

Uji Aktivitas Antioksidan Mikroalga Air Tawar

¹Rio Kristian, ²Sapto Raharjo, ²Sulastrianah

¹Program Studi Pendidikan Dokter FK UHO

²Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo

Email: saprjo@yahoo.com

ABSTRACT

Cell or tissue damage due to oxidative stress can be slowed by giving antioxidants. Antioxidants are vital substances that may help protect the body against free radicals by neutralizing or mitigate negative impacts. The human body is naturally equipped antioxidant defenses. but these antioxidants can not completely prevent cell damage. Body still requires antioxidants from the outside. The purpose of this study was to determine the antioxidant potential of microalgae species in freshwater. This research is a descriptive study of the identification of species of freshwater microalgae samples taken with a microscope and testing of extracts from freshwater microalgae species of antioxidant activity using DPPH method. Microalgae extract as much 2,25ml then homogenized with DPPH as 0,75ml in containers with a volume of 3ml. The containers are then incubated for 30 minutes in a dark room. Furthermore, the container is inserted into the spectrophotometer to read absorbance at 519nm wavelength. Results absorbance at the input curves to obtain IC_{50} values. The results that have identified three species of freshwater microalgae namely *Navicula sp.*, *Oscillatoria sp.*, and *Carteria sp.* From all three species showed strong inhibition against DPPH with IC_{50} values sequentially 41.304 ppm, 23.401 ppm and 51.433 ppm. The conclusions of this study are species of freshwater microalgae are obtained, namely *Navicula sp.*, *Oscillatoria sp.*, and *Carteria sp.* has potential antioxidant activity

Keywords: *Microalgae, antioxidant, DPPH*

PENDAHULUAN

Penyakit tidak menular (PTM) menjadi penyebab utama kematian secara global. Data WHO menunjukkan bahwa dari 57 juta kematian yang terjadi di dunia pada tahun 2008, sebanyak 36 juta atau hampir dua pertiganya disebabkan oleh Penyakit Tidak Menular (WHO, 2011). Di Indonesia, prevalensi angka kematian penyakit tidak menular meningkat dari 41,7% pada tahun 1995 menjadi 59,5% pada tahun 2007.

Kebanyakan Penyakit Tidak Menular (PTM) disebabkan karena reaksi oksidasi yang berlebihan (Winarsi, 2007). Kerusakan sel atau jaringan akibat stress oksidatif ini dapat diperlambat dengan pemberian antioksidan. Antioksidan merupakan substansi vital yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan cara menetralkan atau meredam dampak negatifnya.

Sumber antioksidan dapat berasal dari tanaman, bakteri dan mikroalga. Pada penelitian ini dilakukan penelitian sumber antioksidan dari mikroalga, khususnya mikroalga air tawar. Mikroalga merupakan mikroorganisme dengan tingkat organisasi selnya termasuk dalam tumbuhan tingkat rendah, yang dikelompokkan ke dalam filum *Thallophyta*, karena tidak memiliki akar, batang dan daun sejati. Kebanyakan antioksidan alami yang tersedia secara komersial berasal dari tanaman terestrial (misalnya *rosemary*, *tea*, biji anggur, kulit kayu pinus, kakao). Namun diyakini bahwa mikroalga merupakan sumber antioksidan alternatif yang menjanjikan (Goiris et al., 2012).

Penelitian mengenai mikroalga air tawar di Indonesia masih kurang, sehingga perlu dilakukan penelitian karena ketersediaannya yang berlimpah. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui aktivitas

antioksidan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) menggunakan konsentrasi larutan uji yang berbeda. Metode DPPH dipilih karena sederhana, akurat, cepat dan bisa dilakukan dengan sedikit sampel (Yuhernita, 2011).

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui spesies mikroalga air tawar yang diteliti dan Mengetahui tingkat aktivitas antioksidan dari ekstrak spesies mikroalga pada air tawar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yakni identifikasi spesies dari sampel mikroalga air tawar yang diambil dan pengujian ekstrak dari spesies mikroalga air tawar terhadap aktivitas antioksidan. Sampel penelitian adalah mikroalga air tawar yang berlokasi di kolam Universitas Halu Oleo di Kendari, Sulawesi Tenggara.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak mikroalga air tawar dan vitamin C sebagai pembandingnya.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Desember 2015 yang bertempat di Laboratorium Riset dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo Kendari, Sulawesi Tenggara.

Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel air tawar diambil langsung pada kolam menggunakan botol sampel yang telah disterilisasi, kemudian sampel di bawa ke laboratorium untuk penelitian.

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bold's Basal Medium* (BBM). Sebanyak 10 ml sampel mikroalga diinokulasikan ke dalam masing-masing 100 mL BBM dalam erlenmeyer 250 ml yang ditempatkan pada meja yang telah dilengkapi

dengan pencahayaan menggunakan lampu TL 36 watt (intensitas cahaya 1000 – 4000 lux) dan fotoperiodisitas 12 jam terang dan 12 jam gelap.

Identifikasi Morfologi Mikroalga Air Tawar

Setelah kultur dilakukan berulang-ulang, Sampel mikroalga diambil dan ditetaskan ke *object glass*, kemudian tetaskan akuades hingga tercampur dengan sampel. Amati pada mikroskop, identifikasi spesies mikroalga dibandingkan dengan literatur.

Ekstraksi

Metode yang dilakukan adalah dengan cara ekstraksi melalui proses maserasi. Maserasi dilakukan dengan menggunakan metanol pelarut 1: 5 (b / v) selama 24 jam dengan shaker \pm 5 jam, kemudian disaring. Residu dilakukan maserasi lagi dengan metanol sampai filtrat yang diperoleh transparan, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dilakukan rotary evaporator vacum sampai ekstrak yang kental diperoleh (Fasya dkk., 2013).

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

a) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,5 mM sebanyak 5 mL dimasukkan dalam kuvet hingga penuh. Dicari λ_{maks} larutan dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Hanani, dkk., 2005).

b) Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Larutan ekstrak 100 ppm dipipet sebanyak 2,25 mL. Ditambahkan larutan DPPH 0,5 mM sebanyak 0,75 mL,

kemudian dicari waktu kestabilan tanpa inkubasi dan setelah inkubasi pada suhu 37 °C dan rentangan waktu 10 – 60 menit dengan interval 10 menit. Sampel diukur pada λmaks yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

c) Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel

Sampel ekstrak dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Ekstrak masing-masing konsentrasi dipipet 2,25 mL dan ditambahkan 0,75 mL DPPH 0,5 mM kemudian diinkubasi dengan suhu 37 oC pada waktu kestabilan yang diperoleh pada tahap sebelumnya, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 519,0 nm. Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya, yaitu Aktivitas Antioksidan = $(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel} / \text{Absorbansi kontrol}) \times 100\%$.

Selanjutnya, dihitung nilai IC₅₀ dengan memperoleh persamaan regresi linear. Kontrol yang digunakan yaitu larutan DPPH 0,5 mM dalam metanol dan asam askorbat (Vitamin C) sebagai pembanding.

HASIL

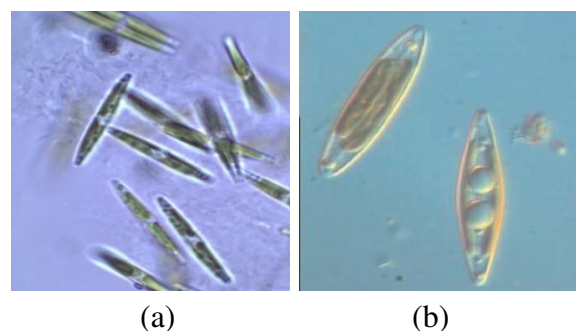
Sampel mikroalga yang telah dikultur diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya menggunakan alat mikroskop, meliputi pengamatan ciri-ciri fisiknya dan dibandingkan dengan “*Easy identification of the most common freshwater algae* (Vuuren et al., 2006).

Ada tiga divisi mikroalga air tawar yang teridentifikasi, yaitu *bacillariophyta*,

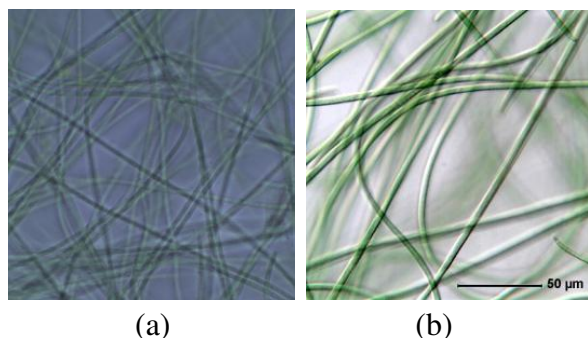
cyanophyta, dan *Chlorophyta*. Genus mikroalga divisi *bacillariophyta* yang ditemukan adalah *Navicula sp.*, genus mikroalga dari *cyanophyta* adalah *Oscillatoria sp.*, dan genus mikroalga divisi *Chlorophyta* yang ditemukan adalah *Carteria sp.*

Morfologi dari *Navicula sp.* yang teridentifikasi sesuai dengan karakteristik dari Vuuren et al. tahun 2006, yaitu sel-sel bervariasi dalam bentuk, terutama pada bagian katup, tapi bentuk yang paling utama adalah navicular (berbentuk perahu) atau berbentuk cerutu dan bulat. Memiliki dua kloroplas, satu di setiap sisi dari sel jika dilihat pada bagian katup. Panjang sel 6-42 μm dan lebar 4-12 μm. *Navicula sp.* ditemukan dalam semua jenis air dari air laut sampai air tawar serta di perairan mulai dari oligotrophic ke eutrofik (Gambar 1).

Morfologi dari *Oscillatoria sp.* yang teridentifikasi sesuai dengan karakteristik dari Vuuren et al tahun 2006, yaitu berbentuk silinder, memiliki trikoma yang memanjang atau sedikit bergelombang dan biasanya sangat panjang serta terdapat filament. Diameter trikoma biasanya bervariasi dari 8-30 μm atau lebih. *Oscillatoria sp.* tersebar luas dan umumnya terdapat di berbagai habitat yaitu di air tawar, di laut dan di air panas. *Oscillatoria* terlihat seperti Gambar 2.



Gambar 1. *Navicula sp.* (a) Hasil identifikasi (b) Perbandingan literatur (Vuuren dkk., 2006)



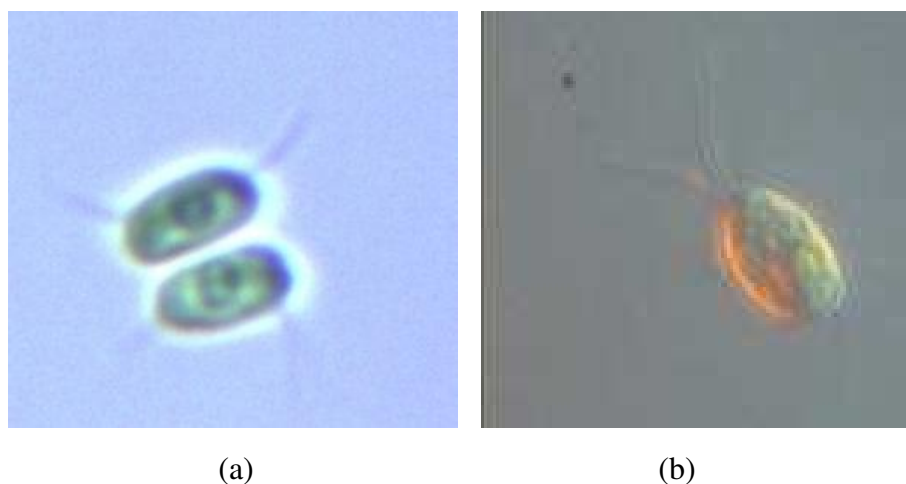
Gambar 2. *Oscillatoria sp.* (a) Hasil identifikasi (b) Perbandingan literatur (Vuuren et al., 2006)

Morfologi dari *Carteria sp.* yang teridentifikasi sesuai dengan karakteristik dari Vuuren tahun 2006, yaitu ditandai dengan memiliki 4 flagela yang sama panjang (biasanya lebih panjang dari sel), beradadi bagian papilla anterior (kadang-kadang tidak ada). Sel-sel berbentuk bulat atau sub-bulat. Bentuk kloroplas tunggal bervariasi, dapat berbentuk cangkir, berbentuk pelat tipis di sepanjang dinding, atau berbentuk H dengan satu pyrenoid dan

eyespot. Terdapat dua atau empat vakuola kontraktil terletak di ujung anterior dekat pangkal flagella tersebut. *Carteria* sering terdapat di air tenang, tetapi juga dapat ditemukan di sungai yang mengalir lambat. Beberapa spesies menghuni lingkungan yang ekstrim (salju atau es), diameter sel yaitu 9-45 µm (Gambar 3).

Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel

Larutan seri ekstrak ketiga spesies mikrolaga dan larutan seri vitamin C diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang maksimum DPPH yaitu 519 nm. Kemudian dicari % aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi. Berikut ini nilai absorbansi dan % aktivitas antioksidan dari setiap spesies konsentrasi ekstrak mikroalga dan vitamin C.



Gambar 3. *Carteria sp.* (a) Hasil Identifikasi (b) Perbandingan literatur (Vuuren et al., 2006)

Tabel 1. Persen aktivitas antioksidan ekstrak mikroalga

Sampel	% Aktivitas Antioksidan				
	20 ppm	40 ppm	60 ppm	80 ppm	100 ppm
<i>Navicula sp.</i>	43,360	48,824	58,990	59,405	61,134
<i>Oscillatoria sp.</i>	49,585	52,973	54,840	57,468	62,033
<i>Carteria sp.</i>	42,185	42,669	55,739	60,096	61,410

Tabel 2. Persen aktivitas antioksidan pembanding

Sampel	% Aktivitas Antioksidan				
	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm	10 ppm
Vitamin C	45,228	51,936	62,724	65,975	68,672

Setelah mendapatkan data % aktivitas antioksidan maka dibuat grafik antara konsentrasi larutan (x) dan % aktivitas antioksidan (y) dan didapatkan persamaan regresi liniernya. Nilai IC₅₀ dapat ditetapkan dengan menggunakan persamaan regresi

linier. Untuk memudahkan input data maka digunakan *microsoft excel* untuk mencari persamaan regresi linier. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidan. Setelah melakukan perhitungan, nilai IC₅₀ mikroalga dan vitamin C (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai IC₅₀

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Interpretasi
<i>Navicula sp.</i>	41,304	Sangat Kuat
<i>Oscillatoria sp.</i>	23,401	Sangat Kuat
<i>Carteria sp.</i>	51,433	Kuat
Vitamin C (pembanding)	3,079	Sangat Kuat

PEMBAHASAN

Identifikasi morfologi dari mikroalga air tawar yang berhasil ditumbuhkan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000x. Hasil morfologi mikroalga yang terlihat kemudian dicocokkan dengan "*Easy identification of the most common freshwater algae*" (Vuuren dkk., 2006) dan didapatkan tiga morfologi mikroalga yang berbeda dan sesuai dengan morfologi dari tiga divisi, yaitu genus mikroalga divisi bacillariophyta yang ditemukan adalah *Navicula sp.*, genus mikroalga dari cyanophyta adalah *Oscillatoria sp.*, dan genus mikroalga divisi Chlorophyta yang ditemukan adalah *Carteria sp.*

Morfologi dari *Navicula sp.* yang teridentifikasi sesuai dengan karakteristik dari Vuuren dkk, tahun 2006, yaitu sel-sel bervariasi dalam bentuk, terutama pada bagian katup, tapi bentuk yang paling utama adalah navicular (berbentuk perahu)

atau berbentuk cerutu dan bulat. Memiliki dua kloroplas, satu di setiap sisi dari sel jika dilihat pada bagian katup. Panjang sel 6-42 µm dan lebar 4-12 µm.

Morfologi dari *Oscillatoria sp.* yang teridentifikasi sesuai dengan karakteristik dari Vuuren tahun 2006, yaitu berbentuk silinder, memiliki trikoma yang memanjang atau sedikit bergelombang dan biasanya sangat panjang serta terdapat filament. Diameter trikoma biasanya bervariasi dari 8-30 µm atau lebih.

Morfologi dari *Carteria sp.* yang teridentifikasi sesuai dengan karakteristik dari Vuuren tahun 2006, yaitu ditandai dengan memiliki 4 flagela yang sama panjang (biasanya lebih panjang dari sel), berada di bagian papilla anterior (kadang-kadang tidak ada). Sel-sel berbentuk bulat atau sub-bulat. Bentuk kloroplas tunggal bervariasi, dapat berbentuk cangkir, berbentuk pelat tipis di sepanjang dinding, atau berbentuk H dengan satu pyrenoid

dan eyespot. Terdapat dua atau empat vakuola kontraktil terletak di ujung anterior dekat pangkal flagella tersebut. Diameter sel yaitu 9-45 μm .

Hasil uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dari masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa *Navicula sp.* dan *Oscillatoria sp.* memiliki antioksidan yang masuk kategori sangat kuat karena masing-masing memiliki nilai IC_{50} yaitu 41,304 ppm dan 23,401 ppm. Sedang *Carteria sp.* memiliki antioksidan yang masuk kategori kuat karena memiliki nilai IC_{50} yaitu 51,433 ppm. Vitamin C sebagai pembanding memiliki antioksidan yang masuk kategori sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} yaitu 3,079 ppm.

Mikroalga Genus *Oscillatoria sp.* memiliki nilai IC_{50} terkecil dibandingkan dengan ekstrak yang lain yaitu 23,401 ppm. Angka tersebut berarti bahwa pada konsentrasi 23,401 ppm ekstrak metanol *Oscillatoria sp.* dapat menghambat radikal DPPH yang diberikan sebanyak 50%.

Perbedaan antara mikroalga air laut dan air tawar hanya pada tingkat adaptasi dan evolusi dalam sistem perairan yang terpisah ditunjukkan dengan kelimpahan dan tingkat keanekaragaman spesies yang terjadi untuk kelompok-kelompok tertentu (Sigeo, 2004).

Perbedaan nilai IC_{50} antara vitamin C sebagai pembanding dengan ekstrak mikroalga dapat diakibatkan oleh kemampuan masing-masing senyawa dalam memberikan elektron kepada DPPH, semakin banyak elektron yang diberikan kepada DPPH akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansinya yang berarti meningkatnya persen inhibisi dan menurunnya nilai IC_{50} (Syukur dkk., 2011).

Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Praptiwi dkk., 2006). Penggunaan vitamin C sebagai pembanding juga karena masyarakat biasa mengkonsumsi vitamin C sebagai penangkap radikal bebas, dalam hal ini supaya memperoleh gambaran tentang aktivitas antioksidan dari mikroalga air tawar bila dibandingkan dengan vitamin C yang biasa dipakai.

SIMPULAN

Spesies mikroalga pada air tawar yang didapatkan, yaitu *Navicula sp.*, *Oscillatoria sp.*, dan *Carteria sp.* memiliki potensi aktivitas antioksidan.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka terdapat beberapa saran yang dapat dijadikan bahan pertimbangan selanjutnya.

Bagi institusi, yaitu adanya pengembangan selanjutnya dari mikroalga air tawar sebagai obat alami untuk penyakit penyebab radikal bebas.

Adanya penelitian selanjutnya berupa isolasi senyawa aktif untuk mengetahui dan meningkatkan aktivitas antioksidan dari sampel spesies mikroalga pada air tawar.

DAFTAR PUSTAKA

Fasya, A. G., Amaliyah S., Bariyyah, S. K., Khamidah, U., Hanapi, A., Romaidi. 2013. *Toxicity, Antioxidant and Antibacterial Activity Test of Methanol Extract of Chlorella sp. Microalgae Result Cultivation in Tauge Extract Medium*. Indonesia: The 4th Green Technology Faculty of

- Science and Technology Islamic of University State Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., Brabanter, J. D., Cooman, L. D. 2012. *Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content*. Belgium: Springer Science Business Media B.V.
- Hanani, E., M. Abdul dan Ryany, S. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia sp. dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian II (3): 127-133.
- Kementerian Kesehatan. 2008. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2007*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Praptiwi., Dewi, P., dan Harapini, M. 2006. *Nilai peroksida dan aktivitas anti radikal bebas diphenyl picril hydrazil hydrate (DPPH) ekstrak methanol Knema laurina*. Majalah Farmasi Indonesia. 17(1): 32–36.
- Sigee, D. C. 2004. *Freshwater Microbiology: Biodiversity and Dynamic Interactions of Microorganisms in The Freshwater Environment*. John Wiley & Sons.
- Syukur, R., Alam, G., Mufidah, Rahim, A., dan Tayeb, R. 2011. *Aktivitas antiradikal bebas beberapa ekstrak tanaman Familia fabaceae*. JST Kesehatan. ISSN : 1411-4674. Vol. 1. No. 1 : 61–67.
- Vuuren, Sanet Janse., Taylor, Jonathan., Ginkel, Carin., dan Gerber, Carin. 2006. *Easy Identification of the most common Freshwater Algae*. School of Environmental Sciences and Development: Botany North-West University.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: potensi dan aplikasi dalam kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- World Health Organization. 2011. *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. Geneva: World Health Organization.
- Yuhernita & Juniarti. 2011. *Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Methanol Daun Durian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan*. Makara Sains. 15(1): 48-52.