang dapat melakukan fotosintesis untuk menghasilkan zat-zat organik yang memiliki sel satu dan pertumbuhannya secara autotrof, menggunakan CO2 sebagai sumber karbon, dan cahaya sebagai fotosintesis (Imelda *et al*., 2018; Oktora *et al*., 2016). Mikroalga mempunyai banyak potensi yang dapat dikembangkan sebagai sumber pangan dan pakan yang telah dimanfaatkan sebagai bahan untuk keperluan dibidang industri farmasi, perikanan, bahan makanan dan berbagai macam kandungan lainnya (Imelda *et al*., 2018).

Mikroalga yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan menggunakan metode DPPH dari senyawa fenol dengan kategori lemah sebesar 362 ppm yaitu mikroalga *Porphyridium cruentum* (Juliana *et al*., 2020)*.* *Porphyridium cruentum* merupakan mikroalga merah (*Rhodophyta*) yang berasal dari *phychoerythrin* dan karotenoid salah satunya β-karoten. Berdasarkan penelitian (Fuentes *et al*., 2000) melaporkan bahwa mikroalga *Porphyridium cruentum* mengandung senyawa β-karoten sekitar 102 mg/100 gram bobot kering biomassa. mikroalga berpotensi sebagai antioksidan alami yang kuat, karena mikroalga tersebut mengandung senyawa fenolat, karotenoid, fikobiliprotein, dan klorofil yang mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas (Ridlo *et al*., 2015).

Karotenoid merupakan suatu kelompok pigmen dan antioksidan alami yang dapat memperedam radikal bebas yang menghasilkan warna kuning, orange, dan merah pada tanaman. Kelompok pigmen ini ditemukan pada berbagai tumbuhan tingkat tinggi seperti alga, jamur, bakteri, pada fotosintesis bersama klorofil, dan jaringan non-fotosintesis. Beberapa jenis karotenoid yang dipelajari secara luas, salah satunya yaitu β-karoten. Β-karoten merupakan suatu pigmen organik berwarna orange, kuning, atau merah orange yang dapat terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, berganggang dan beberapa jenis jamur serta bakteri. Fungsi dari β-karoten yaitu sebagai detoksifikasi tubuh dari racun. (Kusbandari, 2017). Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa β-karoten yang terkandung dalam mikroalga *Porphyridium cruentum* dan mengetahui kemampuan aktivitas antiradikalnya dengan metode DPPH (2,2-*dipheny*l-1-*picrylhidrazyl*).

**METODE PENELITIAN / *METHOD***

**Ekstraksi Β-karoten**

Ekstraksi β-karoten menggunakan metode maserasi. Biomassa basah yang sudah ditimbang ditambahkan aseton p.a sampai terendam. Proses maserasi tersebut dilakukan selama 3 jam sampai terjadi perubahan warna pelarut (Hapsari et al., 2012).

**Pengujian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Ekstrak β-karoten dimonitoring dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengidentifikasi β-karoten pada sampel. Plat di inaktivasi terlebih dahulu dengan oven pada suhu 1050C selama 30 menit. Jenuhkan chamber dengan pelarut sampai jenuh. Fase diam yang digunakan adalah plat aluminium silica gel 60 F254. Fase gerak menggunakan campuran aseton p.a : etil asetat p.a (3:7) lalu ekstrak ditotolkan pada plat menggunakan pipa kapiler. plat disinari dengan lampu UV 254 dan 366 nm dan disemprot dengan penampak bercak Lieberman burchad untuk melihat noda dan tentukan nilai Rf-nya (Bonilla-ahumada *et al*., 2018).

**Analisis gugus fungsi menggunakan FTIR**

Isolat di identifikasi menggunakan FTIR untuk melihat gugus fungsi yang terkandung dalam β-karoten. Analisis ini menggunakan blanko udara dan sampel sebanyak 1 gram. Kemudian blanko dan sampel diletakkan pada cyristal secara bergantian. Lalu diukur dengan serapan sinar infra merah pada panjang gelombang 4000-400 cm-1 sehingga diperoleh gelombang sampel (Rusmawanto *et al*., 2019).

**Pengujian Aktivitas Antiradikal Bebas**

Metode DPPH dilakukan untuk mengukur suatu aktivitas antiradikal bebas yang dianalisis dengan bantuan instrumen spektrofotometri UV-Vis. DPPH direduksi oleh antiradikal bebas dan absorbansi maksimumnya ada di panjang gelombang maksimum 516 nm. Penetapan IC50 dari sampel dan vitamin C sebagai pembanding sampel standar.

**HASIL DAN PEMBAHASAN / *RESULTS AND DISCUSSION***

**Ekstraksi senyawa β-karoten**

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, ekstraksi ini dipilih karena senyawa β-karoten tidak tahan terhadap panas. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai serta senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan (Chairunnisa *et al*., 2019). Senyawa β-karoten ini merupakan senyawa kimia yang memiliki sifat lipofilik artinya tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik seperti aseton yang mempunyai konstanta dielektrik 21, kloroform, dan n-heksan. Β-karoten memiliki sifat kimia mudah rusak. Hal ini dipengaruhi oleh struktur rantai kimia β-karoten yang tidak stabil pada suhu 600C (Oktora *et al*., 2016).

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini yaitu pelarut aseton p.a. Setelah penelusuran pustaka, β-karoten larut dalam pelarut aseton yang memiliki konstanta dielektrik 21 lebih besar dari pada kloroform dan n-heksan, sehingga untuk menarik senyawa β-karoten lebih besar. Salah satu ciri dari pelarut aseton adalah mudah menguap (*volatil*), mudah terbakar dan tidak berwarna (bening). Senyawa ini juga memiliki bau seperti daun mint dan memiliki rasa pedas. Sifat kepolaran yang dimiliki oleh aseton menyebabkan aseton dapat digunakan sebagai pelarut senyawa polar dan non polar (Noviantari *et al*., 2017). Sehingga pelarut aseton dapat menarik senyawa β-karoten yang bersifat nonpolar. Dalam penelitian ini metode maserasi dilakukan selama 3 jam dengan menggunakan pelarut aseton p.a sampai terendam, diperoleh ektrak berwarna hijau. Setelah dilakukannya proses ekstraksi, kemudian diperoleh randemen ekstrak. Randemen ekstrak ini berfungsi untuk mengetahui efektivitas dari pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi senyawa β-karoten. Nilai randemen ekstrak β-karoten yang didapatkan yaitu sebanyak 66% (b/b),

**Nilai Rf Ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Ekstrak dilakukan pemantauan dengan KLT yang bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa β-karoten pada mikroalga *Porphyridium cruentum*. Hasil pemantauan KLT ekstrak dapat dilihat pada gambar 4.1.



Rf= 0,8

**Gambar 1** Hasil Pemantauan Ekstrak Menggunakan KLT

Keterangan: A. Sinar tampak, B. sinar UV 254 nm, C. sinar UV 366 nm, D. disemprot penampak bercak Lieberman burchad

Ekstrak β-karoten dari mikroalga *Porphyridium cruentum* di uji kualitatif menggunakan KLT. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF254 dan fase gerak yang digunakan yaitu aseton p.a dan etil asetat p.a (3:7). Pemantauan ekstrak dengan beberapa kali percobaan eluen, berdasarkan konstanta dielektrik hasil elusi terbaik diperoleh pada eluen aseton dan etil asetat (3:7) dengan konstanta dielektrik 21 dan 6,32. Berdasarkan pemantauan ekstrak dengan metode KLT dapat dilihat terdapat spot berwarna kuning pada sinar tampak dan pada sinar UV 366 warna merah, kemudian disemprot dengan Lieberman burchad menandakan warna kuning yang jelas dengan Rf0,8 yang diduga merupakan senyawa β-karoten (Maryam & Musthainah, 2020). Berdasarkan penelitian Aryandani, (2010) senyawa β-karoten dari mikroalga *Chaetoceros gracilis* menghasilkan nilai Rf 0,8.

**Gugus Fungsi Senyawa Β-karoten Menggunakan FTIR**



**Gambar 2.** Spektrum Inframerah Senyawa Β-karoten

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum inframerah dari senyawa β-karoten menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi pada puncak kisaran 4000-600 cm-1. Jika diamati dari bilangan gelombang serapan yang diperoleh, sampel β-karoten hampir mirip dengan standar β-karoten. Pada bilangan gelombang standar dan sampel β-karoten berada pada pucak kisaran 3404 dan 3379 cm-1 menunjukkan adanya uluran O-H dari gugus hidroksil. Bilangan gelombang pada pucak kisaran 1707 dan 1699 cm-1 menunjukkan adanya vibrasi uluran C=O dari dari gugus karbonil. Pada bilangan gelombang 1222 dan 1233 cm-1 menunjukkan adanya vibrasi uluran C-O dari alkohol sekunder. Pucak pada kisaran 1420 cm-1 dan 1422 cm-1 berada pada daerah *fingerprint* yang menunjukkan adanya ikatan C-H dari alkana yang merupakan ciri khas dari β-karoten. Hal ini tidak sesuai dengan serapan khas yang ada pada kisaran 1429 cm-1. Hal ini disebut dengan batokromik yang merupakan adanya pergesaran pada bilangan gelombang kearah yang lebih tinggi (Loukopoulos *et al*., 2021). Bilangan gelombang 1361 dan 1365 cm-1 menunjukkan adanya uluran C-H asimetris dari aromatik CH3. Berdasarkan penelitian Rusmawanto *et al*., (2019) pada senyawa β-karoten dari mikroalga *Dunaliella salina* berada pada puncak kisaran 1059 cm-1 yang menunjukkan adanya ikatan C-O dari alkohol dan asam karboksilat.

**Aktivitas Antiradikal Bebas**

Pengujian aktivitas antiradikal bebas dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-*difenil*-1-*pikrihidrazil*) dengan instrumen spektrofotometri UV-Vis. Salah satu cara untuk menguji aktivitas suatu senyawa sebagai zat antiradikal bebas adalah mereaksikannya dengan DPPH secara spektrofotometri. Reaksi antiradikal bebas dengan DPPH yaitu adanya atom hidrogen dari senyawa antiradikal bebas yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*dipenylpicrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*dipenylpicrylhidrazine*). Hal ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radikal bebas tereduksi oleh adanya antiradikal bebas) (Molyneux, 2004). Mekanisme β-karoten sebagai antiradikal bebas yaitu dengan melakukan perlindungan membran sel serta menjaga integritas membran sel dengan radikal bebas, oleh karena itu peroksidasi lipid pada membran sel dapat dicegah (Yuhernita & Juniarti, 2012). DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode ini dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Hal pertama yang dilakukan untuk pengujian aktivitas antiradikal bebas yaitu membuat larutan DPPH, sampel β-karoten, dan vitamin C. Sebelum pengujian terhadap sampel terlebih dahulu mencari panjang gelombang maksimum dari DPPH dan sampel. Tujuan dari pengukuran panjang gelombang maksimum adalah untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa DPPH dan sampel yang dapat memberikan serapan maksimum.

Berdasarkan hasil pengujian panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 516 nm dapat dilihat pada gambar 4.3. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Juliana *et al*., (2020) dimana panjang gelombang maksimum DPPH yang diperoleh yaitu 516 nm. Penentuan *operating time* perlu dilakukan untuk memperoleh waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan aborbansi. Waktu operasional yang diperoleh yaitu selang 2 menit selama 30 menit dapat dilihat pada gambar 4.4. Hal ini sesuai dengan penelitian Kusbandari, (2017) bahwa *operating time* selama 30 menit merupakan pengukuran inkubasi yang paling stabil.

Berdasarkan hasil pengujian, panjang gelombang maksimum senyawa β-karoten yang diperoleh yaitu 417 nm dapat dilihat pada gambar 4.5. Menurut penelitian Novianti, (2019) senyawa β-karoten dari mikroalga *Chlorella Vulgaris* diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 430 nm.

Berdasarkan hasil pengujian antiradikal bebas nilai absorbansi yang diperoleh dihitung nilai presentase penghambatan nilai DPPH (%inhibisi). Konsentrasi berbanding lurus dengan persen inhibisi, semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi persen inhibisinya. Konsentrasi bertolak belakang dengan absorbansi, semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil nilai absorbansinya. Kemudian diperoleh persamaan regresi linier dengan konsentrasi sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y. Nilai IC50 dapat dihitung dari persamaan regresi linier. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai IC50 dari ekstrak β-karoten yaitu 267,375 ppm. Sedangkan hasil pengujian dari vitamin C memiliki aktivitas antiradikal bebas dengan nilai IC50 sebesar 2,200 ppm. Berdasarkan hasil tersebut sampel β-karoten dikatakan lemah karena berada pada rentang >150 ppm. Berdasarkan penelitian Agustina *et al*., (2018) aktivitas antiradikal bebas senyawa β-karoten dari mikroalga *Spirulina sp* menggunakan metode DPPH menghasilkan nilai IC50 sebesar 70,271 ppm dengan kategori kuat. Berdasarkan penelitian Wayan & Agustini, (2017) aktivitas antiradikal bebas senyawa eksopolisakarida dari mikroalga *Porphyridium cruentum*  menggunakan metode DPPH menghasilkan nilai IC50 sebesar 150,586 ppm dengan kategori lemah.

**KESIMPULAN DAN SARAN / *CONCLUSION***

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat diambil kesimpulan yaitu berdasarkan uji kualitatif menggunakan KLT dan FTIR, mikroalga *Porphyridium cruentum* mengandung senyawa β-karoten dengan aktivitas antiradikal bebas sebesar IC50 267,375 ppm yang dikategorikan lemah.

**DAFTAR PUSTAKA / *REFERENCE***

Agustina, S., Aidha, N. N., & Oktarina, E. (2018). Ekstraksi Antioksidan *Spirulina Sp.* Dengan Menggunakan Metode Ultrasonikasi Dan Aplikasinya Untuk Krim Kosmetik. *Jurnal Kimia dan Kemasan.* 40(2), 105–116.

Balaira, G. Y., Kemer, K., & Mantiri, D. M. H. (2017). Pemisahan Pigmen Pada Mikroalga *Dunaliella Salina*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. *1*, 41–49.

Bonilla-Ahumada, F. D. J., Khandual, S., & Lugo-Cervantes, E. C. (2018). Microencapsulation Of Algal Biomass ( *Tetraselmis Chuii* ) By Spray-Drying Using Di Ff Erent Encapsulation Materials For Better Preservation Of Beta- Carotene And Antioxidant Compounds. *Algal Research*, *36*(April), 229–238. https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.10.006

Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana* L.) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, *7*(4), 551–560. https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07.

Fuentes, M. M. R., Fernandes, A. G. G., Perez, S. J. ., & Guerrero, J. L. G. (2000). Biomass Nutrient Profiles Of The Microalga *Porphyridium Cruentum*. *70*, 345–353.

Hapsari, D. T., Agustini, T. W., & Cahyono, B. (2012). Analisis Kimia Dan Fisik Komponen Β-karoten Dalam Mikroalga *Porphyrodium Cruentum*. In *Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*.

Imelda, S., Claudia, C., Lambui, O., & Suwastika, I. N. (2018). Kultivasi Mikroalga Isolat Lokal Pada Medium Ekstrak Tauge. Natural Science: *Journal of Science and Technology*. 7(2), 148–157.

Juliana, V., Budiana, W., Farmasi, F., & Bhakti, U. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Mikroalga *Porphyridium Cruentum* Menggunakan Metode Peredam Radikal Bebas DPPH. *Journal of Pharmacopolium*. 3(3), 157–165*.*

Kusbandari, A. H. S. (2017). Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap DPPH (1,1-Difenil 2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah *(Cucumis Melo* Var. *Cantalupensis* L) Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas.* 14(1), 37–42.

Loukopoulos, P., Kapama, D., Valasi, L., Pappas, C., Bethanis, K., Tzamalis, P., & Mandala, I. (2021). Thermal And Structural Study Of Drying Method Effect In High Amylose Starch- Beta-Carotene Nanoparticles Prepared With Cold Gelatinization. *Carbohydrate Polymer Technologies And Applications*, *2*(February), 10092. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100092.

Molyneux, P. (2004). The Use F Stable Free Radical Diphenylpivryl-Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*

Noviantari, N. P., Suhendra, L., & Wartini, N. M. (2017). Pengaruh Ukuran Partikel Bubuk Dan Konsentrasi Pelarut Aseton Terhadap Karakteristik Ekstrak Warna *Sargassum Polycystum*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri.* 5(3), 102–112.

Novianti, T. (2019). Kandungan Β-karoten Dari Mikroalga *Chlorella Vulgaris* Yang Dikultur Dengan Perlakuan Sumber Cahaya Dan Kepadatan Awal Inokulum (Kai) Yang Berbeda. *Jurnal Biologi And Pendidikan Biologi*, 4(1), 46–61.

Oktora, A. R., Ruf, W. F. M. ’, & Agustini, T. W. (2016). Pengaruh Penggunaan Senyawa Fiksator Terhadap Stabilitas Ekstrak Kasar Pigmen Β-Karoten Mikroalga *Dunaliella Salina* Pada Kondisi Suhu Berbeda. *JPHPI*, *19*(3). https://doi.org/10.17844/jphpi.2016.19.3.206.

Ridlo, A., Sedjati, S., & Supriyantini, E. (2015). Aktivitas Anti Oksidan Fikosianin Dari *Spirulina Sp .* Menggunakan Metode Transfer Elektron Dengan DPPH *(1 ,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)*. *Jurnal Kelautan Tropis September*. 18(September), 58–63.

Rusmawanto, Prajitno, A., & Yuniarti, A. (2019). Minimum Inhibitory Concentration Of Marine Microalgae *Dunaliella Salina* On Fish Pathogenic Bacteria Edwardsiella Tarda. *Research Journal of Life Science*. 6(2), 72–82.

Wayan, N., & Agustini, S. (2017). Potensi Endo-Exopolysaccharide Dari *Porphyridium Cruentum* (SF GRAY) Nageli Sebagai Antioksidan (Dpph) Dan Toksisitas Biologis (BSLT). 147–156. https://doi.org/10.18502/kls.v3i4.699.

Yuhernita, & Juniarti. (2012). Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara, Sains*, *15*(1), 48–52.