

Skrining Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga

Yunita Syawal^{1*}, Wilmar Maarisit², Tan Tjie Jan¹, dan Reinhard Pinontoan¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Pelita Harapan-Tangerang

²Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia-Tomohon

*Alamat Korespondensi: yunitasyawal@gmail.com

Diterima: 10 Mei 2019; Disetujui : 20 Mei 2019

ABSTRAK

Skrining aktivitas antioksidan dari mikroalga dilakukan untuk mengetahui potensi substansi bioaktif dari mikroalga sebagai alternatif pengganti antioksidan sintetik. Penelitian ini menggunakan lima jenis mikroalga, yaitu *Porphyridium sp.*, *Platymonas sp.*, *Dunaliella sp.*, *Chlorella stigmatophora* dan *Isochrysis sp.* (*T. iso*). Kelima jenis mikroalga dikulturkan dengan menggunakan 10 liter air laut steril dengan salinitas 30 ppm yang ditambahkan medium ekstrak tauge dan vitamin. Mikroalga dimaserasi dengan aseton, selanjutnya dipartisi dengan etil asetat (EtOAc). EtOAc ekstrak selanjutnya difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom. Studi aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode kualitatif dan kuantitatif DPPH. Hasil penelitian secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak kasar EtOAc dari mikroalga *Dunaliella sp.* dan *C.stigmatophora* memiliki aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dari hasil fraksinasi ekstrak EtOAc *Dunaliella sp.* dan *C.stigmatophora* menunjukkan bahwa fraksi nomor 7.3 dari *Dunaliella sp.* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 445,86 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi nomor 10 dari *C. stigmatophora* dengan IC_{50} 1192,13 $\mu\text{g/ml}$.

Kata Kunci : Mikroalga, antioksidan, DPPH, IC_{50}

ABSTRACT

Screening of antioxidant activity from microalgae were conducted to determine the potencies of bioactive compounds from microalgae as an alternative for synthetics antioxidant. This study used five types of microalgae: *Porphyridium sp.*, *Platymonas sp.*, *Dunaliella sp.*, *Chlorella stigmatophora* dan *Isochrysis sp.* (*T. iso*). These microalgae in 10 liters of sterile seawater with 30 ppm salinity and added with 100 ml of bean sprout extract medium a 10 ml of vitamins. Microalgae were macerated using acetone then partitioned with ethyl acetate (EtoAc). Fractionation of EtoAc crude extract was conducted with column chromatography method. Screening of antioksidant activity was done by qualitative analylis. Afterwards, fractions of extract which have antioaxidant activity were analyzed quantitatively. The results showed that EtOAc crude axtracts of microalgae *Dunaillella sp.* and *C. stigmatophora* have antioaxidant activity qualitatively. Fractination of column chromatography of EtOAc crude extract have antioxidant activity were shown by fraction numbr 7.3 of *Dunaillella sp.* with IC_{50} value 445,7 $\mu\text{g/ml}$ and fraction number 10 of *C. stigmatophora* with IC_{50} value 1192,13 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: microalgae, antioxidant, DPPH, IC_{50}

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang menjadi penyebab utama kematian di Negara maju dan penyebab kematian kedua di Negara berkembang (Jemal *et al.*, 2011) salah satu factor yang dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker adalah radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi sebagai radikal bebas sehingga dapat mencegah kanker (Kusumawati, 2009)

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, atau DNA. (Jacobi and Burri, 1996). Reaksi antara radikal bebas dan molekul tersebut dapat berujung pada timbulnya suatu penyakit seperti: kanker, anemia, asma, artritis, inflamasi, degenerasi syaraf, parkinson, dan proses penuaan dini (Polterait, 1997). Berdasarkan sumbernya, terdapat antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Senyawa antioksidan sintetis umumnya lebih murah, lebih efektif dan lebih stabil dibandingkan dengan senyawa antioksidan alami namun antioksidan sintetis memiliki efek samping (Kusumawati, 2009).

Berdasarkan permasalahan tersebut maka sangatlah penting untuk mencari sumber senyawa antibakteri dan antioksidan baru yang berasal dari alam. Dalam decade terakhir ini, pencarian senyawa bioaktif yang berasal dari organisme laut semakin pesat dilakukan. Indonesia dengan tingkat biodiversitas yang tinggi memiliki potensi yang besar untuk menghasilkan beragam senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat-obatan yang baru. Salah satu organisme yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber senyawa bioaktif adalah mikroalga (Maarisit and Pinontoan, 2010).

Senyawa bioaktif yang dihasilkan mikroalga diketahui memiliki manfaat sebagai antiinflamasi (Guzmán *et al.*, 2001), antivirus (Ohta *et al.*, 1998), antitumor (Paloza *et al.*,

2009), antijamur (Bhadury & Wright, 2004) dan antibakteri (Das *et al.*, 2005). Selain itu senyawa bioaktif dari mikroalga juga diduga memiliki potensi sebagai antioksidan alami karena mikroalga merupakan organisme fototropik dan selalu terekspos radikal secara terus menerus (Hajimahmoodi *et al.*, 2009). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi dari lima jenis mikroalga dalam menghasilkan antioksidan alami.

METODE PENELITIAN

Kultur Mikroalga

Lima jenis mikroalga yaitu *Porphyridium sp.*, *Platymonas sp.*, *Dunaliella sp.*, *Chlorellastigmatophora* dan *Isochrysis sp.* (*T. iso*) diperoleh dari stok kultur Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pelita Harapan. Mikroalga dikultur dengan menggunakan air laut steril, salinitas 30 ppm dan ditambahkan 100 ml ekstrak tauge (MET) dan 10 ml vitamin (1 mg vitamin B12 dan 1 mg biotin). Kondisi kultur mikroalga diberi aerasi menggunakan *aerator* dan sistem fotoperiodisitas 24 jam. Pengamatan pola pertumbuhan mikroalga dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel mikroalga menggunakan hemasitometer di bawah mikroskop. Selain itu dilakukan pengukuran pH dengan menggunakan pH meter. Penghitungan jumlah sel mikroalga dan pengukuran pH dilakukan setiap 24 jam selama kurang lebih 30 hari. Hasilnya diplotkan dalam suatu grafik sehingga diperoleh kurva pertumbuhan mikroalga dan pH.

Ekstraksi

Kultur mikroalga yang telah mencapai fase pertumbuhan stationer, disentrifugasi dengan kecepatan ± 2500 rpm selama 5 menit, hingga didapatkan endapan yang merupakan biomassa mikroalga pada dasar tabung sentrifuse. Biomassa yang diperoleh, diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut aseton sebanyak dua kali ulangan, dan dipartisi

dengan etil asetat. Ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C, ekstrak kasar kelima jenis mikroalga, selanjutnya diuji aktivitas antioksidan secara kualitatif.

Fraksinasi

Dari hasil pengujian antioksidan secara kualitatif, ekstrak kasar etil asetat *C.stigmatophora* dan *Dunaliella* sp. memiliki aktivitas antioksidan. Kedua jenis ekstrak tersebut selanjutnya dianalisa menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Dari hasil analisa KLT didapatkan perbandingan pelarut yang tepat untuk pemisahan senyawa pada ekstrak mikroalga *C.stigmatophora* dan *Dunaliella* sp. adalah heksana: etil (2 : 1). Kombinasi pelarut tersebut dapat digunakan sebagai acuan untuk fraksinasi ekstrak kasar dengan Kolom kromatografi. Deteksi spot pada KLT dilakukan secara kasat mata dan UV *transilluminator* dengan panjang gelombang 254 nm. Fraksinasi ekstrak kasar mikroalga menggunakan Kolom kromatografi Si 60 (*silica gel* 60) dengan kombinasi pelarut heksan : etil asetat dengan perbandingan mulai dari 4 : 1 hingga 1 : 3. Dari hasil fraksinasi ekstrak kasar selanjutnya dianalisa menggunakan KLT. Fraksi yang memiliki spot yang sama disatukan selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Fraksinasi ekstrak *C. stigmatophora* dan *Dunaliella* sp. masing-masing diperoleh 12 fraksi. Untuk fraksi 7-9 dari *Dunaliella* sp digabungkan menjadi satu fraksi nomor 7, karena dari hasil analisis KLT ketiga fraksi (7-9) memiliki spot yang sama. Fraksi nomor 7 selanjutnya difraksinasi kembali menggunakan kromatografi kolom dan diperoleh 4 fraksi. Setiap fraksi yang ada diuji aktivitas antioksidan secara kualitatif, selanjutnya fraksi yang positif sebagai antioksidan diuji kembali aktivitas antioksidanya dengan metode kuantitatif.

Uji Aktivitas Antioksidan Kualitatif (Devi et al., 2011)

Uji antioksidan kualitatif dilakukan dengan cara melakukan fraksinasi ekstrak kasar

mikroalga dengan kromatografi lapis tipis (KLT), selanjutnya plat KLT disemprot dengan menggunakan larutan DPPH (1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl*) 0,4 mM. Ekstrak dikatakan positif sebagai antioksidan jika terbentuk warna kuning pada plat KLT.

Uji Aktivitas Antioksidan Kuantitatif (Molyneux, 2004)

Pengujian aktivitas antioksidan kuantitatif digunakan larutan DPPH 0,2 mM. Konsentrasi ekstrak mikroalga *Dunaliella* sp. yang digunakan adalah 25, 50, 100 dan 200 µg/ml, sedangkan konsentrasi ekstrak mikroalga *C.stigmatophora* yang digunakan adalah 200, 300, 400 dan 500 µg/ml. Larutan DPPH, metanol dan ekstrak di gabungkan dan dihomogenkan dengan *vortex*, didiamkan selama 30 menit pada ruang gelap. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C yang dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 25, 50, 100 dan 200 µg/ml. Kontrol negatif yang digunakan adalah 1,5 ml larutan DPPH 0,2 mM yang ditambahkan 2,5 ml metanol. Larutan blanko yang digunakan adalah metanol. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%) (Zuhra et al., 2008)

IC₅₀ adalah nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi ekstrak yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak sebagai sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai sumbu Y. Nilai IC₅₀ dari

perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% adalah $Y=aX+b$.

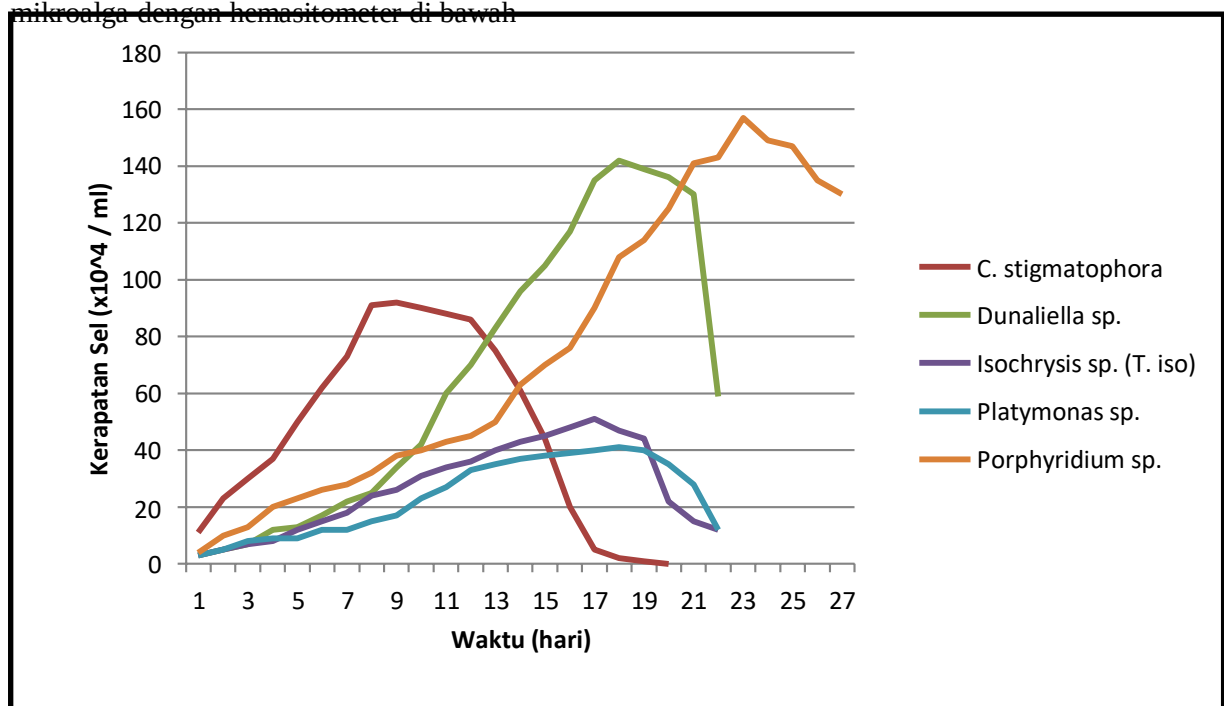
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur Mikroalga

Mikroalga dikulturkan dengan menggunakan air laut steril salinitas 30 ppm dan ditambahkan 100 ml ekstrak taug (MET) dan 10 ml vitamin (1 mg vitamin B12 dan 1 mg biotin). Ekstrak taug digunakan sebagai media alami bagi pertumbuhan mikroalga karena taug kacang hijau mengandung makronutrien, mikronutrien, vitamin, asam amino, serta gula yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroalga (Prihantini *et al.*, 2007). Penambahan vitamin B12 dan biotin dilakukan karena mikroalga membutuhkan vitamin sebagai kofaktor pertumbuhan (Barsanti & Gualtieri, 2006).

Untuk mengetahui pola pertumbuhan mikroalga dilakukan penghitungan jumlah sel mikroalga dengan hemasitometer di bawah

mikroskop setiap 24 jam dan diplotkan menjadi sebuah grafik pertumbuhan mikroalga. Dari grafik pertumbuhan mikroalga (Gambar 1) dapat dilihat bahwa masing-masing mikroalga memiliki laju pertumbuhan yang berbeda-beda. Dari grafik kurva pertumbuhan dapat diketahui bahwa *C. stigmatophora* mencapai fase stasioner pada hari ke-8 hingga ke-12, *Dunaliella* sp. mencapai fase stasioner pada hari ke-17 hingga ke-20, *Isochrysis* sp. (*T. iso*) mencapai fase stasioner pada hari ke-15 hingga ke-19, *Platymonas* sp. mencapai fase stasioner pada hari ke-13 hingga hari ke-20, sedangkan *Porphyridium* sp. mencapai fase stasioner pada hari ke-21 hingga hari ke-25. Pembuatan kurva pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui kapan masing-masing mikroalga mencapai fase stasioner sehingga dapat dilakukan proses ekstraksi metabolit sekunder. Menurut Setyaningsih *et al* (2008), bahwa metabolit sekunder dari mikroalga banyak dihasilkan pada fase stasioner.



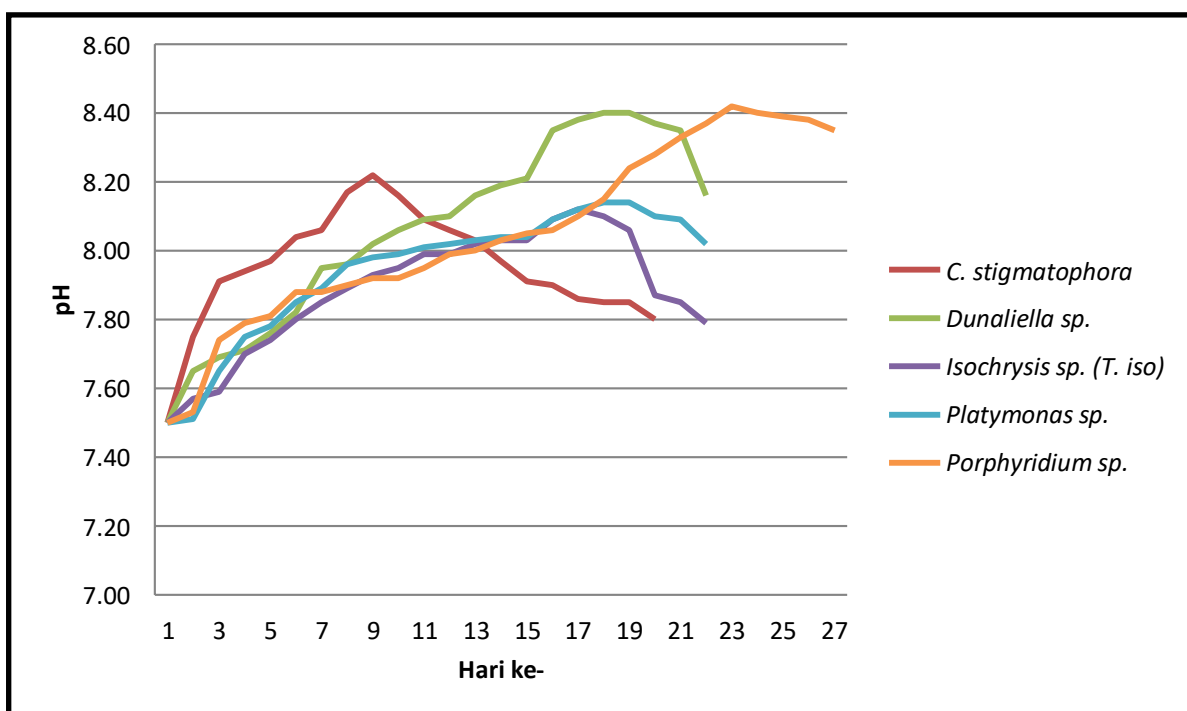
Gambar 1. Grafik pertumbuhan mikroalga

Selama pengkulturan mikroalga juga dilakukan pengukuran pH dengan menggunakan pH meter dan hasilnya diplotkan menjadi sebuah grafik yang dapat dilihat pada Gambar 2. Dari

Gambar 2. dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan pH selama pengkulturan mikroalga. Peningkatan pH kemungkinan disebabkan oleh meningkatnya proses fotosintesis mikroalga.

Pada saat fotosintesis, mikroalga menggunakan CO₂ bebas sebagai sumber karbon utama. Selain itu di dalam air, CO₂ dapat berupa ion karbonat (CO₃²⁻) atau ion bikarbonat (HCO₃⁻) yang berdasarkan reaksi : CO₂ + H₂O ↔ H₂CO₃ ↔ H⁺ + HCO₃⁻ ↔ 2H⁺ + CO₃²⁻. Penyerapan CO₂ bebas, ion karbonat atau ion bikarbonat oleh mikroalga menyebabkan terjadinya peningkatan pH. Selain itu peningkatan pH dapat disebabkan karena terjadinya penguraian protein dan senyawa nitrogen. Senyawa nitrogen yang umumnya digunakan pada proses metabolisme mikroalga

adalah amonium, Amonium terbentuk melalui proses disosiasi amonium hidroksida melalui reaksi: NH₃ + H₂O ↔ NH₄OH ↔ NH₄⁺ + OH⁻. Proses pembentukan amonium tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan pH (Setyaningsih *et al.*, 2005). Peningkatan pH berhubungan juga dengan proses metabolisme mikroalga. Peningkatan pH juga dapat menandakan adanya peningkatan sel mikroalga karena semakin banyak jumlah sel mikroalga maka proses metabolisme yang terjadi juga semakin tinggi.



Gambar 2. Grafik pH kultur mikroalga

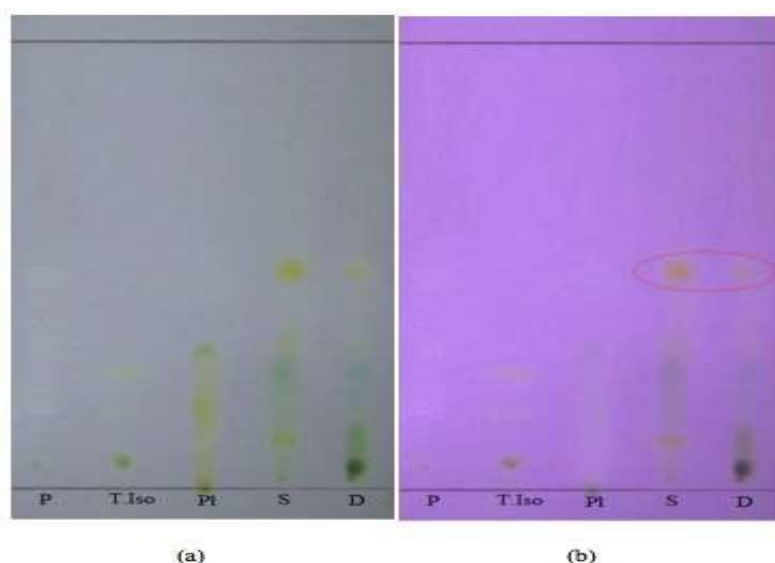
Uji Aktivitas Antioksidan Kualitatif

Uji antioksidan kualitatif dari ke lima ekstrak mikroalga dilakukan dengan cara menyemprot plat kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 0,4 mM. Hasil uji aktivitas antioksidan kualitatif dapat dilihat pada Gambar 3. Dari Gambar 3. dapat dilihat bahwa terdapat spot berwarna kuning yang terbentuk pada ekstrak kasar mikroalga *C. stigmatophora* dan *Dunaliella sp.* Hal ini menandakan bahwa pada ekstrak etilasetat mikroalga *C. stigmatophora* dan *Dunaliella sp.* terdapat

aktivitas antioksidan. Oleh sebab itu mikroalga *C. stigmatophora* dan *Dunaliella sp.* dipilih untuk penelitian uji aktivitas antioksidan lanjut. Untuk penelitian lebih lanjut dilakukan pengkulturan ulang *C. stigmatophora* dan *Dunaliella sp.* dalam skala 20 liter yang menghasilkan ekstrak kering EtOAc *C. stigmatophora* sebanyak 420 mg dan ekstrak kering EtOAc *Dunaliella sp.* sebanyak 270 mg. Ekstrak kasar tersebut selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan kolom kromatografi. Dari hasil fraksinasi kolom kromatografi diperoleh bahwa mikroalga *C. stigmatophora* diperoleh 12 fraksi, sedangkan

dari ekstrak *Dunaliella* sp. diperoleh 14 fraksi. Fraksi-fraksi dari ekstrak *C.stigmatophora* dan *Dunaliella* sp. dilakukan pengujian aktivitas

antioksidan secara kualitatif, selanjutnya fraksi yang aktif sebagai antioksidan di lakukan uji lanjut dengan metode kuantitatif.



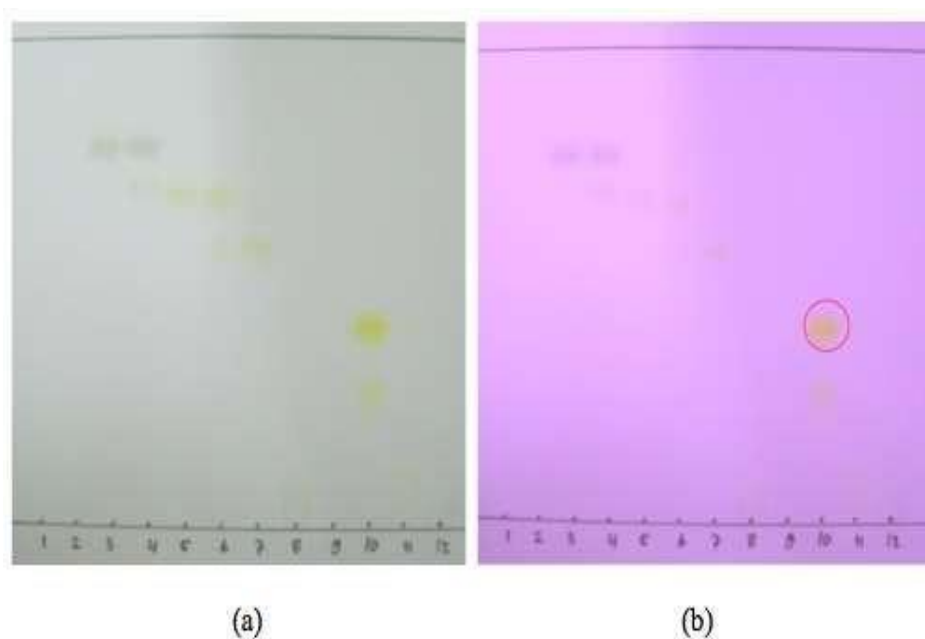
Ket: S = *C.stigmatophora* ; D = *Dunaliella* sp. ; T. iso = *Isochrysis* sp. (T. iso) ; Pl = *Platymonas* sp.; P = *Porphyridium* sp..

Gambar 3. Hasil uji antioksidan kualitatif (a : plat KLT sebelum disemprot DPPH 0,4 mM; b : plat KLT sesudah disemprot DPPH 0,4 mM)

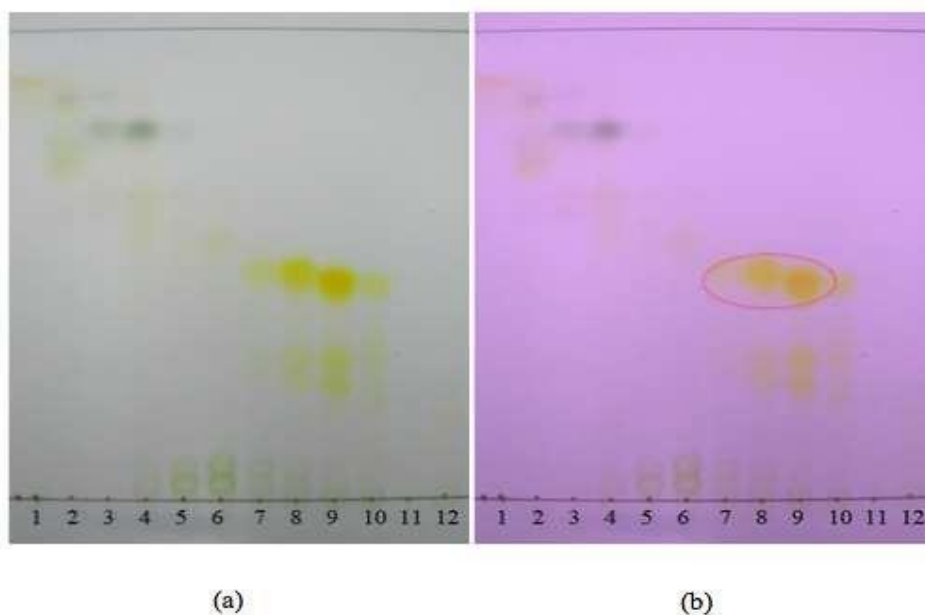
Uji Aktivitas Antioksidan Kualitatif Fraksi Kromatografi Kolom Ekstrak *C. stigmatophora* dan *Dunaliella* sp.

Pengujian aktivitas antioksidan kualitatif fraksi kolom kromatografi dilakukan untuk mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan yang nantinya akan dianalisis lebih lanjut aktivitas antioksidannya secara kuantitatif. Dari Gambar 4. dapat dilihat bahwa pada fraksi nomor 10 dari ekstrak EtoAc *C. stigmatophora* terdapat spot kuning yang terbentuk setelah plat KLT disemprot dengan DPPH 0,4 mM. Terbentuknya spot kuning tersebut menandakan bahwa fraksi nomor 10 memiliki aktivitas antioksidan. Sedangkan Ekstrak EtoAc dari

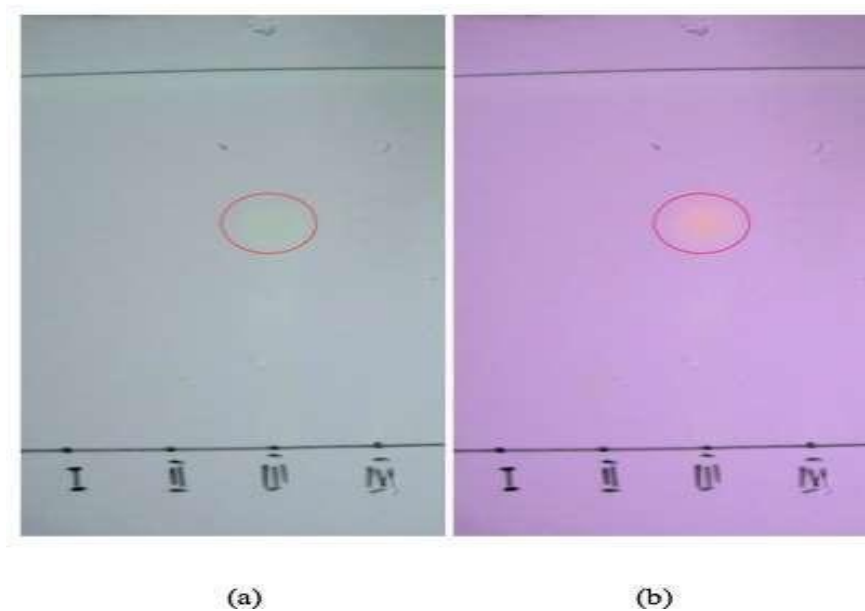
Dunaliella Sp terdapat tiga spot kuning yang terbentuk, yaitu pada fraksi nomor 7-9. (Gambar 5). Dari hasil analisis KLT ketiga fraksi (7-9) memiliki spot yang sama sehingga ketiga fraksi tersebut digabungkan menjadi satu fraksi nomor 7. Fraksi nomor 7 selanjutnya difraksinasi kembali menggunakan kromatografi kolom lalu diuji kembali aktivitas antioksidannya secara kualitatif. Hasil uji aktivitas antioksidan kualitatif kromatografi kolom fraksi nomor 7 dapat dilihat pada Gambar 6. Dari Gambar 6 dapat dilihat bahwa fraksi nomor 7.3 ekstrak *Dunaliella* sp. memiliki aktivitas antioksidan dengan ditandai terbentuknya spot kuning pada plat KLT.



Gambar 4. Hasil uji antioksidan kualitatif fraksi kromatografi kolom ekstrak *Chlorellastigmatophora* (a : plat KLT sebelum disempot DPPH 0,4 mM; b : plat KLT sesudah disempot DPPH 0,4 mM)



Gambar 5. Hasil uji antioksidan kualitatif fraksi kromatografi kolom ekstrak *Dunaliella* sp. (a : plat KLT sebelum disempot DPPH 0,4 mM; b : plat KLT sesudah disempot DPPH 0,4 mM)



Ket : I = fraksi nomor 7.1; II = fraksi nomor 7.2; III = fraksi nomor 7.3; dan IV = fraksi nomor 7.4.

Gambar 6. Hasil uji antioksidan kualitatif fraksi nomor tujuh kromatografi kolom ekstrak *Dunalilella* sp. (a : plat KLT sebelum disemprot DPPH 0,4 mM; b : plat KLT sesudah disemprot DPPH 0,4 mM)

Uji Aktivitas Antioksidan Kuantitatif Fraksi Kolom Kromatografi Ekstrak *C.stigmatophora* dan *Dunalilella* sp.

Uji aktivitas antioksidan kuantitatif dilakukan pada fraksi nomor 10 dari ekstrak *C. stigmatophora* dan fraksi nomor 7.3 dari ekstrak *Dunalilella* sp. Konsentrasi ekstrak mikroalga *Dunalilella* sp. yang digunakan adalah 25, 50, 100 dan 200 µg/ml, sedangkan konsentasi ekstrak mikroalga *C.stigmatophora* yang digunakan adalah 200, 300, 400 dan 500 µg/ml. Hal tersebut dikarenakan pada uji pendahuluan yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak *C.stigmatophora* sebesar 25, 50, 100 dan 200 µg/ml, baru menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada konsentrasi 200 µg/ml. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dapat dilihat pada Tabel 1. Dari Tabel 1. dapat dilihat bahwa kontrol positif yaitu vitamin C memiliki % inhibisi paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak *Dunalilella* sp. dan *C.stigmatophora*. Selain itu diketahui juga bahwa ekstrak *Dunalilella* sp. memiliki aktivitas antioksidan

yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *C. stigmatophora* dikarenakan % inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak *Dunalilella* sp. dengan konsentrasi 25 µg/ml, lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ekstrak *C.stigmatophora* konsentrasi 200 µg/ml, bahkan ekstrak *Dunalilella* sp. dengan konsentrasi 200 µg/ml tetap memiliki % inhibisi yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan ekstrak *C.stigmatophora* konsentrasi 200 µg/ml dan 500 µg/ml.

Meskipun memiliki perbedaan % inhibisi yang dihasilkan, fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan dari *Dunalilella* sp. dan *C.stigmatophora* diperkirakan memiliki kandungan senyawa yang sama. Hal tersebut dikarenakan pada hasil uji aktivitas antioksidan kualitatif ekstrak kasar dari kedua mikroalga tersebut menghasilkan spot kuning dengan nilai R_f yang sama yaitu 0,4. Berdasarkan penelitian El-Baky *et al.* (2004) diketahui bahwa *Dunalilella* sp. dan *Chlorella* sp. mengakumulasi β-karoten, *astaxanthin*, lutein dan *zeaxanthin* dalam jumlah yang banyak di dalam selnya.

Perbedaan aktivitas antioksidan antara fraksi ekstrak *Dunalilella* sp. dan *C.stigmatophora* mungkin disebabkan pengkulturan yang dilakukan bukan merupakan kondisi yang optimum bagi *C.stigmatophora* sehingga kandungan senyawa antioksidan yang terdapat di dalam ekstraknya lebih sedikit

apabila dibandingkan dengan ekstrak *Dunalilella* sp. El-Baky *et al.* (2004) menyatakan bahwa kultur *Dunaliella* ditumbuhkan pada kondisi di bawah kondisi optimum memiliki kandungan β -karoten yang lebih rendah.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan kuantitatif fraksi nomor 10 dari ekstrak *C. stigmatophora* dan fraksi nomor 7.3 dari ekstrak *Dunaliella* sp.

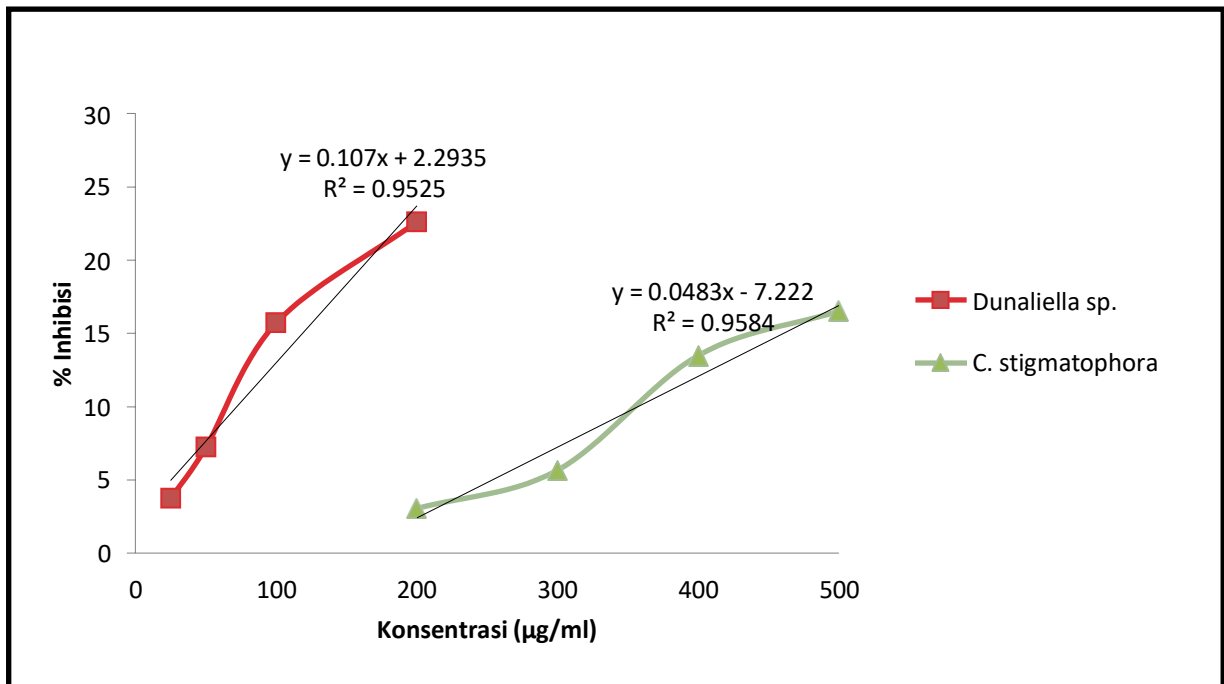
Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	% Inhibisi
<i>Dunaliella</i> sp.	25	$3,76 \pm 0,03$
	50	$7,24 \pm 0,44$
	100	$15,72 \pm 0,70$
	200	$22,59 \pm 0,49$
<i>C.stigmatophora</i>	200	$3,04 \pm 0,05$
	300	$5,65 \pm 0,20$
	400	$13,48 \pm 0,15$
	500	$16,52 \pm 0,08$
Kontrol (+)	25	$48,35 \pm 0,28$
	50	$93,99 \pm 0,98$
	100	$96,70 \pm 1,76$
	200	$98,21 \pm 0,19$

Keterangan : Data yang ditampilkan merupakan nilai rata-rata % inhibisi $\pm$ standar deviasi.

Penentuan IC_{50} (Inhibition Concentration 50%)

Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak sebagai sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai sumbu Y. Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% adalah $Y=aX+b$. Kurva penentuan IC_{50} fraksi nomor 10 dari ekstrak *Chlorellastigmatophora* dan fraksi

nomor 7.3 dari ekstrak *Dunaliella* sp.dapat dilihat pada Gambar 7. Dari Gambar 7. diketahui bahwa nilai regresi linier untuk ekstrak *Dunaliella* sp. adalah $Y = 0,107X + 2,293$, ekstrak *C.stigmatophora* adalah $Y = 0,048X - 7,222$. Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut, maka nilai IC_{50} dapat ditentukan. Dari hasil perhitungan diketahui bahwa IC_{50} ekstrak *Dunaliella* sp. adalah $445,86 \mu\text{g/ml}$, sedangkan IC_{50} ekstrak *C.stigmatophora* $1192,13 \mu\text{g/ml}$.



Gambar 7. Kurva penentuan IC₅₀ fraksi nomor 10 dari ekstrak *C.stigmatophora* dan fraksi nomor 7.3 dari ekstrak *Dunaliella* sp.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa mikroalga *C.stigmatophora* dan *Dunaliella* sp. memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan alami, dengan nilai IC₅₀ *C.stigmatophora* 1192,13 µg/ml dan *Dunaliella* sp. 445,86 µg/ml. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan karakterisasi senyawa yang aktif sebagai antioksidan dengan menggunakan 1D dan 2D NMR.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul. M. 2003. Peranan radikal bebas dan antioksidan dalam kesehatan dan penyakit. <http://www.intisari.com/radikal.html>. Diakses Tanggal 5 Agustus 2012.
- Barsanti, L. & Gualtieri P.. 2006. *Algae : Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. United States of America : CRC Press.
- Bhadury, P. & Wright P. C.. 2004. Exploitation of Marine Algae : Biogenic Compounds for Potential Antifouling Applications. *Planta*, 219 : 561–578.
- Das, B. K., Pradhan J., Pattnaik P., Samantaray B. R. & Samal S. K.. 2005. Production of antibacterials from freshwater alga *Euglena viridis* (Ehren). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21 : 45-50.
- Devi, G., John A., Devi R. S. & Prabhakaran V. A.. 2011. Pharmacognostical Studies on Acacia Catechu Willd and Identification of Antioxidant Principles. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 : 108-111.
- El-Baky, H. H. ABD, El Baz F. K. & El-Baroty G. S.. 2004. Production of Antioxidant by The Green Alga *Dunaliella salina*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6 : 49-57.
- Guzmán, S., Gato A. & Calleja J. M.. 2001. Antiinflammatory, analgesic and free

- radical scavenging activities of the marine microalgae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytotherapy Research*, 15 : 224 – 230.
- Hajimahmoodi, M., Faramarzi M. A., Mohammadi N., Soltani N., Oveisi M. R. & Nafissi-Varcheh N.. 2010. Evaluation of Antioxidant Properties and Total Phenolic Contents of Some Strains of Microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 22 : 43-50.
- Ito, N., Hirose M., Fukushima S., Tsuda H., Shirai T. & Tatematsu M.. 1986. Studies on Antioxidants : Their Carcinogenic and Modifying Effects on Chemical Carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*, 24 : 1071-1082.
- Jacob, R.A.; Burri, B.J. 1996. Oxidative damage and defense. *Am. J. Clin. Nutr.*, 63, 985–990.
- Jemal, A., Bray, F., Center M.M., Ferlay, J., Ward, E & Forman, D. Global cancer statistics. *CA Cancer Journal Clinication*. 2011. 61:69-90
- Kusmiyati & Agustini N. W. S.. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*, 8 : 48-53.
- Kusumawati, P.. 2009. Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan dari Makroalga dan Mikroalga. *Oseana*, 34 : 9-18.
- Maarisit, W dan Pinontoan R. 2010. Isolasi Senyawa Antimikroba dari Mikroalga Asal Perairan Teluk Jakarta. Laporan Penelitian LPPM.
- Molyneux, Philip. 2003. The use of The Stable Free Radical DPPH for Estimating Antioxidant Activity.
- Ohta, S., Ono F., Shiomi Y., Nakao T., Aozasa O., Nagate T., Kitamura K., Yamaguchi S., Nishi M. & Miyata H.. 1998. Anti-herpes Simplex Virus Substances Produced by The Marine Green Alga, *Dunaliella primolecta*. *Journal of Applied Phycology*, 10 : 349-356.
- Palozza, P., Torelli C., Boninsegna A., Simone R., Catalano A., Mele M. C. & Picci N.. 2009. Growth-inhibitory Effects of The Astaxanthin-rich Alga *Haematococcus pluvialis* in Human Colon Cancer Cells. *Cancer Letters*, 283 : 108-117.
- Polteraid, O. 1997. Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. *Current Org. Chem* 1. p. 415–440.
- Prihantini, N. B., Damayanti D. & Yuniati R.. 2007. Pengaruh Konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap Pertumbuhan *Scenedesmus* Isolat Subang. *Makara Sains*, 11 : 1-9.
- Safer, A. M., & Al-Nughamish, A. J. (1999). Hepatotoxicity induced by the anti-oxidant food additive butylated hydroxytoluene (BTH) in rats: An electron microscopical study. *Histology and Histopathology*, 14, 391–406.
- Setyaningsih, I., Desniar, Pangagabea L. & Widyah T. H.. 2004. Pemisahan Ekstrak Intraseluler dari Mikroalga *Nitzschia closterium* dan Penentuan Konsentrasi Hambatan Minimumnya terhadap Bakteri Patogen. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 8 : 35-44.
- Zuhra, C. F., J. Br. Tarigan, dan H. Sihotang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3 : 7-10.