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

Vina Juliana, Wempi Budiana, Aghni Khaeratul Zannah Y
Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana
Jl. Soekarno-Hatta No. 754, 40614, Bandung, Indonesia
Email: vina.juliana@bku.ac.id

Received: 19 Nov 2020; Revised: 2 Desember 2020; Accepted: 19 Nov 2020; Available online: 31 Des 2020

ABSTRACT

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 wala 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-picrylhydrazil). 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. *Porphyridium cruentum* extract monitoring using TLC shows it contains phenolic and flavonoid compound.

Keywords: antioxidant, DPPH, gradual extraction, *Porphyridium cruentum*.

ABSTRAK

Porphyridium cruentum merupakan salah satu mikroalga yang dapat beraktivitas sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komponen fitokimia dari ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* yang ditumbuhkan di medium walne dan mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana dari mikroalga *Porphyridium 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 *Porphyridium cruentum* mengandung senyawa fenolik dan flavonoid.

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

PENDAHULUAN

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 sintetis 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).

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 IC₅₀. Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dari biomassa *Porphyridium cruentum* yang ditumbuhkan pada medium walne.

METODE PENELITIAN

Alat

Botol kaca kapasitas 1 liter, gelas ukur 100ml dan 500ml, tip, pipet tetes, mikro pipet 100 – 1000 μ l, bunsen, labu ukur 10;25;50 dan 100mL, aluminium foil, kain kassa, benang jagung, kertas saring bebas abu, batang pengaduk, beaker glass, bakteri filter 0,45 μ , pipa L, aerator, lampu phillips,udukan lampu, timer, alat rotary evaporator, alat sentrifuga, freeze dry, mikroskop, spektrofotometer uv-vis, kuvet, laminar air flow, vortex, vial, chamber, autoklaf, timbangan analitik, counter chamber haemocytometer, plat KLT, kertas saring bebas abu.

Bahan

Mikroalga *Porphyridium cruentum* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Oseanografi koleksi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Ancol. Air laut buatan dengan menggunakan garam korosok, aquades, etanol p.a, plat KLT, medium walne, silikat, vitamin neurobion (kandungannya vitamin B1 (tiamin), vitamin B6 (piridoksin), dan vitamin B12 (sianokobalamin)), alkohol 70 %, etil asetat, n-heksan, kapas lemak, kertas saring, membran selulosa 0,2 μ m, methano p.a, pasir laut. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu asam askorbat sebagai antioksidan pembanding, ekstrak dari mikroalga *Porphyridium cruentum* dan radikal bebas DPPH.

Sterilisasi Bahan dan Alat

Air laut untuk media pertumbuhan disaring dengan menggunakan kertas saring Kemudian diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Medium wane disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Medium didinginkan terlebih dahulu sebelum digunakan. Medium dapat disimpan dilemari pendingin pada suhu 40C bila sedang tidak digunakan. Vitamin pada medium Walne disterilisasi dengan menggunakan membran, sedangkan untuk peralatan yang tidak tahan panas dilakukan sterilisasi dengan menggunakan larutan alkohol 70% secara merata (Andersen, 2005).

Pengumpulan Sample

Sample yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari mikroalga *Porphyridium cruentum* . mikroalga ini yang nantinya akan dikultivasi, yang kemudian di ekstraksi, hasil ekstraksi lalu di uji secara fitokimia dan di uji aktivitasnya. *Porphyridium cruentum* ini didapatkan dari LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Oseanografi Jakarta, yang kemudian dikembangkan kembali untuk mendapatkan biomassa dari mikroalga tersebut.

Kultivasi

Kultur mikroalga *Porphyridium cruentum* terlebih dahulu diaktivasi di dalam medium Walne {larutan nutrisi 0,1% (v/v), larutan silikat 0,2% (v/v), dan vitamin 0,01% (v/v)} dengan volume total kultur 900 mL, dan inokulum kultur mikroalga 10% (v/v) dari volume total kultur. Kondisi aktivasi dilakukan pada salinitas medium air laut 25 part per trillion (ppt), aerasi selama 24 jam, suhu ruang, fotoperiode 12:12 (gelap:terang), dan intensitas cahaya 16.000 lux. Proses aktivasi di dalam medium Walne dilakukan selama 2-3 hari (Brataningtyas, 2011). Selanjutnya dilakukan kultivasi menggunakan didalam medium Walne. Sebelum dikultivasi dilakukan perhitungan jumlah sel mikroalga menggunakan alat mikroskop cahaya dan dilengkapi *haemocytometer*, perbesaran yang digunakan 40×. Jumlah sel yang digunakan untuk kultivasi adalah 500.000 sel.

Pemanenan

Pemanenan *Porphyridium cruentum* dilakukan dengan cara sentrifugasi, karena sel *Porphyridium cruentum* berukuran kecil (4-9 µM) (Lee, 2008;Red, Cells, dkk., 2017) Pemanenan mikroalga P. cruentum dilakukan dengan menggunakan alat sentrifuga pada kecepatan 5000-6000 selama 20- 30 menit. Supernatan kemudian dipisahkan dan endapan (biomassa basah) dikumpulkan dan ditimbang menggunakan neraca analitis. Kerapatan biomassa kemudian dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut.

Karakteristik Simplisia

Karakterisasi simplisia meliputi : penetapan kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan susut pengeringan.

Ekstraksi

Ekstraksi yang dilakukan pada biomassa kering Mikroalga *Porphyridium cruentum* menggunakan metode maserasi dengan cara ekstraksi bertingkat menggunakan tiga pelarut yang berbeda kepolaran yaitu n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Pertama ditimbang biomassa kering sebanyak 20 gram kemudian diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana sebanyak 100 ml (1:5) didalam botol scott deren untuk disonikasi selama 2 jam dan tiap 15 menit (diamkan 1-2 menit) selanjutnya dishaker selama 24 jam. Pergantian pelarut dilakukan 3x24 jam. kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental.

Pemantauan ekstrak

Biomassa dipantau menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel F254 dan fase gerak n-heksan – etil asetat – etanol (8:1,5:0,5), etil asetat – n-heksan – etanol (7:2,5:0,5), BAW (4:5:1). Penampak bercak, H₂SO₄ 10%, AlCl₃ 5%, Sitroborat 10%, FeCl₃ 10%, Dragendorf. Diamati pada λ UV254 dan 365 nm.

Pengujian antioksidan

Larutan stok DPPH (1,1-difenil-2- picrylhidrazil) dan vitamin dibuat 100100 µg/mL dengan pelarut metanol. Kemudian dibuat seri konsentrasi dari masing-masing larutan stok. Penentuan panjang dilakukan pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Mengukur serapan Vitamin C

Dari larutan stok dibuat seri pengenceran 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 µg/mL. Yang kemudian dari tiap seri pengenceran diambil 2 mL masukkan ke dalam vial yang kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 60 µg/mL, kocok hingga homogen, lalu inkubasi selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH.

Pembuatan larutan uji.

Sampel ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana mikroalga *Porphyridium cruentum*, masing-masing ekstrak dilarutkan dengan metanol didalam beaker glass dan dimasukkan kedalam labu ukur. Tiap sampel diambil 2 mL dimasukkan kedalam vial lalu tambahkan 2 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 60 µg/mL, kocok hingga homogen, lalu inkubasi selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH. Dihitung persen penghambatan dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\%$$

Untuk menentukan IC₅₀, plotkan konsentrasi sampel dan persen inhibisi pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC₅₀ dari masing- masing sampel dinyatakan dengan nilai y = 50 dan nilai dari x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀.

Kriteria Penilaian Aktivitas Antioksidan (Molyneux, 2004)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultivasi

Sampel mikroalga laut *Porphyridium cruentum* yang didapatkan dari *Oseanografi* LIPI Ancol diaktivasi di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Aktivasi mikroalga dilakukan dalam medium walne, medium ini dipilih karena medium walne merupakan medium normal yang kaya akan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroalga. aktivasi ini dilakukan selama 3-4 hari, karena diperkirakan selama waktu 3-4 hari mikroalga dapat tumbuh dan beradaptasi dengan medium dan lingkungan barunya. Hal ini dapat dilihat dari pertambahan intensitas warna dan jumlah selnya.

Pemanenan

Pengumpulan Biomassa Mikroalga *Porphyridium cruentum* dilakukan dengan menggunakan teknik kultur *Batch*, teknik ini dilakukan hanya menginokulasi sel tunggal dengan periode pertumbuhan tertentu dan dipanen ketika kepadatan mikroalga mencapai maksimum. Sistem kultur *Batch* diterapkan karena sederhana dan fleksibel. (Barsanti dan Gualteri, 2006). Sel yang digunakan pada saat kultivasi sebanyak 500.000 sel/mL. Kultivasi dilakukan pada suhu ruang (25- 27^oc), fotoperiode 12:12 (12 jam hidup, 12 jam mati), intensitas cahaya 10,000 lux dan aerasi 24 jam. Kultivasi dilakukan di laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Bandung pada bulan Januari-Februari. Kultivasi dilakukan pada medium walne sebanyak sembilan kali (9x). Untuk waktu pemanenan dilakukan pada hari ke-8 Volume yang didapatkan adalah 70.35 liter.

Pemanenan dilakukan dengan menggunakan teknik sentrifuga. Tujuan dari pemanenan dengan teknik sentrifuga ini adalah untuk menghindari kerusakan sel mikroalga dan meminimalisir kehilangan biomassa. Dari proses sentrifuga akan diperoleh cairan dan padatan, yang kemudian padatannya diambil untuk dikumpulkan sebagai biomassa basah dan cairannya dibuang. Biomassa basah selanjutnya di *freeze dryer* untuk menghilangkan sisa air laut yang masih ada. Tujuan dari proses *freeze dryer* ini untuk mencegah pembusukan biomassa dan menghindarkan dari cemaran bakteri atau jamur. Jumlah keseluruhan berat dari biomassa basah adalah 401,69 gram. Dan untuk jumlah keseluruhan berat biomassa kering adalah 25,23 gram.

Ekstraksi

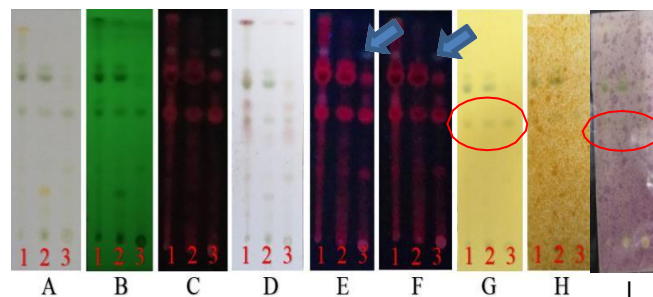
Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, proses ini dipilih karena merupakan proses yang paling sederhana dan efektif juga tidak memerlukan peralatan khusus. Maserasi dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan pelarut n-heksan - etil asetat – etanol, dengan prinsip *like dissolved like*, dimana pelarut yang bersifat non polar akan melarutkan senyawa-senyawa non polar yang ada pada sampel, begitupun pelarut yang bersifat semi polar dan polar. Selain itu juga dengan menggunakan metode maserasi bertingkat dapat menghasilkan randemen lebih banyak. Sebelum proses maserasi dilakukan terlebih dahulu biomassa kering mikroalga *Porphyridium cruentum* di sonikasi terlebih dahulu. Sonikasi dilakukan dengan tujuan agar dinding sel mikroalga dapat pecah. Saat sonikasi biomassa kering direndam dalam pelarut n-heksan, dimana pelarut ini digunakan pertama kali dalam metode maserasi bertingkat ini. Hasil dari proses ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Ekstraksi Mikroalga *Porphyridium cruentum*

Pelarut	Hasil randemen (%)
n-heksana	0,76
Etil Asetat	1
Etanol	26,28

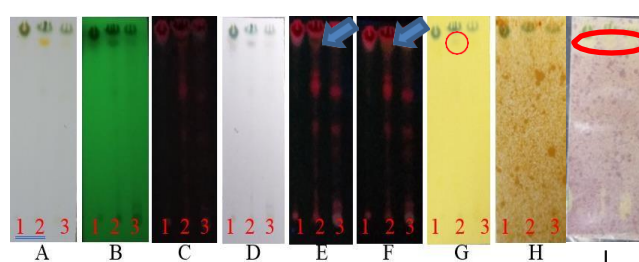
Pemantauan ekstrak

Pemantauan ekstrak dilakukan untuk melihat senyawa yang terkandung dalam ekstrak secara kualitatif dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Fase diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄. Pengamatan dilakukan di bawah lampu uv 254nm, uv 365nm dan penampak bercak yang digunakan adalah H₂SO₄ 10%, AlCl₃ 5%, Sitroborat 10%, FeCl₃ 10%, Dragendorf.



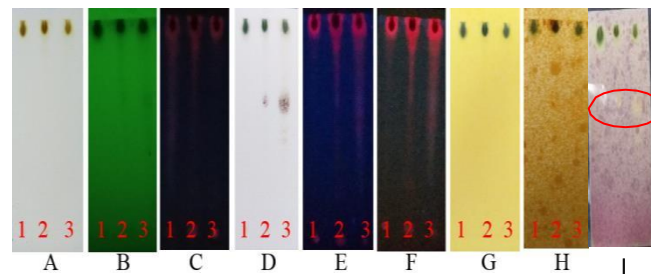
Gambar 1 : Kromatogram (1) ekstrak n-heksan, (2) ekstrak etil asetat, (3) ekstrak etanol, fase diam silika gel F₂₅₄, fase gerak non polar n-heksan - etil asetat – etanol (8:1.5:0.5), visual (A), sinar UV λ 254 nm (B), sinar UV λ 366 nm (C), visual H₂SO₄ 10 % (D), sinar UV λ 366 nm AlCl₃ 5 % (E), sinar UV λ 366 nm sitroborat 10 % (F), FeCl₃ 10%; bercak yang dilingkari merupakan senyawa fenol (G), Dragendorf (H), DPPH; bercak yang dilingkari menunjukkan aktif antioksidan (I).

Dari hasil pemantauan diatas dapat dilihat pada plat yang diberi penampak bercak AlCl₃ dan sitroborat terdapat bercak berwarna biru yang dapat dilihat dibawah sinar UV λ 366 nm, hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak n-heksana terdapat senyawa flavonoid. Pada plat dengan penampak bercak FeCl₃ terdapat bercak kehitaman sehingga menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana terdapat senyawa fenol. Pada plat dengan penampak bercak DPPH terlihat bercak kuning dengan latar ungu dan bercak tersebut sejajar dengan bercak FeCl. Yang mana dapat disimpulkan senyawa aktif sebagai antioksidan adalah fenol. nilai RF yang dihasilkan adalah 0,72 (pada gambar 1 yang dilingkari



Gambar 2 : Kromatogram (1) ekstrak n-heksan, (2) ekstrak etil asetat, (3) ekstrak etanol, fase diam silika gel F₂₅₄, fase gerak semi polar etil asetat – n-heksan - etanol (7:2.5:0.5), visual (A), sinar UV λ 254 nm (B), sinar UV λ 366 nm (C), visual H₂SO₄ 10 % (D), sinar UV λ 366 nm AlCl₃ 5 % (E), sinar UV λ 366 nm sitroborat 10 % (F), FeCl₃ 10%; bercak yang dilingkari merupakan senyawa fenol (G), Dragendorff (H), DPPH; bercak yang dilingkari menunjukkan aktif antioksidan (I)

Sama seperti hasil pemantauan ekstrak n-heksana hasil dari ekstrak etil asetat memiliki hasil yang serupa yaitu dari hasil pemantauan diatas dapat dilihat pada plat yang diberi penampak bercak AlCl₃ dan sitroborat terdapat bercak berwarna biru yang dapat dilihat dibawah sinar UV λ 366 nm, hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak etil asetat terdapat senyawa flavonoid. Pada plat dengan penampak bercak FeCl₃ terdapat bercak kehitaman sehingga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat terdapat senyawa fenol. Pada plat dengan penampak bercak DPPH terlihat bercak kuning dengan latar ungu dan bercak tersebut sejajar dengan bercak FeCl₃. Yang mana dapat disimpulkan senyawa aktif sebagai antioksidan adalah fenol. nilai RF yang dihasilkan adalah 0,91 (yang dilingkari).



Gambar 3 : Kromatogram (1) ekstrak n-heksan, (2) ekstrak etil asetat, (3) ekstrak etanol, fase diam silika gel F₂₅₄, fase gerak polar BAW (4:5:1), visual (A), sinar UV λ 254 nm (B), sinar UV λ 366 nm (C), visual H₂SO₄ 10 % (D), sinar UV λ 366 nm AlCl₃ 5 % (E), sinar UV λ 366 nm sitroborat 10 % (F), FeCl₃ 10% (G), Dragendorff (F), DPPH (I).

Untuk pemantauan ekstrak etanol tidak terlihat adanya bercak pada plat dengan penampak bercak AlCl₃, sitroborat dan FeCl₃. Tetapi pada plat dengan penampak bercak DPPH terlihat adanya bercak berwarna kuning. Hal ini mungkin disebabkan karena kandungan senyawa dalam ekstrak etanol lebih sedikit sehingga tidak terlalu terlihat, atau bisa juga karena pemisahan senyawa yang kurang baik. Nilai RF yang dihasilkan adalah 0,54 (pada gambar 3 diberi tanda dilingkari).

Karakterisasi

Karakterisasi biomassa kering dari mikroalga *Porphyrium cruentum* sama seperti pada simplisia lainnya, ada beberapa karakterisasi yang dilakukan meliputi penetapan kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan. Tujuan dari karakterisasi ini untuk mengetahui kualitas dari biomassa yang digunakan sebagai bahan dalam penelitian. Setiap parameter uji karakterisasi memiliki persyaratan yang harus dipenuhi untuk dapat menjamin mutu dari bahan yang digunakan.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi biomassa Mikroalga *Porphyridium cruentum*

Parameter	Hasil (%b/b)
Kadar Abu Total	45,33
Kadar Abu Tidak Larut Asam	20,67
Kadar Sari Larut Air	36,16
Kadar Sari Larut Etanol	53,65
Susut Pengerinan	7,82

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk menunjukkan kandungan mineral yang terkandung didalam biomassa mikroalga *Porphyrium cruentum* baik mineral internal maupun eksternal (Depkes RI, 2000). Bahan organik yang ada didalam bahan akan terbakar oleh proses pembakaran dengan tanur, akan tetapi bahan anorganik seperti silikat akan tertinggal. Hasil penetapan kadar abu total mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 45,33 %, sedangkan kadar abu tidak larut asam mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 20,67 %. Kadar abu tidak larut asam menunjukkan kadar pengotor yang terdapat pada sampel.

Dari data hasil kadar abu total biomassa mikroalga *Porphyrium cruentum* didapatkan hasil kadar abu total yang tinggi dan melebihi batas normal (> 10 %). Tingginya kadar abu total pada penelitian ini diduga karena biomassa setelah pemanenan tidak dicuci, sehingga masih tercampur dengan garam mineral dari media kultur *Porphyrium cruentum*. Hal ini bisa juga disebabkan karena mikroalga ini banyak mengandung mineral dan hal ini sejalan dengan jenis mikroalga *Porphyrium cruentum* yang merupakan diatom yang memiliki silika pada dinding selnya. Selain itu mikroalga dikultivasi menggunakan air laut yang disertai penambahan mineral tertentu untuk menunjang pertumbuhan mikroalga laut. Selain itu air laut mengandung berbagai komponen mineral diantaranya Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , (SO^{2-}) dan Br^- .

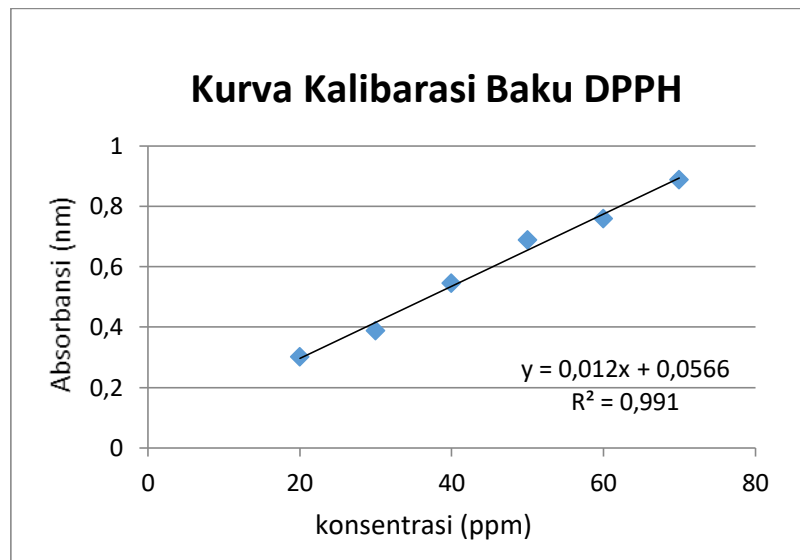
Penetapan kadar sari ini bertujuan untuk menggambarkan jumlah sari atau senyawa yang dapat terlarut dalam suatu pelarut tertentu (Depkes RI, 2000:31). Pada penetapan kadar sari ini menggunakan dua pelarut yaitu air dan etanol. Hasil penetapan kadar sari larut air mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 53,65 %, hasil itu menunjukkan banyaknya senyawa yang terlarut dalam pelarut air. Sedangkan penetapan kadar sari larut etanol menunjukkan banyaknya senyawa yang terlarut dalam pelarut etanol, hasil penetapan kadar sari larut etanol mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 36,16 %. Dari hasil yang didapat kadar sari larut air lebih besar dibandingkan kadar sari larut etanol. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang larut dalam air lebih tinggi dibanding senyawa yang larut dalam etanol dari mikroalga *Porphyrium cruentum*.

Susut pengeringan merupakan parameter untuk menggambarkan kadar zat yang menguap di dalam suatu bahan, selain itu menggambarkan batasan maksimum rentang besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Hasil susut pengeringan mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 7,82 %.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) dengan alat uji spektrofotometri UV-Visible. Penangkap radikal bebas merupakan mekanisme utama antioksidan. Salah satu cara untuk menguji aktivitas suatu senyawa sebagai zat antioksidan adalah dengan mereaksikannya dengan reagen DPPH secara spektrofotometri. 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 pada uji aktivitas antioksidan yaitu membuat baku standar DPPH, vitamin C dan sampel. Sebelum pengujian terhadap sampel cari panjang gelombang maksimum dari DPPH terlebih dahulu. Tujuan dari pengukuran panjang gelombang maksimum adalah untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa DPPH dapat memberikan serapan maksimum. Didapatlah panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 516 nm. Selanjutnya dilakukan pengukuran linieritas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan DPPH. Penetapan kurva kalibrasi DPPH dibuat dari larutan induk 100 µg/mL kemudian dibuat seri konsentrasi 20,30,40,50,60,70 µg/mL dan diukur pada panjang gelombang 516 nm.



Gambar 5. Grafik kurva kalibrasi DPPH

Dilihat dari hasil pengukuran didapatkan linear yang mana semakin meningkat konsentrasi DPPH akan semakin meningkat absorbansinya. Data standar didapat dari hasil IC₅₀ vitamin C, yang dibuat dalam beberapa konsentrasi dan masing-masing ditambahkan dengan DPPH (1:1) lalu diinkubasi selama 30 menit. Diinkubasi selama 30 menit bertujuan untuk memaksimalkan reaksi antara senyawa antioksidan yang terkandung didalam sampel dengan radikal bebas. Dalam pengerjaan pembuatan kurva standar maupun pengujian terhadap sampel diharapkan dalam kondisi wadah yang gelap dan ruangan yang tidak terlalu terang. Dikarenakan DPPH mempunyai karakteristik sensitif pada cahaya sehingga dikhawatirkan kemampuannya dalam meredam radikal bebas kurang maksimal. Setelah proses inkubasi sampel dan standar kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-vis pada panjang gelombang 516 nm. Data absorbansi yang diperoleh dari sampel dan standar kemudian diukur % inhibisinya. Persen inhibisi dapat didefinisikan sebagai kemampuan bahan dalam menangkal radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan yang diuji. Semakin tinggi nilai %inhibisi semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya.

Dari hasil pengujian dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan terbaik terdapat pada ekstrak n-heksana dengan nilai IC₅₀ paling kecil dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan etanol. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Dari hasil pengujian didapatkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak n-heksan 362,09 µg/mL; untuk ekstrak etil asetat 2704,4 µg/mL dan untuk ekstrak etanol 2878 µg/mL.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* terhadap DPPH, ekstrak yang memiliki nilai IC₅₀ paling kecil adalah ekstrak n-heksana dengan nilai IC₅₀ sebesar 362 µg/ml. Hasil pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan KLT menunjukkan senyawa yang aktif sebagai antioksidan dalam ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* adalah senyawa fenol.

Saran

Diperlukan pengujian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dari mikroalga *Porphyridium cruentum* dengan menggunakan metode yang lain seperti metode FRAP dan FIC.

Daftar Pustaka

1. Abu-Rezq, T. S., Jacob D., Al-shamali M., Ahmed N. 2010. Inducation and extraction of α from the isolated *Dunaliella salina*. *J. Alga Biomass Utln.* (40 : 58-83).
2. Ahmad dan Ahmad, B. M. *Biologi air tawar*. Dewan dan Pustaka, Kuala Lumpur. P 107-123.
3. Andersen, R. (2005). *Alga Culturing Techniques*, Elsevier Academic Press. United Kingdom.
4. Barsanti, L., dan Gualtieri, P. (2006): *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. Taylor dan Francis Group Florida: USA
5. Becker (1994): *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. London: Cambridge University Press.
6. Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2006): *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, Florida: Taylor & Francis Group.
7. Brataningtyas, D.S. (2011): *Potensi Mikroalga Laut Tropis Untuk Bahan Baku Senyawa Karoten dan Klorofil*. Tesis Program Studi Kimia: Institut Teknologi Bandung.
8. Cifuentes, A., Gonza'lez, M., Inoztroza, & Aguilera, A. (2001): Reappraisal of Physiological Attributes of Nine Strains of *Dunaliella (Chlorophyceae)*: Growth and Pigment Content Across a Salinity Gradient. *J. Phycol*, **37(1)** , 334–344.
9. Kurnia, Dewi. (2013): *Ekspresi Biopigmen mikroalga Chlorella sp. dan aplikasinya sebagai pemeka cahaya sel surya*. Tesis, Program Studi Kimia: Institut Teknologi Bandung.
10. Lavens, P., dan Sorgeloos, P. (1996) : *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations : Belgium.
11. Marxen, K., H. V. Klaus, L. Sebastian, H. Ralf, R. Andreas, P. H. Ulf. 2007. Full Research paper Determination of DPPH Radiooxidation Caused By Methanolic Extracts of Some Microalgal Species By Linear Regression Analysis of spectrophotometric Measurements. *Sensors*. Vol 7 : 2080- 2095.
12. Molyneux, Philip. (2004): *The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*, Songklanakarin J. Sci. Technol.
13. Sani, dkk. 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii* *Yield Analysis and Phytochemical Screening Ethanol Extract of Marine Microalgae Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.2 p.121-126
14. Stahl, E. (1985) *Analisis Obat Secara Kromatografi & mikroskopi, Terjemah Kosasih Padmawinata*. Penerbit ITB: Bandung.
15. Stryer, Lubert, & Berg, M. (2002): *Biochemistry, 5th edition*, San Francisco, W.H. Freeman and Company and Sumanas, Inc. 58- 66, 788-820.